

**İNBRED VE HİBRİD FARE MII - OOSİTLERİNDE
SİKLOFOSFAMİDİN YAPISAL VE SAYISAL KROMOZOM
DÜZENSİZLİKLERİNİN ENDÜKSİYONUNA ETKİSİ*, ****

Dr. Zeki TURAN***

Ö Z E T :

C3H inbred ve (C3HxC57BL) F₁ hibrid fare MII - oositlerinde kontrol deneyleri yapıp, spontan meydana gelen kromozom düzensizliklerinin oranı belirlenmiştir. Daha sonra her iki fare soyu ile test deneyleri yapılarak, Siklofosfamid, belirli bir konsantrasyonda (145 mg/kg) MI safhasından kısa bir süre önce, dişi farelere intraperitoneal enjekte edilmiş ve MII safhasında kazanılan oositlerde kromozom analizleri yapılmıştır. Analizlerden elde edilen sonuçlara göre; gerek kontrol, gerekse Siklofosfamid ile yapılan test deneylerinde, C3H inbred farelerinin, F₁ hibrid farelerine oranla daha çok kromozom düzensizlikleri gösterdikleri saptanmıştır. Ayrıca, siklofosfamidin yapısal ve sayısal kromozom düzensizliklerinin endüksiyonunda önemli olmıyan zayıf bir etkiye sahip olduğu görülmüştür.

S U M M A R Y :

THE EFFECT OF CYCLOPHOSPHAMIDE TO INDUCTION OF STRUCTURAL AND NUMERICAL CHROMOSOME ABERRATIONS IN MII - OOCYTES OF INBRED AND HYBRID MICE.

Some control experiments were performed on the MII - Oocytes of C3H inbred and (C3H x C57BL) F₁ hybrid mice and the rate

(*) Bu çalışma, Alman Araştırma Kurumunun Freiburg'daki Mutajenite Araştırmaları Merkez Laboratuvarında (Zentrallaboratorium für Mutagenitaetsprüfung der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, Freiburg) yapılmıştır.

(**) Kayseri Üniversitesi G.N. Bilim Haftası ve Tıp Günleri Kongresinde (11-13 Mart 1982, Kayseri) tebliğ edilmiştir.

(***) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Öğretim Üyesi.

of spontaneous chromosome aberrations was determined. After that, tests were made on both mouse strains and cyclophosphamide was administrated intraperitoneally at a definite concentration (145 mg/kg) to the female mice just before MI stage and chromosome analysis of oocytes obtained at MII stage was performed. According to the results of the analysis, C3H inbred mice showed more chromosome aberrations than F₁ hybrid mice both in controls and tests performed with the cyclophosphamide administration. In addition, it was seen that cyclophosphamide had an insignificant effect on the induction of structural and numerical chromosome aberrations.

Hiç şüphe yoktur ki, deformasyon ve kalıtsal hastalıklara sebep olan mutasyonlar, insan genomunda da endükte edilebilirler. Mutasyonları meydana getiren faktörlerden birisi de kimyasal maddelerdir. Gün geçtikçe artan çeşit ve miktarları, insanların bunlarla çeşitli şekillerde irtibatı, genetik materyal için önemli bir tehdit unsuru teşkil etmektedir. İnsanlarda kimyasal maddelerin mutajen etkisinin ortaya çıkarılması, ya hiç veya en azından hemen mümkün olmadığından, genellikle hayvanlarla çalışan test sistemleri geliştirilmiştir. Bu test sistemlerinden birisi olan MII - oosit test sistemi, özellikle Non - disjunction (ND, kromozom ayrılmazlığı) endüksiyonuna sebep olan kimyasal maddelerin araştırılmasında önemli bir yer tutmaktadır. Zira, insanlarda yapılan araştırmalarda, annenin yaşı ile ND oranı arasındaki kuvvetli ilişkiden (2) ve fazlalık teşkil eden belirli kromozomların anne ve baba kromozom takımlarıyla karşılaştırmalı strüktür analizlerinden (5, 6, 8) ortaya çıkıyor ki, ND vakalarının yaklaşık 2/3 ü annenin mayoz bölünmesindeki hatadan kaynaklanmaktadır. Ayrıca, bazı trizomik kromozomların strüktür analizi, insanlarda bu dağılım hatalarının büyük bir kısmının anne mayozunun MI safhasında meydana geldiğini göstermektedir (5, 6, 8, 10). Mutajen maddelerin ND endüksiyonuna etkilerinin araştırılması, insan oogenezinde belirli sebeplerden mümkün olmadığından, mayoz bölünmesi insanlarınkine benzeyen diğer memeli hayvanlar tercih edilmektedir. Bu memeli hayvanlardan birisi de mayoz bölünmesi çok iyi bilinen farelerdir.

Bir ön çalışma niteliğinde olan bu çalışma, Mutajenite Araştırmaları Merkez laboratuvarında (Zentrallaboratorium für Muta-

genitaetsprüfung, Freiburg/B. ALMANYA) çok sayıda yetiştirilen C3H inbred ve (C3H x C57BL) F₁ hibrid fare soylarından hangisinin, ND araştırmaları için MII - oosit test sisteminde kullanılmasının uygun olabileceğini saptamayı amaçlamıştır. Genetik yapısı farklı her iki fare soyunun MII - oositlerinde mutajen etkisi araştırılacak kimyasal maddelerin farklı sonuçlara götürüp götürmediklerini belirlemek için, kontrol deneylerinin yanı sıra, literatürde (11) kromozom kırıklarına ve ND endüksiyonuna sebep olduğu bildirilen Siklofosamid (Endoxan) ile test deneyleri yapılarak literatür bulgularının tekrarlanması öngörülmüştür.

MATERYAL ve METOD :

C3H inbred ve (C3H x C57BL) F₁ hibrid fareleri ile yapılan kontrol ve test deneylerinde, pratik olması bakımından, ovulasyonun stimülasyonu için Anteron (PMS = pregnant mare's serum) ve Primogonyl (HCG = human chorionic gonadotropine) hormonları kullanıldı.

Her deney serisinde 4 - 6 dişi fare 48 saatlik zaman aralığı ile önce PMS, sonra HCG ile muamele edildi. Her dişi fare için bu hormonlardan 2 I.U. (International Unite) intraperitoneal enjekte edildi. PMS ve HCG hormonları önceden % 0.9'luk Sodyum Klorür çözeltisi içinde çözülerek Eppendorf reaksiyon tüplerinde -10°C de tutuldu.

HCG muamelesinden yaklaşık 15 saat sonra, oositler mayozun metafaz II safhasına ulaşmış (MII - oositleri) ve ovulasyon sonucu oviduktun ampullası içine sızmış olduklarından, bunları kazanmak için fareler öldürüldü ve karın kısmı açılarak eşey organları dışarı alınıp hanks çözeltisine konuldu. Uterus ovidukt yakınından kesilip atıldıktan sonra, stereomikroskop altında sivri uçlu pinsetlerle ovaryum ve ovidukt birbirinden ayrıldı ve ovidukt ampulla ile beraber içinde hanks çözeltisi bulunan başka bir kaba aktarıldı. Yine stereo - mikroskop altında, sivri uçlu pinsetlerle ampulla yırtılarak yumak şeklinde corona radiata hücreleriyle çevrilmiş MII - oositleri, ağızla kontrol edilebilen bir pipetle dışarı alındı ve corona radiata hücrelerinin ayıklanması için hyaluronidase çözeltisine (1500 - 3000 I.U./10 ml ringer çözeltisi) aktarıldı.

1 - 3 dakikalık muameleden sonra çıplak MII - oositleri stereo - mikroskop altında ağızla kontrol edilebilen bir pipetle toplanarak başka bir kabdaki hanks çözeltilisine konuldu.

Preparasyona hazır MII - oositleri bundan sonra gruplar halinde (her seferinde 4 - 6 tane) 9 - 16 dakika hipotonik çözelti ile muamele edildiler. Hipotonik çözelti olarak % 1'lik Sodyum Sitrat çözeltisi kullanıldı.

Hipotonik çözelti muamelesiyle iyice şişkinleşmiş oositlerden ağızla kontrol edilebilen bir pipetle, stereo - mikroskop altında her seferinde sadece bir tane alınarak temiz bir lam üzerine aktarıldı. Ağız kontrollu başka bir pipetle üzerine önce bir damla fiksatif damlatıldı. Stereo - mikroskop altında gözlenerek, patlamaya yakın, bir damla daha ilave edildi. İkinci damladan sonra (üç damla da olabilir) oosit patlıyarak kromozomlar etrafa yayıldı. Fiksatif çözeltisi olarak, her seferinde taze hazırlanmış ve soğuk halde bulunan, mutlak asetik asit ve metanol 1 : 3 oranında hazırlanarak kullanıldı.

Fiksatif muamelesi ile patlayan oositin yeri stereo - mikroskop altında işaretlenerek kurumaya terkedildi. Birinci oositin preparasyonu bittikten sonra, ikinci oositin ve sırasıyla diğerlerinin preparasyonu yapıldı. Bütün hazırlanan preparatlar kuruduktan sonra Giemsa boyası ile boyanıp üzerleri bir lamelle kapatıldı. Boyanmış preparatlar daha sonra ışık mikroskobu altında bakılarak, metafaz plakları değerlendirilip kromozom analizleri yapıldı.

Fareler $2n = 40$ akrosentrik kromozoma sahip olduklarından, MII - oositleri normal olarak $n = 20$ kromozomludurlar. Kromozom analizleri sonunda, normalden sapma gösteren metafazlar belirlenerek gerektiğinde fotoğrafları çekildi.

Kontrol deneylerinde yürütülen bütün bu işlemler, Siklofosfamid muamelesiyle yapılan test deneylerinde de aynen uygulandı.

Test deneylerinde kullanılan ve Röhrborn ve Hansmann (11) tarafından fare MII - oositlerinde ND endüksiyonuna sebep olduğu bildirilen Siklofosfamid, bu araştırmacıların yaptığı gibi, suda çö-

züldü ve HCG muamelesinden 3 saat sonra 145 mg/kg dozda dişi farelere intraperitoneal enjekte edildi.

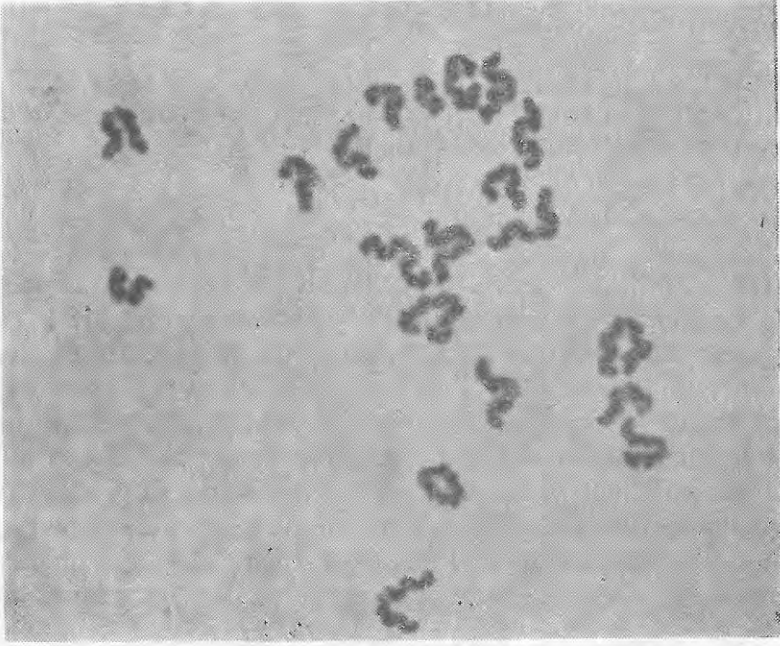
B U L G U L A R :

Önce F₁ hibrid fareleriyle kontrol deneyleri yapılarak spontan meydana gelen ND oranı saptandı. Toplam olarak 142 F₁ faresi çalışılarak 1402 MII - oositi elde edildi (Tablo 1). Fare başına kazanılan oosit sayısı 3 - 15 arasında değişmekteydi. Preparasyonu yapılan 1402 oositten 651 tanesi kromozom analizleri için değerlendirilebilir nitelikteydi. Değerlendirilebilenlerden 29 tanesi n = 19 kromozoma, 622 tanesi de n = 20 kromozoma sahiptiler. Analiz edilebilen oositler arasında n = 21 kromozoma sahip hiperhaploid hiçbir oosite rastlanmadı. Preparasyonu yapılan oositlerden 30 tanesi dejenere olmuş, 3 tanesi ise mayozun MI safhasında bulunmaktaydı.

TABLO 1 : KONTROL F₁ FARELERİNDEN KAZANILAN MII - OOSİTLERİNİN ANALİZ SONUÇLARI :

Çalışılan fare sayısı	Kazanılan Oosit sayısı	Analiz edilebilen Oosit sayısı	n kromozom sayısı			Diğer özellikler
			19	20	21	
142	1402	651	29	622	—	— 30 dejenere olmuş oosit — 3 MI safhasında kalmış oosit

F₁ fareleriyle yapılan test deneylerinde, Siklofosamid HCG muamelesinden 3 saat sonra 145 mg/kg dozda dişi farelere intraperitoneal enjekte edildi. Diğer işlemler kontrol deneylerindeki gibi yürütüldü. Toplam 146 fare çalışılarak 1438 oosit elde edildi (Tablo 2). Preparasyonu yapılan oositlerden kromozom analizleri yapılabilenlerin sayısı 627 idi. Bunlardan da 18 tanesi n = 19 kromozoma, 607 tanesi n = 20 kromozoma (Resim 1), 1 tanesi n = 21

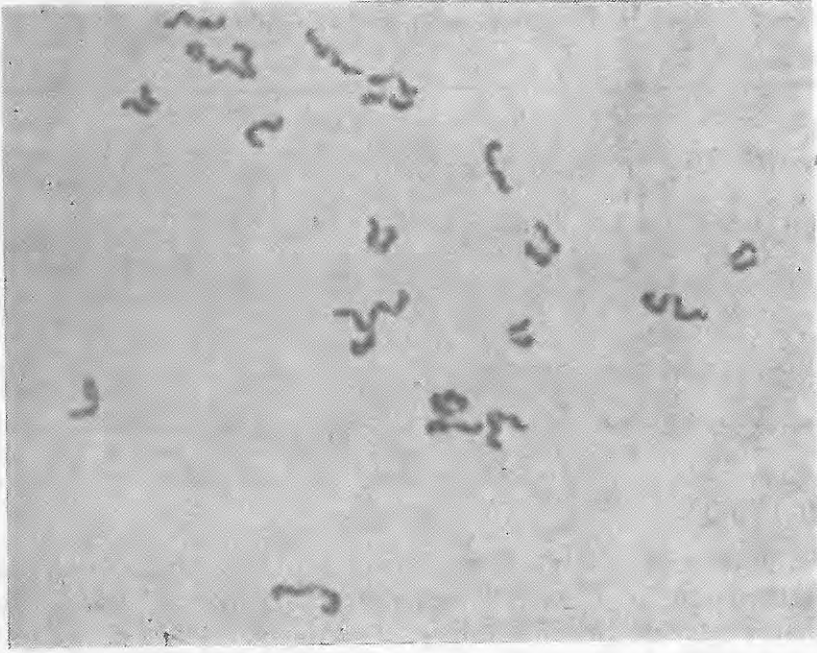


Resim 1 : $n = 20$ kromozoma sahip normal bir MII - oositi Giemsa x 900.

kromozoma (Resim 2) ve 1 tanesi de $n = 20$ kromozom + 1 kromatide sahiptiler. Preparasyonu yapılan oositlerden 8 tanesi dejenere olmuş, 1 tanesi de MI safhasında bulunuyordu. Fare başına kazanılan oosit sayısı ortalama 9.8 (1438/146) idi.

TABLO 2 : TEST F₁ FARELERİNDEN KAZANILAN MII - OOSİTLERİNİN ANALİZ SONUÇLARI.

Çalışılan fare sayısı	Kazanılan Oosit sayısı	Analiz edilebilen Oosit sayısı	n kromozom sayısı			Diğer özellikler
			19	20	21	
146	1438	627	18	607	1	<ul style="list-style-type: none"> — 1 gap — 8 dejenere olmuş oosit — 1 oosit MI safhasında — 1 oosit $n=20$ kromozom + 1 kromatid



Resim 2 : Siklofosfamid muamelesiyle bir F_1 faresinden kazanılmış $n = 21$ kromozoma sahip hiperhaploid bir MII - oositi Giemsa x 800.

C3H fareleriyle yapılan kontrol deneyleri de F_1 farelerinde olduğu gibi yürütülerek, toplam 79 fare çalışılıp 739 oosit kazanıldı (Tablo 3). Bunlardan 535 tanesi kromozom analizleri için uygun nitelikteydiler. Değerlendirilebilenlerden 10 tanesi $n = 19$, 519 tanesi $n = 20$ ve 4 tanesi $n = 21$ kromozoma sahiptiler. Ayrıca, 1 oosit $n = 20$ kromozom + 1 kromatid ve 1 oositte 40 kromozoma sahipti. Fare başına kazanılan oosit sayısı ortalama 9.2 (739/79) idi.

C3H inbred fareleriyle yapılan test deneylerinde de siklofosfamid (145 mg/kg) HCG muamelesinden 3 saat sonra enjekte edilerek, toplam 115 fare çalışıldı ve 949 oosit elde edildi (Tablo 4). Bunlardan, preparasyonları yapılarak analiz edilebilenlerin sayısı 537 idi. Analiz edilebilenlerden 10 tanesi $n = 19$, 518 tanesi $n = 20$, 4 tanesi $n = 21$, 1 tanesi $n = 22$ kromozoma sahiptiler. Ayrıca, 2 tanesi $n = 20$ kromozom + 1 kromatide ve 1 tanesi de 40 kro-

**TABLO 3 : KONTROL C3H FARELERİNDEN KAZANILAN
MII - OOSİTLERİNİN ANALİZ SONUÇLARI :**

Çalışılan fare sayısı	Kazanılan Oosit sayısı	Analiz edilebilen Oosit sayısı	n kromozom sayısı			Diğer özellikler
			19	20	21	
79	739	535	10	519	4	<ul style="list-style-type: none"> — Birçok kromozom kromatidlere ayrılmış durumda — Bir 40 kromozomlu oosit — Bir oosit n=20 kromozom + 1 kromatide sahip

mozoma sahipti. Fare başına kazanılan oosit sayısı ortalama 8.2 (949/115) idi.

Birçok kromozomun kromatidlere ayrılması ve değerlendirilemeyen metafazlarda birçok kromozom kırıklarının mevcudiyeti, dikkati çekmekteydi. Yine, 1 dejenere olmuş oosit ve 1 n = 19 kromozom + 1 parçaya sahip oosit gözlemlendi.

**TABLO 4 : TEST C3H FARELERİNDEN KAZANILAN
MII - OOSİTLERİNİN ANALİZ SONUÇLARI :**

Çalışılan fare sayısı	Kazanılan Oosit sayısı	Analiz edilebilen Oosit sayısı	n kromozom sayısı				Diğer özellikler
			19	20	21	22	
115	949	537	10	518	4	1	<ul style="list-style-type: none"> — Birçok kromozom kromatidlere parçalanmış — 1 dejenere olmuş oosit — 1 oosit n = 19 kromozom + 1 parça — 1 oosit 40 kromozomlu — 2 oosit n = 20 kromozom + 1 kromatid

Her iki fare soyu ile yapılan kontrol ve test deneylerinin sonuçları beraber değerlendirildiğinde (Tablo 5), C3H inbred farelerinin, F₁ hibrid farelerine nazaran gerek kontrol, gerekse siklofosfamid ile yapılan test deneylerinde, daha çok kromozom düzensizlikleri gösterdikleri ortaya çıktı.

TABLO 5 : F₁ HİBRİD VE C3H INBRED FARELERİYLE YAPILAN KONTROL VE TEST DENEYLERİNİN SONUÇLARI :

Fare soyu	Siklofosfamid	Analiz edilebilir oosit sayısı	Hiperhaploid oosit sayısı	Analiz edilebilenlerden	
				± parça veya kromatide sahip ve yahutta 40 kromozomlu oosit say.	
F ₁ hibrid	0	651	0	0	
	145 mg/kg	627	1	1	
C3H inbred	0	535	4	2	
	145 mg/kg	537	5	4	

TARTIŞMA :

Gerek bu çalışmadaki kontrol ve test deneylerinde, gerekse literatürdeki benzer çalışmalarda, hipohaploid (n = 19) kromozomlu oositlerin oranı, hiperhaploid (n = 21 kromozomlu) oositlere nazaran daha fazla olarak bulunmaktadır.

Hipohaploidi, mayoz akışındaki çeşitli hatalardan gerçek olarak meydana gelebileceği gibi, kromozomların preparasyon esnasında kaybolması sonucu da ortaya çıkabilir. Nitekim bu çalışmada, bir çok defalar hipohaploid sayılan metafazlarda, uzun aramalar sonucu metafazdan çok uzakta eksik olan kromozomun bulunması, yüksek oranda gözlenen hipohaploidlerin çoğunlukla preparasyon hatasından meydana geldiklerini göstermiştir. Bundan dolayı bu çalışmada, sadece hiperhaploid metafazlar ND olarak değerlendirildi.

Bu çalışmadaki kontrol deneylerinde (Tablo 5) spontan meydana gelen ND oranı C3H inbred farelerinde % 0.7 (4/535), (C3Hx

C57BL) F₁ hibrid farelerinde ise < % 0.2 (0/651) olarak saptandı. Röhrborn ve Hansmann ise (11), yaptıkları kontrol deneylerinde spontan ND oranını, C3H inbred farelerinde % 1.1 (1/95), başka bir hibrid fare soyu olan (101xC3H) F₁ hibrid farelerinde ise % 6.2 (5/81) olarak bulmaktadırlar. Oysa, Röhrborn ve Hansmann grubunun bu konudaki öncü çalışmaları (3, 11, 12) dışında, literatürde çeşitli fare soylarının MII - oositlerindeki spontan ND oranı, açık olarak % 1'in altında bulunmaktadır (7, 9, 15, 16). Literatürde bulunan spontan ND oranları bu çalışmadaki bulgularla uygunluk göstermektedir.

Siklofosfamid, tıpta kanser tedavisinde sitostatikum olarak kullanılmaktadır. Literatürde, mutajen bir madde olarak Drosophila'da cinsiyete bağlı letal mutasyonları, farede dominant letal mutasyonları endükte ettiği (1), hamster kemik iliğinde kromozom kırıklarına sebep olduğu (14) ve fare spermatogenezinde kromozom kırıklarını endükte ettiği (13) bildirilmektedir.

Röhrborn ve Hansmann (11) bu çalışmada kullanılan dozda (145 mg/kg) siklofosfamid ile yapılan test deneylerinde sadece C3H inbred farelerini kullanmışlar ve kontrol deneylerindeki % 1.1 (1/95) spontan ND oranına karşı, siklofosfamid etkisiyle ND oranını % 9.8 (4/41) olarak önemli derecede yüksek bulmuşlardır. Oysa bu çalışmada, aynı fare soyu ile yapılan kontrol deneylerinde spontan ND oranı % 0.7 (4/535), aynı fare soyu ve aynı dozda siklofosfamid ile yapılan test deneylerinde, ND oranı % 0.9 (5/537) olarak önemsiz bulunmuştur. Siklofosfamidin ND endüksiyonunda önemli derecede etkili olmadığı, bu çalışmada F₁ hibrid fareleriyle yapılan kontrol ve test deneyleri bulgularında da görülmüştür (Tablo 5).

Röhrborn ve Hansmann'ın ve bu çalışmadaki bulguların farklılığı, muhtemelen metafazları değerlendirme şekli ile kullanılan teknikten ileri gelmektedir. Bu araştırmacılar, metafazları değerlendirirken, kromozomlar yerine kromatidleri saymayı tercih etmişlerdir. Sebebi açıklanamamakla beraber, kabul edilebilir ki, kullanılan preparasyon tekniği dolayısıyla, (ör : 60 dakika gibi uzun bir süre hipotonik çözelti muamelesi) çok sayıda kromozom kromatidlerine parçalanmış halde bulunmuş ve kromozomlar yerine

kromatidler sayılmıştır. Ayrıca, fazlalık teşkil eden kromatid ve kromozom parçaları da ND olarak değerlendirilmiştir. Oysa, bu çalışmadaki gözlemler, kullanılan hipotonik çözeltinin yüksek konsantrasyonlu olması ve bu çözelti içerisinde oositlerin bekleme süresinin fazla olması halinde, fiksatif muamelesinden sonra birçok kromozomun kromatidlerine parçalandığını göstermiştir. Ayrıca, fare kromozomlarının hepsinin akrosentrik olması ve preparasyon esnasında kromatid, kromozom parçası ve kromozomların birbirinden ayırt edilmesi oldukça zor olduğundan, değerlendirmede yanlışlar mümkün olmaktadır. Bütün bu teknik hatalardan dolayı Röhrborn ve Hansmann, ilk çalışmalarında çok yüksek ND oranı saptamışlardır.

Bu görüşü, Hansmann'ın son çalışmalarından biri, açık olarak desteklemektedir (4). Hansmann'ın bu çalışmasında aynı fare soyları kullanılmış; fakat, metafazlar değerlendirilirken, kromatidler yerine bu sefer kromozomlar sayılarak, MII - oositlerinde spontan ND oranı C3H farelerinde % 0.3 (4/1302), (101 x C3H) F₁ farelerinde % 0.4 (3/740) ve NMRI farelerinde % 0.2 (3/1296) olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada yapılan test deneylerinde, siklofosfamidin, analiz edilebilen MII - oositlerinde ND ve kromozom kırıklarının endüksiyonuna etkisinin önemli olmayan çok zayıf derecede olduğu saptandı (Tablo 5). Fakat analiz edilemeyen bazı metafazlarda çok sayıda kromozom kırıklarının gözlenmesi ve bu yüzden analiz edilemeyişleri, muhtemelen siklofosfamidin kromozom kırma etkisinden kaynaklanmaktaydı.

Tablo 5 de açık olarak görüldüğü gibi, bu çalışmada gerek kontrol, gerekse test deneylerinde C3H inbred fareleri (C3H x C57BL) F₁ hibrid farelerine nazaran daha çok kromozom sapmaları gösterdiler. Bu da, deneylerde kullanılan fare soylarının genetik yapısının, kromozom düzensizliklerinin endüksiyonunu etkilediğini kanıtlamaktadır. MII - oosit test sisteminde bu iki fare soyundan birisi tercih edilecekse, F₁ hibrid farelerinin seçilmesi gerekir. Zira, genetik yapıları bakımından heterozigot olan bu farelerden elde edilecek bulguların, yine heterozigot olan insanlara aktarılması, tamamen homozigot olan C3H fareleri bulgularından

daha gerçekçi olacaktır. Diğer taraftan, çok aşağıda bulunan spontan ND oranı dolayısıyla, bu farelerde çok az sayıda çalışılan oositlere kuvvetli ND endükte eden maddeleri istatistik bakımdan belirlemek daha kolay olacaktır.

KAYNAKLAR

- (1) Brittinger D.: Die mutagene Wirkung von Endoxan bei der Maus. Humangenetik 3 : 156-165, 1966.
- (2) Fialkow P.J.: Thyroid antibodies, Down's syndrome, and maternal age. Nature 214 : 1253-1254, 1967.
- (3) Hansmann I.: Chromosome aberrations in metaphase II - oocytes, stage sensitivity in the mouse oogenesis to amethopterin and cyclophosphamide. Mut. Res. 22 : 175-191, 1974.
- (4) Hansmann I., El-Nahass E.: Incidence of nondisjunction in mouse oocytes. Cytogenet. Cell Genet. 24 : 115-121, 1979.
- (5) Langenbeck U., Hansmann I., Hinney B., Hönig V.: On the origin of the supernumerary chromosome in autosomal trisomies - with special reference to Down's syndrome. Hum. Genet. 33 : 89-102, 1976.
- (6) Licznarski G., Lindsten J.: Trisomy 21 in man due to maternal nondisjunction during the first meiotic division. Hereditas 70 : 153-154, 1972.
- (7) Martin R.H., Dill F.J., Miller J.R.: Nondisjunction in aging female mice. Cytogenet. Cell Genet. 17 : 150-160, 1976.
- (8) Niikawa N., Merotto E., Kajii T.: Origin of acrosentric trisomies in spontaneous abortuses. Hum. Genet. 40 : 73-78, 1977.
- (9) Reichert W., Hansmann I., Röhrborn G.: Chromosome anomalies in mouse oocytes after irradiation. Humangenetik 28 : 25-38, 1975.
- (10) Robinson J.A.: Meiosis I non-disjunction as the main cause of trisomy 21. Hum Genet. 39 : 27-30, 1977.
- (11) Röhrborn G., Hansmann I.: Induced chromosome aberrations in unfertilized oocytes of mice. Humangenetik 13 : 184-198, 1971.
- (12) Röhrborn G., Hansmann I.: Oral contraceptives and chromosome segregation in oocytes of mice. Mut. Res. 26 : 535-544, 1974.
- (13) Schleiermacher E.: Über den Einfluss von Trenimon und Endoxan auf die Meiose der männlichen Maus. II. Cytogenetische Befunde nach Behandlung mit Trenimon und Endoxan. Humangenetik 3 : 134-155, 1966.
- (14) Schmid W., Staiger G.R.: Chromosome studies on bone marrow from Chinese hamsters treated with benzodiazepine tranquillizers and cyclophosphamide. Mut. Res. 7 : 99-108, 1969.
- (15) Shimada T., Watanabe T., Endo A.: Potential mutagenicity of cadmium in mammalian oocytes. Mut. Res. 40 : 389-396, 1976.
- (16) Uchida I.A., Lee C.P.V.: Radiation - induced nondisjunction in mouse oocytes Nature 250 : 601-602, 1974.