

TATLI SU SALYANGOZLARINDAN HELISOMA TRIVOLVIS'İN OOCYTE VE ZYGOT'U ÜZERİNDE ELEKTRON MİKROSKOPİK ARAŞTIRMALAR

Mahmut Sağlam*

Summary

An Electron Microscopical Study of the Oocytes and Zygotes of the Helisoma Trivolvis, a Fresh Water Snail

The fine structure of the oocytes and zygotes of *Helisoma trivolvis* was studied and the following results were obtained:

1) In the early stages, oocytes are well covered by follicle cells, though these cells are gradually disappeared by maturation.

2) The nutritive material found in the capsule fluid is taken in by the process of pinocytosis in both oocytes and zygotes.

3) The cytoplasm of young oocytes do not show a significant differentiation. However, as they grow the amount of endoplasmic reticulum, Golgi apparatus and mitochondria are increased. The fat droplets are appeared and the multivesicular bodies are formed.

4) Endoplasmic reticulum appearing vesicular in the early stages develops into flat sacs.

5) Thread-like mitochondria of young oocytes become oval in matured oocytes, and are rounded up in zygotes. The mitochondrial cristae begin to swell in matured oocytes; in zygotes almost all, if not all of the cristae are seen as fully swollen, although these mitochondria change back to former shapes when the zygotes are ready to divide.

6) By the time the multivesicular bodies found in the cytoplasm of oocytes and zygotes are transformed into the yolk globules.

7) These yolk globules are heterogenous, due to forming crystallin structures.

8) The matured yolk globules turn out to be large vacuoles by swelling and demolishing by time.

The results obtained in this study were compared with those of other investigators who worked on the oocytes and zygotes of different animal species. The yolk globules were considered to serve as enzyme depots rather than food storage centers.

* A.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü Doçenti, Ankara, Türkiye

Özet

Bu araştırmada tatlı su salyangozlarından *Helisoma trivolvis*'in oosit ve zigotunun ultrastrukturu incelendi ve aşağıdaki bulgular elde edildi:

- 1) Gelişmekte olan oositler, follikül hücreleri ile sarılı bulunmakta; oosit olgunlaşınca follikül hücreleri erimektedir.
- 2) Oosit ve zigotlar pinositozis yoluyla dış kaynaklardan devamlı olarak madde almaktadır.
- 3) Genç oositlerin sitoplazmaları çok az bir farklılaşma göstermekte; gelişme ile sitoplazmada endoplazmik retikulum, Golgi aparatı ve mitokondriyum sayısı artmakta; yağ damlacıkları belirlemekte ve multiveziküler cisimcikler şekillenmektedir.
- 4) Başlangıçta veziküler olan endoplazmik retikulum, gelişme ilerledikçe yassı keseciklere dönüşmektedir.
- 5) Gelişme sırasında mitokondriumlarda önemli değişiklikler olmaktadır. Genç oositte çomakcık şeklinde olan bu teşekküller, olgun oositte ovalleşmekte, zigotta ise yuvarlaklaşmaktadır. Mitokondriyal kristaller olgunlaşan oositte şişmeye başlamakta, zigotta ise bütün kristaller şişmiş bulunmaktadır. Bölünmeye hazırlanan zigotta ise mitokondriyumlar tekrar eski şekillerine dönmeye başlamaktadır.
- 6) Hem oositte ve hem de zigotta, sitoplazmada multiveziküler cisimcikler bulunmaktadır; bu teşekküller zamanla vitellus globullerine dönüşmektedir.
- 7) Vitellus globulleri heterojen teşekküllerdir. İçlerinde kristal kuruluşunda kısımlar bulunmaktadır.
- 8) Olgunlaşan vitellus globulleri şişip eriyerek, iri vakuoller meydana getirmektedir.

Bütün bu bulgular, diğer hayvanlarda oosit ve zigot üzerinde yapılmış olan morfolojik araştırmaların sonuçları ile karşılaştırılıp konunun etraflı bir tartışması yapıldı ve bu arada vitellus globullerinin rolü özellikle tartışıldı. Bu globullerin, yedek besin deposu olmaktan daha çok, yedek anzim depoları olmaları ihtimali üzerinde duruldu.

Giriş

Hücrenin şekilli unsurlarının ince yapısı ve bu unsurların fonksiyonları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Elektron mikroskoplarında rezolüsyon gücünün artması ve preparasyon tekniklerinin gelişmesi sonucu, ince yapı üzerindeki bilgiler durmadan artmaktadır. Hücrenin taşıdığı sırları çözebilmek, her bir hücre unsurunun nasıl çalıştığını ve ne işe yaradığını kavrayabilmek, ancak hücrenin ince yapısı düzeyinde deneysel araştırmalar yapmakla mümkün olmaktadır. Örneğin, işaretlenmiş maddeler (radyoizotoplar) verilerek suretiyle hücredeki bir kısım sentez olayları izlenebilmektedir. Bundan başka, sitokimyasal reaksiyonları elektron mikroskopi ile birlikte yürütmek suretiyle; hücrenin kimyasal yapısı ve çalışma şekli hakkında güvenilir bilgiler elde edilebilmektedir.

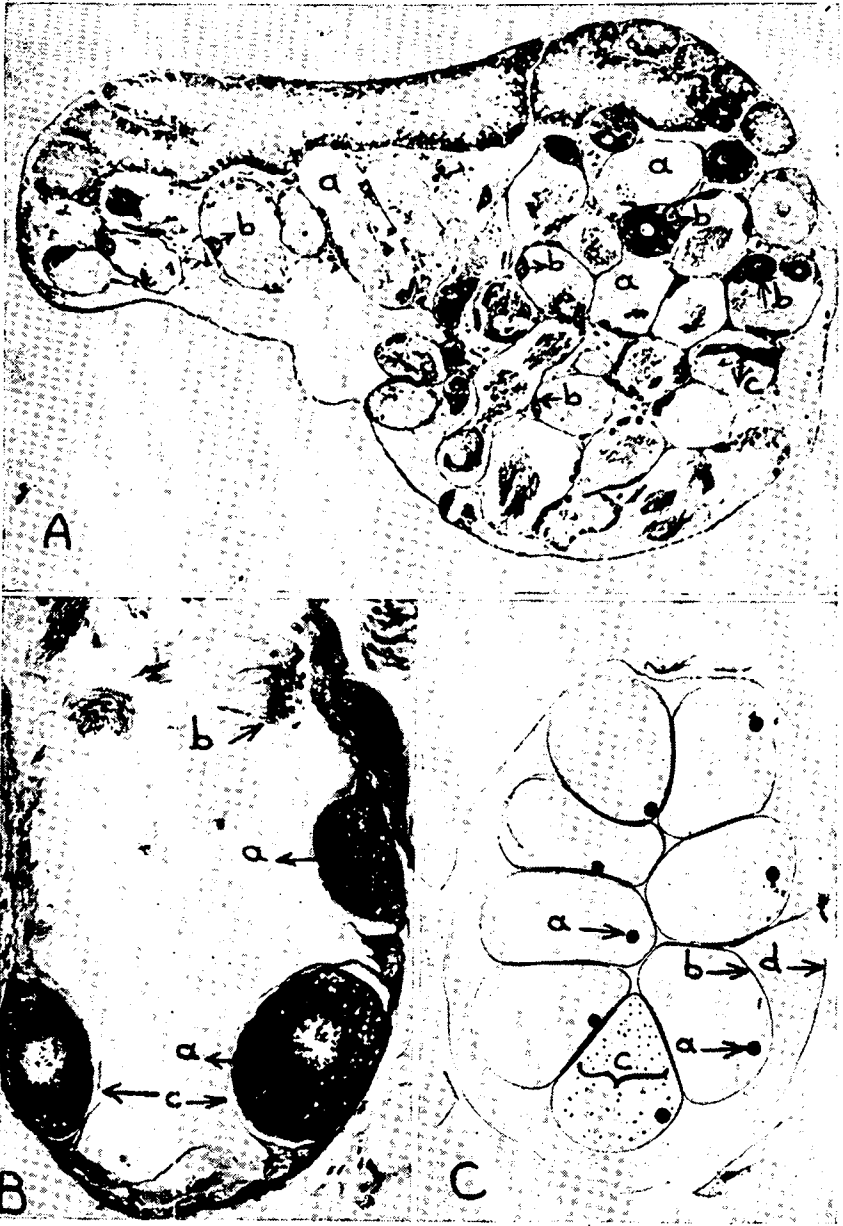
Bir hücre ne kadar iri olursa, sözü edilen çalışmalarda o hücreden o ölçüde fazla yararlanılır. Yumurta hücreleri hayvansal hücrelerin en irilerindedir. Bu bakımdan sitokimyasal ve elektron mikroskopik araştırmalarda bu hücreler sık sık kullanılmaktadır.

Çeşitli araştırmacılar yumurta hücrelerini çeşitli hayvanlarda incelemişlerdir. Örneğin SOTELO ve PORTER (28), STEGNER ve WARTENBERG (29), ZAMBONI VE MASTROIANNI (38, 39), WISCHNITZER (37), KRAUSKOPF (22) ve GURAYA (12) memelilerde; KEMP (18, 19), WARD (32), WARTENBERG (33, 34), WISCHNITZER (35, 36), KARASAKI (16), HOPE et al. (13, 14, 15) ve LANZAVECCHIA (23) kurbağa ve sürüngenlerde; BRAMBEL (5), BERTHIER (2), BRETSCHNEIDER ve RAVEN (6), ELBERS (9), CARASSO ve FAVARD (7), FAVARD ve CARASSO (10, 11), KEILIN (17) ve BLUEMINK (4) ise salyangozlarda yumurta hücrelerini ışık ve elektron mikroskoplarıyla çeşitli yönlerden incelemişlerdir.

Bu araştırmada ise, *Planorbidae* familyasının *Helisoma* Subgenus'una ait bir tür olan *Helisoma trivolvis*'in, çeşitli gelişme basamaklarında bulunan Oocyte ve Zygot'ları incelendi. Araştırmanın amacı, ileride yapılacak olan deneysel ve sitokimyasal hücre araştırmalarına temel teşkil etmek üzere, Oocyte ve Zygot'un normal yapısını elektron mikroskopik olarak incelemektir.

Helisoma trivolvis, tatlı sularda yaşayan hermafrodit bir hayvandır. Bunun Testis ve Ovarium'u birleşerek Ovotestis adı verilen tek bir Gonad halini almıştır. Ovotestis bileşik tubuler bir bez halindedir. Enine kesitlerde bez, kenarlarıyla birbirlerine iyice uymuş kompartımanlar (Şek. 1A a) halinde görünür. Hem Oocyte'ler (b), hem de Spermocyte'ler (c) kompartımanların duvarlarında beraber gelişmektedir. Oositler yanlarından, "follikül hücreleri" adı verilen besleyici hücrelerle desteklenmişlerdir. Bunların membran şeklindeki sitoplazmik uzantıları, oositleri bazan bir, fakat çoğu zaman iki kat halinde sararak, kompartıman boşluğundan ayırmaktadır (Şek. 1B c). Etrafındaki follikül hücreleri ile birlikte oositler, memelilerin ovaryumlarındaki follikülleri andırmaktadır.

Oositler tam olgunluğa ulaştınca follikül hücrelerinin sitoplazmik uzantıları erimekte; çıplak kalan oositler spermatozoalar tarafından döllenmekte ve kompartımanların duvarlarından ayrılarak, dışarı atılmak üzere, "Spermoviduct" adı verilen götürücü kanala geçmektedir. Bu kanaldan geçiş sırasında her bir döllenmiş yumurta



Şekil 1. *Helisoma trivolvis*'de Ovotestis ve kokon yapısı. A. Ovotestis: a) bunu teşkil eden kompartımanlar, b) çeşitli gelişme basamaklarında bulunan Oocyte'ler, c) küme halinde bulunan Spermatozoa'lar. B. Ovotestis'e ait bir kompartımanın büyütülmüş hali: a) Oocyte'ler, b) Spermatozoa'lar, c) Oocyte'leri saran follkül epitel hücrelerinin uzantı-ları. C. Yumurtilanmış bir kokon: a) Zygot'lar, b) zigotu çevreleyen kapsül, c) kapsül sıvısı, d) kokonu teşkil eden müsterek zar. A=x 58, B=x 300, C=x 15.

Fig. 1. The structure of the ovotestis and the cocoon of the *Helisoma trivolvis*. A. Ovotestis: a) the compartments which build the ovotestis, b) oocytes in varying degree of development, c) spermatozoa in aggregation. B. A compartment of the ovotestis in greater magnification: a) oocytes, b) spermatozoa, c) the processes of the follicle cells, surrounding the oocytes. C. A newly ovulated cocoon: a) zygotes, b) capsule, capsule fluid, c) the common membrane of the cocoon. A=x 58, B=x 300, C=x 15.

hücresi (Zygote) etrafından, "kapsül sıvısı" diye isimlendirilen, jel kıvamında, besleyici bir madde ile (Şek. 1C c), sonra da bir kapsülle çevrilmektedir (b). Daha sonra ise, kanaldan aynı anda geçmekte olan zigotlar (a), ortak bir zarla (d) sarılarak, "kokon" adı verilen bir teşekkül meydana getirmektedir. Bir kokon içinde bulunan zigot sayısı, mevsime ve hayvanın beslenme durumuna göre 1-20 arasında değişmektedir.

Döllenmiş yumurtalarının yeterince elde edilebilmesi, ayrıca ovotestisinden yapılan bloklarda çeşitli gelişme basamaklarında bulunan oositlere rastlanılması bakımlarından, *Helisoma trivolvis*, hücre araştırmaları için çok uygun bir materyal teşkil etmektedir.

Materyal ve Metod

Bu araştırmada 150 adet oosit ve 110 adet zigot kullanıldı. Oosit preparatı elde etmek için ovotestisin, oositlerin çoğunluğunu taşıyan uç kısmı, diseksiyon mikroskopu altında ve bir kaç damla soğutulmuş tespit solusyonu içinde, keskin bir jilette küçük parçalara ayrıldı ve tespit solusyonuna alındı. Tespit edilecek zigotlar ise şu şekilde hazırlandı: Az miktarda çeşme suyu içinde tutulan kokonlar, diseksiyon mikroskopu altında sivri uçlu bir iğne ile patlatıldı ve suya geçen zigotlar bir Pastör pipetine çekilerek tespit solusyonuna aktarıldı. Tespit işi buz dolabında, 4°C'da yapıldı. Tespit solusyonu olarak s-Collidine ile tamponlanmış ve pH'sı 7,4'e ayarlanmış %1'lik Osmium tetroxide kullanıldı. Adı geçen solusyonda zigotlar 30-60 dakika, ovotestisten alınan parçalar ise 60-120 dakika süre ile tespit edildi. Tespit edilen materyal, yine buz dolabında, dereceli alkollerden geçirilerek absolu alkole alındı ve materyali taşıyan şişe, bu dönemde dolaptan oda ısısına çıkarıldı. Materyal bundan sonra propylene oxide'de parlatıldı; LUFT (24) metoduna göre hazırlanmış Araldite M karışımı ile doyuruldu ve taze hazırlanmış aynı karışımda bloka alındı. Blokajda jelatin ya da plastik kapsüller kullanıldı. Araldit'in katılması için bloklar, önce 36°, sonra 45° ve daha sonra da 60°C'a ayarlanan etüvde toplam olarak 36 saat bırakıldı.

Bloklar Porter-Bloom ultramikrotomunda kesildi. Elde edilen gümüş renkli kesitler, Formvar ile filimlenmiş bakır ıskaralar üzerine alındı; Uranyl acetate ve kurşun sitratla boyandı ve Carl Zeiss EM 9 elektron mikroskopunda incelendi. Fotoğraf çekiminde 1800 ile 40,000 arasındaki mikroskop büyütmelerinden yararlanıldı.

Işık mikroskopisi için ovotestisten alınan parçalar Bouin ve Susa solusyonlarında tespit edildi; dereceli etil alkollerde suları giderildi; önce Methylbenzoate-celloidine, peşinden de parafin ile doyuruldu

ve parafinde bloka alındı. Bloklardan elde edilen seri kesitler, CROSS-MON (8)'un trikrom metoduna göre boyandı.

Sonuçlar

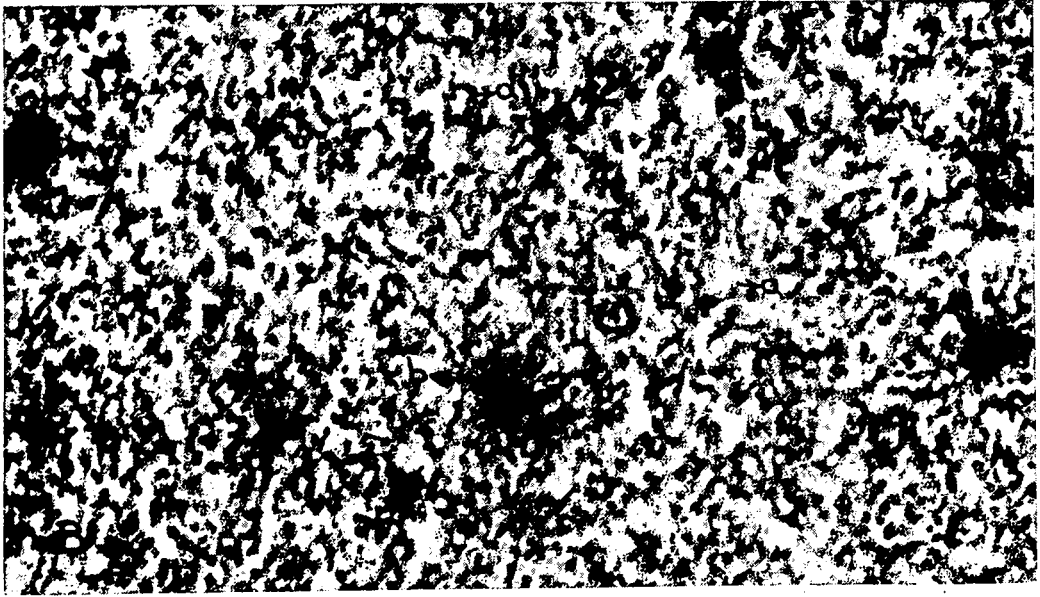
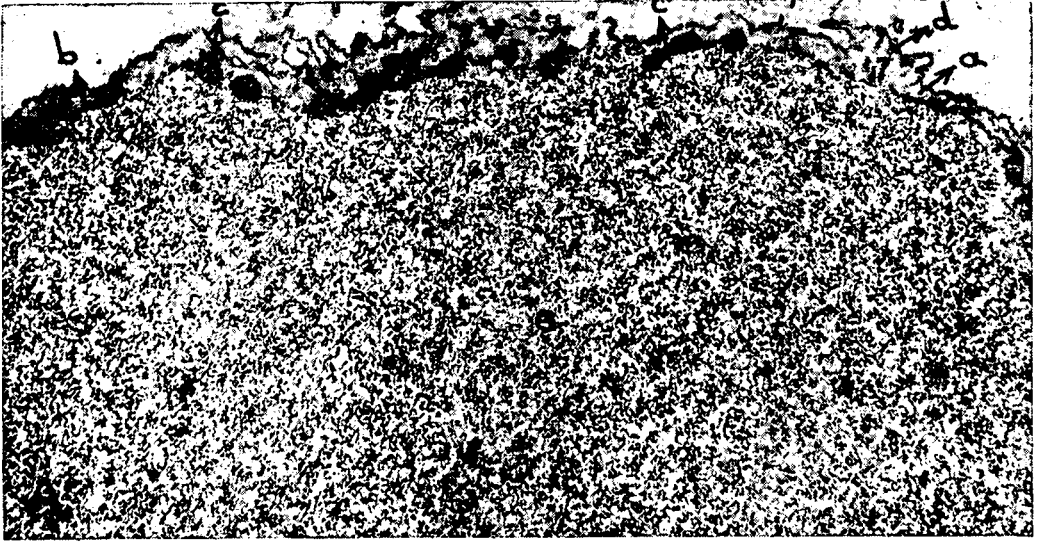
Genç oositler, follikül hücrelerinin sitoplazmik uzantıları (Şek. 2A a) tarafından sıkı bir şekilde sarılmışlardır. Bu uzantılar oosit yüzeyinde bazan bir, bazan da iki kat halinde bulunmaktadır. Bu dönemde iç katla oosit yüzeyi arasında bir açıklık yoktur; oosit ve iç follikül hücresi plazmalemleri birbirine değmiş vaziyettedir (Şek. 2B b). Follikül hücreleri uzantılarının sitoplazmaları oosit sitoplazmasından daha koyu görünüştedir ve homojen şekilde dağılmış çok ince taneciklerden meydana gelmiştir. Sitoplazma içinde bol miktarda mitokondriyum (c) ve az sayıda pinositotik vezikül (d) bulunmaktadır. Mitokondriyumların matriksleri, sitoplazmadan daha koyu görünüştedir. Mitokondriyumlar oosit plazmalemini içe doğru çökertmek suretiyle oosit içine sokulmuş vaziyettedir.

Oosit olgunlaşp irileştikçe follikül hücrelerinin uzantıları oosit yüzeyinden uzaklaşmaya ve oositle iç follikül katı arasında bir açıklık belirmeye başlamaktadır (Şek. 3a). Oosit geliştikçe bu açıklık genişlemektedir. Bu dönemde follikül hücrelerinin uzantıları ileri derecede değişikliğe uğramaktadır. Önce sitoplazma koyuluğunu kaybetmekte, peşinden de sitoplazma içinde çok sayıda ve irili ufaklı veziküller belirtmektedir (b). Dış kat dışa doğru ve sivri uçlu, iç kat ise içe doğru, daha az sayıda ve küt uçlu uzantılar göndermektedir. İç katla oosit arasındaki açıklıkta (a) herhangi bir madde bulunmamaktadır.

Bu dönemde oosit yüzeyinde de önemli değişiklikler olmaktadır. Genç oositte bir hat halinde seyreden oosit plazmalemi, yer yer az bir miktar sitoplazma ile dışa doğru çıkıntı yaparak Microvillus'lar teşkil etmektedir (c). Bazıları dallanmış olan bu mikrovilluslar seyrek ve aradaki açıklığı aşarak iç follikül katına kadar ulaşmaktadır. Mikrovillusların boyları 0,2 mikron kadar gelmektedir.

Oosit tam olgunlaşp ta follikül katları eridiğinde, oosit yüzeyindeki mikrovilluslar gerileyip kaybolmaktadır. Olgun yumurta hücresinin ve zigotun plazmalemleri, mikrovillus taşımamaktadır. Ancak hücre yüzeyi hafif girinti ve çıkıntılar teşkil etmektedir (Şek. 5a).

Oosit yüzeyinde rastlanan ikinci bir teşekkül de pinositotik veziküllerdir (Şek. 3d). Bunlar genç oosit döneminde belirmeğe başlamakta; gittikçe çoğalmakta ve oosit tam olgunlaşp ta mikrovilluslar



Şekil 2A. Çok genç bir oosit (c) ile bunu sıkı bir şekilde sarmış olan follikül hücre uzantısının (a) sitoplazmaları. b) İki hücrenin birbirine bitişik hücre membranları, c) follikül hücresine ait mitokondriyumlar, d) follikül hücre uzantısında bulunan bir pinositotik vezikül x. 25, 375.

Şekil 2B. Henüz diferansiye olmamış bir oositin sitoplazması (Hyaloplasma). a) Sitoplazmanın çatısını meydana getiren 35Å 'luk partiküllerden şekillenmiş, anastomozlaşan kordonlar, b) partiküllerin sıklaşarak teşkil ettikleri odaklardan biri. x 68,750.

Fig. 2A. The cytoplasm of a very young oocyte (c) and the surrounding follicle cell process (a). b) The plasma membranes of the two cells which are in close contact, c) mitochondria, belonging to the follicle cell, d) a pynocytotic vesicle within the process of the follicle cell. x 25,375.

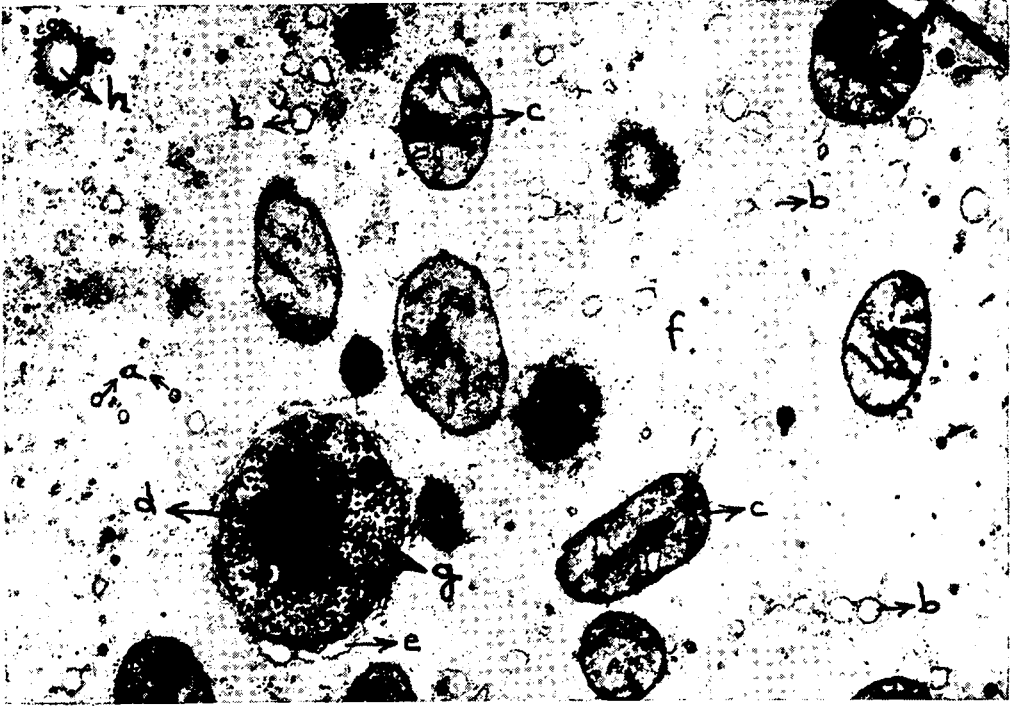
Fig. 2B. The cytoplasm of an undifferentiated oocyte. a) The anastomosing bands which build a framework in the cytoplasm, composing of 35Å particles, b) one of the foci which is nothing but condensation of fine particles. x 68,750.



Şekil 3. Gelişmekte olan bir oosit ve bunu saran iki katlı follikül hücre uzantıları. a) Oosit yüzeyi ile iç follikül hücre uzantısı arasında beliren açıklık, b) follikül hücre uzantılarında bulunan veziküller, c) oosit yüzeyinde şekillenen Microvillus'lar, d) pinositotik veziküller, e) mitokondriyumlar, f) Golgi aparatları, g) yağ damlacığı. x 17,200.

Fig. 3. A developing oocyte and the surrounding two folded follicle cell processes. a) The gap between the oocyte and the follicle cell process, b) the vesicles in the processes, c) microvilli of the oocyte, d) pinocytotic vesicles, e) mitochondria, f) Golgi apparatus, g) fat droplet. x 17,200.

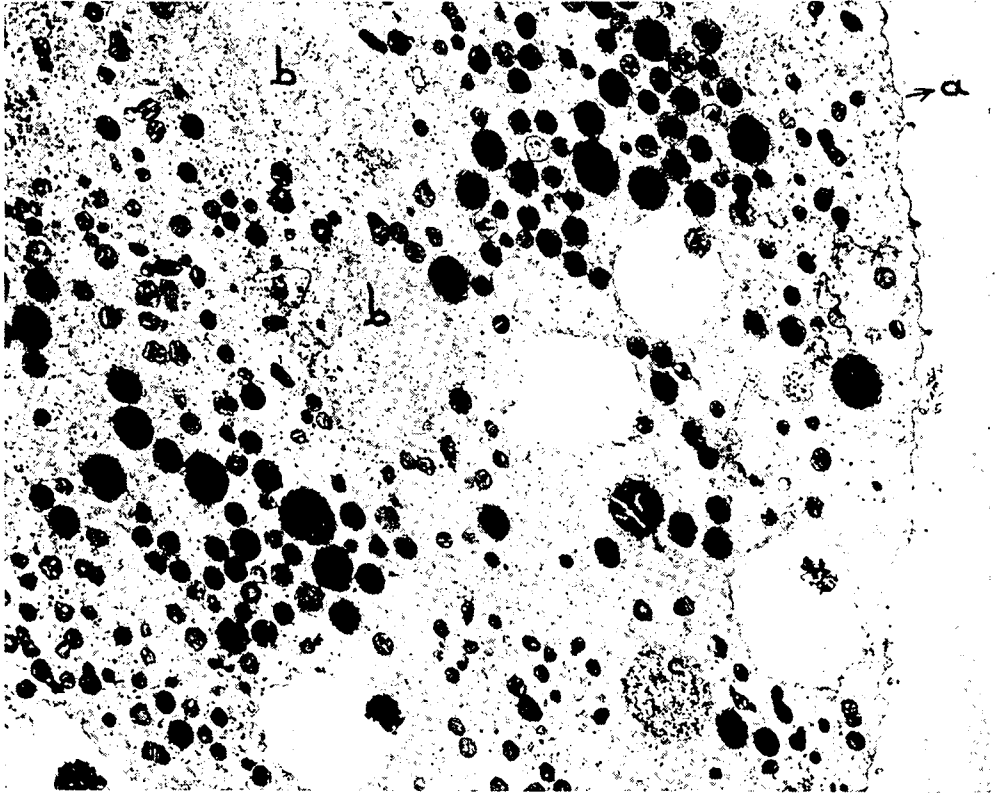
gerilemeğe başladığında sayıları maksimuma ulaşmaktadır. Hücre membranından meydana gelen pinositoz vezikülleri, daha sonra oositin derinliklerine doğru inmektedir. Olgun oositle zigotta bu veziküllere sitoplazmanın her tarafında rastlanmaktadır (Şek. 4 a ve 9B a). Bunların irilikleri 500 \AA kadardır. Veziküller bir membranla çevrili ve içleri boş teşekküller halinde görünmektedir. Periferde bulunanları çevreleyen membran, hücre membranı kalınlığındadır (Şek. 3 d). Sitoplazmanın derinliklerinde bulunan pinositoz veziküllerinde ise membran kalınlık kazanmaktadır (Şek. 9B a).



Şekil 4. Diferensiyel olmaya başlamış genç bir oosit sitoplazması. a) Pinositotik veziküller, b) endoplazmik retikuluma ait veziküller, c) mitokondriyumlar, d) multiveziküler cisimcik, e) bunu saran yassı endoplazmik kesecikler, f) homojenleşmiş olan hiyaloplazma, g) multiveziküler cisimciğin ortasında beliren koyu kısım, h) veziküllerin birleşmesi ile meydana gelmekte olan bir kesecik. x 41,500.

Fig. 4. The cytoplasm of a young oocyte. The differentiation is on progress. a) Pinocytotic vesicles, b) vesicular endoplasmic reticulum, c) mitochondria, d) multivesicular body, e) flat vesicles of the endoplasmic reticulum which surround the multivesicular body, f) homogenous hyaloplasm, g) dens area occurring in the middle of the multivesicular body, h) a sac built by vesicles. x 41,500.

Yeni şekillenen oositlerin sitoplazmaları çok az bir differensiyasyon göstermektedir. Sitoplazmada organellere çok seyrek olarak rastlanmaktadır. Büyük çoğunluğu, henüz farklılaşmamış Hyaloplasma teşkil etmektedir (Şek. 2A e). Hyaloplasma süngerimsi bir kuruluştadır. Bu görünüş, 35. A^oluk partiküllerin bir araya toplanarak, birbirleriyle anastomozlaşan kordonlar teşkil etmelerinden ileri gelmektedir (Şek. 2B a). Kordonlar arasında değişik şekilli boşluklar bulunmaktadır. Hyaloplasma içinde, adı geçen partiküller yer yer sıkı bir şekilde paketlenerek, koyu renkte görünen odaklar meydana getirmektedir (Şek. 2B b).



Şekil 5. Yeni yumurtlanmış bir zigotun sitoplazması. a) Girintili çıkıntılı olan hücre membranı, b) endoplazmik retikulumun teşkil ettiği odaklar, c) pigment granülü.
x 5,900.

Fig 5. The cytoplasm of a newly ovulated zygote. a) The cell membrane being lost its microvilli, b) Foci made only of the endoplasmic reticulum, c) pigment granule. x 5,900.

Oosit geliştikçe sitoplazmada bulunan şekilli unsurların miktarı ve türü artmaktadır (Şek. 4 b,c,d). Buna paralel olarak hiyaloplazma azalmakta; süngerimsi kuruluşunu kaybederek homojenleşmektedir (f). İçinde serpilmiş vaziyette 70-75 A° kadar gelen ribozomlar bulunmaktadır. Daha sonra ribozomlar irileşerek, olgun oosit ve zigotta 150 A°'luk bir iriliğe ulaşmaktadır (Şek. 9B b). Ribozomlar arasındaki kısımlar struktursuz görünüşür. Yer yer bir kaç adet ribozom rozet biçiminde bir araya gelerek Polysome'lar teşkil etmektedir (Şek. 8 a). Oositte farklılaşma ilerledikçe ribozom miktarında bir azalma olmaktadır.

Endoplazmik retikulum genç oositlerin sitoplazmasında çok az miktardadır. Bunun büyük bir kısmını 100-200 milimikron çapında

olan veziküller teşkil etmektedir (Şek. 4 b). Yuvarlak ya da oval Şekilli olan bu veziküller sitoplazma içine serpilmiş olarak bulunmaktadır. Bunları sınırlandıran membran, dış yzünde ribozom taşıtmaktadır. Bu dönemde endoplazmik retikulumun yassılmış kesecikler Şeklinde olan trune, sadece multiveziküler cisimcikler etrafında rastlanmaktadır (Şek. 4 c).

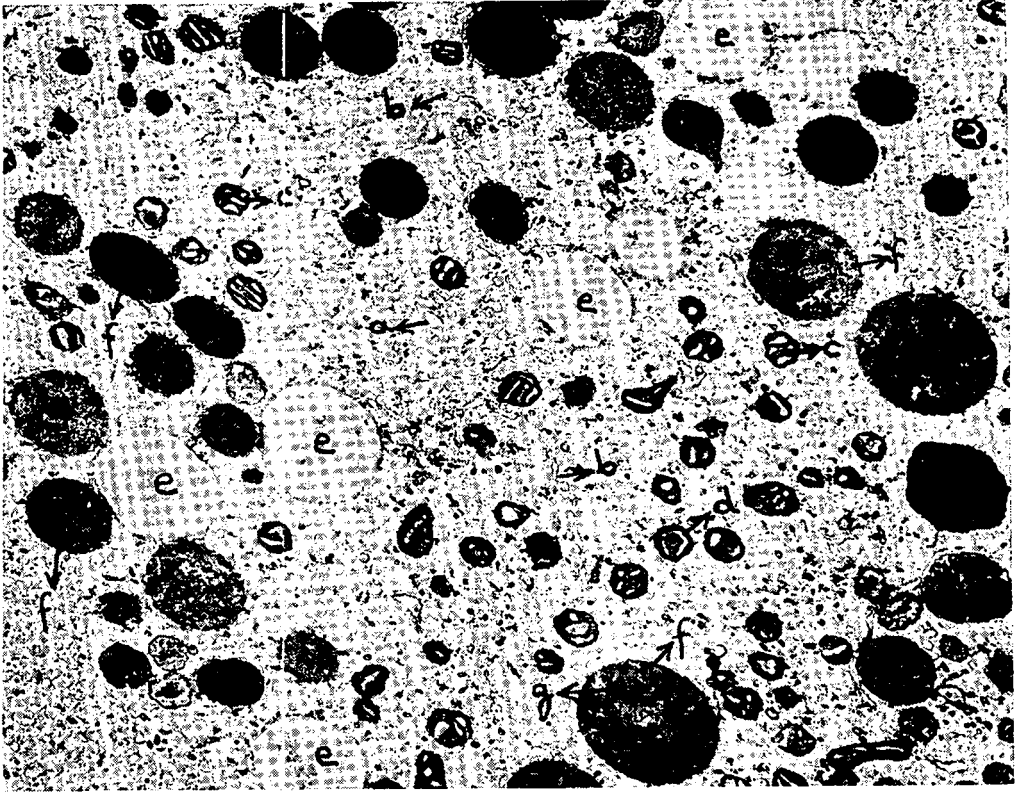
Oositin olgunlaşmasına paralel olarak endoplazmik veziküller hem irileşmekte ve hem de miktarca artmaktadır. Yeni yumurtlanmış zigot sitoplazması endoplazmik retikulundan oldukça zengin bulunmaktadır (Şek. 6 a). Zigotta endoplazmik retikulumun çoğunluğunu, daralıp genişlemeler gösteren uzun kesecikler teşkil etmektedir (b). Sitoplazma içinde, sadece bu yapıdaki endoplazmik retikulundan ibaret olan odaklar Şekillenmektedir (Şek. 5 b). Bu odaklar sitoplazmanın yzysel kısımlarında yer almaktadır.

Gerek oositte ve gerekse zigotta, sitoplazmanın yüzlek kısımlarında, yuvarlak Şekilli pigment granülleri bulunmaktadır (Şek. 5 c). Tekkatlı bir membranla sınırlandırılmış olan bu teşekküller, açık bir zemin üzerine oturmuş ve aynı irilikte olan ince partiküller taşıtmaktadır. Koyu tnda olan bu partiküller, pigment granülleri doldurmaktadır. Granüllerin iriliği 2 mikrona kadar ulaşmaktadır.

Oosit ve zigot sitoplazmaları mitokondriyumlardan çok zengindir. Yeni Şekillenen küçük oositlerde az sayıda mitokondrium bulunmaktadır. Bunların çoğunluğu uzun Şekilli, uçları Şişkin, ortaları ince teşekküller halindedir (Şek. 3 e). Geri kalanları ise oval ya da yuvarlak Şekillidir (Şek. 4 c). Crista mitochondrialis'lerin çoğunluğu mitokondriyumların uzun eksenlerine paralel seyretmektedir (Şek. 9A a). Bunları teşkil eden çift membranlar arasında çok az bir açıklık bulunmaktadır. En uzun mitokondriyumlar 1 mikron, en kısa olanlar ise 0,1 mikron kadar gelmektedir.

Oositin gelişmesi ilerledikçe mitokondriyumlar hem sayıca artmakta, hem de ovalden yuvarlağa doğru bir Şekil değişikliğine uğramaktadır. Zigotta bulunan mitokondriyumların büyük çoğunluğunu yuvarlak Şekilli olanlar teşkil etmektedir (Şek. 6 c).

Oositin gelişmesi ile mitokondriyumlarda meydana gelen ikinci bir değişiklik de, mitokondriyal kristaların yn değiştirmeleri ve Őiřmeleridir. Kristalarda Şişme olayına ilk olarak, orta derecede gelişmiş oositlerde rastlanmaktadır. Oosit büyüdükçe Őiřen krista sayısı artmaktadır. Yeni yumurtlanmış zigotta ise hemen hemen bütün kristalar Şişmiş vaziyettedir (Şek. 6; 10 a). Şişkin kristaların, mitokondriyumların uzun eksenlerine paralel, verrev ya da dik seyredenleri bulunduğu



Şekil 6. Yeni yumurtlanmış bir zigotun sitoplazması. Sitoplazma endoplazmik retikulumdan zengin. Endoplazmik retikulum yuvarlağımsı (a) ve yassı kesecikler (b) halinde. c) Yuvarlaklaşmış ve kristaları şişmiş mitokondriyumlar, d) sirküler seyirli ve şişkin bir mitokondriyal krista, e) yağ damlacıkları, f) vitellus glöbulleri, g) bu glöbuller içinde bulunan koyu bölgeler. x 17,800.

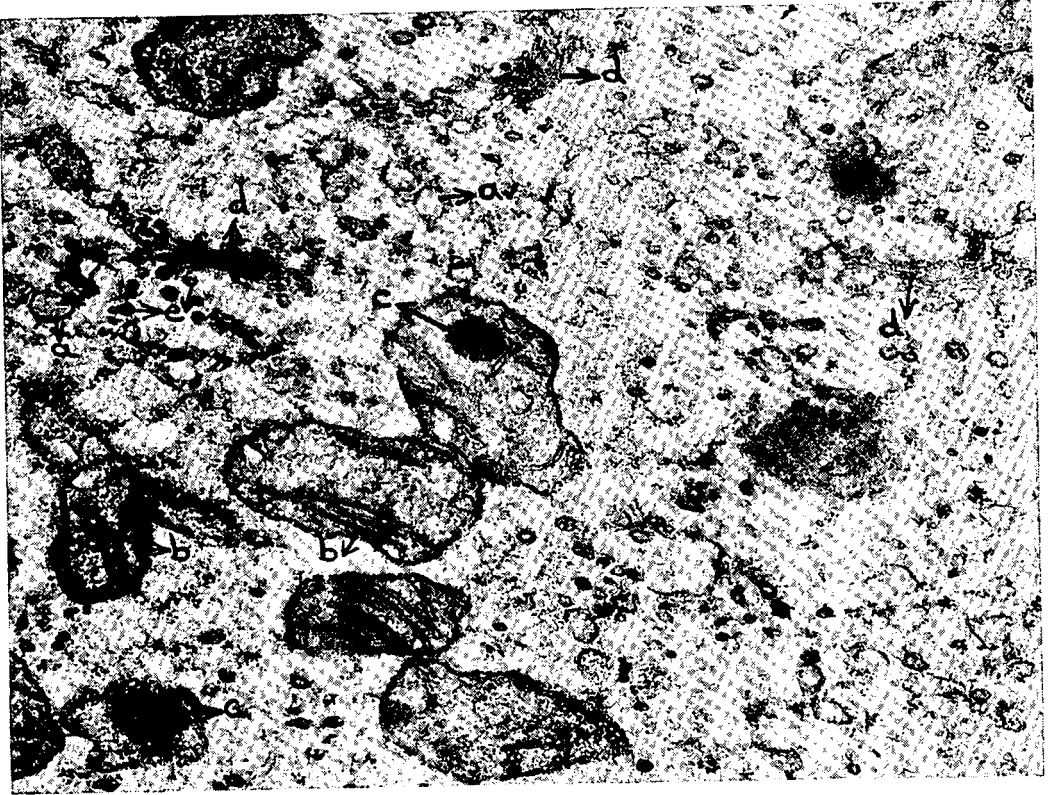
Fig. 6. The cytoplasm of a newly ovulated zygote. The cytoplasm is rather rich of the endoplasmic reticulum. The endoplasmic reticulum is composed of the rounded vesicles (a) and the flattened sacs (b). c) The rounded mitochondria, with their swollen cristae, d) a swollen mitochondrial crista which coarse circularly within the mitochondrion, e) fat droplets, f) yolk globules, g) dens areas within the yolk globules. x 17.800.

gibi, bir kısım mitokondriyumlar konsantrik seyreden şişkin kristalar da taşımaktadır (Şek. 6 d). Şişme olayı şöyle meydana gelmektedir: Kristaları teşkil eden çift membranlar birbirlerinden uzaklaşmağa başlamakta; aralarını dolduran orta koyuluktaki madde kaybolmakta ve sonunda bu kısımlar, içleri boş görünen şişkinlikler halini almaktadır.

Mitokondriyal kristaların bu şişkin hali zigot döneminde uzun zaman devam etmemektedir. Bölünmeye hazırlanan zigotta şişkinlik-

ler yavaş yavaş gerilemeye başlamakta ve sonunda kristalar genç oositlerdeki şekillerini almaktadır (Şek. 7 b). Ayrıca mitokondriyumlar ovalleşip uzamağa da başlamaktadır.

Mitokondriyumlarla ilgili diğer bir özellik te, bunların matrisleri içinde bazan granüllere rastlanmasıdır. İrili ufaklı ve irileri oval şekilli olan bu granüller (Şek. 7 c, 11B a), mitokondriyumların matrislerinden daha koyu görünüştedir ve çok ince taneceklerden yapılmışlardır. Bu granüllere oosit döneminde rastlanmamaktadır. Bunlar yeni yumurtlanmış zigotlarda az sayıda, bölünmeye hazırlanan zigotlarda ise oldukça bol olarak bulunmaktadır.



Şekil 7. Yumurtlandıktan 60 dakika sonra tespit edilmiş bir zigotun sitoplazması. Mitokondriyal kristalar (b) genç oositteki şekillerine dönmüş ve mitokondriyal matriskte koyu granüller (c) belirmiş. a) Endoplasmik veziküller, d) Golgi aparatları, e) Golgi vezikülleri. x 50,000.

Fig. 7. The cytoplasm of a zygote fixed 60 minutes after the ovulation. The mitochondrial cristae (b) show the same appearance as in young oocytes. Dens granules (c) developed in the matrices of the mitochondria. a) Endoplasmic vesicles, d) Golgi apparatus, e) Golgi vesicles. x 50, 000.

Golgi aparatları (Şek. 3 f, 7 d), birbiri üzerine paralel şekilde oturmuş 3-5 adet yassı kesecikle, bu keseciklerin uçlarından ayrılan küçük veziküllerden (Şek. 7 c) oluşmaktadır. Veziküllerin dışında, sitoplazmanın Golgi aparatlarına yakın bölgelerinde oldukça bol miktarda endoplazmik veziküller de bulunmaktadır (a).

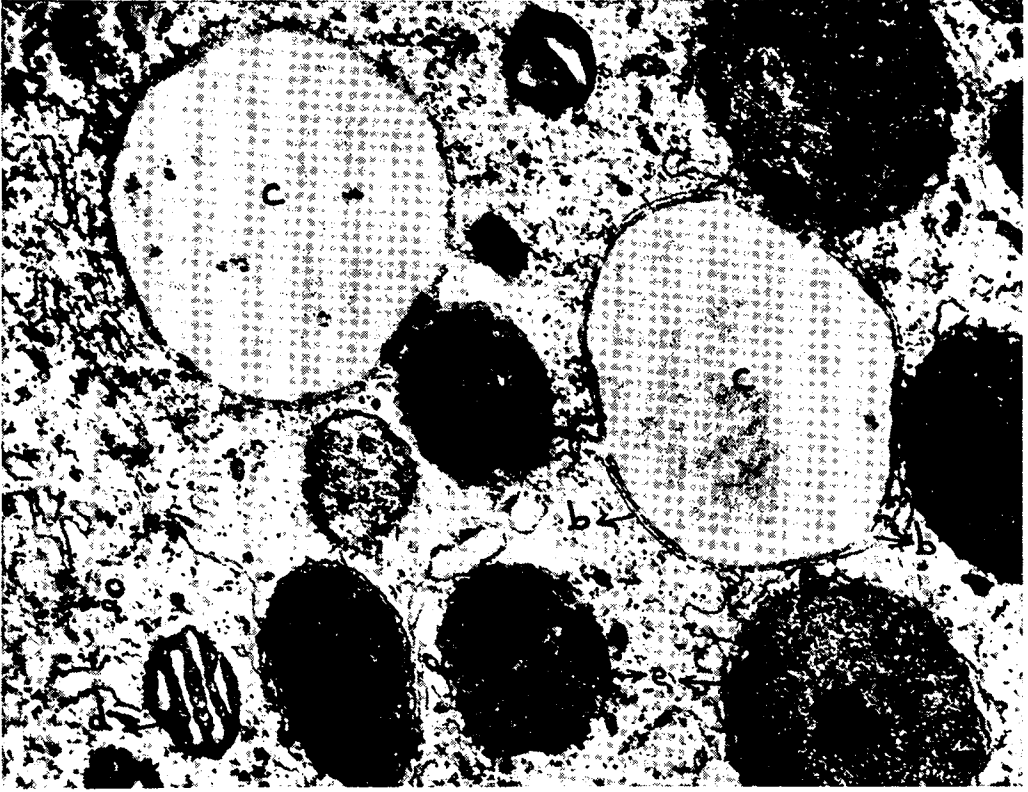
Oositlerin gelişmelerine paralel olarak Golgi aparatları da artış göstermektedir. Genç oositlerde bunlar miktarcı azdır ve daha çok sitoplazmanın derinliklerinde, serpilmiş olarak bulunmaktadır. Orta derecede olgunlaşmış oositlerde miktarları artmakta; tam olgun oositler ise Golgi aparatlarından zengin bulunmaktadır. Oositler olgunlaştıkça Golgi aparatları sitoplazmanın periferinde toplanmağa başlamaktadır. Tam olgun oositte zigotta ise, periferde topluluklar teşkil etmiş Golgi aparatlarına rastlanmaktadır (Şek. 7 d).

Sitoplazmada rastlanan diğer bir şekilli unsur da yağ damlacıklarıdır. Genç oosit farklılaşmaya başlayınca, ooplazmada mitokondriyumlar ve veziküller endoplazmik retikulumdan sonra bu yağ damlacıkları şekillenmektedir (Şek. 3 g). Bunların sayıları oositin gelişmesi ile artmakta; yeni yumurtlanmış zigotta maksimuma ulaşmakta (Şek. 6 e) ve bundan sonra hızla azalmaktadır. Bölünmesi yaklaşmış zigotta ise yağ damlacıklarına çok seyrek olarak rastlanmaktadır.

Yağ damlacıkları, etraflarından tekkatlı birer membranla sarılmışlardır. Zigotta bu membranın dışında, 1-2 kat halinde yassı endoplazmik kesecikler de bulunmaktadır (Şek. 8 b). Bu keseciklere, oositlerdeki yağ damlacıkları (Şek. 3 g) etrafında rastlanmamaktadır. Oositte bulunan yağ damlacıkları koyu, zigottakiler ise açık tonda görünmektedir. Her iki tür yağ damlacığı da, homojen bir şekilde yayılmış çok ince taneciklerden oluşmaktadır. Yağ damlacıkları irili ufaklıdır; çapları ortalama olarak 0,8 mikron kadar gelmektedir. Bunlar sitoplazma içinde tek tek ya da gruplar halinde bulunmaktadır.

Oosit ve zigotta multiveziküler cisimcikler de bulunmaktadır (Şek. 4 d, 9A b, 9B c). Bunlara genç oositte itibaren, bölünmek üzere olan zigota kadarki bütün gelişme basamaklarında rastlanmaktadır. Henüz şekillenmekte olanlarını, tekkatlı ve semisirküler seyirli bir membran sınırlandırmaktadır (Şek. 9A c, 9B d). Membranın iki ucu çoğu hallerde içe doğru kıvrıktır. Bu dönemde teşekkülün matriksi sitoplazmanın devamı halindedir ve onun gibi açık tonda görünmektedir. Matriks içinde ribozomlar ve az sayıda pinositotik vezikül (Şek. 9A d, 9B e) bulunmaktadır.

Multiveziküler cisimcikler irili ufaklı olarak şekillenmektedir. 0,3 Mikron irilikte olanlar yanında 1 mikron kadar gelenlere de rast-

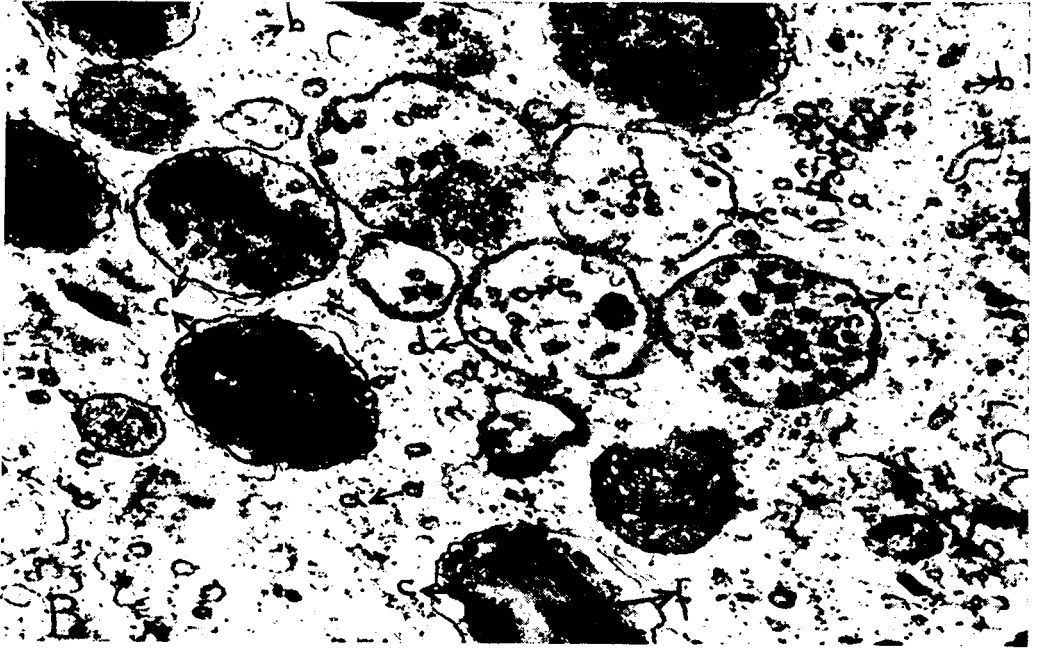
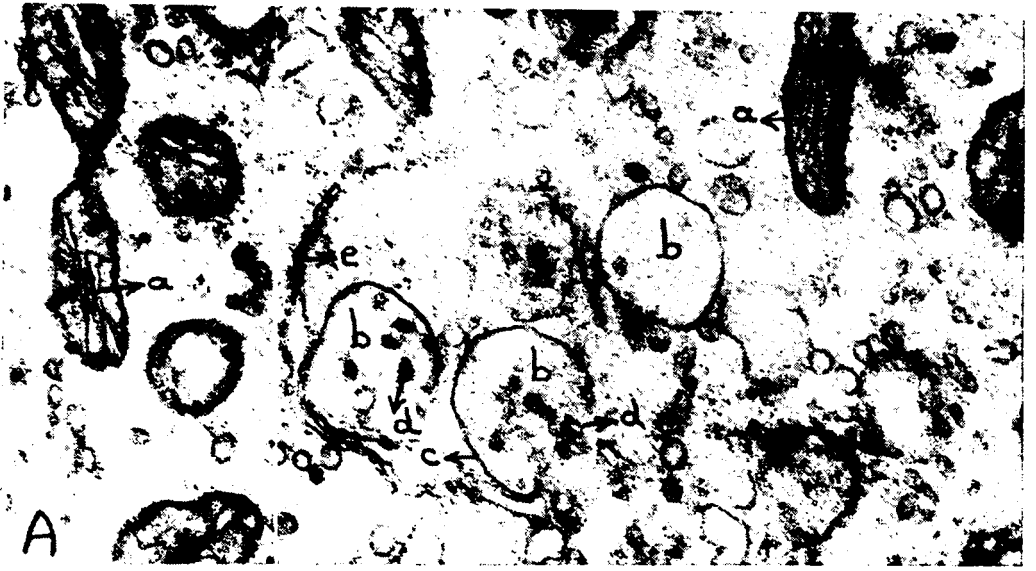


Şekil 8. Yeni yumurtlanmış bir zigotta yağ damlacıkları (c). a) Ribozomların teşkil ettiği bir Polysome, b) yağ damlacıklarını kucaklayan yassı endoplazmik kesecikler, d) şişkin kristal bir mitokondriyum, e) değişik gelişme basamaklarında bulunan vitellus globulleri. x 50, 000.

Fig. 8. Fat droplets (c) in a newly developed zygote. a) Polysome, b) flattened endoplasmic sacs surrounding a fat droplet, d) a mitochondrion with swollen cristae, e) yolk globules in various stages of development. x 50,000.

lanmaktadır. Bunlar aslında yuvarlak teşekküllerdir; fakat kesit alma sırasında, mekanik etkilerle ovalleşmektedir. Bunlara sitoplazmanın her tarafında tek tek (Şek. 4 d) ya da gruplar halinde (Şek. 9B c) rastlanmaktadır.

Gelişmeleri sırasında multiveziküler cisimciklerin matrikslerinde gittikçe daha fazla vezikül toplanmakta; bir taraftan da matrikslerinin koyuluğu artmaktadır. En sonunda cisimciklerin içi veziküllerle tamamen dolmakta ve sınırlandırıcı membranlarının bıraktığı aralık kapanmaktadır (Şek. 4 d). Diğer taraftan da, yassı endoplazmik kesecikler, cisimcikleri etraflarından kuşatmaktadır (Şek. 4 e). Bu olay, cisimciklerin teşekkülü ile birlikte başlamaktadır (Şek. 9A c).



Şekil 9. Çeşitli gelişme basamaklarında bulunan multiveziküler cisimcikler. A. Oositte: a) uzun eksene paralel seyreden motokondriyal kristalar, b) henüz şekillenmekte olan multiveziküler cisimcikler, c) bunlardan birini sınırlayan semisirküler membran, d) multiveziküler cisimciklere girmekte olan pinositotik veziküller, e) şekillenmekte olan bir multiveziküler cisimciği sarmaya başlayan endoplazmik retikulum keseciği. x 54,000.

B. Zigotta: a) Pinositotik veziküller, b) ribozomlar, c) değişik gelişme basamaklarında olan multiveziküler cisimcikler, d) genç bir cisimciği sınırlayan ve serbest ucu içe kıvrık olan semisirküler membran, e) cisimciklere girmiş olan pinositotik veziküller, f) multiveziküler cisimciklerde oluşmuş bir kristal kuruluşlu bölge x 46,000.

Fig. 9. Multivesicular bodies in various steps of development. A. In oocyte: a) mitochondrial cristae running parallel to the long axis of the mitochondrion, b) newly differentiating multivesicular bodies, c) the semicircular membrane limiting one of these bodies, d) pinocytotic vesicles entering to the bodies, e) endoplasmic reticulum sac, beginning to surround a developing multivesicular body. x 54,000.

B. In zygote: a) pinocytotic vesicles, b) ribosomes, c) multivesicular bodies in various steps of development, d) semicircular membrane limiting a young body, e) pinocytotic vesicles in multivesicular bodies, f) a crystal formation in a multivesicular body. x 46,000.

Multiveziküler cisimcikler veziküllerle dolunca, çoğunlukla cisimciğin orta kısmından başlamak üzere, veziküllerde bir dağılıma olmaktadır. Bu gibi kısımlar koyu bir ton göstermektedir (Şek. 4 g). Bazı cisimciklerde buralar birbirine paralel çizgilerden meydana gelmektedir (Şek. 9B f). Bir kısım multiveziküler cisimciklerde, bu koyu bölgelerden birkaç tane birden bulunmaktadır.

Bölünmeye hazırlanan zigotta multiveziküler cisimcikler bir azalma göstermektedir.

Oosit ve zigot için en karakteristik olan unsurlar vitellus globulleridir. Bunlar elektron mikroskopik preparatlarda oval şekilli olarak görünmektedir (Şek. 6 f); uzun eksenleri hep aynı yöndedir. Bu durum, aslında yuvarlak olan globullerin, kesit alma sırasında ovalleştiklerini göstermektedir.

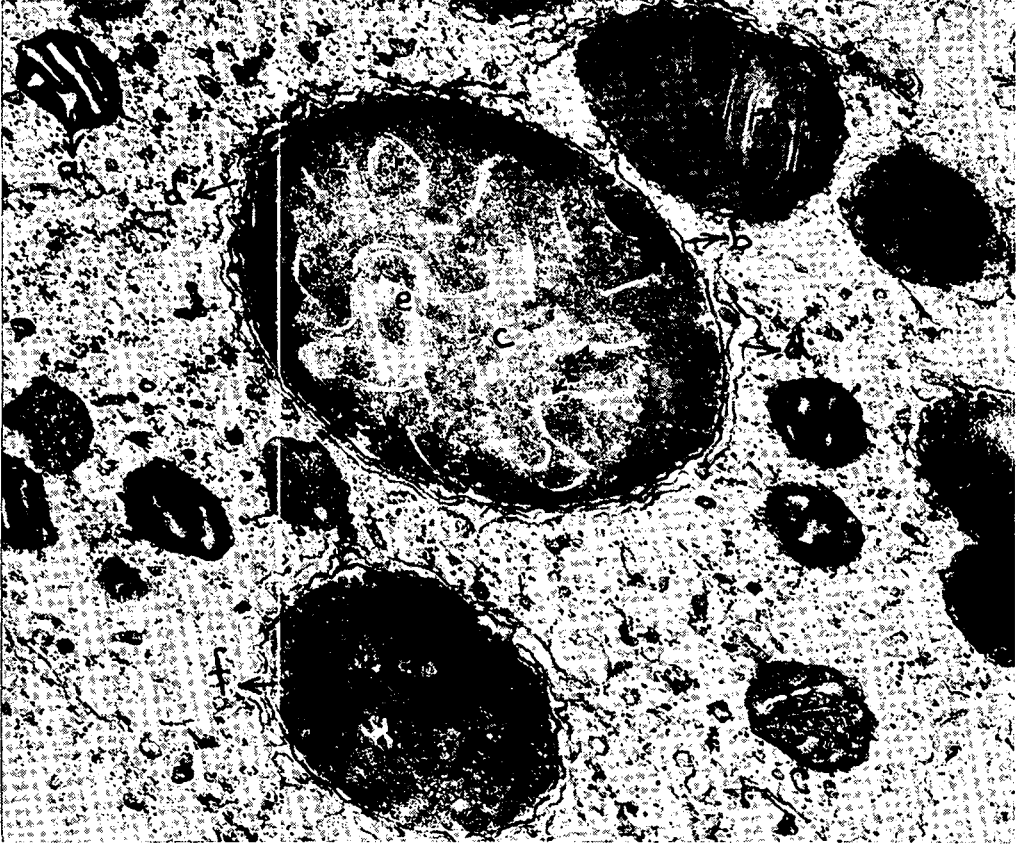
Vitellus globullerinin büyüklükleri çok farklıdır (Şek. 12 a, ve a₂). Büyüklük farkına hem oosit ve hem de zigot döneminde rastlanmaktadır. En küçükleri 0,4 mikron, en büyükleri ise 1,5 mikron kadar gelmektedir. Globuller tekkatlı bir membranla çevrilmişlerdir (Şek. 10 b). Membran, diğer sitoplazmik membranlardan daha kalınca ve daha koyu bir tondadır.

Vitellus globullerinin esas maddesi, aynı irilikte olan çok ince taneciklerden şekillenmiştir (Şek. 6 f, 10 c). Bu esas madde içinde, gelişigüzel olarak her yönde seyreden yarıçıklar vardır (e). Bunların içleri boş olarak görünmektedir. Karşılıklı kenarları birbirine az çok paralel olan bu yarıkların boyları ve kalınlıkları globuller irileştikçe artmaktadır.

Vitellus globulleri içinde, gri renkte olan globul zemininden daha koyu tonda görünen bölgeler de bulunmaktadır (Şek. 6 g, 10 f). Bu bölgeler, 60 A° irilikteki taneciklerden oluşmuştur. Tanecikler bazı globullerde düzensiz şekilde bir araya toplanmışlardır. Bazı globullerde ise ard arda gelerek intizamlı diziler teşkil etmişlerdir (Şek. 11A a, 11B c). Sıkı bir şekilde paketlenmiş olan bu diziler birbirlerine paralel seyretmektedir. Koyu bölgeleri teşkil eden bu tanecikler, globul içine tek tek serpilmiş olarak da bulunabilmektedir (Şek. 11B b). Bu duruma, bölünmesi yaklaşmış zigotta daha çok rastlanmaktadır. Böyle olan zigotlarda koyu bölgelerde bir azalma görülmektedir.

Vitellus globulleri de, yağ damlacıkları gibi, etraflarından 1-2 kat teşkil eden yassı endoplazmik keseciklerle sarılmışlardır (Şek. 10 d).

Bu araştırmada üzerinde durulan diğer bir unsur da sitoplazmada bulunan iri vakuollerdir (Şek. 12 v). Oosit döneminde bu vakuol-

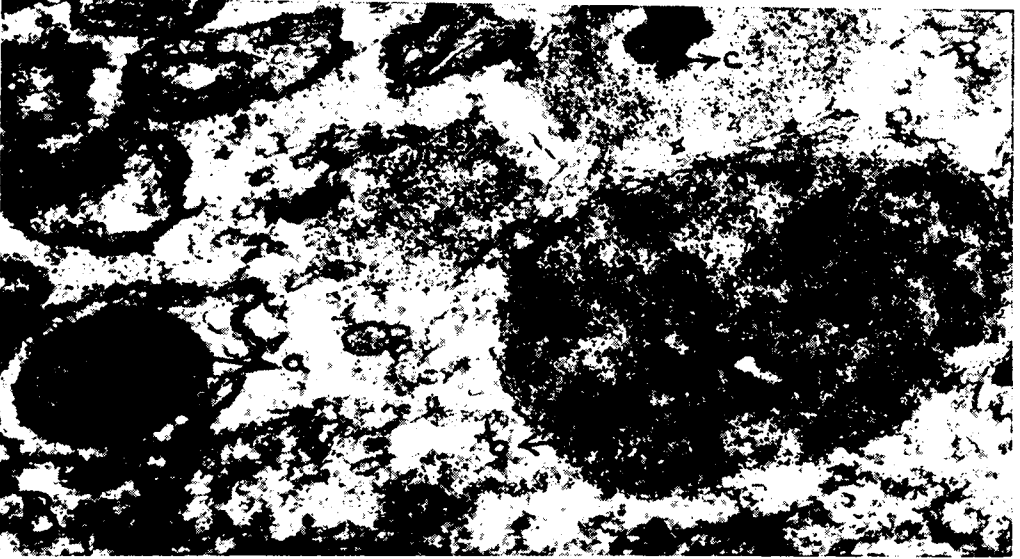


Şekil 10. Olgun bir vitellus globulunun heterojen olan iç yapısı. a) Globul yakınında bulunan şişkin bir mitokondriyum, b) globulu sınırlandıran membran, c) globulun ince granüler matriksi, d) olgun bir globul etrafındaki yassı endoplazmik kesecikler, e) olgun globullerin matrikslerinde beliren yarıklar, f) vitellus globulunde koyu bir bölge. x 45,000.

Fig. 10. The inner structure of a mature yolk globule. a) a swollen mitochondrion in the vicinity of the globule, b) limiting membrane of the globule, c) fine granular matrix of the globule, d) flattened endoplasmic reticular sacs around the globule, e) gaps developing in the matrices of mature globules, f) a dens area in a globule. x 45,000.

lere ender olarak rastlanmaktadır. Yeni yumurtlanan zigotta sayıları artmıştır; bölünmek üzere olan zigotta ise bunlar bol miktarda bulunmaktadır.

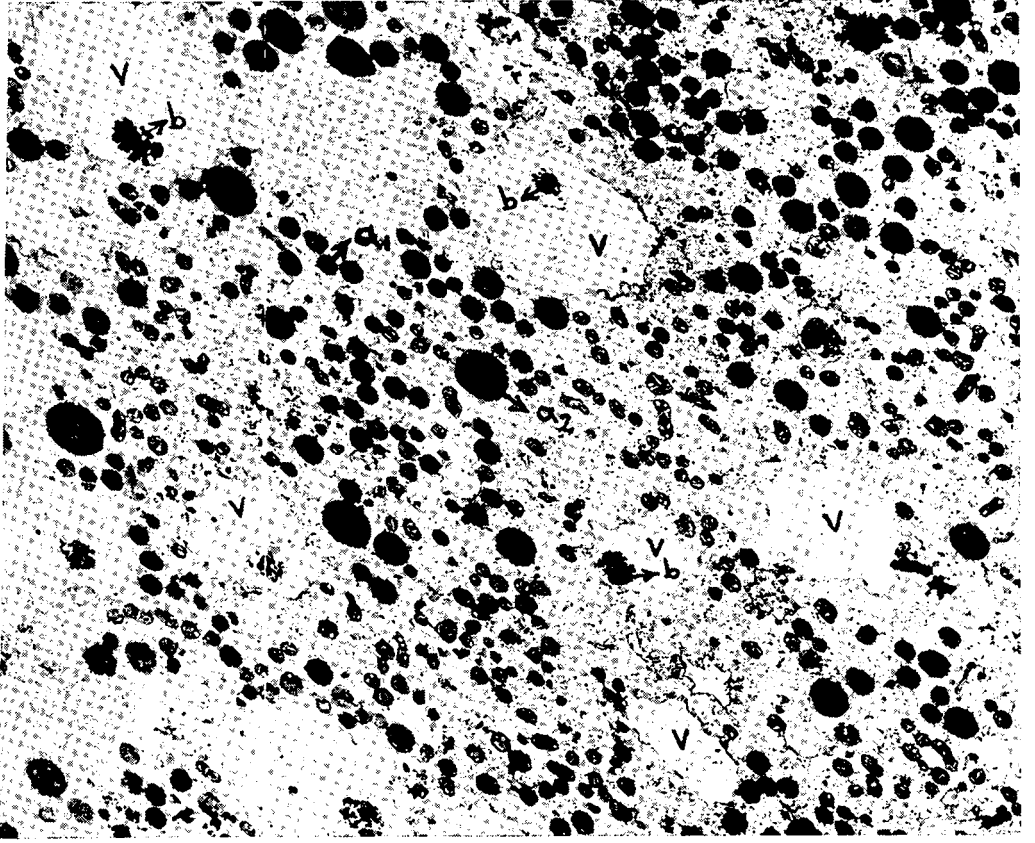
Vakuollere sitoplazmanın her tarafında aynı sıklıkta rastlanmaktadır. Bunlar diğer sitoplazmik teşekküllerden çok daha büyüktür. Aslında yuvarlak olan bu teşekküller, vitellus globulleri gibi, preparasyon sırasında ovalleşmektedir. En iricinin uzun eksenleri 5 mik-



Şekil 11. Vitellus globullerindeki koyu bölgeleri teşkil eden 60 \AA 'luk partiküllerin yerleşme durumu. A. Yeni yumurtlanmış bir zigotta partiküller kristal formasyonları teşkil etmiş vaziyette (a). x 95,000. B. Yumurtlandıktan 90 dakika sonra kristal formasyonlarının çoğu dağılmış vaziyette (b). a) Mitokondriyum matriksinde dens bir granül, c) henüz bozulmamış bir kristal formasyonu. x 65,000.

Fig. 11. The state of localisation of the 60 \AA particles which build the dens areas within the yolk globules. A. In the newly ovulated zygote the particles are in crystal organisation (a). x 95,000.

B. 90 minutes after the ovulation the particles (b) lost their regular order and scattered irregularly into the matrix of the globule. a) A dens granule in the matrix of a mitochondrion, c) a still undemolished crystal formation. x 65,000.



Şekil 12. Zigot sitoplazmasında bulunan iri vakuoller. Vakuoller vitellus globullerinin dağılmaları ile meydana gelmektedir. a,) Genç bir vitellus globulu, a₂) olgun bir vitellus globulu, b) dağılmış vitellus globulleri, v) vakuoller. x 5, 670.

Fig. 12. Large vacuoles in the cytoplasm of a zygote. These vacuoles develop by the demolition of the yolk globules. a₁) A young yolk globule, a₂) a mature yolk globule, b) demolishing yolk globules, v) vacuoles. x 5,670.

ron kadar gelmektedir. İri vakuolleri sınırlandıran tekkatlı membran girintili çıkıntılı bir seyrc sahiptir. Membranı dışından, 1-2 kat halinde yassı endoplazmik kesecikler sarmış bulunmaktadır.

Vakuollerin içleri boştur. Ancak bazı vakuollerde, koyu tonda ve irili ufaklı olan çökeltilere rastlanmaktadır (Şek. 12 b). Bazıları vitellus globulleri gibi oval şekilli olan bu çökeltiler, kaba granüler bir yapı göstermektedir.

Sadece oosit döneminde bulunup, zigot döneminde dağılan hücre çekirdeği, kayda değer bir morfolojik özellik taşımamaktadır.

T a r t ı Ő m a

Helisoma trivolvis'in oositi de, diğer hayvanların oositleri gibi, follikül epitel hücreleriyle sarılmaktadır. Follikül epitel hücreleri genellikle iki kat halindedir. KEMP (19) ve HOPE et al. (13) bu iki kat arasında, amfibilerde bağdoku bulunduğunu bildirmektedir. Helisoma'da ise bu kısımda bağdoku bulunmamakta; iç ve dış follikül hücreleri birbirlerine Desmosome'larla kenetlenmektedir.

Genç oosit döneminde oosit yüzeyi ile iç follikül hücre katı birbirine iyice değmiş vaziyettedir. Oositin gelişmesi sırasında iç follikül katı ile oosit yüzeyi arasında şekillenen aralık Helisoma'da struktur gösteren bir madde taşımamaktadır. Memcliler ve amfibilerde ise Zona pellucida diye isimlendirilen bu kısım, mukopolisakkaritlerden zengin bir madde ile dolu bulunmaktadır.

Oosit yüzeyinde mikrovillusların şekillenmesi ve oositin gelişmesine paralel olarak yüzeydeki pinositotik veziküllerin sayıca artması, hücrenin dışardan madde aldığıını göstermektedir. Follikül epitel hücrelerinin bol miktarda vezikül taşıması da herhalde bundan ileri gelmektedir.

Bu hayvancığın oositinde mikrovilluslar iyi gelişmemiştir. Mikrovillusların oositte emme işinden başka, Zona pellucida'yı teşkil eden maddelerin yapımına da katıldıkları bildirilmektedir (WARTENBERG, 33). Helisoma'da mikrovillusların iyi gelişmemiş olması, Zona pellucida bulunmamasından ileri gelmiş olsa gerektir.

Mikrovillusların gerilemesine karşılık pinositoz veziküllerinin artması, Helisoma'da madde alış verişinin daha çok bu veziküller aracılığı ile meydana geldiğini göstermektedir. Nitekim adı geçen veziküllere, kokon içinde bulunan zigotlarda da bol miktarda rastlanmaktadır. KRAUSKOPF (22) pinositotik vezikülleri sınırlandırıcı membranın oolemden daha kalın olduğunu bildirmektedir. Helisoma'da da veziküllerin duvarları, veziküller sitoplazmanın derinliğine indikçe kalınlık kazanmaktadır. Bu durum, pinositotik veziküllerde sentez olaylarının meydana geldiğine işarettir. Esasen pinositotik veziküllerin aktif teşekküller oldukları, multiveziküler cisimcikleri meydana getirmelerinden bellidir.

Yeni şekillenmekte olan oositte sitoplazmanın büyük çoğunluğunu teşkil eden hiyaloplazma, çekirdek tarafından salgılanan ribonukleik asit (RNA) moleküllerinden meydana gelmiştir. Başlangıçta 35 A°luk tanecikler halinde olan RNA, oositin gelişmesine paralel olarak daha iri partiküller teşkil etmekte ve sonunda, Palade partikül-

leri adı da verilen 150 A^oluk ribozomları meydana getirmektedir. Ribozomlar, sitoplazmada yer alan çeşitli sentez olaylarında kullanılırlar. Olgunlaşan oositte azalmaları bundan ileri gelmektedir. WARTENBERG (33) de, amfibi oositinde, gelişmeye paralel olarak ribozomlarda azalma olduğunu bildirmektedir. ZAMBONI ve MASTROIANNI (38) ve KRAUSKOPF (22)'un tavşan oositinde rastladıkları rozet teşkil etmiş ribozomlar (Polysome), Helisoma oosit ve zigotunda da bulunmaktadır.

Endoplazmik retikulum genç ve olgunlaşmakta olan oositlerde azdır ve veziküllerden ibarettir; olgunlaşma ilerledikçe miktarca artmakta ve bir kısmı yassı keseciklere dönüşmektedir. SOTELO ve PORTER (28) de rat yumurtasında aynı durumla karşılaşmıştır. KESSEL (21) Crustacea'da endoplazmik retikulumun vitellus teşekkülünde direkt rol aldığını bildirmektedir. Helisomo'da biz bu durumla karşılaşmadık. Daha sonra da görüleceği üzere, bu hayvanlıkta vitellus teşekkülünden büyük ölçüde multiveziküler cisimcikler sorumlu bulunmaktadır. Ancak endoplazmik retikulumun da bu olayda bir payı olsa gerektir. Şöyle ki: multiveziküler cisimcikleri sınırlandıran tek katlı membranın nasıl şekillendiği bilinmemektedir. Kanımızca endoplazmik veziküller birleşerek bir kesecik meydana getirmekte (Şek. 4 h); bu da herhangi bir tarafından yarıklanmak suretiyle, genç multiveziküler cisimcikleri sınırlandıran semisirküler membrana (Şek. 9A c) dönüşmektedir. Endoplazmik veziküllerin membranlara dönüşebildiği hususu üzerinde ROBERT et al. (25) de durmuştur. Araştırmacılara göre, zigotun bölünmesi sırasında adı geçen veziküller birleşerek hücre membranı meydana getirmektedir. Ayrıca, vitellus globullerinin etraflarından yassı endoplazmik keseciklerle sarılı olması da, endoplazmik retikulumun, vitellus teşekkülüne bir katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Zigotta endoplazmik retikulumun artması, hattâ yer yer sadece endoplazmik retikulumdan ibaret odakların bulunması ROBERT ve arkadaşlarının (25) görüşüne hak kazandırmaktadır. Bilindiği gibi, zigotun bölünmesi sırasında, meydana gelecek Blastomere'lerin sitoplazma ve çekirdeklerinin sınırlandırılması için yedek membranlara ihtiyaç vardır. Zigotta sadece endoplazmik retikulumdan ibaret odakların bulunması bununla ilgili olsa gerektir. ZAMBONI ve MASTROIANNI (39) de tavşan yumurta hücresinde bu tür odaklarla karşılaşmışlardır. Araştırmacılar bu odakları endoplazmik retikulumun proliferasyon bölgeleri olarak kabul etmektedir. Bu görüş doğru olsa bile, endoplazmik retikulumun kökenini izaha yeterli bulunmamaktadır. Çünkü bu odaklar gelişmenin ileri basamaklarında belir-

mektedir. HOPE et al. (14) Salamander'de, KRAUSKOPF (22) da tavşanda ilk endoplazmik veziküllerin çekirdek dış zarından ayrıldıklarını bildirmektedir. Helisoma'da bu durumla karşılaşmadık. İster oositte, ister zigotta olsun, Golgi aparatları dolayları endoplazmik veziküllerden, sitoplazmanın diğer kısımlarına kıyasla daima daha zengin bulunmaktadır (Şek. 7 a). Kanımıza göre, endoplazmik retikulumuna ait bu veziküller, Golgi keseciklerinden ayrılan küçük veziküllerin (e) birleşmeleri ile meydana gelmekte ve sitoplazmaya yayılmaktadır. SOTELO ve PORTER (28)'in ratta, KRAUSKOPF (22)'un tavşanda, BRETSCHNEIDER ve RAVEN (6)'in Limnea stagnalis'de ve WISCHNITZER (35)'in salamanderdeki bulgularına uygun olarak Helisoma'da da, Golgi aparatları önce sitoplazmanın derinlerinde, çekirdek dolaylarında belirlemekte ve zamanla oositin periferine doğru göç etmektedir.

Pigment granüllerine KEMP (18, 19) Rana pipiens'de ve WARTENBERG (33) Triton alpestris'de oositin periferinde rastlamıştır. HOPE et al. (15)'a göre, pigment granüllerini ince partiküller meydana getirmektedir. Helisoma'da da pigment granülleri aynı şekil ve lokalizasyonu göstermektedir.

Oositin gelişmesiyle mitokondriyumların değişikliğe uğradığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Helisoma'da mitokondriyumlarda meydana gelen değişiklikler, ANDERSON et al. (1)'in tavşan oositinde rastladığı değişikliklere aynen uymaktadır. Tavşanda olduğu gibi, Helisoma'da da, genç oositte mitokondriyumlar çoğunlukla uzun şekillidir ve kristaları uzun eksene paralel seyretmektedir. Oosit geliştikçe mitokondriyumlar yuvarlaklaşmakta ve kristalar yön değiştirmektedir. Ancak araştırmacı çalışmasında, mitokondriyal kristaların şişmelerinden bahsetmemektedir. Oosit geliştikçe mitokondriyumların şiştiklerini ilk olarak BRAMBEL (5) görmüştür. Araştırmacı şişme olayının, ya mitokondriyumlarda bir madde yapılıması, ya da dışardan madde alınması ile ilgili olduğunu bildirmektedir. Araştırmacıya göre bu madde daha sonra vitellus globullerine geçmektedir. WISCHNITZER (37) fare oositinde bulunan mitokondriyumların, aynen Helisoma'da olduğu gibi, kademeli bir değişikliğe uğradığını; zamanla mitokondriyal kristalarda vakuol belirdiğini ve bu vakuollerin gittikçe irileştiğini bildirmektedir. Bütün bu benzerliklere rağmen, bölünmeye hazırlanan zigotta kristaların tekrar eski şekillerine dönmeleri (Şek. 7 b) hususundan hiçbir araştırmacı bahsetmemektedir.

Mitokondriyumlarda meydana gelen bu değişiklikler, bunların bu dönemde yüksek bir sentez faaliyetinde bulduklarına bir işaret

olsa gerektir. Sentez olayları için fazla enerjiye ihtiyaç vardır. Zigot döneminde yağ damlacıklarının hızla azalmaları, bunların enerji maddesi olarak kullanıldıklarını göstermektedir. GURAYA (12) da, gelişmesini tamamlamış oositte yağ maddelerinin azalma gösterdiğini bildirmektedir.

Multiveziküler cisimcikler hemen hemen bütün hayvanların yumurta hücrelerinde bulunmaktadır. SOTELO ve PORTER (28) ratta, KRAUSKOPF (22) tavşanda, HOPE et al. (14) salamanderde ve WARTENBERG (34) kertenkelede multiveziküler cisimciklerin esasını küçük veziküllerin teşkil ettiğini bildirmişlerdir. Helisoma'da da durum böyledir. WARTENBERG bu veziküllerin, pinozitoz vezikülleri olduklarını deneysel olarak ispatlamıştır.

HOPE et al. (14)'in de belirttiği gibi, multiveziküler cisimcikler, ooplazmada vitellus globullerinden daha önce şekillenmektedir.

Vitellus globullerine, bazı memeliler, bu arada insan hariç, hemen bütün hayvanların oositlerinde rastlanmaktadır ((STEGNER ve WARTENBERG, 29). Bunlar irili ufaklı teşekküllerdir. ELBERS (9) *Limnea stagnalis*'de en iri globullerin 1,6 mikron kadar geldiklerini bildirmektedir. Helisoma'da da globul iriliği 1,5 mikrona kadar ulaşmaktadır. FAVARD ve CARASSO (10) ise *Planorbis corneus*'da bunların 3 mikron irilikte olanlarına da rastlamışlardır.

Vitellus globulleri heterojen teşekküllerdir. Globuller içinde yer yer globul zemininden daha koyu görünen (Şek. 6 g) ve çoğu zaman kristal kuruluşunda olan (Şek. 11A a) kısımlar bulunmaktadır. WARD (32) *Rana pipiens*'de; BRETSCHEIDER ve RAVEN (6), ELBERS (9) ve BLUEMINK (4) *Limnea stagnalis*'de; LANZAVECCHIA (23) *Rana esculenta*'da; FAVARD ve CARASSO (10,11) *Planorbis corneus*'da ve WARTENBERG (33,34) çeşitli amfibilerde bu koyu kısımların, muntazam dizilmiş taneciklerden meydana gelmiş bölgeler olduklarını; BERTHIER (2), FAVARD ve CARASSO (10,11) ve BLUEMINK (4) bu bölgelerde proteinlere bağlı olarak demir bulunduğunu bildirmişlerdir.

Vitellus globullerinin hangi organel içinde şekillendikleri hususundaki görüşler çok farklıdır. WARD (31,32) ve WISCHNITZER (36)'e göre amfibilerde, vitellusun tamamı mitokondriyumlarda; LANZAVECCHIA (23)'a göre ise büyük çoğunluğu multiveziküler cisimciklerde, geri kalanı mitokondriyumlarda; FAVARD ve CARASSO (10,11) ve CARASSO ve FAVARD (7)'a göre *Planorbis corneus*'da çoğunluğu mitokondriyumlarda, az bir kısmı ise sitoplazmada; KEMP (19) e göre *Rana pipiens*'de; HOPE et al. (14)'e göre sala-

manderde ve WARTENBERG (33,34)'e göre ise tüm amfibilerde; KRAUSKOPF (22)'a göre tavşanda tamamı multiveziküler cisimciklerde şekillenmektedir. Buna karşılık BERTHIER (2) Planorbis corneus'da ve BRETSCHNEIDER ve RAVEN (6) Limnea stagnalis'de vitellusun Golgi aparatlarında yapıldığını; BRAMBEL (5) Helix aspersa'da Golgi aparatında yapılan vitellusa mitokondriyumların da katkıda bulunduğunu; KESSEL (20) ise Thyrona briareus'da, sitoplazmada meydana gelen vitellusun Golgi aparatlarında son şeklini aldığını bildirmektedirler.

Bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere, vitellusun nerede oluştuğu üzerinde görüş birliğine varılamamıştır. Hattâ aynı hayvanda bile, çeşitli araştırmacılar, vitellogenozden değişik organelleri sorumlu tutmaktadır.

Helisoma'da vitellus teşekkülüne gelince: Kanımızca bu hayvancıkta vitellus multiveziküler cisimciklerde meydana gelmekte, ancak, bu olayda çeşitli organellerin de büyük payı bulunmaktadır. Multiveziküler cisimciklerde vitellus şekillendiğini çeşitli araştırmacılar da (WARTENBERG, 34,33; LANZAVECCHIA, 23; KRAUSKOPF, 22) kabul etmektedir. Vitellus globullerinde bulunan kristal kuruluşundaki bölgelere (Şek. 11A a), olgunlaşmakta olan multiveziküler cisimciklerde de rastlamış olmamız (Şek. 9B f) bu görüşe kuvvet kazandırmaktadır. Elde ettiğimiz elektron mikrograflara dayanarak vardığımız sonuca göre, kökenini Golgi aparatlarından alan endoplazmik veziküllerden bazıları (Şek. 4 b) birleşerek bir kese meydana getirmekte (h); bu kese büyüyerek bir tarafından yarıklanmakta ve bu kısımdan kese içine pinositoz ve Golgi vezikülleri ile, sitoplazmada bulunan ribozomlar dolmaktadır. Genç multiveziküler keseciklerin etrafında rastlanan, iki uçları içe kıvrık, semisirküler membran (Şek. 9 A c), bu yarıklanmış kesenin kesitlerdeki görüntüsü olsa gerektir. Herhalde kese içine dıştan madde akımı sırasında uçlar içe doğru kıvrılmaktadır. HOPE et al. (14) da membranın bu içe kıvrık durumuna rastlamışlardır.

Vitellus maddesini teşkil etmek üzere multiveziküler cisimciklere, daha başka maddeler de girmektedir. WARTENBERG (34) Triton alpestris'e periton içi demirli madde vererek, bu maddenin oositlerdeki multiveziküler cisimciklerde toplandığını, hattâ buralarda kristal formasyonları meydana getirdiğini ispatlamıştır. FAVARD ve CARASSO (10, 11) ve BLUEMINK (4) de globullerdeki kristal formasyonlarının, proteinlerle birlikte demir taşıdığını bildirirken, SCHEIDE et al. (26) ve KARASAKI (16) bu kısımların

lipovitellin maddesinden, yani protein ve fosfolipid kompleksinden ibaret olduğunu iddia etmektedir.

Multiveziküler cisimcikler, dolayısıyla vitellus teşekkülü ile mitokondriyumlar arasında da yakın bir ilişki bulunmaktadır. Daha önce de belirtildiği üzere, oositte vitellus globullerinin artmasına paralel olarak mitokondriyal kristalarda da şişmeler olmaktadır. Öyle sanyoruz ki, kristalarda sentezlenen maddeler buralardan multiveziküler cisimciklere geçmekte ve vitellus teşekkülüne katılmaktadır. Bölünmeye hazırlanan zigotta multiveziküler cisimciklerin azalmalarına paralel olarak bu şişkinliklerin kaybolması da bundan ileri gelse gerektir.

Sonuç olarak denilebilir ki, vitellogenenez çok kompleks bir olaydır. Bu olayda, pinositotik veziküllerle hücre dışından, Golgi vezikülleri ile Golgi aparatlarından, ribozomlarla çekirdekten ve direkt yolla mitokondriyumlardan gelen çeşitli maddeler, multiveziküler cisimciklerde birbirleriyle karışarak, vitellus denen maddeyi meydana getirmektedir.

Acaba vitellus maddesi ne işe yaramaktadır? Yakın zamana kadar vitellusun yedek besin deposu olduğu kabul edilmekte idi. Ancak BLUEMINK (3, 4) bu konuya yeni bir görüş getirmektedir. Adı geçen araştırmacıya göre, vitellus globulleri, lizozom karşılığı olan teşekküllerdir; hidrolitik enzimlerden spesifik asit fosfataz ve organofosfat rezistan esteraz enzimlerini inaktif şekilde taşırlar; dışarıdan su alarak şişer ve aktif hale geçerler. Araştırmacının bu görüşü bizce de makul görülmektedir. Çünkü SCHNITKA ve YOUNGMAN (27)'in yaptığı araştırmalara göre, çeşitli omurgalıların karaciğer epitel hücrelerinde bulunan "microbody" ler de enzim (uricase) taşımakta ve bunlarda da kristal formasyonları bulunmaktadır. Microbody'ler vitellus globullerine büyük benzerlik göstermektedir. Bunlar da 1 mikron kadar irilikte, yuvarlak-oval şekilli ve etraflarından tekkatlı bir membranla çevrili teşekküllerdir. Bu da göstermektedir ki hücreler, gerektiğinde enzimleri inaktif halde depo edebilmektedir.

BLUEMINK (4) Blastomere'lerde bulunan iri vakuollerin, kapsül sıvısını pinositotik yolla hücre içine alan veziküllerin birleşmeleri ile meydana geldikleri ve aktif hale geçen vitellus globullerinin de bu vakuoller içine göç ettikleri görüşündedir. Biz bu görüşe katılmamaktayız. Bize göre iri vakuoller (Şek. 12 v) bizzat vitellus globullerinin şişip erimeleri sonucu şekillenmektedir. Bir kısım vakuollerde bulunan koyu renkli çökelti de, vitellus artıklarıdır. Herhalde dışarıdan pinositotik veziküllerle gelen besin maddeleri, vitellus

globullerinin sıvılaşımları ile şekillenen vakuollere girip burada anzimlerin etkisiyle parçalanmaktadır.

Vitellus globullerinde bulunan kristal formasyonlarının önemi üzerinde durulmamıştır. Bu teşekküller, anzim türü yönünden esaslı şekilde incelenmemiştir. Globullerde bulunan koyu bölgelerin, (kristal formasyonlarının), kristalize olmuş oksidasyon anzimlerinden ileri gelmesi mümkündür. Eğer böyle ise, globullerin erimeleriyle meydana gelen vakuolleri, alınan besin maddelerinin sonuna kadar parçalandığı ve enerjinin açığa çıktığı yerler olarak kabul etmek gerekir. THEMANN ve BASSEWITZ (30) insan karaciğerinde, mitokondriyumların matrikslerinde, vitellus globullerindeki kristal formasyonlarına benzer yapıda teşekküller bulmuş ve histokimyasal yolla bunların kristalize olmuş inaktif sitokrom oksidaz anzimi olduklarını ispatlamıştır. Mitokondriyumlarda kristal dizilişi gösteren bir maddenin, vitellus globullerinde de aynı akıbete uğraması mümkündür. Vitellus globulleri ile mitokondriyumlar arasında, daha önce de görüldüğü üzere yakın bir iş ortaklığı vardır.

WARD (31, 32), WISCHNITZER (36), LANZAVECCHIA (23) ve FAVARD ve CARASSO (11) gibi araştırmacılar, vitellus maddesinin kısmen veya tamamen mitokondriyumlarda şekillendiği görüşündedirler. Araştırmacıların mitokondriyumların matrikslerinde gördükleri kristal kuruluşundaki vitellusun, THEMANN ve BASSEWITZ(30)'in bulgularının ışığı altında, mitokondriyumlarda depolanmış inaktif oksidasyon anzimleri olmaları ihtimali akla gelmektedir. Helisoma'da zigot döneminde mitokondriyal matrikste rastladığımız granüllerin de, yoğunlaşmış oksidasyon anzimleri olmaları muhtemeldir.

Bütün bu söylenenlerden şu sonucu çıkartmak mümkündür: Vitellus globulleri, yedek besin deposu olmaktan daha çok, yedek anzim depolarıdır. Oosit döneminde ve genç zigotta yapılan bu teşekküller, embriyogenez sırasında, dışardaki kapsül sıvısından alınan besin maddelerinin yıkımında kullanılmaktadır. Helisoma trivolvis'in de dahil bulunduğu Mollusca grubu hayvanlarda zigot, etrafından, bol miktarda bir besleyici madde ile sarılı olarak vücuttan dışarı atılmaktadır. Kapsül sıvısı adı verilen bu madde, su, kalsiyum, protein, demir ve galaktojenden zengin bulunmaktadır (KEİLİN, 17; BLUEMINK, 4). Şekil 1C de görüleceği üzere, bu kapsül sıvısının (c) miktarı, zigottan kat kat fazladır. Bu derece fazla bir besin deposu ile dünyaya gelen bir hücrenin ise, bünyesinde besin depo etmesine pek lüzum olmasa gerektir. Bu durum da, vitellus globullerinin, yedek besin maddesi değil de, yedek anzim depoları ol-

dukları görüşüne kuvvet kazandırmaktadır. Ancak bu hususta kesin bir karara varabilmek için, anzim türü yönünden vitellüs globullerini etraflı bir şekilde incelemek gerekmektedir.

L i t e r a t ü r

- 1 – **Anderson, E., Condon, W., Sharp, D.** (1970): *A study of oogenesis and early embryogenesis in the rabbit, Oryctolagus cuniculus, with special reference to the structural changes of mitochondria.* J. Morphol. 130:67-91.
- 2 – **Berthier, J.** (1948): *Le fer dans l'ovogenese chez Planorbis corneus.* Bull. Biol. Fr. Belg. 82:61-94.
- 3 – **Bluemink, J.G.** (1967): *The subcellular structure of the blastula of Limnea stagnalis L. (mollusca) and the mobilisation of the nutritient reserve.* Thesis, Utrecht. Cite: Bluemink (1970).
- 4 – **Bluemink, J.G.** (1970): *Are yolk granules related to lysosomes?* Zeiss Information (Oberkochen) 73:95-99.
- 5 – **Brambel, F.W.R.** (1924): *The nature and origin of yolk.* Brit. J.exp. Biol. 1:501-517.
- 6 – **Bretschneider, L.H., Raven, C.P.** (1951): *Structural and chemical changes in the egg cells of Limnea stagnalis during oogenesis.* Arch. Neer. Zool. 10:131.
- 7 – **Carasso, N., Favard, P.** (1958): *L'origine des plaquettes vitellines de l'oeuf de Planorbe.* C.R. Acad. des Sc. 246:1594-97.
- 8 – **Crossmon, G.** (1937): *A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved.* Anat. Rec. 69:33-38.
- 9 – **Elbers, P.F.** (1957): *Electron microscopy of protein crystals in ultrathin sections of the egg of Limnea stagnalis.* Proc. Kon. Acad. Wetensch. 60:96-98.
- 10 – **Favard, P., Carasso, N.** (1957): *Mise en évidence au microscope électronique de granules proteiques.* C.R. Acad. des Sc. 245: 2547-2550.
- 11 – **Favard, P., Carasso, N.** (1958): *Origine et ultrastructure des plaquettes vitellines de la Planorbe.* Arch. Anat. Micr. (Paris) 47: 211-234.
- 12 – **Guraya, S.S.** (1969): *Histochemical study of lipids in the developing ovarian oocyte of the golden hamster (Mesocricetus auratus).* Acta Anat. 74:65-75.

- 13 – **Hope, J., Humphries, A.A., Bourne, G.H.** (1963): *Ultrastructural studies on developing oocytes of the salamander, Triturus viridescens. I. The relationship between follicle cells and developing oocytes.* J. Ultrastr. Res. 9:302–324.
- 14 – **Hope, J., Humphries, A.A., Bourne, G.H.** (1964 a): *Ultrastructural studies on developing oocytes of the salamander, Triturus viridescens. II. The formation of the yolk.* J. Ultrastr. Res. 10:547–556.
- 15 – **Hope, J., Humphries, A.A., Bourne, G.H.** (1964 b): *Ultrastructural studies on developing oocytes of the salamander, Triturus viridescens. III. Early cytoplasmic changes and the formation of pigment.* J. Ultrastr. Res. 10:557–566.
- 16 – **Karasaki, S.** (1963): *Studies on the amphibian yolk. 5. Electron microscopic observations on the utilisation of yolk platelets during embryogenesis.* J. Ultrastr. Res. 9:225–247.
- 17 – **Keilin, J.** (1960): *The nature of the haemoprotein in the eggs of Planorbis corneus.* Acta Biochem. Pol. 7:367–375.
- 18 – **Kemp, N.E.** (1953): *Synthesis of yolk in oocytes of Rana pipiens.* J. Morphol. 92:487–505.
- 19 – **Kemp, N.E.** (1956): *Electron microscopy of growing oocytes of Rana pipiens.* J. biophys. biochem. Cytol. 2:281–292.
- 20 – **Kessel, R.G.** (1966): *Some observations on the ultrastructure of the oocyte of Thyrona briareus with special reference to the relationship of the Golgi complex and endoplasmic reticulum in the formation of yolk.* J. Ultrastr. Res. 16:305–319.
- 21 – **Kessel, R.G.** (1968): *Mechanism of protein yolk synthesis and deposition in crustacean oocytes.* Z. Zellforsch. 89:17–38.
- 22 – **Krauskopf, C.** (1968): *Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur der Oozyte und des 2-Zellstadium beim Kaninchen. I. Oozyte.* Z. Zellforsch. 92:275–295.
- 23 – **Lanzavecchia, G.** (1965): *Structure and demolition of yolk in Rana esculenta L.* J. Ultrastr. Res. 12: 147–159.
- 24 – **Luft, H.J.** (1961): *Improvements in epoxy resin embedding methods.* J. biophys. biochem. Cytol. 9:409.
- 25 – **Robert, C., Buck, M.D., Tisdale, J.M.** (1962): *An electron microscope study of the development of the cleavage furrow in mammalian cell.* J. Cell Biol. 13:117–125.

- 26 - **Scheide, O.A., Levi, E., Flickinger, R.A.** (1955): *Growth*: 19:297. Cite: *Karasaki* (1963).
- 27 - **Schnitka, T.K., Youngman, M.M.** (1966): *Comparative ultrastructure of hepatic microbodies in some mammals and birds in relation to species differences in uricase activity*. *J. Ultrastr. Res.* 16: 598-625.
- 28 - **Sotelo, J.R., Porter, K.R.** (1959): *An electron microscope study of the rat ovum*. *J. biophys. biochem. Cytol.* 5:327-342.
- 29 - **Stegner, H.E., Wartenberg, H.** (1963): *Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Eizellen des Menschen in verschiedenen Stadien der Oogenese*. *Arch. f. Gynaek.* 199:151-172.
- 30 - **Themann, H., Bassewitz, D.B.** (1969): *Parakristalline Einschlusskörper der Mitochondrien des menschlichen Leberparenchyms*. *Cytobiol.* 1:135-151.
- 31 - **Ward, R.T.** (1959): *Observations on the origine of yolk*. *Anat. Rec.* 134:651.
- 32 - **Ward, R.T.** (1962): *The origin of protein and fatty yolk in Rana pipiens. II. Electron microscopical and cytochemical observations of young and mature oocytes*. *J.Cell Biol.* 14:309-341.
- 33 - **Wartenberg, H.** (1962): *Elektronenmikroskopische und histochemische Studien über die Oogenese der Amphibieneizelle*. *Z. Zellforsch.* 58:427-486.
- 34 - **Wartenberg, H.** (1964): *Experimentelle Untersuchungen über die Stoffaufnahme durch Pinocytose waehrend der Vitellogenese der Amphibienoozyten*. *Z. Zellforsch.* 63:1004-1019.
- 35 - **Wischnitzer, S.** (1962): *An electron microscopic study of the Golgi apparatus of amphibian oocytes*. *Z.Zellforsch.* 57:202-212.
- 36 - **Wischnitzer, S.** (1964): *Ultrastructural changes in the cytoplasm of developing amphibian oocytes*. *J.Ultrastr. Res.* 10:14-26.
- 37 - **Wischnitzer, S.** (1967): *Intramitochondrial transformation during oocyte maturation in the mouse*. *J.Morphol.* 121:29-45.
- 38 - **Zamboni, L., Mastroianni, L.** (1966 a): *Electron microscopic studies on rabbit ova. I. The follicular oocyte*. *J.Ultrastr. Res.* 14: 95-117.
- 39 - **Zamboni, L., Mastroianni, L.** (1966 b): *Electron microscopic studies on rabbit ova. II. The penetrated tubal ovum*. *J.Ultrastr. Res.* 14:118-132.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 12.8.1970 günü gelmiştir.