

**FARE PREİMLANTATİF EMBRYOLARINDA KOLŞİSİN  
ETKİSİYLE NON - DISJUNCTION ENDÜKSİYONU \*,\*\***

Dr. Zeki TURAN\*\*\*

**Ö Z E T :**

Bu çalışmada; kontrol deneyleri için, hormon muamelesi görmüş (C3HxC57BL) F<sub>1</sub> hibrid dişi fareleri, aynı soydan hiçbir muamele görmemiş erkek farelerle çiftleştirilerek, kazanılan preimplantatif embryolardan (1 hücreli safhadan blastosist safhasına kadar) kromozom preparatları yapıldı ve analiz edilebilen embryolarda spontan kromozom düzensizliklerine rastlanmadı (0/60). Kolşisin ile yapılan test deneylerinde, hormon muamelesi görmüş dişi farelere çiftleştirmeden önce bir defalık 0.3 mg/kg dozda intraperitoneal kolşisin enjekte edildi. Çiftleşmiş dişilerden kazanılan çeşitli safhalardaki preimplantatif embryolardan kromozom analizleri için preparatlar yapıldı. Analiz edilebilen embryolarda toplam % 66 (72/109) çeşitli sayısal kromozom düzensizlikleri gözlemlendi. Non - disjunction oranı ise % 21 (23/109) olarak saptandı. Kolşisinin çok kuvvetli ND endüksiyonuna sebep olmasının yanısıra, döllenme mekanizmasını da önemli derecede etkilediği anlaşıldı.

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

In this study; for the control experiments, chromosome preparations were made from the obtained preimplantative embryos (from 1 cell stage to blastocyst stage) by mating the hormones

- (\*) Bu çalışma, Alman Araştırma Kurumunun Freiburg'daki Mutajenite Araştırmaları Merkez Laboratuvarında (Zentrallaboratorium für Mutagenitaetsprüfung 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.

treated (C3HxC57BL) F<sub>1</sub> hybrid female mice to the untreated male mice of the same strain and no spontaneous chromosome aberrations were observed in the analysable embryos (0/60). In the test experiments done with colchicine, the hormones treated female mice were administrated colchicine intraperitoneally at a single dose of 0.3 mg/kg before mating them to male mice. Preparations were made from the preimplantative embryos in different stages obtained from the mated female mice for chromosome analysis. Several numerical chromosome aberrations were observed in 66 % of embryos which could be analysed (72/109). The rate of Non - disjunction was 21 % (23/109). It was seen that colchicine effected the fertilization mechanism as well as it caused a very strong ND induction.

Non - disjunction (ND, kromozom ayrılmazlığı) insanlarda meydana getirdiği arızalar bakımından araştırılmaya değer büyük bir önem arz etmektedir. Bu tip kromozom düzensizliklerinin oluşumu oogonium veya spermatogoniumlarda (mitotik ND) veya I. veya II. mayoz bölünmesinde (mayotik ND) cereyan ederse, bunun neticesi olarak anöploid gametler ve döllenme ile de anöploid zigotlar meydana gelir. Genom mutasyonlarından poliploidi, insanlarda yaşamla bağdaşmadığı halde, belirli anöploid embryolar bedensel ve zihinsel arızalarla birlikte doğarak yaşamaktadırlar. Yapılan araştırmalardan (5, 6, 9) ND vakalarının yaklaşık 2/3'ünün annenin mayoz bölünmesindeki hatadan kaynaklandığının bilinmesi, ND endüksiyonuna sebep olan faktörlerden mutajen kimyasal maddelerin oositlerde araştırılmasının daha uygun olacağını göstermektedir. Belirli nedenlerden, insanlarda bu tür araştırmaların yapılamaması, deney objesi olarak insanlara filogenetik bakımdan yakın memelilerin kullanılmasını zorunlu kılmaktadır.

Bu çalışmada, kuvvetli toksik bir madde olan ve tıpta gut (gout) hastalığının tedavisinde kullanılan kolşisinin (colchicine), fare preimplantatif embryolarında ND endüksiyonuna etkisinin araştırılması amaç edinilmiştir. Kolşisinin, kendisini iğ ipliklerinin yapısını teşkil eden mikrotubulusların asıl proteini olan Tubulin'e bağlayarak, hücre bölünmesinde iğ ipliklerinin teşekkülünü engellediği literatürden (7, 8, 10) bilinmektedir.

**MATERYAL ve METOD :**

Bu çalışmada, Mutajenite Araştırmaları Merkez Laboratuvarında (Zentrallaboratorium für Mutagenitaetsprüfung, Freiburg/B. ALMANYA) yetiştirilen 3 - 6 aylık (C3HxC57BL) F<sub>1</sub> dişi ve erkek hibrid fareleri kullanıldı.

Ovulasyonun stimülasyonu için Anteron (PMS = pregnant mare's serum ve Primogonyl (HCG = human chorionic gonadotropine) hormonları kullanıldı. Dişi fareler 48 saatlik zaman aralığı ile önce PMS, sonra HCG muamelesi gördüler. Her dişi fare için, önceden % 0.9 luk sodyum klorür çözeltisinde çözülmüş bu hormonlardan 2 I.U. (International Unite) intraperitoneal enjekte edildi. Dişi fareler HCG muamelesinden 2 saat sonra (Mayozun MI safhasından kısa bir süre önce), kontrol deneylerinde başka hiçbir muamele görmeden, test deneylerinde ise intraperitoneal 0.3 mg/kg dozda kolşisin enjekte edilerek, aynı soydan hiçbir muamele görmemiş erkek farelerle bir gece boyunca çiftleşmeye bırakıldı. Ertesi sabah, vaginal plak kontrolü ile çiftleştiği saptanan dişi fareler, istenilen embryo safhasında çalışılmak üzere erkeklerden ayrılarak başka bir kafeste tutuldular. Preimplantatif embryolardan kromozom preparatları yapabilmek için, embryo hücrelerinin mitozun metafaz safhasında durdurulmaları gerektiğinden, istenilen embryo safhasında çalışılacak çiftleşmiş dişi farelere, embryoların kazanılması için öldürülmeden önce, intraperitoneal 2 mg/kg dozda kolşisin enjekte edildi.

Bu çalışmada kolşisin iki defa kullanıldı : Bir defa, 0.3 mg/kg dozda ND endüksiyonu için (Test - kolşisin), bir defa da, 2 mg/kg dozda embryo hücrelerini metafazda durdurmak için (Stop - kolşisin).

Stop - kolşisin muamelesi 3 - 4 saat sürdü. Çok yüksek senkroniteden dolayı, bir hücreli safhada embryo hücrelerini metafazda yakalamak için 3 - 4 saatlik stop - kolşisin muamelesi yeterli olmadığından, sadece bu safhada, stop - kolşisin muamelesi bir gece boyunca (yaklaşık 15 saat) uygulandı.

Embryolar, çiftleşmeden sonraki ilk günde 1 hücreli, ikinci günde 2 - 3 hücreli, üçüncü günde 4 - 16 hücreli ve dördüncü günde

blastosist safhasında bulunuyorlardı. Çalışılacak embryo safhasına göre, çiftleşmiş dişi fareler, in vivo 3 - 4 saatlik Stop - kolşisin muamelesinden sonra öldürülerek eşey organları dışarı alınıp hanks çözeltisine konuldu. Emryolar Ovidukt içerisinde iseler (1 - 8 hücreli safha), bu organ stereo - mikroskop altında sivri uçlu pinsetlerle parçalanarak, uterus içerisinde iseler (8 hücreli - blastosist safhası), iki ucu kesilerek açık bulunan uterusun bir ucundan, ağızla kontrol edilebilen ve içinde biraz hanks çözeltisi bulunan ince çekilmiş bir pipetle üflenerek, dışarı çıkarıldılar. Sonra, ağız kontrollu pipetle toplanarak başka bir kabdaki temiz hanks çözeltisine aktarıldılar. Preparasyona hazır embryolar bundan sonra gruplar halinde 9 - 16 dakika hipotonik çözelti (% 1 lik sodyum sitrat çözeltisi) ile muamele edildiler. Stereo - mikroskop altında kontrol edilerek iyice şişkinleşmiş embryolardan bir tane alınıp temiz bir lam üzerine aktarıldı. Daha sonra, ağız kontrollu başka bir pipetle üzerine önce bir damla, stereo - mikroskop altında kontrol edilerek, patlamaya yakın ikinci bir damla daha fiksatif damlatılarak embryo patlatıldı. Fiksatif çözeltisi olarak her seferinde taze hazırlanmış ve soğuk halde bulunan 1 : 3 oranında mutlak asetik asit ve metanol kullanıldı. Birinci embryodan sonra, sırasıyla diğerlerinin preparasyonu yapılarak kurumaya terkedildi. Kuruyan preparatlar Giemsa boyasıyla boyanıp üzerleri lamelle kapatıldı ve ışık mikroskopunda metafazda bulunan embryo hücrelerinin kromozom sayımları yapıldı. Fare embryo hücreleri  $2n = 40$  akrosentrik kromozoma sahip olduklarından, kromozom analizleri sonunda bu sayıdan sapma gösteren metafaz plakları ayrılarak, gerektiğinde fotoğrafları çekildi.

### B U L G U L A R :

Kontrol deneylerinde toplam olarak 54 çiftleşmiş dişi fare çalışılarak, 344 çeşitli gelişme safhasında bulunan preimplantativ embryo elde edildi. Her dişi fareden kazanılan embryo sayısı çok farklı olarak 2 - 12 arasında değişmekteydi. Fare başına ortalama embryo sayısı 6.4 (344/54) olarak bulundu. Kazanılan çeşitli safhalardaki 344 embryodan 60 tanesi analiz edilebilir en az bir metafaza sahiptiler ve bunların hepsi de  $2n = 40$  normal kromozomlu idiler. Kontrol deneylerinde, analiz edilebilenler arasında normalden sapma gösteren hiçbir embryoya rastlanmadı (Tablo : 1).



**TABLO 1 : BULUNDUKLARI SAFHALARA GÖRE PREİMLAN-TATİF EMBRYOLARIN KONTROL DENEYLERİ SONUÇLARI.**

| Embryo Safhaları   | Kazanılan Embryo sayısı | En az bir meta-faza sahip embryo sayısı | Bundan analiz edilebilen embryo sayısı | Metafaz başına 2n kromozom sayısı |    |     |
|--------------------|-------------------------|---|--|-----------------------------------|----|-----|
|                    |                         |   |  | <40                               | 40 | >40 |
| 1 hücreli safha    | 89                      | 87                                      | 27                                     |                                   | 27 |     |
| 2 hücreli safha    | 19                      | 5                                       | 4                                      |                                   | 4  |     |
| 3 hücreli safha    | 3                       | 1                                       | 0                                      |                                   | 0  |     |
| 4 hücreli safha    | 15                      | 4                                       | 0                                      |                                   | 0  |     |
| 6 hücreli safha    | 22                      | 18                                      | 2                                      |                                   | 2  |     |
| 8 hücreli safha    | 74                      | 39                                      | 6                                      |                                   | 6  |     |
| 9 hücreli safha    | 3                       | 3                                       | 1                                      |                                   | 1  |     |
| 12 hücreli safha   | 10                      | 8                                       | 2                                      |                                   | 2  |     |
| 16 hücreli safha   | 24                      | 5                                       | 0                                      |                                   | 0  |     |
| Blastosist safhası | 85                      | 64                                      | 18                                     |                                   | 18 |     |

0.3 mg/kg dozda kolşisin enjeksiyonu ile yapılan test deneylerinde de toplam 50 çiftleşmiş dişi fare çalışılarak çeşitli safhalarda 324 embryo kazanıldı. Her dişi fareden elde edilen embryo sayısı 1 - 12 arasında değişmekteydi. Fare başına ortalama embryo sayısı 6.5 (324/50) olarak bulundu. Kazanılan çeşitli safhalardaki 324 embryodan 109 tanesi analiz edilebilen en az bir metafaza sahipti. Analizi yapılabilen 109 embryodan, 37 tanesi normal olup metafazları  $2n = 40$  kromozoma sahiptiler. 72 tanesi ise anormal olup çeşitli kromozom düzensizlikleri gösteriyorlardı (Tablo : 2).

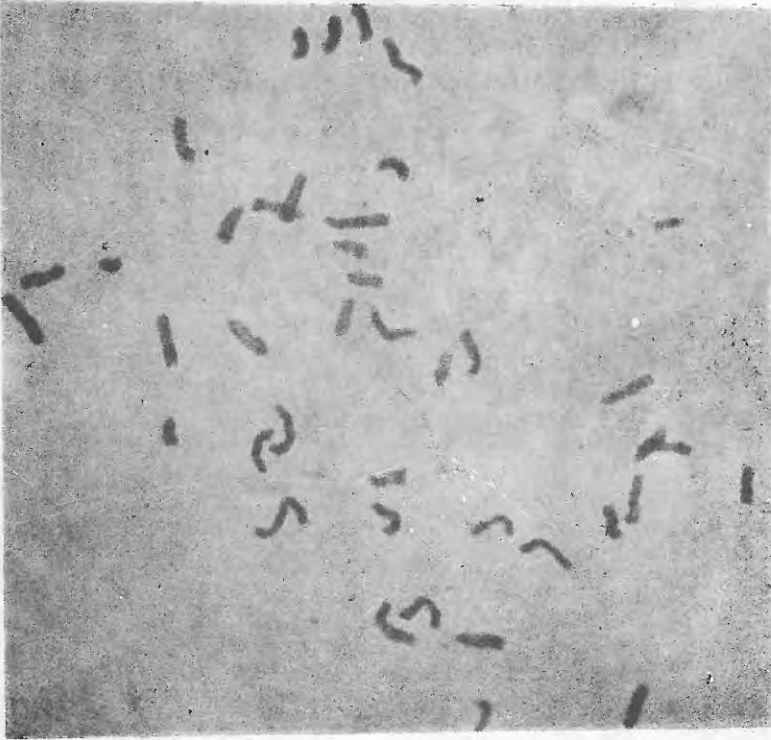
Kontrol ve test deneylerinin karşılaştırması Tablo 3 de gösterilmiştir.

**TABLO 2 : Test Kolşisin Muamelesi Görmüş F<sub>1</sub> Dişi Farelerinden Elde Edilmiş Preimplantatif Embryoların Buldukları Safhalara Göre Analiz Sonuçları. (Parantez içindeki rakamlar sadece bir analiz edilebilir hipodiploid metafaza sahip embryoların sayısını göstermektedir).**

| Embryo safhaları    | Kazanılan embryo sayısı | En az bir metafaza sahip embryo sayısı | Bundan analiz edilebilen embryo sayısı | METAFAZ BAŞINA KROMOZOM SAYISI |    |     |     |        |    |    |    |    |                  |                                    |
|---------------------|-------------------------|--|--|--------------------------------|----|-----|-----|--------|----|----|----|----|------------------|------------------------------------|
|                     |                         |  |  | 20                             | 21 | 37  | 38  | 39     | 40 | 41 | 42 | 43 | 44-50            | 55 - 65                            |
| 1 hücreli 1 safha   | 74                      | 62                                     | 43                                     |                                |    | (1) | (2) | (8)    | 12 | 3  | 1  | 1  | 1x46, 1x47, 1x50 | 1x53, 2x57, 1x59, 6x60, 2x64       |
| 2 hücreli 2 safha   | 102                     | 54                                     | 31                                     |                                | 2  |     |     | 1x(41) | 8  | 5  | 5  |    |                  | 2x53, 3x58, 1x59, 1x60, 1x61, 1x65 |
| 3 hücreli 3 safha   | 5                       | 4                                      | 3                                      |                                |    |     |     |        |    |    |    |    |                  | 1x57, 1x58, 1x64                   |
| 4 hücreli 4 safha   | 13                      | 7                                      | 4                                      | 1                              |    |     |     |        | 2  |    |    |    | 1x47             |                                    |
| 6 hücreli 6 safha   | 11                      | 8                                      | 2                                      | 1                              |    |     |     |        | 1  |    |    |    |                  |                                    |
| 8 hücreli 8 safha   | 33                      | 25                                     | 7                                      |                                |    |     | 1   | 1      | 1  | 2  |    |    |                  | 1x58, 1x65                         |
| 9 hücreli 9 safha   | 3                       | 2                                      |  |                                |    |     |     |        |    |    |    |    |                  |                                    |
| 12 hücreli 12 safha | 14                      | 13                                     | 3                                      |                                |    |     |     |        | 2  |    | 1  |    |                  |                                    |
| 16 hücreli 16 safha | 17                      | 12                                     | 5                                      |                                |    |     | 1   |        | 2  | 2  |    |    |                  |                                    |
| Blastosist safhası  | 52                      | 38                                     | 11                                     |                                |    |     |     |        | 9  |    | 1  |    |                  | 1x60                               |

**TABLO 3 : KONTROL VE TEST DENEYLERİNDE BULUNDUKLARI SAFHAYA GÖRE NORMALDEN SAPMA GÖSTEREN EMBRYOLARIN KARŞILAŞTIRMASI.**

| Embryo safhası      | KONTROL                 |  |                       |                         | Test - kolşisin muamelesi<br>(Doz: 0.3 mg/kg) |  |                       |                         |
|---------------------|-------------------------|--|-----------------------|-------------------------|---|--|-----------------------|-------------------------|
|                     | Kazanılan Embryo sayısı | Bundan analiz edilebilen embryo sayısı | Anormal embryo sayısı | % anormal embryo sayısı | Kazanılan embryo sayısı                       | Bundan analiz edilebilen embryo sayısı | Anormal embryo sayısı | % anormal embryo sayısı |
| 1 hücreli safha     | 89                      | 27                                     | -                     | -                       | 74  | 43                                     | 31                    | 72                      |
| 2 hücreli safha     | 19                      | 4                                      | -                     | -                       | 102   | 31                                     | 23                    | 74                      |
| 3 hücreli safha     | 3                       | -                                      | -                     | -                       | 5   | 3                                      | 3                     | 71                      |
| 4 hücreli safha     | 15                      | -                                      | -                     | -                       | 13  | 4                                      | 2                     |                         |
| 5-6 hücreli safha   | 22                      | 2                                      | -                     | -                       | 11  | 2                                      | 1                     | 77                      |
| 8 hücreli safha     | 74                      | 6                                      | -                     | -                       | 33  | 7                                      | 6                     |                         |
| 9 hücreli safha     | 3                       | 1                                      | -                     | -                       | 3   | -                                      | -                     | 50                      |
| 12 hücreli safha    | 10                      | 2                                      | -                     | -                       | 14  | 3                                      | 1                     |                         |
| 14-16 hücreli safha | 24                      | -                                      | -                     | -                       | 17  | 5                                      | 3                     |                         |
| Blastosist safhası  | 85                      | 18                                     | -                     | -                       | 52  | 11                                     | 2                     | 18                      |
| <b>TOPLAM</b>       | <b>344</b>              | <b>60</b>                              | <b>-</b>              | <b>-</b>                | <b>324</b>                                    | <b>109</b>                             | <b>72</b>             | <b>66</b>               |



Resim 1 : Test - kolşisin muamelesi ile 1 hücreli safhada  $2n = 41$  kromozoma sahip hiperdiploid bir embryo. Giemsa x 650.

#### TARTIŞMA :

Fare preimplantatif embriolarında spontan meydana gelen anöplidlerin oranı, özellikle Röhrborn ve Hansmann grubunun yaptığı çalışmalarda (3, 4, 12), % 16 - 25 arasında bulunmaktadır. Böyle yüksek anöplid oranına karşı, bu araştırmacılar, daha çok hipodiploidi bularak, embryo başına kaç tane metafaz analiz edildiklerini belirtmemektedirler. Muhtemelen, bu yüksek anöplid oranı preparasyon hatasından ileri gelmektedir. Zira, her ne kadar embriolarda hipodiploidlerin saptanması kesin olarak mümkünse de, bu ancak, bir embrioda birden çok metafaz analiz edilebilir durumdaysa garantilenmektedir. Analiz edilebilir bir tek hipodiploid metafaza sahip embriolarda, bunun preparasyon hatasından meydana gelmediği kesinlikle söylenemez. Bundan dolayı, bu çalışmadaki kontrol ve test deneylerinde, bir hipodiploid metafaza sahip embriolar ND olarak değerlendirilmediler.



Literatürde, spontan anöploid embryoların oranı, Çin hamsterinde (1) 4 - 8 hücreli safhada % 0.9 (2/226), Goldhamsterde (17) blastosist safhasında  $< \% 1$  (0/135) olarak bulunmaktadır.

Bu çalışmada, kontrol deneylerinde görüldüğü gibi, 1 hücreli safhadan blastosist safhasına kadar analiz edilebilen 60 embryoda hiçbir kromozom düzensizliğine rastlanmadı (0/60). Buna göre, spontan anöploidi oranı  $< \% 2$  olmalıdır.

İğ iplikleri zehiri olan kolşisinin, literatürde, Liliium (zambak) mikrosporositlerinde Univalentlerin meydana gelmesine (14), hamster hücre kültürlerinde ise endoreduplikasyona sebep olduğu (11) bildirilmektedir.

Bu çalışmada da, test deneyleri bulgularından görüleceği üzere, kolşisinin fare preimplantatif embryolarında % 66 (72/109) oranında çeşitli kromozom düzensizliklerine sebep olduğu saptandı.

Test - kolşisin deneylerinde, hücrelerinin herbiri 20 kromozoma sahip iki haploid embryo bulundu. Bunlardan birisi 4 hücreli, diğeri ise 6 hücreli safhada bulunuyordu. Bu haploid embryolar, partenogenetik olarak en azından iki bölünme katedebildiklerine göre, akrozomun stimülasyonunun mevcut olması gerekir; yani, sperma olaya karışmış, fakat herhangi bir sebepten oosit içine girememiştir.

Ayrıca, hücrelerinin herbiri 21 kromozoma sahip (hiperhaploid) iki hücreli safhada iki embryo daha elde edildi. Burada, iki düzensizliğin birden meydana geldiği ihtimali düşünülebilir: Bir taraftan, test - kolşisin etkisiyle mayozun Anafaz I veya II safhasında kromozomların dağılma düzensizliği nedeniyle bir kromozom kutup hücresine gidecek yerde, asıl oosit içinde kalmıştır, diğertaraftan, bu oosit döllenmemiştir (sperma olaya karıştığı halde).

Gerek bu çalışmada test - kolşisin etkisiyle F<sub>1</sub> farelerinde, gerekse spontan olarak hamsterde (1), haploid embryolar in vivo ancak 6 hücreli safhaya kadar gözlenmiştir.

Bu çalışmadaki test - kolşisin deneylerinde, özellikle 1 - 3 hücreli embryonal safhada triploid veya triploid benzeri (hiper - ve hi-

potriploid) embryolar çok miktarda gözlemlendiler (Tablo : 2). Yaklaşık 8 hücreli safhaya kadar hemen hemen bütün triploid ve triploid benzeri (53 - 65 kromozomlu) embryolar elenmişlerdi.

Hipo - ve hipertriploid embryoların, aynı şekilde, haploid ve hiperhaploid embryoların mevcudiyeti, test - kolşisinin iki ayrı mekanizma üzerinden etki yaptığını göstermektedir : Bir taraftan kromozomların dağılmasını (muhtemelen iğ iplikleri veya sentromeri etkileyerek), diğer taraftan oosit ve/veya zigotun genel gelişmesini etkileyerek (döllenme mekanizmasına etki ederek).

Normal şekilde, birinci spermanın oosite girmesinden sonra, zona pellucida'da bazı biyokimyasal değişiklikler meydana gelir. Bu durum, ikinci bir spermanın oosite girmesini engeller. Muhtemelen, test - kolşisin etkisiyle oositin permeabilitesi öyle değişiyor ki; bazen hiç, bazen de birden çok sperma içeri girebiliyor.

Triploid embryolar, ikinci kutup hücresinin teşekkül etmesinden veya iki spermanın birden oosite girmesiyle meydana gelmektedirler. Gecikmiş döllenme sonucu da meydana gelebilecekleri literatürde (13, 15) bildirilmektedir. Triploid embryolar, implantasyonun ötesinde bir safhaya kadar yaşayabilirler. Farelerde yaklaşık gebeliğin 10. gününe kadar yaşayabilmektedirler (16).

Test - kolşisin etkisiyle, kesin olarak hipo - veya hiperploid grubuna sokulamayan çeşitli tipte kromozom düzensizlikleri gözlemlendi. Örneğin, hücreleri 53 kromozom ihtiva eden bir embryonun, hiperploid olarak ( $2n + 13$ ), normal bir sperma ve 13 fazla kromozoma sahip bir oositten meydana geldiği kabul edilebileceği gibi, hipotriploid olarak ( $3n - 7$ ), 7 eksik kromozoma sahip bir oositin iki sperma ile döllenmesinden meydana geldiği de kabul edilebilir. Bu gibi sınıflandırmaya ancak anne ve babanın kromozomları ayırdedilebilirse, karar verilebilir. Ancak, bir embryonun pronükleus safhasında analizi neticesi, erkek pronükleusunun  $n = 20$  kromozom, dişi pronükleusunun ise  $n + 6 = 26$  kromozoma sahip olduğunun gözlenmesi, test - kolşisin etkisiyle çok katlı trizomilerin meydana gelebileceğini kanıtlamış oldu.

Monozomik ve trizomik embryolar da blastosist safhasına kadar büyük ölçüde elenmişlerdi. Literatürde (2), farelerde monozo-

mik embryoların gelişmenin erken safhalarında elendikleri halde, trizomik embryoların gebeliğin en çok 19. gününe kadar yaşayabildikleri belirtilmektedir.

16 hücreli safhaya kadar analiz edilebilen bütün embryoların (Tablo : 2), yaklaşık % 71 i (70/98) test - kolşisin etkisiyle kromozomal bir sapma gösteriyordu. Blastosist safhasında analiz edilebilen embryolarda, normalden sapma gösterenlerin oranı ise % 18 (2/11) olarak bulundu. Eğer, erken embryonal safhalarda % 70 civarında olan anormal embryoların oranının, blastosist safhasında % 18 e düşmesi, tesadüfi bir dağılım olarak görülmezse, intrauterin seleksiyonun preimplantatif anormal embryolara karşı ne kadar etkili olduğu ortaya çıkar. Aynı durum, postimplantatif anormal embryolarda da kendini göstermektedir (2).

Sonuç olarak söyleyebiliriz ki, kolşisin 0.3 mg/kg dozda fare preimplantatif embryolarında % 21 [23/109 (en az iki 2n - 1 kromozoma sahip embryolar ve 2n + 1 den 2n + 3 e kadar kromozoma sahip embryolar değerlendirilerek)] oranında çok kuvvetli ND endüksiyonuna sebep olduğu gibi, döllenme mekanizmasını da etkileyerek, çeşitli tipte kromozom düzensizliklerinin meydana gelmesine sebep olmaktadır.

#### KAYNAKLAR

- (1) Binkert F., Schmid W. : Pre - implantation embryos of Chinese hamster' I. Incidence of karyotype anomalies in 226 control embryos. Mut. Res. 46 : 63 - 76, 1977.
- (2) Gropp A., Giers D., Kolbus U. : Trisomy in the fetal backcross progeny of male and female metacentric heterozygotes of the mouse. Cytogenet. Cell Genet. 13 : 511 - 535, 1974; ve : Systematic approach to the study of trisomy in the mouse. Cytogenet. Cell Genet. 14 : 42 - 62, 1975.
- (3) Hansmann I. : Induced chromosomal aberrations in pronuclei, 2 - cell stages and morulae of mice. Mut. Res. 20 : 353 - 367, 1973.
- (4) Hansmann I., Röhrborn G. : Chromosome aberrations in preimplantation stages of mice after treatment with triazoquinone. Humangenetik 18 : 101 - 109, 1973.
- (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) 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.
- (8) 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.
- (9) Niikawa N., Merotto E., Kajii T.: Origin of acrocentric trisomies in spontaneous abortuses. *Hum. Genet.* 40 : 73 - 78, 1977.
- (10) 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.
- (11) Rizzoni M., Palitti F.: Regulatory mechanism of cell division. I. Colchicine - induced endoreduplication. *Exp. Cell Res.* 77 : 450 - 458, 1973.
- (12) Röhrborn G., Kühn O., Hansmann I., Thon K.: Induced chromosome aberrations in early embryogenesis of mice. *Humangenetik* 11 : 316 - 322, 1971.
- (13) Shaver E.L., Carr D.H.: The chromosome complement of rabbit blastocysts in relation to the time of mating and ovulation. *Can. J. Genet. Cytol.* 11 : 287 - 293, 1969.
- (14) 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.
- (15) Vickers A.D.: Delayed fertilization and the prenatal sex - ratio of the mouse. *J. Reprod. Fert.* 20 : 63 - 68, 1969; ve: Delayed fertilization and chromosomal anomalies in mouse embryos. *J. Reprod. Fert.* 20 : 69 - 76, 1969.
- (16) Wroblewska J.: Developmental anomaly in the mouse associated with triploidy. *Cytogenetics* 10 : 199 - 207, 1971.
- (17) Yamamoto M., Ingalls T.H.: Delayed fertilization and chromosome anomalies in the hamster embryo. *Science* 176 : 518 - 521, 1972.