

# FOTOTERAPİNİN KROMOZOM MORFOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

## THE EFFECTS OF PHOTOTHERAPY ON CHROMOSOME MORPHOLOGY

Sinan SÖNMEZ, Sıtkı ÖZTAŞ, Yasemin SÖNMEZ, İrfan BATAT

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı (SS, SÖ, İB )  
Sağlık Bakanlığı Erzurum Numune Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği (YS )

### Özet

38 bebek ve 15 kontrol kullanılarak yapılan bu çalışmada, çocuk sağlığı ve hastalıkları kliniklerinde hiperbilirubinemi tedavisi için sık kullanılan fototerapinin kromozomlarda yapısal anomalilere yol açıp açmadığı araştırıldı. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucu fototerapi sonrası oluşan yapısal kromozom anomalilerinin artış eğilimi gösterse de anlamlı düzeyde olmadığı gözlemlendi ( $p > 0.05$ ).

**Anahtar kelimeler:** *Fototerapi, Kromozom anomalisi*

AÜTD 1995, 27: 42-46

### Summary

In this study 38 newborn and 15 control cases have been included and searched for structural chromosomal abnormalities may due to the phototherapy applied for the treatment of hyperbilirubinemia. The result of statistical analysis has shown that structural chromosomal abnormalities after phototherapy is not significantly higher however tending to increase ( $p > 0.05$ ).

**Key Words:** *Phototherapy, Chromosomal Aberrations*

MJAU 1995, 27: 42-46

### Giriş

Hiperbilirubinemi yenidoğanlarda yaklaşık % 10-20 sıklıkta rastlanan problemlerden biridir. Etiyolojisinde çeşitli sebepler söz konusu ise de, tedavisinde temel yaklaşım yüksek bilirubin seviyesinin düşürülmesidir (1). İlk olarak 1958'de Cremer ve arkadaşları flüoresan ışığına maruz kalan infantlarda serum bilirubin seviyesinin düştüğünü gözlemledikten sonra fototerapi tüm dünyada yaygın olarak hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (2). Fototerapi amacıyla çeşitli dalga boylarında ve renklerinde lambalar kullanılmaktadır. Ancak bu tedavi şeklinin kullanılan ışığın tipine de bağlı olarak çeşitli yan etkileri vardır. Bu yan etkiler erken ve geç etkiler olarak ikiye ayrılmaktadır. Sulu sık dışkılama, deri döküntüleri, dehidratasyon, abdominal distansiyon gibi etkiler tedavi sırasında ortaya çıkan erken problemlerdir ve tedavileri kolaydır (3-6). Ultraviyole'nin (UV) DNA'da zincir kırıklarına yol açtığı bilinmektedir. Flüoresan ışığın dalga boyunun, (UV) dalga boyuna yakın olması nedeniyle fototerapi sonucu kromozom hasarı oluşabileceği ve bu hasarın ortama bilirubin ilave edildiğinde arttığı çeşitli canlılarda gösterilmiştir (7-18). Oluşan kromozom kırıkları en fazla dalga boyu 420-500 nm. olan (ortalama 480) mavi ışıkla, en az ise gün ışığı ile meydana

gelmektedir (19). Fototerapiye bağlı DNA hasarı sonucu hücre ve organizma için mutajenik ve karsinojenik yan etkiler uzun vadede potansiyel olarak ortaya çıkabilmektedir (8). Ortama eklenen serum tipi, gaz fazındaki oksijen konsantrasyonu ve flüoresan ışık süresi kromozom hasarını artırıcı etki yapmaktadır. Buna karşın alüminyum folya ile flüoresan ışıktan korunan kültürlerde çok az miktarda kromozom anormalliği tespit edilmesi ışık ve oksijen fazlalığının kültürdeki fare hücrelerinde malign transformasyona yol açtığını desteklemektedir (11).

Yapılan araştırmalarda ışığın in vitro olarak fotooksidasyon ürünlerine neden olduğu ve böylece hücre hasarına yol açtığı saptanmıştır (10,20-22). UV bağımlı hücre ölümü, mitotik inhibisyon ve kromozom aberrasyonları birçok organizmada gösterilmiştir. UV'nin yol açtığı biyolojik değişikliklerin başlıcaları; mutasyonların indüksiyonu, mitotik inhibisyon ve kromozom anomalileridir (21,23). UV' den sonra proliferasyon yetmezliği hızlı hücre ölümüne yol açar (24), hücreler yüzeyden ayrılır, nükleus nekrotik olur ve kromatin yoğun hale geçer. Anafazda delesyona uğramış kromozom segmentlerinin kaybı buna yol açabilir. UV, G1 ve S fazında uygulanırsa reproduktif kapasite kaybı büyük olur (25). Xeroderma pigmentasyonlu

**Tablo 1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Doğum Ağırlığı, Gebelik Süresi ve İndirekt Bilirubin Miktarları**

	DOĞUM AĞIRLIĞI (gr)			GEBELİK SÜRESİ (Hafta)			İNDİREKT BİLİRÜBİN (mg/dl)		
	MİN	ORT	MAX	MİN	ORT	MAX	MİN	ORT	MAX
BEYAZ IŞIK	1400	2426	4000	30	37.3	40	8.6	16.96	36.1
MAVİ IŞIK	1900	3022	4000	36	39.8	41	10.5	19.79	40.9
KONTROL	1950	3273	4000	39	39.7	40	1.1	2.54	4.0

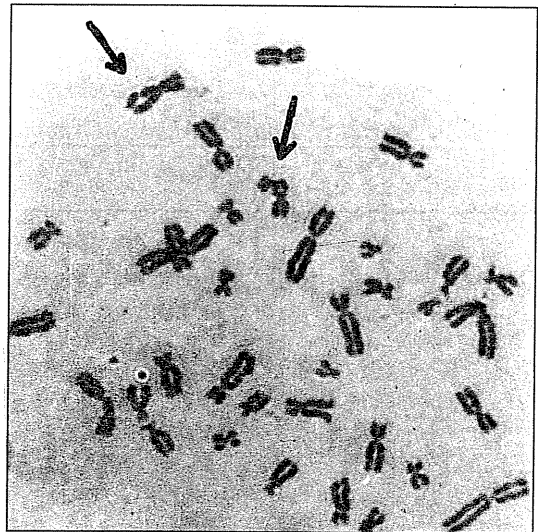
hastaların fibroblastlarında UV uygulamasından sonra daha çok gap ve kromatid eksilmeleri (delesyonları) olmak üzere çift sentromerli (disentrik), yüzük (ring) kromozom ve sentromersiz (asentrik) fragmentler gibi çeşitli kromozom aberasyonların yanı sıra mitotik indeksde de oldukça belirgin düşmeler kaydedilmiştir. (21). Biz de bu çalışma ile fototerapi amacıyla UV alan bebeklerde oluşabilecek kromozomal anomali riskini araştırmak istedik.

**Şekil 1. Tetraploidi gösteren bir metafaz plağı****Materyel ve Metod**

Bu çalışmada hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapi uygulanan ve yaşları 2 ile 30 gün arasında değişen 11 kız, 27 erkek toplam 38 yenidoğan bebek araştırma kapsamına alındı. Ayrıca, hiperbilirubinemisi olmayan, sağlıklı 7 kız, 8 erkek toplam 15 yenidoğandan da kontrol grubu oluşturuldu (Tablo 1)

Tanımlar klinik olarak deri ve sklera rengine, laboratuvar olarak da hemoglobin, retikülosit, periferik yayma, total, direkt ve indirekt bilirubin, anne ve çocuk kan grupları, subgruplar ve direkt-indirekt Coombs testine bakılarak konuldu. Fototerapide 8 adet Philips TL 20w, 63t model 58.8 cm uzunluğunda 38

mm çapında 57 volt/0.38 amperlik lambalar kullanıldı. Uygulanan ışığın ortalama dalga boyları 420-480 nm arasında değişti. Fototerapi uygulaması lambalar bebekten 40 cm uzaklıkta, gözler bir pet ile kapatılmış, tamamen çıplak olarak küvöz içinde ortalama (32°C) sıcaklıkta, 72 saat, günde ortalama 22 saat olarak yapıldı. Uygulama sırasında hastalar sadece 3 saatte bir 15 dakikalık beslenme periyotları boyunca fototerapiden çıkarıldı. Hastaların sıvı elektrolit dengeleri damar yolundan sağlandı. Hastalardan kan örnekleri fototerapi başlamadan önce ve 72 saatlik fototerapi sonrası 2 kez venöz yoldan elde edildi. Rutin prosedürler uygulanarak kromozom preparatları elde edildi (26,27). Preparatlar 2-3 günlük kurumadan sonra solid Giemsa ve GTG bantlama yapılarak incelendi. İstatistiksel olarak "Ki-Kare" testi uygulandı. Gerekli olan hallerde "Fischer exact" testi ve "Yates düzeltmesi" kullanıldı.

**Şekil 2. Aynı metafazda içinde kırık ve gap (okla işaretli)****Bulgular**

Yapılan kromozom analizlerinin sonuçları yapısal ve sayısal olarak iki grupta toplandı. Ayrıca hastaların fototerapi almadan önceki ve aldıktan sonraki sonuçları ayrı ayrı

değerlendirildi. Buna göre fototerapi öncesi mavi ve beyaz ışık grubunda sayısal anomali 1, yapısal anomali de 4 olmak üzere toplam 5 patolojiye rastlandı. Fototerapi sonrasında ise mavi ve beyaz ışıkta sayısal anomali toplamı 3, yapısal anomali toplamı ise 7 olmuştur. Buna karşın kontrol grubunda 1 sayısal, 1 de yapısal anomali saptandı (Tablo 2). Sayısal anomalilerin hepsi poliploidi (tetraploidi) (Şekil 1), yapısal anomalilerin ise

çoğunluğunu kromatid gaplari ve kırıkları (Şekil 2) oluşturmuştur. (Tablo 3). İstatistiksel çalışmada, Fototerapi öncesi + Kontrol grubundaki toplam kromozom anomalisi ile fototerapi sonrası grup "Ki Kare" yöntemi ile karşılaştırıldığında güçlü olmamakla beraber fototerapinin kromozom anomalilerini artırma eğiliminde olduğu gözlemlendi ( $p < 0.10$ ) (Tablo 4).

**Tablo 2. Hasta ve Kontrol Gruplarındaki Kromozomal Anomalilerin Dağılımı**

	fototerapi öncesi			fototerapi sonrası		
	sayısal	yapısal	+	sayısal	yapısal	+
beyaz ışık	-	2	2	2	4	6
mavi ışık	1	2	3	1	3	4

### Tartışma

Işığın özellikle aminoasitler ve vitaminler gibi biyolojik materyal üzerine, tam olarak tanımlanamamış etkileri olduğu uzun zamandır bilinmektedir. UV'nin canlı hücrelerin genetik materyalinde birtakım değişikliklere yol açtığı, özellikle 450 nm dalga boyundaki görünür ışığın (flüoresan lamba ışığı) in vivo ve in vitro hücre DNA'sında hasara yol açtığı, kromozom hasarları yaptığı ve buna bağlı olarak hücre ölümlerine neden olduğu çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur (16, 27). UV ışığının

kromozomlar üzerine yaptığı olumsuz etkiler 1960'lardan beri, geliştirilen hücre kültürü yöntemleriyle etraflı olarak araştırılmaktadır. Bununla beraber yapılan in vitro çalışmalardan elde edilen sonuçlar oldukça çelişkilidir. Litwin fototerapide kullanılan ışığa maruz bırakılmış hücrelerde nükleus dejenerasyonu ve yüksek oranlı hücre ölümleri rapor ederken (20), bazı araştırmacılar fototerapi ışığının gerek kromozom hasarları açısından (10), gerekse kromozom kırıkları açısından önemli bir etkisi olmadığını rapor etmişlerdir (15).

**Tablo 3. Sayısal ve Yapısal Kromozom Anomalilerinin Vakalara Göre Dağılımı.**

Ö	Vaka no.	Işık türü	Poliploidi	Gap	Kırık	Delesyon	Disentrik
N	1	Beyaz				+	
F	C	3	Beyaz		+		
O	E	23	Mavi	+			
T	S	30	Mavi	+			
O	İ	37	Mavi		+		
T		1	Beyaz	+			
E	S	2	Beyaz	+			
R	O	3	Beyaz			+	
A	N	4	Beyaz				+
P	R	11	Beyaz		+		
İ	A	13	Mavi	+			
	S	14	Beyaz	+			
	I	31	Mavi	+			
		35	Beyaz	+			
	KONTROL		+	+			

**Tablo 4. Gruplar Arası İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları.**

	Ki-Kare		p değeri	
	Düzeltilmesiz	Yates Düzeltilmeli	Düzeltilmesiz	Yates Düzeltilmeli
<b>Fototerapi öncesi / Fototerapi sonrası</b>	2.85	1.98	0.09137	0.15947
<b>Fototerapi öncesi / kontrol</b>	0	0.19	0.98644	0.66477
<b>Fototerapi öncesi + Kontrol / Fototerapi sonrası</b>	3.46	2.53	0.06304	0.11136

**Kaynaklar**

Diğer taraftan, Marshall ve arkadaşları başta kromatid gap ve delesyonları olmak üzere, ışığa maruz kalma süresi uzadıkça çeşitli kromozomal anomalilerin arttığını rapor etmişlerdir (24). Aynı şekilde 400-450 nm dalga boyunda flüoresans ışığa maruz kalan fibroblast hücrelerinde de kromozom ve kromatid kırıklarında önemli artışların olduğu ifade edilmiştir (8,11).38 infant üzerinde yapılan bu çalışmada, istatistiksel olarak değerlendirilemeye de, kromozom anomalilerinde fototerapi öncesine göre az da olsa bir artış gözlenmiştir. Burada gözlenen ilginç sonuçlardan birisi gerek fototerapi öncesi gerekse fototerapi sonrası gözlenen kromozom anomalilerinin C ve B grubunda yoğunlaşmış olmasıdır. Eğer bu anomaliler genomda şansa bağlı bir şekilde ortaya çıksaydı, boyca uzun olan A grubu kromozomlarda daha fazla anomali gözlenmeliydi. Bu sonuçlar fototerapiye bağlı anomalilerin az da olsa selektif olarak karyotipe değişik gruplarda yoğunlaşabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda bazı kromozomların fototerapide kullanılan ışığa karşı daha duyarlı olabileceğini akla getirmektedir. Bu beklenti bazı genetik bölgelerin çeşitli mutajenlerin etkisiyle daha yüksek oranlarda mutasyona uğradıkları düşünülürse oldukça gerçekçidir (28).

Çalışmamızda mavi ve beyaz ışık arasında kromozomal hasar açısından çok farklı sonuçlar elde edilmediği görülmüştür.

Sonuç olarak hiperbilirubinemili infantlar üzerinde uygulanan fototerapinin kromozomal anomali oranını artırma eğiliminde olsa da ( $p < 0.7$ ) anlamlı bir hasar yapmadığı söylenebilir.

1. Amato M, Muralt GV, Maur PAD: Double direction phototherapy and light-induced genetic abnormalities in human lymphocytes. *Helv. Paediatrica Acta* 1985; 40: 285-291
2. Cremer RJ, Perryman PW, Richards DH: Influence of light on the hyperbilirubinemia of infants. *Lancet* 1958; 1: 1094
3. Ennever J, Mc Donagh A, Speck W, et al: Phototherapy for neonatal jaundice: Optimal wavelenghts of light. *J. Pediatr* 1983; 103: 295-299
4. Gies HP, Roy CR: Bilirubin phototherapy and potential UVR hazards. *Health Physics* 1990; Vol. 58, No.3 : 313-320
5. Drew JH, Marriage KJ, Boyle VV, et al: Phototherapy short and long term complications. *Arch. Dis. Child* 1976; 51: 454-459
6. John E: Complications of phototherapy in neonatal hyperbilirubinemia. *Aus. Pediatr. J.* 1975; 11: 53-58
7. Ennever FJ: Phototherapy in a newlight. *Ped. Clin. of North America* 1986; Vol.33, No.3 : 603-17
8. Rosenstein BR, Ducore JM: Enhancement by bilirubin of DNA damage induced in human cells exposed to phototherapy light. *Pediatr. Res.* 1984; 18 (1): 3-7
9. Santella RM, Rosenkranz HS, Speck WT, et al: Intracellular DNA modifying activity of intermittent phototherapy. *Jow. Pediatr.* 1978; 91(1): 106-109
10. Parrington MJ: UV-induced chromosome aberrations and mitotic delay in human fibroblast cells. *Cytogenetics* 1972; 11: 117-131
11. Parshad R, Sanford KK, Jones GM, Tarone ET: Fluorescent light-induced chromosome damage and its presentation in

- mouse cells in culture. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1978; Vol.75, No.4: 1830-1833
12. Sideris EG, Papageorgiou GC, Charalampous SC, Vitsa EM: A spectrum response study on single strand DNA breaks, SCE and lethality induced by phototherapy lights. *Pediatr. Res.* 1981; 15: 1019-1023
  13. Speck WT, Rosenkranz HS: Intracellular DNA-modifying activity of phototherapy lights. *Pediatr. Res.* 1976; 10: 553-555
  14. Rosenstein BS, Ducore JM: Induction of DNA strand breaks in normal human fibroblasts exposed to monochromatic UV and visible wavelengths in the 240-546 nm range. *Photochem. Photobiol.* 1983; 38: 41
  15. Sandor G: Phototherapy and chromosome structure. *The Lancet.* 1973 Dec.; 15: 1384-1385
  16. Speck WT, Rosenkranz HS: The bilirubin-induced photodegradation of DNA. *Pediatr. Res.* 1975; 9: 703-705
  17. Lehmann AR: Postreplication repair of DNA in ultraviolet irradiated mammalian cells. *J. Mol. Biol.* 1972; 66: 319-331
  18. Çalışkan U, Acar A, Öner AF: Fototerapinin kromozomlarda in vivo kardeş kromatid değişimine etkisi. *S.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 1990; Cilt:6 Sayı:3 : 281-286
  19. Mathews CK, van Holde KE: *Biochemistry.* New York: The Benjamin/Cummings Publishing, 1990 : pp. 866-880
  20. Marshall RR, Scott D: The relationship between chromosome damage and cell killing in UV-irradiated normal and xeroderma pigmentosum cells. *Mutation Res.* 1976; 36: 397-400
  21. Knuutila S, Maki-Paakhonen J, Kahkonen M: An increased frequency of chromosomes changes and sister chromatid exchanges in cultured blood lymphocytes of 12 subjects vaccinated against smallpox. *Human Genet.* 1978; 41: 89
  22. Schroether C: Mutagenicity of blue light II. effect of the culture medium and bilirubin on the role of chromosome mutation in lymphocyte culture. *Pediatr. Granzgeb.* 1986; 25: 303-310
  23. Chu EHY: Effects of UV radiation on mammalian cells. Induction of chromosome aberrations. *Mut. Res.* 1965; 2: 75-94
  24. Kato H: Induction of SCE by UV light and its inhibition by caffeine. *Experimental Cell Res.* 1973; 82: 383-390
  25. Rooney DE, Czepulkowski BH: *Human Genetics: A Practical Approach.* Oxford: IRL Press, 1986
  26. Lüleci G: *Sitogenetik Laboratuvar Yöntemleri.* Antalya: Akdeniz Üniv. Yay. 1988
  27. Lewin B: *Genes IV.* Oxford : Oxford University Press, 1990: 376-390
- Yazışma Adresi:**  
Yrd.Doç.Dr.Sinan SÖNMEZ  
Atatürk Üniv.Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
25240-ERZURUM