

***Ciona intestinalis* (Tunicata, Ascidiacea) de Granüler Hemositler**

Aylâ ÖBER

Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Bornova, İzmir - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 18.02.1997

Özet : Tunikatlarda kan hücrelerinden granüler olanlar; granül yoğunluğu, miktarı, lokalizasyonu ve sitoplazmik diğer özellikleri göz önüne alınarak 6 tip halinde ayırt edilmişlerdir. Bunların omurgasızlarla ve tunikatlara en yakın grupta yer alan Amphioxus ile karşılaştırılması yapılmıştır.

Anahtar Sözcükler : Granüler hemosit, *Ciona intestinalis* (Tunicata)

Granular Haemocytes of *Ciona intestinalis* (Tunicata, Ascidiacea)

Abstract : The granular blood cells of Tunicates are distinguished in six different types according to the granular density, amount, localization and other cytoplasmic characteristics. They're compared with those of invertebrates and Amphioxus which is the closest group to the Tunicates.

Key Words : Granular hemocyte, *Ciona intestinalis* (Tunicata)

Giriş

Hem kolonial, hem de soliter tunikatların hemositleriyle yapılan çalışmalarda, bu hücrelerin tiplerini ortaya koyan araştırmalar 1930 lardan beri sürdürülmüş (1) ve belli dönemlerde daha yoğun bir şekilde ele alınmıştır. Bu hücrelerin tiplerini belirleme yanında fonksiyonları ve dağılımları üzerinde de durulmuştur. 1960' dan itibaren ascidian kan hücreleriyle çalışan araştırmacılar hücre ayırımında genelde benzer bir sınıflama yapmışlar ve bunları; limfositler, fagositler ve granüllü hücreler olarak ayırmışlardır. Bu sınıflamalar içinde hücreleri ayırımdaki benzerlikler tipiktir (2,3,4,5,6). CLONEY ve GRIMM (7) ascidian metamorfozunu kolonial Amourocium da çalışırken, kan hücrelerinin tuniğe göçünü gözlemişlerdir. ROWLEY (8) ise *Ciona*'da kan hücrelerini ultrastrüktürel ve sitokimyasal yollarla incelemiştir. *Ciona intestinalis*'te kan hücreleriyle ilgili olan çalışmalarda, farinks duvarındaki damarlar ve kan hücrelerinin ince yapıları ile tuniğin eritilmesi esnasında oluşan inflamatuvar reaksiyonlarda granüositlerdeki değişimler ele alınmıştır (9, 10). Deniz invertebratlarıyla çalışan SMITH ve SODERHALL (11) kan hücrelerinin fenoloksidaz aktivitelerini karşılaştırırken, *Ciona*'daki granüler hemositler üzerinde de durmuşlardır. Kolonial tunikat

Polyandrocarpa'da ise glomerulosit adı verilen bir kan hücre tipi ayırt edilmiştir (12). *Halocyntia roretzi*'de hemositler ultrastrüktürel olarak incelenmiş ve 9 hücre tipi belirlenmiştir (13). DE LEO (14) yaptığı bir çalışmada ascidian savunma reaksiyonlarında hemositlerin gerekliliklerini araştırmış ve ascidian kan hücre tiplerine diğer araştırmacıların verdiği isimlendirmeleri karşılaştıran, hücresel özellikleri ve tüm hücrelerin fonksiyonlarını özetleyen tablolar oluşturmuştur. Soliter ascidian *Styela plicata* ile yapılan bir çalışmada fenol oksidase aktivitesi incelenirken hemositler de ele alınmıştır (15).

Omurgasızlarla omurgalılar arasında yer aldıklarından tunikatların çalışılması esnasında invertebratlar ile, urokordatlara en yakın olan omurgalı geçiş gruplarını ele alan kaynaklar üzerinde de durulmuştur. Omurgasızlardan böceklerde (*Tenebrio*) hemolenf hücreleri çalışılmış, yapı ve fonksiyon esas alınarak hücre tipleri ayrılmıştır (16). Böceklerde granüler hemositler *Leucophae madarae*'de (17) ve *Galleria mellonella*'da (18) gösterilmişlerdir. Lepidopterler ile çalışan LAI-FOOK (19) histokimyasal metodlar uyguladığı araştırmasında kan hücrelerini 5 tip olarak belirlemiştir. Dipterlerde; plazmosit olarak ayırdedilmiş hücrelerin bir

tipine granülosit adı verilmiştir (20). Ortopterlerden *Locusta* ve *Melolontha*' da hemositlerin yabancı maddeleri alışları saptanmıştır (21). Yine dipterlerden *Simulium*'da hemositler morfolojik ve fonksiyonel açıdan ele alınmışlardır (22). *Sericinus montela* (Lepidoptera)' da hemopoetik organlarda hemositlerin farklılaşması araştırılmıştır (23). *Limulus* (Crustacea)'da pıhtılaşma esnasında hemositlerin rolleri ve bazı sitolojik özellikleri verilmiştir (24).

Tatlı su Gastropodlarından *Lymnea*'da yapılan çalışmada iki fonksiyona sahip tek bir kan hücre tipinden söz edilmektedir (25). *Lymnea*'da bu konuda bir başka çalışmayı SMINIA ve arkadaşları (26) yürütmüşler ve amöbositleri ele almışlardır. Bir diğer araştırmada iki farklı körfezden alınan *Crassostrea virginica* hemositleri karşılaştırılmıştır (27). *Mytilus galloprovincialis* ' de ise hemositler morfo-fonksiyonel açıdan ele alınmışlardır (28).

Aşağı kordatlardan *Amphioxus* hemositleriyle yapılan çalışmada; granülosit ve makrofaj olarak ayırt edilen 2 tip mononukleer hemosite işaret edilmektedir (29) .

Bu çalışmanın objesi olan *Ciona intestinalis*, İzmir körfezinin tipik pollusyon indikatörüdür. Böyle bir öneme sahip oluş yanında geçiş grubu oluş özelliği de onunla ilgili çalışma konularını zenginleştirmektedir. Nöral kompleksin araştırılması esnasında kan hücreleri dikkati çekmiştir (30, 31, 32). *Ciona intestinalis*'in kan hücrelerinin vanadium biriktirme özellikleri literatürden bilinmektedir (8). Bu çalışma ; kirlilikten en kolay etkilenmiş olabilecekleri düşünülen kan hücrelerinin yapılarını ortaya koymak ve diğer tunikat örnekleri yanında onlara yakın grupların hemolenf hücrelerini karşılaştırmak amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Örneklerin çoğu İzmir körfezinden toplanmış ve çalışma objesi 10-13 cm boyundaki fertler arasından seçilmiştir. Sifon bölgeleri arasından nöral kompleks çıkarılıp tesbit edildiğinde kan hücreleri de tesbit olmuşlardır. Elektron mikroskobu incelemeleri için birinci ve ikinci fiksatif olarak sırasıyla Millonig fosfat tamponlu % 4 lük glutaraldehid ve %2 lik osmium tetraoksit alınmıştır. Dehidrasyonu takiben materyal, Epon 812 gömme ortamına konulmuş ve Reichert Um03 ultratom ile alınan kesitler, %06 lık pioloform ile kaplanmış boşluklu gridlere geçirilmiştir. REYNOLDS

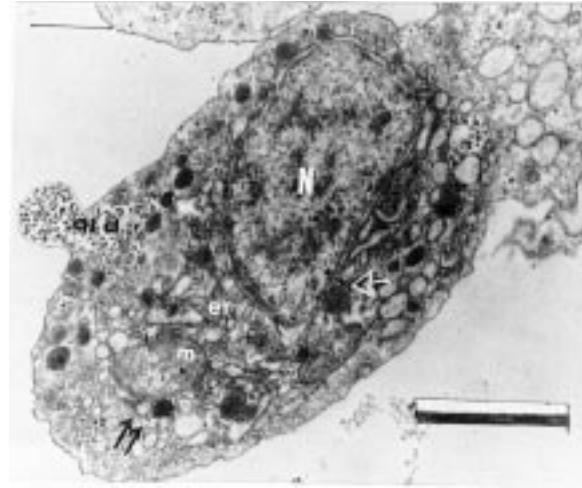
(33)' a göre uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlanmışlardır. Fotoğrafların bir kısmı Zeiss 9M, bir kısmı ise Jeol 100 C transmission EM de çekilmiştir.

Bulgular

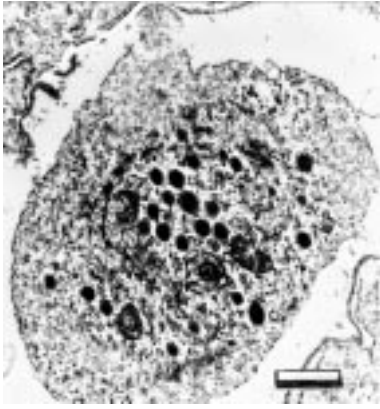
Ciona intestinalis'de vücut sıvısında yer alan bu serbest hücrelerden sadece granüllü olanlar üzerinde durulmuştur ve ince yapıları esas alınarak tanımlar yapılmıştır.

Değişik şekiller gösteren granülositlerin sitoplazmaları hücrelere göre farklı derecelerde granülasyon göstermektedir. Granüllerin hücreyi tamamen veya kısmen doldurmaları, merkezde veya belli bir bölgede yığılmaları, içeriklerinin densitesi, sitoplazmanın strüktürlü veya strüktürsüz görüntüsü, organellerin dağılımı ve morfolojileri hücre tipi belirlemede önemli kriterler olarak alınmışlardır. Bunlara göre 6 tip granülosit ayırt edilmiştir:

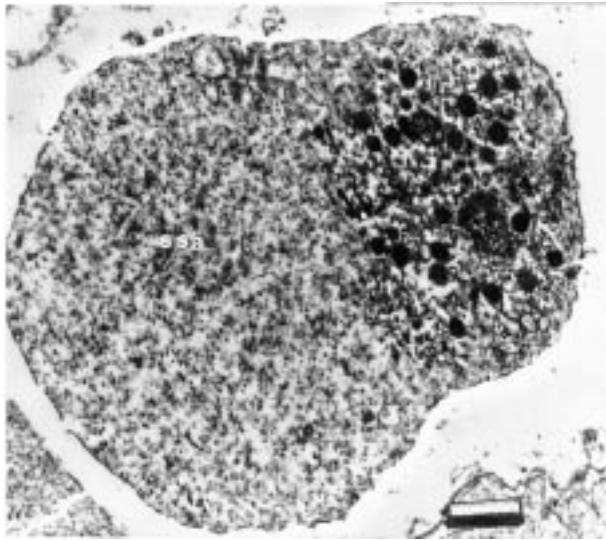
Tip I : Nukleusun iyi ayırt edildiği bu hücrede hem iri (0,18 μ) , hem de küçük çaplı (0,11 μ) granüller vardır ve yoğunlukları da farklıdır. Hücre içi vakuoller çok sayıdadır. Sitoplazmada bir boğumlanma vardır. Organel içeren bölgeden farklı görülen sitoplazmik alanda yine vakuol ve vesiküller yer alır. Bazı hücrelerde yer yer glikojen birikimleri ve glikojenin çevrelenerek hücre dışına bırakılışını ima eden figürler görülmektedir. Az sayıdaki mitokondriler oldukça iridir, kristalleri kısa ve bir kaç tane, matriksleri az yoğundur. Hücrede yer yer mikrotübüllere rastlanır, (Şekil 1).



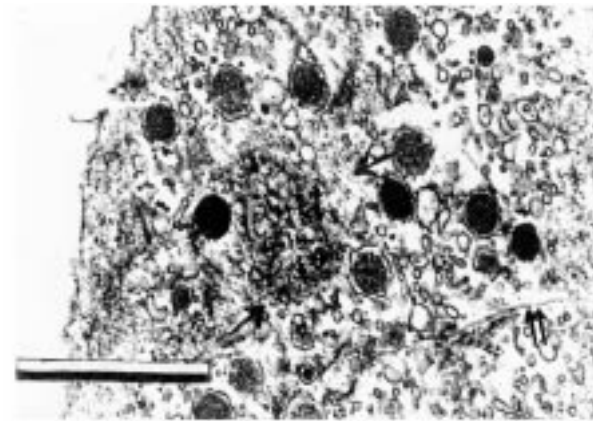
Şekil 1. Tip I granülosit (yoğun granül \blacktriangleright , az yoğun granül \blacktriangleleft).



2a



2b



2c

Şekil 2. Tip II granülosit
 a- strüktürsüz sitoplazmik alanı periferde olan hücre
 b- strüktürsüz sitoplazmik alanı geniş hücre
 c- granül yapıları ve mikrotübüller

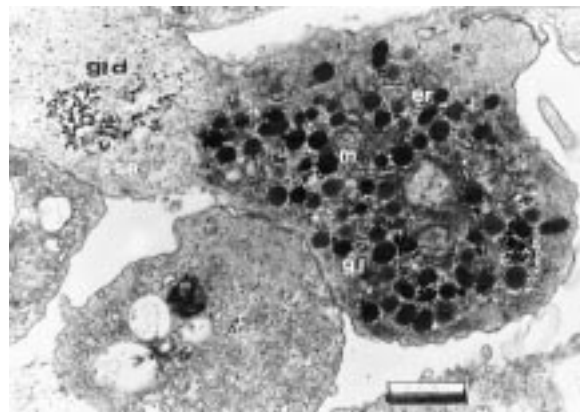
Tip II : Granüllerin belli bir bölgeye toplandığı hücrelerdir (Şekil 2 a). Oldukça yoğun bir materyal içeren granüllerin çapları $0,19 \mu$ olup çevrelerinde genelde düzensiz yapıda bir membran bulunur. Nukleus net olarak ayırtedilememektedir. Granülsüz ve hiçbir hücresel strüktür içermeyen sitoplazmik alan oldukça geniş olabilmektedir (Şekil 2 b). Mitokondriler küçük ve az sayıdadır. Hücre mikrotübül ve mikrofilament içermektedir (Şekil 2c). Granüllerin bulunduğu alanda az sayıda ve küçük endoplazmik retikulum vesikülleri vardır. Kaba sitoplazmik partiküler yapı ayırt edici özellik olarak alınmıştır.

Tip III : Bu hücre tipinde de granüllerin yığıldığı bir bölge vardır, ancak burada sitoplazma oldukça yoğundur ve ince partiküler yapıdadır (Şekil 3). Endoplazmik retikulum yassı kesecikleri, açık matriksli uzun kristalli mitokondriler ve bol miktarda glikojen bu hücre için tipik elemanlardır. $0,25 \mu$ çaptaki granüllerin zarları çoğunlukla düzgündür, bazan ayırtedilemez. Granül içeriği az veya çok yoğundur.

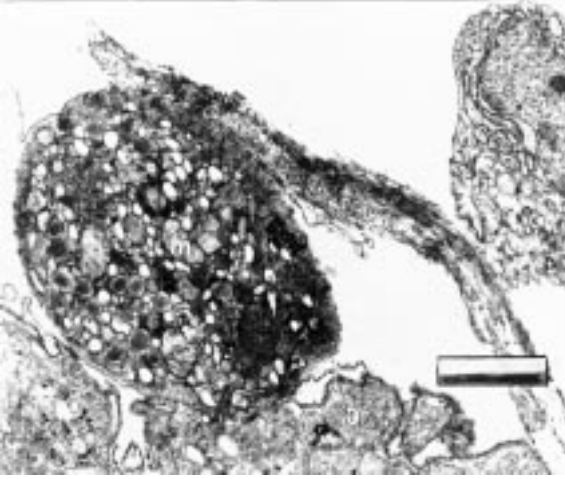
Granül içermeyen sitoplazmik alan da çok ince partiküler yapıda olup, sadece dağınık veya depo haldeki glikojeni bulundurmaktadır.

Tip IV : Bu hücre tipinde sitoplazma çok yoğundur ve çok sayıda vakuol vardır, (Şekil 4). Vakuoller arasına sıkışmış gibi görülen granüller benzer yoğunlukta dırlar. Çapları $0,18 \mu$ olup zar ile içerik arasındaki mesafe belirgindir. Diğer hücrelere göre mitokondri sayısı fazla, ancak içerdikleri krista sayısı daha azdır.

Tip V : Sitoplazmik alan yoğunluğu çok az olan bu hücreler, melanin benzeri granülleriyle tipiktir, (Şekil 5).



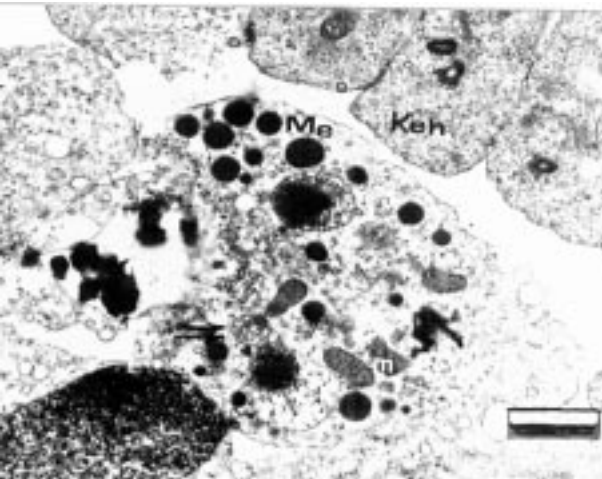
Şekil 3. Tip III granülosit.



Şekil 4. Tip IV granülosit.

Bu granüller oldukça iri ($0,31 \mu$), yuvarlak veya oval şekilli ve çok yoğun içerikli olup zar ayırımı çoğunda güçtür. Küçük boyutlu olan mitokondrilerin krista sayısı fazla, matriksi çok yoğundur. Bu hücrelerde görülen lizozomal yapılar diğer hücrelerle olan farkı da belirler. Sitoplazmada ayırtedilen diğer elemanlar, polizomlar ve mikrotübüllerdir.

Tip VI : Yüzeyinde ince uzantılar bulunan bu hücrede granüller sferülit tipte ve $0,85 \mu$ çaptadırlar. Sitoplazma yoğun ve homojen partiküler dağılımlıdır. Küçük vesiküller ve yoğun matriksli mitokondriler granül aralarını doldururlar, (Şekil 6).



Şekil 5. Tip V granülosit.

Tartışma ve Sonuç

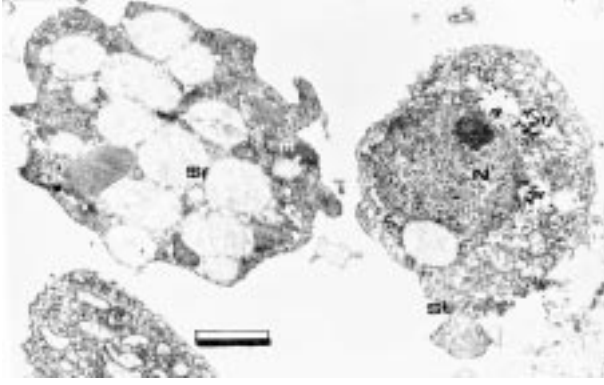
Bu araştırmada *Ciona intestinalis*'te görülen granüler kan hücreleriyle ilgili olarak ortaya konulan hücre tipleri, literatürde verilen birçok çalışmanın sonuçlarıyla karşılaştırılarak benzerlikler ve farklılıklar saptanmaya çalışılmıştır.

Literatürde önceleri çoğunlukla kolonial bazı tunikatlar (*Amourocium*, *Perophora*, *Polyzoa* gibi) ile *Halocynthia* ve *Phallusia* gibi soliter temiz su örnekleriyle çalışıldığı görülmüştür.

Girişte de belirtildiği üzere 1960 lı yıllarda tunikat kan hücreleriyle yapılan çalışmalarda; faz kontrast mikroskopunun da katılımıyla yapılan hücre sınıflamasında birçok araştırmacı tarafından benimsenen bir isimlendirme esas alınmıştır: Soliter *Phallusia mammilata*'da; "primitif limfositler", "pigment hücreleri", "fagositler", "asidik vakuollü hücreler", "mühür yüzüğü şekilliler" ve "granüllü amöbositler" ayırımı yapılmıştır (2). ANDREW (3) tunikat kan hücrelerinden sözü edilenlere ek olarak "green", "blue" ve "orange" hücre tanımlarını katmıştır. Tunikatların gelişiminde tomurcuklanmada kan hücrelerinin rolü incelenmiş, benzer şekilde ayırma gidilmiş, ayrıca "morula hücre" ve "bölme hücre" tipleri üzerinde de durulmuştur (4). OVERTON (5) tarafından da ascidian *Perophora viridis*'de aynı ayırım benimsenmiştir. Bu gruplamalarda granüllü hücre sınıflaması, içerdikleri granül tipini belirleyecek bir isimlendirme şeklinde olmuştur. Örneğin "green", "orange", "blue" hücrelerde ışığın kırınımını farklı indislerde gerçekleştiren granüller bulunmaktadır. *Halocynthia* (Tunicata) ile olan çalışmada "hyalin amöbosit", "stem hücre", "giant hücre", "vesiküler hücre" gibi isimler ilave edilmiştir (6).

1970 li yıllardan sonra yapılan araştırmalarda ince yapıya daha fazla önem verilerek sınıflandırmaya gidilmiştir. *Ciona* ile yapmış olduğumuz bu çalışmada da granüllü hücrelerin belirlenmesinde ince yapıya yönelik özellikler esas alınmıştır.

ROWLEY (8) granülositleri; "granüler" ve "hyalin amöbosit" olarak sınıflamıştır. Bunlar Tip I, Tip II ve Tip III hücrelerimizle benzerdir. Rowley' in gösterdiği "morula hücreleri" antibakteriyel fonksiyona sahip vanadyum biriktirmektedirler. DE LEO ve arkadaşları (9) *Ciona intestinalis*' te farinks duvarındaki damarlarda bulunan kan hücrelerini; "stem hücre", "morula hücre" ve çeşitli tipte granülositler olarak almışlardır. Stem hücreler farklı



Şekil 6. Tip VI granülosit (+stem hücre).

fonksiyonel fazlar halinde görülebilir. De Leo ve arkadaşları bu çalışmalarında onları “açık granülosit”, “mikrogranülosit”, “unilokular koyu granülosit” ve “globular granülosit” olmak üzere dörde ayırmıştır. *Ciona*'da “granüler hemosit” ismi SMITH ve SODERHAL (11) tarafından da benimsenmiştir. *Polyandrocarpa* kolonial formunda ise hemolenf hücreleri “glomerulosit” adıyla verilmektedir (12). Dış kısımları konsantrik fibriler yapıda olan bu hücrelerin epidermiste görüldüğü, orijinlerinin epitel olduğu da belirtilmektedir. Soliter örnek *Halocynthia*'da 9 tip hücre ayırt edilmiş ve bunların iki tipi küçük ve büyük granüllü hücreler olarak ayrılmıştır (13). Ultrastrüktürel özelliklerin kriter olarak alındığı bu araştırma, *Ciona*'da yaptığımız bu çalışma için DE LEO (14)'nin çalışmasıyla birlikte, tartışılacak kaynakların en önemlilerini oluşturmaktadırlar. Mevcut çalışmada ele alınan granüler hücreler, sitoplazma ve granül özelliklerine göre bulgularda verildiği gibi 6 tip olarak belirlenmişlerdir. Bu hücrelerden Tip II ZHANG (13)'ün küçük granüllü hücreleriyle sitoplazma ve granül açısından benzerlik göstermektedir. Tip IV ise vesikül içeren “vesicle containing” hücrelere benzer. Tip VI olarak belirlediğimiz hücre, fibröz materyal içeren hücre ile yakın yapıdadır. Tip I, Tip III ve Tip V ise Zhang'ın tunikatlarda saptadığı granüler hücre tipleriyle hiç benzerlik göstermezler. Sitoplazmik içerikleri ve granül özellikleri farklı olmakla birlikte Tip II ve Tip III, CLONEY ve GRIMM (7)'in *Amourocium*'da larvanın metamorfozu esnasında gösterdikleri; tunik içine kan hücrelerinin kütleli göçünü ima eder bir görüntü vermektedirler. *Ciona intestinalis*'de tuniğin eritilmesi esnasında inflamatuvar bir etkiye sebep olan granülositlerde bir takım değişikliklerin meydana geldiği gösterilmiştir (10).

Bunların özellikle unilokular olarak isimlendirilmiş hücrelerde belirginleştiğine işaret edilmektedir. Bu hücreler 1960 lı yıllarda “signet cell” olarak isimlendirilmiş hücrelerle çok benzerdirler. Yabancı bir maddeye karşı bir inflamatuvar reaksiyon oluşturulması, fagositoz ve enkapsulasyon olaylarına ilave olarak gerçekleşmektedir. Bu işlemin; lizozomların, inflamatuvar etkiye verilen cevapta aktivite göstermeleri ile ortaya çıktığı ifade edilmektedir. DE LEO (14) daha önce yapılan tüm hücre sınıflamalarını ve isimlendirmeleri göz önüne alarak ascidian hemositlerini sistematik bir şekilde vermiştir. Onların savunma reaksiyonlarındaki rolleri de ele alınarak sunulan bu çalışmada genel olarak stem hücre ve granülosit ayırımı yapılmıştır. Granülositler de ; “açık vesikular granülosit”, “mikro granülosit” ve “vakuolar granülosit” olarak ayrılmışlardır. Unilokular ve globular vakuolar olanlar ise son gruba dahil hücrelerdir. Bu çalışmadaki hücre tiplerinden stem hücreler , bizim çalışmamızda da görülmüş, ancak granüler olmadığından üzerinde durulmamıştır. Granüler hücrelerden “clear” granülositler; bizim sınıflandırmamızdaki Tip I, Tip II, Tip III ve Tip IV'ün herbirinden bazı özellikleri içine alan bir yapı göstermektedirler. Göze çarpan en belirgin fark, DE LEO (14)'nin hücrelerde işaret ettiği golgi kompleksinin varlığıdır. Mikrogranülositler ise, Tip I hücremizle benzer yapı gösterirler. DE LEO' nun vakuoler granülositler olarak ayırdığı hücreler bizim granüler hücre tanımımız içinde yer almamıştır. Son grup hücreler arasında “yoğun pigment granüllü” olarak verilen hücre, melanin benzeri materyal içerdiğine işaret ettiğimiz Tip V hücreleriyle benzerdir. DE LEO (14) bu çalışmasında hücrelerin fonksiyonları üzerinde de durmuştur. Granüler hücreler için esas alınan fonksiyonlar ; hücre agregasyonu, beslenme ve nakil metabolizması, savunma reaksiyonları (fagositoz ve inflammatuar reaksiyon üretme yoluyla), vanadyum biriktirme (antimikrobiyal özellik) , bazal membran oluşturma, degranulasyon, tunik yapımı ve rejenerasyonu, protein (elastin benzeri) ve polisakkarit (glikojen) depolama, enkapsulasyon, yara iyileştirme ve pigmentasyondur. DE LEO granülositlere ait bu fonksiyonların herbiri için farklı araştırmacıların çalışmalarını göz önüne almıştır (14).

ARIZZA ve arkadaşları (15) *Styela* (Tunicata) hemositlerinde fenoloksidaz aktivitesini incelerken, granulositlerden globular olanları ele almış ve bunları yine “morula cell” olarak isimlendirmişlerdir.

Omurgasızlardan *Lymnea stagnalis* (Mollusca) kan

hücrelerinde hemolenfte iki fonksiyon üstlenmiş olan - madde alımı ve parçalama- tek bir hücre tipinden söz edilmektedir (25). Bu bir “amobosit” olup içerdiği glikojen depo alanları yönünden *Ciona*’daki granüler hücrelerden Tip III ile, hücre şekli açısından Tip IV ile benzemektedir. *Lymnea*’ da bir başka çalışma SMINIA ve arkadaşları (26) tarafından yapılmış ve amöbositlerin yara iyileştirmede protein üreterek işlevsel oldukları belirtilmiştir. *Ciona intestinalis*’de tunik yaralanmalarında tuniğe göç eden granüllü hücrelerin amaçlarının da bu olduğu, Tip II ve Tip III hücreleriyle ilgili olarak düşünülebilir. OLIVER ve FISCHER (27) *Crassostrea virginica*’da savunma mekanizmasına bağlı olarak hemositlerin sayı ve yapılarında değişiklik meydana gelebileceğini belirtmektedirler. *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca) ‘ de “hyalinosit” ve “granulosit” olarak iki hücre tipi ayrılmıştır (28). Burada sözü edilen granulositler, çalışmamızda Tip II ve Tip III ile benzerlik göstermektedirler.

Limulus (Crustacea)’ta pıhtılaşma esnasında kan hücrelerinin bazı sitolojik özelliklerini ele alan DUMONT (24) ‘ da bunlarda tek hücre tipinden söz eder. Ovoid şekilli bu hücre içinde ışığı kıran çok sayıda granül vardır ve pıhtılaşma esnasında bunların yapıları değişmektedir. Sitoplazmalarında da bir değişimin meydana geldiği bu hücreler yapısal farklılaşma safhaları gösterirler. Bunların bazıları, *Ciona*’da tarafımızdan gösterilmiş olan birkaç tipi hatırlatmaktadır. Özellikle pıhtılaşma öncesi safhada gösterilen granüler yapı; Tip V hücrelerinin granül yapısıyla benzemektedir. Pıhtılaşma sonuna doğru yoğunluğunu kaybetmiş olan granül yapısı ise, Tip VI hücrelerinin granüllerine benzer. Ancak her iki tipte de *Ciona*’daki granül boyutları açısından belirgin fark vardır.

Omurgasızların hemolenf hücreleriyle yapılan çalışmaların çoğunda obje böcekler olmuştur. Bu canlı grubunun kan hücre sınıflamasında da bir çok araştırmacı, sınıflamada benzer isimler kullanmışlardır. STANG-VOSS (16) *Tenebrio*’da 4 tip hücre belirlemiştir; “embriyonik tabiatlı”, “pıhtılaştırıcı”, “iğ şekilli amöboid” ve “fagositik amöboid”. Pıhtılaştırıcı olanlar melanozoma benzeyen yapılar içerirler ve *Ciona*’nın Tip V hücreleriyle benzerdirler. *Leucophaea madarae* (Orthoptera) nimflerinde granüler hücrelere işaret edilmiş ve bunlar melanozom, premelanozom, plastid ve mikrobadi içerikli olarak sınıflandırılmıştır (17). Bu hücrelerde mikrotübüllere özellikle işaret edilmektedir. Bunlardan melanozom içerenler de Tip V hücre tipimizle benzemektedir.

NEUWIRTH (18) *Galleria mellonella*’da “plazmosit”, “granüler hemosit”, “sferül hücre” ve “önositoid” ayırımı yapmıştır. Granüllerin 0,2 ve mikrotübül içerikli olduğu bu hücrelerde lipid de bulunmaktadır. Bunlar *Ciona*’nın granüler hücreleriyle benzemezler ancak sferül hücreler, Tip VI ile yapısal bir yakınlık göstermektedirler. Lepidopterlerden *Calpodes ethlius*’un hemositleriyle yapılan çalışmada da “prohemosit”, “plazmatosit”, “granüler hematosit”, “önositoid” ve “sferül hücre” ayırımı yapılmıştır (19). İnce yapı özelliklerine göre yapılan sınıflamada granüllü hücreler granül yoğunluğuna göre gruplanmışlardır. *Calliphora erythrocephala* (Diptera) ‘ da “plazmatosit”, “trombositoid” ve “önositoid” olarak hücreler ayrılmışlardır (20). Plazmatositleri de kendi aralarında sınıflandırmış olup III. Tip plazmatositi “granülosit” olarak vermişlerdir. Çok sayıda serbest ribozom içeren bu hücreler dens yapıya da sahiptirler. Bunlar da *Ciona*’daki Tip V granüler hücreleriyle benzerlikler göstermektedirler. *Locusta* ve *Melolontha* (Orthoptera) ile çalışan BREHELIN ve arkadaşları (21) yabancı maddelere karşı oluşan yapısal farklılaşmayı incelemişler ve bu arada granüler hemositlerin bir kapsül oluşturacak tarzda lokalize olduklarını saptamışlardır. Burada yer alan hücrelerin glikojen depozitleri tipik bir görüntü sergilemekte ve hücrelerimizden Tip III ile benzer bir düzenleniş farkedilmektedir. Bunun lokalizasyon aktivitesi ile ilgili olduğu düşünülebilir. Diptera’ dan *Simulium vittatum* hemositleri morfolojik ve fonksiyonel sınıflamaya tabi tutulmuşlardır (22). Buna göre de “prohemosit”, “granülosit”, “plazmatosit”, “sferulosit” gibi isimler verilmiştir. Lepidopterlerden *Sericinus* ile yapılan çalışmada hemositlerin farklılaşması araştırılmış, bunlar “prohemosit”, “plazmatosit”, “granüler hücre” ve “sferül hücre” olarak ayrılmışlardır (23). Bunların bir stem hücreden geliştiği ifade edilmektedir.

Omurgasızlarla omurgalılar arasında yer alan tunikatlar için iyi bir karşılaştırma objesi olan ve kendilerine en yakın grupta bulunan *Amphioxus*’un kan hücrelerini inceleyen ZHANG ve arkadaşları (29) ‘ nın çalışmasında 2 tip mononukleer serbest hücreden söz edilmektedir. Bunlar “granülosit” ve “makrofaj” hücreleridir. Granülositlerin mikrotübül içerikli spesifik granüllere sahip olduğu, kan damarı lümeninde görüldükleri bu araştırmacılarca belirtilmektedir. Onlar bu yapıların böcek granülositlerindekiyle identik olduğunu, makrofajlarla birlikte bu hücrelerin immun mekanizmaya katıldıklarını düşünmektedirler.

Hemositleri sınıflandırmada bu kadar çeşitlilik bulunması, bu hücrelerin geçirdiği gelişme-olgunlaşma dönemleriyle ilgili olabilir. Özellikle DE LEO (14)' nun çalışmasıyla birlikte ele alınarak incelendiğinde, tunikatların hemositlerinden sadece granüler olanlar dahi zengin çeşitliliğe sahiptir. Sonuç olarak; tunikatların granüler hemositleri 6 tip olarak ayırt edilebilir. Bu çalışmada granüositler, omurgalı ve omurgasızlardan bazı örneklerin kan hücreleri ile karşılaştırılarak yapısal ve muhtemel fonksiyonel benzerlikleri üzerinde durulmuştur.

Kısaltmalar

ER	: Endoplazmik retikulum
gl	: Glikojen
gld	: Glikojen depoları
Keh	: Kanal epitel hücreleri
m	: Mitokondri
Me	: Melanin benzeri granül
→	: Mikrofilament
→	: Mikrotübül
N	: Nukleus
ssa	: Strüktürsüz sitoplazmik alan
Sf	: Sferül tarzı granül
St	: Stem hücre

Tüm ölçütler (barlar) 1 µ u gösteriyor.

Kaynaklar

- George, W.C., A comparative study of the blood of the Tunicate. Quart. J. Micr. Sci. 81: 391-431, 1939.
- Endean . R., The blood cells of the Ascidian *Phallusia mammilata*. Quart. J. Micr. Sci. 101: 177-197, 1960.
- Andrew, W., Phase - Microscopy studies of living blood cells of the Tunicates under normal and experimental conditions. Quart. J. Micr. Sci. 102: 89-105, 1961.
- Freeman, G., The role of blood cells in budding. Exp. Zool. 156: 157-183, 1964.
- Overton, J., The fine structure of blood cells in the ascidian *Perophora viridis*. J. Morphol. 119: 305-326, 1966.
- Smith, M. J., The blood cells and tunic of the ascidian *Halocynthia aurantium*. I. Haematology tunic morphology and partition of cells between blood and tunic. Biol. Bul. 138: 354-378, 1970.
- Cloney, R. A., Grimm, L., Transcellular emigration of blood cells during ascidian metamorphosis. Z. Zellforsch. 107: 157-173, 1970.
- Rowley, A.F., Ultrastructural and cytochemical studies on the blood cells of the sea squirt, *Ciona intestinalis*. I. Stem cells and amoebocytes. Cell Tissue Res. 223: 403-414, 1982a.
- Deleo, G., Parrinello, N., Di Bella, M. A., Fine structures of blood systems in *Ciona intestinalis* L. (Tunicata). Vessels and hemocytes in pharyngeal wall. Arch. Biol. (Bruxelles) 98: 35-52, 1987.
- Deleo, G., Parrinello, N., Di Bella, M. A., Structurel changes in granulocytes involved in the lysis of the tunic during inflammatory-like reaction induced in *Ciona intestinalis* (Tunicata, Ascidiacea). Eur. Arch. Biol. 103: 113-119, 1992.
- Smith, V. J., Soderhall, K., A comparison of phenoloxidase activity in the blood of marine invertebrates. Dev. and Comp. Immunology. 15 (4): 251-262, 1991.
- Hirose, E., Mukai, H., An ultrastructural study on the origin of glomerulocytes, a type of blood cell in a styelid ascidian, *Polyandrocarpa misakiensis*. J. of Morphol. 211 (3): 263-273, 1992.
- Zhang, H., Sawada, T., Cooper, E.L., Tomonaga, S., Electron microscopic analysis of Tunicate (*Halocynthia roretzi*) hemocytes. Zool. Sci. (Tokyo) 9 (3): 551-562, 1992.
- Deleo, G. Ascidian hemocytes and their involvement in defence reactions. Boll. Zool. 59: 195-213, 1992.
- Arizza, V., Sammarata, M., Tomasino, M.C., Parrinello, N., Phenoloxidase characterization in vacuolar hemocytes from the solitary ascidian *Styela plicata*. J. of Invert. Pathol. 66 (3) : 297-302, 1995.
- Stang-Voss, C.H. Zur ultrastruktur der Blutzellen Wirbelloser Tiere. I. Über die Haemocyten der Larve des Mehlkaefers *Tenebrio molitor* L.. Z. Zellforsch. 103: 589-605, 1970.
- Hagopian, M., Unique structure in the Insect granular hemocytes. J. Ultr. Res. 36 : 646-658, 1973.
- Neuwirth, M., The structure of the hemocytes of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). J. of Morphol. 139: 105-124, 1973
- Lai-Fook, J. The structure of the haemocytes of *Calpodes ethlius* (Lepidoptera). J. of Morphol. 139 : 79-104, 1973.
- Zachary, D., Hoffmann, J.A., The haemocytes of *Calliphora erythrocephala* (Meig.) (Diptera). Z. Zellforsch. 141 :55-73, 1973.

21. Brehelin, M., Hoffmann, J.A. Matz, G., Porte, A.. Encapsulation of implanted foreign bodies by hemocytes in *Locusta migratoria* and *Melolontha melolontha*. Cell Tissue Res. 160: 283-289, 1975.
22. Luckhart, S., Morphological and functional classification of the hemocytes of adult female *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae) J. Med. Entomol. 29 (3), 457-466, 1992.
23. Kwon, S.B., Huh, Y.H., Yang, H.Y., Hemocytic differentiation in *Serinus montela* Grey (Lepidoptera; Papilionidae). Korean Journal of Zool. 38 (3) : 313-323, 1995.
24. Dumont, J., Anderson, E., Winner, G., Some cytologic characteristics of the hemocytes of *Limulus* during clotting. J. Morphol. 119: 181-208, 1966
25. Stang-Voss, L., Zur Ultrastruktur der Blutzellen Wirbelloser Tiere.III. Über die Haemocyten der Schnecke *Lymnea stagnalis* L. Z. Zellforsch. 107: 142-156, 1970.
26. Sminia, T., Pietersma, K., Scheerboom, J.E.M., Histological and ultrastructural observations on wound healing in the freshwater Pulmonate *Lymnea stagnalis*. Z. Zellforsch. 141 : 567-573, 1973.
27. Oliver, L.M., Pischer, W.S., Comparative form and function of oyster *Crassostrea virginica* hemocytes from Chesapeake Bay (Virginia) and Apalachicola Bay (Florida). Diseases of Aquatic Organism 22 (3): 217-225, 1995.
28. Cajaraville, M.P., Pal, S.G., Morpho-functional study of the haemocytes of the bivalve mollusc *Mytilus galloprovincialis* with emphasis on the endolysosomal compartment. Cell Struc. and Func. 20 (5) : 355-367, 1995.
29. Zhang, H., Huang, Z., Yamaguchi, K., Tomonoga, S., Granulocytes and macrophages in *Amphioxus*. Zool. Sci. (Tokyo) 9 (1) : 113-118 , 1992.
30. Öber, A., Neurosecretory cells of the cerebral ganglion in *Ciona intestinalis* (Tunicata), İst. Univ. Fen Fak. Mec. Serisi B, 46 : 43-54, 1981 .
31. Öber, A., *Ciona intestinalis* (Tunicata, Ascidiacea) da nöral bez kanalının ışık ve elektron mikroskobu ile incelenmesi. E.Ü.Faculty of Science Journal Series B. Suppl. 380-387, 1983.
32. Öber, A., Glycogen storage formations during the structural differentiations of the neural gland of *Ciona intestinalis* (Tunicata, Ascidiacea). Turkish Jour. of Zool. 20 (2) :175-181, 1996.
33. Reynolds, E.S., The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17: 208-212, 1963.