

FOTOTERAPİNİN HÜCRE KİNETİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ*

A. Tükün**

N. Kuyucu***

A. Sunguroğlu**

G. Öcal***

I. Bökesoy**

İlk kez 1958'de; bazı sarılıklı çocukların gün ışığında kalan kanlarında bilirübinin kaybolduğunun gözlenmesinden sonra, ışık-bilirübin etkileşimi noktasından hareketle, Cremer ve Perryman tarafından tanımlanan fototerapi; 1968 yılından bu yana indirekt hiperbilirübeni tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Fototerapinin gastroenterit, retina hasarı gibi klinik olarak saptanabilen hasarları dışında, uzun dalga boyunda bir radyasyon olması nedeni ile genetik maddeyi de etkileyebileceği tartışılmaktadır (3).

Mutajenitenin saptanması için tanımlanan çeşitli testlerden (4) bir tanesi de son yıllarda sıklıkla kullanılan Hücre Kinetik İndeksi (CKI)'dir (5). Bu testin temeli, mitoz sürelerinin tayinidir. Hücreler in vitro koşullarda, doku tipine de bağlı olarak belirli sürelerde mitoz girerler. Bu sürenin belirlenmesinde kişisel özellikler rol oynarken; fiziksel, kimyasal ve diğer çevresel etkiler hızı değiştirebilirler. Hücre siklusunda oluşan değişiklikler, mitozun çeşitli evrelerinde hatalara ve mutasyonlara neden olurlar (6). Bu nedenle hücrenin siklus hızının saptanması, mutajen etki hakkında bilgi verebilir.

Sunulan çalışmada; fototerapinin olası mutajenik etkisinin CKI ile araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Klinik özellikleri tablo I'de özetlenen 10 hiperbilirübinemik ve 10 sağlıklı yenidoğandan alınan periferik kan, % 20 FCS ve 10 mg/ml BrdU içeren M199 ile hazırlanmış vasatlarda 72 saat 37 C'da inkübe edilmiştir. Karanlıkta yürütülen kültür işleminden sonra hazırlanan preparatlarda Kohenber-Freedlender (7) yöntemi ile differensiyasyon sağlanmıştır.

* Bu araştırmada A.Ü.T.F. Araştırma Fonu tarafından desteklenen 87090001 proje no.lu çalışmamızda kullanılan materyalden yararlanılmıştır.

** A.Ü.T.F. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

*** A.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Tablo I : Hasta ve kontrol grubunun klinik özellikleri

	n	Gastasyon Yaşı (hafta)	Doğum Ağırlığı (gram)	Yaşı (gün)
Hasta	10	39.5+1.7	3160+358.9	3.5+1.18
Kontrol	10	40.0+0.0	3410+480.0	2.5+1.44

Bu işlem hasta grubunda; fototerapi bitiminde ve iki gün sonra yenilenmiştir.

Her kültür için sayılan 100 metafazdaki birinci, ikinci ve üçüncü mitozlar saptanmış ve $CKI = (M1+2.M2+3.M3)/100$ formülü ile hücre kinetik indeksi çıkarılmıştır (5).

Sonuçlar Mann-Whitney U ve Wilcoxon testleri ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmanın sonunda elde edilen CKI değerleri tablo II'de verilmiştir.

Tablo III'te gösterilen, gruplararası karşılaştırmalarda; hasta grubundan elde edilen fototerapi öncesi, bitimi ve iki gün sonrası değerleri arasında olduğu gibi, bunlarla kontrol grubu değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo II : Kontrol ve hasta grubunun CKI değerleri

Kontrol Grubu	Hasta Grubu		
	FTÖ*	FTS**	2 Gün Sonra
1.80	1.99	1.88	2.00
1.88	1.91	2.14	1.95
1.84	1.94	1.88	1.86
2.02	1.84	2.03	1.87
2.00	2.02	1.79	1.83
1.92	1.89	1.94	1.99
1.88	1.90	1.92	1.88
1.82	1.88	1.80	2.15
1.89	1.88	1.87	1.85
1.98	1.91	1.83	1.82

* FTÖ : Fototerapi öncesi

** FTS : Fototerapi sonrası

Tablo III : Gruplararası karşılaştırma

	Kontrol	Fototerapi Öncesi	Fototerapi Sonrası	2 Gün Sonra
Kontrol		$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
Fototerapi öncesi	$p > 0.05$		$p > 0.05$	$p > 0.05$
Fototerapi sonrası	$p > 0.05$	$p > 0.05$		$p > 0.05$
2 gün sonra	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	

TARTIŞMA

Hiperbilirubineminin başlıbaşına genetik materyal üzerinde hasar yapıcı etkisinin olabileceği düşünüldüğü için, çalışmamızda ilk olarak sağlıklı ve hiperbilirubinemik yenidoğanların CKI değerleri karşılaştırıldı.

Bu konuda Demirsoy ve arkadaşlarının 1987'de yayınlanan çalışmalarında; hiperbilirubinemik yenidoğanlarda SCE değerlerinin özellikle 1 numaralı kromozomda olmak üzere, fototerapi sonrasında anlamlı miktarda azaldığı bildirilmiş ve bunun hiperbilirubinemiye bağlı olabileceği tartışılmıştır (8).

Ancak bizim çalışmamızda, hiperbilirubinemik ve sağlıklı yenidoğanlar arasında CKI üzerinden yapılan değerlendirmelerde anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Fototerapinin DNA üzerindeki etkisinin araştırılması için hiperbilirubinemik yenidoğanların fototerapi öncesi ve sonrası CKI değerleri karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Sideris ve arkadaşlarının bir çalışmalarında ise fototerapide kullanılan 420-500 nm dalga boyundaki ışığın kromozom kırık ve SCE sayısını arttırdığı yani DNA üzerinde hasar yapıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (9).

Bir mutajenle karşılaşan hücrede, mutajenik etkinin sürekli olmaması durumunda; oluşan hatalar, bu etkiyi izleyen siklus süresinde onarılır (4). Buna dayanarak; hasta grubunda, fototerapiden 48 saat sonra elde edilen değerler, fototerapinin bitimindekilerle karşı-

laştırılmış, ancak fark gözlenmemiştir. Bu sonuç da fototerapinin, hücre siklusunu değiştirmek yolu ile DNA üzerinde hasar yaratıcı etkiye sahip olmadığını desteklemektedir.

Hatcher doğum esnasında yüksek olan SCE sayısının, bunu izleyen günlerde giderek azalarak normale döndüğünü bildirmiştir (10). Bu nedenle çalışmamızdaki tüm yenidoğanların yaş ortalamalarının hemen hemen aynı olmasına dikkat edilmiştir. Bu nedenle, diğer çalışmaların bu yönden değerlendirilmesi gerektiği düşünülebilir.

Seçilen mutasyon testlerinin farklı olmasının, sonuçlardaki çelişkiye yol açtığı düşünülebilir. Daha önce yapılan çalışmalar, hücre kinetiğini değiştiren ajanların aynı zamanda kromozomlarda hataların artmasına yol açtığı yönündedir (5). Yaptığımız çalışma sonucunda; fototerapinin hücre siklusunu etkilemediği gözlenmiştir. Aynı preparatlar üzerinden yapılan diğer bir araştırmamızda; elde edilen SCE değerlerinde de anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Buna göre, fototerapinin hücre kinetiğinden bağımsız olarak da DNA'da hasar yaratmadığı düşünülebilir.

DNA hasarı yapıcı etkilerinin var olduğu bilinen X-ışını ve UV'nin (1,2) iyonize edici etkisine karşın, floresan ışığı cisimlerle fotokimyasal reaksiyona girer (3,9). Bu nedenle diğer ışınlardan farklı olarak değerlendirilerek, DNA üzerindeki etkisinin aydınlatılması için çalışmaların artırılması gerekmektedir.

ÖZET

Sağlıklı yenidoğanlardan doğumu izleyen ilk bir hafta içinde ve hiperbilirubinemik yenidoğanlardan fototerapi öncesi, sonrası ve iki gün sonrası alınan periferik kan, 10 mg/ml final konsantrasyonda BrdU içeren vasatlara ekilmiştir. Karanlıkta yürütülen kültür işlemi sonunda hazırlanan preparatlarda birinci, ikinci ve üçüncü mitozlar sayılmıştır. Hücre kinetik indeksi (CKI) $CKI = (M1 + 2.M2 + 3.M3)/100$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar fototerapinin CKI üzerinde çok belirgin bir etkisinin olmadığını düşündürmüştür.

SUMMARY

Effects of Phototherapy on Cell Kinetics

Blood cultures were obtained from healthy newborns at first week of life, newborns with hyperbilirubinemia before and after the phototherapy for the analysis of cell kinetics with a repeat two days later. Cultures were carried on dark with a final concentration of BrdU 10 mg/ml. Slides were screened for the first, second and the third mitotic division. Cell Kinetics Index (CKI) was evaluated with the formula of $CKI = (M1 + 2.M2 + 3.M3)/100$. Findings were suggested no obvious effect has phototherapy on CKI

KAYNAKCA

1. Das BC Sharma T : The fate of X-ray-induced chromosome aberrations in blood lymphocyte culture. *Mutat. Res.*, 176 : 93-104, 1987.
2. Balakrishna Murthy P Abdul Rahiman M Tulpule PG :UV-Induced Chromosome Aberrations, Sister-Chromatid Exchanges and Cell Survival in Cultured Lymphocytes from Malnourished Children. *Pediatr. Res.*, 16 : 663-664, 1982.
3. Vogel F Motulsky AG : Human Genetics, Problems and Approaches. Second ed. : Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, pp 330-359, 1982.
4. Kilbey BJ Legator M Nichols W Ramel C : Handbook of Mutagenicity Test Procedures : Elsevier Scientific Publishing Company, 1977.
5. Tucker JD Christensen ML : Effects of antikoagulants upon sister-chromatid exchanges, cell-cycle kinetics, and mitotic index in human peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.*, 190 : 225-228, 1987.
6. Mutchinick O Ruz L Gonsebatt ME Mauleon P Lisker R Garcia G : Frequency and Types of Induced Spontaneous Chromosome Aberrations in Relation to Cell Kinetics. *Hum. Genet.*, 59 : 137-140.
7. Korenberg IR Freedlender EF : Giemsa technique for the detection of SCE. *Chromosoma*, 48 : 355-360, 1974.

8. Demirsoy D Tunçbilek E Oran O : Fototerapinin kromozomlar üzerindeki etkisinin in vivo «Sister Chromatid Exchange» tekniği ile araştırılması. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 30 : 17-27, 1987.
9. Sideris EG Papageorgiou GC Charalampous SC Vitsa EM : A Spectrum Response Study on Single Strand DNA Breaks Sister Chromatid Exchanges, and Lethality Induced by Phototherapy Lights. Pediatr. Res., 15 : 1019-1023, 1981.
10. Hatcher NH Risemberg HM Powers MM Hook EB : Sister Chromatid Exchange and Phototherapy. Mutat. Res., 60 : 401, 1979.