

DOKU KÜLTÜRÜNDE ZEYTİN YAĞININ RADYASYONDAN KORUYUCU ETKİSİ*

Cemalettin Köküslü**

The Protective Effect of Olive Oil Against the Radiation Injuries in Tissue Culture.

Summary: The effects of radiation at the dose levels of 150 r., 500 r. and 1000 r. were investigated on the fibroblasts and the epithelial cells in tissue culture. The protective effect of olive oil against the radiation injuries on the living cells was examined.

The results can be summarized as follow:

1. The affected cells were swollen, cloudy and opaque in the fibroblastic cultures. Their shapes were ovoid and round. They had bigger nuclei than the nuclei of the non-affected cells. The growth of the living cells was inhibited.
2. We observed some cells showing ovoid-small cytoplasm and also chromatin debris and giant cells in the epithelial cultures.
3. The same findings were observed at 24 hours when the cultures were irradiated with 1000 r. dose as the findings formed in the fibroblasts and the epithelial cells at 48 and 72 hours after irradiation with 500 r. dose.
4. The growth of fibroblasts was inhibited at the level of 1000 r. dose.
5. 150 r. dose of radiation showed a temporary effect on the fibroblasts.
6. The changes found in the irradiated cultures with or without olive oil added were the same.
7. The addition of olive oil showed a slight toxic effect on the cell cultures.
8. It was seen that the addition of olive oil to the cultures had no protective effect against the radiation injuries in tissue culture.

Özet: Doku kültüründe fibroblast ve epitel hücreleri üzerinde 150r., 500r., ve 1000r. dozlarında meydana gelen değişiklikler tetkik edilmiş ve bunlara karşı zeytin yağının koruyucu etkisi olup, olmadığı araştırılmıştır.

* Cemalettin Köküslü tarafından 1968 yılında hazırlanan doçentlik tezinden özetlenmiştir. Çalışmanın radyasyon uygulamasında imkânlarından faydalandığımız A. Ü. Tıp Fakültesi Radyobioloji Enstitüsü mensuplarına teşekkürü bir borç biliriz.

** A. Ü. Veteriner Fakültesi Umumi ve Tecrübi Patoloji Kürsüsü Doçenti, Ankara, Türkiye.

Alınan Sonuçlara Göre:

- 1- Radyasyonlu fibroblast kültürlerinde, şişmiş oval veya yuvarlak, üçgen, dörtgen ve beşgen şeklinde sitoplasmalı, bazen de uzantılı ve büyük çekirdekli hücreler ile üremede yavaşlama durumu görülmüştür.
- 2- Radyasyonlu epitel hücreleri arasında küçük, yuvarlak, oval sitoplasmalı dejenere hücreler ile kromatin yığınları (ölü hücre artığı) görülmüş ve dev hücrelerinin artan radyasyon dozunda azaldıkları tesbit edilmiştir.
- 3- 500r. dozunda 48. ve 72. saatlerde şekillenen fibroblast ve epitel hücrelerindeki bozukluklar, 1000 r. dozunda 24. saatte belirmektedir.
- 4- 1000r. dozunda fibroblastlarda üreme durmuştur.
- 5- 150r. dozu fibroblastlarda geçici bir etki göstermektedir.
- 6- İrradiye edilmiş zeytin yağı ve zeytin yağsız kültürlerde aynı bulgulara rastlanmıştır.
- 7- Zeytin yağlı kontrol kültürlerinde, zeytin yağının toksisitesine ilgili hafif dejenereasyon görülmüştür.
- 8- Doku kültüründe radyasyona karşı zeytin yağının koruyucu etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

Giriş

Radyasyonun etkisini ve bunu zararsız hale getirmek için deney hayvanları üzerinde birçok araştırmalar yapılmıştır. Son zamanlarda ise bu alanda doku kültüründen faydalanılarak direkt hücre üzerindeki tetkiklere daha fazla önem verilmiştir.

Doku kültüründe radyasyonun etkisini incelemek için asılı damla metodu ile üretilmiş, fibroblast kültürleri üzerine Siemens apareyi yardımıyla 250r., 500r., 1000r. X ışınları verilmiş ve bu dozlarda, hücrelerde meydana gelen bulgular incelenmiştir. Kültürlerdeki gelişmenin 500r. -1000r. dozlarında yavaşladığı, daha sonra hücre çekirdeklerinde bazofilinin kaybolduğu, mitokondriada değişikliğin meydana geldiği ve 1000r. dozunda bu değişikliğin letal olduğu tesbit edilmiştir⁽¹⁵⁾.

Elkind⁽⁶⁾, petri kutuları ve şişelerde ürettiği 10-11 günlük fibroblast kültürlerinde X ışınlarının etkilerini incelemiş ve subletal olarak irradiye edilmiş hücrelerde görülen dejeneratif olayların geçici olduğunu bildirmiştir.

X ışınları ile irradiye edilmiş hücrelerde mitoz durumunu incelemek için Elkind ve ark.⁽⁵⁾ hamster hücrelerini 217r., 433r., 993r. dozlarında radyasyona tabi tutmuşlardır.

Başlangıçta her üç dozda da mitoz adedinde bir düşme görmüşler fakat 217r. ve 433r. dozlarında daha sonra mitozların çoğalmadı-

ğını buna karşılık irradiye edilmemiş hücrelerde mitoz indeksinde % 4.5-% 6.5; radyasyonlu son iki grupta ise % 10 oranında bir yükseklik tesbit etmişlerdir.

Katzberg⁽⁹⁾ doku kültüründe üretilen insan hücrelerini vücut ısısında, yüksek dozda radyasyona tabi tuttuğu zaman, bir mitotik inhibisyon görmüştür. Buna karşılık dondurulmuş kültürlerde bu mitotik inhibisyonu görmediği gibi 200r. dozundan daha az radyasyon dozlarında bu bulguya rastlamamıştır.

Dondurulmuş hücreler üzerinde radyasyonun etkilerini araştırmak için X ışınlarının, insan hücre kültürlerinde meydana getirdiği kromatin harabiyeti; -190°C. de bir likit nitrojen buz dolabında muhafaza edilen donmuş hücrelerde 75r., 300r., 600r., 2000r. dozları verildikten 12, 24, 36 saat sonra incelenmiş ve radyasyonda 12 saat sonra bu harabiyetin meydana geldiği tesbit edilmiş olup, 2000r. dozu hariç diğer dozlarda 24 saat sonra hiçbir harabiyet görülmemiştir. 25°C. de ise 50r., 100r., 200r. dozlarında 12 saat sonra yüksek bir kromatin harabiyeti görülmüş, 24 saat sonra bu harabiyet kaybolmuştur. 400r., 600r., 800r., 1000r. dozlarında 12 saat sonra metafazlar görülmemiş, fakat 24 saat içerisinde kromatin harabiyeti ortaya konmuştur. 36 saat sonra bu kromatin harabiyetinin hâlâ mevcut olduğu da tesbit edilmiştir. Netice olarak kromatin harabiyeti bakımından oda ısısında irradiye edilen hücrelerin, likit nitrojende irradiye edilen hücrelere nazaran, 1/3 oranında duyarlı oldukları anlaşılmaktadır⁽⁸⁾.

Doku kültüründe canlı hücreler üzerinde bazı antikarsinojen maddelerin ve X ışınlarının etkilerini, ayrı ayrı inceleyen Berry⁽³⁾, bunların etkileri bakımından yakınlıklarını da karşılaştırmalı bir şekilde ortaya koymuştur. Araştırmacı bu maksatla; 1) Nitrojen mustard. 2) Ethylene imine. 3) Epoxide. 4) Antimetabolite gibi maddeleri sırasıyla 1) 0,0003-0,003 mg/ml. 2) 0,0001-0,0015 mg/ml. 3) 0,000001-0,000015 mg/ml. 4) 0,0005-0,05 mg/ml. dozlarında kullanmıştır. Antikarsinojen maddelerin konsantrasyonu yükseldikçe, kültürde yaşayan hücrelerin yüzde oranında bir azalma görülmüştür. Bu arada 24 saat müddetle antimetabolite kullanıldığı taktirde, yaşayan hücrelerde, azalma oranının % 6'nın altına düşmediğini de tesbit etmiştir. Sonuç olarak araştırmacı canlı hücrelerin 1000r. lik doza kadar radyasyonu halinde, bu hücrelerin sayılarının azalmasındaki yüzde oranı ile antikarsinojen maddelerin etkileri arasında sıkı bir yakınlık görüldüğünü ortaya koymuştur.

Radyasyonun zararlı etkilerini azaltabilmek amacıyla Billen⁽⁴⁾, 1000r. dozu ile irradiye edilmiş farelere, doku kültüründe üretilmiş 4

günlük kemik iliği hücrelerini, damar içi enjekte etmiŐ ve az bir koruyucu etki tesbit etmiştir. 9 günlük kemik iliği hücreleri ile yapılan ayni denemede ise, bu koruyucu etkinin tamamıyla ortadan kalktiğını görmüştür.

AraŐtırıcı, bu çalıŐması ile daha evvel Ferrebce ve ark.⁽⁷⁾ tarafından yapılmıŐ çalışmada goor. dozu ile irradiye edilmiş 12-15 haftalık farelere, damar içi yolla enjekte edilmiş kemik iliğinin, radyasyona karşı koruyucu etkisi olduğunu gösteren sonuçlara göre tamamıyla değişik sonuçlar almıştır.

Radyasyona karşı, yaŐıyan hücreleri korumak amaciyle Ver-groescn, Budke ve Vos⁽¹⁶⁾, petri kutusunda ürettikleri insan böbrek hücrelerini 22or. dozunda X ışınları ile irradiye etmiŐler ve bu hücrelere cystamine, cystine, histamine, noradrenalin, adrenalin gibi koruyucu maddeler ilave etmişlerdir. Bütün bu kimyasal maddeler, hücrelerin radyasyona tabi tutulmasından 15-30 dakika evvel hücre kültürlerine konmuŐ ve radyasyona tabi tutulduktan 5 dakika sonra bu maddeler kültürlerden geri alınmıŐtır. AraŐtırıcılar aldıkları sonuçlarda kullandıkları kimyasal maddelerin hiçbir koruyucu etkisi bulunmadığını bildirmiŐlerdir. Ayrıca diethyldithiocarbamate'in toksik olduğunu da ilave etmektedirler.

Daha sonra yapılan araŐtırmalarda cysteine, cysteamine, glycerol ve dimethyl sulphoxide'in yüksek konsantrasyonlarda kullanıldıkları zaman radyasyona karşı, koruyucu etkileri olduğu görülmüştür. Ayrıca cysteine ve cysteamine'in hücreleri donmaya karşı da koruduğu tesbit edilmiştir. Ethylene glycol, diethylene glycol, propylene glycol, dimethyl formamide, glucose ve monoacetine'in canlı hücreleri donmaya karşı olduğu kadar radyasyona karŐıda koruduğu görülmüş methanol ve ethanol' n radyasyona karşı koruyucu etkileri olduğu, fakat donmaya karşı hücreleri korumadığı, pyridine N-oxide'in ise bu son iki kimyasal maddeye göre zıt bir etkisi olduğu ortaya konmuştur⁽¹⁷⁾.

Ashikawa ve Anderson⁽²⁾, zeytin yağının radyasyona karşı koruyucu etkisini araştırmak için, fareler üzerinde invivo olarak bir çalıŐma yapmıŐlardır. Bu çalışmada araŐtırıcılar 6-7 haftalık erkek beyaz İŐvi re farelerinin bütün gövdeleri irradiye edilecek Şekilde ve bir disk etrafında sıralanmıŐ k  k kavanozlar içinde bir özel cihazla irradiye etmiŐler ve burada 60or., 65or., ve 75or. gibi üç ayrı letal doz kullanmıŐlardır. 464 erkek beyaz İŐvi re faresi üzerinde yapılan bu araştırmada irradiyasyondan evvel bir saat veya irradiyasyondan sonra yarım saat içinde 1 ml. zeytin yağı, farelere periton içi olarak

enjekte edilmiştir. Bu çalışmada zeytin yağının gerek koruyucu (irradiyasyondan evvel) ve gerekse tedavi edici (irradiyasyondan sonra) amaçla kullanılması halinde, irradiyasyondan sonra, 30 gün süre ile yapılan incelemede canlı kalan farelerin sayısında, zeytin yağı enjekte edilmemiş olanların sayısına nisbetle bir fazlalık ile irradiye edilen bütün farelerde başlangıçta fazlaca olan bir ağırlık kaybı görülmüş, fakat bu ağırlık kaybı zeytinyağı enjekte edilmiş ve irradiye edilmiş farelerde, yalnız radyasyona tabi tutulmuş farelere nazaran tekrar ve çok daha çabuk olarak kazanılmıştır. Burada elde edilen bütün bulguların, radyasyon sendromunun kemik iliğinde meydana getirdiği bozukluklar safhasında görülmesi araştırmacıların dikkatini çekmiştir. İrradiyasyondan hemen sonra, zeytin yağı enjekte edilen farelerde, % 90 nisbetinde bir iyileşme tesbit edilmiştir.

Maqsood'un bildirdiğine göre⁽¹²⁾, Ashikawa ile yaptıkları araştırmada, 625r. dozu ile irradiyasyondan bir saat evvel veya bir saat sonra beyaz İsviçre farelerine periton içi yolla 1 ml. zeytin yağı enjeksiyonu ile, radyasyona tabi tutulmuş ve zeytinyağı verilmiş farelerde canlı kalan fare adedinin, yalnız radyasyona tabi tutulmuş olanlara nisbetle çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Şöyle ki 625r. dozu ile irradiye edilmiş olan farelerde, radyasyondan 30 gün sonra canlı kalan fare adedi % 35 iken, radyasyondan bir saat evvel veya bir saat sonra zeytin yağı enjekte edilmiş fareler için aynı süre içinde, bu rakam % 65 civarında bulunmuştur.

Beyaz İsviçre erkek farelerinin testisleri üzerinde yaptığı diğer bir çalışmada da Maqsood⁽¹²⁾, zeytin yağının radyasyona karşı bir etkisinin olup olmadığını araştırmış ve 625r. dozu kullanılarak irradiye edilen farelerin bir kısmına radyasyondan sonra bir saat içinde ayrı ayrı, 1 ml. dozunda ve periton içi olarak zeytinyağı enjekte etmiştir. 15 gün sonra yapılan incelemede, yalnız radyasyona tabi tutulmuş olan farelerin testislerinde seminifer kanallarda büzülme, interstisyumda ödematöz bir mayi ve hücre sıralarında bir düzensizlik görüldüğü halde, radyasyondan sonra zeytin yağı enjekte edilen farelerin testislerinde interstisyumda ödem mayiinin bulunmadığı ve seminifer kanalları döşeyen epitellerin çok sıralı ve düzenli bir şekilde olduğu tesbit edilmiş ve zeytin yağının hücre rejenerasyonunu hızlandırdığı sonucuna varılmıştır.

Bu araştırmacı daha evvel aynı canlılar üzerinde, aynı radyasyon dozunda, yine 1 ml. zeytin yağının periton içi yolla enjeksiyonu suretiyle yaptığı çalışmalarında tamamiyle değişik sonuçlar almıştır⁽¹⁰⁾.

Maqsood ve Ashikawa⁽¹¹⁾, irradiyasyondan sonra bir saat içerisinde ve 1 ml. miktarında periton içi verilen zeytin yağının kemik iliği,

dalak ve timusta da, hücre rejenerasyonunu ve hücrelerin sıralanmasını hızlandırdığını bildirmektedirler.

Materyal ve Metod

Radyasyonun canlı hücreler üzerindeki zararlı etkileriyle zeytin yağının buna karşı koruyucu etkilerini inceleyebilmek için kullanılan materyal ve uygulanan metod aşağıdadır.

1) Kullanılan hücreler :

a) Fibroblast üretilmesi (testis bağ dokusu hücreleri).

Eksplantın alınış şekli:

Mezbahada genç bir dananın kesilmesinden hemen sonra aseptik şartlar altında alınan bir testis, geniş kapaklı termos içinde kürsümüz doku kültürü laboratuvarına getirildi bir steril beherglas içinde kondu ve üzerine + 37°C de bırakılmış phosphate buffer solusyonu (PBS) ilâve edildi. Daha sonra testis geniş bir petri kutusu içinde zarlarından ayrıldı ve organın orta kısmından makas ve pens yardımıyla fındık büyüklüğünde bir doku parçası alınarak, ufak bir petri kutusuna kondu. PBS ile iki üç defa yıkandı. Makas ve bistüri yardımıyla 1 mm. kadar ufak parçacıklara ayrıldı. Bu ufak parçacıklar tekrar PBS ile yıkandı, eritrositlerden arınmasına dikkat edildi. Böylece ekime hazır hale getirilen testis fragmanları, fibroblast üretilmesi için 1-1,5 saat zarfında ekildi. Her ekim için yeni bir testis aynı muamelelere tabi tutuldu.

b) Epitel hücresi:

Epitel hücresi olarak devamlı maymun böbrek epiteli (MS) kullanıldı. Bu hücreler Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsünden alındı.

2) Kullanılan vasatlar :

Çalışmamızda phosphate buffer solusyonu (PBS) ve Hank's solusyonu kullanıldı. Hazırlanan vasatlara, penicilline 100 u.i/cc. ve streptomycin 100 microgram/cc. ilâve edildi. Hank's solusyonuna kullanılma zamanında % 5 lik NaHCO₃ solusyonundan % 2 oranında karıştırılarak Ph: 7.2-7.4 e ayarlandı⁽¹⁾.

3) Zeytin Yağı :

Çalışmamızda İngiltere'de Hopkin and Williams Ltd'den 250 ml. lik şişeler içinde getirttiğimiz zeytin yağı kullanıldı.

Canlı hücreleri radyasyonun etkisine karşı korumak için zeytin yağı, vasatta yaklaşık olarak 1/130, 2/130 oranında bulunacak şekilde ayarlandı.

4) Roller tüp metodu :

Metodumuzda, etüv içerisine yerleştirilen ve özel olarak yaptır-
dığımız bir roller kurs kullanıldı⁽¹³⁾. 30 cm. çapında olan bu kursun,
tüplerin yerleştirilmesi için 69 adet tüp deliği bulunmaktadır.

Hücrelerin üretilmesi için 16 cm. uzunluğunda ve 16 mm çapın-
da pyrex tüpleri kullanıldı.

Ekim odasında horozların kanat altı venalarından alınan kandan
elde edilen bir damla plâsma⁽¹⁴⁾, tüp kenarına kondu ve tüp elde çev-
rilerek plâsmanın tüpün konulduğu kısımda bütün çevreye yayılması
temin edildi. Petri kutusunda PBS içerisinde hazır olan bir testis eksp-
lantı uzun bir bistüri ucu ile bu plasmaya yatırıldı ve koagülasyon için
beş dakika beklendi. Daha sonra her tüp, içinde % 10 oranında at
serumu (at serumu Veteriner Fakültesi Bakteriyojî ve Salgınlar Kür-
süsü'nden alındı) bulunan 2 cc. Hank's solusyonu, yine geniş bir en-
jektör yardımıyla ilâve edildi. Tüplerin ağızları, sterilize edilmiş lastik
mantarla kapatıldı ve mantarların üzerine no'ları yazılarak bütün
tüpler +37°C. lik etüvde bulunan roller kursunun deliklerine yerleş-
tirildi.

Çalışmalarımızın bütün safhaları steril şartlar altında ve asepsi,
antiseptiye riayet edilerek yapıldı.

7-8 günde üreyen fibroblastlar, bu arada 1-2 def'a mikroskop
altında da kontrol edildi. Bu şekilde vasatlarının rengi sarıya dönmeye
başlayan ve hücrelerin temiz üretildiklerine kanaat getirilen tüpler
ayrıldı. Ekim odasında hepsinin vasatları tekrar değiştirildi ve dört
guruba ayrıldı:

1. Hiçbir denemeye tabi tutulmayan normal kontrol gurubu (NK.)
2. Yalnız zeytin yağlı kontrol gurubu (ZK).
3. Yalnız radyasyona tabi tutulan radyasyon kontrol gurubu
(RK).
4. Zeytin yağı ve radyasyona tabi tutulan gurup (ZR).

Bütün tüpler, zeytin yağı ilâvesinden sonra, bir saati çersinde
radyasyon uygulaması için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Radyobiyojî Enstitüsü'ne götürüldü.

Fibroblast ve epitel hücrelerin irradiasyonu için verilen değişik
radyasyon dozları ile vasatlarındaki zeytin yağı miktarları ve tecrü-
belerimizde kullandığımız tüp adetleri gurupları hizasında cetvel 1.
de gösterilmiştir.

CETVEL 1.

| Ekilen doku | Tüp ad. | Rad. dozu (gamma) | Zeytin yağı dozu | NK ad. | ZK ad. | RK ad. | ZR ad. |
|--|---------|-------------------|------------------|--------|--------|--------|--------|
| 1. Dana testisi fragmanları (fibroblast) | 12 | 150r | 1/130 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| 2. " " | 14 | 500r | " | 4 | 3 | 3 | 3 |
| 3. " " | 15 | 500r | " | 2 | 2 | 4 | 4 |
| 4. " " | 18 | 500r | " | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 5. " " | 18 | 1000r | " | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 6. " " | 13 | 500r | 2/130 | 2 | 4 | 3 | 3 |
| 7. " " | 16 | 1000r | " | 2 | 2 | 2 | 3 |
| 8. Böbrek Epiteli | 12 | 150r | 1/130 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| 9. " " | 12 | 500r | " | 2 | 2 | 3 | 3 |
| 10. " " | 10 | 500r | " | 1 | 2 | 2 | 2 |
| 11. " " | 10 | 1000r | " | 1 | 2 | 2 | 2 |
| Toplam | 150 | — | — | 23 | 25 | 28 | 29 |

5) Radyasyonun uygulanması :

İrradiye edilecek tüpler no.larına göre ayrıldı ve tüp sporlara yerleştirilerek, 2000 curie kapasiteli ve kaynak merkez mesafesi 55 cm. olan kobalt cihazı (Theratron Junior Model C) ile irradiye edildi. Burada kullanılan sistemin başı tüpleri irradiye edecek şekilde çevrildi, mesafe ayarı yapıldı ve radyasyon kaynağı olan radyo izotop (Co 60) ile istenilen doz verildi.

Bu dozu hesaplamak için önce (Co 60) defterinden tecrübenin yapıldığı ayda cihazın dakikada verimi bulundu, verilecek doz, dakadaki verime bölünerek radyasyon zamani hesaplandı, bu şekilde tüpler irradiye edildi. Yine doku kültürü laboratuvarımıza getirildi ve vasatları değiştirilmeyen bu tüpler roller kursuna yerleştirildi.

Hücre vasatı ile homojenize edilerek tüplere 2 cc. lik vasatlarla taksim edilen epitel hücrelerinin de yine tüp cidarına yapıştıkları ve üredikleri mikroskop altında anlaşıldıktan sonra, yukarda fibroblastlar için anlatıldığı gibi, vasatlarına tecrübe materyali kondu. Hücreler irradiye edildi ve roller kursuna yerleştirildi.

6) Boyama ve mikroskopik muayene :

Tüpler radyasyona tabi tutulduktan sonra 24.48. ve 72. saatlerde Giemsa (Merck) ile, bazı tüpler de hematoxylin-eosin ile boyandı.

Sonuçlar

Hücrelerin irradiye edilmesinden sonra 24., 48. ve 72. saatlerde tesbit edilen bulgularımız, radyasyon dozlarına göre aşağıda tarif edilmiştir.

Fibroblastlar Üzerinde Değişik Dozlarda Kullanılan Radyasyona Karşı 1/130 oranındaki Zeytin Yağının Etkisi :

150r. dozunda: 24. saatte, normal kültürlerde hücrelerin fuziform karakterine karşılık, radyasyona tabi tutulan kültürlerde yer, yer hücrelerin sitoplazmaları az genişlemiş ve yuvarlaklaşmıştır. Yalnız zeytin yağı verilen kontrol kültürlerinde fuziform hücrelerin yanısıra yer, yer hücreler şişmiş ve küçük vaküollüydü. Zeytin yağı verilen ve irradiye edilen kültürlerde, hücreler az genişlemiş, küçük vaküollü ve yuvarlaklaşmıştı.

48. saatte irradiye edilen kültürlerdeki eksplantların çevrelerinde şişmiş ve geniş sitoplasmalı hücreler az sayıda, fuziform hücreler ise daha çok sayıdaydı. Zeytin yağlı kontrol kültürlerinde az sayıda hücreler, yuvarlak sitoplasmalıydı. Zeytin yağlı ve radyasyona tabi tutulanlarda 24 saat evvelki bulgulara sahip hücreler vardı. Bütün gubrullardaki kültürler üremelerine devam etmişti.

72. saatte, irradiye edilen kültürlerdeki dejenerasyon gösteren hücreler yerine, normal kültürlerdeki hücrelerin aynı ve fuziform karakterli hücreler görüldü. Yine zeytin yağlı irradiye edilmiş tüplerde de fuziform ve fibroblast tipteki hücrelerin yanısıra az sayıda ve küçük sitoplasmalı hücreler, yuvarlaklaşmıştı.

500r. dozunda: 24. saatte, irradiye edilen tüplerde eksplantın periferinde ekseri hücreler, genişlemiş, şişmiş veya oval şekilde olup, fuziform durumlarını kaybetmişlerdi. Çekirdekleri büyümüş ve kaba granüller halinde dağılmış kromatin ihtiva etmekteydi. Gerek normal kontrol tüplerine ve gerekse zeytin yağlı kültürlerle oranla üreme azdı. Hatta üremede 24. saatte bir farklılık yoktu. Periferde bazı sahalarda fuziform karakterli izole hücreler mevcuttu. Zeytin yağlı ve radyasyona tabi tutulmuş kültürlerde de yine hücreler genişlemiş, oval ve vaküollü sitoplasmalı olup, dağılmış, kaba granüller halinde kromatini bulunan, büyükçe ve oval çekirdekliydi. (Mikrofoto: 1, 2,3)

48. saatte, yalnız irradiye edilmiş kültürlerde 24 saat evvelki bulgular mevcut olmakla beraber, periferde rastlanan tek tük fuziform hücrelerin sitoplazmaları da genişleyip, şişmiş ve bazıları tüp cidarından ayrılıp dökülmüştür. Zeytin yağlı kontrol kültürlerinde az sayıdaki hücreler, sitoplazmalarında küçük vaküollere sahip, oval veya üçgen şeklindeydi. Zeytin yağı ve irradiye edilmiş tüplerde, yalnız irradiye edilmiş olan tüplerdeki gibi dejenere hücreler mevcuttu. Üremede yine bir değişiklik görülmedi.

72. saatte yalnız irradiye edilmiş tüplerde daha evvelki günlerdeki bulgular ilerlemişti. Periferdeki hücreler çok geniş, yuvarlak ve oval

sitoplasmalıydı. Bu hücrelerin çekirdekleri ince granüller halinde dağılmış kromatinli olup, 24. ve 48. saate göre daha da büyümüştü. Bu hücreler, üçgen, dörtgen, beşgen ve uzantılı gibi değişik şekillerdeydi. Eksplanttan hücre üremesi durmuştu. Zeytin yağı ve irradiye edilmiş tüplerde de aynı dejenere hücreler mevcut olup, üremede bir durgunluk hali tesbit edildi. Yalnız zeytin yağı tüplerde her gurupta olduğu gibi az sayıda ve yukarda tarif edilen hücreler görüldü. (Mikrofoto: 4,5).

1000r. dozunda: 24. saatte normal kontrol tüpleri ile zeytin yağı kontrol tüplerinde 1500r. ve 5000r. dozlarında tarif edilen bulgular yine görülmüştü. İrradiye edilen ve zeytin yağı irradiye kültürlerde hücrelerin sitoplasmaları çok genişlemiş yuvarlak, oval veya üçgen, dörtgen ve beşgen şeklinde uzantılıydı. Bu hücreler, kromatini gayet ince granüller halinde dağılmış, aşikâr olarak büyük ve oval çekirdekli olup, eksplantların periferinde genişçe bir sahayı kaplamışlardı. Normal kontrol ve zeytin yağı kontrol kültürlerine oranla irradiye edilenlerde üremede duraklama görüldü. (Mikrofoto: 6,7).

48. ve 72. saatlerde irradiye edilen her iki grup hücrelerinde 24. saatteki bulguların daha belirli durumu tesbit edildi. (Mikrofoto: 8).

Fibroblastlar Üzerinde Değişik Dozlarda Kullanılan Radyasyona Karşı 2/130 oranındaki Zeytin Yağının Etkisi:

5000r. ve 10000r. dozlarında: 1/130 oranındaki zeytin yağı ilâvesiyle fibroblast kültürlerinde 24., 48. ve 72. saatlerde yalnız zeytin yağı kontrol kültürlerinde ve zeytin yağı- radyasyonlu kültürlerde tesbit ettiğimiz aynı bulgular görüldü.

Epitel Hücreleri Üzerinde Değişik Dozlarda Kullanılan Radyasyona Karşı 1/130 oranındaki Zeytin Yağının Etkisi:

1500r. dozunda: 24., 48., ve 72. saatlerde irradiye edilen kültürlerde normallere oranla bir değişiklik görülmemiştir.

5000r. dozunda: 24. saatte irradiye edilen kontrol ve zeytin yağı kültürlerde, normal epitel hücrelerinin arasındaki bazı hücreler, küçülmüş ve yuvarlak oval sitoplasmalı, bazıları ise çekirdek çevresinde dar bir sitoplazma halesi göstermekteydi. Yer, yer de koyu boyanmış, kromatin yığınlarından ibaret küçük, yuvarlak veya oval çekirdek artıkları bulunmaktaydı. Normal kültürlerde yer, yer rastlanan 2-7 çekirdekli ve geniş sitoplasmalı hücrelerin (dev hücreleri) bu kültürlerde azaldığı görüldü. Zeytin yağı kültürlerde yine arada ve az sayıda küçük küçük vaküollü epitel hücrelerine rastlandı (Mikrofoto: 9).

48. ve 72. saatlerde radyasyonlu kültürlerde 24. saatte tesbit edilen dejenere hücreler ve çekirdek artıkları daha sık olarak görüldü (Mikrofoto: 10, 11).

1000r. dozunda: 24. saatte, radyasyonlu kontrol ve zeytin yağı ilâve edilmiş kültürlerde, 500r. dozunda, normal epitel hücrelerinin arasında tarif ettiğimiz dejenere hücreler ile çekirdek artıklarına daha sık olarak rastlandı; ve yer, yer bu artıkların bir mikroskop sahasının hemen hemen yarısını kapladığı tesbit edildi. Dev hücrelerine çok az rastlandı.

48. ve 72. saatlerde 24. saatteki bulgular daha belirli olarak görüldü (Mikrofoto: 12).

Zeytin yağlı kontrol ve her üç radyasyon dozundaki zeytin yağlı epitel kültürlerinde, yer, yer sitoplasmaları küçük vaküoelleri havi az sayıda epitel hücreleri mevcuttu.

Tartışma

Doku kültüründeki radyasyonla ilgili çalışmalarda genellikle araştırmacıların kullandıkları radyasyon dozu, 75r. ve 1000r. arasındadır. Bizim çalışmalarımızda da birçok araştırmacılar^(3, 5, 6, 9, 15) gibi 150r. ve 1000r. arasındaki dozlar tercih edilmiştir.

Çalışmalarımızda radyasyonun etkisinden dolayı 500r. ve 1000r. dozlarında fibroblast kültürlerinde, genişlemiş oval veya yuvarlak, üçgen, beşgen ve bazen de uzantılı sitoplasmalı ve büyük çekirdekli hücreler ile üremenin yavaşlaması ve durması tesbit edilmiştir. 500r.-1000r. dozlarında kültürlerdeki gelişmenin yavaşladığı ve 1000r. dozunda meydana gelen bulguların letal olduğu⁽¹⁵⁾, vücut ısısında ve yüksek radyasyon dozunda üremenin durduğu⁽⁹⁾, diğer araştırmacılar tarafından da görülmüştür.

Radyasyonlu epitel kültürlerinde ise, küçülmüş yuvarlak oval sitoplasmalı hücreler ile yer, yer kromatin yığınlarından ibaret çekirdek artıkları ve normal kültürlerde sıkça, yüksek radyasyon dozlarında da az rastlanan dev hücreleri görülmüştür. 400r. -1000r. dozlarındaki kromatin harabiyetine Fetner ve Katzberg⁽⁸⁾ de rastlamıştır.

Canlı hücreleri radyasyona karşı korumak amacıyla doku kültüründe cystine, cystamine, histamine, noradrenalin, adrenalin⁽¹⁶⁾ cysteine, glycerol ve dimethyl sulphoxide⁽¹⁷⁾ gibi kimyasal maddeler ile nitrogen mustard, ethylene imine, epoxide ve antimebolite⁽³⁾ gibi antikarsinojen maddeler kullanılmıştır. İn vivo olarak fareleri radyasyona karşı korumak için kemik iliği^(4, 7) ve zeytin

yağı^(2, 10, 11) enjekte edilmiş olup, farelerde meydana gelen değişiklikler organlara göre ayrı ayrı incelenmiştir. Maqsood ve Ashikawa⁽¹¹⁾ ya göre, radyasyondan sonra, zeytin yağının ilâvesiyle, dalak, kemik iliği ve timusta hücre rejenerasyonunun hızlanması, Ashikawa ve Anderson⁽²⁾ın, zeytin yağı ve irradiye edilen fareler arasında yalnız radyasyonlu olanlara oranla daha az ölüm görülmesini teyid eder mahiyet taşımaktadır.

Çalışmalarımıza konu teşkil eden zeytin yağının, vasatla devamlı olarak karışmasını temin etmek için roller tüp metodu, bilhassa tercih edilmiş ve zeytin yağının, radyasyonun hücreler üzerinde meydana getirdiği dejeneratif olaylara karşı etkisinin olup, olmadığı doku kültürlerinde de incelenmiştir.

Zeytin yağı kullandığımız fibroblast ve epitel hücrelerinde 500r. dozunda 48. ve 72. saatlerde, radyasyonlu kontroller ile zeytin yağı ve radyasyonlu kültürlerin ikisinde de görülmekte olan bulguların 1000r. dozunda daha belirli olarak ve hatta 24. saatte şekillendiği tesbit edilmektedir. Burada irradiye edilmiş zeytin yağlı kültürlerde görülenlerin, radyasyonlu olanlardaki bozukluklara benzerliği, Maqsood⁽¹⁰⁾ tarafından da tesbit edilmiştir. Araştırmacı, radyasyonlu fare testislerindeki seminifer kanalların büzülmesi ve epitellerindeki düzensizlik ile intersitisyumdaki ödem sıvısını, hem zeytin yağlı ve hem de zeytin yağsız farelerde görmüş ve zeytin yağının radyasyona karşı, koruyucu etkisinin olmadığı sonucunu almıştır. Buna karşılık, aynı şartlarda yaptığı diğer bir çalışmada zeytin yağlı olanlarda bu bulgulara rastlamamıştır⁽¹²⁾.

Çalışmalarımızda 150r. dozunda radyasyondan sonra 24. saatte radyasyonlu kontrol ve zeytin yağlı fibroblast kültürlerinde görülen hücrelerdeki genişleme, oval veya şişme durumu, 48. saatte de görülmekte, fakat 72. saatte böyle dejenerasyon gösteren hücrelere her iki kültürde de rastlanmamaktadır. Epitel kültürlerinde ise normal ve bu dozdaki radyasyonlu tüpler arasında bir farklılık tesbit edilmemektedir. Buna karşılık zeytin yağı ve radyasyonlu zeytin yağlı olanlarda az sayıda yuvarlak, küçük sitoplasmalı hücreler görülmektedir.

Fibroblast kültürlerinde, 150r. dozunda ve 72. saatte dejenere hücrelerin görülmemesi, bu radyasyon dozunun hafif ve geçici bir etkisi olduğunu göstermektedir. Bazı çalışmalardan^(6, 15) elde edilen sonuçlar da bu bulguya uymaktadır. Fibroblastlarda 1000r. dozunda üremenin görülmemesi ve epitel hücreleri arasında dev hücrelerinin azalması ise, bu radyasyon dozunun kültürlerin üremelerini durdurmasından ileri gelmektedir^(9, 15) Zeytin yağlı kontrol kültürlerinde hücre

relerin hafif dejenerasyon göstermelerinin ise zeytin yağının toksisitesi sebebiyle olduğunu kabul etmek yerinde olur.

Radyasyona karşı fibroblastlarda, 2/130 oranındaki zeytin yağı kullanıldığı zaman da yine aynı bulgulara rastlanması ve epitel kültürlerinde de 1/130 oranındaki zeytin yağlı ve zeytin yağsız irradiye edilmiş tüplerde aynı bulguların görülmesi, burada zeytin yağının hücreleri radyasyonun etkilerine karşı korumadığını göstermektedir. Bu sebepten dolayı irradiye edilmiş epitel hücreleri üzerinde 1/130 oranındaki zeytin yağının etkisini inceledikten sonra ayrıca 2/130 oranındaki zeytin yağının etkisinin de araştırılmasına lüzum görülmüştür.

Görülüyor ki gerek yabancı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarından elde edilen değişik bulgular^(2, 10, 11, 12) gerekse bizim bulgularımız, zeytin yağının radyasyona karşı koruyucu rolü olduğunu kabul ettirebilecek nitelikte değildir.

Literatür

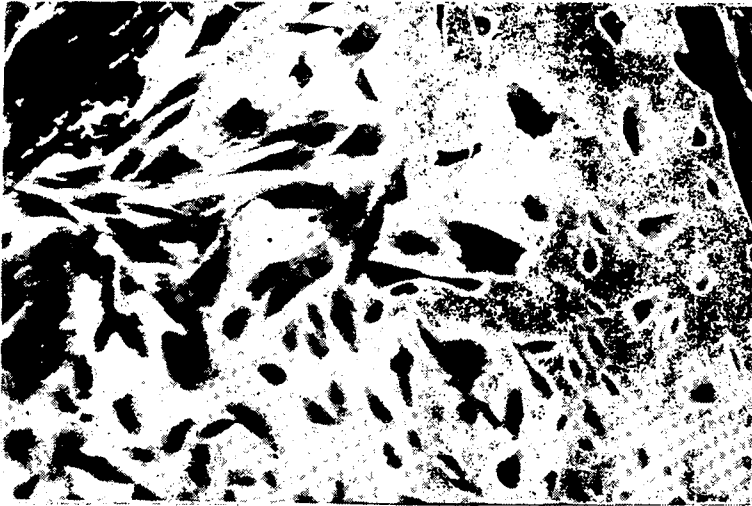
- 1- **Arda, M.** (1959): *Doku kültürü laboratuvar metotları*. Yeni Matbaa, Ankara, 35-36.
- 2- **Ashikawa, J. K., ve Anderson, O. K.** (1960): *Postirradiation protection of X-irradiated mice with olive oil*. Rad. Res., 13, 1, 99-107.
- 3- **Berry, R. J.** (1964): *A comparison of effects of some chemotherapeutic agents and those of X-rays on the reproductive capacity of mammalian cells*. Nature. 203, 4950-1150-1153.
- 4- **Billen, D.** (1959): *Efeet of bone marrow culture in vitro on its protective action in irradiated mice*. J. Nat. Can. Inst., 23, 6, 1389-1386.
- 5- **Elkind, M. M., Han, A., ve Kathleen W. V.** (1963): *Radiation response of mammalian cells grown in culture. IV. Dose dependence of division delay and postirradiation growth of surviving and non surviving chinese hamster cells*. J. Nat. Can. Inst., 30, 4, 705-721.
- 6- **Elkind, M. M.** (1964): *Repair of X-ray damage in mammalian cells. Mech. dose rate eff. rad. gen. cel. lev. conf. oiso, 176-193.*
- 7- **Ferrebee, I. W., Billen, D., Urso, I. M., Wan Ching Lu, Thomas, E. D., ve Congdon, C. G.** (1957): *Preservation of radiation recovery factor in frozen marrow*. Blood. 12, 1096-1100.

- 8- **Fetner, R. H., ve Katzberg, A. A.** (1963): *Chromatid deletions produced in human cell cultures by 250 kv X-rays at liquid nitrogen temperatures.* Aerospace Med., 34, 12, 1115-1118.
- 9- **Katzberg, A. A.** (1964): *Modification of radiation effects in living cells by freezing.* Anat. Rec., 148, 298.
- 10- **Maqsood, M.** (1961): *Post-irradiation protection and recovery. Effects of powdered glass and mineral oil on sex organs of X-irradiated male mice.* Zootechnia. 10, 4, 165-172.
- 11- **Maqsood, M., ve Ashikawa, J. K.** (1962): *Post-irradiation protection and recovery I. Effect of lipids on haemopoietic organs of X-irradiated male mice.* Int. J. Rad. Biol., 4, (5), 521-531.
- 12- **Maqsood, M.** (1963): *Some aspects of biological effects of radiation.* 15 th Pak. Sci. Conf., Lahore. 52-57.
- 13- **Parker, R. C.** (1950): *Methods of tissue culture.* Sec. ed. Paul B. Hoeber, Inc. Newyork, 196-200.
- 14- **Paul, J.** (1961): *Cell and tissue culture.* Sec. ed. E. and S. Livin-gstone Ltd. Edinburgh and London, 62.
- 15- **Trabert-Van der Measen, M., ve Frederic, J.** (1957): *Con-tribution à l'étude de l'action des rayons X sur des fibroblastes cultivés in vitro.* Soc. de Biol., 8-9, 1608-1611.
- 16- **Vergroesen, A. J., Budke, L., ve Vos, O.,** (1961): *Protection by chemical compounds of irradiated tissue-culture cells.* Int. J. Rad. Biol., 3, 3, 330.
- 17- **Vos, O.** (1963): *Some studies on radiation protection of tissue-culture cells.* Int. J. Rad. Biol., 6, 5, 494.

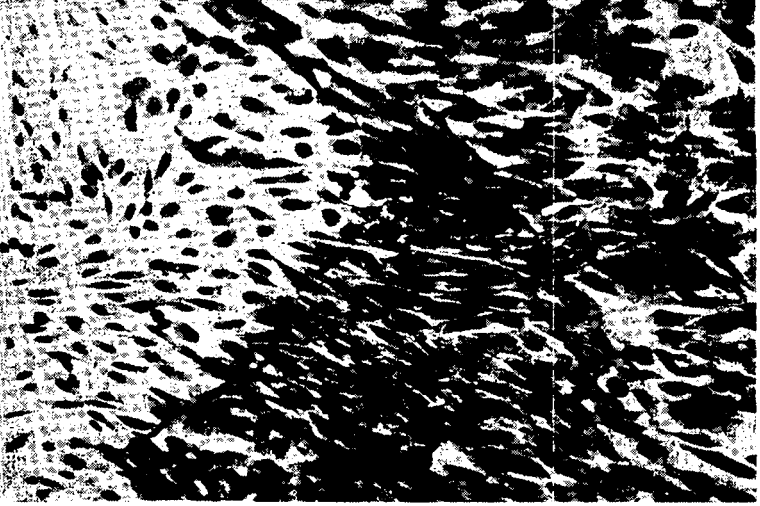
Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 19. 10. 1971 günü gelmiştir.



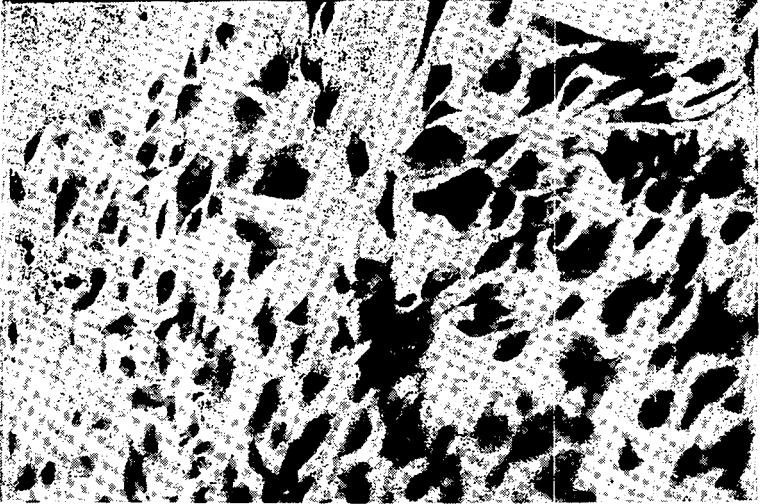
Mikrofoto: 1. Normal fibroblastlar. Giemsa. 105 x
The normal fibroblastic culture.



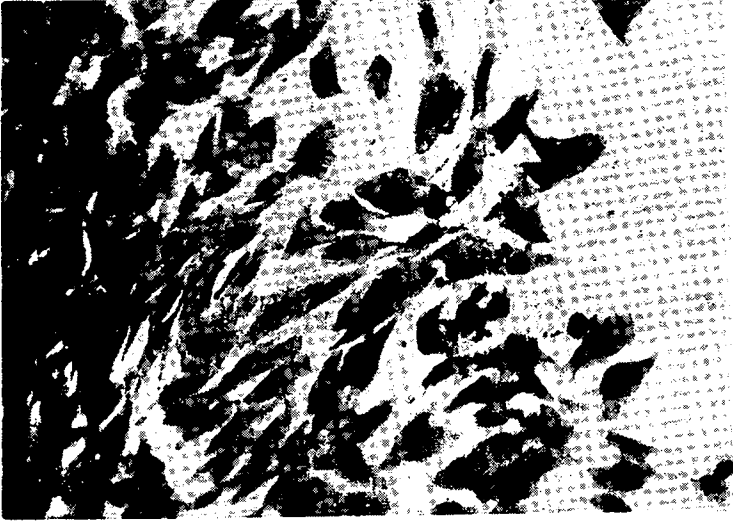
Mikrofoto: 2. 500r. dozunda fibroblastlar. 24. saat. Giemsa 105 X
The fibroblastic cells, 24 hours after irradiation (500r)



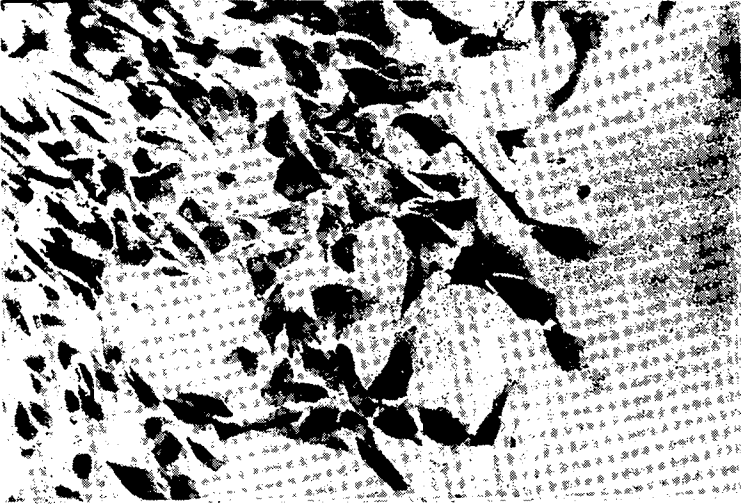
Mikrofoto: 3. Zeytin yağı (1/130) fibroblast kültürü. 24 saat. Giemsa. 105 X
The fibroblastic cells with the olive oil (1/130), 24 hours in culture



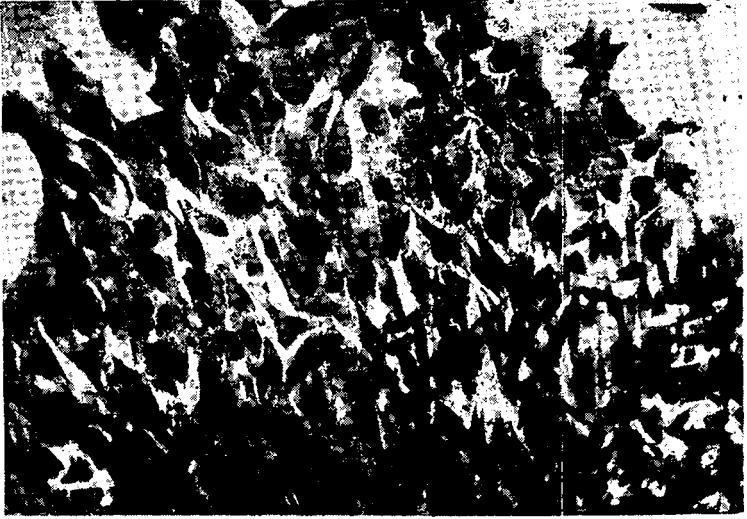
Mikrofoto: 4. 500r. dozunda fibroblastlar. 72. saat. Giemsa. 105 X
The fibroblastic cells, 72 hours after irradiation (500 r.)



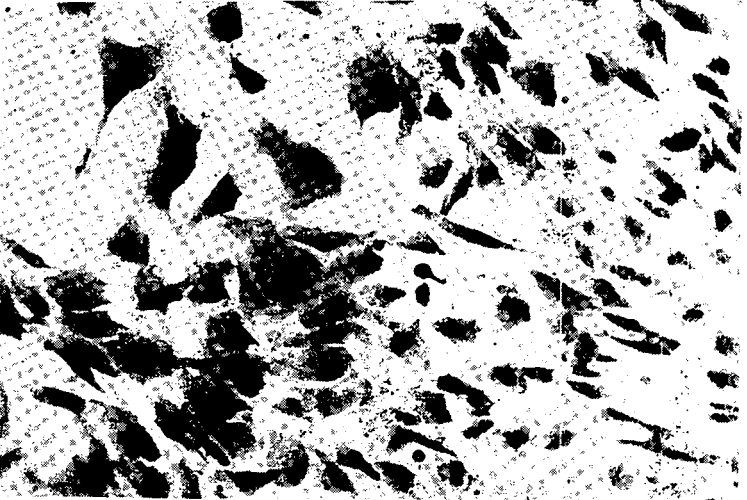
Mikrofoto: 5. Zeytin yağı (1/130), 500r. dozunda fibroblast kültürü. 72. saat. Giemsa. 105 X The fibroblastic culture with the olive oil (1/130), 72 hours after irradiation (500r.)



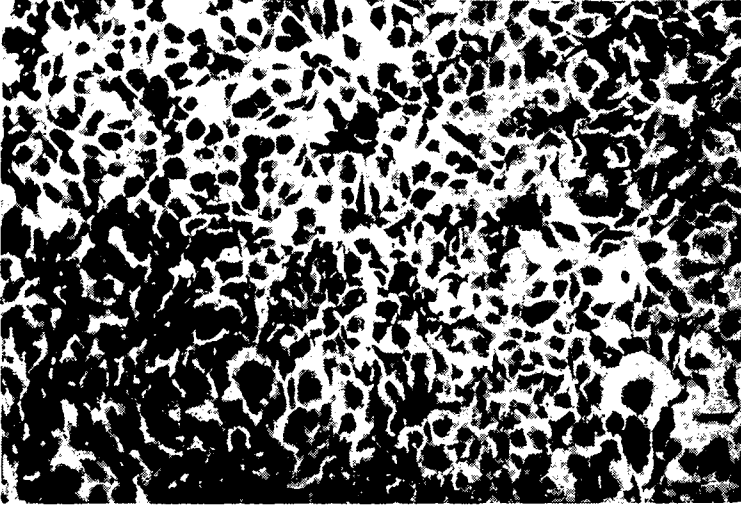
Mikrofoto: 6. 1000r. dozunda fibroblastlar. 24. saat. Giemsa. 105 X
The fibroblastic cells, 24 hours after irradiation (1000r.)



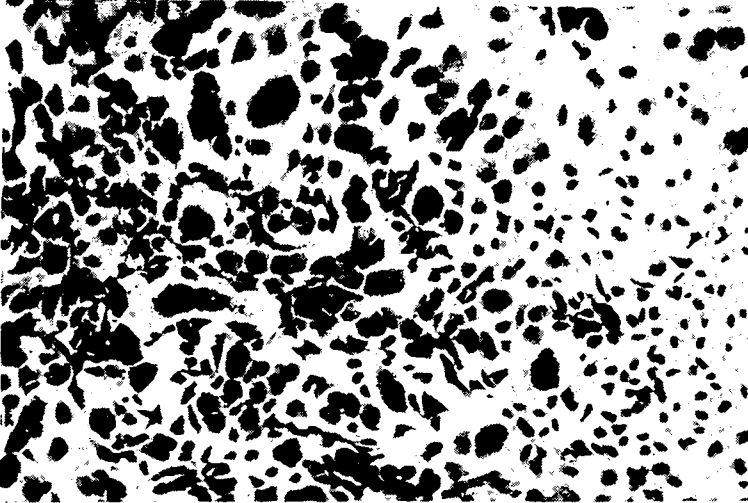
Mikrofoto: 7. Zeytin yağı (1/130), 1000r. dozunda fibroblast kültürü. 24. saat. Giemsa. 105 X The fibroblastic culture with the olive oil (1/130), 24 hours after irradiation (1000r.)



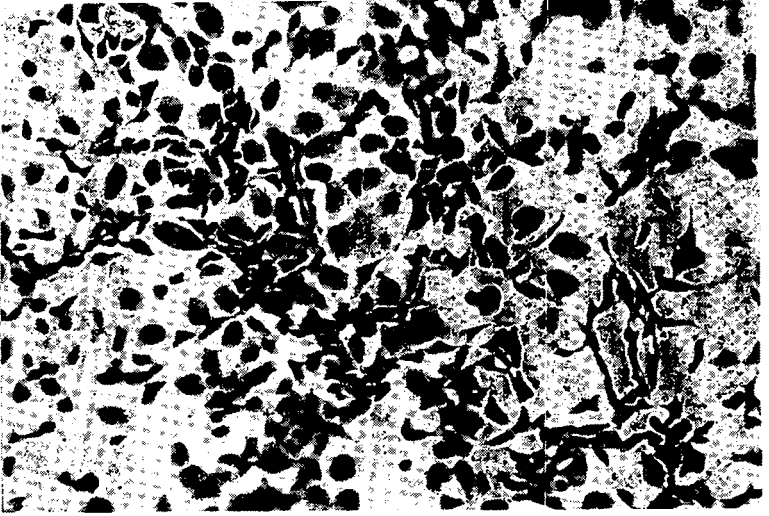
Mikrofoto: 8. 1000r. dozunda fibroblastlar. 72. saat. Giemsa. 105 X The fibroblastic cells, 72 hours after irradiation (1000r.)



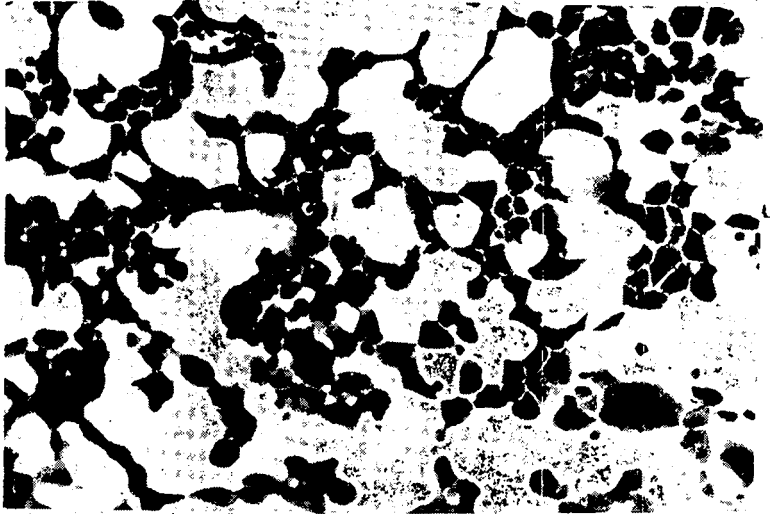
Mikrofoto: 9. Normal epitel hücreleri. Giemsa. 105 X
The normal epithelial culture



Mikrofoto: 10. 500r. dozunda epitel hücreleri. 72. saat. Giemsa. 105 X
The epithelial cells, 72 hours after irradiation (500r.)



Mikrofoto: 11. Zeytin yağı (1/130), 500r. dozunda epitel kültürü. 72. saat. Giemsa. 105 X
The epithelial culture with the olive oil (1/130), 72 hours after irradiation (500r.)



Mikrofoto: 12. 1000r. dozunda epitel hücreleri. 72. saat. Giemsa. 105 X
The epithelial cells, 72 hours after irradiation (1000r.)