

NUKLEOLUS

Doç. Dr. NEBAHAT YAKAR - OLGUN
İst. Univ. Farmakobotanik ve Genetik Enstitüsü

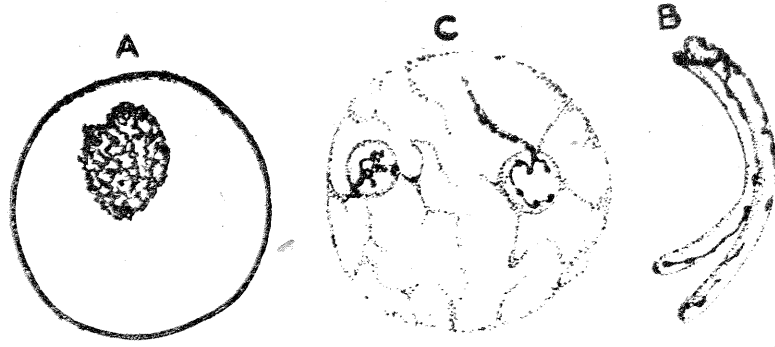
Nukleolus keşfedildiği tarihten beri bir çok araştırmalara konu teşkil etmişse de gerek yapısı ve kimyası, gerek vazifesi bakımından halâ problem halini muhafaza edegelmektedir.

MONTGOMERY (1898) ye göre ilk olarak nukleolus 1781 tarihinde FONTANA tarafından keşfedilmiş ve yalnız nukleer bir yapı olarak vasıflandırılmıştır. Son zamanlara kadar da nukleolus interfazda nukleus içerisinde bulunan homogen yapıda, parlak, küre veya küremsi şekilde bir organel olarak tarif edilmiştir. Bununla beraber yakın zamanlarda modern sitolojinin metodlarıyla yapılan gerek nukleolusun kimyası, gerek morfolojisi üzerindeki araştırmalar nukleolus hakkındaki bilgimizin hududunu genişletmekten uzak kalmamıştır. Ben burada şimdiye kadar nukleolus üzerinde yapılan çalışmalardan, ancak imkânlarımız dahilinde çıkarabildiğim neticelerin bir özetini vermiş olacağım.

Nukleolusun mitos bölünmesindeki rolü.— Son zamanlara kadar nukleolusun mitos bölünmesinde oynadığı rol bir problem olarak kalmış, ancak yakın zamanlardaki biokimya, spektrografi ve elektron mikroskopisi metodlarıyla birlikte bazı özel metodların tatbikiyle bu problem çözülmeye başlamıştır. .

Bilindiği gibi nukleoluslar mitos bölünmesinde kromozomların belirmesiyle gözden kaybolmakta, buna mukabil telofazda kromozomlar gözden kaybolurken tekrar belirmektedir. Telofazda kromozomlar arasında nukleolus tabiatında küçük cisimler belirir. Bu cisimler bazı özel kromozomlarla ilgi gösterirler. Bu kromozomlara nukleoler kromozom veya nukleolus-yapıcı-kromozom ismi verilmektedir. Bir nukleusde hiç olmazsa en aşağı bir çift kromozom nukleoler kromozomdur. Nukleolus teşekkülü ile kromozomlar arasındaki münasebet epey zaman-

dan beri münakaşa edilmekte ve bu hususta iki görüş ortaya sürülmektedir. Bunlardan birine nazaran kromozomun her hangi bir bölgesi nukleolus meydana getirebildiği halde, diğerine nazaran kromozom üzerinde nukleolusu meydana getirecek olan nukleoler bölge (veya nukleolus - yapıcı - bölge) bellidir. Bu bölge ya bir kısım bilginlere göre bitkilerde kromozomların zayıf boyama kabiliyeti gösteren Sekonder boğumlarına isabet etmekte, diğerlerine göre ise bilhassa bazı hayvansal hücrelerde kromozomların heterokromatik bölgeleleriyle ilgili göstermektedir. CASPERRSON ve arkadaşları (1947-1950) umumiyetle hayvansal hücrelerde nukleoluse bitişik olarak bulunan ve bitkisel hücrelerdeki nukleolus yapıcı bölgeye homolog olarak kabul ettikleri heterokromatine nukleoluse - arkadaş - kromatin isminin verilmesini teklif etmişler ve bu arkadaş

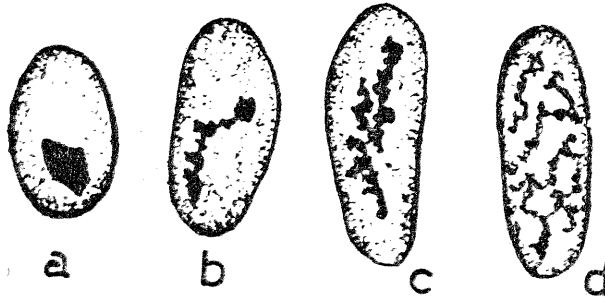


Sekil 1: A. *Heteropachyoidellus* ovositinde nukleonemanın vital halde görünüşü; *Allium cepa*'da nukleonemanın profaz kromozomu üzerinde B, ve telofazda yeniden toplanarak nukleusu meydana getirmesi C. ESTABLE ve SOTELO (1951) dan değiştirilerek.

kromatinin nukleoler materyelin sentez edildiği bölge olduğunu kabul etmişlerdir. Bir çok memeli hayvanların hücrelerinde bu nukleoluse - arkadaş - kromatin nukleolusu çerçeveleyen bir kabuk manzarasını göstermektedir. Bu hal nukleolusun iç yapısının bazik boyalara karşı ilgisinin incelenmesinde veya UV absorpsiyonunun ölçülmesinde bir güçlük ortaya çıkarmaktadır.

Son zamanlarda ESTABLE ve SOTELO (1951) özel bir boyama tekniğinden istifade ederek nukleolusun birbirinden farklı yapıda iki kısımdan ibaret olduğunu göstermişlerdir. Bunlardan biri

amorf olan matriks, diğeri bunun içersinde yumak gibi kıvrılmış nukleonema ismini verdikleri ipliksi bir yapıdır (Şek. 1). Daha sonra gerek bu bilginler, gerekse LETTRÉ (1955) tarafından karanlık saha veya faz-konrast mikroskopunun yardımıyla vital haldeyken bile nukleonemanın müşahedesi mümkün olmuştur. LETTRÉ piliç mesenkima fibroblastlarında kifayetsiz beslenme neticesinde nukleolusun yoğun, kitlesel bir halden çözülerek ipliksi bir hale geldiğini göstermiştir (Şek. 2). Nukleolusun ipliksi yapısı elektron mikroskopu vasıtasıyla de kontrol edilmiş (BORYSKO ve BANG, 1951; BERNHARD, HAGUENAN ve OBERLING, 1952) ve diğeri müşahedeleri destekleyici mahiyette olarak takriben 0,1 μ kalınlığında bir ipliğin yumak halinde toplanarak nukleolusu meydana getirdiği gösterilmiştir. Elektron mikroskopu ile yapılan mü-



Şekil 2: Piliç mesenkima fibroblastlarında nukleolusun açık sonucunda kitlesel halden ipliksi hale geçişi a-d, LETTRÉ (1955) den değiştirilerek.

şahedelerden nukleolusun etrafında, nukleolusu nukleolus-öz-suyu n dan ayıran bir zarın mevcut olmadığı da tesbit edilmiştir.

ESTABLE ve SOTELO nukleolus içersindeki, interfazda yumak halinde toplanmış olan bu ipliğin profazda çözülmeye başlayarak kromozomlar üzerine bağlandığını, prometafaz, metafaz ve anafazda kromozomlar boyunca uzandığını, telefazda tekrar toplanarak nukleolusu meydana getirdiğini kabul ederler (Şek. 1). Bu nazariyeye göre nukleonema kromozomlar gibi devamlı bir yapı olduğu halde nukleolusun amorf kısmı mitosda kaybolmakta, interfaz nukleolusunda tekrar belirlemektedir. SERRA ve arkadaşları (1952) da nukleolus maddesini devamlı bir yapı olarak kabul ederler. Bu bilgilere göre telofazda kromozomlar üzerinde tekdüzen bir tabaka veya damlacıklar halinde toplanan pronukleoler madde nukleolus-yapıcı-

bölgede toplanarak nukleolusu meydana getirmektedir. CASPERS-SON'un kabul ettiği gibi bu nukleolus-yapıcı-bölgeler nukleoler maddenin sentez edildiği yer olmayıp ancak esasen mevcut olan nukleoler maddenin toplanmış olduğu bölgelerdir.

Nukleolusun interfazdaki morfolojisi.— Nukleolus morfoloji bakımından hücrenin muhtelif fazlarında fark gösterdiği gibi farklı dokularda da fark göstermektedir. Bilhassa bu fark yumurta hücrelerinde pek barizdir. Bir kere nukleolus somatik hücrelere nazaran çok büyüktür. Bundan başka bazı oositlerde her tip boyaya karşı alâkasız kalan vakuollere de tesadüf edilmektedir. McCLINTOCK (1934) mısırdaki, CHAYEN (1952) bakla kökünde, LEWIS (1943) doku kültürlerinde böyle vakuoller müşahade etmişlerdir. LEWIS böyle vakuollerin bazı hastalıklarda veya tümör teşekküllerinde çoğaldığını işaret etmiştir. Nukleolus dahilinde bazen boyaları kuvvetle mas eden enklusyonlara rastlanır. Bu yapılara *nukleolinus* denilmektedir. Bu nukleolinus denilen yapıların metafazda nukleolus kaybolduktan sonra bile sitoplazma içersinde bir bakiye olarak kaldıkları görülür. Bu nukleolusdeki vakuol veya nukleolinus'lerin vazifesi hakkında henüz bir şey bilinmemektedir.

Nukleolus dahilinde hem bitkisel hücrelerde, hem memelilerde bazı anormal şartlar dahilinde, protein kristalloidlerine tesadüf edildiği gösterilmişse de (GATES, 1942; HUGHES, 1952) bunların mahiyeti hakkında henüz bir şey söylenmemektedir.

Nukleolusun interfazdaki fiziksel tabiatı hakkında da bir birinden farklı fikirler ortaya sürülmüştür. Nukleolusun sıvı tabiatında olduğuna delil olarak tükrük kromozomlarından ezme preparat yapıldığı zaman umumiyetle şeklini kaybetmiş olması gösterilmektedir. DURYEE (1950) ise nukleolusun şeklini kaybetmesini fiksasyon maddesinin tesirine atfediyor, ve mikromanupulasyon metodu ile nukleolusun çok sert olduğunu gösteriyor. Fakat DURYEE'nin bu itirazına karşı, nukleolusun vital halde amip hareketlerine benzer hareketler yaptığı veya birbirleriyle birleşerek kaynaştıkları müşahade edildiğinden nukleolusun sıvı veya yarı sıvı halinde olduğunu kabul etmek daha akla yakın gelmektedir.

Nukleolusun yoğunluğu oldukça fazladır. Ultracentrifugasyon sonucunda nukleusdaki maddeler nukleolus, kromatin ve karyolenf olarak sıralanır. Mamafih STICH (1950) nukleolusun yoğunluğunun *Cyclops* oositlerinde gelişme esnasında değişmekte olduğunu,

yeni döllenen yumurtaların nukleolusları sentrifugasyon ile yer değiştirmedikleri halde, muayyen bir gelişme devresinden sonra yer değiştirdiklerini göstermiştir.

Aktif sentez kabiliyeti gösteren hücrelerde nukleolus hacmen daha büyüktür. Buna misâl olarak embriyonik hücreler, tümör ve salgı hücreleri gösterilebilir. Bu tip hücreler protein sentezindeki süratle karakterize edilirler. Buna mukabil yetkin halde bulunan, aktif sentetik kabiliyetlerini kaybetmiş hücrelerde nukleolus indirgenmiştir. Organizmaları aç bırakma veya protein ihtiva etmeyen besin maddeleriyle besleme de nukleolusların asgarî bir şekilde reduksiyona uğramasına sebep olur. Bu hal reversibldir. Normal beslenme ile nukleoluslar normal hacimlerini alırlar. Proteini fazla miktarda depo eden oositlerde nukleoluslar çok büyük ve sayıca da fazladır.

STICH *Acetabularia* da nukleolus maddesinin karanlıkta azaldığını, aydınlığa maruz bırakıldığında tekrar arttığını görmüştür. Bu müşahede beslenme ile nukleolus büyüklüğü arasındaki pozitif münasebetin mevcudiyetini destekler.

Nukleolusların hacmi ile sitoplasmadaki kromidial maddelerin büyüklüğü arasında da bir münasebetin bulunduğu gösterilmiştir. Kromidial maddelere ait tipik misâli sinir hücrelerindeki NISSL granülleri teşkil eder. Sitoplasmadaki bazik boyalarla kuvvetle boyanan kromidial maddelerin, bazılarına göre nukleolusden meydana geldiği kabul olunmaktadır. Açlığa maruz bırakılan hücrelerde yalnız nukleoluslar küçülmekle kalmamakta, aynı zamanda ribonuklein asidi (RNA) ihtiva ettikleri malûm olan gerek kromidial maddelerin, gerekse mikrosomların miktarında azalma da vukua gelmektedir.

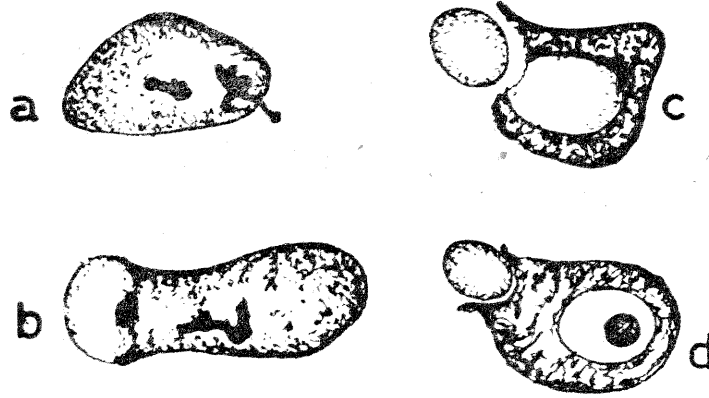
Bir çok muharrirler nukleolusun veya nukleoler maddenin nukleusden sitoplasmaya çıktığını müşahede etmişlerdir. Her ne kadar böyle müşahedeler fikse edilmiş materyelde yapılmışsa da DURYEE (1950) kurbağa oositlerinde nukleolusun vital haydeyken nukleusden sitoplasmaya geçişini göstermiştir. LETTRÉ bazı kimyasal maddelerin tesiriyle piliç mesenkima fibroblast kültürlerinde nukleoler maddenin oldukça büyük, yekpare kütleler halinde nukleusu terk ettiğini, ve bu olaya bazen nukleus çeperinin parçalanmasının da iştirak ettiğini müşahede etmiştir (Şek. 3 a, b).

Tütün dumanı katranının tesirinden sonra fikse edilmiş bakla kökü hücrelerinde nukleolusun nukleusden nukleus zarının parçalanmasıyla dışarı atılması tarafımdan da görülmüştür (1959). Si-

toplama içersine atılmış bu nukleoluslar aşağı yukarı küresel şekillerini muhafaza etmekteydiler (Şek. 3c, d).

JOHANSEN ve FILINT (1959) de *Lilium* megasporositinin büyümesi esnasında nukleolus maddesinin sitoplazma içersine atıldığına şahit olmuşlardır.

Nukleolusun kimyası.— Nukleolusun kimyasal morfolojisini aydınlatmada kullanılan başlıca metod histo-kimyasal metoddur. Histo-kimyasal analizin neticeleri izole edilmiş nukleolusun kimyasal analizine uyduğu zaman ancak tatmin edici olarak kabul edilebilir. Nukleolusun bu şekildeki analizi 1950'denberi yapılmaya başlanmıştır.



Şekil: 3. Nukleolusun nukleusdan atılması. a, b, bazı kimyasal maddelerin tesiriyle piliç mesenkima fibroblastlarında; c, d, tütün dumanı katranının tesirinden sonra bakla kökü hücrelerinde. a, b, LETTRÉ (1955) den; c, d, YAKAR-OLGUN (1959) dan değiştirilerek.

İlk nukleolusun kimyası üzerinde bilgi MONTGOMERY tarafından verilmiş (1898) nukleolus ile kromatinin farklı boyama yeteneklerine nazaran nukleolus maddesinin kromatin maddesinden başka bir madde olduğu üzerinde durulmuştur.

Nukleolusun bazofilik özelliği sitoloji ile uğraşanların ilk zamanlardan beri ilgisini çekmiştir. Nukleolus kromatin gibi bazik boyalara karşı kuvvetle hassas olmasına mukabil, bazı bazik boyalar karışım halinde kullanıldığı zaman seçerek boyama yeteneği göstermektedir. Metil yeşili-pironin karışımında kromatin metil yeşili

ile boyandığı halde nukleolus, sitoplazma gibi, metil yeşili ile boyanmaz, pironin'in kırmızı rengini alır.

1940'da CASPERSSON ve SCHULTZ nukleolusun ultraviyole alanında 2600 A° da emme meydana getirdiğini ve bunun nukleoin asidi emme spektrumuna tekabül ettiğini müşahede etmişlerdir. FEULGEN ayırıcının deoksiribonklein asidi (DNA) için spesifik olduğu ortaya konunca (SHİNKE ve SHIGENAGA 1933; BAUER 1933) nukleolusun negatif FEULGEN reaksiyonu vermesi nukleolusdeki nukleoin asidinin sitoplasmik bir bileşim olan RNA olduğuna bir delil teşkil etmiştir. BRACHET(1940) ribonukleas fermentinin tesiri altında, sitoplasmada olduğu gibi nukleolusun da bazofillik kabiliyetini kaybettiğini müşahede etmiş ve bu, nukleusde nukleoin asidi olarak RNA'nin yer almış olduğu fikrini kuvvetlendirmiştir .

Nukleolusdeki gerek ultraviyole absorpsiyonu, gerek kimyasal analiz ile hesaplanan RNA miktarı umumiyetle % 5'i geçmemektedir. Her ne kadar nukleoluse RNA'nin depo edildiği bölge olarak bakılmaktaysa da, hücrenin diğer organelleriyle kıyaslandıkta, RNA bakımından fakir olduğu göze çarpar. Bu miktar izole edilmiş nukleuslerin tamamı için % 40 (SWIFT, 1953), izole edilmiş mitokondrium ve mikrosom'lar için % 9-16 (BARNUM ve HUSEBY 1948) dir.

Her ne kadar nukleolusun nukleoin asidi olarak RNA ihtiva ettiği kabul edilmişse de, BRACHET (1950) sürüngen oositlerinde FEULGEN positif olan granüller görmüştür. PANIJEL (1951) de *Ascaris* oositleri nukleolusunda de böyle taneciklere rastlamıştır. Bir çok araştırmacılar bu tanecikleri nukleoluste RNA'nin DNA haline değişmesine bir delil olarak kabul etmişlerdir. Maamafih halâ nukleolusde FEULGEN positif cisimlerin mevcudiyetine kesin olarak inanılmış değildir. Positif FEULGEN reaksiyonu veren cisimlerin nukleoler bölgede toplanmış DNA'i olduğu üzerinde durulmaktadır.

Nukleolusun mühim bir kısmını da protein teşkil etmektedir. Muhtelif bilginler nukleolusun ihtiva ettiği protein miktarının % 40-90, hattâ daha fazla olduğu üzerinde hemfikirdirler. Nukleolusun spektrumunda 2800 A° a isabet eden emme göstermesi, ihtiva ettiği proteine tekabül etmektedir. Nukleolusdeki proteinin asit tabiatında olduğu hususunda bir çok bilginler hem fikirlerse de bazıları nukleolusun kromatinde bulunan bazik proteini de ihtiva ettiğini göstermişlerdir. Fakat bu husus kesinleşmiş değildir.

GATES (1942), SERRA (1948) ve diğ er bazıları nukleolusde lipidlerin bulunduğ u hakkında bilgi vermiş lerdir. SERRA ve arkadaşları nukleolusde lipoidal maddenin teş hisi hususunda pek ender malûmatın bulunuş unu lipoidlerin fosfolipid halinde maskelenmiş olduklarına atfetmektedir. Mamafih ş imdiye kadar izole edilmiş nukleolusde müh im miktarda lipid mevcudiyeti gösterilememiş tir.

Nukleolusde enzim olarak ş imdiye kadar yalnız nukleotid fosforilas'ın mevcudiyeti gösterilmiştir. RNas ve diğ er enzimlerin aktivitesinin izole edilmiş nukleoluslerde gösterilememiş olması normal haldeki hücrede mevcut olmadığı na bir delil teş kil etmemektedir. Bu hususta neticenin alınması için daha bir çok araştırmalara ihtiyaç olduğu gösterilmektedir.

Nukleolusde mineral olarak fosfat bileş iç i tâyin edilmiştir. Fosfatın mevcudiyeti nüklein asidinin bir komponenti olduğ undan, protein ve fosfolipidlerin terkebine girdiğ indenir. Fosfat bileş iç inden gayri sulfur ve sulfat bileş ikl erine de tesadüf edilmiş se de ş imdiye kadar K ve Fe'in mevcudiyeti gösterilememiş tir.

Nukleolusun kalıtımdaki rolü. — SCHULTZ ve arkadaşları (1940) nukleolus-yapıcı-kromozomların heterokromatik bölgesine tekabül eden nukleoluse -arkadaş-kromatinin nukleolusun kimyasal yapısını kontrol eden genleri ihtiva eden bölge olarak kabul ederler. ESTABLE ve SOTELO'nun fikrine göre ise devamlı bir yapı olan nukleonema hücrenin genetik yapısına dahil olup, nukleolusun yapısının teş ekkülünde rol oynamaktadır. Nukleonema hücre generasyonunda nukleolusun devamlı kalması sağ lıyan kalıtsal bir yapı, nukleolusun omorf maddesi ise hücrenin metabolik faaliyetinin mahsulüdür.

Nukleolusun vazifesi.— Nukleolus ile kromozomlar arasında bir münasebetin bulunduğu kromozomlar belirlediğ i zaman nukleolusun kaybolması, telofazda ise bunun aksinin meydana gelmesi ilk zamanlarda kromozomları meydana getiren maddenin nukleolus maddesi olduğ unu düş ündürmüştür. Fakat kromozomlarda nukleolusde bulunmıyan DNA'nın bulunuş u, nukleolusların sitoplasmaya atılması sonucunda nukleusde yeniden nukleolusların meydana gelmesi bu düş üncenin ehemmiyetini azaltmıştır. Nukleolus maddesinin nukleus içersinde hazırlanmış olması kromozom maddesinin de nukleus içersinde hazırlanmış olması ihtimalini belirtmektedir.

Hücre aktivitesinin değişik fazlarında nukleolusun incelenmesi nukleolusun vazifesi hakkında ortaya atılan modern hipotezlerin esasını teşkil eder ki, bu da nukleus - sitoplasma arasındaki mübadeleye dayanır.

BRACHET (1952) ve MAZIA (1953) nukleusun iki esaslı vazifeye malik olduğunu kabul etmişlerdir. Biri nukleusun kalıtım-daki rolü, diğeri hücrenin normal sentetik aktivitesinin merkezi olduğudur. Bu ikinci vazifesi nukleusu çıkarılmış hücrelerde yapılan tecrübelerle aydınlatılmıştır. Böyle hücrelerde fosfor metabolizması, protein sentezi, solunum ve diğere başka bazı hücreysel aktivitenin bozulduğu ve hücrenin büyüme göstermediği müşahede edilmiştir. Bu hipoteze göre bazı nukleus maddelerinin nukleusden sitoplasmaya iletildiği ve orada depo edilerek sitoplasmının sentetik aktivitesinde kullanıldığı kabul edilmektedir. Nukleusu çıkarılmış hücrede nukleusden alınan bu madde sitoplasmada tükeninceye kadar sentetik aktivasyon devam eder. Sitoplasmadaki bu madde tükenince de hücre ölür. Sitoplasmaya iletilen bu nukleus mahsulü maddenin yapısı hakkında kesin bir şey bilinmemekle beraber, bu maddenin RNA tabiatında olduğu hususunda aşağıdaki müşahedeler delil olarak gösterilmektedir. RNA hem sitoplasma hem de nukleusde bulunan bir maddedir. RNA bakımından zengin blokların, hattâ nukleoluslerin nukleusden sitoplasmaya geçtiği gösterilmiştir. Bir amibin nukleussuz sitoplasmasındaki RNA miktarı zamanla azaldığı halde, nukleus ihtiva eden diğere parçası, aç bırakılsa bile, uzun müddet sitoplasmasındaki RNA miktarını muhafaza eder. Diğere taraftan *Acetabularia* ile de benzer bir tecrübe yapılmış, nukleuslu parçada bariz bir RNA sentezi görüldüğü halde nukleussuz parçada RNA miktarında bir artma müşahede edilmemiştir. (NAORA ve BRACHET, 1960). Son zamanlarda radyo aktif P^{32} verildikte bu fosforun evvelâ hücrenin nukleusu tarafından alınarak sonradan sitoplasmının organik yapılarına iletildiği gösterilmiştir.

Netice olarak nukleolusun her hangi bir şekilde nukleusun genetik aktivitesi ile sitoplasmının sentetik aktivitesi arasında bir mutavassıt gibi rol oynadığı kabul edilebilir.