

**FARE MII - OOSİTLERİNDE KOLŞİSİN ETKİSİYLE
NON - DISJUNCTION ENDÜKSİYONU*, ******Dr. Zeki TURAN*******Ö Z E T :**

Bu çalışmada, (C3H x C57BL) F₁ hibrid fareleri MII - oositlerinde kolşisinin Non - disjunction endüksiyonuna etkisi araştırılmıştır. İlk olarak kontrol deneyleri yapıp, kazanılan MII - oositlerinden kromozom preparatları hazırlanmış ve analizi yapılabilen oositlerde spontan Non - disjunction meydana gelmediği saptanmıştır (0/651). Daha sonra kolşisin ile test deneyleri yapılmıştır. Kolşisin çeşitli konsantrasyonlarda mayozun MI safhasından kısa bir süre önce dişi farelere intraperitoneal enjekte edilerek MII safhasında elde edilen oositlerden kromozom preparatları yapılmıştır. Bulgulardan, kolşisinin bir defalık 0.3 mg/kg dozda % 15.4 (24/156) oranında Non - disjunction meydana getirdiği görülmüştür.

S U M M A R Y :**INDUCTION OF NON - DISJUNCTION IN MII - OOCYTES OF
MOUSE WITH THE EFFECT OF COLCHICINE**

In this investigation, the effect of colchicine on the induction of nondisjunction in (C3H x C57BL) F₁ hybrid mice was studied. Firstly, chromosome preparations from MII - oocytes obtained by means of control experiments were made and no spontaneous non - disjunction observed in analysable oocytes (0/651). After that, some tests were performed with colchicine. Chromosome preparations from oocytes obtained at MII stage were made by

- (*) Bu çalışma, Alman Araştırma Kurumunun Freiburg'daki Mutajenite Araştırmaları Merkez Laboratuvarında (Zentrallaboratorium für Mutagenitätsprüfung der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, Freiburg) yapılmıştır.
- (**) TÜBİTAK Birinci Ulusal Genetik Simpozyumunda (2-5 Aralık 1981, Ankara) tebliğ edilmiştir.
- (***) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Öğretim Üyesi.

administrating colchicine into female mice intraperitoneally at different concentrations just before MI stage of meiosis. In conclusion it was seen that colchicine induced non - disjunction at a rate of 15.4 % (24/156) when it is given at a single dose of 0.3 mg/kg.

Mutajen kimyasal maddelerin bir özelliği de kromozom sapmalarını meydana getirmesidir. Anöplöid kromozom sapmaları, homolog kromozomların ayrılmaması neticesi mayoz veya mitoz hücre bölünmesi esnasında dağılma düzensizliğinden ileri gelmektedir. Bu mekanizma Non - disjunction (ND, kromozom ayrılmazlığı) diye isimlendirilir. Normal şekilde, homolog kromozomlardan herbiri birer oğul hücreye gittikleri halde, ND durumunda, homolog kromozomların her ikisi birden oğul hücrelerden sadece birisine giderler. Böylece iki oğul hücreden birisinde bir kromozom eksik (hipoploid), diğerinde ise bir kromozom fazla (hiperplöid) bulunacaktır.

Erken spontan abortların % 50'sinin kromozomal normal olmadığı ve bunun da yaklaşık yarısının ND'den ileri geldiği gerçeği (15) genom mutasyonlarının insanlar için ne kadar önem taşıdığını göstermektedir. Bu, aynı zamanda seleksiyonun anöplöid embryolara karşı in utero ne kadar kuvvetli olduğuna işaret eder. Buna rağmen, insanlarda bazı anöplöid embryolar doğuma kadar, hatta doğarak yaşamaktadırlar. Bunlar eşey kromozomları sapmaları yanında, genellikle otozomal kromozomlardan 21, 18 ve 13 numaralı kromozomların trizomileridir (yaklaşık her 1000 doğumda 3 - 4).

Bu tip mutasyonlar kuvvetli bedensel ve zihinsel arızalara da sebebiyet verdiklerinden çok yönlü sosyal problemleri de beraberinde getiriyorlar. Bundan dolayı ND araştırmaları insanlar için büyük bir önem arz etmektedir.

Kolşisin bir çiğdem türünden (colchicum autumnale) elde edilen alkaloid yapısında kuvvetli toksik bir maddedir. Tıp alanında gut (gout) hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Diğer maddelerle kombinasyon halinde preparatların yanı sıra, etkili maddesi sadece kolşisin olan ilaçlar da dünya piyasasında bulunmaktadır.

Kolşisin, iğ ipliklerinin yapısını teşkil eden mikrotubulusların asıl proteini olan Tubulin'e kendisini bağlayarak, hücre bölünmesinde iğ ipliklerinin teşekkülünü engellemektedir (8, 9, 11).

Bu çalışmada; kolşisinin, ND olgularının mayotik kaynağını teşkil eden oositlerde, ne derece kromozom dağılımı düzensizliklerine sebep olduğunun araştırılması amaçlanmıştır.

Deney objesi olarak fareler kullanıldı. Zira fareler, bir memeli olarak filogenetik bakımdan insanlara daha yakındır ve dolayısıyla elde edilen bulguların insanlara aktarılması daha güvenilir olmaktadır.

MATERYAL ve METOD :

Bu çalışmada, Mutajenite Araştırmaları Merkez Laboratuvarında (Zentrallaboratorium für Mutagenitätsprüfung, Freiburg/B. Almanya) yetiştirilen 3 - 6 aylık (C3H/HeHan x C57BL/6JHan) F₁ dişi hibrid fareleri kullanıldı.

Pratik olması bakımından, bir çok laboratuvarında yapıldığı gibi, ovulasyonun stimülasyonu için Anteron (PMS = pregnant mare's serum) ve Primogonyl (HCG = human chorionic gonadotropine) hormonları kullanıldı.

Her seferinde 4-6 F₁ dişi fare 48 saatlik zaman aralığı ile önce PMS, sonra HCG ile muamele edildi. Her fare için bu hormonlardan 2 I.U. (International Unite) intraperitoneal enjekte edildi. PMS ve HCG hormonları önceden % 0.9'luk sodyum klorür çözeltisi içinde çözümlenerek Eppendorf Reaksiyon tüplerinde -10°C de muhafaza edildi.

HCG muamelesinden yaklaşık 15 saat sonra oositler mayozun Metafaz II safhasında olarak (MII - oositleri) ovaryumdan oviduktun ampullası (oviduktun ovaryuma bağlandığı yerde genişlemiş kısmı) içine sığmamış durumda (ovulasyon) olduklarından, bunları kazanmak için fareler öldürüldü ve karın kısmı açılarak eşey organları dışarı alınıp hanks çözeltisi içine konuldu. Uterus oviduktun yakınından kesilerek atıldı. Stereo - mikroskop altında sivri uçlu

pinsetler vasıtasıyla ovaryum ve ovidukt birbirinden ayrıldı ve ovidukt ampulla ile birlikte içinde hanks çözeltisi bulunan başka bir kaba aktarıldı. Yine stereo - mikroskop altında, ince uçlu pinsetlerle ampulla yırtılarak, yumak şeklinde corona radiata hücreleriyle çevrilmiş MII - oositleri ağızla kontrol edilebilen, ince çekilmiş 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 çözeltisine aktarıldı. Preparasyona hazır MII - oositleri bundan sonra gruplar halinde (her seferinde 4 - 6 tane) hipotonik çözelti ile 9 - 16 dakika muamele edildiler. Hipotonik çözelti olarak bu çalışmada, % 1 lik Na_3 - sitrat çözeltisi kullanıldı.

Hipotonik çözelti ile muamele edilmiş ve iyice şişkinleşmiş oositlerden ağızla kontrol edilen bir pipetle, stereo - mikroskop altında her seferinde sadece bir tane alınarak temiz bir lam üzerine aktarıldı. Sonra ağız kontrollu başka bir pipetle üzerine önce bir damla fiksatif damlatıldı. Patlamaya yakın bir damla daha ilave edildi. İkinci damladan sonra (üç damla da olabilir) oosit patlar ve kromozomlar etrafa yayılır. Fiksatif çözeltisi olarak her seferinde taze hazırlanmış ve soğuk halde bulunan mutlak asetik asit ve metanol 1 : 3 oranında hazırlanarak kullanıldı.

Oosit fiksatif muamelesiyle patladıktan sonra yeri stereo - mikroskop altında işaretlendi ve böylece hazırlanan preparat kurumaya terkedildi. Birinci oositin işlemi bittikten sonra ikinci oositin ve sırasıyla diğerlerinin preparasyonu yapıldı. Bütün preparatlar kuruduktan sonra Giemsa boyası ile boyanarak üzerleri bir lamalle kapatıldı. Hazırlanmış ve 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 $n = 20$ kromozom ihtiva ederler. Kromozom analizleri sonunda normalden sapma gösteren metafaz plakları ayrılarak, gerektiğinde fotoğrafları çekildi.

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

ND endüksiyonu için denenecek maddelerin farelere ne zaman verilmesi gerektiği hususunda literatürde bir çok çalışma mevcuttur (3, 14). Bu alanda yapılan bütün teorik ve deneysel çalışmalar, mayozun MI safhasının ND endüksiyonunda en hassas safha olduğunu göstermiştir. Bundan dolayı bu çalışmada, ND endüksiyonuna etkisi araştırılan kolşisin, farelere çeşitli dozlarda HCG muamelesinden 2 saat sonra (MI safhasından kısa bir süre önce) enjekte edildi.

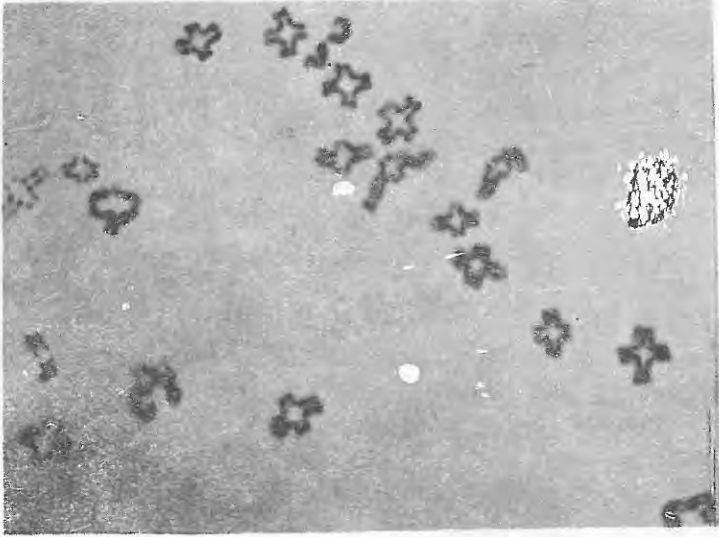
BULGULAR :

Önce kontrol deneyleri yapılarak spontan meydana gelen kromozom düzensizlikleri saptandı. Toplam 142 dişi F_1 hibrid faresi kullanılarak 1402 MII - oositi kazanıldı. Her fareden kazanılan oosit sayısı 3 ile 15 arasında değişmekteydi. Fare başına ortalama oosit sayısı 9.9 (1402/142) idi. Kazanılan bu 1402 MII - oositinden 651 tanesi kromozom analizleri için değerlendirilebilir düzeydeydiler. Bunlardan da 29 tanesi $n = 19$ kromozoma (hipohaploid), 622 tanesi ise $n = 20$ kromozoma (normal) sahiptiler. Kontrol deneylerinde analiz edilebilen oositler arasında $n = 21$ kromozoma sahip (hiperhaploid) hiçbir oosite rastlanılmadı. Analiz edilemeyen oositler arasında 30 tane dejenere olmuş oosit bulundu. Ayrıca 3 tane oosit te mayozun MI safhasında kalmış olarak gözlendi. Kontrol deneyleri bulguları Tablo 1 de özetlenmiştir.

TABLO 1 : KONTROL F_1 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 oosit

Kolsisin ile yapılan test deneylerinde, ND endüksiyonunda etkili dozu saptamak için çeşitli deneyler yapıldı. Genel olarak birçok laboratuvarında fare hücrelerini metafaz safhasında durdurmak için kolşisin dozu 2 mg/kg vücut ağırlığı olarak kullanılıyor. Fakat bu çalışmada kolşisin, ND endüksiyonu bakımından denenmek istendiğinden, kullanılacak dozun mayoz akışını durdurmaması gerekirdi. Bu bakımdan, mayoz akışını durdurmeyen ND endüksiyonunda en etkili dozu bulmak için önce 2, 1, 0.5, 0.3, 0.2, 0.1 ve 0.05 mg/kg dozlarıyla bir seri deneyler yürütüldü. İlk üç doz ile (2,1 ve 0.5 mg/kg) bütün oositler mayozun MI safhasında durdurulmuşlardı (Resim 1).



Resim 1 : Yüksek dozda (0.5 mg/kg) kolşisin etkisiyle MI safhasında durdurulmuş 20 bivalente sahip bir oosit. Giemsa x 550.

0.5 mg/kg dozun altındaki kullanılan dozların hepsinde oositler, MI safhasında durdurulmayarak MII safhasına kadar ulaşmışlardı.

0.2 - 0.05 mg/kg arasındaki dozlarla birer deney yapıldı ve analiz edilebilen bütün MII - oositleri $n = 20$ kromozomlu olarak normal bulundu. Sadece 0.1 mg/kg dozuyla yapılan deneyde bir oosit $n = 19$ kromozoma sahipti. Sonraki deneylerde kolşisin dozu

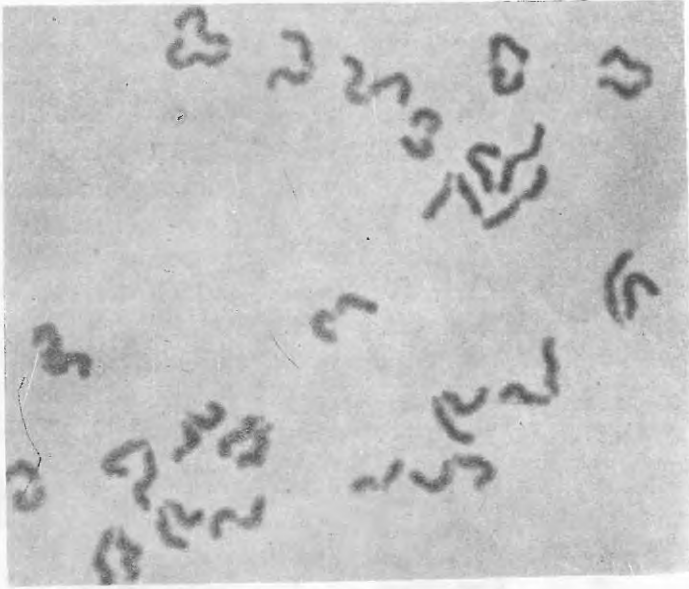
0.3 mg/kg olarak kullanıldı. Çünkü, bu dozla yapılan bir tek deneyde, analiz edilebilen 22 MII - oositinden 2 tanesi kromozom sapması gösteriyordu. Toplam olarak 0.3 mg/kg dozla 21 fare çalışıldı ve 200 MII - oositi elde edildi. Bunlardan 156 tanesi analiz edilebilir nitelikteydi. Analiz edilebilenlerden 125 tanesi $n = 20$ kromozomlu normal, 31 tanesi ise $n = 19 - 23$ kromozom arasında değişmekteydi (Tablo 2). Normalden sapma gösteren oositlerin toplam oranı % 19.9 (31/156) olarak bulundu. Bunlardan, ND olarak değerlendirilen hiperhaploidlerin oranı % 15.4 (24/156) idi. Resim 2a, b ve c $n = 23$ kromozomlu bir MII - oositini ve yanında $n = 17$ kromozomlu kutup hücrelerini göstermektedir.



Resim 2a : Kolşisin muamelesi ile (0.3 mg/kg) bir F_1 faresinden kazanılan ve her ikisi de metafazda bulunan bir MII - oosit ve I. kutup hücrelerinin yanyana görünüşü. Giemsa x 150.



Resim 2c : 2a daki 17 I. kutup hücreleri kromozomları. Giemsa x 850.



Resim 2 b : 2 a daki 23 MII - oosit kromozomları. Giemsa x 750.

TABLO 2 : KOLŞİSİN MUAMELESİ İLE F₁ FARELERİNDEN KAZANILAN MII - OOSİTLERİNİN ANALİZ SONUÇLARI.

Doz	Çalışılan Fare Sayısı	Kazanılan Oosit Sayısı	Analiz Edilebilen Oosit Sayısı	n Kromozom say.					Diğer özellikler
				19	20	21	22	23	
2 mg/kg	5	35	33	—	—	—	—	—	Bütün oositler MI safhasında durdurulmuş
1 mg/kg	12	112	106	—	—	—	—	—	»
0.5 mg/kg	3	36	32	—	—	—	—	—	»
0.2 mg/kg	3	31	26	—	26	—	—	—	Oositler MI safhasında durdurulmamış
0.1 mg/kg	3	30	21	1	20	—	—	—	»
0.05 mg/kg	3	22	18	—	18	—	—	—	»
0.3 mg/kg	21	200	156	7	125	20	2	2	»

TARTIŞMA :

Kontrol deneylerinde, Tablo 1 de görüldüğü gibi, analiz edilebilen 651 MII - oositinden hiçbirisinde hiperhaploidiye rastlanmamıştır [0/651 ($< \% 0.2$)]. Literatürde, çeşitli fare soylarının MII - oositlerinde spontan ND oranı, birçok çalışma grubu tarafından saptanmıştır (4, 5, 10, 12, 17, 20). Bulunan spontan hiperhaploidi oranları açık olarak $\% 1$ in altındadır. Aynı şekilde, fare spermatogenezinde (1, 18) ve Hamster oogenezinde (6, 21) spontan hiperhaploidi oranı fare oositlerindeki yükseklikte bildirilmektedir. Bütün literatürdeki bulgular, bu çalışmadaki bulgular ile uygunluk göstermektedir. Bu konudaki araştırmalar, belirli sebeplerden, insanlar için mevcut değildir.

Gerek bu çalışmadaki kontrol deneylerinde (29/651), gerekse literatürdeki benzer çalışmalarda, hipohaploid oositler hiperhaploidlere oranla daha çok sayıda görülmektedir. Bu durum, mayoz akışının normal olmamasından meydana gelebileceği gibi preparasyon hatalarından da ileri gelebilir. Bu çalışmada, kontrol deneylerinde birçok defalar $n = 19$ kromozumlu metafazlarda, uzun aramalar sonucu metafazdan çok uzakta bir kromozomun daha mevcudiyeti saptandı. Bu tür hatalardan dolayı genelde hipohaploid metafazların ND olarak değerlendirilmemesi gerekir. Bu çalışmada, kontrol deneylerinde ND oranı için sadece hiperhaploid metafazlar dikkate alındı. Diğer taraftan hipohaploid oositler çoğunluk preparasyon hatası sonucu gözlemlendiklerinden, bunların spontan meydana gelen gerçek oranlarını saptamak mümkün olmamaktadır.

Fakat bu çalışmada, kolşisinle yapılan test deneylerinde hipohaploid oositlerin oranı kontrol deneylerindeki nazaran bir istisna teşkil etmekteydi. 0.3 mg/kg doz ile yapılan test deneylerinde, analiz edilebilen 156 MII - oositinden 31 tanesi normal haploid kromozom sayısından sapma gösteriyordu. Sapma gösterenlerden 7 tanesi hipohaploid, 24 tanesi ise hiperhaploidtiler. Bu 7 hipohaploid oositten en az birkaç tanesinin preparasyon hatasından ileri gelebileceği kabul edilirse, o zaman hiperhaploidlerin sayısının hipohaploidlerin yaklaşık beş katı olduğu görülmektedir. Buna rağmen, hipohaploidlerin preparasyon hatasından meydana gel-

mediği garantilenemediğinden, test deneylerinde de ND değerlendirilmesi için sadece hiperhaploid metafazlar dikkate alındı. Görünüşüne göre, iğ ipliklerindeki arıza nedeniyle fazlalık teşkil eden kromozom, kutup hücrelerine gideceğine, çoğunlukla asıl oosit içinde kalmaktadır (teorik olarak hipohaploidlerin oranının, hiperhaploidlere eşit olması beklenir.)

Her fareden normal oositlerin yanında bir kaç dejenere olmuş oosit te kazanıldı. Dejenere olmuş oositler morfolojik olarak morula safhasındaki embriyoya benzemektedirler. Fakat bunlar preparasyona ulaşmadan parçalanmakta veya preparasyon neticesinde kromozomlara veya çekirdeğe sahip değildiler.

Dejenere olmuş oositlerden farklı olarak deforme olmuş oositlere de rastlandı. Bu tür oositler asıl oosit ile onu saran zona pellucida arasında geniş bir boşluğa sahiptirler. Bunlar genellikle, dölleme olmadığından MII safhasından Anafaz II safhasına ilerlemiş yaşlı oositlerdir. Fakat yeni sıçramış MII - oositleri arasında da az sayıda bu tür deforme olmuş oositler gözlemlendi. Bunlar genellikle preparasyondan önce parçalandılar. Preparasyonu yapılabilenler, dejenere olmuş oositlerin aksine, kromozomlara sahiptirler. Ama metafaz plakları çok kötü olduğundan analizleri genellikle mümkün değildi. Kolşisin ile yapılan test deneylerinde, taze sıçramış (ovulasyon) MII - oositlerinin büyük bir kısmı oosit ile zona pellucida arasında geniş bir boşluğa sahiptirler. Buna rağmen, preparasyonları yapılarak analiz edilebilir metafazlar elde edildi. Muhtemelen, deforme olmuş gibi gözükten bu oositler kolşisinden kuvvetli derecede etkilenmiş ve bundan dolayı morfolojik olarak değişmişlerdir.

Normal mayoz akışında I. kutup hücresi de bölündüğünden (eğer henüz atılmamış ise), bazan oosit ile I. kutup hücresi senkron metafaz safhasında beraberce gözlemlendiler. Yani; oosit kromozomlarının yanında, I. kutup hücresi kromozomlarını da analiz etmek mümkün oldu. Giemsa boyaması ile oosit kromozomları ve I. kutup hücresi kromozomları birbirinden kolayca ayırt edilebildiler. Oosit kromozomları, kutup hücresi kromozomlarına nazaran daha koyuca boyanmaktadırlar ve ayrıca, kutup hücresi kromozomları oosit kromozomlarından farklı olarak, mikroskop altında

bakıldığında yanlara doğru hafif saçaklı bir yapı gösterirler (yavaş yavaş dağılıyorlarmış gibi). Böylelikle 20 oosit ve 20 kutup hücresi kromozomları yan yana ayırt edilebiliyorlardı. Anormal bir mayoz bölünmesinde bir veya bir kaç kromozom kutup hücresine gitmeyip oosit içinde kaldıklarında (ND), fazlalık teşkil eden kromozomlar gerek koyu boyanmaları ve gerekse yapıları bakımından tamamen oosit kromozomlarına benziyorlardı. Böyle bir örnek Resim 2 de demonstratif olarak görülmektedir. Muhtemelen, kromozom yapılarının bu farklılığı stoplazmanın henüz aydınlatılmamış kalitatif veya kantitatif kontrol faktörleri tarafından ayarlanmaktadır.

İğ iplikleri zehiri olan kolşisin liliüm (zambak) mikrosporositlerinde I. mayoz bölünmesi esnasında Univalentlerin meydana gelmesine sebep olmaktadır (16). Ayrıca kolşisin, Hamster hücre kültürlerinde endoreduplikasyon da meydana getirmektedir (13).

Kolşisinle yakın akraba olan Kolsemid (colcemid) Hamster hücre kültürlerinde mitotik (2, 7), Drosophila'da ise mayotik (19) ND endükte etmektedir.

Bu çalışmada da, test bulgularından görüleceği üzere, ilk defa fare MII - oositlerinde denenen kolşisin, oldukça kuvvetli ND endükte eden bir madde olarak kendini gösterdi. 0.3 mg/kg doz ile analiz edilebilen 156 MII - oositinden 24 tanesi (% 15.4) hiperhaploid kromozom sayısına sahiptiler.

Bu çalışmadaki bulgulara dayanarak kabul edilebilir ki, kolşisin veya kolşisin ihtiva eden preparat muameleleri ile doza bağlı olarak insanlarda da ND endüksiyonu mümkün olabilir.

KAYNAKLAR

- (1) Beatty R.A., Lim M.-C., Coulter V.J.: A quantitative study of the second meiotic metaphase in male mice (*Mus musculus*). *Cytogenet. Cell Genet.* 15: 256-275, 1975.
- (2) Cox D.M.: A quantitative analysis of colcemid - induced chromosomal nondisjunction in Chinese hamster cells in vitro. *Cytogenet. Cell Genet.* 12: 165-174, 1973.
- (3) Edwards, R.G., Searle A.G.: Genetic radiosensitivity of specific postdictyate stages in mouse oocytes. *Genet. Res. (Camb.)* 4: 389-398, 1963.

- (4) Hansmann I.: Chromosome aberrations in metaphase II-oocytes, stage sensitivity in the mouse oogenesis to amethopterin and cyclophosphamide, *Mut. Res.* 22 : 175-191, 1974.
- (5) Hansmann I., El-Nahass E.: Incidence of nondisjunction in mouse oocytes. *Cytogenet. Cell. Genet.* 24 : 115-121, 1979.
- (6) Hansmann I., Neher J., Röhrborn G.: Chromosome aberrations in metaphase II oocytes of Chinese hamster (*Cricetulus griseus*). I: The sensitivity of the pre - ovulatory phase to triaziquone. *Mut. Res.* 25 : 347-359, 1974.
- (7) Kato H., Yosida T.H.: Nondisjunction of chromosomes in a synchronized cell population initiated by reversal of colcemid inhibition. *Exp. Cell Res.* 60 : 459-464, 1970.
- (8) Lockwood A.H.: Tubulin assembly protein: Immunochemical and immunofluorescent studies on its function and distribution in microtubules and cultured cells. *Cell*, Vol. 13 : 613-627, 1978.
- (9) Lockwood A.H.: Molecules in mammalian brain that interact with the colchicine site on tubulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 76, No. 3 : 1184-1188, 1979.
- (10) Martin R.H., Dill F.J., Miller J.R.: Nondisjunction in aging female mice. *Cytogenet. Cell Genet.* 17 : 150-160, 1976.
- (11) Nunez J., Fellous A., Francon J., Lennon A.M.: Competitive inhibition of colchicine binding to tubulin by microtubule - associated proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 76, No. 1 : 86-90, 1979.
- (12) Reichert W., Hansmann I., Röhrborn G.: Chromosome anomalies in mouse oocytes after irradiation. *Humangenetik* 28 : 25-38, 1975.
- (13) Rizzoni M., Palitti F.: Regulatory mechanism of cell division. I. colchicine - induced endoreduplication. *Exp. Cell Res.* 77 : 450-458, 1973.
- (14) Röhrborn G.: The activity of alkylating agents, I. Sensitive mutable stages in spermatogenesis and oogenesis. In Vogel F., and Röhrborn G. (ed.): *Chemical Mutagenesis in Mammals and Man*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1970.
- (15) Sankaranarayanan K.: The role of non - disjunction in aneuploidy in man. An overview. *Mut. Res.* 61 : 1-28, 1979.
- (16) Shepard J., Boothroyd E.R., Stern H.: The effect of colchicine on synapsis and chiasma formation in microsporocytes of *Lilium*. *Chromosoma (Berl.)* 44 : 423-437, 1974.
- (17) Shimada T., Watanabe T., Endo A.: Potential mutagenicity of cadmium in mammalian oocytes. *Mut. Res.* 40 : 389-396, 1976.
- (18) Szemere G., Chandley A.C.: Trisomy and triploidy induced by X - irradiation of mouse spermatocytes. *Mut. Res.* 33 : 229-238, 1975.
- (19) Traut H., Scheid W.: The induction of aneuploidy by colcemid fed to *Drosophila melanogaster* females. *Mut. Res.* 23 : 179-188, 1974.
- (20) Uchida I.A., Lee C.P.V.: Radiation - induced nondisjunction in mouse oocytes. *Nature* 250 : 601-602, 1974.
- (21) Watanabe T., Shimada T., Endo A.: Mutagenic effects of cadmium on mammalian oocyte chromosomes. *Mut. Res.* 67 : 349-356, 1979.