

ULTRAVİYOLE NOKTA IŞINLANDIRMASININ PARAMAECIUM'DA MORFOLOJİK VE FİZYOLOJİK ETKİSİ

MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF ULTRAVIOLET MICROBEAM ON *PARAMAECIUM*

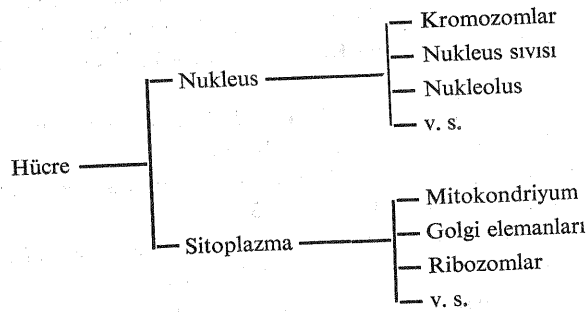
Atilla ÖZALPAN, Çetin ALGÜNEŞ

Prof. Dr. Atif ŞENGÜN ve Doç. Dr. Cemil KARADENİZ

İstanbul Üniversitesi, Radyobiyojoloji Kürsüsü

GİRİŞ

Bütün canlılık olayları hücrelerin içinde ceryan ettiğinden, hücrenin yapısı ve fizyolojisi ile ilgili çalışmalar son yıllarda ön plana geçmiştir. Ancak hücreler gözle dahi zor görülen teşekküller oldukları için, onlarla çalışmak bir takım kimyasal ve fiziksel metodların geliştirilmesini gerektirmektedir. Çünkü büyüklüğü 8-10 μ olan bir hücre parçacığını veya daha küçük olan bölümlerini klasik metodlarla değiştirmek ve ondan sonra hücrede ne gibi değişiklikler meydana geldiğini tespit etmek hemen hemen imkânsızdır. Bir hücre bilindiği gibi çok sayıda bölgelerden yapılmıştır.



Bu bölgelerin herbiri gene çeşitli ve daha küçük bölgelere ayrılırlar. Meselâ zar, zarın altında kalan kısım, daha merkezi kısım v.s. Bu en küçük bölgelerin de, hiç olmazsa farklı moleküller bakımından da birbirlerinden ayrı üniteler ihtiva ettiklerini gösteren çeşitli araştırmalar vardır.

Bu bakımdan çok küçük ünitelerin yapısını ve dolayısıyla çalışmasını değiştirmek, incelememize yardım edecek metodlar aranmaktadır. Bu metodlardan birisi ultraviyole nokta ışınlandırma metodudur. Adı geçen metod ile teorik olarak 1μ yani 1 mm'nin 1/1000 kadar küçük olan bir bölgeyi ışınlandırmak mümkün olabilmektedir ¹⁾.

Şimdiye kadar bu metod ile yapılan çalışmalarda bazı sonuçlar elde edilmiştir. Meselâ: Gözle görülen kromatin materyali U. V. ile ışınlandırıldığı zaman, DNA ışınlandırılan bölgeden çıkar, bu yüzden o bölgede bir beyazlaşma olur. U. V. ile ışınlandırılan nukleik asit moleküllerinde ve bilhassa bunların bazı kısımlarını teşkil eden bölgelerinde bir takım değişiklikler olur ve çok defa bu değişiklikler molekülün fiziksel davranışını da değiştirir. U. V. ile ışınlandırılmış hücrelerde DNA ve RNA sentezleri yavaşlar ve bazı hallerde durur. Bu durumun tamamen aksi de bahis konusudur. U. V. ışınlarının doku kültüründe yetiştirilen HeLa hücrelerinde DNA sentezini stimule ettiği sonucuna varan deneyler de yapılmıştır (Rasmussen 1966). Bildiğimize göre protein sentezi ile yapılan çalışmalar henüz tamamlanmamıştır.

U. V. nokta ışınlandırma metodu ile yapılan çalışmalar hücrenin hassasiyeti bakımından nukleus ile sitoplazmanın karşılaştırılmasına yardım etmiştir.

Triton yürek hücrelerinde U. V. ile ışınlandırma halinde iğ ipliği kaybolur. Bir bitki olan *Haemanthus* hücrelerinde, *Cecidomyidae*'lerin embriyo hücrelerinde v.s. aynı olaya tesadüf edilir. Gene *Triton*'un lökosit hücrelerinde sitoplazmaya yakın nukleus bölgesinin ışınlandırılması nukleus şeklinin değişmesine ve nukleusta piknosise sebep olur v.s.

Çekirgelerin doku kültüründe yetiştirilen nöroblastlarının nukleusunun ışınlandırılması hücre bölünmesini geciktirir. *Amoeba proteus* sitoplazmasının takriben % 80'i, nukleusun % 60'ı özel bir metodla ışınlandırılmıştır. Yapılan bu tip deneylerden elde edilen sonuçlar :

a. Nukleus ve sitoplazmanın eşit dozda ışınlandırılması bölünmeyi aynı derecede etkiler.

b. Hücrenin ölümü için gerekli doz hem nukleus ve hem de sitoplazma için aynıdır.

c. Hem nukleus hem sitoplazma beraber ışınlandırılırsa daha az bir enerjiye ihtiyaç vardır. RNA sentezini, nukleus ışınlandırması durdurduğu halde, sitoplazma ışınlandırması durdurmaz (Smith 1964).

Ayrıca U. V. tekhücrelilerden *Blepharisma*'da sitoplazmada vesiküller hasıl etmekte ve besin vakuollerinin sayısında bir azalma meydana getirmektedir (Tosito 1968).

1) U.V. nokta ışınlandırma metodu bir başka yazının konusunu teşkil etmektedir (S. 38-47).

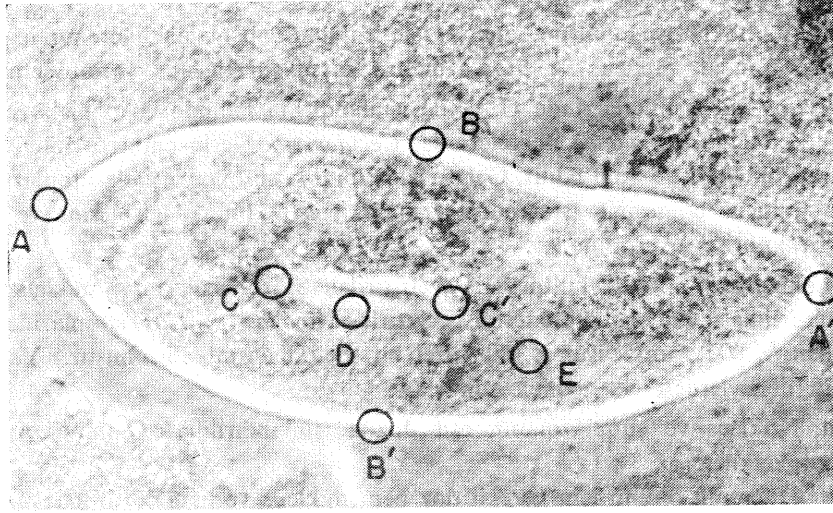
Bu araştırmaları gözönünde tutarak yukarıdaki objelerde bulunmayan özelliklere sahip *Paramecium*'ların sitoplazma zarı, nukleus zarı ve sitofarinksinin çeşitli bölgeleri üzerine U. V. nokta ışınlandırmasının etkisi araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmalarda obje olarak normal kültürde yetiştirilmiş *Paramecium*'lar kullanıldı. *Paramecium*'lar lam ve kuvarz lamel arasında ışınlandırılma esnasında hareket etmemeleri için filtre kâğıdı ile fazla suları alınarak hareketsiz hale getirildiler. Bu işlem sonucunda hareketsiz hale gelen hayvanlarda, sillerin hareketi, kontraktıl vakuollerin hareketi, sitofarinksin hareketi ve sitoplazma içindeki granüllerin hareketi gibi faaliyetlerde hiç bir değişiklik meydana gelmemekte, buna karşılık suyun azalması sadece hayvanın hareketine engel olmaktadır.

GÖZLEMLER

Paramecium'un Şekil 1 de gösterildiği şekilde 8 ayrı bölgesi ikişer dakika süre ile U. V. ile ışınlandırıldılar.



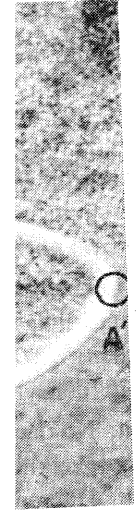
Şekil 1 : A, A' ve B, B' bölgeleri *Paramecium*'un ön ve arka tarafındaki ile iki yandaki pelikülüne ait birer noktadılar. C, C' ve D bölgeleri sitofarinksin iki ucu ile ortasındaki bir noktadır. E bölgesi ise makronukleusun takriben ortasına tekabül eden bir bölgedir.

Paramecium'un A ve B bölgelerinin ışınlandırılmasında dikkati çeken ilk olay, ışın *Paramecium*'un üzerine düşer düşmez veya çok kısa bir zaman sonra sitoplazma içinde ve o bölgeye yakın bir yerde ani ve kısa süreli bir sitoplazmik fotoreaksiyonun vukua gelişidir. Ancak bu reaksiyon ışınlandırma devam ettiği halde tekrarlanmamaktadır.

mayan özel-
ofarinksinin
ldı.

tramaecium'-
lırılma esna-
reketsiz hale
rda, sillerin
e sitoplazma
/dana gelme-
ngel olmak-

ikişer dakika

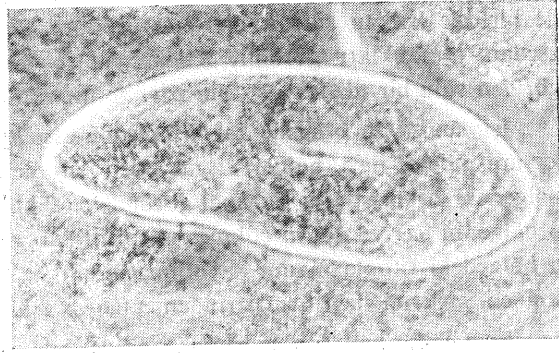


iki yandaki peli-
ile ortasındaki bir
len bir bölgedir.

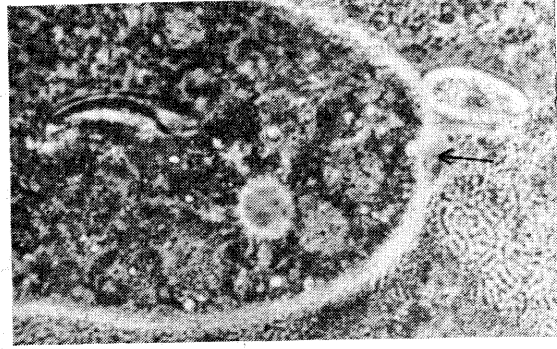
kkati çeken ilk
ir zaman sonra
bir sitoplazmik
na devam ettiği

Şekil 2 :

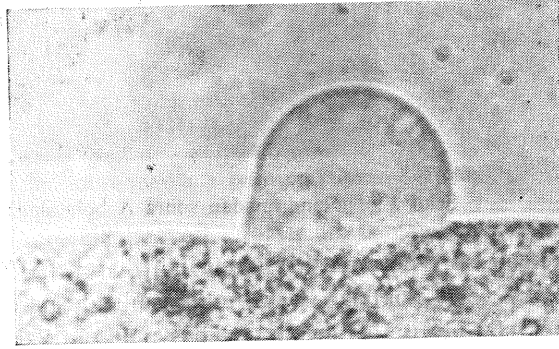
a. Işınlandırılmadan önce bir *Pa-
ramaecium'*un durumu.



b. A bölgesinde ışınlandırmadan
sonra meydana gelen çöküntü.



c. B bölgesinde ışınlandırmadan
sonra meydana gelen çöküntü
ve kabarcık.



2 dakikalık ışınlandırma süresinin sonlarına doğru, bazen ışınlandırma ta-
mamlandıktan sonra ışınlandırılan bölgede sitoplazma içine doğru bir çöküntü
olmaktadır. Bu çöküntünün genişliği A ve B bölgelerinde değişiktir (Şekil : 2).

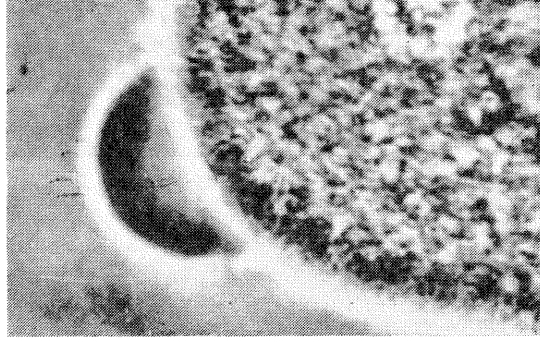
Gerek A ve gerekse B bölgelerinde ışınlandırılan bölgede pelikülün sito-
plazmadan ayrılarak dışarıya doğru bir kabarcık teşkil etmesi tespit edilen ikinci
kademedir. Bu kademedeki iki tabakalı gibi görülen pelikülün ışınlandırılan bölge-

de tabakalı yapısını kaybettiği, sitoplazmadan yavaş yavaş uzaklaştığı ve kendisi ile birlikte kalkan sillerin bir süre otonom hareketlerine devam ettikten sonra zardan ayrıldıkları görülür. Kabarcığın iç tarafı hiç bir özelliği yokmuş gibi görülen sulu bir madde ile dolu izlenimini vermektedir (Şekil : 2c, 3).

Işınlandırılan bölgede zar sitoplazmadan ayrılmadan önce, zar ile trikosistler arasındaki ince bölgeyi işgal eden sitoplazma tabakasının incelmesi ve o bölgedeki trikosistlerin normal görünüşten çıktıkları da farkedilmiştir. Bu olayın o bölgenin içeriye doğru çökmesinden mi ileri geldiği, yoksa ışınlandırma sonucu o bölgedeki sitoplazmanın kaybolmasından ve trikosistlerin sitoplazma hareketi sonucu yerlerini değiştirmelerinden mi ileri geldiği araştırılmamıştır.

Bazı ender hallerde, bilhassa A bölgesinde sitoplazmanın zar ile birlikte dışarıya doğru bir kabarcık teşkil ettiği de görülmüştür.

Paramaecium'da, sitofarinksin içinde bulunan sillerin hareketi belli bir yönde ve otonom bir şekilde ceryan etmektedir. Öyle ki lam, lamel arasında ezilmiş, sitoplazmaları etrafa yayılmış *Paramaecium*'larda dahi, sitofarinksin içinde hare-



Şekil 3 : Işınlandırmadan sonra A bölgesinde meydana gelen kabarcık.

ket bir süre devam eder. Onun için hareketin kontrol merkezini bulmak üzere C, C' ve D noktaları U.V. nokta ışınlandırmasıyla ışınlandırılmışlardır. C ve C' noktalarının ışınlandırılmasına başlandıktan yaklaşık 1 dakika sonra sillerin hareketi yavaşlamakta ve sonra tamamen durmaktadır. *Paramaecium*'un kenarlarında bulunan siller bundan etkilenmemekte ve normal çalışmalarına devam etmektedirler. Sitofarinksin ortasına tesadüf eden D noktası ışınlandırıldığı zaman sillerin hareketini durdurmadıkları görülmüştür.

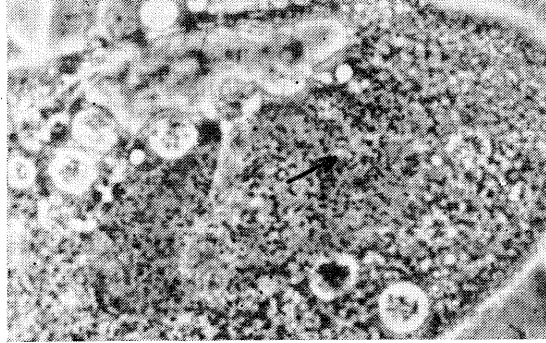
Paramaecium'un makronukleusu homojen görünüşlü ve nukleus boyaları ile homojen boyanan bir nukleustur, yani nukleik asitleri bunun içerisinde hemen hemen her tarafa eşit şekilde dağılmış durumda yerleşmişlerdir. Nukleusun

herhangi bir bölgesinin ışınlandırılması halinde, o bölgede canlı *Paramecium*'da dahi bir renksizleşme göze çarpmaktadır (Şekil : 4).

Nukleusları ışınlandırılmış olan *Paramecium*'un yaşama ve çoğalma olaylarında bir değişiklik gösterip göstermediği araştırılmamıştır.

TARTIŞMA

U. V. ışınları bilindiği gibi 2000 - 4000 Å dalgı boyunda ve iyonizasyona sebep olmayan ışınlardır. Bu bakımdan U. V. nokta ışınlandırılmasında görülen değişiklikler, ışınlandırılan bölgedeki moleküller üzerine ışınların doğrudan doğruya tesir etmesiyle husule gelmekte, başka bir terim ile moleköl bağları açılmaktadır. Buna göre radyasyonun indirekt bir etkisi bahis konusu değildir. Yukarıda anlatılan değişikliklerin de radyasyonun devam ettiği süre içinde 1 dakika içinde ceryan etmiş olması, bu düşünceyi teyid eder mahiyettedir. Bununla beraber ışınlandırılan bölgelerin moleköl yapısı hakkında bilgimiz bulunmadığından radyasyonun moleköl seviyedeki etkisini açıklamak mümkün olamayacaktır.



Şekil 4 : Nukleusta ışınlandırmadan sonra meydana gelen renksizleşme (Paling).

Paramecium'un ön ve arka tarafları ile, yan taraflarının ışınlandırılmasında görülen morfolojik tepki, esasta aynı olmakla beraber, biraz değişiktir. Literatürün gözden geçirilmesi halinde bilhassa ön ucunun diğer taraflara nazaran hassas olduğu ve çeşitli enerji değişikliklerinin bu uç tarafından farkedildiği öğrenilir. Onun için bu bölgedeki tepkinin çok daha büyük olması beklenirken, yan tarafların ışınlandırılması halinde daha geniş bir alanın içeriye doğru çökme meyli göstermesini anlamak biraz zordur. Sivri uçların ışınlandırılmasında çöken alanın daha dar, yan taraflarda daha geniş oluşu olsa olsa içeriye doğru bu bölgeler daha stabil olduğundan çöküntünün sivri taraflarda daha zor oluşu, buna karşılık yan taraflarda fiziksel kuvvetlerin içeriye doğru çökmeye daha fazla direnç göstermeyişleridir.

Her iki bölgede de zar iki tabakalı gibi gözükmekte ve mikroskopta netliğini de kaybetmemektedir. İhtimal bunun sebebi zar dışarı doğru bir kabarcık teşkil ettiğinde gerilmesi ve iki tabakanın birbirlerine yaklaşması ve molekül sıralarının değişmesidir. Zar sitoplazmadan ayrılırken, silleri de beraber sürüklemekte ve bir süre sitoplazmadan kökleri ayrılmış bu siller zara yapışık kaldıktan sonra düşmektedir.

Sitofarinksin davranışı yukarıda anlatılmıştı. Pelikülün ışınlandırılması halinde, sitofarinksin içindeki sillerin hareketinde bir değişiklik görülmemiştir. Buna karşılık sitofarinksin üç ayrı bölgesinden, C, C' ve D bölgelerinden, C ve C' nin ışınlandırılması halinde içindeki sillerin hareketi durmakta, fakat D noktasının ışınlandırılması halinde sillerin hareketinde bir değişiklik görülmemektedir. D noktasının ışınlandırılmasında da, ışınların o bölgede sitofarinksin etrafındaki sitoplazmayı ve içindeki silleri etki altında tuttuğu düşünülürse, sillerin hareketini kontrol eden merkezin sillerin çıkmadığı sitofarinksin iki uç bölgesinde olduğu sonucuna varılır.

Makronukleusun ışınlandırılması halinde, ışınlandırılan bölgede bir renksizliğin husule gelmesi, o bölgede bulunan nukleik asitlerin değiştiğini gösterir. Literatürde solma (paling) adını taşıyan bu olayı, makronukleusun ışınlandırılan her yerinde görmemiz yukarıda da belirtildiği gibi nukleik asidi ihtiva eden stürüktürlerin hiç boşluk bırakmadan nukleusun her tarafını doldurmaları ile açıklanabilir.

EK

Yazımız Yayın Kuruluna verildikten sonra Hanson (1962) un bir makalesi elimize geçmiştir. Bu makale araştırmamızın ikinci kısmını teşkil eden, U. V. ışınlarının sitofarinksteki sillerin hareketi üzerine olan etkisi ile ilgili bulgularımızı yeniden gözden geçirmemize sebep olmuştur. Araştırmalarımızdan yaklaşık 10 yıl önce yapılmış olan bu araştırma ile makalemizin ikinci kısmını karşılaştıracak olursak aşağıdaki farkları görür ve her iki makaleden ortak bir sonuca varabiliriz :

1. Hanson, çapı daha geniş olan bir ışık hüzmesi ile çalışmıştır. Onunki 5 μ çapında, bizimki ise yaklaşık 3 μ çapındadır. Bu yüzden Hanson'un ışınlandırma metodunda hem sitoplazma ve hem de hücre yutağı ışınlandırılmıştır. Bizimkinde ise yalnız yutağın belli bir bölgesindeki sitoplazma veya yutak ortasındaki boşluk ışınlandırılmıştır.

2. Hanson'un makalesindeki Şekil 4 de yutağın posterior kısmındaki sitoplazma kenarı ışınlandırılmıştır.

3. Bizim aletimizde kullanılan parçalar ile onunkiler arasında farklar vardır (Her iki makalenin metod kısmının karşılaştırılması). Ayrıca ışınlandırma

süresi her iki deneyde farklıdır. Bizim deneylerimizde ışınlandırma süresi 2 dakikadır. Her ne kadar ölçüler verilmemiş ise de, hücreye verilen U. V. dozu her iki deneyde değişiktir (Aletimiz ile ilgili ayrıntılı bilgi : S. 38 - 47).

4. Bizde sitofarinksin durumu ve sillerin hareketi ışınlandırma esnasında incelenmiştir. Sitofarinkste daha sonra husule gelen değişiklikler araştırılmamıştır. Hanson ise daima ışınlandırmadan 4-5 dakika sonra hücreleri incelemiş ve onun için sillerin hareketinin duruşunu tespit edememiştir. Çünkü sillerin hareketi ışınlandırma esnasında durmaktadır. Bizi sil hareketi ilgilendirdiği halde, onu ışınlandırmadan sonra sitofarinksin durumu ilgilendirmiştir.

İki deney arasındaki farkları böylece belirttikten sonra her iki deneyin sonuçlarına dayanarak :

a) Sitofarinsteki sillerin hareketinin, sitofarinksin posterior ve anterior uçlarını sınırlayan sitoplazma tarafından kontrol edildiği,

b) Sitofarinkste bir bozulma olmadan önce sillerin hareketinin durduğu,

c) Bilhassa Hanson'un deneylerine dayanarak sitofarinksi çevreleyen sitoplazma bölgesinin sillerin hareketi üzerine değişik derecede etken olduğu ileri sürülebilir.

SUMMARY

Paramecium has several differentiated units such as contractile vacuol, buccal cavity and pellicula. Therefore it is a good subject to study the effect of microbeam on these differentiated regions of the cell.

Fig. 1 shows the irradiated regions of *Paramecium*. If the pellicula irradiated in regions marked A, A', B, B' an invagination of the regions occurs. The shape of the invagination on lateral, frontal ends and caudal parts is different from each other.

In buccal cavity the movement of the cell stops if the regions marked C, C', D, are irradiated. But irradiation has no effect on the movement of the cilia if the other zones are irradiated.

The macronucleus of *Paramecium* has an uniform appearance. If any region of the nucleus is irradiated a paling occurs indicating that nucleic acid containing substances are distributed uniformly.

BİBLİYOGRAFYA

1. HANSON, E. D. (1962) : Morphogenesis and regeneration of oral structures in *Paramecium aurelia*. - J. Expt. Zool. **150** : 45 - 65.
2. RASMUSSEN, R. E. and PAINTER, R. B. (1966) : Radiation stimulated DNA synthesis in cultured mammalian cells. - J. Cell Biol. **29** (1) : 11-19.
3. SMITH, C. L. (1964) : Microbeam and partial cell irradiation. - Int. Rev. Cytol. **16** : 133-153.
4. TOSITO, H. (1968) : The effect of U. V. radiation on *Blepharisma undulus japonicus*. - Bull. Fukuova Univ. Educ. Nat. Sci. **3** (18) : 87 - 92.