

72009

T. C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**SİTOKHALASİN - B İLE BLOKLANMIŞ YENİDOĞAN
PERİFERAL KAN LENFOSİTLERİNDE FOTOTERAPİNİN
UYARDIĞI MİKRONUKLEUSLAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

Öğr. Gör. Tülin ÇORA
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Sennur DEMİREL

KONYA — 1990

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
MATERYAL ve METODLAR	11
BULGULAR	14
TARTIŞMA	24
ÖZET	28
İNGİLİZCE ÖZET	29
KAYNAKLAR	30
ÖZGEŞMİŞ	37
TEŞEKKÜR	38

GİRİŞ

Uzun yıllardır, çeşitli mutajenik ve karsinojenik ajanları belirleyebilmek amacıyla bir çok çalışma yapılmış ve farklı test sistemleri geliştirilmiştir. Bu testlerden biri olan Mikronukleus (MN) Tekniği, mitotik bölünmede yavru hücre çekirdeğine dahil olamayan asentrik fragment veya tüm bir kromozomu içeren extra nükleer parçacıkların sayımını içerir. Bunlar DNA boyalarıyla boyandıklarından ve sitoplazmada çekirdeğin yakınında bulduklarından kolaylıkla tanınabilmektedir. Bu nedenle MN'lerin sayımı, genetik materyaldeki bozukluğun bir göstergesi olarak, son yıllarda güvenilir bir biçimde kullanılmaya başlanmıştır.

Fototerapi, sarılıklı bebeklerin tedavisinde kullanılmaya başlandıktan sonra, yan etkileri bir çok araştırmacı tarafından araştırılmaya başlanmış, ancak genetik materyal üzerine olan etkileri hakkında çok az çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların büyük bir kısmında, fototerapinin mutajenik etkisi Kardeş Kromatid Değişimleri ile araştırılmış, farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bir kaç araştırmacı tarafından da kromozom analizi yapılarak, kromozomların yapısal ve sayısal anomalileri incelenmiştir.

Bu nedenle, uzun yıllardır hiperbilirubinemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan fototerapinin, in vivo olarak MN oluşumu üzerinde etkilerinin saptanması ve bu konuda yapılan çalışmalara deneysel verilerle katkıda bulunulması amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

GENEL BİLGİLER

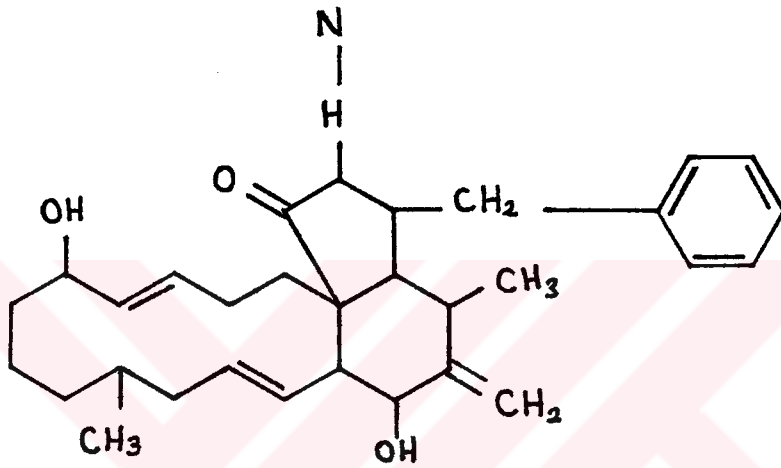
Son yıllarda çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanların mutajenik potansiyellerini belirlemek amacıyla pekçok mutajenite testi geliştirilmiştir (7,20,51). Bu testlerden biri olan mikronukleus (MN) tekniğinin, kromozomlarda sayısal ve yapısal anomalilere sebep olan fiziksel ve kimyasal mutajenlerin etkilerini açık bir biçimde ortaya koyabileceği gösterilmiştir. MN testinin temeli, hücre bölünmesi esnasında oluşan MN lerin sayılması teşkil eder. MN lerin mitoz bölünme esnasında hücrenin ana çekirdeğine katılmayan kromozom veya kromozom fragmentlerinden oluştuğu anlaşılmış ve MN sayımı hem klastojenik olayları hem de iğ ipliklerinde oluşan defektleri incelemek amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Farklı test organizmalarının ve dokularının kullanıldığı, çeşitli in vivo MN testleri geliştirilmiş olmakla birlikte, yalnızca memeli organizmaların kemik iliğindeki polikromatik eritrositlerin sayıldığı MN testlerinin standart ölçüm verebileceği düşünülmüştür. Ancak bu metod, insan popülasyonlarındaki ölçümler için pratik olmadığından bunun yerine insan lenfosit kültür sistemlerinin kullanıldığı yeni MN testleri geliştirilmiştir (11,24).

MN lerin gözlenebilmesi için hücrenin bir mitoz geçirmesi gerekli olduğundan, insan lenfosit kültürleri ve bölünen diğer hücrelerin kullanıldığı bu tekniklerin ciddi bir dezavantaja sahip olduğu anlaşılmıştır. Çünkü lenfositlerdeki MN'lerin tek tek sayılması esnasında, belirli miktardaki lenfositlerde gözlenen MN sayısı; a) mitojene cevap veren hücrelerin oranı b) bölünen

hücrelerin cevap verme oranı c) birden fazla bölünen hücrelerdeki MN'lerin durumu ile ilişkilidir. Bu faktörler, kullanılan teknikler ve bireyler arasındaki farklara bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik gösterebilir. Bu nedenle insan lenfositlerinin kullanıldığı MN ölçümleri önceleri başarılı sonuçlar vermemiştir. Bu dezavantajdan kurtulabilmek için yalnızca ve yalnızca tek çekirdek bölünmesi geçiren hücreleri tanımak, izole etmek ve oranlarını ölçmek gerekli olmuştur. Bunu gerçekleştirmek ve MN ölçümündeki kinetik problemleri çözmek için çeşitli metodlar geliştirilmiştir (21). Geliştirilen bu metodlardan biri olan Fenech ve Morley'in metodunda sitokinezin bloke edilmesi amaçlanmış ve tek bir çekirdek bölünmesi geçiren ancak sitoplazmik bölünme geçirmeyen çift çekirdekli hücreler kolaylıkla tanımlanarak, MN tesbiti için tek tek sayılabilmıştır. Bu metod sitokinez-blok metodu (Cytokinesis-block, CB) adıyla kullanılmaya başlanmıştır. MN'ler hücre bölünmesine katılmayan kromozom veya kromozom fragmentlerinin göstergesi olarak kabul edildiğinden, sayısal kromozom hasarlarının ortaya çıkarılmasında, karyotipik analizlerden daha basit ve istatistiksel olarak daha uygun olduğu kabul edilmiş ve çeşitli araştırmacılar tarafından kullanılmaya başlanmıştır (19,20,21,29,50,53).

Sitokinezin bloke edilmesi esasına dayanan bu yeni CB metodunda, hücre kültürlerinin sitoplazmik bölünmesini inhibe eden ve bir grup küf mantarının metaboliti olan cytochalasinler kullanılmıştır. Cytochalasinlerin A,B,C,D olarak 4 çeşidi mevcuttur ve sitokinezi bloke etmede, düşük konsantrasyonlarda mitoz bölünmeyi bloke etmeksizin, sitoplazmik bölünmeyi inhibe eden Cy-

tochalasin-B (Cyt-B) kullanılmıştır (8). Cyt-B *Helminthosporium dematioides*'un kültür filtrelerinden elde edilmiş olup iki halkalı lactam sistemine bağlanan lactone halkasından ibaret makrolid bir yapıdır (Şekil 1).



Şekil 1: Sitokhalasin B nin halkasal yapısı

Cyt-B nin MN testinde kullanılmaya başlamasıyla, çift çirkeklili hücreleri oluşturmak ve MN sayımını kolaylaştırmak için kullanılması gereken uygun doz araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda 48 ve 72 saatlik kültürler için optimum Cyt-B konsantrasyonunun 3 µg/ml olduğu tesbit edilmiş ve bu konsantrasyondaki Cyt-B nin kendisinin MN oluşumunu uyarmadığı gösterilmiştir (20,22). Daha sonraki çalışmalarda Cyt-B nin 8 µg/ml gibi yüksek konsantrasyonunun hücre içeriğinin dışarı atılmasına neden olduğu tesbit edilmiş ve bu metod ile çeşitli mutajen

ajanların MN oluşumunu uyarma etkileri araştırılmıştır. Ancak bu yüksek konsantrasyondaki Cyt-B nin kendisinin yine MN oluşumunu uyarmadığı anlaşılmıştır (34).

Bu şekilde geliştirilen ve uygulamadaki güçlükleri ortadan kaldırılan MN testinin, klasik metafaz analizlerinden ve gelecekteki MN tekniğinden daha hassas ve güvenilir olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Högsted ve arkadaşları (26) tarafından yapılan bir çalışmada MN oluşumu uyarılmış ve sitoplazması korunmuş in vitro insan lenfosit hücrelerinde MN insidansı incelenmiştir. Oluşturulan MN lerin hacimleri ölçülerek, kromatid veya kromozom fragmentlerini ya da tüm bir kromozomu içerdiği gösterilmiş ve bu yolla, kullanılan ajanların doğrudan kromozoma mı yoksa iç mekanizmasına mı etkili olduğu belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar MN tekniği kullanarak, phytohemagglutinin (PHA) ve pokeweed mitojen ile in vitro olarak uyarılmış, insan periferik kan lenfositlerinde farklı mutajenlerin etkisini incelemişler ve MN ölçümünün mutajenite göstergesi olduğunu saptamışlardır (25,27).

Benzer şekilde Ramolho ve arkadaşları (36) tarafından periferik kan lenfositlerinde X-ışınları ile uyarılmış kromozomal aberasyonların sayısal bir göstergesi olarak MN ölçümlerinin kullanılabileceği gösterilmiş ve CB metodunun güvenilirliği vurgulanmıştır. Bu çalışmalar ile MN tekniğinin mutajenitenin göstergesi olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Easmond ve Tucker (16) isimli araştırmacılar tarafından geliştirilen, Cyt-B ile bloklanmış MN li hücrelerdeki kinetochore lokalizasyonun incelenmesi esasına dayalı yöntem ile MN'lerin

aneuploidy uyaran ajanların belirlenmesinde de kullanılabileceği ve bu ajanların klastojenik ajanlardan ayırt edilebileceği gösterilmiştir. Bu teknik antikinetochore antikorları kullanılarak Cyt-B ile bloklanmış insan hücrelerindeki MN lerin kinetochore içerip içermediğinin araştırılması esasına dayanmaktadır. Kinetochore pozitif MN ler tam bir kromozom içerdiğinden oluşacak yavru hücrelerden biri hyperploid diğeri hypoploid olacaktır. Oysa klastojenlerin oluşturduğu MN ler tam bir kromozom değil de asentrik fragmentler içerdiğinden kinetochore negatif olacaktır. Bu şekilde antikinetochore antikorlar ile MN testi birlikte kullanılarak, genotoksik ajanların iki tipi olan aneuploidy uyaran ajanlar ve klastojenik ajanlar birbirinden ayırt edilebilecektir.

Bu şekilde geniş bir uygulama alanı bulan Cyt-B ile bloklanmış MN tekniği kullanılarak, mitomycin-C, cyclophosphamide, diaziquone, cafein, colcemid, tetradrine gibi pekçok kimyasal mutajen araştırılmış ve MN sıklığına göre genotoksik aktiviteleri belirlenmiştir (19,29,50,53).

Gelişen teknoloji ile tıpta farklı yöntemlerin ve değişik ilaçların kullanılması, bunların mutajenik potansiyellerinin belirlenmesini gerekli kılmıştır. Bunlardan biri de yenidoğan sarılıklarının tedavisinde kullanılan fototerapi uygulaması olmuştur.

Yenidoğanlarda çeşitli nedenlerle meydana gelen sarılıklar sık olarak görülmekte olup büyük bir kısmının etiyolojisi kesin olarak saptanamamıştır. Bununla beraber hepsi için kullanılan tedavi yöntemleri genellikle benzer olmuştur. 1958'de Cremer ve

arkadaşları güneş ışığına, daha sonra ise floresan ışığına maruz kalan bebeklerde bilirubin düzeylerinde düşme olduğunu göstermesinden sonra fototerapi yenidoğan sarılıklarında, kan değişimine gidilmeden önce en etkili metod olarak kullanılmaya başlanmıştır (12,30).

Başlangıçta fototerapide değişik tip floresan lambalar ve hatta gün ışığı kullanılmıştır. Çeşitli çalışmalarda mavi, yeşil, ve beyaz ışık veren floresan lambalar denenmiştir. Bilirubinun fotoksidasyonunda en çok etkili olan ışıkların, bilirubinin maksimum absorpsiyon zirvesine yakın olan 450-460 nm. dalga boyunda enerji çıkışı yapan ışıklar olduğu anlaşılmıştır (18). Mavi ışık 390-470 nm, yeşil ışık 530 nm, beyaz ışık ise 380-600 nm. dalga boyundadır. Bazı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda, yeşil ışığın bilirubini düşürücü etkisinin mavi ışıkla aynı olduğu fakat yan etkilerinin daha az olduğu savunulmuş ve fototerapide öncelikle önerilmiştir (2). Ancak, daha detaylı yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda yeşil ışığın dalga boyunun, bilirubinin absorpsiyon zirvesine yakın olmadığı, mavi ve beyaz ışığın yeşil ışığa göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (37). Benzer şekilde başka çalışmalarda mavi ışığın, beyaz ışığa göre daha etkili olmakla birlikte, yan etkilerinin daha fazla olduğu görüşü savunulmuştur (5,31). Suskan ve arkadaşlarının (45) yaptıkları çalışmada ise, beyaz ışık ile mavi ışık arasında, etkinlik açısından fark görülmemiştir.

Fototerapinin bilirubini eliminasyonu hakkında birçok çalışma yapılmış ve değişik görüşler belirtilmiştir. Son zamanlara kadar fototerapinin etkisi yalnızca bilirubinin fotodegradasyonu

olarak düşünölmüş, günümüzde ise etki mekanizması iki şekilde izah edilmiştir.

1- Fotooksidasyon: Unkonjuge bilirubinin methe gruplarına singlet oksijenin birleşmesi ve daha polar atılabilir türevlere dönüşmesi,

2- Fotoizomerizasyon: Bilirubinin foton absorpsiyonu ile geometrik izomerler haline gelmesidir (5,18).

Fototerapide ışın, epidermisi ve dermisi geçerek vasküler yatağın bulunduğu bölüm dahil fotokimyasal reaksiyonların oluşacağı subdermal dokulara ulaşabilmektedir. Ancak kırılma ve dağılma nedeni ile şiddeti oldukça azaldığından, etki alanı derinin 2 mm kalınlığı ile sınırlı kalmaktadır (23). Böylece daha derinde yer alan intravasküler alandaki bilirubinler fototerapi ışınlarını daha kısıtlı aldığından, fototerapi sırasındaki erken saatlerde gözlenen bilirubinindeki düşmenin, fotodegregasyondan ziyade bilirubinin plazmadan dokulara çekilmesi ile açıklanmıştır (5).

Yapılan çalışmalar, fotokimyasal reaksiyonların sonucu olarak unkonjuge bilirubinin safra içinde arttığını, polar derivasyonlarının hem safraya hem idrara daha çok atıldığını göstermiştir. İdrarla atılan türevlerinin renksiz, safra ile atılan türevlerinin ise çoğunun renkli olduğu bilinmektedir. Fototerapiye bağlandıktan birkaç saat sonra artmış pigmentli safra atışının tesbiti hızlı bir fotokimyasal reaksiyonu göstermiştir. Ancak serum bilirubininde hissedilir oranda düşme, 2-3 saat içinde gözlenebilmiştir (5,6).

Fototerapi sırasında kolestasis gelişen bebeklerde, fotode-

riveleri, safraya atma yeteneğindeki bozulmaya bağlı olarak deride, serumda ve idrarda gri-kahve rengi renk değişikliği görülmüştür. Bu renk değişikliği ile kanıtlanabilen belirgin otodermivasyon birikimine rağmen bu bronz bebekler normal bir gelişim göstermiş ve sendrom düzeldikten sonra herhangi bir nörolojik bozukluk gözlenmemiştir (9).

Ayrıca fototerapi uygulanan bebeklere verilen multivitamin solüsyonlarının DNA hasarı yaptığı gösterilmiş, diğer bir in vitro çalışmada fototerapi ile oluşan DNA hasarı riboflavin vb. fotosensitizörlerin varlığına bağlanmış, klinikte parenteral multivitamin solüsyonları ile fototerapinin birlikte uygulanmasından kaçınılması önerilmiştir (17).

Diğer bir çalışmada fototerapinin büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilediği görüşü savunulmuş ancak daha sonra yapılan çalışmalarda bu doğrulanmamıştır (10, 13, 15, 40, 47, 48).

Bu kadar yaygın olarak uygulanan fototerapideki yapay ışığa bağlı olarak gözlenen akut veya kronik yan etkilerin nedeni ve önlenmesi ile ilgili pekçok çalışma yapılmıştır (9, 14, 15, 28, 35, 43, 52).

Fototerapinin DNA üzerinde etkilerinin olduğu sıklıkla söylenmesine rağmen, bu tedaviyi alan bebeklerdeki DNA hasarı, kromozom aberasyonları, hücre bölünmesinde meydana gelebilecek düzensizlikler yeterince araştırılmamıştır. Fototerapinin özellikle yenidoğan bebeklerde yaygın uygulanması, kromozom düzeyindeki çalışmaların arttırılması gereğini ortaya koymuştur. Fototerapiye bağlı akut komplikasyonlar geçici olduğundan önemsenmemiştir. Oysa kromozomlarda meydana gelebilecek hasarların sonuçları uzun

zaman sonra ortaya çıkabilecek ve bazen çok ciddi ve kalıcı olabilecektir. Bu nedenle çalışmamızda fototerapi uygulanan yenidoğanların periferik kan kültürlerinde in vivo MN tekniği kullanılarak, fototerapinin kromozom yapısı ve mitoz üzerinde etkisinin olup olmadığının gösterilmesi amaçlanmıştır.



MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Sitogenetik Laboratuvarında yapıldı. Hastanenin yenidoğan bölümünde hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapiye alınan 2500-4000 gr ağırlığında 2-7 günlük 15'i kız, 13'ü erkek 28 bebekte MN frekansı incelendi. Fototerapi alan bebekler, uygulamada kullanılan ışığın özelliğine göre 2 gruba ayrıldı. Birinci grupta fototerapi uygulaması esnasında beyaz ışığa maruz kalan 14 bebek, ikinci grupta ise mavi ışığa maruz kalan 14 bebek mevcuttu. Herbir grupta, 20 W (Tungram) gücünde 6'şar adet floresan lambalar kullanıldı. Fototerapi her iki gruptaki bebeklere de 40 cm yukarıdan ve gözler hariç tüm vücuda uygulandı.

Araştırma grubundaki bebeklerde şu özellikler dikkate alındı.

- Gestasyon yaşının 37 haftadan az olmaması
- Doğum ağırlığının 2500 gr'dan az olmaması
- Hiperbilirubinemi dışında, konjenital malformasyon, anoksi, enfeksiyon, metabolik bozukluklar gibi spontan MN seviyesini arttırabilecek durumların mevcut olmaması
- Annenin hamileliği esnasında önemli bir hastalık veya tıbbi müdahale geçirmemiş, X-ışınlarına maruz kalmamış olması
- Bebeğin doğumdan sonra en fazla 72 saat geçmiş olması
- Kan değişimi yapılmamış olması
- En az 24, en fazla 96 saatlik süre ile fototerapi uygulanmış olması

Kontrol grubuna alınan 6'sı kız, 8'si erkek 14 bebekte ye-

nidoğan sarılığı dahil, herhangi bir hastalığın olmaması, MN sıklığını arttırabilecek herhangi bir etken ile karşılaşmamış olması, 2500-4000 gr ağırlığında ve 3-6 günlük ömre sahip olması şartı arandı.

Lenfosit Kültürlerinin Hazırlanması:

Kontrol grubunu oluşturan 14 bebek ile deney grubunu oluşturan 28 bebekten fototerapi uygulamasından önce ve sonra, heparinlenmiş enjektör ile venöz kan örnekleri alındı. Alınan örnekler % 20 fetal Calf Serumu (Gibco), % 3 Phytohemagglutinin-M (Gibco) ve antibiyotik içeren 5 ml'lik Mc Coys 5A (Gibco) besi ortamına steril koşullarda ilave edildi. 37°C'de 72 saat üremeye bırakıldı.

MN Metodu:

Üretilen lenfosit kültürlerinde MN leri gözleyebilmek için Fenech ve Morley'in geliştirdiği CB metodu bazı modifikasyonlarla kullanıldı. Bunun için Cyt-B (Sigma), Dimetil Sülfoksite gözülerek, 2 mg/ml konsantrasyonunda bir stok hazırlandı ve -40°C de depolandı. Kullanımından hemen önce stok solusyon eritilerek salinde dilue edildi ve sitokinezi inhibe etmek için üremenin 44. saatinde son konsantrasyonu 3.0 µg/ml olacak şekilde kültür ortamlarına ilave edildi. Işığın fotolitik etkisinden korunmak amacıyla aluminyum kağıtlara sarılarak 72 saatlik kültür periyodunu tamamlamak üzere tekrar 37°C'lik etüve kaldırıldı. Üreme periyodunu tamamlayan kültürler, konik santrifüj tüplerine aktarıldı ve 1000 rpm de 7 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve süspansiyon edilen hücre kümesi üzerine taze olarak hazırlanmış tesbit solusyonundan (3:1 Metanol: Asetik asit) 5-6 ml ilave

edilerek 1000 rpm de 7 dakika santrifüj edildi. Tesbit solusyonu ile yıkama işlemi iki kez tekrarlandı. Son santrifüjden sonra süpernatant atılarak elde edilen hücre kümesi üzerine birkaç damla taze hazırlanmış tesbit solusyonu ilave edildi. Suspanse edilen hücreler, temiz ve kuru lamlara yayılıp havada kurutuldu. Kodlanan preparatlar hemen % 5'lik Giemsa ile 5 dakika boyandı ve ölçümdeki hatalardan kaçınmak için aynı kişi tarafından analiz edildi.

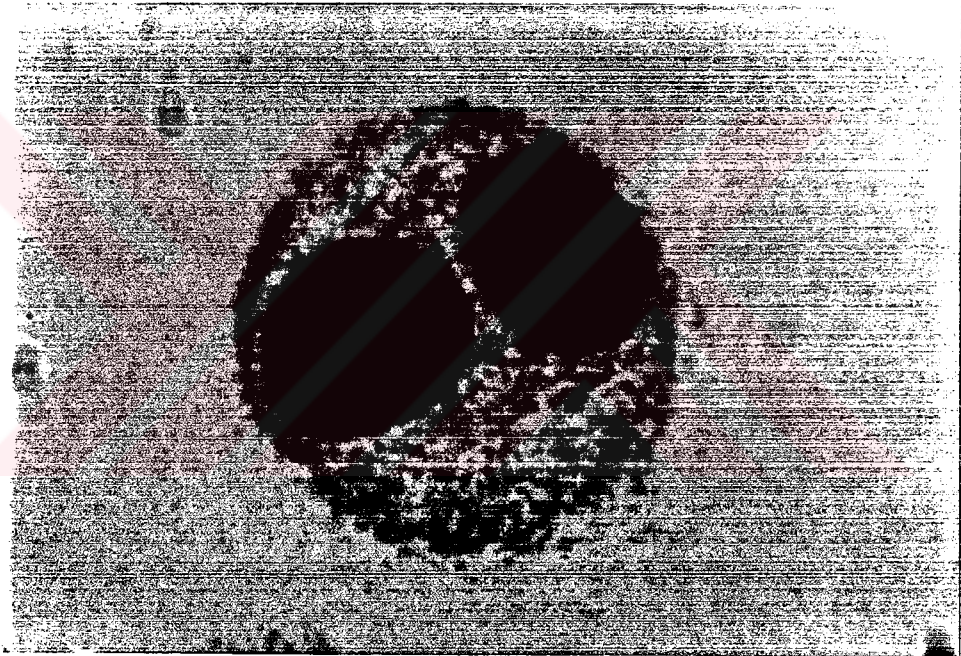
MN lerin Değerlendirilmesi:

MN lerin tanımlanmasında Huddle ve arkadaşlarının (11) kullanıldığı kriterler dikkate alındı. Şöyleki; 1) MN çapının, esas çekirdeğin 1/3'ünden daha az olmasına, 2) Mikrovida ile oynandığında, küçük boya parçaları gibi ışığı kırmasına, 3) Boya alma yoğunluğunun esas çekirdek ile aynı olmasına veya daha açık boyanmasına, 4) Bir çekirdeğin 2'den fazla MN oluşturmamasına, 5) Sadece sitokinezi bloke edilmiş hücrelerdeki MN lerin sayılmasına özen gösterildi.

Bu kriterler ışığında herbir birey için ortalama 2000 sitokinezi bloke edilmiş hücre sayıldı. 1000 X büyütmede incelenen sitokinezi bloke edilen hücrelerin sitoplazma sınırları titizlikle kontrol edildi. Fototerapi öncesi ve fototerapi sonrası sayılan bu 2000 adet çift çekirdekli sitokinezi bloke edilmiş hücrelerde MN oranı belirlendi.

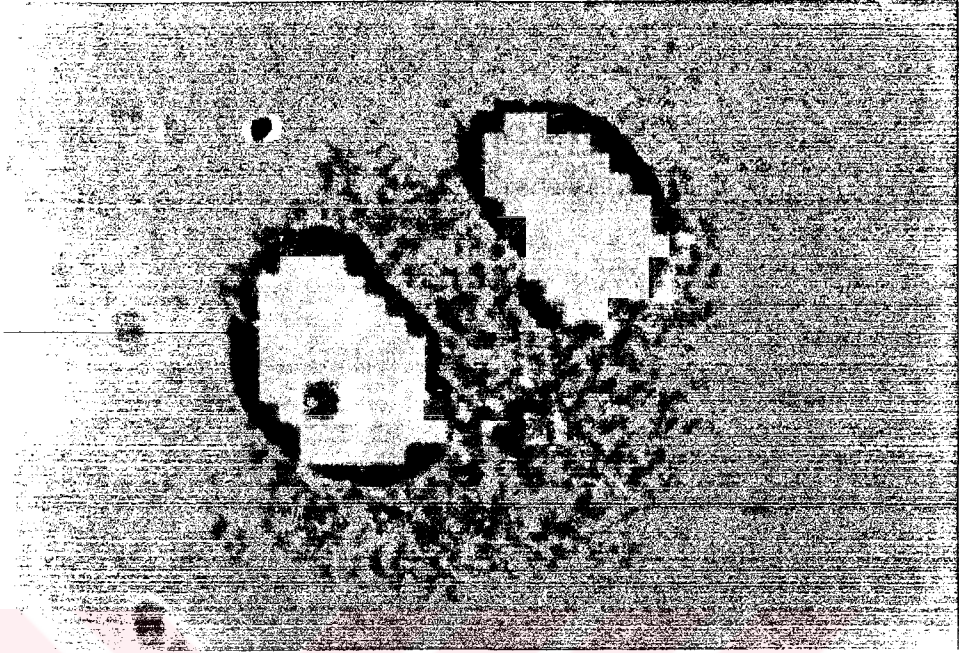
BULGULAR

Çalışmamızda, hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapi uygulanan toplam 28 bebek ve fototerapi almamış, sağlıklı 14 bebekte, MN frekansları incelenmiştir. MN frekansını saptamak için, her bireyden Cyt-B ile sitokinezi bloke edilmiş toplam 1000 adet çift çekirdekli hücre sayılmıştır (Şekil 2). Bu hücrelerin stoplazma sınırları titizlikle kontrol edilerek MN içerikleri araş-

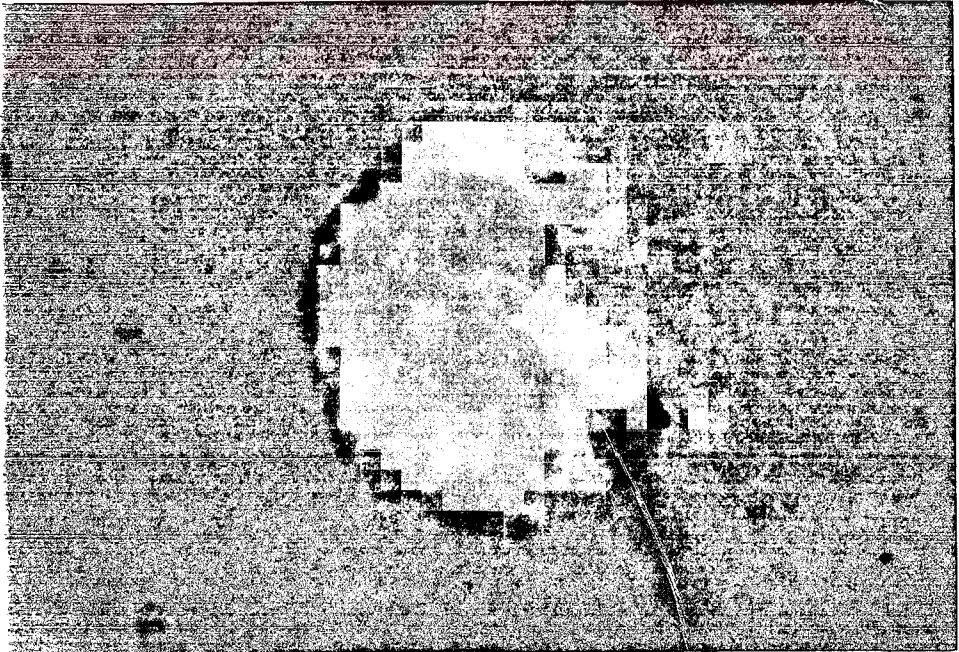


Şekil 2 : Sitokinezi bloke edilmiş hücre

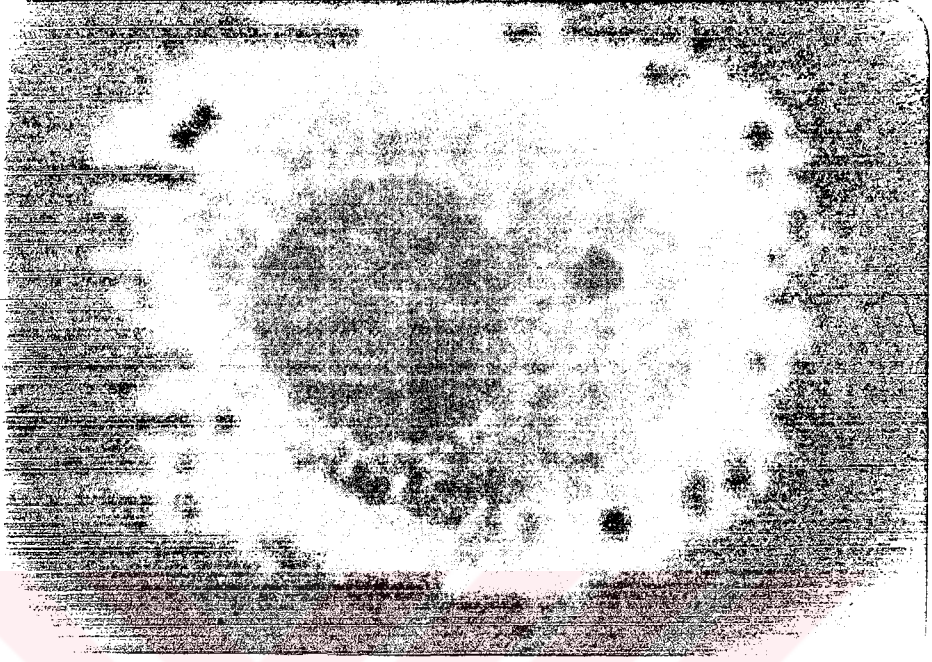
tirılmıştır (Şekil 3,4). Çift çekirdekli hücrelerin yanısıra 1,3 ve 4 çekirdekli hücreler de gözlenmiş ancak bu hücreler MN frekansının saptanmasında dikkate alınmamıştır (Şekil 5,6).



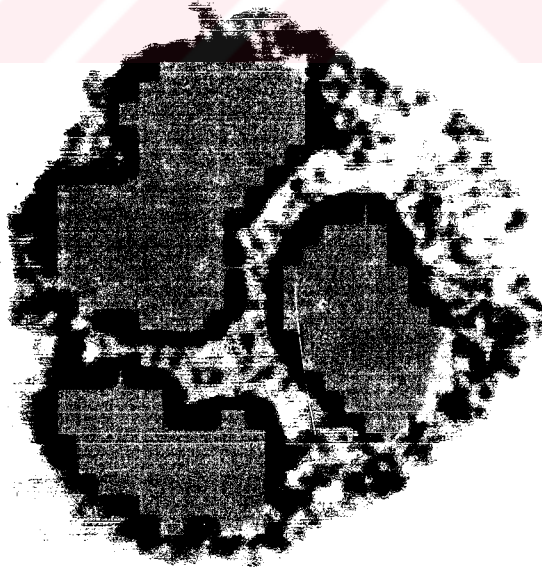
Şekil 3: Sitokinezi bloke edilmiş MN li hücre



Şekil 4 : Sitokinezi bloke edilmiş MN li hücre



Şekil 5: Bir çekirdekli ve MN li hücre



Şekil 6: Sitokinezi bloke edilmiş çok çekirdekli hücre

Kontrol grubunu oluşturan 14 bebek ile araştırma grubunu oluşturan ve 14'ü beyaz, 14'ü mavi floresan ışığı olan toplam 28 bebekten, fototerapi öncesi ve fototerapi sonrasında heparinlenmiş enjektör ile periferik kan örnekleri alınmıştır. MN lerin incelenebilmesi için alınan kan örneklerinden 72 saatlik lenfosit kültürleri hazırlanmıştır. Kültür sonucunda, araştırma grubundaki her birey için fototerapi öncesi 1000, fototerapi sonrası 1000 adet sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücre sayılarak, her bir ışık grubu için toplam 28.000 hücre incelenmiştir. Fototerapi öncesi incelenen 28 bebekte toplam 183 MN gözlenmiş ve ortalama MN frekansının $6,53 \pm 0,33$ olduğu, MN dağılımının 4-10 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Aynı bebeklerin fototerapi sonrası kültür hücrelerinde toplam 394 MN gözlenmiş ve ortalama MN frekansının $14,07 \pm 0,60$ olduğu, MN dağılımının ise 8-20 arasında değiştiği gözlenmiştir. Kontrol grubu için de birey başına 1000 adet sitokinezi bloklanmış çift çekirdekli hücre sayılmış ve toplam 14.000 hücre incelenmiştir. Kontrol grubunda gözlenen toplam MN sayısı 123 olup, ortalama MN frekansı $8,79 \pm 0,66$ ve MN dağılımı 5-13 olarak hesaplanmıştır (Tablo 1,4).

Araştırma grubunu oluşturan 28 bebek, fototerapide kullanılan ışığın türüne göre "Beyaz Işık Alanlar" ve "Mavi Işık Alanlar" olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bu iki grupta fototerapi öncesi ve fototerapi sonrası gözlenen MN frekansı hesaplanarak, kendi aralarında ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Buna göre; beyaz ışık alan 14 bebekte fototerapi öncesi 14.000 çift çekirdekli hücre incelenmiş, toplam 93 MN gözlenmiştir. MN dağı-

TABLO 1:

ARAŞTIRMAYA ALINAN BİREYLERİN DAĞILIMI VE MN DEĞERLERİ

Araştırma Grubu:	Birey Sayısı		İncelenen Toplam CB Hücre Sayısı (Her birey için 1000 CB hücre)		Sayılan MN Miktarı			MN Dağılımı
	F.ö	F.S	F.ö	F.S	F.ö.	F.S	F.ö	F.S
A- Beyaz Işık	14	14	14000	14000	93	204	4-10	8-20
B- Mavi Işık	14	14	14000	14000	90	190	5-10	9-18
Toplam:	28	28	28000	28000	183	394	4-10	8-20
Kontrol Grubu:	14			14000		123		5-13

liminin 4-10 arasında değiştiği ve ortalama MN frekansının $6,71 \pm 0,42$ olduğu saptanmıştır. Aynı bebeklerde 24-70 saatlik fototerapi uygulamasından sonra incelenen 14.000 hücrede ise toplam 204 MN saptanmıştır. Fototerapi sonrası MN dağılımlının 8-20 arasında değiştiği ve ortalama MN frekansının $14,57 \pm 0,88$ olduğu ve bu değerin fototerapi öncesi gözlenen MN frekansından ($6,71 \pm 0,42$) istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu tesbit edilmiştir ($p < 0,001$) (Tablo 2).

Mavi ışık alan 14 bebekte, fototerapi öncesi incelenen sitokinezi bloke edilmiş 14.000 çift çekirdekli hücreden toplam 90 MN gözlenmiş; MN dağılımlının 5-10 arasında değiştiği, ortalama MN frekansının $6,43 \pm 0,52$ olduğu bulunmuştur. 24-96 saat mavi ışığa maruz kalan bebeklerin fototerapi uygulamasından sonra incelenen 14.000 hücrede toplam 190 MN saptanmış ve MN dağılımlının 9-18 arasında değiştiği gözlenmiştir. Fototerapi sonrası ortalama MN frekansının $13,57 \pm 0,84$ olduğu ve bu değerin fototerapi öncesi gözlenen MN frekansından ($6,43 \pm 0,52$) istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$) (Tablo 3).

Beyaz ve mavi ışığın MN frekansına etkileri incelendiğinde ise MN frekansını uyarda beyaz ve mavi ışık arasında önemli bir fark mevcut olmadığı gözlenmiştir.

Bu istatistiksel değerlendirmeler, hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapi uygulanan bebeklerde, hem beyaz ışık hem de mavi ışık uygulamasından sonra MN frekansında önemli artışlar ortaya çıktığını göstermiştir. MN frekansındaki bu artışa hiperbilirubininin kendisinin etki edip etmediğini ortaya koymak amacıyla,

TABLO 2:

BEYAZ IŞIK İLE FOTOTERAPİ UYGULANAN OLGULARIN UYGULAMADAN ÖNCE VE SONRA MN DEĞERLERİ

No	Yaş (gün)/Cins.	Gebelik Süresi (haf.)	Ağırlık (g)	Bil. Değeri (mg/dl)	Fot. öncesi	Fot. Sonrası	Fot. Süresi (saat)
1	3E	38	2500	14,6	4	8	48
2	3K	41	3600	16,2	6	12	48
3	3K	40	4000	13,6	4	13	48
4	3E	39	3700	15,2	10	19	40
5	3E	39	3800	12,8	5	14	30
6	2K	39	3000	14,8	9	16	48
7	3K	40	3800	17,6	6	17	48
8	3K	40	3000	13,9	10	20	40
9	3K	39	3100	13,6	6	14	39
10	3K	40	3000	15,3	6	13	70
11	3E	40	3400	13,8	6	11	24
12	2K	41	3900	14,7	7	13	40
13	3K	40	3400	15,6	6	16	30
14	3E	40	3600	14,4	8	18	48

Fototerapi ön ; Top: 93 Ort: 6,71

Fototerapi Son; Top:204 Ort:14,57

P(0,001

St.Hata: 0,42

St.Hata: 0,88

MN Dağ: 4-10

MN Dağ: 8-20

Fot. Süresi Dağ:24-70

TABLO: 3

MAVİ IŞIK İLE FOTOTERAPİ UYGULANAN OLGULARDA UYGULANAN ÖNCE ve SONRA MN DEĞERLERİ

No	Yaş (gün)/Cins.	Gebelik Süresi (hafta)	Ağırlık (g)	B1. Değeri (mg/dl)	Fot. öncesi	Fot. Sonrası	Fot. Süresi (saat)
1	3E	40	3500	13,4	6	10	30
2	3E	39	3000	13,7	7	15	36
3	2K	40	3400	16,4	5	14	30
4	2E	39	3800	13,6	8	17	48
5	3E	40	2700	14,7	4	10	42
6	2K	39	3800	18,00	8	18	96
7	3K	40	3600	17,8	5	14	72
8	3E	41	3900	12,6	5	11	70
9	3K	40	2850	13,4	6	9	36
10	3E	40	3400	13,8	6	13	30
11	3E	40	3000	14,9	5	10	62
12	2E	39	3100	14,4	10	15	24
13	3K	40	3600	14,7	7	16	48
14	3K	39	3300	17,5	8	18	72

Fototerapi ön. ; Top. : 90 Ort. : 6,428571 St. Hata: 0,52 MN Dağ: 5-10

Fototerapi Son. ; Top. : 190 Ort. : 13,57142 St. Hata: 0,84 MN Dağ: 9-18

P(0,001) Fot. Süresi Dağ: 24-96

hiperbilirubinemisi olmayan sağlıklı 14 bebekte MN frekansı incelenmiş ve elde edilen değerler araştırma grubunun fototerapi öncesi ve sonrası MN değerleri ile karşılaştırılmıştır. Buna göre; kontrol grubunu oluşturan 14 bebeğin incelenen 14.000 çift çekirdekli hücrelerinde toplam 123 MN gözlenmiş ve MN dağılımının 5-13 arasında değiştiği saptanmıştır. Kontrol grubu için hesaplanan ortalama MN frekansının $8,79 \pm 0,66$ olduğu (Tablo 4) ve bu değer 28 bireyden oluşan araştırma grubunun fototerapi öncesi ortalama MN frekansı olan $6,53 \pm 0,33$ 'den $p < 0,05$ düzeyinde yüksek, fototerapi sonrası ortalama MN frekansı olan $14,07 \pm 0,60$ '-dan $p < 0,001$ düzeyinde düşük olduğu tesbit edilmiştir. (Tablo 5).

TABLO 4:

KONTROL GRUBUNU OLUŞTURAN OLGULARDA MN DEĞERLERİ

No	Yaş	Cinsiyet	Gebelik Süresi	Ağırlık	MN İnsidansı
1	4	E	39	3100	7
2	4	K	40	3810	10
3	6	K	40	3500	9
4	3	E	39	3400	12
5	4	E	39	2500	11
6	4	E	39	3500	10
7	4	K	40	3600	13
8	6	K	41	4000	11
9	4	E	40	3200	8
10	6	K	40	3200	8
11	4	K	39	3300	7
12	5	E	39	3600	6
13	6	E	40	3700	5
14	4	E	40	3800	6

MN; Top: 123 Ort.:8,79 St.Hata:0,66 Dağ:5-13

TABLO 5:

FOTOTERAPİ İLE GÖZLENEN MN FREKANSININ ÖNEM KONTROLÜ

Araştırma Grubu:	Toplam MN		Ortalama MN Frekansı \pm S.H	
	F.ö	F.S	F.ö	F.S
A- Beyaz Işık (14 birey)	93	204	6,71 \pm 0,42	14,57 \pm 0,88
B- Mavi Işık (14 birey)	90	190	6,43 \pm 0,52	13,57 \pm 0,84
Toplam (28 birey)	183	394	6,54 \pm 0,33*	14,07 \pm 0,60**
Kontrol Grubu: (14 birey)		123		8,78 \pm 0,66

* Kontrol grubunun ortalama MN frekansından önemli derecede düşük (P(0,05))

** Kontrol grubunun ortalama MN frekansından önemli derecede yüksek (P(0,001))

TARTIŞMA

Yenidoğan hiperbilirubinemi tedavisinde halen en yaygın metod sarılıklı bebeklerin floresan ışığına maruz bırakılmasıdır. Fototerapinin hiperbilirubinemi tedavisindeki yararlarının iyi bilinmesi ve çok yaygın kullanılması, oluşturduğu hasarların, özellikle ışıkla oluşan genetik anomaliler konusundaki araştırmaların giderek artmasına neden olmuştur.

Bu konuda yapılan ilk çalışmalar şiddetli görünür ışığın bakterileri öldürdüğünü ve *Escherichia colide* mutasyonlara sebep olduğunu göstermiştir. Günümüzde yapılan çalışmalar 400 nm dalga boyunun altındaki fototerapi uygulamasının ökaryotik hücrelerin genetik materyallerinde hasar yapabileceğini ortaya koymuştur. Ancak bu dalga boyunun fototerapide kullanılan dalga boyundan daha kısa olduğu bildirilmiştir (32,44).

Amato ve arkadaşları (1) 24 saat 420-500 nm. dalga boyunda mavi ışıkla fototerapi uygulanan yenidoğanlarda kromozom analizleri yapmışlar ve sirkülasyonda bulunan lenfositlerin genetik materyalinde herhangi bir düzensizlik bulamamışlardır. Ancak bu çalışma ile fototerapinin deri fibroblastları ve kız bebeklerdeki gelişmemiş ovaryum gibi diğer dokulara zararsız olduğunun gösterilemeyeceğini vurgulamışlardır.

Hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan görünür ışığın hücreler arası olaylar üzerindeki etkileri hakkında çok az bilgi mevcuttur. Hücrelerde ışıkla oluşturulan hasara fototoksite denmiş ve fotosensitif bir bileşik tarafından başlatıldığı açıklanmıştır. Bu durum in vivo olarak ultraviyole ışık ile kimyasalla-

rın birlikte kullanıldığı fotokemoterapi de tanımlanmıştır (3,4,46).

Sandor (39) isimli araştırmacı tarafından yapılan bir araştırmada fototerapinin kromozom yapısına olan etkileri incelenmiş, periferal lenfosit metafazlarının kullanıldığı çalışmada fototerapiden önce ve sonra kromozom kırıklarının sayısında önemli bir fark gözlenememiştir.

Rosenstein ve Ducore (38)'un çalışmalarında, yenidoğan hiperbilirubineminin tedavisinde kullanılan 3 çeşit lamba ışığı ile normal insan fibroblastları in vitro olarak ışınlanmış ve bu ışınlamalar ilave edilen bilirubinin varlığı ve yokluğunda denenmiştir. Işınlanan hücrelerde her üç çeşit lamba ile de DNA kırıkları meydana geldiği görülmüştür. Ancak ortam içerisinde 100/mg/ml bilirubinin varlığında DNA iplikciğinde oluşan kırık oranının 30-40 kat arttığı gösterilmiştir, böylece fototerapi ışığına maruz bırakılan hücrelerde bilirubinin DNA hasarını artıran bir ajan olarak davrandığı belirlenmiştir.

Monticone ve Schneider (33) isimli araştırmacılar, insan fetal akciğer fibroblastlarında, floresan ışığının, DNA harabiyetinin hassas bir göstergesi olarak kabul edilen KKD frekansını anlamlı derecede artırdığı ve hücresele replikasyon kinetiğini baskıladığı sonucuna varmışlardır.

Benzer bir çalışmada Sideris ve arkadaşları(42) fototerapi-de kullanılan floresan ışığın, 420-500 nm. dalga boyundaki mavi bandının DNA kırıklarından, Kardeş Kromatid Değişimlerinden ve hücre ölümlerinden sorumluluğu olduğunu bildirmişlerdir. Bu dalga boyundaki ışık, bilirubin tarafından fazlaca soğurulduğundan bu

metabolitin parçalanmasına sebep olduğu ileri sürülmüştür.

Villaescusa ve arkadaşları (49) floresan ışığının etkisini KKD ile incelemiş ve fototerapinin KKD leri artırdığını gözlemişlerdir. Fakat bazı araştırmacılar tarafından yapılan benzer bir çalışmada, fototerapinin KKD leri artırmadığı tesbit edilmiştir (13,23,41).

Yapılan araştırmalar ile yenidoğan hiperbilirubinemi tedavisinde yaygın kullanılan floresan lambaların görünür ışığının etkileri üzerine bilinenlerin çok az ve sonuçlarının da gelişkinli olduğu görülmüştür. Bu değişkenliğin, kullanılan doku çeşidine, ışığın dalga boyuna, uygulama süresine, ortamda bulunan metabolitlere ve kullanılan metodların çeşidine bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmamızda güvenilirliği çeşitli deneylerle gösterilen MN metodu ile fototerapi ışığının genetik materyal üzerine olan mutajenik etkileri araştırılmıştır. Çalışmalarımızda in vivo yöntemler kullanılmış ve fototerapi uygulanan bebekler esas alınmıştır. Bu bebeklerde fototerapi sonrası gözlenen MN değerinin, fototerapi öncesi gözlenen MN değerinden önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Kontrol grubu olarak ele alınan sağlıklı bebeklerden elde edilen MN değerleri, araştırma grubunda gözlenen fototerapi öncesi ve fototerapi sonrası MN değerleri ile karşılaştırılmıştır. Araştırma grubunda fototerapi öncesi elde edilen MN değerlerinin, kontrol grubunda gözlenen MN değerlerinden düşük ($p < 0,05$) fakat, fototerapi sonrasında elde edilen MN değerlerinin kontrol grubunda gözlenen MN değerlerinden önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Araş-

tırma grubunu oluşturan bebeklerin fototerapi öncesi MN frekansının, kontrol grubu bebeklerin MN frekansından düşük olması, bu bebeklerdeki bilirubin seviyesinin yüksekliğine bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Fototerapi uygulanan bebekler, aldıkları tedavi ışığına göre beyaz ışık ve mavi ışık grubu olarak ayrılmış ve bu gruplar da kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Beyaz ışık alan bebeklerin fototerapi öncesi MN değerleri ile mavi ışık alan bebeklerin fototerapi öncesi MN değerleri arasındaki fark anlamsız olduğu gibi ($p > 0.05$) beyaz ışık grubunun fototerapi sonrası MN değerleri ile mavi ışık grubunun fototerapi sonrası MN değerleri arasındaki farkında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$).

Bu çalışma ile çok fazla sayıda hücre sayma olanağı sağlayan MN tekniğinin, karyotip analizlerinden istatistiksel yönden daha anlamlı sonuçlar verebileceği anlaşılmıştır. Ayrıca MN tekniğinin, genotoksik ajanların araştırılmasında, klastojenik olayları ve iğ mekanizmasındaki defektleri ortaya çıkaran hassas bir test olarak kullanılabilceği gösterilmiştir.

Ancak MN tekniği kullanılarak fototerapinin genotoksik etkilerini araştıran çalışmalara literatürde rastlanmadığı için bu bulgularımızın ayrıntılı tartışması yapılamamıştır.

Bu çalışmada hiperbilirubinemili bebeklere uygulanan fototerapi sonrası MN frekansı fototerapi öncesi ve kontrollere göre anlamlı bir artış göstermiş olup, hem beyaz hem de mavi ışığın genetik materyal üzerine olan etkilerinin, bazı araştırmacıların bildirdikleri kadar etkisiz olmadığı görüşüne varılmıştır.

ÖZET

Araştırmamızda, hiperbilirubinemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan fototerapinin in vivo lenfosit kültürlerinde MN oluşumunu uyarıp uyarmadığı incelenmiştir.

Çalışmamızda, araştırma grubunu oluşturan 28 bebeğin fototerapi uygulamasından sonra elde edilen MN değerlerinin ortalaması $14,07 \pm 0,60$ olarak bulunmuş ve bu değer fototerapi uygulamasından önce elde edilen değerden ($6,54 \pm 0,33$) istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$). İncelenen bebekler kullanılan fototerapi ışığına göre iki gruba ayrılmıştır. 14 bireyden oluşan beyaz ışık grubunun fototerapi öncesi elde edilen MN değeri $6,71 \pm 0,42$ olarak bulunmuş ve bu değer mavi ışık grubunun fototerapi öncesi elde edilen değerden ($6,43 \pm 0,52$) istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$). Yine beyaz ışık grubunun fototerapi sonrası MN değerleri ($14,57 \pm 0,88$) ile mavi ışık grubunun fototerapi sonrası MN değerleri ($13,57 \pm 0,84$) arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir ($p > 0,05$).

Çalışmalarımızda kontrol grubu olarak 14 sağlıklı bebek ele alınmış ve yapılan lenfosit kültürlerinde MN frekansı incelenmiştir. Kontrol grubunda gözlenen ortalama MN değeri $8,79 \pm 0,66$ ile fototerapi öncesi elde edilen ortalama MN değeri olan $6,54 \pm 0,33$ arasındaki farkın da anlamlı olduğu anlaşılmıştır ($p < 0,05$). Fototerapi sonrası kültürlerinden elde edilen ortalama MN değeri $14,07 \pm 0,60$ olarak bulunmuş ve kontrol grubu kültürlerinde gözlenen ortalama MN değerinden ($8,79 \pm 0,66$) istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$).

SUMMARY

White and blue fluorescent light is commonly used phototherapeutic treatment for hyperbilirubinemic infants. The effect of phototherapy on the micronucleus (MN) induction in in-vivo lymphocyte cultures has been investigated, and the results were presented in this work. In our study, the mean MN values of 28 infants before and after the phototherapy were $6,54 \pm 0,33$ and $14,07 \pm 0,60$ respectively. The increase in mean MN value after phototherapy was statistically significant ($p < 0,001$). During the therapy the half of the patients were exposed white fluorescent light sources and the remaining half were treated with blue fluorescent light sources. MN induction due to white fluorescent light sources were slightly higher than blue light ($14,57 \pm 0,88$ vs $13,57 \pm 0,84$) but the increase was statistically insignificant ($p > 0,05$). Additionally, in-vivo lymphocyte cultures obtained from 14 healthy babies had mean MN values of $8,79 \pm 0,66$ was insignificantly higher than pre phototherapeutic mean MN value, $6,54 \pm 0,33$, of the patients. This study shows that phototherapy regardless of the light sources increases MN values in in-vivo lymphocyte cultures.

KAYNAKLAR

1- Amato, M., Muralt, V.G., Auf Der Maur, P. (1985). Double direction phototherapy and light-induced genetic abnormalities in human lymphocytes. *Helvetia Paediatrica Acta*, 40:285-291.

2- Ayyash, H., Hadjigeorgiou, E., Sofatzis, J., Chatziioannou, A., Nicolopoulos, D. and Sideris, E. (1987). Green light phototherapy in newborn infants with ABO hemolytic disease, *Journal Pediatr*, 111:882-887.

3- Bredberg, A. (1981) DNA damage in human skin fibroblasts exposed to UVA light used in clinical PUVA treatment. *J. Invest. Dermatol.* 76:449-451.

4- Bredberg, A., Lambert, B., Lindblad, A. et al (1983). Studies of DNA and chromosome damage in skin fibroblasts and blood lymphocytes from psoriasis patients treated with 8-Methoxy psoralen and UVA irradiation. *J. Invest. Dermatol* 81:93-97.

5- Brown, A.K., Mc Donagh, F.A. (1980). Phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia: efficiency, mechanism and toxicity. *Adv Pediatr*, 27:341-344.

6- Callahan, E.W., Thaler, M.M., Karon, M. (1970). Phototherapy of severe unconjugated hyperbilirubinemia, Formation and removal of labeled bilirubin derivatives. *Pediatrics*, 46:841-844.

7- Carrano, A.V., Thomson, L.H., Lindl, P.H. and Minkler, J.L. (1978). Sister chromatid exchange as an indicator of mutagenesis. *Nature*, 271:551-553.

8- Carter, S.B. (1967). Effects of Cytochalasins on Mammalian cells. *Nature*, 21:261-264.

9- Cohen, A.N., Ostrow, J.D. (1980). New concepts in phototherapy: Photoisomerization of bilirubin IX and potential toxic effects of light. *Pediatrics*, 65:740-750.

10- Catantino, R., Polidori, G. (1977). Growth and phototherapy. *The J of Pediatrics*, 91:164-168.

11- Countryman, R. I. and Heddle, J.A. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research*, 41:321-332.

12- Cremer, R., Perryman, P.W., Richards, D.H. (1958). Influence of light on the hyperbilirubinemia of infants. *Lancet*, 1:1094-1098.

13- Demirsoy, D., Tunçbilek, E., Oran, D. (1987). Fototerapinin kromozomlar üzerindeki etkisinin in vivo "Sister Chromatid Exchange" Tekniği ile Araştırılması. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 30:17-27.

14- Dobson, V., Cowett, R.M., Riggs, L.A. (1975). Longterm effects of phototherapy on visual function *journal Pediatrics*, 86:555-561.

15- Drew, J.H., Mamaige, K.J., Bayle, V.V. (1976). Phototherapy. Short and Long term complications. *Arch Dis Child*. 51:454-459.

16- Eastmond, D.A. and Tucker, J.D. (1989). Kinetochores localization in micronucleated cytokinesis-blocked chinese hamster ovary cells: A new and rapid assay for identifying aneuploidy-inducing agents. *Mutation Research*, 224:517-525.

17- Ennever, J.F., Carr, H.S., and Speck, W.T. (1983). Potential for genetic damage from multivitamin solutions exposed

to phototherapy illumination. *Pediatric Research*, 17:192-194.

18- Ennever, J.F., Mc Donagh, A.F., Speck, W.T. (1983).
Phototherapy for neonatal jaundice: Optimal wavelengths of light
The journal of Pediatrics, 103:295-299.

19- Erexson, G.L., Kligerman, A.D. and Allen, J.W.
(1987). Diaziquone-induced micronuclei in cytochalasin B-blocked
mouse peripheral blood lymphocytes. *Mutation Research*,
178:117-122.

20- Fenech, M., and Morley, A. A. (1985). Measurement of
micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research*, 147:29-36.

21- Fenech, M., and Morley, A.A. (1985). Solutions to the
kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobios.* 43:233-246.

22- Fenech, M. and Morley, A.A. (1986). Cytokinesis-block
micronucleus method in human lymphocytes:effect of in vivo
ageing and low dose X-irradiation. *Mutation Research*, 161:193-
198.

23- Hatcher, H.N., Risemberg, H.M. (1979). Sister chromatid
exchange and phototherapy. *Mut Res*, 60:401-403.

24- Heddle, J.A., Hile, W., Kirkhart, B., Mavournin, K.,
Mac Gregor, J.T., Newell, G.W., and Salamone, M.F., (1983). The
induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report
of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program.
Mutation Research, 123:61-118.

25- Högstedt, B., Bratt, I., Holmen, A., Hagmar, L., and
Skerfving, S. (1988). Frequency and size distribution of
micronuclei in lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin

and pokeweed mitogen in workers exposed to piperazine. *Hereditas*, 109:139-142.

26-Högstedt, B., and Karlsson, A., (1985). The size of Micronuclei in human lymphocytes varies according to inducing agent used. *Mutation Research*, 156:229-232.

27- Högstedt, B., Karlsson, A., and Holmen, A. (1988). Frequencies of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes stimulated in vitro by phytohemagglutinin and pokeweed mitogen. *Hereditas*, 109:53-55.

28- John, E. (1975). Complications of phototherapy in neonatal hyperbilirubinemia. *Journal Pediatr*, 11:53-58.

29- Krishna, G., Kropka, M.L. and Theiss, J.C. (1989). Use of the cytokinesis-block method for the analysis of micronuclei in V 79 Chinese hamster lung cells: results with mitomycin C and cyclophosphamide. *Mutation Research*, 22:63-69.

30- Maisels, M.J. (1972). Bilirubin, on understanding and influencing its metabolism in the newborn infant. *Pediatr Clin North Am*. 19:477-1972.

31- Maisels, M.J. (1981). Neonatal jaundice In: Avery GB (ed). *Neonatology: pathophysiology and management of the newborn*. Philadelphia. JB. Lippincott.

32- Mc Ginty, L., Fowler, R. (1982). Visible light mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mutation Research*, 95:171-181.

33- Monticone, R.E. and Schneider, E.L. (1979). Induction of sister chromatid exchanges in human cells by fluorescent light. *Mutation Research*, 59:215-221.

34- Nito, S., Ariyuki, F. and Okaniwa, A. (1988). Spontaneous expulsion of micronuclei by enucleation in the micronucleus assay. *Mutation Research*, 207:185-192.

35- Price, W. and Rudolph, N. (1979). Abdominal distension in newborn infants of phototherapy the role of eye occlusion. *Journal Pediatr*, 94:816-820.

36-Ramalho, A., Sunjevaric, I. and Natarajan, A.T. (1988). Use of the frequencies of micronuclei as quantitative indicators of X-ray-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes: Comparison of two methods. *Mutation Research*, 207:141-146.

37-Romagnoli, C., Marrocco, G., Carolis, M.P., Zecca, E., Tortorolo, G. (1987). Phototherapy for hyperbilirubinemia in preterm infants: Green versus blue or white light. *Journal of Pediatrics*, 112:476-478.

38- Rosenstein, B.J. and Ducore, J.M. (1984). Enhancement by bilirubin of DNA damage induced in human cells exposed to phototherapy light. *Pediatric Research*, 18:3-6.

39- Sandor, G. (1973). Phototherapy and chromosome structure. *Lancet*, 15:1384-1385.

40- Schwartz, L.A. (1978). Effect of phototherapy in low birth weight infants on growth and development at two years. *Lancet*, 1:157-158.

41- Schwartz, L.A., Cole, F.S., Fredorek, F. (1979). Phototherapy doesnot increase the sister chromatid exchange frequency in premature infants. *Lancet*, 1:534-539.

42- Sideris, E.G., Papageorgiou, G.C., Charolampous, S.C., and Vitsa, E.M. (1981). A spectrum response study on single strand DNA breaks, Sister Chromatid Exchanges, and lethality induced by phototherap lights. *Pediatric Research*, 1019-1023.

43- Smales, D.R. (1978). Effect of phototherapy on thermal environment of the newborn. Arch Dis Child. 53:172-176.

44- Speck, W., Rosenkranz, H. (1975). Base substitution mutations induced in Salmonella strains by visible light (450nm). Photochem Photobiol. 21:369-371.

45- Suskan, E., Ocal, G., Berki, R. (1986). Yenidoğan hiperbilirubinemisinde fototerapi. Çocuk Hastalıkları Dergisi, 1:24-28.

46- Swanbeck, G., Thyresson, M., Bredberg, A., et al (1975). Treatment of psoriasis with oral Psoralens and longwave ultraviolet light. Acta dermato-venereol. 55:367-379.

47- Teberg, A.J., Hodgman, J.E., Wu, PYK. (1977). Effect of phototherapy on growth of low birthweight infants, two year follow up. J Pediatr, 91-92.

48- Teberg, A.J., Hodgman, J.E., Wu, PYK. (1977). Effect of phototherapy on growth of low birthweight infants, two year follow up. J. Pediatr, 91:92-96.

49- Villaescusa, G., Ugarte, M., Vacues, A. (1977). Sister chromatid exchange in babies treated by phototherapy. Lancet, 11:1084.

50- Wakata, A. and Sasaki, M.S. (1987). Measurement of micronuclei by cytokinesis-block method in cultured Chinese hamster cells: comparison with types and rates of chromosome aberrations. Mutation Research, 190:51-57.

51- Wheeler, L.A., Norman, A. and Riley, R. (1980). Mutagenicity of diatrizoate and other triiodobenzoic acid

derivatives in Ames Salmonella/microsome test. Proc. west. Pharmacol. 23:249-253.

52- Wu, PYK. (1974). Changes in blood flow in the-skin and muscle with phototherapy. Pediatr Res. 8:257-260.

53- Xing, S.G., Shi, X.C., Wu, Z.L. Whong W.Z. and Ong, T. (1989). Effect of tetrandrine on micronucleus formation and sister-chromatid exchange in both in vitro and in vivo assays. Mutation Research, 224:5-10.

ÖZGEÇMİŞ

1962 yılında Sarayönü-Başhüyük Kasabasında doğdum. İlk ve Ortaokulu aynı kasabada okuduktan sonra, 1979 yılında Konya Kız Öğretmen Lisesinden mezun oldum. Aynı yıl Konya Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdim. 1983 yılında bu fakülteden mezun oldum. 1988 yılında S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen aynı anabilim dalında öğretim görevlisi olarak çalışmaktayım.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardım ve ilgilerini esirgemeyen Sayın Hocam ve tez yöneticim Yrd.Doç.Dr. Sennur DEMİREL'e, çalışmalarım esnasında gereken yardımı gösteren Sayın Hocam Doç.Dr. Aynur ACAR'a ve gereken kolaylıkları sağlayan anabilim dalımız başkanı Sayın Hocam Prof.Dr. Ferhan PAYDAK'a ve Sayın Hocam Yrd.Doç.Dr. Ahmet ABLAN'a teşekkür ederim.

Olguların temin edilmesinde gereken titizliği gösteren Pediatri Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Ahmet Faik ÖNER'e teşekkürü bir borç bilirim.