

EC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

NORMAL VE UV İLE İŞINLANAN  
*Spalax leucodon* (Rodentia: Spalacidae)  
KEMİK İLİĞİNDE MEGAKARYOSİTİK  
EMPERİPOLESİS VE MİTOTİK  
AKTİVİTENİN İNCELENMESİ  
Musa DİKMENLİ  
DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
Konya, 2000

96237

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

96237

NORMAL VE UV İLE İŞINLANAN *Spalax leucodon*  
(Rodentia:Spalacidae) KEMİK İLİĞİNDE  
MEGAKARYOSİTİK EMPERİPOLESİS VE  
MİTOTİK AKTİVİTENİN İNCELENMESİ

Musa DİKMENLİ  
DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
Konya, 2000

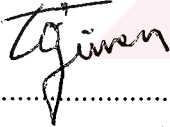
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NORMAL VE UV İLE İŞINLANAN *Spalax leucodon* (Rodentia:Spalacidae)  
KEMİK İLİĞİNDE MEGAKARYOSİTİK EMPERİPOLESİS  
VE MİTOTİK AKTİVİTENİN İNCELENMESİ

Musa DİKMENLİ

DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

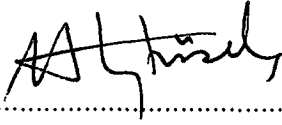
Bu tez 21.12.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği /oyçokluğu ile kabul edilmiştir.



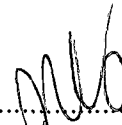
Prof. Dr. Turan GÜVEN  
(Danışman)



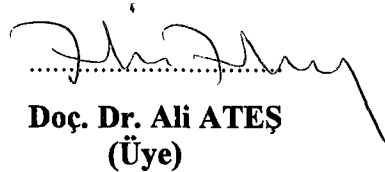
Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK  
(Üye)



Doç. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK  
(Üye)



Doç. Dr. Muhsin KONUK  
(Üye)



Doç. Dr. Ali ATEŞ  
(Üye)

**ÖZET****Doktora Tezi****NORMAL VE UV İLE IŞINLANAN *Spalax leucodon* (Rodentia:Spalacidae)  
KEMİK İLİĞİNDE MEGAKARYOSİTİK EMPERİPOLESİS  
VE MİTOTİK AKTİVİTENİN İNCELENMESİ****Musa DİKMENLİ****Selçuk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı****Danışman: Prof. Dr. Turan GÜVEN****2000, 63 Sayfa****Jüri: Prof. Dr. Turan GÜVEN  
Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK  
Doç. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK  
Doç. Dr. Muhsin KONUK  
Doç. Dr. Ali ATEŞ**

Bu çalışmada Konya ili çevresinden temin edilen  $2n = 60$  kromozoma sahip toplam 54 adet ergin *Spalax leucodon* (körfare) örneği kullanılmıştır. Normal (ışınlanmamış) ve 56, 112, 168 saat süreyle ultraviyoleye maruz bırakılan hayvanların kemik iliği numunelerinde megakaryositik emperipolesis ve mitotik aktivite ışık mikroskopuyla incelenmiştir. Megakaryositik emperipolesis oranı kontrol grubu hayvanlarda % 7.23, 56 saat ışınlanan hayvanlarda % 11.53, 112 saat ışınlanan hayvanlarda % 23.06 ve 168 saat ışınlanan hayvanlarda ise % 28.01 olarak tespit edilmiştir. Megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin daha çok nötrofil granülositler olduğu, megakaryositler ve bunlar tarafından yutulan hücrelerde morfolojik bir dejenerasyon meydana gelmediği gözlenmiştir. Mitotik aktivite oranında ise özellikle 168 saat ışınlanan hayvanlarda bir düşüş meydana gelmişse de bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

UV ışınlamasının *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis'i önemli derecede artırdığı, mitotik aktivitede ise gözlenen kısmi düşüşe rağmen önemli bir değişikliğe sebep olmadığı ve megakaryositik emperipolesis'in fagositozdan farklı bir olay olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Spalax leucodon* (körfare), kemik iliği, megakaryositik emperipolesis, mitotik aktivite, ultraviyole radyasyonu.

**ABSTRACT****PhD Thesis****A STUDY OF THE MEGAKARYOCYTIC EMERIPOLESIS  
AND MITOTIC ACTIVITY IN THE BONE MARROW OF INTACT  
AND UV IRRADIATED *Spalax leucodon* (Rodentia:Spalacidae)****Musa DİKMENLİ****Selçuk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology****Supervisor: Prof. Dr. Turan GÜVEN****2000, 63 Page****Jury: Prof. Dr. Turan GÜVEN  
Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK  
Doç. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK  
Doç. Dr. Muhsin KONUK  
Doç. Dr. Ali ATEŞ**

In this study, totally 54 adult *Spalax leucodon* (molerats),  $2n = 60$ , specimens collected from Konya district were employed. These specimens were divided into four groups and first group was named as intact. Second group was irradiated for 56 h, third one for 112 h and last one for 168 h. The megakaryocytic emeripolesis and mitotic activity in the bone marrow smears of these animals were examined by light microscopy. Megakaryocytic emeripolesis ratio of the first group was determined 7.23 %, the second 11.53 %, the third 23.06 % and the last 28.01 % respectively. The types of marrow cells engulfed by mature megakaryocytes were mostly neutrophil granulocytes. Under light microscopy, there were no signs of phagocytosis; both engulfed cells and megakaryocytes remained unaltered with their normal morphological structure intact. When the groups were compared, there was a decrease in mitotic activity but this decrease was not found to be significant statistically.

The results showed that, UV irradiation has been increased megakaryocytic emeripolesis in the bone marrow of *Spalax leucodon* and the phenomenon of megakaryocytic emeripolesis was distinguished from phagocytosis. No significant changes in mitotic activity in the bone marrow was observed in four groups.

**Key Words:** *Spalax leucodon* (molerat), bone marrow, megakaryocytic emeripolesis, mitotic activity, ultraviolet radiation.

## ÖNSÖZ

Körfareler (*Spalax leucodon*) tüm hayatları boyunca toprak altında açtıkları kapalı galerilerde yaşayan hayvanlardır. Yaşadıkları ortamın toprak özelliğine ve bitki varlığına sıkı sıkıya bağlı olan körfareler, tabii olarak radyasyona hiç maruz kalmadıklarından dolayı radyasyon etkilerinin incelenmesinde en uygun deney hayvanlarıdır.

Yaşadığımız çevrede iyonize radyasyonun sebep olduğu kirlilik ve sağlık riski iyi bilinmekle beraber kozmik radyasyonun ayrılmaz bir uzantısı olan ultraviyole radyasyonunun canlılar üzerindeki etkisine dair detaylı bilgilere günümüzde daha çok ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü, özellikle suni kloroflorokarbon (CFC)'ların ve diğer kirletici gazların etkisiyle atmosferdeki koruyucu ozon tabakasının gittikçe incelenmesiyle insanların ultraviyole radyasyona maruz kalma riskleri de artmaktadır.

Megakaryositik emperipoleosis son yıllarda ilgi çeken tartışmalı bir konudur. Bu çalışmada, normal ve ultraviyole ile ışınlanan körfare (*Spalax leucodon*) kemik iliğinde megakaryositik emperipoleosis ve mitotik aktivitenin UV radyasyonu ile ilişkisinin olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırma “Normal ve UV ile Işınlanan *Spalax leucodon* (Rodentia:Spalacidae) Kemik İliğinde Megakaryositik Emperipoleosis ve Mitotik Aktivitenin İncelenmesi” isimli doktora tez projesi haline getirilmiş ve Selçuk Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 98 / 103 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım danışman hocam sayın Prof. Dr. Turan GÜVEN'e “Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü” içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca hayvan örneklerinin temininde katkılarını esirgemeyen Arş. Gör. Hakan KURT'a “Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı” teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

**Sayfa No:**

|   |     |
|---|-----|
| ÖZET.....   | iii |
| ABSTRACT.....   | iv  |
| ÖNSÖZ.....  | v   |
| İÇİNDEKİLER.....  | vi  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....  | vii |
| TABLolar DİZİNİ.....  | x   |
| 1. GİRİŞ.....   | 1   |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....  | 8   |
| 3. MATERYAL VE METOT.....   | 15  |
| 3.1. Deney Hayvanları.....  | 15  |
| 3.2. Ultraviyole Işınlaması.....  | 16  |
| 3.3. Megakaryositik Emperipolesis.....  | 17  |
| 3.4. Mitotik Aktivite.....  | 19  |
| 3.5. Karyotip Analizi.....  | 19  |
| 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI.....   | 20  |
| 4.1. <i>Spalax leucodon</i> Kemik İliğinde Morfolojik Olarak<br>Tanınabilen Megakaryositlerin Sınıflandırılması.....                        | 20  |
| 4.1.1. Megakaryoblastlar.....   | 20  |
| 4.1.2. Promegakaryositler.....  | 23  |
| 4.1.3. Granüler (mature) megakaryositler.....   | 24  |
| 4.1.4. Platelet salan (post-mature) megakaryositler.....  | 25  |
| 4.2. Normal ve UV ile Işınlanmış <i>Spalax leucodon</i> Kemik İliğinde<br>Megakaryositik Emperipolesis.....                                 | 27  |
| 4.2.1. Normal (ışınlanmamış) hayvanlarda megakaryositik emperipolesis.....  | 27  |
| 4.2.2. Işınlanmış hayvanlarda megakaryositik emperipolesis.....   | 30  |
| 4.2.3. Normal ve UV ile ışınlanmış <i>Spalax leucodon</i> kemik<br>iliğinde megakaryositik emperipolesis oranlarının karşılaştırılması..... | 35  |
| 4.3. <i>Spalax leucodon</i> Kemik İliğinde Mitotik Aktivite.....  | 41  |
| 4.4. <i>Spalax leucodon</i> 'da Karyotip Analizi.....   | 43  |
| 5. TARTIŞMA.....  | 45  |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....   | 52  |
| 7. KAYNAKLAR.....   | 54  |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Sayfa No:**

- Şekil 3.1.1.** Çalışmada kullanılan hayvan örneklerinin gruplara göre dağılımı (ME:Megakaryositik Emperipolesis, MA:Mitotik Aktivite).....15
- Şekil 3.2.1.** Sırtında yaklaşık 10-12 cm<sup>2</sup> 'lik bir alanı jiletle tıraş edilmiş olan *Spalax leucodon* örneği.....16
- Şekil 4.1.1.1.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde tek ve oval çekirdekli megakaryoblast. X1000.....21
- Şekil 4.1.1.2.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde birden fazla çekirdek taşıyan megakaryoblast. X1000.....21
- Şekil 4.1.1.3.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde mitoz bölünme aşamasındaki megakaryoblast. X1000.....22
- Şekil 4.1.2.1.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde U şeklinde çekirdeğe sahip olan promegakaryosit. Çekirdekte ağ örgüsü şeklinde yoğun kromatin maddesi ve sitoplazmada granüler bir yapı görülmektedir. X1000.....23
- Şekil 4.1.3.1.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde granüler (mature) megakaryosit. Çok sayıda çekirdek lobu birbiriyle kaynaşmış ve yoğun granüler sitoplazma görülmektedir. X1000.....24
- Şekil 4.1.4.1.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde platelet salan (post-mature) megakaryosit. Çekirdek küçülmüş, yassılaştı ve hücrenin kenarına kaymış durumdadır. X1000.....25
- Şekil 4.1.4.2.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde düzensiz psödopod benzeri uzantı gösteren post-mature megakaryosit. X1000.....26
- Şekil 4.1.4.3.** *Spalax leucodon* kemik iliğinde sitoplazması dağılmış ve çekirdek lobları birbirinden ayrılmış olan post-mature megakaryosit. Dağılan sitoplazmada plateletlerin farklılaşması görülmektedir. X1000.....26
- Şekil 4.2.1.1.** Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan iki adet kemik iliği hücresi megakaryosit sitoplazması içerisinde görülmektedir. X1000.....27



**Sayfa No:**

- Şekil 4.2.1.2.** Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan üç adet kemik iliği hücresi ve bu hücrelerin etrafında bulunan pericellular alan görülmektedir. X1000.....28
- Şekil 4.2.1.3.** Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan iki adet kemik iliği hücresinin birisi sitoplazma diğeri ise çekirdek tarafından çevrelenmiş durumdadır. X1000.....29
- Şekil 4.2.1.4.** Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan bir adet nötrofil granülosit görülmektedir. X1000.....29
- Şekil 4.2.2.1.** 56 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan dört adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000.....30
- Şekil 4.2.2.2.** 112 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan beş adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000.....31
- Şekil 4.2.2.3.** 168 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan altı adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000.....31
- Şekil 4.2.2.4.** Işınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan yedi adet kemik iliği hücresi yoğun granüler sitoplazma içerisinde görülmektedir. X1000.....32
- Şekil 4.2.2.5.** 112 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan on adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000.....33
- Şekil 4.2.2.6.** Işınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Sitoplazması dağılmakta olan dejenere bir megakaryositin çekirdeği içerisinde dört adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000.....34

**Sayfa No:**

- Şekil 4.2.2.7.** Işınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Sیتoplazmasında yoğun vakuolizasyon görülen ve beş adet kemik iliği hücresi yutmuş olan megakaryosit. X1000.....34
- Şekil 4.4.1.** Erkek *Spalax leucodon* örneğinin metafaz plağı. X1000.....43
- Şekil 4.4.2.** Erkek *Spalax leucodon* örneğinin karyotipi.  $2n = 60$ .....44



**TABLolar DİZİNİ****Sayfa No:**

|   |    |
|---|----|
| <b>Tablo 4.2.3.1.</b> Hayvan grupları arasında megakaryositik emperipolesis olayının istatistiksel olarak karşılaştırılması (MG:Megakaryosit, M:Aritmetik Ortalama, SD:Standart Sapma)..... | 36 |
| <b>Tablo 4.2.3.2.</b> Işınlanmamış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolesis (%). (MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma).....                                 | 37 |
| <b>Tablo 4.2.3.3.</b> 56 Saat ışınlanmış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolesis (%). (MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma).....                           | 38 |
| <b>Tablo 4.2.3.4.</b> 112 Saat ışınlanmış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolesis (%). (MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma).....                          | 39 |
| <b>Tablo 4.2.3.5.</b> 168 Saat ışınlanmış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolesis (%). (MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma).....                          | 40 |
| <b>Tablo 4.3.1.</b> <i>Spalax leucodon</i> kemik iliğinde mitotik aktivite (%).....   | 41 |
| <b>Tablo 4.3.2.</b> Gruplar arasında mitotik aktivitenin istatistiksel olarak karşılaştırılması (M:Aritmetik Ortalama, SD:Standart Sapma).....  | 42 |

## I. GİRİŞ

Kemik iliği organizmanın önemli dokularından biri olup, kan yapımının (hematopoez) gerçekleştiği yerdir. Normal şartlarda kemik iliği tarafından kan hücrelerinin üretilmesi organizmanın fonksiyonlarına uygun olarak düzenlenir. Kemik iliği vücudun ihtiyacı olan hücreyi kısa sürede üretebilir ve gerektiğinde kapasitesini birkaç kat artırarak aktivitesini hızlandırabilir. Kaba incelemelerde görünüş bakımından “sarı” ve “kırmızı” olmak üzere iki çeşit kemik iliği tanımlanmaktadır. “Sarı kemik iliği” normal şartlarda kan yapımından sorumlu olmayıp ancak şiddetli kanama ve hipoksiya durumlarında kırmızı kemik iliğine dönüşerek hematojen hale gelmektedir. “Kırmızı kemik iliği” aktif veya hematojendir. Yeni doğanlarda bütün kemik iliği kırmızıdır ve kan hücrelerini üretmede aktiftir. Kırmızılık, ilikteki eritrositlerden ve bunların öncül hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Eritrosit yıkımı ve hemoglobin parçalanması ile meydana gelen demirin depolanması bu ilikte gerçekleşmektedir. Kırmızı kemik iliği, diğer hemopoietik dokularda olduğu gibi stroma, hemopoietik iplikler ve sinüzoidal kılcallardan oluşmuştur (Copenhaver ve ark. 1971, Fawcett 1986, Junqueira ve ark. 1986). Kemik iliği, bazı lenfositler hariç diğer kan hücrelerinin geliştiği ve farklılaştığı önemli bir doku olmasından dolayı bir çok araştırmacı tarafından çalışılmış, fakat daha çok normal kemik iliği hücrelerinin ince yapısı, farklılaşması ve mikro çevresi üzerinde durulmuştur (Besis ve Breton Gorius 1962, Berman 1967, Brahim ve Osmond 1970, De Bruyn ve ark. 1970, Weiss ve Chen 1975, Weiss 1976).

Memelilerin kemik iliği hücreleri arasında megakaryositler, büyüklük ve çekirdek yapıları ile diğerlerinden kolayca ayırtedilebilen karakteristik hücre tipleridir. Fetüste karaciğer, dalak ve kemik iliğinde görülebilen megakaryositler ergin memelilerde kemik iliğinin yanısıra bazen dalak ve akciğerde de görülebilmektedir (Han ve Baker 1964, Kaufman ve ark. 1965). Memeli hayvanlarda da tür ve yaşa bağlı olarak değişmekle beraber bütün kemik iliği hücrelerinin yaklaşık % 0.01-0.3'nü megakaryositler oluşturmaktadır. Bu hücreler farklılaşma sürecinin belli bir aşamasından sonra sitokinez geçirmeksizin tekrarlanan çekirdek

bölünmeleri neticesinde poliploid DNA içeriğine sahiptirler (Odell ve ark. 1965, 1970; Ebbe 1976, Levine 1980).

Megakaryositler memeli canlılarda dolaşım kanında bulunan ve hayati önem taşıyan platelet (trombosit) yapımından sorumlu olan hücrelerdir. Kanın pıhtılaşmasını sağlayan plateletler, megakaryositlerin sitoplazması içerisinde şekillenen demarkasyon membran sistemi (DMS) denilen bir membran sistemi ile sitoplazmadan ayrılan parçalardır. Olgun megakaryositlerde çok iyi gelişmiş olan DMS, plazma zarının hücre çekirdeğine doğru invajinasyon yapmasıyla meydana gelmektedir (Behnke 1968, 1969; MacPherson 1972, 1981; Shaklai ve Tavassoli 1978). Tavassoli (1980), bir megakaryositin 4000-8000 platelet üretebilecek kapasitede olduğunu belirtmektedir. Sitoplazmik gelişim ve ploidi oranının artmasıyla birlikte bir megakaryositin büyüklüğü ve üretebildiği platelet sayısı da artmaktadır. Ayrıca kanın pıhtılaşma mekanizmasında rol oynayan fibrinojen, faktör V, faktör VIII, platelet faktör 4 gibi organizma için son derece önemli bazı koagülasyon proteinlerin hem insan hem de kobaylarda megakaryositler tarafından sentezlendiği bilinmektedir (Schick and Schick 1986). Megakaryositlerin bu fonksiyonlarından dolayı insan, sıçan, fare gibi memelilerin megakaryositleriyle ilgili çok sayıda çalışmaya rastlanmaktadır (Paulus ve Mel 1967, Paulus 1970, Bentfeld-Barker ve Bainton 1975, 1982; Ebbe 1979, Penington 1979, Radley ve Haller 1983). Çalışmaların büyük bir kısmı kemik iliği megakaryositlerinin normal yapı ve fonksiyonları ile ilgilidir. Megakaryositler ve onlardan meydana gelen plateletlerin yapı ve fonksiyon bozuklukları, bir çok hastalığın sebebidir. Bu nedenle megakaryositlerin yapı ve fonksiyonlarının iyi bilinmesi gerekmektedir. Ancak bu sayede o hastalıkların tanı ve tedavisi kolaylaşabilir.

Megakaryositler “koloni oluşturan birim” (colony-forming unit = CFU) veya “koloni oluşturan hücre” (colony-forming cell = CFC) olarak adlandırılan multipotent hemopoietik kök hücrelerinden menşe almaktadırlar. Kök hücrelerinden sonra, megakaryositik seriyi oluşturmak üzere yönlendirilmiş bir hücre topluluğu bulunmaktadır. Megakaryositik serinin kök hücreleri olan bu hücre topluluğuna “koloni oluşturan megakaryosit (CFU-M)” ismi verilmektedir. Mitotik aktiviteye sahip olan bu hücreler morfolojik ve sitokimyasal metotlarla ayırdedilemezler. İnsan, sıçan ve fare gibi memelilerde hücre kültür ortamında yapılan çalışmalarda

megakaryosit kök hücrelerinin (CFU-M) fagositoz ve birbirine yapışma özelliği göstermeyen bir hücre kolonisi olduğu belirtilmiştir. Bunların yanında hücre yoğunluğu, sedimentasyon hızı ve hücre yüzeyindeki bazı antijenlerin belirleyici özelliği sayesinde diğer kök hücre hatlarından ayırtedilebilmektedirler. Bu hücreler megakaryosit sayısını artırmak veya azaltmak için verilen mitotik sinyallere tepki olarak çoğalmaktadırlar. Megakaryositik seride CFU-M'den sonra gelen ve "small acetylcholinesterase pozitif (SACH<sup>+</sup>) hücreler" olarak bilinen başka bir hücre topluluğu daha bulunmaktadır. İlk defa Zajicek (1954) ve sonra Jackson (1973), morfolojik bakımdan tanınabilen megakaryositlerden çok daha küçük olan bu hücreleri asetilkolinesteraz aktivitelere bakarak kemiriciler üzerinde tanımlamışlardır. Megakaryosit kök hücreleri (CFU-M) ile morfolojik bakımdan tanınabilen megakaryositler arasında geçiş hücreleri olarak kabul edilen bu hücrelerin immünolojik ve sitokimyasal özelliklerinden dolayı megakaryositik hücre serisinden oldukları bilinmekte, fakat morfolojik bakımdan ayırtedilememektedirler. Dolaşım kanındaki platelet sayısında meydana gelen değişmelere karşılık verebilen bu hücreler, uyarıldıklarında morfolojik bakımdan tanınabilen megakaryositik hücrelere dönüşebilmektedirler (Gewirtz 1986, Breton-Gorius ve Vainchenker 1986, Mazur 1987, Long 1998).

Morfolojik olarak tanınabilen megakaryositik hücreler büyüklük, çekirdek şekli, sitoplazmanın boyanma özelliği ve çekirdek / sitoplazma oranında meydana gelen değişmelere göre gelişim sırasıyla dört grupta toplanmaktadır. Bunların ilki megakaryoblastlardır. Megakaryoblastlar sırasıyla promegakaryosit, granüler (mature) megakaryosit ve platelet salan (post-mature) megakaryositlere farklılaşırlar.

**Tip-I. Megakaryoblast:** Genellikle 14-24 mikron büyüklüğünde ve çekirdekleri sitoplazmaya oranla oldukça büyük (en büyük çekirdek / sitoplazma oranına sahip) olan hücrelerdir. Tek veya parçalı yapıdaki çekirdekleri sitoplazmanın tamamına yakın bir kısmını kaplamış vaziyettedir. Bu hücrelerde DNA sentezinin devam etmesine rağmen sitoplazma bölünmesinin gerçekleşmemesi, çekirdekte poliploidiye neden olur. Fazla miktarda RNA içerdiğinden dolayı sitoplazma koyu bazofilik yapıdadır. MacPherson (1981), demarkasyon membran sisteminin megakaryositik hücrelerde ilk olarak megakaryoblastların sitoplazmasında gelişmeye başladığını belirtmektedir. Yapılan ultrastrüktürel çalışmalar megakaryoblastların

endoplazmik retikulum, mitokondri, çok sayıda ribozom, granül ve iyi gelişmiş bir golgi aparatına sahip olduğunu göstermiştir. Megakaryoblastların promegakaryosit ve granüler megakaryositlere dönüşmesine paralel olarak DMS daha iyi gelişir, sitoplazmadaki granüllerin sayısı, çekirdeğin loblara ayrılması ve kromatin yoğunluğu artar. Bunların aksine endoplazmik retikulum, lizozom, mitokondri ve ribozom sayısında bariz bir azalma görülür.

**Tip-II. Promegakaryosit:** Genellikle 15-30 mikron, bazen daha fazla büyüklüğe sahip olan hücrelerdir. Çekirdekleri sitoplazmanın yarısını kaplamıştır. Sitoplazmanın megakaryoblastlarda gösterdiği bazofilik yapı burada azalmış vaziyettedir. Demarkasyon membran sistemi hücrenin merkezine doğru biraz daha gelişmiş olup platelet oluşturan özel sahaların (granüllerin) sayısı artmıştır. Promegakaryositlerde DNA sentezinin durmuş denecek kadar az olduğu kabul edilmektedir.

**Tip-III. Granüler (Mature) Megakaryosit:** Büyüklükleri 100 mikrona ulaşabilen hücrelerdir. Çekirdek sitoplazmanın yarısından çok daha az bir alanı kaplamış ve sıkı bir şekilde üst üste yığılmış çok loplu yapıya sahiptir. Sitoplazma granüler eozinofilik yapıdadır. Bu hücrelerde demarkasyon membran sistemi bütün sitoplazmaya yayılarak çok iyi gelişmiş ve çekirdeğe kadar ulaşmış vaziyettedir.

**Tip-IV. Platelet Salan (Post-Mature) Megakaryosit:** Boyutları granüler megakaryositlere göre daha küçük, piknotik yapıdaki çekirdekleri daha koyu ve kıvrımlı olan hücrelerdir. Sitoplazmaları eozinofilik yapıya sahiptir. Bu hücrelere depo megakaryositleri de denilmektedir. Platelet salındıktan sonra organel taşımayan ve dağılmakta olan sitoplazma tarafından çevrelenmiş çıplak bir çekirdek görülür (Bessis 1956, Feinendegen ve ark. 1962, Odell ve Jackson 1968, Levine ve Fedorko 1976, Levine ve ark. 1982, Williams ve Levine 1982, Breton-Gorius ve Vainchenker 1986, Gewirtz 1986, Long 1998).

Megakaryositlerin olgunlaşma süresinin platelet ihtiyacına bağlı olmakla beraber normal durumlarda kemiricilerde yaklaşık olarak 3, insanlarda ise 4-5 gün olduğu belirtilmektedir (Cooney ve Smith 1965, Ebbe ve Stohlman 1965).

**Emperipolesis**, hücreler arası etkileşimde “bir hücrenin başka bir hücreyi içine alması, yutması veya bir hücrenin başka bir hücre içerisine göçü” manasında kullanılan bir terimdir. Megakaryositik emperipolesis ise “megakaryositlerin çeşitli



kemik iliği hücrelerini içine alması veya yutması” şeklinde tanımlanmaktadır. Yutulan bu hücreler, megakaryositlerin bir organeli olan demarkasyon membran sisteminin lumeni içerisine yerleşebilirler ve megakaryosit sitoplazması içerisine doğru göç edebilme yeteneğindedirler (Larsen 1970, Breton-Gorius ve Reyes 1976, Thiele ve ark. 1984, De Pasquale ve ark. 1985).

Megakaryositik emperipoleosis, çeşitli kanser türleri, değişik tümörler, trombosit bozuklukları, hipoksiya (oksijen yetmezliği) anemi ve fazla kan kaybı durumlarında önemli ölçüde artış göstermektedir (Chen ve ark. 1972, Kinet-Denoel ve Breton-Gorius 1973, Sahebkhiani ve Tavassoli 1976, Halil ve Barret 1980, Sobolewski 1980, Rozman ve Vives-Corrans 1981, Shamoto 1981, Djaldetti ve Strauss 1982, Parmley ve ark. 1982, Burkhardt ve ark. 1984). Kemik iliği megakaryositlerinde görülen bu olayın yoğunluk derecesinin tek başına hastalıkların teşhisinde bir öneminin olup olmadığı tartışma konusudur. Olayın fizyolojik mekanizması ile ilgili bazı hipotezler ortaya atılmakla beraber henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Buraya kadar zikredilen çalışmalarda, patolojik durumlar sonucunda megakaryositik emperipoleosis olayı incelenmiş; fakat her an birlikte olduğumuz ve etkisi altında kaldığımız ultraviyole radyasyonunun bu olaya etkisi ile ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Yaşadığımız çevrede iyonize radyasyonun sebep olduğu kirlilik ve sağlık riski iyi bilinmekle beraber kozmik radyasyonun ayrılmaz bir uzantısı olan ultraviyole radyasyonunun canlılar üzerindeki etkisine dair ayrıntılı bilgilere günümüzde daha çok ihtiyaç duyulmaktadır. Bilindiği gibi insanların maruz kaldığı ultraviyole radyasyonun ana kaynağı güneştir. Fakat çeşitli iş yerleri, kozmetik sanayi ve evlerde kullanımı gittikçe artan bazı aydınlatma sistemleri de buldukları çevreye sürekli ultraviyole yaymaktadır. Mesela kuvars halojen lambaların yaydığı ışığın potansiyel genotoksik etki gösterdiği mutajenik test yöntemleriyle belirlenmiştir (De Flora ve ark. 1990, D’Agostini ve ark. 1993). Güneşten gelen ultraviyole ışınlarının bir kısmı atmosferin stratosfer katında oluşan ozon (O<sub>3</sub>) tabakası tarafından tutulmaktadır. Son yıllarda özellikle suni klorofluorokarbon (chlorofluorocarbon=CFC)’ların ve diğer kirlenici gazların etkisiyle atmosferdeki koruyucu ozon tabakasının gittikçe incelmesi ve hatta Dünya’nın bazı bölgelerinde parçalandığı dikkate alındığında, insanların ve diğer



canlıların gelecekte ultraviyole radyasyonuna maruz kalma risklerinin daha da artacağı gerçeği açıkça görülebilmektedir (Urbach 1989). Elektromanyetik spektrumun ultraviyole bölgesi uzun dalga boylu UV-A (320-420 nm), orta dalga boylu UV-B (280-320 nm) ve kısa dalga boylu UV-C (200-280 nm) olmak üzere üç gruba ayrılır. UV-A'nın tamamına yakını atmosferi geçerek yeryüzüne ulaşır. Fakat canlılar üzerindeki biyolojik etkileri diğerlerine göre daha azdır. Buna rağmen UV-A radyasyonu memeli hücrelerinde öldürücü ve mutajenik etkiye sahip olabilmekte ve deride melanin pigmentasyonunu arttırmaktadır. UV-B'nin büyük bir kısmı koruyucu ozon tabakası tarafından tutulur ve az bir kısmı yeryüzüne ulaşır. Fakat UV-B radyasyonunun canlılar üzerindeki kanserojen etkileri UV-A'dan oldukça fazladır. Bu radyasyon hücre zarının geçirgenliğini değiştirmekte, mitoz bölünmeyi inhibe etmekte, kromozom kırıklarına ve DNA bozukluklarına sebep olmaktadır. UV-C'nin çok az bir kısmı koruyucu ozon tabakasını geçerek yeryüzüne ulaşır. Fakat UV-C radyasyonunun canlılar üzerindeki biyolojik etkileri UV-B'den yaklaşık 10 kat ve UV-A'dan ise  $10^5$  kat daha fazladır (Kripke 1984, Stolarski 1988, Pamphilon ve ark. 1991, De Flora ve D'Agostini 1992). Yeryüzündeki insan faaliyetleri sonucu meydana gelen kirleticiler stratosferik ozon oluşumu engellemekte ve dolayısıyla yeryüzüne inen ultraviyole radyasyon miktarı her geçen gün artmaktadır. Bu durum, ultraviyolenin canlılar üzerindeki olumsuz etkilerinin yakın gelecekte daha da artacağını göstermektedir.

Ultraviyole radyasyonunun canlı organizmaların dışı açık yapıları üzerindeki etkileri bilinmekte ve bu etkiler deri üzerinde gamma ve X-ışınlarının oluşturduğu iyonlaştırıcı etkiye benzemektedir. Ultraviyolenin deride erithema, pigmentasyon ve lezyon oluşumu ile epidermis ve dermisteki hücrelerin ince yapısı üzerine gösterdiği etkiler ve ayrıca gözün kornea tabakasında meydana getirdiği değişiklikler çeşitli memelilerde ve gönüllü insanlarda incelenmiştir (Nix ve ark. 1964, 1965; Epstein ve ark. 1971, Johnston ve ark. 1984, Applegate ve ark. 1985, Bisset ve ark. 1987, Güven ve ark. 1990, Sabourin ve ark. 1993, Wegener 1994-95, Nagy ve ark. 1995-96). Ultraviyole radyasyonun kanserojen etkileri de bir çok araştırmaya konu olmuştur. Deri kanseri ve melanoma ultraviyolenin en çok sebep olduğu hastalıklardandır (Fisher ve Kripke 1977, Strickland 1986, Matsui ve De Leo 1991, De Flora ve D'Agostini 1992).

Radyasyonun memeliler üzerindeki etkileri sadece dışa açık yapılarda değil, kemik iliği gibi vücudun iç kısımlarında bulunan dokular üzerinde de görülmektedir. X-ışınları ve gamma radyasyonuna maruz kalan memelilerde kemik iliğinin normal faaliyetini sürdüremediği ve az sayıda hücre ürettiği bilinmektedir (Baum ve ark. 1970, El-Naggar ve ark. 1980, Stewart ve ark. 1982, Yamazaki ve Allen 1991). Kemik iliğinde üretilip de kana verilen lökositlerin radyasyon etkisiyle azalan hücre tipleri arasında olduğu gösterilmiştir (Leong ve ark. 1964, Heit ve ark. 1970). Bir çok araştırmacı *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda radyasyonun potansiyel kromozom kırıklarını arttırdığını, mitozu engelleyerek hücre çoğalmasını inhibe ettiğini belirtmiştir (Lederman ve ark. 1986, McGrath ve ark. 1986, Lebedeva ve Akhmamet'eva 1997). Mitotik aktivite genellikle hücre çoğalma düzeyini belirlemek için kullanılan bir metottur. Bu çalışmada ise körfarelerin (*Spalax leucodon*) kemik iliğinde morfolojik olarak tanımlanan megakaryositik hücre tipleri, megakaryositik emperipolesis ve mitotik aktivite üzerine ultraviyolenin etkisi incelenmiştir. Körfareler tüm hayatları boyunca toprak altında açtıkları kapalı galerilerde yaşayan hayvanlardır. Yaşadıkları ortamın toprak özelliğine ve bitki varlığına sıkı sıkıya bağlı olan körfareler, tabii olarak radyasyona hiç maruz kalmadıklarından dolayı radyasyon etkilerinin incelenmesinde en uygun deney hayvanlarıdır.

Bu çalışmanın amacı; normal ve ultraviyole ile ışınlanan körfare (*Spalax leucodon*) kemik iliğinde morfolojik olarak tanımlanan megakaryositik hücre tiplerinde (Tip 1, II, III ve IV megakaryositler) megakaryositik emperipolesis olayının yoğunluk derecesi ve kemik iliği hücrelerinin mitotik aktivitesininin UV radyasyonu ile ilişkisinin olup olmadığının tespitidir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

İlk defa Humble ve ark. (1956)'ları, insan kemik iliği doku kültüründeki megakaryositlerin sitoplazmaları içerisinde lenfositlerin varlığını gözlemişler ve bu olaya "emperipolesis" adını vermişlerdir. Araştırmacılar lenfositlerin megakaryositlere ve kötü huylu tümör hücrelerine karşı bir ilgisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Ioachim (1965), normal ve kanserli hücrelerden elde ettiği karışık hücre kültüründeki lenfoid hücrelerin davranışını ışık mikroskopuyla incelemiştir. Araştırmacı normal ve kanserli lenfositlerin her ikisinin de adeta diğer hücrelere doğru çekildiğini ve çoğunlukla bu hücrelerin sitoplazması içerisine girdiğini (emperipolesis) bildirmiştir.

Emperipolesis olayı *in vitro* hücre kültürlerinde yetiştirilen megakaryositlerde (Vainchenker ve ark. 1979) ve tümör hücrelerinde (Burns 1967, Chemnitz ve Bichel 1973) ışık mikroskopunun yanı sıra elektron mikroskopu düzeyinde de incelenmiştir.

Larsen (1970), thrombocytopenia ve anemili bir hastanın kemik iliğinden hazırladığı doku kültüründe granüllü lökositlerin megakaryosit sitoplazması içerisinde bulunduğunu ışık ve elektron mikroskopuyla gözlemiş ve bu durumu "megakaryositik emperipolesis" olarak değerlendirmiştir. Araştırmacı, kültürdeki granüllü lökositlerin megakaryositlerin yakın çevresinde toplandığını, adeta megakaryositlere doğru çekildiğini ve bazen de megakaryosit sitoplazmasına girdiğini kaydederek sitolojik ve histolojik bulgular ışığında bu olayın *in vivo* durumda da oldukça yaygın olduğunu belirtmiştir.

Sahebkhari ve Tavassoli (1976), kanser ve kanamalı hastaların kemik iliği yayma preparatları üzerinde ışık mikroskopuyla yaptıkları çalışmada kanamalı hastaların % 56'sında, kanser hastalarının ise % 83'de, daha çok granülositik, eritroid ve lenfoid seriye ait kemik iliği hücrelerinin megakaryosit sitoplazması içerisinde bulunduğunu gözlemişler ve bu durumu "megakaryositik emperipolesis" olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda bu olayın nedeninin kan kaybı ile ilgili olabileceği görüşü üzerinde durmuşlardır.

Halil ve Barret (1980), Sobolewski (1980), kanser, anemi ve Hodgkin hastalarının kemik iliği yayma preparatlarında ışık mikroskopuyla yaptıkları gözlemlerde, eritrosit ve öncüllerinin, monosit ve granülositlerin megakaryositler tarafından yutulduğunu ve bunun bir fagositoz olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonraları Lam ve ark. (1991)'ları, bu tip hastalıklarda kemik iliği megakaryositlerinin fagositoz yapabileceğini belirterek yukarıdaki bulguları desteklemişlerdir.

Poon ve ark. (1981)'ları, insan kemik iliğinde lökositlerin platelet ve megakaryositlerle etkileşimini ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırmışlar, nötrofillerin megakaryositler tarafından yutulduğunu ve bazen de megakaryositlerin membran yüzeyine yapıştığını gözlemişlerdir.

Shamoto (1981), miyelositik lösemide megakaryositik emperipolesis'i faz-kontrast ve elektron mikroskopuyla incelemiş, bazı hematopoietik hücrelerin megakaryoblastlar tarafından yutulduğunu ve olayın bazı yönleriyle gerçek bir fagositozdan farklılık gösterdiğini belirtmiştir. Araştırmacı aynı zamanda faz-kontrast mikroskopide, yutulan hücrelerin megakaryoblast sitoplazması içerisinde aktif hareketini gözlemiş ve bu hücrelerin canlılığını koruduğunu bildirmiştir.

Lefkowitz ve Lefkowitz (1977), Breton-Gorius (1981), Zucker-Franklin (1981), Stahl ve ark. (1991)'ları, Anosa ve ark. (1992)'ları, Mangi ve Mufti (1992), ışık ve elektron mikroskopuyla yaptıkları çalışmalarda megakaryositik emperipolesis'e dolaylı olarak değinmişler ve olayın fizyolojik mekanizması hakkında bazı görüşler ortaya atmışlardır.

Parmley ve ark. (1982)'ları, sarkomalı çocukların kemik iliği numunelerinde % 20-30 oranında megakaryositik emperipolesis görüldüğünü ışık ve elektron mikroskopuyla incelemişler, sadece olgun (mature) megakaryositler ve nötrofillerin emperipolesis'e uğradığını ve nötrofillerin megakaryosit sitoplazmasının açık kanaliküler sistemi (DMS) içerisine yerleştiğini kaydetmişlerdir.

Tavassoli (1981, 1986), Tavassoli ve Aoki (1981, 1989), sıçanlar üzerinde deneysel olarak oluşturulan kan kaybının megakaryositik emperipolesis'i önemli ölçüde arttırdığını ve aşırı kan kaybının bu olayı yönlendirdiğini kaydetmişlerdir. Işık ve elektron mikroskopuyla yapılan gözlemlerde, megakaryositlerin genellikle kemik iliğinin sinüs endotheliumuna yakın bölgelerde bulunduğu belirtilmiş ve megakaryositlerin kemik iliği ve kan dolaşımı arasında ilik-kan bariyerinin bir

elemanı olduğu görüşü ileri sürülmüştür. Araştırmacılara göre, aşırı kan kaybı sonucu kan hücre sayısında meydana gelen azalma, dolaşım kanının hücre ihtiyacını arttırmakta, bu ise ilik-kan bariyeri arasındaki hücre trafiğini hızlandırmaktadır. Bazı hücreler ilik dokudan kan dokuya geçmek için megakaryositleri bir taşıyıcı olarak kullanmakta ve böylece çok daha hızlı bir şekilde kan dolaşımına katılabilmektedirler.

Chiu (1984), sıçanların kemik iliği numuneleri üzerinde ışık mikroskopuyla yaptığı çalışmasında eritrosit, lenfosit ve granülositlerin megakaryositler tarafından yutulduğunu, bir megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısının 1-3 arasında değiştiğini fakat bunun bazen 10 hücreye yükseldiğini, iltihap ve tümör durumlarında ise bu işe karışan megakaryosit sayısında artış görüldüğünü kaydetmiştir.

Thiele ve ark. (1984, 1990, 1991)'ları, çeşitli miyelositik hastaların kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis'in dikkate değer oranda artış gösterdiğini ışık ve elektron mikroskopuyla tespit etmişler, yutulan hematopoietik hücrelerin megakaryositlerin demarkasyon membran sisteminin boşlukları içerisine yerleştiğini ve fagositoya ait belirgin bir özelliğe rastlamadıklarını ifade etmişlerdir.

De Pasquale ve ark. (1985)'ları, megakaryositik emperipolesis'i kanser hastalarının kemik iliği numunelerinde ışık mikroskopuyla incelemişlerdir. Granülositlerin megakaryositler tarafından yutulduğunu ve hem megakaryositlerin hem de yutulan granülositlerin morfolojik bakımdan herhangi bir değişikliğe uğramadığını belirterek, megakaryosit sitoplazmasının granülositler için kemik iliğinin elverişsiz şartlarına karşı koruyuculuk görevi yapan bir sığınak teşkil edebileceği hipotezini ortaya atmışlardır.

Thiagarajan ve ark. (1985)'ları, 300 hastanın rutin kemik iliği yayma preparatlarında normal hematopoietik hücrelerin (granülositik, eritroid ve lenfoid hücreler) megakaryositlerin içerisinde bulunduğunu, megakaryosit çekirdeğinin çoğu zaman bu hücrelerin etrafını sardığını ışık mikroskopuyla gözlemişler ve bu olayın klinik açıdan teşhis değerinin olup olmayacağını tartışmışlardır.

Leven ve Tablin (1988), sıçanların kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis olayını ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde incelemişler ve emperipolesis'e sadece Tip-III mature megakaryositlerde (granüler megakaryosit) rastlandığını belirtmişlerdir.

Lee (1989), genç ve yaşlı sıçanların kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis'i ışık ve elektron mikroskopuyla incelemiş, megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin daha çok nötrofiller olduğunu ve yaşlı sıçanlarda bu olayın artış gösterdiğini belirtmiştir.

Cashell ve Buss (1992), çeşitli hastaların kemik iliği biyopsilerinde megakaryositik emperipolesis'i ışık mikroskopuyla incelemişler ve patolojik durumlarda artış gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Migita ve ark. (1992)'ları, thrombocytopenia'lı bir hastanın kemik iliğinde ışık ve elektron mikroskopuyla yaptıkları gözlemlerde, olgun nötrofillerin yoğun şekilde megakaryosit sitoplazması içerisine girdiğini ve nötrofillerin membran yüzeyinde bağlı bulunan Ig-G moleküllerinin megakaryositik emperipolesis olayında önemli bir rolünün olabileceğini belirtmişlerdir.

Chyczewski ve ark. (1994)'ları, sıçanlarda suni olarak beyin oksijen yetmezliği oluşturmuşlar ve bunun kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis üzerine etkisini ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde incelemişlerdir. Yapılan gözlemlerde megakaryositik emperipolesis'in yoğunluk derecesinin deney grubu hayvanlarda kontrol grubu hayvanlara göre önemli derecede arttığı ve megakaryosit sitoplazması içerisinde görülen hücrelerin daha çok granüositler ve eritroblastlar olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, megakaryositik emperipolesis olayının oksijen yetmezliği ve muhtemelen kemik iliği aktivitesinin sinirsel olarak uyarılması nedeniyle arttığı bildirilmiştir.

Tanaka ve ark. (1994)'ları, lipopolisakkaritle uyarılan sıçan kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis'i araştırmışlardır. Damar içerisine lipopolisakkarit verilen sıçanların kemik iliği preparatlarında normal sıçanlarınkine göre megakaryositik emperipolesis'in önemli derecede arttığını ışık mikroskopuyla gözlemişler, megakaryositlerde ve yutulan hücrelerde hiçbir dejenerasyon meydana gelmediğini belirtmişlerdir.

Bobik ve ark. (1995)'ları, değişik tip kanser hastalığı olan şahısların kemik iliği numunelerinde ışık mikroskopuyla yaptıkları incelemelerde megakaryositik emperipolesis olayında önemli bir artış gözlemişlerdir. Çalışmada, megakaryositlerin sitoplazması içerisinde bulunan ve sayıları 1-7 arasında değişen hücrelerin daha çok eritroblastlar ve olgun granüositler olduğu kaydedilmiştir. Araştırmacılar,



megakaryositik emperipolesis mekanizmasının tam olarak bilinmediğini, bu olayda megakaryositlerin ve bunların sitoplazması içerisinde bulunan hücrelerin yüzeyinde yer alan adhezyon moleküllerinin hücreler arasındaki etkileşimde önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

Dzieciol ve ark. (1994, 1995)'ları, megakaryositlerin, diğer kemik iliği hücrelerinin dolaşım kanına verilmesinde bir fonksiyonunun olup olmadığını anlayabilmek için sıçanlar üzerinde kanama şoku oluşturmuşlar ve megakaryositik emperipolesis olayının sıklık derecesini ışık ve elektron mikroskopuyla araştırmışlardır. Kanama şoku oluşturulan sıçanlarda megakaryositik emperipolesis'de önemli ölçüde artış meydana geldiği sonucundan hareketle kemik iliği hücrelerinin kana verilmesinde ve ilik-kan bariyeri oluşturulmasında megakaryositlerin rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

Novak ve ark. (1995)'ları, megakaryositlerin fonksiyonlarıyla ilgili yaptıkları bir çalışmada, mutant farelerin kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis'de dikkat çekici bir artış meydana geldiğini gözlemişler ve elektron mikroskopunda bir megakaryositin sitoplazması içerisinde 17 adet kemik iliği hücresine rastlamışlardır. Çalışmada, megakaryositik emperipolesis oranında görülen artışın - kesin olmamakla beraber - megakaryositlerin alfa granüllerinden salgılanan bazı kemotaktik faktörlere bağlı olabileceği ve bu kemotaktik faktörlerin diğer kemik iliği hücrelerini megakaryosit sitoplazmasına doğru çekebileceği konusu üzerinde durulmuştur.

Boll ve ark. (1997)'ları, immün yetmezliği, trombocytopenia, lösemi ve anemili hastaların kemik iliğinden hazırladıkları doku kültürü üzerinde faz-kontrast sinematografi ile yaptıkları çalışmada, lenfositlerin megakaryositik hücrelerle sürekli temas halinde bulunduğunu ve genellikle granüler (mature) megakaryositlerin sitoplazması içerisine girdiğini gözlemişlerdir.

Samii ve Pasteur (1998), kanser hastalarının kemik iliği numunelerinde ışık mikroskopuyla yaptıkları incelemede, megakaryositlerin sitoplazması içerisinde çok sayıda nötrofil bulunduğunu gözlemişler ve kanser hastalarında bu olaya çok sık rastlanmasına rağmen megakaryositik emperipolesis'in fizyolojik ve patolojik nedenlerinin halen kesinlik kazanmadığını belirtmişlerdir.

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda insan, fare ve sıçanlar üzerinde normal ve patolojik durumlarda megakaryositik emperipolesis olayı çeşitli yönleriyle ele alınmış olup, konumuzla ilgili diğer literatür bilgilerine aşağıda değinilmiştir.

El-Naggar ve ark. (1980)'ları, X-ışınlarının fare kemik iliği üzerine etkilerini araştırmışlar, ışınlanan farelerin kemik iliği hücre sayısında azalma meydana geldiğini, fakat ışınlama işleminden 12 hafta sonra megakaryositler hariç diğer kemik iliği hücrelerinin normal seviyelerine ulaştıklarını belirterek megakaryosit ve bunların öncül hücrelerinin radyasyondan diğerlerine göre daha çok etkilendiklerini bildirmişlerdir.

Morison ve ark. (1979)'ları, Morison (1989), ultraviyole radyasyonun kan hücreleri üzerine *in vitro* ve *in vivo* etkilerinin hemen hemen aynı olduğunu, ultraviyolenin memelilerde deri altı kan ve lenf damarlarını etkileyerek dolaşımdaki kan hücreleri üzerinde yapı ve fonksiyon bozuklukları meydana getirdiğini ve ayrıca mitotik sinyallere zarar vererek hücre bölünmesini inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Pretell ve ark. (1984)'ları, kan hücrelerini *in vitro* ortamda değişik dozlarda ultraviyole radyasyona maruz bırakmışlar, UV-A, UV-B ve UV-C'nin DNA sentezine ve mitotik sinyallere zarar vererek mitozu inhibe ettiğini ve dolayısıyla hücre çoğalmasını engellediğini belirtmişlerdir.

Güven ve Yardımcı (1989), Candan ve Güven (1996), normal ve ultraviyole ile ışınlanmış körfare (*Spalax leucodon*)'de kan hücrelerini ve kemik iliği megakaryositlerini ışık mikroskopuyla incelemişlerdir. Yapılan çalışmalarda, hem kontrol hem de deney grubu hayvanlarda megakaryositlerin sitoplazması içerisinde lökositlerin varlığı gözlenmiş ve deney grubu hayvanların 1 mm<sup>3</sup> kanındaki lökosit sayısında düşüş meydana geldiği belirtilmiştir. Araştırmacılar, lökosit sayısındaki düşüşün megakaryositlerle ilgili olabileceği konusu üzerinde durmuşlar ve problemin kesin olarak aydınlatılabilmesi için olayın tekrar gözden geçirilmesi gerektiğini işaret etmişlerdir.

Pyczek ve ark. (1994)'ları, düşük enerjili lazerin sıçan kemik iliği üzerine etkilerini ışık mikroskopuyla araştırmışlardır. Kontrol ve deney grubu hayvanların kemik iliği megakaryositlerinin yaklaşık % 30'unda emperipolesis gözlemişler ve deney grubu hayvanlardaki artış oranının istatistiksel bakımdan öneme sahip olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca morfolojik olarak tanınabilen megakaryositlerin



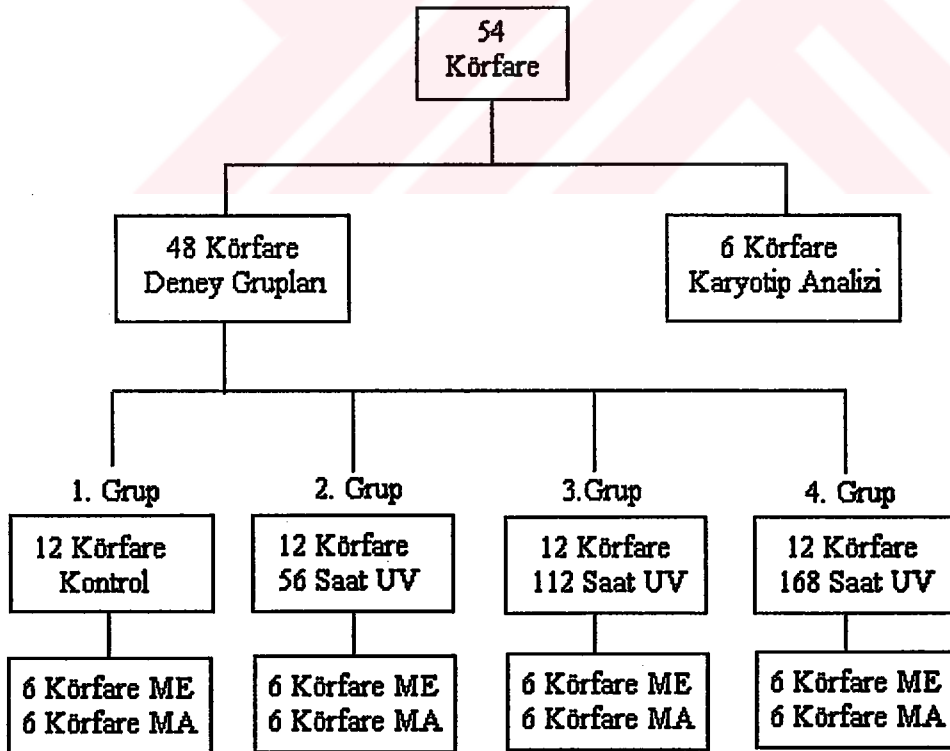
bütün tiplerinde emperipolesis'e rastlandığını ve yutulan hücrelerin genellikle nötrofiller, eritroblastlar nadiren de eozinofiller olduğunu kaydetmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda preparat üzerinde, mitoz safhasındaki kemik iliği hücrelerinin yüzdelerini çıkartarak mitotik aktiviteyi ölçmüşler ve lazer ışınlamasına maruz kalan hayvanların kemik iliği hücrelerinde mitotik aktivitenin artış gösterdiğini kaydetmişlerdir.

Bobik ve Dabrowski (1995), normal ve X-ışını uygulanmış farelerin kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis'i ışık mikroskobuyla araştırmışlardır. Normal farelerin kemik iliği megakaryositlerinin % 15'inde emperipolesis görülürken, X-ışını uygulanmış farelerin kemik iliği megakaryositlerinde bu oranın % 34'e yükseldiği tespit edilmiştir. Bir megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısının genellikle 1-3 arasında değiştiği ve bu hücrelerin daha çok granülositler, lenfositler ve eritroblastlar olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, kemik iliği hücrelerinin radyasyonun meydana getirdiği zararların etkisinden korunmak amacıyla, ilik-kan bariyeri arasından dolaşım kanına hızlı bir geçiş sağlamak için megakaryositlerin içerisine girdiği, megakaryositlerin taşıyıcı bir hücre görevi yaptığı ve buna bağlı olarak da megakaryositik emperipolesis olayında önemli derecede bir artış meydana geldiği bildirilmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, Konya ili çevresinde araziden temin edilen, ağırlıkları 170-200 gr arasında değişen ve  $2n = 60$  kromozoma sahip toplam 54 adet ergin *Spalax leucodon* (Körfare) örneği kullanılmıştır. Bunlardan 48 tanesi deney gruplarını oluşturmuş, diğer 6 tanesi ise karyotip analizi için değerlendirilmiştir. Deney gruplarını oluşturan hayvanlar, her biri 12 örnekten ibaret toplam 4 gruba ayrılmış ve bunlardan birisi kontrol grubu olarak kullanılmış, diğer üçü ise değişik doz ve sürelerde ışınlanmıştır. Her grup kendi arasında 6'şar örnekten ibaret iki alt gruba ayrılmış ve bu alt gruplardan birisi megakaryositik emperipolesis diğeri ise mitotik aktivitenin belirlenmesinde kullanılmıştır (Şekil 3.1.1). Bütün alt gruplardaki erkek ve dişi hayvan sayısı eşit tutulmuştur.



Şekil 3.1.1. Çalışmada kullanılan hayvan örneklerinin gruplara göre dağılımı (ME:Megakaryositik Emperipolesis, MA:Mitotik Aktivite).

Laboratuvara getirilen örnekler deney süresi boyunca  $22 \pm 3$  °C sıcaklık ve %  $55 \pm 10$  bağıl neme sahip karanlık odada 6 mm kalınlığında camdan yapılmış, boyutları 50 x 30 x 120 cm. olan ve tabanında 8-10 cm toprak örtü bulunan özel kafeslerde (terrarium) ayrı ayrı yaşatılmıştır. Deney hayvanları taze soğan, patates, havuç ve elma ile beslenmiş, dışarıdan su verilmemiştir. Bütün hayvanlar deneye alınmadan önce bir hafta süreyle laboratuvar şartlarına adapte edilmiştir. Bu süre içerisinde hayvanların beslenme durumları ve fiziksel davranışları gözlenerek sağlıklı olup olmadıkları kontrol edilmiştir. Laboratuvar şartlarına adapte olamayan hayvanlar deneye alınmamıştır.

### 3.2. Ultraviyole Işınlaması

Ultraviyole ışınlamasında tüm hayvanların sırtında yaklaşık  $10-12$  cm<sup>2</sup>'lik bir alan jiletle tıraş edilmiştir (Şekil 3.2.1). Birinci grup hayvanlar ultraviyole radyasyona maruz bırakılmayıp, kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. İkinci, üçüncü ve dördüncü grup hayvanlar ise ultraviyole kaynağından 36 cm mesafede



Şekil 3.2.1. Sırtında yaklaşık  $10-12$  cm<sup>2</sup>'lik bir alanı jiletle tıraş edilmiş olan *Spalax leucodon* örneği.

tutularak sırasıyla 56, 112 ve 168 saat süreyle ultraviyole radyasyona maruz bırakılmışlardır. Işınlandırma işlemi, gün ışığı periyodu dikkate alınarak her gün aynı saatler arasında (09:00-18:00) gerçekleştirilmiştir. Işınlandırma sürekli yapılmamış, bir saatlik “beslenme aralığı (13:00-14:00)” verilerek günde 8 saat süreyle uygulanmıştır.

Ultraviyole kaynağı olarak, terraryumun üst kapağına yansıtıcısı ile birlikte monte edilen 90 cm uzunluğunda ve 30 W gücünde “Philips TUV 30W/G30T8” marka ultraviyole lambası kullanılmıştır. Yapılan spektrofotometrik ölçümlere göre, bu lambanın neşrettiği ultraviyole ışınlarının dalga boyu  $254 \pm 10$  nm. olarak tespit edilmiştir.

Işınlandırma süresi, radyasyon kaynağının yüzeyi, gücü ve hayvana olan uzaklığı aşağıdaki bağıntıda yerine koyulduğu zaman, bir saniyede bir  $\text{cm}^2$ 'ye düşen ışık enerjisinin joule cinsinden değeri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$I = \frac{P \times t}{S}$$

P: Radyasyon kaynağının gücü (Watt)

t: Işınlandırma süresi (Saniye)

S: Radyasyon kaynağının yüzeyi ( $S = 2 \pi r \times 90 \text{ cm.}$ )

r: Radyasyon kaynağının hayvana olan uzaklığı (36 cm.)

Buna göre  $1 \text{ cm}^2$ 'ye düşen enerji, 56 saat ışınlandırma ile 297,2 joule, 112 saat ışınlandırma ile 594,4 joule ve 168 saat ışınlandırma ile 891,7 joule olarak hesaplanmıştır.

### 3.3. Megakaryositik Emperipolesis

Megakaryositik emperipolesis ve yoğunluk derecesinin belirlenmesinde her grubun bir alt grubu (6'şar örnek) ele alınmıştır. Işınlandırma süreleri tamamlandıktan hemen sonra eterle anestezi yapılmış ve hayvanın femur kemikleri iyice temizlenerek görünür hale getirilmiştir. Sağ ve sol femur arasında ilik hücre yoğunluğu bakımından önemli derecede farklılık bulunmadığından (Chen ve ark.

1972) her ikisi de incelemelerde kullanılmıştır. Kemik iki ucundan kesilerek pens ile tutulmuş ve bir enjektör yardımı ile kemiğin açık uçlarından birinden fizyolojik serum basınçla fişkırtılarak kemik iliği santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Kemik içindeki iliğin tamamı elde edilene kadar yıkama işlemine devam edilmiştir. Tüpler dengelendikten sonra 2000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant pastör pipeti ile alınmıştır. Kemik iliği numunesi daha önceden temizlenmiş lamalar üzerine yayılarak havada kurutulmuş ve mutlak metil alkolde 20 dakika tespit edilmiştir. Her örnekten en az 5 preparat hazırlanmış ve bunlar May Grünwald-Giemsa ile boyanmıştır. Enthellan ile kapatılarak hazırlanan daimi preparatlar "Olympus BX50" marka ışık mikroskobunda incelenerek mikrografları alınmıştır.

Megakaryositik emperipolesis'in yoğunluk derecesinin belirlenebilmesi için, 400 büyütmede her preparat üzerinde, morfolojik olarak tanınabilen megakaryositik seriye ait toplam 100 adet hücre (her hayvan örneğinde 500 hücre) sayılmıştır. Morfolojik olarak tanınabilen bu megakaryositik hücreler, Bessis (1956), Feinendegen ve ark.'ları (1962), Levine ve ark.'larının (1982) kriterlerine göre, Tip-1 Megakaryoblast, Tip-2 Promegakaryosit, Tip-3 Granüler (Mature) Megakaryosit ve Tip-4 Platelet Salan (Post-Mature) Megakaryosit olmak üzere 4 grupta sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma işleminde hücrenin büyüklüğü (çapı), sitoplazmanın boyanma özelliği, çekirdeğin şekli ve büyüklüğü dikkate alınmıştır. Megakaryositlerin çapları, her hücrenin dar ve geniş kısımlarından alınan ölçülerin ortalamasından hesaplanmıştır. 20 mikrondan küçük olan megakaryositik hücreler ışık mikroskobu düzeyinde, diğer kemik iliği hücreleriyle karıştırılabileceği için sayım işlemine dahil edilmemiştir. Sayım işlemi yapılan hücrelerde, emperipolesis görülen megakaryosit sayısı ve her bir megakaryositin sitoplazması içerisindeki hücre sayısı ayrı ayrı belirlenmiştir. İstatistiksel işlemler bilgisayar paket programında  $X^2$  test yöntemiyle yapılmış ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Çalışmamızda Tip-1, Tip-2 ve Tip-4 megakaryositlerde görülen emperipolesis oranı ihmal edilecek derecede az olduğundan dolayı istatistiksel işlemlere dahil edilmemiştir.

### 3.4. Mitotik Aktivite

Mitotik aktivitenin belirlenmesinde her grubun bir alt grubu (6'şar örnek) ele alınmıştır. Işınlandırma süreleri bittikten hemen sonra eterle anestezi sağlanmış ve hayvanın her gramı için 0.01 ml olmak üzere peritonunun sağ ve sol bölgesine % 0.1'lik kolşisin enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan iki saat sonra hayvan servikal dislokasyonla öldürülmüş, femur kemik iliği % 1'lik sodyum sitrat ile yıkanarak santrifüj tüpüne aktarılmış ve etüvde 37 ° C'de 15 dk süreyle bekletilmiştir. Hücreler 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra metanol ve asetik asit (3:1) karışımında 15 dk fikse edilmiştir. Daha sonra tekrar 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Hücreli kısım pastör pipetiyle alınarak hafif eğimli şekilde yerleştirilmiş lam üzerine 5-10 cm yükseklikten damlatılarak yayılmış ve ispiroto alevinde kurutulmuştur. Preparatlar % 10'luk Giemsa boyası ile boyanmış, ksilolde şeffaflaştırma yapılmış ve enthellan ile kapatılarak hazırlanmıştır. Her örnekten en az 2 preparat yapılmış ve bunlar araştırma mikroskobunda incelenmiştir. 1000 büyütmede her preparat üzerinde 1000 adet hücre (her hayvan örneğinde 2000 hücre) sayılmış ve bunların içindeki mitoz hücrelerinin sayısı belirlenmiştir. İstatistiksel işlemler bilgisayar paket programında  $X^2$  test yöntemiyle yapılmış ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### 3.5. Karyotip Analizi

Çalışmada kullanılan *Spalax leucodon* populasyonunun karyotipinin belirlenmesi için 3 erkek ve 3 dişi olmak üzere toplam 6 örnek kullanılmıştır. Örnekler Konya'nın 40 km güneyinden yakalanmıştır. Ford ve Hamerton (1956)'un "Colchicine-Hypotonic-Citrate" yöntemi uygulanarak, örneklerin kemik iliğinden kromozom preparatları hazırlanmıştır. Her örnekten en az 5 preparat hazırlanmıştır. Hazırlanan karyotip preparatları mikroskop altında incelenmiş ve örneklerin diploid kromozom sayısının tespiti, ortalama 50 metafaz hücresinin sayılması sonucunda belirlenmiştir. Diploid kromozom sayısı tam olan, kromozom kolları üst üste çakışmayan, iyi boyanmış karyotiplerin mikrografları araştırma mikroskobu ile alınarak, fotoğraf kartlarına basılmış ve karyotipler hazırlanmıştır.



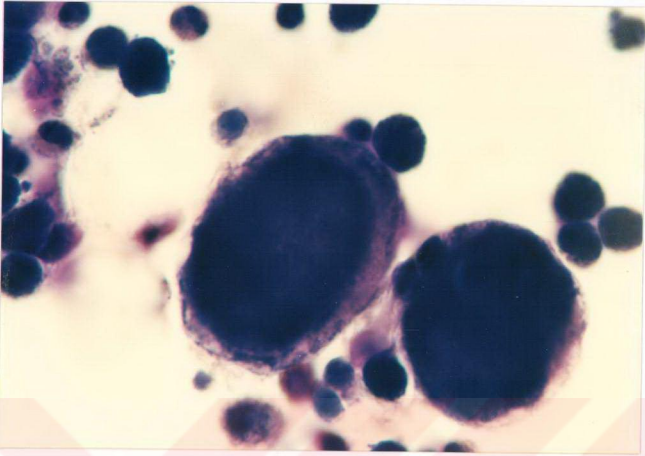
## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

### 4.1. *Spalax leucodon* Kemik İliğinde Morfolojik Olarak Tanınabilen Megakaryositlerin Sınıflandırılması

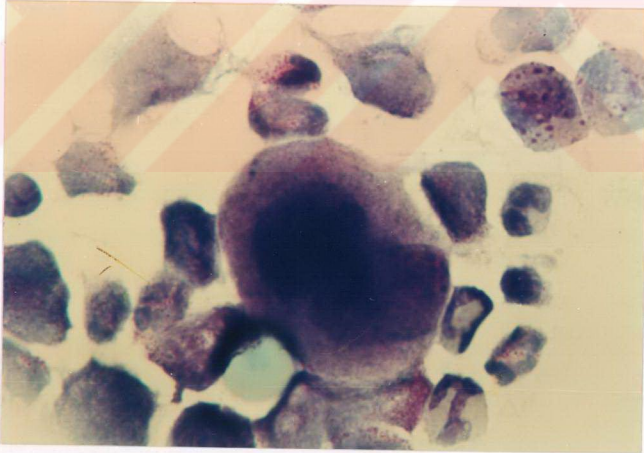
*Spalax leucodon* kemik iliğinde ışık mikroskobu düzeyinde yaptığımız bu çalışmada, çapları 20 mikrondan daha büyük olan megakaryositik hücrelerin diğer kemik iliği hücrelerinden net bir şekilde ayırtılabildiği gözlenmiştir. Çapları 20 mikrondan daha küçük olan megakaryosit öncüleri ise büyüklük ve şekil benzerliği nedeniyle diğer ilik hücreleriyle karıştırıldığından kesin olarak ayırtetmek mümkün olmamıştır. Morfolojik bakımdan tanınabilen kemik iliği megakaryositleri *Spalax leucodon* ve diğer memeli canlılarda şekil ve yapı itibarıyla büyük benzerlik göstermektedir. *Spalax leucodon*'da morfolojik olarak tanınabilen megakaryositik hücreler büyüklük, çekirdek şekli ve sitoplazmanın boyanma özelliğine göre farklılaşma sırasıyla Megakaryoblast, Promegakaryosit, Granüler (Mature) Megakaryosit ve Platelet Salan (Post-Mature) Megakaryosit olmak üzere 4 grupta sınıflandırılmıştır. Bazı kemik iliği yayma preparatlarında gözlenen az sayıdaki piknotik çekirdekli mikromegakaryositler bu gruplandırma işlemine dahil edilmemiştir. May-Grünwald Giemsa metoduyla boyanan megakaryositik seri hücrelerinin 4 tipinde de hem çekirdek hem de sitoplazmanın iyi boyandığı görülmüştür.

#### 4.1.1. Megakaryoblastlar

Büyüklük bakımından diğer kemik iliği hücrelerinden ayırtılabilen ilk megakaryositik hücreler megakaryoblastlardır. Genellikle 20-30 mikron çapındadırlar. Segment oluşumu göstermeyen çekirdekleri sitoplazmaya oranla oldukça büyük bir yer işgal eder ve koyu boyanmış ağsı yapıdadır. Genellikle oval şekilde tek bir çekirdeğe sahiptirler (Şekil 4.1.1.1). Fakat bazen birden fazla çekirdek taşıyabilmektedirler (Şekil 4.1.1.2). Bu durumda iken çekirdekler biraz daha yassılaştırmış ve birbirleriyle temas halindedirler. Çekirdekçiği kesin olarak ayırtetmek



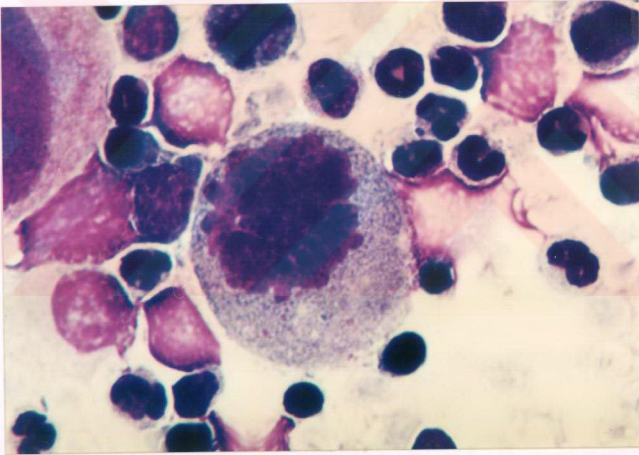
Şekil 4.1.1.1. *Spalax leucodon* kemik iliğinde tek ve oval çekirdekli megakaryoblast. X1000



Şekil 4.1.1.2. *Spalax leucodon* kemik iliğinde birden fazla çekirdek taşıyan megakaryoblast. X1000



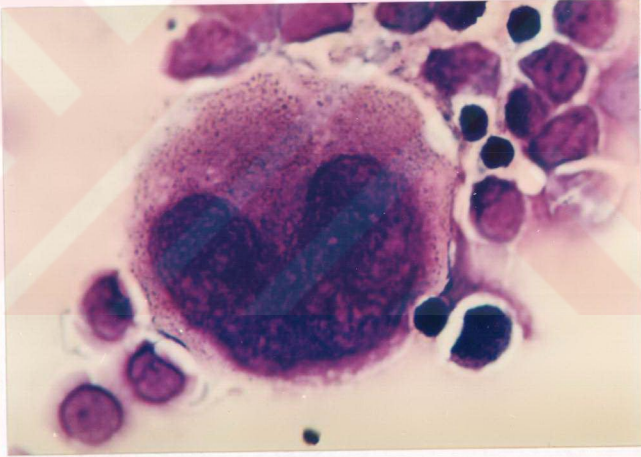
oldukça güçtür. Granülsüz ve yoğun bazofilik yapıdaki sitoplazma hücrede çok az yer işgal etmektedir. Bazı megakaryoplastların çekirdeğinde mitotik şekiller görülmüş fakat sitokineze rastlanmamıştır (Şekil 4.1.1.3). Çekirdek bölünmesinin profaz ve metafaz safhaları bariz bir şekilde ayırdedilebilmektedir. Bu durum megakaryoplastlarda mitotik aktivitenin devam ettiğini göstermektedir. Morfolojik olarak tanımlanabilen megakaryositik seride sitokinezin gerçekleşmediği düşünüldüğünde mitoz bölünme neticesinde birden fazla çekirdek taşıyan megakaryoplastlara rastlanması da tabii bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır. Megakaryositik serinin diğer hücre tipleriyle karşılaştırıldığında, kemik iliği yaymalarında az sayıda megakaryoplasta rastlandığı gözlenmiştir.



Şekil 4.1.1.3. *Spalax leucodon* kemik iliğinde mitoz bölünme aşamasındaki megakaryoplast. X1000

#### 4.1.2. Promegakaryositler

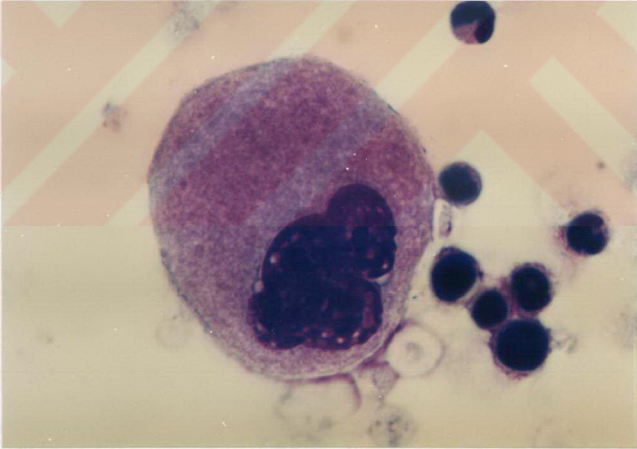
Promegakaryositlerin büyüklüğü genellikle 20-40 mikron arasında değişmektedir. Megakaryoblastlardan biraz daha büyüktürler. Koyu boyanan çekirdekleri U, C veya böbrek şeklinde olup sitoplazmanın yarısını veya yarısından daha fazlasını kaplamış vaziyettedir (Şekil 4.1.2.1). Kromatin megakaryoblasta göre çok daha yoğun ve ağ örgüsü şeklindedir. Çekirdek segment oluşturmaya başlamıştır ve çekirdekçik belli değildir. Bazofilik yapıdaki sitoplazmada granüller bir yapı görülmektedir. Promegakaryositlerde mitotik şekillere rastlanmamıştır. Kemik iliği yaymalarında megakaryoblastlara göre daha fazla sayıda oldukları gözlenmiştir.



Şekil 4.1.2.1. *Spalax leucodon* kemik iliğinde U şeklinde çekirdeğe sahip olan promegakaryosit. Çekirdekte ağ örgüsü şeklinde yoğun kromatin maddesi ve sitoplazmada granüler bir yapı görülmektedir. X1000

#### 4.1.3. Granüler (mature) megakaryositler

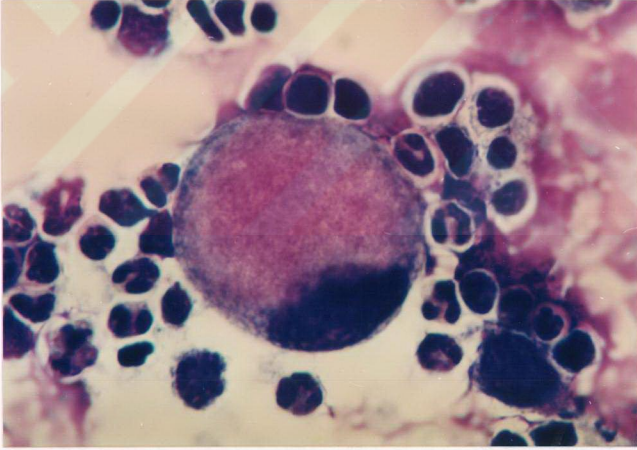
Büyüklikleri genellikle 40-70 mikron arasında değişmekle beraber bu sınırın üzerinde olanlara da rastlanmaktadır. Kemik iliği yaymalarında megakaryositik serinin en çok rastlanan ve en büyük hücreleri granüler megakaryositlerdir. Koyu boyanan çekirdekleri belli ve sabit bir görünümünden ziyade değişik şekiller alabilmektedir. Genellikle tek veya çok loblu bir yapı gösteren çekirdekteki lob sayısı olgunlaşmaya paralel olarak artmaktadır. Aynı büyüklükte olmayan loblar bazen birbiriyle iyice kaynaşmış bazen de ince kromatin köprüleriyle bağlanmış vaziyettedir (Şekil 4.1.3.1). Kromatin kaba taneli görünüme sahiptir. Çekirdek sitoplazmaya göre çok az yer işgal eder. Hücrenin büyük bir bölümünü oluşturan sitoplazmanın soluk (mat) boyanan zemini üzerinde koyu boyanmış küçük granüller bulunur. Bu granüller genellikle azurofilik yapıdadır. Sitoplazmada çekirdek hariç diğer organeller belirgin değildir. Mitotik şekillere rastlanmamıştır.



Şekil 4.1.3.1. *Spalax leucodon* kemik iliğinde granüler (mature) megakaryosit. Çok sayıda çekirdek lobu birbiriyle kaynaşmış ve yoğun granüller sitoplazma görülmektedir. X1000

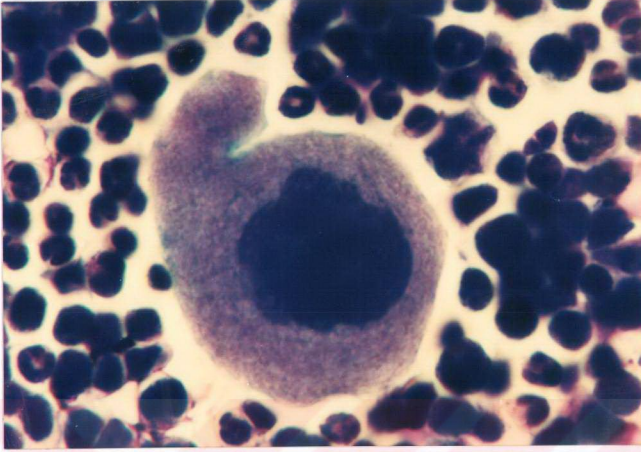
#### 4.1.4. Platelet salan (post-mature) megakaryositler

Çapları genellikle granüler megakaryositlerden biraz daha küçük nadiren de granüler megakaryositler kadardır. Piknotik yapıdaki çekirdeğin sitoplazmada işgal ettiği alan granüler megakaryositlere göre daha azdır. Birbiriyle iyice kaynaşmış olan çekirdek lobları küçülerek paket görünümü almış ve hücrenin kenar kısmına doğru kaymış durumdadır (Şekil 4.1.4.1). Sitoplazma eozinofilik yapıdadır. Platelet salan (post-mature) megakaryositler, megakaryositik serinin en son farklılaşma aşamasındadır. Hücrenin son hadde yakın hali düzensiz psödopod benzeri sitoplazmik uzantılar gösterir (Şekil 4.1.4.2). Bu aşamadan sonra çekirdek lobları birbirinden ayrılmaya başlar ve sitoplazma dağınık haldeyken granüler plateletlerin farklılaşması görülebilir (Şekil 4.1.4.3). Platelet oluşumu tamamlandığında yalnız çıplak bir çekirdek kalır.

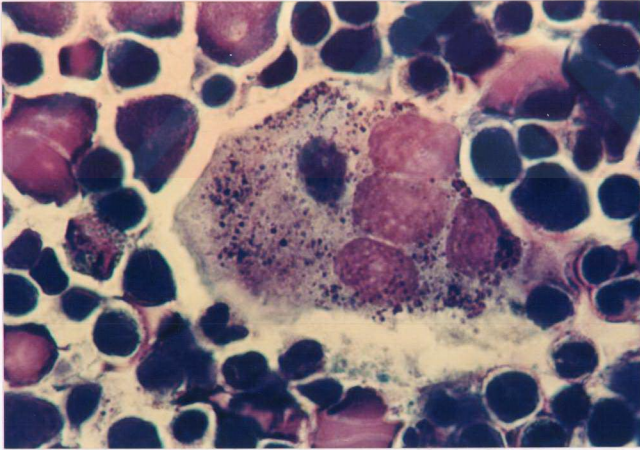


Şekil 4.1.4.1. *Spalax leucodon* kemik iliğinde platelet salan (post-mature) megakaryosit. Çekirdek küçülmüş, yassılaştırmış ve hücrenin kenarına kaymış durumdadır. X1000





Şekil 4.1.4.2. *Spalax leucodon* kemik iliğinde düzensiz psödopod benzeri uzantı gösteren post-mature megakaryosit. X1000

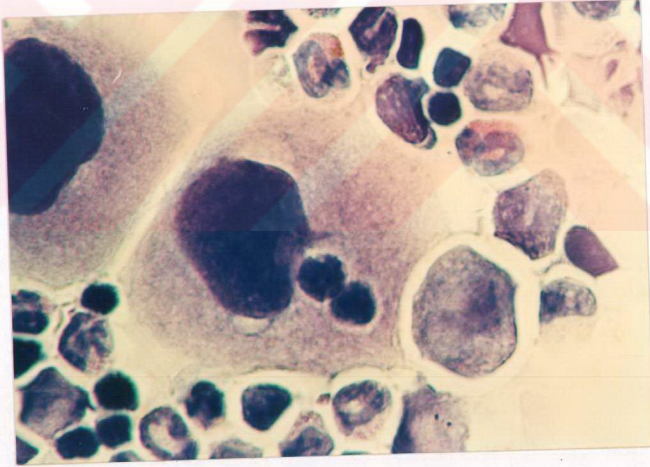


Şekil 4.1.4.3. *Spalax leucodon* kemik iliğinde sitoplazması dağılmış ve çekirdek lobları birbirinden ayrılmış olan post-mature megakaryosit. Dağılan sitoplazmada plateletlerin farklılaşması görülmektedir. X1000

## 4.2. Normal ve UV ile Işınlanmış *Spalax leucodon* Kemik İliğinde Megakaryositik Emperipolesis

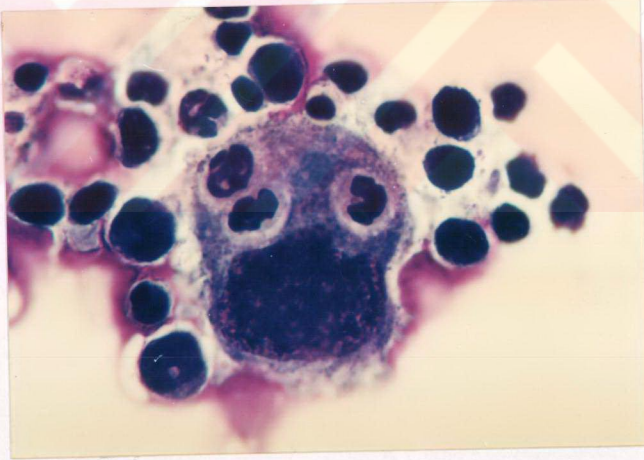
### 4.2.1. Normal (ışınlanmamış) hayvanlarda megakaryositik emperipolesis

Işınlanmış hayvanlarda olduğu gibi normal (ışınlanmamış) kontrol grubu hayvanların kemik iliği yayma preparatlarında da megakaryositik emperipolesis olayına rastlanmaktadır. Fakat bu olay ışınlanmamış hayvanlarda daha az gerçekleşmektedir. Bazı megakaryositik hücrelerin çeşitli kemik iliği hücrelerini sitoplazmaları içerisinde aldığı çok bariz bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.2.1.1). Kontrol grubu hayvanların kemik iliği yayma preparatları üzerinde yapılan bütün taramalarda, çeşitli kemik iliği hücrelerini sitoplazmasında taşıyan megakaryositik hücrelerin çoğunlukla granüler (mature) megakaryositler olduğu tespit edilmiştir. Sitoplazmasında ilik hücresi bulunduran megakaryoblast, promegakaryosit veya



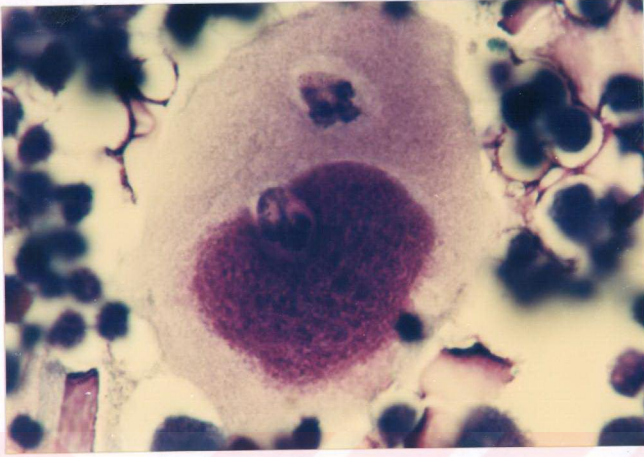
Şekil 4.2.1.1. Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan iki adet kemik iliği hücresi megakaryosit sitoplazması içerisinde görülmektedir. X1000

platelet salan (post-mature) megakaryosit sayısı oldukça düşüktür. Bir megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısı çoğunlukla 1-3 arasında değişmektedir. Yutulan hücrenin etrafını saran açık bir alan (pericellular alan) megakaryosit sitoplazmasıyla bir sınır teşkil etmektedir. Bu sınır yutulan hücreyi megakaryosit sitoplazmasından ayırmaktadır (Şekil 4.2.1.2). Megakaryositler ve megakaryositler tarafından yutulan kemik iliği hücrelerinin morfolojik yapılarında ışık mikroskopik düzeyde herhangi bir bozulmaya rastlanmamıştır. Yutulan hücrelerin özellikle çekirdek ve sitoplazma yapılarını korudukları ve ayrıca megakaryosit sitoplazmasında bulunan granüllü lökositlerin granüllerinde de bozulma ve dağılma meydana gelmediği gözlenmiştir. Fagositomun belirleyici özelliği olan fagozom oluşumuna da rastlanmamıştır. Yutulan hücreler genellikle sitoplazma bazen de çekirdek tarafından çevrelenmiş vaziyettedir (Şekil 4.2.1.3). Megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin, çeşitli tipteki ilik hücreleri olabileceği gibi en çok olgun granülositler olduğu gözlenmiştir. Granülositlerden de en çok nötrofillerin emperipolesise uğradığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2.1.4).

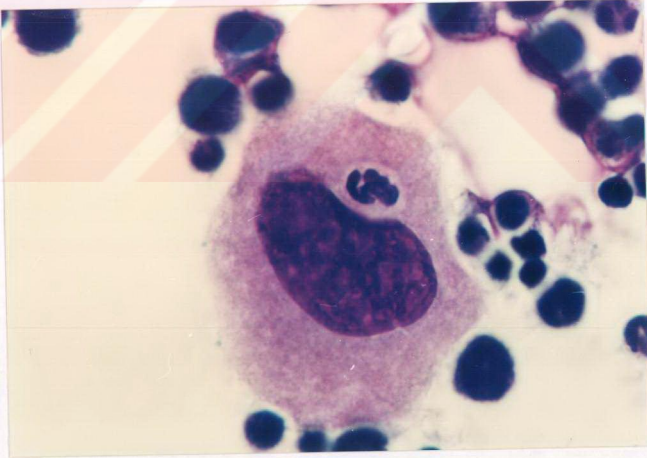


**Şekil 4.2.1.2.** Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan üç adet kemik iliği hücresi ve bu hücrelerin etrafında bulunan pericellular alan görülmektedir. X1000





Şekil 4.2.1.3. Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan iki adet kemik iliği hücresinin birisi sitoplazma diğeri ise çekirdek tarafından çevrelenmiş durumdadır. X1000

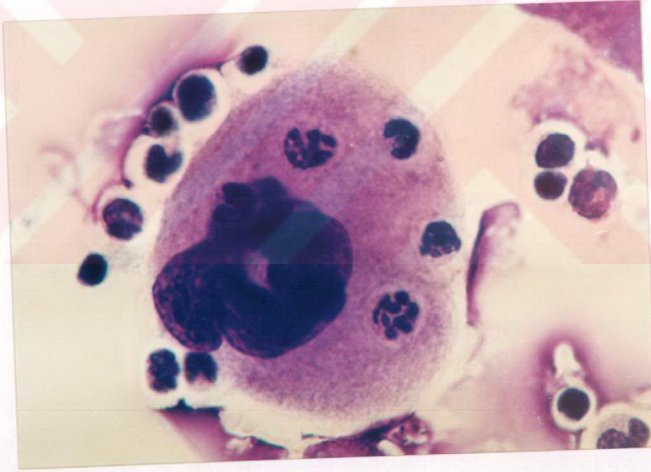


Şekil 4.2.1.4. Işınlanmamış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan bir adet nötrofil granülosit görülmektedir. X1000

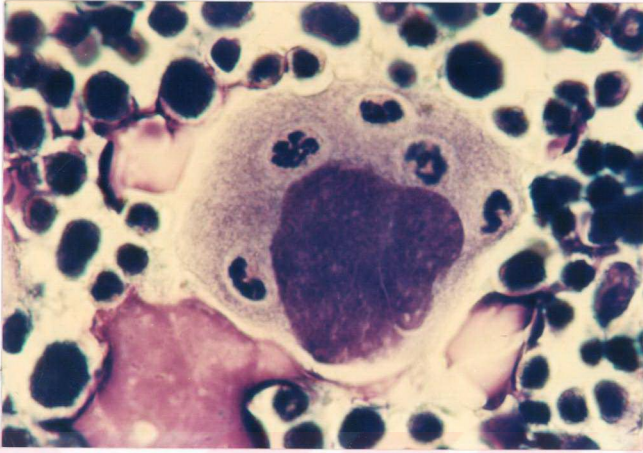


#### 4.2.2. Işınlanmış hayvanlarda megakaryositik emperipolesis

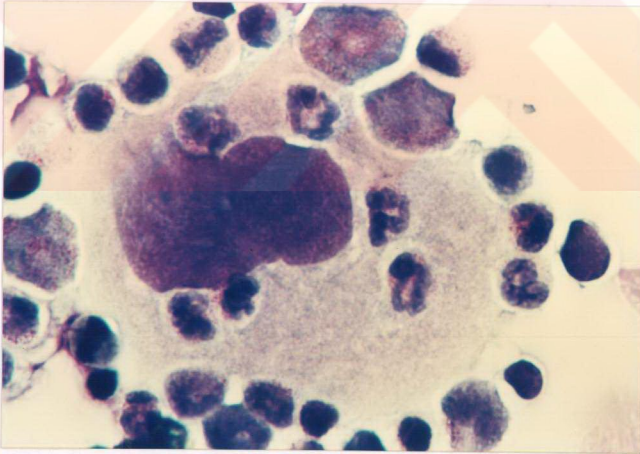
Ultraviyole ile 56, 112 ve 168 saat ışınlanan *spalax leucodon* kemik iliğinde görülen megakaryositik emperipolesis oranı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde artış göstermektedir. Kontrol grubu hayvanlarda olduğu gibi, ışınlanan hayvanların kemik iliğinde de megakaryoblast, promegakaryosit ve platelet salan (post-mature) megakaryositlerde emperipolesise çok az rastlanmış ve en çok granüller (mature) megakaryositlerin emperipolesise uğradığı tespit edilmiştir. Bir megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısı genellikle 2-5 arasında değişmekle beraber bazen bu sınırın üzerine çıkabilmektedir (Şekil 4.2.2.1, 4.2.2.2, 4.2.2.3). Yutulan hücreler çoğunlukla olgun nötrofillerdir. Bunlarda da emperipolesis görülen megakaryositler ve bu megakaryositler tarafından yutulan hücrelerde hiçbir bozulmaya rastlanmamış ve ayrıca fagozom oluşumu da gözlenmemiştir.



Şekil 4.2.2.1. 56 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan dört adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000

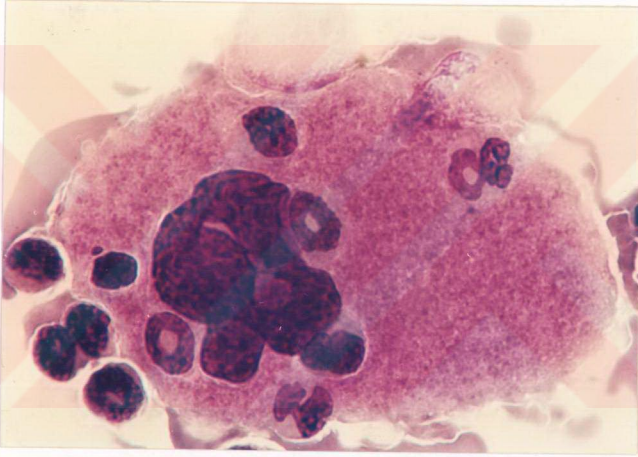


Şekil 4.2.2.2. 112 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan beş adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000

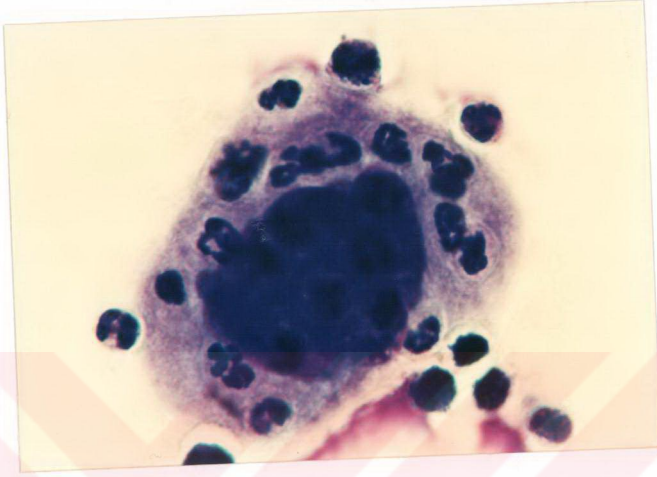


Şekil 4.2.2.3. 168 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan altı adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000

Işınlanmış hayvanların kemik iliği yayma preparatlarında yapılan taramalarda, bir tek megakaryositin yuttuğu hücre sayısının en fazla 7 adet olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2.2.4). Bu şekilde çok sayıda ilik hücresi yutan megakaryositler genellikle çapları büyük olan megakaryositlerdir. Bunun yanında 112 saat ışınlanan hayvanlarda bir defaya mahsus olmak üzere bir megakaryositin 10 adet kemik iliği hücrelerini yuttuğu gözlenmiştir (Şekil 4.2.2.5).



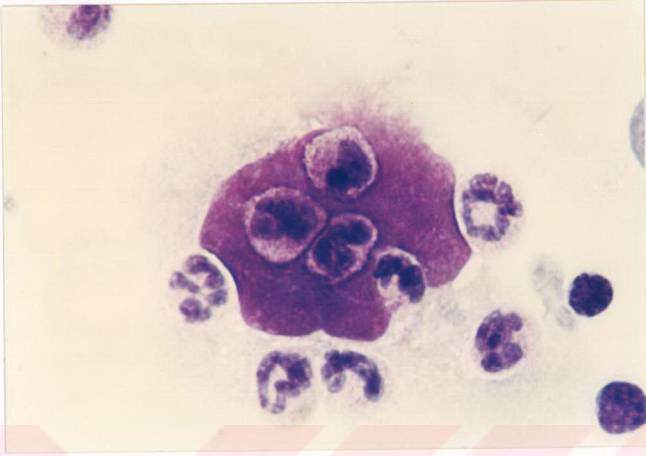
Şekil 4.2.2.4. Işınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan yedi adet kemik iliği hücresi yoğun granüler sitoplazma içerisinde görülmektedir. X1000



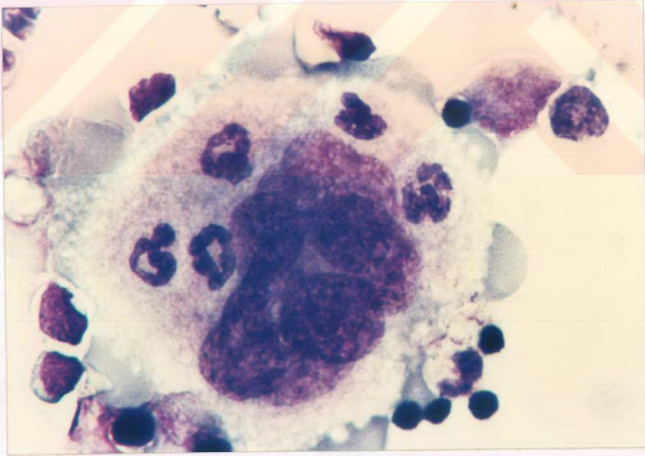
Şekil 4.2.2.5. 112 saat ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Bir megakaryosit tarafından yutulan on adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000

Işınlanmış hayvanların kemik iliğinde, sitoplazması dağılmakta olan dejenere megakaryositlere çok sık rastlanmaktadır. Değişik sayıdaki ilik hücrelerinin bu megakaryositlerin çekirdekleri tarafından yutulması veya çevrenmesi dikkat çeken bir olaydır (Şekil 4.2.2.6). Işınlanan hayvanların kemik iliğindeki megakaryositler morfolojik bakımdan önemli farklılıklar göstermemekle beraber emperipolesise uğrayan bazı megakaryositlerin sitoplazmalarında yoğun vakuolizasyon gözlenmiştir. Bu tür megakaryositlerde sitoplazmanın granüler yapısı bozulduğu için boyanma özellikleri de değişmiştir (Şekil 4.2.2.7).





Şekil 4.2.2.6. Işınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Sitoplazması dağılmakta olan dejenere bir megakaryositin çekirdeği içerisinde dört adet kemik iliği hücresi görülmektedir. X1000



Şekil 4.2.2.7. Işınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis. Sitoplazmasında yoğun vakuolizasyon görülen ve beş adet kemik iliği hücresi yutmuş olan megakaryosit. X1000

#### 4.2.3. Normal ve UV ile ışınlanmış *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipoleosis oranlarının karşılaştırılması

Normal (ışınlanmamış), 56, 112 ve 168 saat ışınlanmış hayvan örneklerinin kemik iliği yayma preparatlarındaki megakaryositik emperipoleosis oranlarının yüzdeleri (%), bunların aritmetik ortalama (M) ve standart sapmaları (SD) ve ayrıca istatistiksel analizleri Tablo 4.2.3.1, Tablo 4.2.3.2, Tablo 4.2.3.3, Tablo 4.2.3.4 ve Tablo 4.2.3.5'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Bu tablolardan da anlaşılacağı üzere megakaryositik emperipoleosis oranı ışınlanmamış hayvan örneklerinde % 7.23, 56 saat ışınlanmış hayvan örneklerinde % 11.53, 112 saat ışınlanmış hayvan örneklerinde % 23.06 ve 168 saat ışınlanmış hayvan örneklerinde ise % 28.01 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışınlanmış hayvanların kemik iliğinde megakaryositik emperipoleosis olayının önemli derecede arttığını göstermektedir. 56 saat ışınlanmış hayvanlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında megakaryositik emperipoleosis olayında bir artış görülmekle beraber bu fark istatistiksel bakımdan önemli bulunmamıştır (a-a,  $p > 0.05$ ). Işınlanmamış ve 56 saat ışınlanmış hayvan örnekleri arasında megakaryositik emperipoleosisin yoğunluk derecesinde fark yoktur (Tablo 4.2.3.1). 112 ve 168 saat ışınlanmış olan hayvanlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur (a-b,  $p < 0.05$ ). Işınlanmış hayvanlar kendi aralarında karşılaştırıldığında, 112 ve 168 saat ışınlanmış hayvanlar arasında istatistiksel bakımdan önemli fark bulunmamaktadır (b-b,  $p > 0.05$ ). Fakat 112 ve 168 saat ışınlanan hayvanlar 56 saat ışınlanan hayvanlarla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur. Bu sonuçlar 56 saat süreli UV ışınlamasının *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipoleosisin yoğunluğu üzerinde önemli bir etki göstermediğini ortaya koymaktadır. 112 ve 168 saat süreli UV ışınlaması megakaryositik emperipoleosis oranını önemli ölçüde arttırmaktadır. 112 ve 168 saat süreli ışınlama arasında etki bakımından fark bulunmamakta olup aynı etkiyi göstermektedirler.



**Tablo 4.2.3.1.** Hayvan grupları arasında megakaryositik emperipolesis olayının istatistiksel olarak karşılaştırılması (MG:Megakaryosit, M:Aritmetik Ortalama, SD:Standart Sapma).

| Hayvan Grupları | Örnek Sayısı | Normal MG Sayısı | Emperipolesis Görülen MG Sayısı | Megakaryositik Emperipolesis (%)<br>M ± SD |
|-----------------|--------------|------------------|---------------------------------|--|
| Normal          | 6            | 2783             | 217                             | 7.23 ± 3.15 a                              |
| 56 Saat UV      | 6            | 2654             | 346                             | 11.53 ± 3.61 a                             |
| 112 Saat UV     | 6            | 2308             | 692                             | 23.06 ± 5.93 b                             |
| 168 Saat UV     | 6            | 2157             | 843                             | 28.01 ± 7.84 b                             |

X<sup>2</sup> test, a-a ve b-b: p > 0.05, a-b: p < 0.05.

**Tablo 4.2.3.2. Işınlanmamış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolesis (%).**  
(MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma)

| <b>Grup-1. Normal (Işınlanmamış) Hayvan Örnekleri</b> |                    |                         |  |   |
|---|--------------------|-------------------------|--|---|
| <b>Örnek No</b>                                       | <b>Preparat No</b> | <b>Toplam MG Sayısı</b> | <b>Emperipolesis Görülen MG Sayısı</b> | <b>Megakaryositik Emperipolesis (%)</b> |
| 1   | 1                  | 100                     | 3                                      | 3                                       |
|   | 2                  | 100                     | 5                                      | 5                                       |
|   | 3                  | 100                     | 6                                      | 6                                       |
|   | 4                  | 100                     | 4                                      | 4                                       |
|   | 5                  | 100                     | 6                                      | 6                                       |
| 2   | 1                  | 100                     | 7                                      | 7                                       |
|   | 2                  | 100                     | 8                                      | 8                                       |
|   | 3                  | 100                     | 5                                      | 5                                       |
|   | 4                  | 100                     | 13                                     | 13                                      |
|   | 5                  | 100                     | 10                                     | 10                                      |
| 3   | 1                  | 100                     | 8                                      | 8                                       |
|   | 2                  | 100                     | 12                                     | 12                                      |
|   | 3                  | 100                     | 11                                     | 11                                      |
|   | 4                  | 100                     | 11                                     | 11                                      |
|   | 5                  | 100                     | 10                                     | 10                                      |
| 4   | 1                  | 100                     | 14                                     | 14                                      |
|   | 2                  | 100                     | 4                                      | 4                                       |
|   | 3                  | 100                     | 5                                      | 5                                       |
|   | 4                  | 100                     | 7                                      | 7                                       |
|   | 5                  | 100                     | 4                                      | 4                                       |
| 5   | 1                  | 100                     | 4                                      | 4                                       |
|   | 2                  | 100                     | 5                                      | 5                                       |
|   | 3                  | 100                     | 7                                      | 7                                       |
|   | 4                  | 100                     | 10                                     | 10                                      |
|   | 5                  | 100                     | 9                                      | 9                                       |
| 6   | 1                  | 100                     | 11                                     | 11                                      |
|   | 2                  | 100                     | 6                                      | 6                                       |
|   | 3                  | 100                     | 5                                      | 5                                       |
|   | 4                  | 100                     | 3                                      | 3                                       |
|   | 5                  | 100                     | 4                                      | 4                                       |
| <b>Toplam</b>   |                    | <b>3000</b>             | <b>217</b>                             | <b>(M±SD): 7.23 ± 3.15</b>              |

**Tablo 4.2.3.3. 56 Saat ışınlanmış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolesis (%). (MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma).**

| <b>Grup-2. 56 Saat Işınlanmış Hayvan Örnekleri</b> |                    |                         |  |   |
|--|--------------------|-------------------------|--|---|
| <b>Örnek No</b>                                    | <b>Preparat No</b> | <b>Toplam MG Sayısı</b> | <b>Emperipolesis Görülen MG Sayısı</b> | <b>Megakaryositik Emperipolesis (%)</b> |
| 1  | 1                  | 100                     | 16                                     | 16                                      |
|  | 2                  | 100                     | 12                                     | 12                                      |
|  | 3                  | 100                     | 14                                     | 14                                      |
|  | 4                  | 100                     | 20                                     | 20                                      |
|  | 5                  | 100                     | 9                                      | 9                                       |
| 2  | 1                  | 100                     | 8                                      | 8                                       |
|  | 2                  | 100                     | 10                                     | 10                                      |
|  | 3                  | 100                     | 17                                     | 17                                      |
|  | 4                  | 100                     | 13                                     | 13                                      |
|  | 5                  | 100                     | 12                                     | 12                                      |
| 3  | 1                  | 100                     | 7                                      | 7                                       |
|  | 2                  | 100                     | 10                                     | 10                                      |
|  | 3                  | 100                     | 6                                      | 6                                       |
|  | 4                  | 100                     | 14                                     | 14                                      |
|  | 5                  | 100                     | 12                                     | 12                                      |
| 4  | 1                  | 100                     | 7                                      | 7                                       |
|  | 2                  | 100                     | 9                                      | 9                                       |
|  | 3                  | 100                     | 9                                      | 9                                       |
|  | 4                  | 100                     | 15                                     | 15                                      |
|  | 5                  | 100                     | 12                                     | 12                                      |
| 5  | 1                  | 100                     | 7                                      | 7                                       |
|  | 2                  | 100                     | 14                                     | 14                                      |
|  | 3                  | 100                     | 11                                     | 11                                      |
|  | 4                  | 100                     | 7                                      | 7                                       |
|  | 5                  | 100                     | 9                                      | 9                                       |
| 6  | 1                  | 100                     | 17                                     | 17                                      |
|  | 2                  | 100                     | 11                                     | 11                                      |
|  | 3                  | 100                     | 16                                     | 16                                      |
|  | 4                  | 100                     | 14                                     | 14                                      |
|  | 5                  | 100                     | 8                                      | 8                                       |
| <b>Toplam</b>                                      |                    | <b>3000</b>             | <b>346</b>                             | <b>(M±SD): 11.53 ± 3.61</b>             |

**Tablo 4.2.3.4.112** Saat ışınlanmış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolesis (%). (MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma).

| <b>Grup-3. 112 Saat Işınlanmış Hayvan Örnekleri</b> |                    |                         |  |   |
|---|--------------------|-------------------------|--|---|
| <b>Örnek No</b>                                     | <b>Preparat No</b> | <b>Toplam MG Sayısı</b> | <b>Emperipolesis Görülen MG Sayısı</b> | <b>Megakaryositik Emperipolesis (%)</b> |
| 1   | 1                  | 100                     | 29                                     | 29                                      |
|   | 2                  | 100                     | 22                                     | 22                                      |
|   | 3                  | 100                     | 18                                     | 18                                      |
|   | 4                  | 100                     | 25                                     | 25                                      |
|   | 5                  | 100                     | 21                                     | 21                                      |
| 2   | 1                  | 100                     | 25                                     | 25                                      |
|   | 2                  | 100                     | 32                                     | 32                                      |
|   | 3                  | 100                     | 22                                     | 22                                      |
|   | 4                  | 100                     | 29                                     | 29                                      |
|   | 5                  | 100                     | 23                                     | 23                                      |
| 3   | 1                  | 100                     | 20                                     | 20                                      |
|   | 2                  | 100                     | 16                                     | 16                                      |
|   | 3                  | 100                     | 17                                     | 17                                      |
|   | 4                  | 100                     | 12                                     | 12                                      |
|   | 5                  | 100                     | 25                                     | 25                                      |
| 4   | 1                  | 100                     | 29                                     | 29                                      |
|   | 2                  | 100                     | 37                                     | 37                                      |
|   | 3                  | 100                     | 33                                     | 33                                      |
|   | 4                  | 100                     | 26                                     | 26                                      |
|   | 5                  | 100                     | 18                                     | 18                                      |
| 5   | 1                  | 100                     | 14                                     | 14                                      |
|   | 2                  | 100                     | 26                                     | 26                                      |
|   | 3                  | 100                     | 29                                     | 29                                      |
|   | 4                  | 100                     | 20                                     | 20                                      |
|   | 5                  | 100                     | 22                                     | 22                                      |
| 6   | 1                  | 100                     | 26                                     | 26                                      |
|   | 2                  | 100                     | 15                                     | 15                                      |
|   | 3                  | 100                     | 18                                     | 18                                      |
|   | 4                  | 100                     | 23                                     | 23                                      |
|   | 5                  | 100                     | 20                                     | 20                                      |
| <b>Toplam</b>                                       |                    | <b>3000</b>             | <b>692</b>                             | <b>(M±SD): 23.06 ± 5.93</b>             |

**Tablo 4.2.3.5.168 Saat ışınlanmış hayvan örneklerinde megakaryositik emperipolezis (%).** (MG: Megakaryosit, M: Aritmetik Ortalama, SD: Standart Sapma).

| <b>Grup-4. 168 Saat Işınlanmış Hayvan Örnekleri</b> |                    |                         |  |   |
|---|--------------------|-------------------------|--|---|
| <b>Örnek No</b>                                     | <b>Preparat No</b> | <b>Toplam MG Sayısı</b> | <b>Emperipolezis Görülen MG Sayısı</b> | <b>Megakaryositik Emperipolezis (%)</b> |
| 1   | 1                  | 100                     | 28                                     | 28                                      |
|   | 2                  | 100                     | 33                                     | 33                                      |
|   | 3                  | 100                     | 43                                     | 43                                      |
|   | 4                  | 100                     | 24                                     | 24                                      |
|   | 5                  | 100                     | 38                                     | 38                                      |
| 2   | 1                  | 100                     | 32                                     | 32                                      |
|   | 2                  | 100                     | 24                                     | 24                                      |
|   | 3                  | 100                     | 37                                     | 37                                      |
|   | 4                  | 100                     | 20                                     | 20                                      |
|   | 5                  | 100                     | 16                                     | 16                                      |
| 3   | 1                  | 100                     | 22                                     | 22                                      |
|   | 2                  | 100                     | 33                                     | 33                                      |
|   | 3                  | 100                     | 15                                     | 15                                      |
|   | 4                  | 100                     | 25                                     | 25                                      |
|   | 5                  | 100                     | 18                                     | 18                                      |
| 4   | 1                  | 100                     | 27                                     | 27                                      |
|   | 2                  | 100                     | 23                                     | 23                                      |
|   | 3                  | 100                     | 20                                     | 20                                      |
|   | 4                  | 100                     | 30                                     | 30                                      |
|   | 5                  | 100                     | 38                                     | 38                                      |
| 5   | 1                  | 100                     | 36                                     | 36                                      |
|   | 2                  | 100                     | 30                                     | 30                                      |
|   | 3                  | 100                     | 25                                     | 25                                      |
|   | 4                  | 100                     | 43                                     | 43                                      |
|   | 5                  | 100                     | 21                                     | 21                                      |
| 6   | 1                  | 100                     | 19                                     | 19                                      |
|   | 2                  | 100                     | 38                                     | 38                                      |
|   | 3                  | 100                     | 29                                     | 29                                      |
|   | 4                  | 100                     | 24                                     | 24                                      |
|   | 5                  | 100                     | 32                                     | 32                                      |
| <b>Toplam</b>                                       |                    | <b>3000</b>             | <b>843</b>                             | <b>(M±SD): 28.01 ± 7.84</b>             |

### 4.3. *Spalax leucodon* Kemik İliğinde Mitotik Aktivite

**Tablo 4.3.1. *Spalax leucodon* kemik iliğinde mitotik aktivite (%)**

| <b>Grup-1. Işınlanmamış Hayvan Örnekleri</b>        |                       |                    |                     |                      |
|---|-----------------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| Örnek No  | İnterfaz Hücre Sayısı | Mitoz Hücre Sayısı | Toplam Hücre Sayısı | Mitotik Aktivite (%) |
| 1   | 1910                  | 90                 | 2000                | 4.50                 |
| 2   | 1926                  | 74                 | 2000                | 3.70                 |
| 3   | 1920                  | 80                 | 2000                | 4.00                 |
| 4   | 1906                  | 94                 | 2000                | 4.70                 |
| 5   | 1934                  | 66                 | 2000                | 3.30                 |
| 6   | 1927                  | 73                 | 2000                | 3.65                 |
| <b>Toplam</b>                                       | <b>11523</b>          | <b>477</b>         | <b>12000</b>        | <b>(M±SD): 3.97</b>  |
| <b>Grup-2. 56 Saat Işınlanmış Hayvan Örnekleri</b>  |                       |                    |                     |                      |
| Örnek No  | İnterfaz Hücre Sayısı | Mitoz Hücre Sayısı | Toplam Hücre Sayısı | Mitotik Aktivite (%) |
| 1   | 1913                  | 87                 | 2000                | 4.35                 |
| 2   | 1924                  | 76                 | 2000                | 3.80                 |
| 3   | 1925                  | 75                 | 2000                | 3.75                 |
| 4   | 1933                  | 67                 | 2000                | 3.35                 |
| 5   | 1931                  | 69                 | 2000                | 3.45                 |
| 6   | 1935                  | 65                 | 2000                | 3.25                 |
| <b>Toplam</b>                                       | <b>11561</b>          | <b>439</b>         | <b>12000</b>        | <b>(M±SD): 3.65</b>  |
| <b>Grup-3. 112 Saat Işınlanmış Hayvan Örnekleri</b> |                       |                    |                     |                      |
| Örnek No  | İnterfaz Hücre Sayısı | Mitoz Hücre Sayısı | Toplam Hücre Sayısı | Mitotik Aktivite (%) |
| 1   | 1924                  | 76                 | 2000                | 3.80                 |
| 2   | 1911                  | 89                 | 2000                | 4.45                 |
| 3   | 1924                  | 76                 | 2000                | 3.80                 |
| 4   | 1930                  | 70                 | 2000                | 3.50                 |
| 5   | 1915                  | 85                 | 2000                | 4.25                 |
| 6   | 1931                  | 69                 | 2000                | 3.45                 |
| <b>Toplam</b>                                       | <b>11535</b>          | <b>465</b>         | <b>12000</b>        | <b>(M±SD): 3.87</b>  |
| <b>Grup-4. 168 Saat Işınlanmış Hayvan Örnekleri</b> |                       |                    |                     |                      |
| Örnek No  | İnterfaz Hücre Sayısı | Mitoz Hücre Sayısı | Toplam Hücre Sayısı | Mitotik Aktivite (%) |
| 1   | 1931                  | 69                 | 2000                | 3.45                 |
| 2   | 1917                  | 83                 | 2000                | 4.15                 |
| 3   | 1927                  | 73                 | 2000                | 3.65                 |
| 4   | 1939                  | 61                 | 2000                | 3.05                 |
| 5   | 1936                  | 64                 | 2000                | 3.20                 |
| 6   | 1929                  | 71                 | 2000                | 3.55                 |
| <b>Toplam</b>                                       | <b>11579</b>          | <b>421</b>         | <b>12000</b>        | <b>(M±SD): 3.50</b>  |



Işınlanmamış (normal) ve 56 , 112, 168 saat süreyle UV'ye maruz bırakılan hayvan örneklerinin kemik iliği preparatları üzerinde sayılan her 1000 hücre içerisindeki mitoz geçiren hücre sayısının tespit edilmesiyle mitotik aktivite belirlenmiş ve her grup hayvanın kemik iliği hücrelerindeki mitotik aktivite oranının yüzdeleri (%), bunların Aritmetik Ortalama (M) ve Standart Sapmaları (SD) Tablo 4.3.1'de verilmiştir. Bu tablodan da anlaşılacağı üzere mitotik aktivite, ışınlanmamış hayvanların kemik iliğinde % 3.97, 56 saat ışınlanmış hayvanların kemik iliğinde % 3.65, 112 saat ışınlanmış hayvanların kemik iliğinde % 3.87 ve 168 saat ışınlanmış hayvanların kemik iliğinde ise % 3.50 olarak tespit edilmiştir. Özellikle 168 saat ışınlanmış hayvan örnekleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bir düşüş gözlenmiştir. Fakat gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında her ne kadar rakamsal farklılıklar görünüyorsa da, bu farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Tablo 4.3.2'de görüldüğü gibi gruplar arasında istatistiksel bakımdan önemli farklılık yoktur ( $X^2$  test,  $p > 0.05$ ). Bu sonuçlar da 56, 112 ve 168 saat süreyle UV ışınlamasının *Spalax leucodon* kemik iliği hücrelerinin mitotik aktivitesi üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığını göstermektedir.

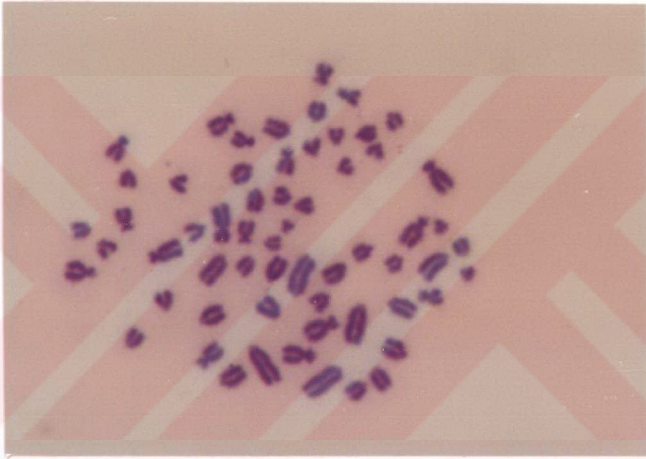
**Tablo 4.3.2.** Gruplar arasında mitotik aktivitenin istatistiksel olarak karşılaştırılması (M:Aritmetik Ortalama, SD:Standart Sapma).

| Grup No     | Örnek Sayısı | İnterfaz Hücre Sayısı | Mitoz Hücre Sayısı | Mitotik Aktivite (%)<br>M $\pm$ SD |
|-------------|--------------|-----------------------|--------------------|------------------------------------|
| Normal      | 6            | 11523                 | 477                | 3.97 $\pm$ 0.53                    |
| 56 Saat UV  | 6            | 11561                 | 439                | 3.65 $\pm$ 0.40 *                  |
| 112 Saat UV | 6            | 11535                 | 465                | 3.87 $\pm$ 0.40 *                  |
| 168 Saat UV | 6            | 11579                 | 421                | 3.50 $\pm$ 0.38 *                  |

\* Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında,  $X^2$  test,  $p > 0.05$ .

#### 4.4. *Spalax leucodon*'da Karyotip Analizi

Konya ilinin 40 km güneyinde bulunan Akören ilçesi ve 20 km güneyinde bulunan Hatıp kasabasından elde edilen *Spalax leucodon* örneklerinin kemik iliği kromozom preparatları üzerinde yapılan karyotip analizi neticesinde diploid kromozom sayısının  $2n = 60$  olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4.1, 4.4.2).



Şekil 4.4.1. Erkek *Spalax leucodon* örneğinin metafaz plağı. X1000



Şekil 4.4.2. Erkek *Spalax leucodon* örneğinin karyotipi.  $2n = 60$ .

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada deney hayvanı olarak kullandığımız *Spalax leucodon*, hayatını sürekli toprak altında açtığı kapalı galerilerde geçiren bir hayvandır. Araziden elde edilen bu hayvanların laboratuvar ortamına adapte edilmesi başarılı ve en fazla 8 ay süreyle yaşatılması mümkün olmuştur. Deney hayvanı olarak körfareleri seçmemizin nedeni, bunların ultraviyole gibi güneşten gelen tabii radyasyona doğrudan maruz kalmamalarıdır. Bundan dolayı diğer memelilere göre daha iyi sonuç vereceği düşünülmüştür.

Normal ve UV ile ışınlanmış *Spalax leucodon* örneklerinin kemik iliğinde morfolojik olarak tanımlanan megakaryositik hücre tipleri ışık mikroskobuyla net bir şekilde birbirinden ayırtedilebilmiştir. Kemik iliği preparatları üzerinde sayı bakımından en çok granüler (mature) megakaryositlere rastlanmıştır. Diğer megakaryositik hücre tiplerine özellikle de megakaryoblastlara az sayıda rastlanması, bunların bir başka hücre tipine farklılaşma sürelerinin oldukça kısa olduğunu göstermektedir. Morfolojik bakımdan tanımlanan megakaryositik hücre tipleri *Spalax leucodon* ve diğer memeli canlılarda şekil ve yapı itibarıyla büyük benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda hem normal hem de UV ile ışınlanmış *Spalax leucodon* örneklerinin kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis olayı gözlenmiştir. Fare ve sıçanların kemik iliği üzerinde yapılan bir çok araştırmada da kontrol ve deney grubu hayvanlarda megakaryositik emperipolesis'e rastlanmıştır (Chiu 1984, Tavassoli 1986, Leven ve Tablin 1988, Lee 1989, Chyczewski 1994, Tanaka 1994, Novak 1995). Lee (1989), aynı zamanda genç ve yaşlı normal sıçanlarda olayı gözlemiş, yaşlı sıçanlarda ise artış meydana geldiğini belirtmiştir. Ayrıca Breton-Gorius (1981) ve Tavassoli (1981), megakaryositik emperipolesis'in insanlarda sadece patolojik durumlarda değil normal şartlarda da görülebileceğini ifade etmektedirler.

Bazı araştırmacılar megakaryositik emperipoleses'i bir fagositoz olayı olarak değerlendirmişlerdir (Halil ve Barret 1980, Sobolewski 1980, Zucker-Franklin 1981, Lam ve ark. 1991). Fakat bu çalışmada yaptığımız gözlemlere göre, bu olay gerçek fagositozdan farklı bir durum sergilemektedir. Emperipolesis'e iştirak eden bütün

megakaryositler ve bunların sitoplazmaları içerisinde bulunan hücreler üzerinde yaptığımız ışık mikroskopik gözlemlerde, ne megakaryositler ne de yutulan hücrelerde herhangi bir morfolojik dejenerasyona rastlanmamıştır. Özellikle, megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin çekirdeklerinin normal yapılarını koruduğu görülmüştür. Ayrıca bir çok örnekte megakaryosit sitoplazmasında bulunan granüllü lökositlerin granüllerinde de dağılma ve bozulma meydana gelmemiştir. Bilindiği gibi fagositoz olayında lizozomal enzimler işe karışmakta, fagozom oluşmakta ve partiküller sindirilmektedir. Megakaryositlerin sitoplazması içerisinde bulunan hücrelerin etrafında fagositik bir vakuolün (fagozom) oluşmayışı ve sitoplazma içerisinde bulunan bu hücrelerin bozulmadan kalabilmeleri bunun bir fagositoz olamayacağını göstermektedir. Chiu (1984), Tanaka ve ark. (1994)'ları, Bobik ve Dabrowski (1995), fare ve sıçanların kemik iliği üzerinde ışık mikroskopuyla yaptıkları çalışmalarda, megakaryositler ve bunlar tarafından yutulan hücrelerin morfolojik yapılarının normal olduğunu ve buna bağlı olarak da olayın fagositozdan farklı göründüğünü belirtmektedirler. Shamoto (1981), faz-kontrast sinematografi ve elektron mikroskopta, Migita ve ark. (1992)'ları, ışık ve elektron mikroskopta, Boll ve ark. (1997)'ları, faz-kontrast sinematografide olayı incelemişler ve megakaryositlerin sitoplazması içerisinde bulunan hücrelerin uzun süre canlı kalabildiklerini bildirmişlerdir. Larsen (1970), Thiele (1984), De Pasquale ve ark. (1985)'ları, Tavassoli (1986), Lee (1989), ışık ve elektron mikroskopuyla yaptıkları çalışmalarda, megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin demarkasyon membran sisteminin boşluklarına yerleştiklerini ve normal yapılarını koruyabildiklerini söylemektedirler. Burada demarkasyon membran sisteminin boşluklarına yerleşen hücrelerin enzim aktivitesinden korunabileceği düşüncesi de akla gelmektedir. Çalışmamızdaki gözlemlerimiz ve literatür bilgileri ışığında konuyu sentezlediğimizde, megakaryositik emperipolesis'in fagositozdan farklı bir olay olduğu kesindir. Bizim bulgularımızla bu konu üzerinde çalışan diğer araştırmacıların bulguları arasında büyük çapta bir ayrılık bulunmamaktadır.

Megakaryositler tarafından yutulan kemik iliği hücrelerinin megakaryosit içerisinde sitoplazma veya çoğu zaman çekirdek tarafından çevrelendiği gözlenmiştir (Parmley ve ark. 1982, Thiagarajan ve ark. 1985, Cashell ve Buss 1992). Ayrıca çalışmamızda bir tek megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısının genellikle 1-3

arasında değiştiği fakat bazen bu sayının daha da arttığı tespit edilmiştir (Chiu 1984, Bobik ve Dabrowski 1995, Dzieciol ve ark. 1995).

Parmley ve ark. (1982)'ları, Leven ve Tablin (1988), Bobik ve Dabrowski (1995), sadece granüler (mature) megakaryositlerin, Tanaka ve ark. (1994)'ları, Boll ve ark. (1997)'ları ise çoğunlukla granüler (mature) megakaryositlerin emperipolesis'e iştirak ettiğini belirtmektedirler. Çalışmamızda, megakaryositik emperipolesis'in yoğunluk derecesinde, granüler (mature) megakaryositlerin belirleyici rol oynadığı tespit edilmiştir. Çünkü, Tip-1, Tip-2 ve Tip-4 megakaryositlerde rastladığımız emperipolesis sayısı bütün örneklerde bir kaçı geçmezken, granüler (mature) megakaryositlerde çok yoğun bir şekilde gözlenmiştir. Tip-1 Megakaryoblast ve Tip-2 Promegakaryositler henüz farklılaşmalarını tamamlamamış olan hücrelerdir (immature hücreler). Tip-4 Platelet Salan (Post-Mature) Megakaryositler ise yaşlanmış olan hücrelerdir ve her an dejenerasyona uğrayabilirler. Hücrelerin fonksiyonlarını tam olarak yerine getirebilmeleri için farklılaşmalarını tamamlamış ve yaşlanmamış olmaları gerekir. Emperipolesis olayı da megakaryositlerin bir fonksiyonu olarak görölmektedir. Emperipolesis'in immature ve post-mature hücre formlarında çok az görölmemesinin bir sebebi de demarkasyon membran sistemi ile ilgili olabilir. Megakaryoblast ve promegakaryositlerde DMS iyi gelişmemiştir. Platelet salan (post-mature) megakaryositlerde ise dejenere olmaya başlamıştır. Megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin, dışa açık bir kanaliküler sistem olan DMS'nin boşlukları içerisine yerleştiğini düşündüğümüzde, DMS'nin çok iyi geliştiği ve bütün sitoplazmaya yayıldığı granüler (mature) megakaryositlerde emperipolesis'in niçin yoğun olarak göröldüğünün sebebi açıklanabilir. Burada asıl sorgulanması gereken konu DMS'nin bir hücreyi içine alacak kadar genişleme özelliğine sahip olmasıdır.

Normal ve UV ile ışınlanan *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin daha çok granülositler olduğu gözlenmiştir. Granülositlerden de en çok nötrofillere rastlanmıştır. Bu durum nötrofillerin diapedez potansiyellerinin yüksek olmasından kaynaklanabilir. Migita ve ark. (1992)'ları, -kesin olmamakla beraber- nötrofillerin membran yüzeyinde bağlı bulunan Ig-G moleküllerinin megakaryositik emperipolesis olayında önemli bir rolünün olabileceğini belirtmektedirler. Megakaryositik emperipolesis'e iştirak eden



eritroblast ve lenfositlere daha az rastlanmaktadır. Bir çok araştırmada megakaryosit sitoplazmasında bulunan hücrelerin genellikle granülositler, eritroblastlar ve lenfositler olduğu belirtilmektedir. (De Pasquale ve ark. 1985, Thiagarajan ve ark. 1985, Chyczewski ve ark. 1994). Shamoto (1981), Chiu (1984), Bobik ve Dabrowski (1995), çoğunlukla nötrofillerin megakaryositik emperipolesis'e uğradığını belirtmektedirler. Parmley ve ark.'ları (1981) ise yutulan hücrelerin sadece nötrofiller olduğunu, nötrofil öncülleri ve diğer kemik iliği hücrelerinin megakaryosit sitoplazmasında bulunmadığını ifade etmektedirler. Bizim gözlemlerimiz, bu yönleriyle Parmley ve ark.'larının (1981) sonuçlarından farklılık göstermekte, diğerleriyle ise benzerlik teşkil etmektedir. Chiu (1984), sıçanların kemik iliği üzerinde yaptığı çalışmasında, diğer kemik iliği hücrelerinin yanısıra bir megakaryositin de başka bir megakaryosit tarafından yutulduğunu belirtmektedir. Ancak bizim çalışmamızda böyle bir duruma rastlanmamıştır.

*Spalax leucodon* kemik iliği üzerinde yaptığımız bu çalışmada, ultraviyole ile ışınlanmış hayvanların kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis oranında önemli bir artış tespit edilmiştir (Tablo 4.2.3.1). Bu artış özellikle 112 ve 168 saat süreyle ultraviyoleye maruz kalan hayvan örneklerinde etkili görülmektedir. Bu gruplarda megakaryositik emperipolesis kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bir kaç kat artmış vaziyettedir. Benzer şekilde Bobik ve Dabrowski (1995), X-ışını uyguladıkları farelerin kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis oranının normal farelerinkine göre 3-4 kat arttığını belirtmişlerdir. Bu durum kemirici memelilerin kemik iliğinde, ultraviyole radyasyonun megakaryositik emperipolesis üzerine etkisinin iyonize radyasyonla hemen hemen aynı olduğunu göstermektedir. Bununla beraber Pyczek ve ark. (1994)'ları, düşük enerjili lazerin sıçan kemik iliğinde mitotik aktivite ve mast hücre sayısını değişikliğe uğratmasına rağmen megakaryositik emperipolesis oranını pek fazla etkilemediğini belirtmişlerdir. Bunun sebebi düşük enerjili lazerin hayvanın dışı açık bütün yüzeyine değil de, sadece lokal olarak kemik iliğine kısa süreli uygulanmasından kaynaklanıyor olabilir. Fakat yine de bu sonuçlar, ultraviyole ve düşük enerjili lazer ışınlamasının megakaryositik emperipolesis üzerine etkilerinin birbirinden farklı olduğunu göstermektedir. Bir çok araştırmacı megakaryositik emperipolesis'in çeşitli kanser ve tümör hastalıklarında çok yoğun olarak görüldüğünü ve bu olayın adeta kanser tümörleriyle özdeşleştiğini belirtmektedirler.

Ultraviyole radyasyonun vücudun dışı açık yapılarında kansere sebep olduğu çok iyi bilinmektedir (Kinet-Denoel ve Breton-Gorius 1973, Halil ve Barret 1980, Sobolewski 1980, Rozman ve Vives-Corrans 1981, Shamoto 1981, Djaldetti ve Strauss 1982, Parmley ve ark. 1982, Burkhardt ve ark. 1984). Kemik iliği her ne kadar vücudun iç yapısında bulunsada vücudun dışı açık yapılarında ve dolaşım kanında meydana gelen patolojik değişikliklerden çok çabuk etkilenen bir dokudur. Çalışmamızda megakaryositik emperipolesis oranının ışınlanan hayvanlarda önemli derecede artış göstermesi yukarıdaki bulguları desteklemektedir.

İnsan, fare ve sıçanların kemik iliği üzerinde ışık ve elektron mikroskopuyla yapılan bir çok çalışmada, megakaryositik emperipolesis'in çeşitli kanser türleri, değişik tümörler, trombosit bozuklukları, hipoksiya (oksijen yetmezliği), anemi ve fazla kan kaybı durumlarında önemli ölçüde artış gösterdiği bildirilmiştir (Chen ve ark. 1972, Kinet-Denoel ve Breton-Gorius 1973, Sahebkhari ve Tavassoli 1976, Halil ve Barret 1980, Sobolewski 1980, Rozman ve Vives-Corrans 1981, Shamoto 1981, Djaldetti ve Strauss 1982, Parmley ve ark. 1982, Burkhardt ve ark. 1984). Fakat bazı kemik iliği hücrelerinin megakaryosit sitoplazması içerisine göçünü veya megakaryositler tarafından yutulmasını tam olarak açıklayan ve bunun önemini ortaya koyan kesin bir görüş belirlenmiş değildir. Kemik iliği megakaryositlerinde görülen bu olayın yoğunluk derecesinin tek başına hastalıkların teşhisinde bir öneminin olup olmadığı tartışma konusudur. Bununla beraber konuyla ilgili değişik fikirler ileri sürülmüştür. De Pasquale ve ark. (1985)'ları, megakaryosit sitoplazmasının diğer hücreler için kemik iliğinin elverişsiz şartlarına karşı sığınak teşkil edebileceğini; Migita ve ark. (1992)'ları, nötrofillerin membran yüzeyinde bulunan Ig-G moleküllerinin megakaryositik emperipolesis olayında önemli bir rolünün olabileceğini; Bobik ve ark. (1995)'ları, megakaryositler ve bunların sitoplazması içerisinde bulunan hücrelerin membran yüzeyinde yer alan adhezyon moleküllerinin hücreler arasında böyle bir etkileşime neden olabileceğini; Novak ve ark. (1995)'ları, çeşitli durumlarda megakaryositik emperipolesis oranında görülen artış sebebinin -kesin olmamakla beraber- megakaryositlerin alfa granüllerinden salgılanan bazı kemotaktik faktörlere bağlı olabileceği ve bu kemotaktik faktörlerin diğer kemik iliği hücrelerini megakaryosit sitoplazmasına doğru çekebileceği görüşü üzerinde durmuşlardır.

Bütün bunların yanında daha etkili bir görüşü savunan Tavassoli (1981, 1986), Tavassoli ve Aoki (1989), Dzieciol ve ark. (1995)'ları, sıçanlar üzerinde deneysel olarak oluşturulan kan kaybının megakaryositik emperipolesis'i önemli ölçüde arttırdığını ve aşırı kan kaybının bu olayı yönlendirdiğini kaydetmişlerdir. Işık ve elektron mikroskopuyla yapılan gözlemlerde, megakaryositlerin genellikle kemik iliğinin sinüs endotheliumuna yakın bölgelerde bulunduğu belirtilmiş ve megakaryositlerin kemik iliği ve kan dolaşımı arasında ilik-kan bariyerinin bir elemanı olduğu görüşü ileri sürülmüştür. Araştırmacılara göre, aşırı kan kaybı sonucu kan hücre sayısında meydana gelen azalma, dolaşım kanının hücre ihtiyacını arttırmakta, bu ise ilik-kan bariyeri arasındaki hücre trafiğini hızlandırmaktadır. Kan hücrelerinin üretildiği yer olan kemik iliğindeki bazı hücreler ilik dokudan kan dokuya geçmek için megakaryositleri bir taşıyıcı olarak kullanmakta ve bariyerin ilik tarafında megakaryosit sitoplazmasına girmektedirler. Daha sonra bu hücreler canlılıklarını yitirmeden bariyerin diğer tarafında megakaryosit sitoplazmasından çıkarak kan dolaşımına katılmaktadırlar. Böylece çok daha hızlı bir şekilde kan dolaşımına geçebilmektedirler. Megakaryositlerin, ilik-kan bariyeri arasında hızlı hücre geçişini sağlayan böyle bir mekanizmaya aracılık etmesi ise megakaryositik emperipolesis'in yoğunluk derecesini önemli ölçüde arttırmaktadır.

Morison ve ark. (1979)'ları, kan dolaşımındaki lenfosit sayısında meydana gelen azalmanın, UV-B radyasyonun *in vivo* etkilerinden birisi olduğunu belirtmektedirler. Güven ve Yardımcı (1989), Candan ve Güven (1996) yaptıkları çalışmada, ultraviyole ile ışınlanan körfare (*Spalax leucodon*)'de 1 mm<sup>3</sup> kandaki lökosit sayısında düşüş meydana geldiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda megakaryositik emperipolesis oranında meydana gelen artışın sebebi de kan dolaşımındaki hücre sayısında meydana gelen azalma ile ilgili olabilir. Bu durumda megakaryositlerin ilik-kan bariyerinin bir elemanı olduğu görüşü, megakaryositik emperipolesis olayının biyolojik mekanizmasını daha iyi açıklıyor gibi görünmektedir. Megakaryositik emperipolesis olayının fizyolojik mekanizması hakkında ortaya atılan hipotezler içerisinde, megakaryositlerin ilik-kan bariyeri arasında hızlı hücre geçişini sağlayan taşıyıcı bir hücre olabileceği görüşü ağırlık kazanmaktadır.

Morison ve ark. (1979)'ları, Morison (1989), Pretell ve ark. (1984)'ları UV radyasyonun *in vitro* ortamda memeli hücrelerinde mitotik sinyallere zarar vererek hücre bölünmesini inhibe ettiğini ve bu etkinin *in vivo* olarak da kendini gösterebileceğini belirtmektedirler. Bizim çalışmamızda ise UV radyasyonun *Spalax leucodon* kemik iliği hücrelerinin mitotik aktivitesi üzerine *in vivo* etkisinin çok düşük seviyede olduğu sonucuna varılmıştır. Çünkü UV etkisi ile hücre çoğalma düzeyinde meydana gelen düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 4.3.2).

Pyczek ve ark. (1994)'ları, düşük enerjili lazerin sıçan kemik iliği üzerine lokal uygulanmasından sonra (*in vivo*) mitotik aktivitede artış meydana geldiğini bildirmektedirler. UV radyasyonun tersine düşük enerjili lazerin hücre çoğalmasında meydana getirdiği artış, lazer ve UV'nin mitotik aktivite üzerine etkilerinin çok farklı şekilde olduğunu göstermektedir.

Vlasov ve Kvacheva (1998), gamma ve X-ışınına maruz kalmış insan ve çeşitli memeli hayvanların kemik iliği üzerinde yaptıkları çalışmada mitotik aktivitede bariz bir düşüş meydana geldiğini belirtmektedirler. Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar UV radyasyonun mitotik aktivite üzerinde gamma ve X-ışını kadar etkili olmadığını göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada deney hayvanı olarak kullandığımız *Spalax leucodon*, hayatını sürekli toprak altında açtığı kapalı galerilerde geçiren bir hayvandır. Araziden elde edilen bu hayvanların laboratuvar ortamına adapte edilmesi başarılı ve en fazla 8 ay süreyle yaşatılması mümkün olmuştur.

Ultraviyole ışınlaması *Spalax leucodon* kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis olayını önemli derecede arttırmaktadır. Özellikle 112 ve 168 saat süreyle ultraviyoleye maruz bırakılan hayvanlarda bu durum bariz bir şekilde görülmektedir. Megakaryositik hücre tipleri içerisinde granüler (mature) megakaryositler, emperipolesis oranında belirleyici role sahiptir. Çünkü en çok bu hücreler megakaryositik emperipolesise iştirak etmektedir. Bir tek megakaryosit tarafından yutulan kemik iliği hücre sayısı genellikle 1-3 arasında değişmekle beraber bazen bu sayının üstüne çıkabilmektedir. Megakaryositler tarafından yutulan hücreler genellikle nötrofil granülositlerdir. Megakaryositler ve nötrofiller arasında bilinmeyen bir etkileşimin olduğu kesin görünmektedir.

Işık mikroskobu altında megakaryositik emperipolesis olayında, megakaryositler ve bunlar tarafından yutulan hücrelerin morfolojik yapılarında herhangi bir dejenerasyona rastlanmamaktadır. Megakaryositik emperipolesis olayının, hücrelerde dejenerasyon ve fagozom teşekkülü görülmemesi yönüyle fagositozdan farklı bir olay olduğu kesin görünmektedir. Bu olayın fizyolojik mekanizmasının tam olarak aydınlatılabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Özellikle 168 saat ışınlanan hayvanların kemik iliğinde mitotik aktivite oranında bir düşüş gözlenmişse de bu, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Deneylemizden elde ettiğimiz sonuçlar, ultraviyole radyasyonunun *Spalax leucodon* kemik iliğinde değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin iyonize radyasyonun etkilerine benzediğini göstermektedir. Bu nedenle konu üzerindeki araştırmalar genişletilmeli, insan ve çevre sağlığı açısından ortaya çıkabilecek risklere karşı önlemler geliştirilmelidir.

Diğer çevresel etkenler gibi ultraviyole radyasyonu da hayvansal organizmaların faaliyetleri üzerinde etkilidir. Bunlardan birisi “cholecalciferole” (Vitamin D<sub>3</sub>) sentezi ile ilgili fizyolojik mekanizmayı harekete geçirmesidir. Bu çalışmamızla, ultraviyole radyasyonunun kemik iliği gibi hemopoietik dokular üzerinde de etkili olduğu gösterilerek bilime bir katkı sağlanmıştır.





## 7. KAYNAKLAR

- Anosa, V.O., Logan-Henfrey, L.L. and Shaw, M.K., 1992. A Light and electron microscopic study of changes in blood and bone marrow in acute hemorrhagic *Trypanosoma vivax* infection in calves. *Vet. Pathol.*, 29(1):33-45.
- Applegate, L.A., Stuart, T.D. and Ley, R.D., 1985. Ultraviyoleet radiation induced histopathological changes in the skin of the marsupial *Monodelphis domestica*. I. The effects of acute and chronic exposures and of photoreactivation treatment. *Br. J. Dermatol.*, 113: 219-227.
- Baum, S.J., Varon, M.I. and Wyant, D.E., 1970. Radiation induced anemia in rats exposed repeatedly to mixed gamma-neutron radiation. *Radiation Res.*, 41:192-199.
- Behnke, O., 1968. An electron microscope study of the megakaryocyte of the rat bone marrow. I. The development of the demarcation membrane system and the platelet surface coat. *J. Ultrastructure Res.*, 24:412-433.
- Behnke, O., 1969. An electron microscope study of the rat megakaryocyte. II. Some aspects of platelet release and microtubules. *J. Ultrastructure Res.*, 26:111-129.
- Bentfeld-Baker, M.E. and Bainton, D.F., 1975. Cytochemical localization of lysosomal enzymes in rat megakaryocytes and platelets. *J. Clin. Invest.*, 56:1635-1649.
- Bentfeld-Baker, M.E. and Bainton, D.F., 1982. Identification of primary lysosomes in human megakaryocytes and platelets. *Blood*, 59:472-481.
- Berman, I., 1967. The ultrastructure of erythroblastic islands and reticular cells in mouse bone marrow. *J. Ultrastructure Res.*, 17:291-313.
- Besis, M.C. and Breton-Gorius, J., 1962. Iron metabolism in the bone marrow as seen by electron microscopy: A critical review. *Blood*, 19:635-663.
- Bessis, M., 1956. *Cytology of the blood and blood forming organs*. Grune and Stratton, New York, pp.448-489.
- Bisset, D.L., Hannon, D.P. and Orr, T.V., 1987. An animal model of solar-aged skin: Histological, physical, and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin. *Photochem. Photobiol.*, 46(3):367-378.

- Bobik, R. and Dabrowski, Z., 1995. Emperipolesis of marrow cells within megakaryocytes in the bone marrow of sublethally irradiated mice. *Ann. Hematol.*, 70(2):91-95.
- Bobik, R., Podolak-Dawidziak, M., Kielbinski, M., et al., 1995. Emperipolesis in megakaryocytes in patients with thrombocytosis in the course of myeloproliferative disorders. *Acta Haematol. Pol.*, 26(2):179-183.
- Boll, I.T., Domeyer, C. and Buhner, C., 1997. Human megakaryoblastic proliferation and differentiation events observed by phase-contrast cinematography. *Acta Haematol. Switz.*, 97(3):144-152.
- Brahim, F. and Osmond, D.G., 1970. Migration of bone marrow lymphocytes demonstrated by selective bone marrow-labeling with thymidine <sup>3</sup>H. *Anat. Rec.*, 168:139-160.
- Breton-Gorius, J. and Reyes, F., 1976. Ultrastructure of human bone marrow cell maturation, in Bourne, G.H., Danielli, F.F. (eds), *International Review of Cytology*, Orlando,46, pp.251.
- Breton-Gorius, J., 1981. On the alleged phagocytosis by megakaryocytes. *Br. J. Haematol.*, 47:635-636.
- Breton-Gorius, J. and Vainchenker, W., 1986. Expression of platelet proteins during the in vitro and in vivo differentiation of megakaryocytes and morphological aspects of their maturation. *Seminars in Hematology*, 23(1):43-67.
- Burkhardt, R., Kleinknecht, R., Jager, K., et al., 1984. Megakaryocytic emperipolesis – accidental or diagnostic sign ? In: Lennert K., Hubner K.(eds) *Pathology of the bone marrow*. G. Fisher, Stuttgart, pp. 200-205.
- Burns, E.R., 1967. Tumor cell-tumor cell emperipolesis. *Exp. Cell Res.*, 48:229-231.
- Candan, S. ve Güven, T., 1996. Normal ve ultraviyole ile ışınlanmış *Spalax leucodon* (Rodentia:Spalacidae)'da kan sayımı ve kan hücrelerinin ışık mikroskopuyla incelenmesi. *Gazi Üniv. Fen Bil. Enst. Derg.*, 9(1):41-54.
- Cashell, A.W. and Buss, D.H., 1992. The frequency and significance of megakaryocytic emperipolesis in myeloproliferative and reactive states. *Ann. Hematol.*, 64(6): 273-276.
- Chemnitz, J. and Bichel, P., 1973. Tumour cell-tumour cell emperipolesis studied by transmission electron microscopy. *Exp. Cell Res.*, 82:319-324.
- Chen, L.T., Handler, E.E., Handler, E.S., et al., 1972. An electron microscopic study of the bone marrow of the rat in experimental myelogenous leukemia. *Blood*, 39:99-112.

- Chiu, T., 1984. Megakaryocytes with intracytoplasmic blood cells. *Am. J. Vet. Res.*, 45(4):769-770.
- Chyczewski, L., Debek, W., Dzieciol, J., et al., 1994. Influence of brain hypoxia on megakaryocytic emperipoiesis in rats. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 32(3):187-190.
- Cooney, D.P. and Smith, B.A., 1965. Maturation time of rabbit megakaryocytes. *Br. J. Haematol.*, 11:484.
- Copenhaver, W.M., Bunge, R.P. and Bunge, M.B., 1971. *Bailey's textbook of histology*. Sixteenth ed. The Williams and Wiikins Company, Baltimore.
- D'Agostini, F., Izzotti, A. and De Flora, S., 1993. Induction of micronuclei in cultured human lymphocytes exposed to quartz halogen lamps and its prevention by glass covers. *Mutagenesis*, 8(1):87-90.
- De Bruyn, P.P.H., Breen, P.C. and Thomas, T.B., 1970. The microcirculation of the bone marrow. *Anat. Rec.*, 168:55-68.
- De Flora, S., Camoirano, A., Izzotti, A., et al., 1990. Potent genotoxicity of halogen lamps, compared to fluorescent light and sunlight. *Carcinogenesis*, 11(12):2171-2177.
- De Flora, S. and D'Agostini, F., 1992. Halogen lamp carcinogenicity. *Nature*, 356:569.
- De Pasquale, A., Paterlini, P., Quaglino, D., et al., 1985. Emperipoiesis of granulocytes within megakaryocytes. *Br. J. Haematol.*, 60:384-386.
- Djaldetti, M. and Strauss, Z., 1982. Emperipoiesis by megakaryocytes in patients with non-Hodgkin's lymphoma and megaloblastic anemia. *J. Submicrosc. Cytol.*, 14:407-413.
- Dzieciol, J., Debek, W., Chyczewski, L., et al., 1994. Phenomenon of emperipoiesis of bone marrow megakaryocytes in experimental hemorrhage shock in rats. *Acta Haematol. Pol.*, 25(2):165-169.
- Dzieciol, J., Debek, W., Chyczewski, L., et al., 1995. Megakaryocytes in the acute stage of experimental hemorrhagic shock. Part II. Megakaryocytic regulation of cell release from the bone marrow. *Rocz. Akad. Med. Białymstoku*, 40(1):94-98.
- Ebbe, S. and Stohlman, F., 1965. Megakaryocytopoiesis in the rat. *Blood*, 26:20-35.
- Ebbe, S., 1976. Biology of megkaryocytes. *Prog. Hemostasis Thromb.*, 3:211-229.

- Ebbe, S., 1979. Experimental and clinical megakaryocytopoiesis. *Clin. Hematol.*, 8:371-394.
- El-Naggar, A.M., Hanna, I.R.A., Chanana, A.D., et al., 1980. Bone marrow changes after localized acute fractionated X-irradiation. *Radiat. Res.*, 84:46-52.
- Epstein, W.L., Fukuyama, K. and Epstein, J.H., 1971. Ultraviolet light, DNA repair and skin carcinogenesis in man. *Fed. Proc.*, 30(6):1766-1771.
- Fawcett, D.W., 1986. *A textbook of histology*. Eleventh ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Tokyo.
- Feinendegen, L.E., Odartchenko, N., Cottier, N. et al., 1962. Kinetics of megakaryocyte proliferation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 111:177-182.
- Fisher, M.S. and Kripke, M.L., 1977. Systemic alteration induced in mice by ultraviolet irradiation and its relationship to ultraviolet carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 74:1688-1692.
- Ford, C.E. and Hamerton, J.L., 1956. A "Colchicine-Hypotonic-Citrate" Squash Sequence for Mammalian Chromosomes. *Stain. Technol.*, 31:247-251.
- Gewirtz, A.M., 1986. Human megakaryocytopoiesis. *Seminars in Hematology*, 23(1):27-42.
- Güven, T. ve Yardımcı, M., 1989. Normal ve UV ile ışınlanmış *Spalax leucodon*'da megakaryositlerin ışık mikroskopuyla incelenmesi ve bunların lökosit sayısı ile ilişkisi. *Karadeniz Tıp Derg.*, 2(24):252-258.
- Güven, T., Yel, M. ve Durmuş, O., 1990. Körfare (*Spalax leucodon*) epidermisinde yara iyileşmesi süresince ultraviyole etkisinin elektron mikroskopla incelenmesi. *Doğa-Tr. J. of Biology.*, 14:180-202.
- Halil, O. and Barret, A.J., 1980. Phagocytosis by megakaryocytes in malignant disorders. *Br. J. Haematol.*, 46:161.
- Han, S.S. and Baker, B.L., 1964. The ultrastructure of megakaryocytes and blood platelets in the rat spleen. *Anat. Rec.*, 149:251-268.
- Heit, H., Fliender, T.M, Fache, I., et al., 1970. A comparison of radiation-induced bone marrow degeneration in germfree and conventional mice. *Radiat. Res.*, 41:163-182.
- Humble, J.G., Jayne, W.H.M. and Pulvertaft, R.J.V., 1956. Biological interaction between lymphocytes and other cells. *Br. J. Haematol.*, 2:283-294.
- Ioachim, H.L., 1965. Emperipoiesis of lymphoid cells in mixed cultures. *Lab. Invest.*, 14:1784-1808.

- Jackson, C.W., 1973. Cholinesterase as a possible marker for early cells of the megakaryocytic series. *Blood*, 42:413-421.
- Johnston, K.J., Oikarinen, A.I., Lowe, N.J., et al., 1984. Ultraviolet radiation-induced connective tissue changes in the skin of hairless mice. *J. Invest. Dermatol.*, 82:587-590.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. and Lung, J.A., 1986. *Basic histology*. Fifth ed. Lange Medical Publication, Los Atlos, California.
- Kaufman, R.M., Airo, R., Pollack, S., et al., 1965. Circulating megakaryocytes and platelet release in the lung. *Blood*, 26:720-731.
- Kinet-Denoel, C. and Breton-Gorius, J., 1973. Teneurs en ADN, Ultrastructure et activite peroxidasiqque des megakaryocytes medullaires dens un cas d'anemie refractaire. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, 13(5):661-680.
- Kripke, M.L., 1984. Immunological unresponsiveness induced by ultraviolet radiation. *Immunological Reviews*, 80:87-102.
- Lam, T.K., Prematilleke, M.N., Li, C.K., et al., 1991. Megakaryocytic phagocytosis in a chromosomally normal neonate with transient myeloproliferative disorder. *Acta Haematol.*, 86:49-50.
- Larsen, T.E., 1970. Emperipolesis of granular leukocytes within megakaryocytes in the human hemopoietic bone marrow. *Am. J. Clin. Pathol.*, 53:485-490.
- Lebedeva, L.I. and Akhmamet'eva, E.M., 1997. Comparative dynamics of release from potential chromosome damage observed in mouse bone marrow cells under exposure to low and moderate radiation doses (Abstract). *Genetika Moskva*, 33(10):1362-1366.
- Lederman, M.M., Schacter, B., Levine, M.J., et al., 1986. Inhibition of human lymphocyte proliferation by ultraviolet radiation: Effects of ultraviolet B (290 to 320 nm) on T-lymphocytes, monocyte accessory function, and induction of supressor mechanisms. *J. Lab. Clin. Med.*, 107(1):66-72.
- Lee, K.P., 1989. Emperipolesis of Hematopietic Cells within Megakaryocytes in Bone Marrow of the Rat. *Vet. Pathol.*, 26:473-478.
- Lefkowitz, M. and Lefkowitz, E., 1977. Naked megakaryocyte nucleoli: A clue to malignancy. *Cancer*, 40:1497.
- Leong, G.F., Wisecup, W.G. and Grisham, J.W., 1964. Effects of divided doses of X-ray on mortality and haematology of small and large domestic animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 114:139-145.

- Leven, R.M. and Tablin, F., 1988. Megakaryocyte and Platelet Ultrastructure in the Wistar Furth Rat. *Am. J. Pathol.*, 132(3):417-426.
- Levine, R.F. and Fedorko, M.E., 1976. Isolation of intact megakaryocytes from guinea pig femoral marrow. *The Journal of Cell Biology*, 69:159-172.
- Levine, R.F., 1980. Isolation and characterization of normal human megakaryocytes. *Br. J. Haematol.*, 45:487-497.
- Levine, R.F., Hazzard, K.C. and Lamberg, J.D., 1982. The significance of megakaryocyte size. *Blood*, 60(5):1122-1131.
- Long, M.W., 1998. Megakaryocyte differentiation events. *Seminars in Hematology*, 35(3):192-199.
- MacPherson, G.G., 1972. Origin and development of the demarcation system in megakaryocytes of rat bone marrow. *J. Ultrastructure Res.*, 40:167-177.
- MacPherson, G.G., 1981. Development of megakaryocytes in bone marrow of the rat: An analysis by electron microscopy and high resolution autoradiography. *Proc. Roy. B. Biol. Sci.*, 177:265-274.
- Mangi, M.H. and Mufti, G.J., 1992. Primary myelodysplastic syndromes: diagnostic and prognostic significance of immunohistochemical assessment of bone marrow biopsies. *Blood*, 79(1):198-205.
- Matsui, M.S. and De Leo, V.A., 1991. Longwave ultraviolet radiation and promotion of skin cancer. *Cancer Cells*, 3(1):8-12.
- Mazur, E.M., 1987. Megakaryocytopoiesis and platelet production: a review. *Exp. Hematol.*, 15:340-350.
- McGrath, H., Wilson, W.A. and Scopelitis, E., 1986. Acute effects of low-fluence ultraviolet light on human T-lymphocyte subsets. *Photochem. Photobiol.*, 43(6):627-631.
- Migita, M., Fukunaga, Y., Watanabe, A., et al., 1992. Emperipoiesis of neutrophils by megakaryocytes and thrombocytopenia observed in a case of Kostmann's Syndrome during intravenous administration of high-dose rhG-CSF. *Br. J. Haematol.*, 80:413-415.
- Morison, W.L., Parrish, J.A., Bloch, K.J., et al., 1979. *In vivo* effect of UV-B on lymphocyte function. *Br. J. Dermatol.*, 101:513-519.
- Morison, W.L., 1989. Effects of ultraviolet radiation on the immune system in humans. *Photochem. Photobiol.*, 50(4):515-524.



- Nagy, Z.Z., Seitz, B., Maldonado, M.J., 1995-96. Changes of the corneal endothelium after ultraviolet-B exposure in previously photokeratectomized eyes. *Acta Chir. Hung.*, 35(3-4):325-332.
- Nix, T.E., Nordquist, R.E., Scott, J.R. and Evertt, M.A., 1964. Ultrastructural changes in stratum corneum induced by ultraviolet light. *J. Invest. Dermatol.*, 43:301-327.
- Nix, T.E., Nordquist, R.E., Scott, J.R. and Evertt, M.A., 1965. Ultrastructural changes induced by ultraviolet light in human epidermis: Basal and spinous layers. *J. Invest. Dermatol.*, 45:52-64.
- Novak, E.K., Reddington, M., Zhen, L., et al., 1995. Inherited thrombocytopenia caused by reduced platelet production in mice with the gunmetal pigment gene mutation. *Blood*, 85(7):1781-1789.
- Odell, T.T., Jackson, C.W. and Gosslee, D.G., 1965. Maturation of rat megakaryocytes studied by microspectrophotometric measurement of DNA. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 119:1194-1199.
- Odell, T.T. and Jackson, C.W., 1968. Polyploidy and maturation of rat megakaryocytes. *Blood*, 32(1):102-110.
- Odell, T.T., Jackson, C.W. and Friday, T.J., 1970. Megakaryocytopoiesis in rats with special reference to polyploidy. *Blood*, 35:775-782.
- Pamphilon, D.H., Alnaqdy, A.A. and Wallington, T.B., 1991. Immunomodulation by ultraviolet light: clinical studies and biological effects (Review). *Immunology Today*, 12(4):119-123.
- Parmley, R.T., Kim, T.H., Austin, R.L., et al., 1982. Emperipolesis of neutrophils by dysmorphic megakaryocytes. *Am. J. Hematol.*, 13:303-311.
- Paulus, J.M. and Mel, H.C., 1967. Viability studies on megakaryocytes in mechanically and enzymatically suspended rat bone marrow. *Exp. Cell. Res.*, 48:27-38.
- Paulus, J.M., 1970. DNA metabolism and development of organelles in guinea-pig megakaryocytes: A combined ultrastructural, autoradiographic and cytophotometric study. *Blood*, 35:298-311.
- Penington, D.G., 1979. The cellular biology of megakaryocytes. *Blood Cells*, 5:5.
- Poon, M-C., Parmley, R.T., Chang-Poon, V.Y-H., et al., 1981. Nonimmune interaction of leukocytes with platelets and megakaryocytes. *Am. J. Hematol.*, 10:341-358.

- Pretell, J.O., Wimberly, J., McAuliffe, D.J., et al., 1984. Comparison of effects of UVA,UVB and UVC on growth and viability of mitogen-stimulated human peripheral blood cells. *Photochem. Photobiol.*, 39(3):369-374.
- Pyczek, M., Sopala, M. and Dabrowski, Z., 1994. Effect of low-energy laser power on the bone marrow of the rat. *Folia biologica (krakow)*, 42(3-4):151-156.
- Radley, J.M. and Haller, C.J., 1983. Fate senescent megakaryocytes in the bone marrow. *Br. J. Haematol.*, 53:277-287.
- Rozman, C. and Vives-Corrans, J.L., 1981. On the alleged diagnostic significance of megakaryocytic 'phagocytosis' (emperipolesis). *Br. J. Haematol.*, 48:510.
- Sabourin, C.L., Kusewitt, D.F., Fry, R.J., et al., 1993. Ultraviolet radiation-induced corneal tumours in the South American opossum, *Monodelphis domestica*. *J. Comp. Pathol.*, 108(4):343-359.
- Sahebekhtiari, H.A. and Tavassoli, M., 1976. Marrow cell uptake by megakaryocytes in routine bone marrow smears during blood loss. *Scand. J. Haematol.*, 16:13-17.
- Samii, K. and Pasteur, E., 1998. Images in Hematology. Emperipolesis. *Am. J. Hematol.*, 59:64.
- Schick, B.P. and Schick, P.K., 1986. Megakaryocyte Biochemistry. *Seminars in Hematology*. 23(1):68-87.

- Stolarski, R.S., 1988. The antarctic ozone hole. *Sci. Amer.*, 258(1):20-26.
- Strickland, P.T., 1986. Photocarcinogenesis by near-ultraviolet (UVA) radiation in senear mice. *J. Invest. Dermatol.*, 87(2):272-275.
- Tanaka, M., Aze, Y. and Fujita, T., 1994. Megakaryocytic emperipoiesis in the rat bone marrow induced by lipopolysaccharide. *J. Vet. Med. Sci.*, 56(6):1173-1175.
- Tavassoli, M., 1980. Megakaryocyte-platelet axis and the process of platelet formation and release. *Blood*, 55(4):537-545.
- Tavassoli, M., 1981. Emperipoiesis by megakaryocytes in blood loss. *Br. J. Haematol.*, 49:660-661.
- Tavassoli, M., 1986. Modulation of megakaryocyte emperipoiesis by phlebotomy: Megakaryocytes as a component of marrow-blood barrier. *Blood Cells*, 12:205-216.
- Tavassoli, M. and Aoki M., 1981. Migration of entire megakaryocytes through the marrow-blood barrier. *Br. J. Haematol.*, 48:25-29.
- Tavassoli, M. and Aoki M., 1989. Localization of megakaryocytes in the bone marrow. *Blood Cells*, 15:3-14.
- Thiagarajan, D., Pacheco, J. and Hillman, N., 1985. Marrow Cell Uptake by Megakaryocytes and Naked Megakaryocyte Nuclei in Routine Bone Marrow Examination. *Southern Medical Journal*, 78(9):1127-1128.
- Thiele, J., Krech, R., Choritz, H., et al., 1984. Emperipoiesis-a peculiar feature of megakaryocytes as evaluated in chronic myeloproliferative diseases by morphometry and ultrastructure. *Virchows Arch. B (Cell Pathol.)*, 46:253-263.
- Thiele, J., Steinberg, T., Hoepfner, B., et al., 1990. Histo. and immunomorphometri of megakaryopoiesis in chronic myeloid leukemia with myelofibrosis and so-called primary (idiopathic) osteo-myelofibrosis-sclerosis. *Anal. Cell Pathol.*, 2(4):215-227.
- Thiele, J., Kuemmel, T., Sander, C., et al, 1991. Ultrastructure of bone marrow tissue in so-called primary (idiopathic) myelofibrosis-osteomyelosclerosis (agnogenic myeloid metaplasia). I. Abnormalities of megakaryopoiesis and thrombocytes. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 23(1):93-107.
- Urbach, F., 1989. The biological effects of increased ultraviolet radiation: An update. *Photochem. Photobiol.*, 50(4):439-441.

- Vainchenker, W., Guichard, J. and Breton-Gorius, J., 1979. Growth of human megakaryocyte colonies in culture from fetal, neonatal and adult peripheral blood cells. Ultrastructural analysis. *Blood Cells*, 5:25-39.
- Vlasov, P.A. and Kvacheva, I.E., 1998. Apoptosis of cells the bone marrow hematopoietic tissue during acute radiation damage in humans and experimental animals (Abstract). *Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol.*, 2:220-204.
- Wegener, A.R., 1994-95. In vivo studies on the effect of UV-radiation on the eye lens in animals. *Doc. Ophthalmol.*, 88(3-4):221-232.
- Weiss, L. and Chen, L.T., 1975. The organization of hematopoietic cords and vascular sinuses in bone marrow. *Blood Cells*, 1:167.
- Weiss, L., 1976. The hematopoietic microenvironment of the bone marrow: An ultrastructural study of the stroma in rats. *Anat. Rec.*, 186:161-184.
- Williams, N. and Levine, R.F., 1982. The origin, development and regulation of megakaryocytes. *Br. J. Haematol.*, 52:173-180.
- Yamazaki, K. and Allen, T.D., 1991. Ultrastructural and morphometric alterations in bone marrow stromal tissue after 7 Gy irradiation. *Blood Cells*, 17:527-549.
- Zajicek, J., 1954. Studies on the histogenesis of blood platelets. I. Histochemical investigations of the acetylcholinesterase activity of megakaryocytes and platelets in different animal species. *Acta Haematologica*, 12:238-244.
- Zucker-Franklin, D., 1981. Megakaryocytes and platelets, in Zucker-Franklin, D., Greaves, M.E., Marmont, M. (eds.), *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*, pp 557. Lea and Febiger, Philadelphia.