

FOTOTERAPİNİN KROMOZONLARDA İN VİVO KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİM ORANINA ETKİSİ

Dr. Ümran ÇALIŞKAN*, Dr. Aynur ACAR**, Dr. Ahmet Faik ÖNER*,
Dr. Hasan ACAR**, Dr. Hasan KOÇ*, Dr. İbrahim ERKUL*
*S.Ü.T.F. Pediatri A.B.D., **S.Ü.T.F. Bio. ve Gen. A.B.D.

ÖZET

Bu araştırmada, yenidoğan indirek hiperbilirubineminin tedavisinde kullanılan beyaz ve mavi flouresan ışınlarının, in vivo lenfosit kültürlerinde, KKD sıklığı üzerine olan etkisi incelenmiştir. Araştırma grubu, kullanılan flouresan ışığın özelliğine göre 15'er kişilik bireylerden oluşan iki gruba ayrıldı. Araştırma grupları fototerapi önce ve sonrası ile 15 sağlıklı yenidoğandan oluşan kontrol grubu KKD sıklıkları karşılaştırıldı. Bulgularımız, mavi ve beyaz flouresan lambalarla yapılan fototerapinin KKD sıklığını etkilemediğini göstermektedir. Ayrıca kromozom gruplarına göre yapılan değerlendirmelerde farklı şekilde etkilenen kromozom grubu tesbit edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Fototerapi, Kardeş Kromatid Değişimi.

SUMMARY

The Effect of Phototherapy on The Sister Chromatid Exchange Rate of Chromosomes

The blue and white fluorescent lamps are usually used in the treatment of neonatal hyperbilirubinemia. In-vivo lymphocyte culture of blood samples from the exposed neonates were studied for sister chromatid exchange (SCE) frequencies. The patients were divided into two groups according to the light sources that were used. Each group contained 15 patients. Also, 15 normal healthy neonates were included without treatment as a control group in this study. The effect of light sources on the SCE rate was determined before and after the light treatments and compared with those of control group. This study shows that blue and white fluorescent light sources did not significantly alter the SCE rate in in-vivo lymphocyte culture of the blood samples obtained from hyperbilirubinemic patients.

Key Words: Phototherapy, Sister Chromatid Exchange

GİRİŞ

Hiperbilirubinemi yenidoğanlarda sık rastlanan bir bulgudur. Etyolojisinde çeşitli sebepler söz konusu ise de, tedavisinde temel yaklaşım yüksek bilirubin seviyesinin düşürülmesidir (1). Cramer ve arkadaşlarının (2) flouresan ışığına maruz kalan bebeklerde bilirubin seviyesinin düştüğünü gözlemelerinden sonra, fototerapi tüm dünyada hiperbilirubineminin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (2,3). Fototerapide genellikle mavi ve beyaz flouresan lambalar kullanılır. Mavi ışığın beyaz ışığa göre daha etkili, ancak yan etkilerinin daha fazla olduğu görüşü savunulmuştur (1,4).

Bu kadar yaygın kullanılan fototerapiye bağlı olarak meydana gelen sulu, -sık dışkılama, deri döküntüleri, sıvı kaybında artış, abdominal distansiyon gibi etkiler kısa sürede düzeldiğinden, klinikte fazlaca önem arzetmezler (5,6,7). Ayrıca, bugün için uzun süreli klinik ve biyolojik önemi bilinmeyen metabolik ve organik yan etkileri de bildiril-

miştir (1,8,9,10,11,12). Kromozom hasarı yaptığı bilinen ultraviyole ışınlarının dalga boyunun flouresan ışığın dalga boyuna yakın olması nedeniyle, fototerapinin kromozomlar üzerine olan etkisi çeşitli çalışmalarla ele alınmış ve flouresan ışığın in vitro kromozom hasarı yaptığı, ayrıca ortama bilirubin ilave edildiğinde bu hasarın daha fazla arttığı gösterilmiştir (13,14,15).

Kromozom hasarını inceleme metodları içinde son yıllarda geliştirilen "Kardeş Kromatid Değişimi" tekniği ile çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanların mutajenik potansiyellerinin hassas bir şekilde gösterilebileceği yaygın görüş halini almıştır (16,17,18,19). İn vitro çalışmalarda fototerapinin DNA üzerinde olumsuz etkileri bildirilmekle birlikte, "Kardeş Kromatid Değişimi" tekniği ile in vivo olarak sınırlı sayıda ve çelişkili görüşler ileri sürülmüştür (20,21,22,23). Bu nedenle çalışmamızda fototerapide kullanılan mavi ve beyaz flouresan ışınlarının DNA üzerindeki etkilerinin, in vivo "Kardeş Kromatid Değişimi" (KKD) metodu kullanarak, mukayeseli olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD:

Bu çalışmada, Ocak 1990-Ağustos 1990 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Ünitesinde hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapiye alınan 15'i kız, 15'i erkek 30 yenidoğan bebek incelendi ve bebekler kullanılan flouresan ışığın özelliğine göre Mavi ve Beyaz Işık grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Araştırma gruplarındaki bebeklerde gestasyonel yaşın 37 haftadan, doğum ağırlığının 2500 gr'dan fazla, yaşının 72 saatten az olması, ayrıca hiperbilirubinemi dışında başka probleminin olmaması özellikleri arandı. Fototerapi mavi ve beyaz (Phillips 20 W) 6'şar adet flouresan lambalarla elde edilip, gözler hariç tüm vücuda, 40 cm yukarıdan uygulandı.

Kontrol grubu da, gestasyonel yaşları 38-40 hafta, doğum ağırlığı 2800-4000 gr, yaşları 3-7 gün arasında değişen, yenidoğan sarılığı dahil herhangi bir problemi olmayan 7'si erkek, 8'i kız 15 bireyden oluşuyordu.

KKD analizleri aynı hastanenin Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Sitogenetik Laboratuvarında yapıldı. Araştırma gruplarında fototerapi önce ve sonrasında olmak üzere iki kez kan alındı. Alınan bu numuneler %20 Fetal Calf Serum (Gibco), % 3 Phytohemagglutinin-M (Gibco) içeren 5 ml'lik Mc Coys 5A (Gibco) besi ortamına steril olarak ilave edildi. Üreme periyodunun 24 üncü saatinde 10 mg/ml 5-Bromo-2 deoxyuridine (BrdU) ilave edilerek 3 günlük üreme periyodu tamamlandı. Kromozom preparasyonlarını hazırlama ve KKD'lerini gözlemede standart işlemler uygulandı (18,24). Sonuçlar student's "t" testi metodu ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Çalışmada araştırma gruplarında fototerapi önce ve sonrasında olmak üzere beyaz ışık grubunda 600, mavi ışık grubunda 600, kontrol grubunda ise 300 metafaz plağı incelendi.

Araştırma ve kontrol gruplarının özellikleri ile beraber ortalama KKD sıklıkları Tablo I'de gösterilmiştir.

Beyaz ışık grubunun ortalama KKD sıklığı fototerapi öncesinde 6.90 ± 1.65 , sonrasında 6.85 ± 1.66 olup, aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($P > 0.5$). Bu değerler kontrol grubunun ortalama KKD sıklığı (6.26 ± 1.47) değeri ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.1$) (Tablo 2).

Mavi ışık grubunun ortalama KKD sıklığı fototerapi öncesinde 6.43 ± 1.74 olup, ara-

TABLO-1: Araştırma ve Kontrol Gruplarının Özellikleri ve KKD Sıklıkları

ÇALIŞMA GRUBU	DOĞUM AĞIRLIĞI "Gram" Dağılım () Ortalama	GEBELİK SÜRESİ "Hafta" Dağılımı () Ortalama	İNDİREK BİLİRÜBİN "mg/dl" Dağılım () Ortalama	KKD SIKLIĞI* "Mefataz Başına Düşen Dağılım"	ORTALAMA
Beyaz Işık Grubu	(2500-4300) 3446	(38-41) 39.5	(10.8-17.6) 13.75	Fototerapi öncesi: 3-14 Fototerapi sonrası: 3-12	6.90±1.65 6.85±1.66
Mavi Işık Grubu	(2500-3800) 3276	(38-41) 39.6	(13.6~18.2) 15.6	Fototerapi öncesi: 3-12 Fototerapi sonrası: 2-15	6.43±1.51 6.43±1.74
Kontrol Grubu	(2900-4000) 3310	(38-41) 39.6	(-) -	3-11	6.26±1.47

*: Her bir vak'ada 20 metafaz plağı sayılmıştır.

TABLO-2: Beyaz Işık Grubu Fototerapi Öncesi, Sonrası ve Kontrol Grubu KKD Sıklıklarının Karşılaştırılması

Fototerapi Öncesi	Fototerapi Sonrası	Kontrol Grubu
6.90±1.65	6.85±1.66	6.26±1.47
Fototerapi Öncesi-Sonrası	: t: 0.1	p>0.5
Fototerapi Öncesi-Kontrol	: t: 1.1	p>0.1
Fototerapi Sonrası-Kontrol	: t: 1.01	p>0.1

TABLO-3: Mavi Işık Grubu Fototerapi Öncesi, Sonrası ve Kontrol Grubu KKD Sıklıklarının Karşılaştırılması

Fototerapi Öncesi	Fototerapi Sonrası	Kontrol Grubu
6.43±1.51	6.43±1.74	6.26±1.47
Fototerapi Öncesi-Sonrası	: t: 0	
Fototerapi Öncesi-Kontrol	: t: 0.28	p>0.5
Fototerapi Sonrası-Kontrol	: t: 0.28	p>0.5

larındaki fark anlamsızdı. Bu değerler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildi ($p>0.5$) (Tablo 3).

Keza, her iki grupta kromozom gruplarına göre ayrı ayrı yapılan değerlendirmelerde fototerapi öncesi, sonrası ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır (Tablo 4,5).

TABLO-4: Beyaz Işık Grubu Fototerapi Öncesi, Sonrası ve Kontrol Grubunun Kromozom gruplarına Göre KKD sıklıklarının karşılaştırılması

KROMOZOM GRUPLARI									
	A1	A2	A3	B	C-X	D	E	F	G-Y
Fototerapi Öncesi	15.33±2.35	12.66±2.21	11.13±4.11	20.0±4.11	55.53±7.79	15.86±4.97	4.13±1.08	2.0±1.31	1.6±0.95
Fototerapi Sonrası	14.40±2.02	11.60±3.51	10.13±2.94	20.93±3.83	57.13±9.7	14.66±4.02	4.75±1.91	1.8±1.42	1.6±1.2
Kontrol Grubu	18.86±4.33	11.26±2.67	10.06±2.97	18.73±4.13	50.86±3.68	12.83±2.95	3.53±1.20	2.0±1.15	1.26±0.85
Fototerapi Öncesi-Sonrası	t: 1.13 p>0.1	t: 0.97 p>0.1	t: 0.75 p>0.1	t: 0.62 p>0.5	t: 0.49 p>0.5	t: 0.75 p>0.1	t: 1.06 p>0.1	t: 0.4 p>0.5	t: 0.
Fototerapi Öncesi Kontrol	t: 0.36 p>0.5	t: 1.53 p>0.1	t: 0.79 p>0.1	t: 0.82 p>0.1	t: 1.97 p>0.05	t: 2.02 p>0.05	t: 1.42 p>0.1	t: 0	t: 1.03 p>0.1
Fototerapi Sonrası Kontrol	t: 0.36 p>0.5	t: 0.29 p>0.5	t: 0.1 p>0.5	t: 1.49 p>0.1	t: 1.97 p>0.05	t: 1.38 p>0.1	t: 2.03 p>0.05	t: 0.4 p>0.5	t: 0.89 p>0.1

TABLO-5: Mavi Işık Grubu Fototerapi Öncesi, Sonrası ve Kontrol Grubunun Kromozom Gruplarına Göre KKD Sıklıklarının Karşılaştırılması

KROMOZOM GRUPLARI									
	A1	A2	A3	B	C-X	D	E	F	G-Y
Fototerapi Öncesi	13.86±2.6	13.13±4.06	10.97±2.2	18.06±4.18	51.33±7.04	13.86±4.12	3.8±1.9	2.6±1.08	1.06±0.7
Fototerapi Sonrası	15.53±3.5	14.2±4.50	10.2±3.3	19.86±4.8	51.66±7.14	11.8±2.87	3.0±1.26	1.6±1.2	0.93±0.85
Kontrol Grubu	14.86±4.33	11.26±2.67	10.06±2.97	18.73±4.13	50.86±3.86	12.83±2.95	3.53±1.20	3.53±1.20	1.26±0.85
Fototerapi Öncesi-Sonrası	t: 1.43 p>0.1	t: 0.69 p>0.5	t: 0.67 p>0.5	t: 1.03 p>0.5	t: 0.12 p>0.5	t: 1.48 p>0.1	t: 1.33 p>0.1	t: 2.05 p>0.05	t: 0.44 p>0.5
Fototerapi Öncesi Kontrol	t: 0.76 p>0.1	t: 1.59 p>0.1	t: 0.78 p>0.1	t: 0.43 p>0.5	t: 0.43 p>0.5	t: 0.09 p>0.1	t: 0.23 p>0.5	t: 1.46 p>0.1	t: 0.68 p>0.5
Fototerapi Sonrası Kontrol	t: 0.45 p>0.5	t: 2.13 p>0.5	t: 0.12 p>0.05	t: 0.67 p>0.5	t: 0.85 p>0.1	t: 0.9 p>0.1	t: 1.13 p>0.1	t: 1.08 p>0.1	t: 0.89 p>0.1

TARTIŞMA:

In-vivo periferik kan lenfosit kültürlerinden elde edilen metafazların incelendiği çalışmamızda, araştırma ve kontrol grubu vak'alarının hemen hepsinde kromozom ve kromozom grupları arasındaki KKD dağılımı homojen bulunmuş ve kromozomlardaki BrdU hassasiyeti benzerlik göstermiştir. İncelenen metafazlarda A₁,A₂,A₃,B,C-X kromozom grupları D,E,F,G-Y gruplarına göre daha fazla KKD sıklığı göstermişlerdir. Bu sıklık kromozom uzunlukları ile orantılı olup, bu bulgu kromozom uzunluğu ve KKD sıklığı arasındaki ilişki ile ilgili daha önceki çalışmaların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur (5,25,26).

Beyaz ve mavi ışık gruplarında fototerapi öncesi, sonrası ve kontrol grubu KKD sıklıkları karşılaştırıldıklarında aralarında önemli bir fark bulunmamıştır. Daha önce KKD metodu kullanan Hatcher (21) ve Schwartz (22) beyaz ışık fototerapisi ile Amato ise (20) mavi ışık fototerapisi ile benzer çalışmaları yapmışlar ve fototerapinin KKD sıklığını etkilemediğini gözlemişlerdir. Sandor (27) beyaz flouresan ışığı, Schroether (26) mavi flouresan ışığı kullanarak yaptıkları çalışmalarda spontan kromozom kırıklarının fototerapi önce ve sonrasında değişmediğini gözlemişlerdir. Demirsoy ve arkadaşları (28) beyaz ışık fototerapisi ile benzer sonuçları göstermekle beraber, bulgularıyla KKD sıklığına etkili faktörlerin daha çok A₁ kromozomunu etkilediği görüşünü ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda her iki grupta, kromozom gruplarında, ayrı ayrı incelemelerde farklı şekilde etkilenen herhangi bir kromozom grubu tesbit edilmemiştir. Keza diğer çalışmalarda da benzer bulguya rastlanmamıştır.

Bu bulgular mavi ve beyaz flouresan lambalarla yapılan fototerapinin kromozomlarda tesbit edilebilir genetik hasar yapmadığını göstermektedir. Bu bulgularla beraber Villaescusa (23) yaptığı çalışmada fototerapinin prematürelde daha bariz olmak üzere, yeni doğanlarda KKD sıklığını artırdığını gözlemiştir. Çalışmasında fototerapi öncesi KKD sıklıkları belirtilmemekle beraber, sonuçları bizim ve KKD tekniğini kullanan diğer araştırmacıların sonuçlarına ters düşmektedir.

In vitro çalışmalarda fototerapi ile oluşan kromozom hasarının bilirübinli ortamda arttığı bildirilmiştir (14,15). Bu bulgu fototerapi ile birlikte bilirübininde kromozomlar üzerine olumsuz etkileri olduğu sorusunu getirmektedir. Çalışmamızda fototerapi öncesi hiperbilirübinemili bebeklerde kontrol grubuna göre KKD sıklığında anlamlı fark bulunmaması, sözkonusu şüpheyi gidermektedir.

Schwartz (22) invitro çalışmalarda oluşan DNA hasarının in vivo çalışmalarda görülmemesinden hareket ederek, ışın dozunun organizma tarafından tolere edilen sınırı geçmediği veya muhtemel hasarın DNA tamir mekanizmaları ile onarıldığı görüşünü ileri sürmüştür. Ancak Schroether'in (26) kromozom kırıklarını gözleme metoduna karşılık, biz bu çalışmada DNA seviyesinde hasar olmadığını gösterebildik. Ayrıca in vitro ve invivo ortamların farklı olduğu göz ardı edilse dahi en azından in vivo şartlarda fototerapi'de DNA hasarı oluşturacak ışın dozunun olmadığını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Maisles MJ, Neonatal Jaundice. In: Avery ME, Taucsch HW. Schaffer's diseases of the newborn Philadelphia: WB Saunders, 1984.
2. Cramer RJ, Pryman PW and Richards DH. Influence of light on the hyperbilirubinemia of infants. Lancet 1958; 1: 1094-8.
3. Wu PYK. Phototherapy update. Factors affecting efficiency of phototherapy. Perinatol Neonatal 1981; 5: 49-59.
4. Brown KA, Mc Donagh FA, Phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia: efficacy, mechanism and toxicity In Advances Pediatrics. Chicago, London, 1980.
5. Drew, JH, Marraige KJ, Ayle VV. Phototherapy: Short and long term complications. Arch Dis Child 1976; 51: 454-459.
6. John E. Complications of phototherapy in neonatal hyperbilirubinemia. Aust Pediatr J 1975; 11: 53-58.
7. Preis O, Rudolph N. Abdominal distention in newborn infants of phototherapy: the role of eye occlusion. J Pediatr 1979; 94: 816-9.
8. Aplin CE, Brouhand BH, Cunnigham A, et all. Phototherapy and plasma immunoreactive prostoglandin A values. Am J Dis Child 1979; 133: 625-7.
9. Hodjigeorgiou E, Triliori D, Trichhopoulov A. Phototherapy on serum lipids of jaundiced newborn infants. Pediatr Res 1978; 12: 690-4.
10. Lemitre BJ, Toubas PL, Dreuz C. Increased gonodotrophin levels in new born premature infants treated by phototherapy. J Steroid Biochem 1979; 10: 35-39.
11. Maurer HM, Fratkin M, Mc Villiams NB. Effects of phototherapy on platelets counts in low birth weight infants and on platelet production and life span in rabbits. Pediatrics 1976; 52: 506-11.
12. Speck W. Effect of phototherapy on fertilization and embriyonal development. Pediatr Res 1979; 13: 506-7.
13. Ennever J, Mc Donagh A, Speck W. Phototherapy for neonatal jaundice: Optimal wavelengths of light. J Pediatr 1983; 103: 295-299.
14. Rosenstein BS, Ducore MJ. Enhancement of bilirubin by DNA damage induced in human cells exposed to phototherapy light. Ped Res 1984; 18: 3-10.
15. Schroether C. Mutagnicity of blue light. II. effect of the culture medium and bilirubin on the rate of chromosome mutation in lymphocyte culture. Pediatr Grenzgeb 1986; 25 (4) : 303-10.
16. Carrano AV, Thomson LH, Lindl PH, Minkler JL. Sister chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. Nature 1978; 271: 551-3.
17. Gebhart E. Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberation in mutagenicity testing. Human Gen 1981; 58: 235-4.
18. Özkınay C. Kromozomlarda kardeş kromatid değişimi. E. Üniv. Tıp Fakültesi Dergisi 1982; 21 (1): 1-4.
19. Perry P, Wolft S. New giemsa methods stainning of sister chromatids. Nature 1974; 251: 156-158.
20. Amato M, Muralt GV. Double direction phototherapy and light induced genetic abnormalities in human lymphocytes. Helv Pediatr Acta 1985; 40: 285-291.
21. Hatcher HN, Risemberg HM. Sister chromatid exchanges and phototherapy. Mut Res 1979; 60: 401-404.
22. Schwartz LA, Cole FS, Fiedorek F. Phototherapy does not increase the sister chromatid exchange-

- es frequency in premature infants. The Lancet 1979; 1: 534-5.
23. Villaescusa G, Ugarte M, Vazues A. Sister chromatid exchanges in babies treated by phototherapy. The Lancet 1977; 1084-5.
 24. Korenberg JR, Freedlender EF. Giemsa technique detection of sister chromatid exchanges. Chromosoma (Berl.) 1974; 48: 3706~11.
 25. Schroether C. Mutagenicity of blue light. III. effect of phototherapy on the rate of chromosome mutation in newborn infants. PEDIATR GRENZGEB 1986; 25(4): 311-315.
 26. Schroether C. Mutagenicity of blue light. III. effect of phototherapy on the rate of chromosome mutation in newborn infants. PEDIATR GRENZGEB 1986; 25(4): 311-315.
 27. Sandor G. Phototherapy and chromosome structure. Lancet 1973; 15: 1384-5.
 28. Demirsoy D, Tunçbilek E, Oran O. Fototerapinin kromozomlar üzerine olan etkisinin in vivo "sister chromatid exchange" tekniği ile araştırılması. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 1987; 30: 17-27.