

Kemik İliğinde Gözlenen Megakaryositik Emperipolez Olayı Üzerine Işık Mikroskobu Düzeyinde Bir Araştırma*

Yeşim YENER¹, Musa DİKMENLİ

Selçuk Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı

Özet: Megakaryositik emperipolez "megakaryositlerin çeşitli kemik iliği hücrelerini içine alması veya yutması" şeklinde tanımlanan bir olaydır. Emperipolez olayının patofizyolojik önemi kesin olmamakla birlikte, çeşitli kanser türleri, değişik tümörler, trombosit bozuklukları, hipoksiya, demir eksikliği anemisi ve kan kaybı durumlarında önemli ölçüde artış gösterdiği pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada normal *Sprague Dawley* ırkı erkek albino sıçanların kemik iliği hücrelerinde kendiliğinden meydana gelen megakaryositik emperipolez olayı ışık mikroskobu düzeyinde incelenmiştir. Kemik iliği yayma preparatları incelendiği zaman bazı megakaryositik hücrelerin çeşitli kemik iliği hücrelerini sitoplazmaları içerisine aldıkları çok bariz bir şekilde görülmüştür. Yapılan bütün taramalarda, kemik iliği hücrelerini sitoplazmalarında taşıyan megakaryositik hücrelerin çoğunlukla olgun megakaryositler olduğu tespit edilmiştir. Sitoplazmasında ilik hücresi bulunduran promegakaryoblast, megakaryoblast veya promegakaryositlere çok az rastlanmıştır. Bir megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısının çoğunlukla 1-3 arasında değiştiği ve bazen de bu sayının üzerine çıktığı gözlenmiştir. Sonuçlar literatürler ışığında tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Megakaryositik emperipolez, kemik iliği, sıçan

An Investigation on Megakaryocytic Emperipolesis observed in bone marrow in the light microscopic level

Abstract: Megakaryocytic emperipolesis is defined as a phenomenon described megakaryocytes engulfed a various bone marrow cells within their cytoplasm. Its pathophysiological importance is not certain but many researchers indicated that it considerable increases in some situations including various types cancer, different tumors, thrombocyt disturbance, hypoxia, iron deficiency anemia and excessive blood losing. In this study, megakaryocytic emperipolesis occurring spontaneously was investigated in bone marrow of male *Sprague Dawley* rats in the light microscopic level. When bone marrow smears examined it was obviously seen that some megakaryocytic cells engulfed a various bone marrow cells within their cytoplasm. In all scanning it was assigned to be usually mature megakaryocytes carrying different bone marrow cells in their cytoplasm. It was rarely observed promegakaryoblast, megakaryoblast and promegakaryocytes carrying marrow cells in their cytoplasm. It was observed the number of cells engulfed by megakaryocytes changed between one and three and sometimes seen it over this number. The results were discussed in the light of literatures.

Keywords: Megakaryocytic emperipolesis, bone marrow, rat

¹ E-mail: yesimyener@selcuk.edu.tr

*Bu makale doktora tezinden hazırlanmıştır.

Giriş

Kemik iliği vücudun önemli yapılarından birisi olup [1], kan yapımının (hematopoez) gerçekleştiği temel organdır ve hem primer hem de sekonder lenfoid organlar kadar önemlidir [2]. Kaba incelemelerde görünüş bakımından "sarı" ve "kırmızı" olmak üzere iki çeşit kemik iliği tanımlanmaktadır. "Sarı kemik iliği" normal şartlarda kan yapımından sorumlu olmayıp ancak şiddetli kanama ve hipoksiya durumlarında kırmızı kemik iliğine dönüşerek hematojen hale gelmektedir. "Kırmızı kemik iliği" aktif veya hematojendir. Yeni doğanlarda bütün kemik iliği kırmızıdır ve kan hücrelerini üretmede aktiftir. Memelilerin kemik iliği hücreleri arasında megakaryositler, büyüklük ve çekirdek yapıları ile diğerlerinden kolayca ayırt edilebilen hücrelerdir. Dolaşım kanında bulunan ve hayati önem taşıyan trombositlerin yapımı için özelleşmişlerdir [3]. Genellikle kemik iliğinde bulunan progenitör hücrelerden oluşmaktadır ve olgunlaşma aşaması esnasında, sitoplazma ve çekirdeklerinde eş zamanlı olarak meydana gelen morfolojik değişiklikler vasıtasıyla megakaryosit öncüllerinin büyüklükleri artmaktadır [4]. Megakaryosit sitoplazmasında meydana gelen temel değişiklikler, sitoplazma içerisinde farklı bölgeleri plazma zarı tarafından sınırlandırılmış büyük bölmelere ayırarak Demarkasyon Membran Sistemi (DMS)'ni meydana getirmektedir [4, 5]. DMS trombosit yapım aşaması esnasında trombositlere özgü α granüllerini içine almaktadır. Bu arada kromozomların birkaç kez iç duplikasyon döngüsü geçirmesi sonucunda da çekirdek çok loblu bir yapı kazanmaktadır [6]. Bunun sonucunda farklılaşma sürecinin belli bir aşamasından sonra sitokinez geçirmeksizin tekrarlanan çekirdek bölünmeleri neticesinde poliploid DNA içeriğine sahip olmaktadır. Sitoplazmik gelişim ve ploidi oranının artmasıyla birlikte bir megakaryositin büyüklüğü ve üretebildiği trombosit sayısı da artmaktadır.

Memeliler arasındaki birkaç farklılığa rağmen megakaryositlerin olgunlaşması ile ilgili morfolojik değişiklikler fare, sıçan ve insanlarda benzerlik göstermektedir [7]. Belirgin yapısal özelliklerin temelinde, fare ve sıçanlar ile insan megakaryosit öncülleri 4 grupta toplanmaktadır [4]. Bunlardan birincisi, Von Willebrand Factor (VWF) gibi trombositlere özgü proteinleri oluşturan, küçük tek çekirdekli promegakaryoblast'lardır. İkincisi, 15-50 μm çapında, büyük, oval yada böbrek şeklinde çekirdeği ve birkaç çekirdekçığı olan, sitoplazmasında çok sayıda ribozom ve iyi gelişmiş bir ribozomlu endoplazmik retikulumu bulunan megakaryoblast'lardır. Üçüncüsü, 20-70 μm çapında, düzensiz şekilli çekirdeği ve daha bol sitoplazması olan, iyi gelişmemiş DMS'ye sahip promegakaryosit'ler ve dördüncüsü de, çapları 100 μm 'ye kadar ulaşabilen, çok loblu bir çekirdek ve iyi gelişmiş DMS'ye sahip olgun megakaryosit'lerdir [4]. Megakaryoblastların promegakaryosit ve olgun megakaryositlere dönüşmelerine paralel olarak DMS de daha iyi gelişmekte, sitoplazmadaki granüllerin sayısı, çekirdeğin loblara ayrılması ve kromatin yoğunluğu artmaktadır.

Emperipolez ise, hücreler arası etkileşimde "bir hücrenin başka bir hücreyi içine alması, yutması veya bir hücrenin başka bir hücrenin içerisine göçü"manasında kullanılan bir terimdir. Megakaryositik emperipolez ise "megakaryositlerin çeşitli kemik iliği hücrelerini içine alması veya yutması şeklinde tanımlanmaktadır. Yutulan bu hücreler, megakaryositlerin bir organeli olan demarkasyon membran sisteminin içerisine yerleşebilirler ve megakaryosit sitoplazması içerisine doğru göç edebilme yeteneğindedirler [8, 9].

Emperipolez olayının patofizyolojik önemi kesin olmamakla birlikte, çeşitli kanser türleri, değişik tümörler, trombosit bozuklukları, hipoksiya, demir eksikliği anemisi ve kan kaybı durumlarında önemli ölçüde artış gösterdiği pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir [10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. İleri derecede trombositoz görülen hastaların çoğunda nötrofillerin megakaryosit içerisine girmesi ile oluşan nötrofil emperipolezinin artması yaygın olarak görülmektedir [18]. Bu durumda yalnızca nötrofil ya da eosinofil gibi polimorfonükleer hücrelerin emperipolezindeki artışın olmadığı aynı zamanda bu hücrelerin spesifik ya da patolojik olarak megakaryositler ile etkileşime girdiği de vurgulanmaktadır [19, 20]. Megakaryositlerin, diğer kemik iliği hücrelerinin dolaşım kanına verilmesinde bir fonksiyonunun olup olmadığını anlayabilmek için yapılan çalışmalarda, sıçanlar üzerinde kanama şoku oluşturulmuş ve megakaryositik emperipolez olayının sıklık derecesi ışık ve elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Kanama şoku oluşturulan sıçanlarda megakaryositik emperipolezde önemli ölçüde artış meydana geldiği sonucundan hareketle kemik iliği hücrelerinin kana verilmesinde ve ilik-kan bariyeri oluşturulmasında

megakaryositlerin rol oynayabileceği belirtilmiştir [21, 22]. İnsan fetal karaciğerindeki Kupffer hücreleri üzerinde ışık ve elektron mikroskobu ile yapılan incelemede, Kupffer hücrelerinin 4-8 arasında eritroblast ihtiva ettikleri ve emperipoetik eritroblastların proeritroblasttan retikülosite kadar olan çeşitli olgunlaşma aşamalarında oldukları tespit edilmiştir. Araştırmacılar, elektron mikroskobu ile yaptıkları incelemelerinde hem emperipoetik eritroblastların hem de içinde buldukları Kupffer hücrelerinin hasar görmediklerini tespit etmişlerdir. Ayrıca Kupffer hücreleri içindeki eritroblastların çoğalma yeteneğinde olduklarını gösteren ve mitoz aşamasında olan emperipoetik hücreler de gözlemişlerdir. Çalışma sonucunda, fetal karaciğerindeki eritroblast olgunlaşmasını destekleyen mekanizmalardan bir tanesinin de emperipolez olabileceği ileri sürülmüştür [23]. Ultraviyole radyasyonunun Spalax leucodon kemik iliğindeki megakaryositik emperipolez olayı üzerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, 56, 112 ve 168 saat süreyle ultraviyoleye maruz bırakılan hayvanlarda ışınlama süresine bağlı olarak megakaryositik emperipolez olayının önemli derecede arttığı gözlenmiştir [24]. Non-Hodgkin's lymphoma (NHL)'li hastaların kemik iliği üzerinde yapılan bir çalışmada, emperipolez olayı incelenmiş ve megakaryositlerin sitoplazmaları içerisinde çok sık olarak lenfositler, nadir olarak da eosinofilik granülositler olmak üzere tek hematopoietik hücreler gözlenmiştir. Bu çalışmada hastaların yaşı, cinsiyeti, hastalığın klinik aşaması ve NHL'nin histolojik tipleri ile megakaryositik emperipolezin sıklığı arasında hiçbir ilişki bulunamamıştır [25]. Creutzfeldt-Jacob (CJD) hastası olan insanlarda yapılan çalışmada, beyin beyaz maddesinde bulunan astrosit hücrelerinin oligodentrositleri içlerine alması ile gözlenen emperipolez olayı incelenmiştir. Harap olmuş beyaz madde içerisinde sitoplazmalarında bir veya birkaç tane oligodentrosit içeren çok sayıda hipertrofik astrosit hücreleri bulunmuştur. CJD'deki beyaz madde içerisindeki bu tip emperipolezin yaygınlığı beyaz madde lezyonlarının sertliği ile ilişkilendirilmiştir [26]. Ekstranodal Rosai-Dorfman hastalığının teşhisi için hematoksilen-eosin ve immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanarak araştırılan çalışmada, Rosai-Dorfman hastalığının lezyonları, bol sitoplazmalı, S-100 protein boyamada pozitif sonuç veren, kese şeklinde çekirdeği ve küçük bazofilik çekirdekçisi olan ve ayrıca içerisinde lenfositleri, plazma hücrelerini ve diğer iltihap gösteren hücreleri barındıran (emperipolez) büyük histiyositlerin varlığı ile tanımlanmıştır [27]. Rosai-Dorfman hastalığının histolojik incelemesi yapılan farklı bir çalışmada, lenfositofagositozun (emperipolez) göze çarptığı vurgulanmıştır. Deride gözlenen lenfosit emperipolezinin lenf düğümlerinde gözleneninkinden daha az dikkati çektiği ve teşhise ait lenf nodülleri olmadığı zaman, gelişmiş ekstranodal Rosai-Dorfman hastalığının tanısının yapılabilmesi için, kolaylıkla ayırt edilebilen, çok sayıdaki S-100 pozitif histiyositlerinin ve göze çarpan lenfositofagositozun bulunması gerektiği belirtilmiştir [28]. Gray platelet sendromlu bir hastanın kemik iliği numunesi incelendiği zaman, hücrelerin aşırı derecede çoğaldığı ve göze çarpacak yoğunlukta megakaryositik emperipolez olayının olduğu tespit edilmiştir. %80 ve daha fazla megakaryositte emperipolez olayının gözlendiğini ve bu megakaryositlerin sitoplazmalarında 2-4 arasında nötrofil ihtiva ettikleri belirtilmiştir [29].

Kemik iliği ve diğer dokularda gözlenen emperipolez olayın yoğunluk derecesinin tek başına hastalıkların teşhisinde bir önemi olup olmadığı tartışma konusudur. Olayın fizyolojik mekanizması ile ilgili bazı hipotezler ortaya atılmakla beraber henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Bu çalışmada; Sprague Dawley ırkı erkek albino sıçanların kemik iliklerinde bulunan megakaryosit hücrelerinin ve bu megakaryositlerin diğer bazı kan hücrelerini içlerine alması ile gözlenen emperipolez olayının ışık mikroskobu seviyesinde incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Deney Hayvanları

Çalışmada, S.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Ve Uygulama Merkezi tarafından yetiştirilen, ağırlıkları 180-200gr arasında değişen, 8 haftalık *Sprague Dawley* cinsi erkek albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 121°C'de otoklave edilebilen, polikarbonat malzemeden yapılmış kafeslerde barındırılmıştır. Kafes gövdesinin ebatları, 425x266x175 mm ve taban alanı 800 cm²'dir. Sıçanlar purina marka standart sıçan yemi ile beslenmiş, su olarak çeşme suyu kullanılmıştır. Yem ve su *ad libitum* olarak sağlanmıştır. Sıçanlar, 20±2 °C sıcaklık, %50 bağıl neme sahip, sabah 7'den akşam 7'ye kadar olan 12 saat aydınlık-12 saat karanlık foto periyotlu

ve saatte 15 kez havalandırılan laboratuvar koşullarında barındırılmışlardır. Sıçanların kemik iliği preparatları S.Ü. Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi A.B.D. Araştırma Laboratuvarında hazırlanmıştır.

Kemik iliği preparatlarının hazırlanması:

Hayvanların ketamin (90mg/kg v.a.) ile anesteziyi sağlandıktan sonra anestezi altında iken servikal dislokasyon yöntemi ile öldürülerek femur kemikleri çıkartılmıştır. Çıkartılan kemikler kaslarından iyice temizlenerek görünür hale getirilmiştir. İki ucundan kesilerek pens ile tutulmuş ve bir enjektör yardımı ile kemiğin açık uçlarından bir tanesinden fizyolojik serum basınçla fışkırtılarak kemik iliği santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Kemik içindeki iliğin tamamı elde edilene kadar yıkama işlemine devam edilmiştir. Tüpler dengelendikten sonra 2000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant pastör pipeti ile alınmıştır. Tüp içerisinde kalan kısım yeniden süspanse edilerek kemik iliği numunesi daha önceden temizlenmiş lamlar üzerine yayılarak havada kurutulmuş ve mutlak metil alkolde 20 dakika tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra May Grünwald-Giemsa ile boyanmış ve enthellan ile kapatılarak daimi preparat haline getirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan preparatlar "Olympus CX21FS1" marka ışık mikroskobunda incelenmiş ve Olympus BX50 marka araştırma mikroskobunda mikrografı alınmıştır.

Araştırma Sonuçları:

***Sprague Dawley* Sıçan Kemik İliğinde Morfolojik Olarak Tanınabilen Megakaryositlerin Sınıflandırılması**

Sprague Dawley kemik iliğinde ışık mikroskobu düzeyinde yaptığımız bu çalışmada, çapları 20 mikrondan daha büyük olan megakaryositik hücrelerin diğer kemik iliği hücrelerinden net bir şekilde ayırt edilebildiği gözlenmiştir. Çapları 20 mikrondan daha küçük olan megakaryosit öncülleri ise büyüklük ve şekil benzerliği nedeni ile diğer ilik hücreleri ile karıştırılacağından dolayı bunları kesin olarak ayırt etmek mümkün olmamıştır. *Sprague Dawley* ırkı sıçanlarda morfolojik bakımdan tanınabilen kemik iliği megakaryositleri, diğer memeli canlılardaki megakaryositler ile şekil ve yapı itibarıyla büyük benzerlik göstermektedir. Bu megakaryositik hücreler büyüklük, çekirdek şekli ve sitoplazmanın boyanma özelliğine göre farklılaşma sırasıyla promegakaryoblast, megakaryoblast, promegakaryosit ve olgun megakaryosit olmak üzere ışık mikroskobu düzeyinde 4 grupta sınıflandırılmıştır. Bazı kemik iliği yayma preparatlarında gözlenen az sayıdaki piknotik çekirdekli mikromegakaryositler bu gruplandırma işlemine dâhil edilmemiştir. May-Grünwald Giemsa metodu ile boyanan megakaryositik seri hücrelerinin 4 tipinde de hem çekirdeğin hem de sitoplazmanın iyi boyandığı görülmüştür.

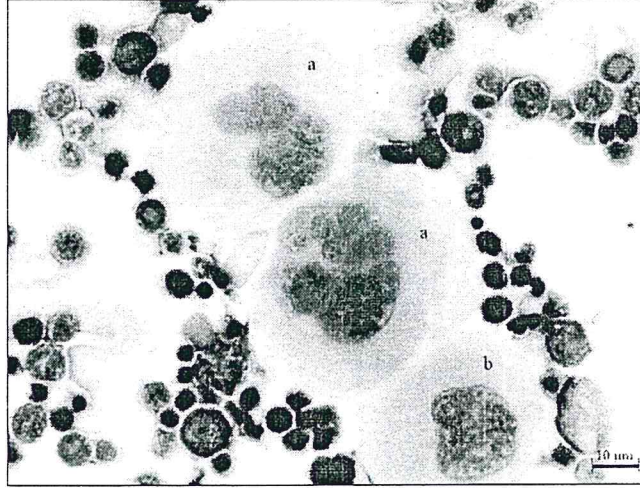
Büyüklük bakımından diğer kemik iliği hücrelerinden ayırt edilebilen ilk megakaryositik hücreleri promegakaryoblastlardır. Yapılan gözlemlerde bunların büyüklüklerinin genellikle 20-24 mikron arasında değiştiği, oval şeklinde, segment oluşumu göstermeyen tek bir çekirdeğe sahip olduğu görülmüştür. Çekirdekçiği kesin olarak ayırt etmek zor olmuş ve granülsüz ve yoğun bazofilik yapıdaki sitoplazmasının hücrede çok az yer işgal ettiği gözlenmiştir. Megakaryositik serinin diğer hücreleri ile karşılaştırıldığında, *Sprague Dawley* ırkı sıçanların kemik iliği yaymalarında az sayıda promegakaryoblastlara rastlanmıştır.

Megakaryoblastların büyüklüklerinin genellikle 25-40 mikron arasında değiştiği, koyu boyanan çekirdeklerinin U, C veya böbrek şeklinde ve sitoplazmasının yarısını veya yarısından daha fazlasını kaplamış olduğu görülmüştür. Çekirdekleri segment oluşturmaya başlamış ve çekirdekçikleri ise iyi tespit edilememiştir. Bazofilik yapıdaki sitoplazmada granüler bir yapı görülmüştür. *Sprague Dawley* ırkı sıçanların kemik iliği yaymalarında megakaryoblastların promegakaryoblastlara göre daha fazla sayıda oldukları gözlenmiştir.

Promegakaryositlerin büyüklüklerinin genellikle 30-60 mikron arasında değiştiği ve çekirdeklerinin sitoplazmanın yarısını kapladığı gözlenmiştir. Sitoplazmanın megakaryoblastlarda gösterdiği bazofilik yapının burada daha az olduğu görülmüştür.

Olgun megakaryositlerin büyüklüklerinin ise genellikle 50-80 mikron arasında değiştiği bazen de bu sınırın üzerine çıktığı gözlenmiştir. *Sprague Dawley* ırkı sıçanların kemik iliği yaymalarında megakaryositik serinin en çok rastlanan ve en büyük olan hücreleri olduğu görülmüştür. Koyu

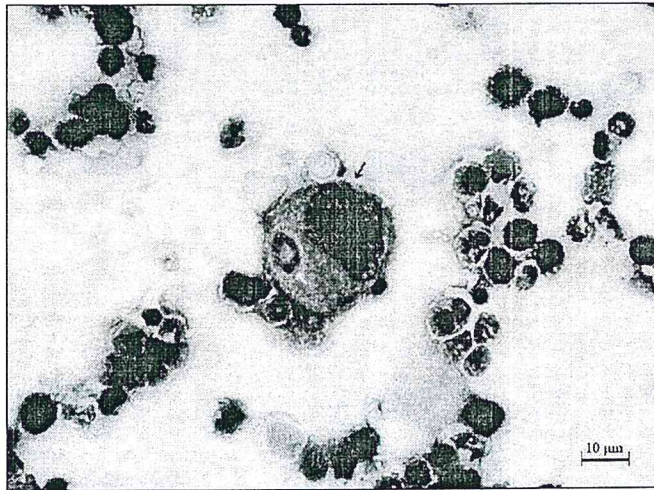
boyanan çekirdekleri belli ve sabit bir görünümünden ziyade değişik şekiller almıştır. Genellikle tek veya çok loblu bir yapı gösteren çekirdekteki lob sayısının olgunlaşmaya paralel olarak arttığı tespit edilmiştir (Şekil 1.). Çekirdeğin sitoplazmaya göre çok az yer işgal ettiği ve hücrenin büyük bir bölümünü sitoplazmanın oluşturduğu görülmüştür. Işık mikroskobu düzeyinde incelendikleri zaman sitoplazmadaki çekirdek dışında diğer organeller belirgin olarak görülemez.



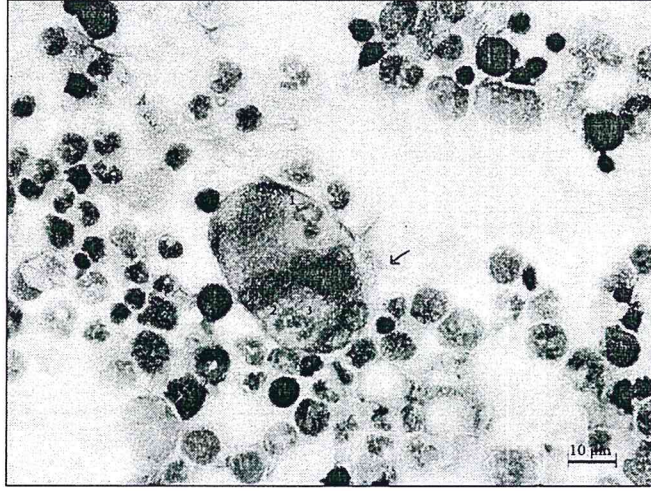
Şekil 1. Olgunlaşmasını tamamlamış iki adet olgun megakaryosit (a) ve bir adet promegakaryosit (b)

Sprague Dawley kemik iliğinde gözlenen megakaryositik emperipolez olayı:

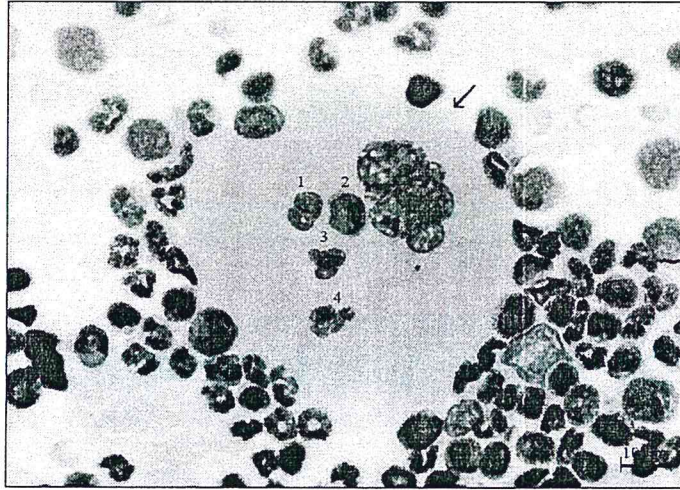
Kemik iliği yayma preparatları incelendiği zaman bazı megakaryositik hücrelerin çeşitli kemik iliği hücrelerini sitoplazmaları içerisine aldıkları çok bariz bir şekilde görülmektedir (Şekil 2, 3, 4, 5). Yapılan bütün taramalarda, çeşitli kemik iliği hücrelerini sitoplazmasında taşıyan megakaryositik hücrelerin çoğunlukla olgun megakaryositler olduğu tespit edilmiştir. Sitoplazmasında ilik hücresi bulunduran promegakaryoblast, megakaryoblast veya promegakaryositlere çok az rastlanmıştır. Bir megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısı çoğunlukla 1-3 arasında değişmekte ve bazen de bu sınırın üzerine çıkabilmektedir. Çok sayıda ilik hücresi yutan megakaryositlerin genellikle çapları büyük olan megakaryositler olduğu gözlenmiştir (Şekil 4, 6). Ayrıca yutulan hücrenin etrafını saran açık bir alan megakaryosit sitoplazması ile bir sınır teşkil etmektedir (Şekil 2). Bu sınır yutulan hücreyi megakaryosit sitoplazmasından ayırmaktadır.



Şekil 2. Promegakaryoblast (siyah okla gösterilen) tarafından yutulan nötrofil lökosit (sarı okla gösterilen) ve yutulan hücrenin etrafında gözlenen açık renkteki alan

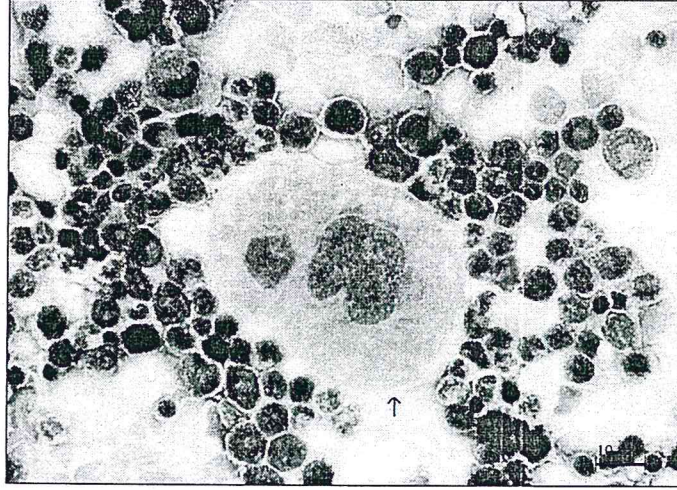


Şekil 3. Sitoplazmasında üç adet kemik iliği hücresi (1,2,3) bulunduran megakaryosit (okla gösterilen)

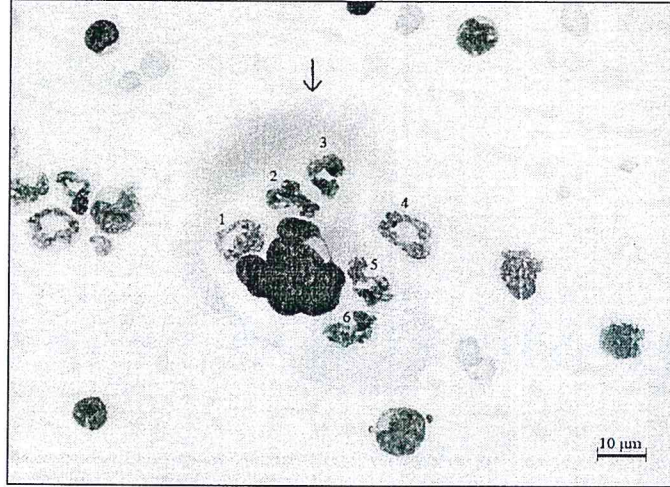


Şekil 4. İçerisine 4 adet kemik iliği hücresi (1,2,3,4) almış olgun megakaryosit

Megakaryositler ve megakaryositler tarafından yutulan kemik iliği hücrelerinin özellikle çekirdek ve sitoplazma yapılarını korudukları ve ayrıca megakaryosit sitoplazmasında bulunan granüllü lökositlerin granüllerinde de bozulma ve dağılma meydana gelmediği gözlenmiştir. Fagositozun belirleyici özelliği olan fagozom oluşumuna da rastlanmamıştır. Yutulan hücreler genellikle sitoplazma ve bazen de çekirdek tarafından çevrelenmiş vaziyettedir. Megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin, çeşitli tipteki kemik iliği hücreleri olabileceği gibi, daha çok olgun granülositler olduğu, bu granülositlerden de en çok nötrofillerin emperipoleze uğradığı tespit edilmiştir. Granülsüz lökositlerden de az sayıda lenfosit ve monositlerin megakaryositler tarafından yutulduğu gözlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Megakaryoblast (siyah okla gösterilen) tarafından yutulan bir adet granülsüz lökosit (kırmızı okla gösterilen)



Şekil 6. İçerisine 6 adet kemik iliği hücresi (1,2,3,4,5,6) almış olgun megakaryosit (okla gösterilen)

Tartışma ve Sonuç:

Sprague Dawley ırkı erkek sıçanlardan elde edilen kemik iliğinde morfolojik olarak tanımlanan megakaryositik hücre tipleri ışık mikroskobu ile net bir şekilde birbirlerinden ayırt edilebilmiştir. Kemik iliği preparatları üzerinde megakaryositik seriye ait hücrelerden en çok olgun megakaryositlere rastlanmıştır. Diğer megakaryositik hücre tiplerine özellikle de promegakaryoblastlara az sayıda rastlanması, bunların bir başka hücre tipine farklılaşma sürelerinin oldukça kısa olduğunu göstermektedir. Morfolojik bakımdan tanımlanan megakaryositik hücre tipleri *Sprague Dawley* ve diğer memeli canlılarda şekil ve yapı itibariyle büyük benzerlik göstermektedir [24].

Bazı araştırmacılar megakaryositik emperipolezi bir fagositoz olayı olarak değerlendirmişlerdir [30, 31, 32, 33]. Fakat bu çalışmada yaptığımız gözlemlere göre, bu olay gerçek fagositozdan farklı bir durum sergilemektedir. Emperipoleze iştirak eden bütün megakaryositler ve bunların sitoplazmaları içerisinde bulunan hücreler üzerinde yaptığımız ışık mikroskobu düzeyindeki gözlemlerde, megakaryositler ve megakaryositler tarafından yutulan hücrelerde herhangi bir morfolojik dejenerasyona rastlanmamıştır. Özellikle, megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin çekirdeklerinin normal yapılarını korudukları görülmüştür [23, 24, 25]. Ayrıca megakaryosit sitoplazmasında bulunan granüllü lökositlerin granüllerinde de dağılma ve

bozulmanın meydana gelmediği gözlenmiştir. Bilindiği gibi fagositoz olayında lizozomal enzimler işe karışmakta, fagozom oluşmakta ve partiküller sindirilmektedir. Megakaryositlerin sitoplazması içerisinde bulunan hücrelerin etraflarında fagositik bir vakuolün (fagozom) oluşmayışı ve sitoplazma içerisinde bulunan bu hücrelerin bozulmadan kalabilmeleri bunun bir fagositoz olamayacağını göstermektedir. Fare ve sıçanların kemik ilikleri üzerinde ışık mikroskobu ile yapılan çalışmalarda, megakaryositlerin ve bunlar tarafından yutulan hücrelerin morfolojik yapılarının normal olduğu ve buna bağlı olarak da olayın fagositozdan farklı görüldüğü belirtilmektedir [24, 34, 35, 36]. Faz-kontrast sinematografide, ışık ve elektron mikroskobunda yapılan incelemelerde, megakaryositlerin sitoplazması içerisinde bulunan hücrelerin uzun süre canlı kalabildikleri bildirilmiştir [37, 38, 39]. Ayrıca insan fetal karaciğerindeki Kupffer hücreleri üzerinde ışık ve elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, Kupffer hücreleri içindeki eritroblastların çoğalma yeteneğinde olduklarını gösteren mitoz aşamasında olan emperipoletik hücre gözlenmiştir [23]. Işık ve elektron mikroskobu ile yapılan bazı çalışmalarda ise, megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin DMS'nin boşluklarına yerleştikleri ve normal yapılarını koruyabildikleri bildirilmiştir. [8, 23, 40, 41]. Burada DMS'nin boşluklarına yerleşen hücrelerin enzim aktivitesinden korunabileceği düşüncesi de akla gelmektedir. Çalışmamızdaki gözlemlerimiz ve literatür bilgileri ışığında konuyu analiz ettiğimiz zaman, megakaryositik emperipolezin fagositozdan farklı bir olay olduğu görünmektedir. Bizim bulgularımızla bu konu üzerinde çalışan diğer araştırmacıların bulguları arasında büyük çapta bir ayrılık bulunmamaktadır.

Megakaryositler tarafından yutulan kemik iliği hücrelerinin megakaryosit içerisinde çekirdek veya çoğu zaman sitoplazma tarafından çevrelendiği gözlenmiştir (Şekil 3.). Ayrıca çalışmamızda bir tek megakaryosit tarafından yutulan hücre sayısının genellikle 1-3 arasında değiştiği fakat bazen bu sayının daha da arttığı tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar sadece olgun megakaryositlerin, bazıları da çoğunlukla olgun megakaryositlerin emperipoleze iştirak ettiğini belirtmektedirler. [39, 43, 44, 45, 46]. Çalışmamızda, megakaryositik emperipolez olayının oluşmasında, olgun megakaryositlerin belirleyici rol oynadığı tespit edilmiştir. Çünkü promegakaryoblast, megakaryoblast ve promegakaryositlerde rastladığımız emperipolez sayısı bütün örneklerde birkaçı geçmezken, olgun megakaryositlerde çok yoğun bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 4, 6). Emperipolezin megakaryoblast ve promegakaryosit hücre formlarında çok az görülmesinin bir sebebi de DMS ile ilgili olabilir. Megakaryoblast ve promegakaryositlerdeki DMS olgun megakaryositlerdeki kadar iyi gelişmemiştir [6]. Megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin, dışa açık bir kanaliküler sistem olan DMS'nin boşlukları içerisine yerleştiklerini düşündüğümüzde, DMS'nin çok iyi geliştiği ve bütün sitoplazmaya yayıldığı olgun megakaryositlerde emperipolezin daha yoğun olarak görülmesinin nedeni de bu şekilde açıklanabilir. *Sprague Dawley* kemik iliğinde megakaryositler tarafından yutulan hücrelerin daha çok granülositler olduğu gözlenmiştir. Granülositlerden de en çok nötrofillere rastlanmıştır. Bu durum nötrofillerin diapedez potansiyellerinin yüksek olmasından kaynaklanabilir. Bazı araştırmacılar kesin olmamakla birlikte, nötrofillerin membran yüzeyinde bulunan Ig-G moleküllerinin megakaryositik emperipolez olayında önemli bir rolünün olabileceğini belirtmektedirler [38]. Megakaryositik emperipoleze iştirak eden eritroblast ve lenfositlere daha az rastlanmaktadır. Yapılan araştırmalarda megakaryosit sitoplazmasında bulunan hücrelerin genellikle granülositler, eritroblastlar ve lenfositler olduğu çoğunlukla da nötrofillerin megakaryositik emperipoleze uğradığı belirtilmektedir [35]. Başka bir çalışmada ise, yutulan hücrelerin sadece nötrofiller olduğu, nötrofil öncülleri ve diğer kemik iliği hücrelerinin megakaryosit sitoplazmasında bulunmadığı da ifade edilmektedir [43]. Çalışmamızda, megakaryositik emperipoleze uğrayan hücrelerin genellikle nötrofiller (Şekil 2, 3, 6) olduğu, lenfosit ve monositlerin (Şekil 5) az sayıda emperipoleze uğradıkları tespit edilmiştir. Bir megakaryosit içerisinde hem nötrofil hem de lenfosit hücrelerinin aynı anda buldukları da gözlenmiştir. (Şekil 4). Yapılan incelemelerde megakaryosit sitoplazması içerisine giren eritrosit öncüllerine ise rastlanmamıştır.

Işık mikroskobu altında megakaryositik emperipolez olayında, megakaryositler ve bunlar tarafından yutulan hücrelerin morfolojik yapılarında herhangi bir dejenerasyona rastlanmamıştır. Megakaryositik emperipolez olayının, hücrelerde dejenerasyon ve fagozom teşekkülü görülmemesi yönüyle fagositozdan farklı bir olay olduğu görünmektedir. Kemik iliği megakaryositlerinde görülen bu olayın yoğunluk derecesinin tek başına hastalıkların teşhisinde

bir önemi olup olmadığı tartışma konusudur. Olayın fizyolojik mekanizması ile ilgili bazı hipotezler ortaya atılmakla beraber henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Bu mekanizmaların aydınlatılabilmesi için daha çok çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Lund, J.E., Toxicologic effects on blood and bone marrow. In Schalm's Veterinary Hematology, 5th edition (B. F. Feldman, J.G. Zinkl and N.C. Jain eds.), pp. 44-50, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA. (2000).
2. Picker, L.J. and Siegelman, M.H. Lymphoid tissues and organs. In Fundamental Immunology, Chapter 14, 4th edition (W. E. Paul, ed.), p. 483. Lippincott-Raven, Philadelphia, (1999).
3. Italiano JE, Jr and Shivdasani, R.A., Megakaryocytes and beyond: the birth of platelets. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1:1174-1182, (2003).
4. Zucker-Franklin, D., Atlas of blood cells function and pathology. Bologna, Italy: Edi Ermes, 84:2646-2654, (2003).
5. Schulze, H., Korpál, M., Hurov, J., Kim, S.W., Zhang, J., Cantley, L.C., Graf, T. and Shivdasani, R.A., Characterization of the megakaryocyte demarcation membrane system and its role in thrombopoiesis. *Blood*, 107(10):3868-3875, (2006).
6. Mahaut-Smith, M.P., Thomas, D., Higham, A.B., Usher-Smith, J.A., Hussain, J.F., Martinez-Pinna, J., Skepper, J.N. and Mason, M.J., Properties of the demarcation membrane system in living rat megakaryocytes. *Biophysical Journal* 84:2646-2654, (2003).
7. Schmitt, A., Guichard, J., Masse J.M., Debili, N. and Cramer, E.M., Of mice and men Comparison of the ultrastructure of megakaryocytes and platelets. *Experimental Hematology*, 29:1295-1302, (2001).
8. Thiele, J., Krech, R., Choritz, H., and Georgii, A., Emperipolesis-a peculiar feature of megakaryocytes as evaluated in chronic myeloproliferative diseases by morphometry and ultrastructure. *Virchows Archive B Cell Pathology*, 46:253-263, (1984).
9. De Pasquale, A., Paterlini, P., Quaglino, D., Emperipolesis of granulocytes within megakaryocytes. *British Journal of Haematology*, 60:384-386, (1985).
10. Chyczewski, L., Debek, W., Dzieciol, J., Influence of brain hypoxia on megakaryocytic emperipolesis in rats. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 32(3): 187-190, (1994).
11. Dzieciol, J., Debek, W., Chyczewski, L., Phenomenon of emperipolesis of bone marrow megakaryocytes in experimental hemorrhage shock in rats. *Acta Haematologica Polonica*, 25(2): 165-169, (1994).
12. Saxena, S., Beena, K.R., Bansal, A. and Bhatnagar, A., Emperipolesis is a common Breast Malignancy: A case report. *Acta Cytologica*, 46:883-886, (2002).
13. Kinkor, Zdenek, Mukensnabl, P. and Michal, M., Inflammatory myxohyaline tumor with massive emperipolesis. *Pathology Research and Practice*, 198:639-642, (2002).
14. Shen, R. and Wen, P., Clear cell renal cell carcinoma with syncytial giant cells: a case report and review of the literature. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 128(12):1435-1438, (2004).
15. Brooks, J.K., Nikitatis, N.G., Frankel, B.F., Papadimitrion, J.C. and Sauk, J.J., Oral inflammatory myofibroblastic tumor demonstrating ALK, p⁵³, MDM2, CDK4, p^{Rb}, and Ki-67 immunoreactivity in an elderly patient. *Oral Inflammatory Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics*, 99(6):716-726, (2005).
16. Kong, Y.Y., Lu, H.F., Zhu, X.Z., Wang, J., Shi, D.R. and Kong, J.C., Cutaneous Rosai-Dorfman disease. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 34(3):133-136, (2005).
17. De Candia, E., Larocca, L.M., Pecci, A. and Balduini, C.L., Marked emperipolesis and increase P-Selectin expression on megakaryocytes in a novel case of gray platelet syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5(1):193, (2007).
18. Cashell, A.W. and Buss, D.H., The frequency and significance of megakaryocytic emperipolesis in myeloproliferative and reactive states. *Annals of Hematology*, 64(6):273-276, (1992).
19. Schmitt, A., Jouault, H., Guichard, J., Wendling, F., Drouin, A. and Cramer, E.M., Pathologic interaction between megakaryocytes and polymorphonuclear leukocytes in myelofibrosis. *Blood*, 96:1342-1347, (2000).

20. Centrone, L., Di Baldassare, A., Zingeriello, M., Gatta, V., Rana, R.A., Langella, V., Di Virgilio, A., Vannucchi, A.M., Migliaccio, A.R., Increased and pathological emperipolesis of neutrophils within megakaryocytes associated with marrow fibrosis in GATA-1 low mice. *Blood*, 104:3573-3580, (2004).
21. Dzieciol, J., Debek, W., Chyczewski, L., Phenomenon of emperipolesis of bone marrow megakaryocytes in experimental hemorrhage shock in rats. *Acta Haematologica Polonica*, 25(2): 165-169, (1994).
22. Dzieciol, J., Debek, W., Chyczewski, L., Megakaryocytes in the acute stage of experimental hemorrhagic shock. Part II. Megakaryocytic regulation of cell release from the rat bone marrow. *Roczniki Akademii Medycznej W Białymstoku*, 40(1):94-98, (1995).
23. Lee, W.B., Erm, S.K., Kim, K.Y. and Becker, R.P., Emperipolesis of erythroblasts within Kupffer cells during hepatic hemopoiesis in human fetus. *The Anatomical Report*, 256:158-164, (1999).
24. Dikmenli, M. Normal ve UV ile ışınlanan *Spalax leucodon* (Rodentia:Spalacidae) kemik iliğinde megakaryositik emperipolesis ve mitotik aktivitenin incelenmesi. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2000).
25. Dzieciol, J., Lemancewicz, D., Kloczko, J., Boguslowicz, W. and Lebelt, A., Megakaryocytic emperipolesis in bone marrow of the patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 39(2):142-143, (2001).
26. Shintatu, M. and Yutani, C., Oligodendrocytes within astrocytes (emperipolesis) in the white matter in Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neuropathologica (Berl)*, Jul 3, (2004).
27. Gan, M.F., Zhou, T., Yu, X.R., Yu, C.K., Zheng, H.H. and Cai, J.F., Extranodal Rosai-Dorfman disease. *Zhounghua Bing Li Xue Za Zhi*, 34(3): 137-139, (2005).
28. Newman, B., Hu, Weimin, Nigro, K. and Gilliam, A.C., Aggressive histiocytic disorders that can involve the skin. *Journal of American Academy of Dermatology*, 56:302-316, (2007).
29. Candia, D., Larocca, L.M., Pecci, A. and Balduini, C.L., Marked emperipolesis and increased P-selectin expression on megakaryocytes in a novel case of Gray Platelet Syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5(2):P-S-193, (2007).
30. Halil, O. and Baret, A.J., Phagocytosis by megakaryocytes in malignant disorders. *British Journal of Haematology*, 46:161, (1980).
31. Sobolewski, S., Phagocytosis by megakaryocytes in malignant disorders (abstract). *British Journal of Haematology* 45:173A, (1980).
32. Zucker-Franklin, D., Megakaryocytes and platelets, in Zucker-Franklin, D., Greaves, M.E., Marmont, M. (eds.), *Atlas of Blood cells: Function and Pathology*, pp 557. Lea and Febiger, Philadelphia, (1981).
33. Lam, T.K., Prematilleke, M.N., Li, C.K. and Fok, T.F., Megakaryocytic phagocytosis in a chromosomally normal neonate with transient myeloproliferative disorder. *Acta Haematologica*, 86:49-50, (1991).
34. Chiu, T., Megakaryocytes with intact cytoplasmic blood cells. *American Journal of Veterinary Research*, 45(4):769-770, (1984).
35. Tanaka, M., Aze, Y. and Fujita, T., Megakaryocytic emperipolesis in the rat bone marrow induced by lipopolysaccharide. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 56(6):1173-1175, (1994).
36. Bobik, R. and Dabrowski, Z. Emperipolesis of marrow cells within megakaryocytes in the bone marrow of sublethally irradiated mice. *Annals of Hematology*, 70(2):91-95, (1995).
37. Shamoto, M., Emperipolesis of hematopoietic cells in myelocytic leukemia. Electron microscopic and phase contrast microscopic studies. *Virchows Archiv B: Cell Pathology*, 35:283-290, (1981).
38. Migita, M., Fukunaga, Y., Watanabe, A., Marayuma, K., Ohta, K., Kaneko, K., Kaneda, M., Kakinuma, K. and Yamamoto, M., Emperipolesis of neutrophils by megakaryocytes and thrombocytopenia observed in a case of Kostmann's Syndrome during intravenous administration of high-dose rhG-CSF. *British Journal of Haematology*, 80:413-415, (1992).
39. Boll, I.T., Domeyer, C. and Bührer, C., Human megakaryoblastic proliferation and differentiation events observed by phase-contrast cinematography. *Acta Haematologica Switz*, 97(3):144-152, (1997).
40. De Pasquale, A., Paterlini, P., Quaglino, D., Emperipolesis of granulocytes within megakaryocytes. *British Journal of Haematology*, 60:384-386, (1985).

41. Tavassoli, M., Modulation of megakaryocyte emperipolesis by phlebotomy: Megakaryocytes as a component of marrow-blood barrier. *Blood Cells*, 12:205-216, (1986).
42. Lee, K.P., Emperipolesis of hematopoietic cells within megakaryocytes in bone marrow of the rat. *Veterinary Pathology*, 26:473-478, (1989).
43. Parmley, R.T., Kim, T.H., Austin, R.L., Avarado, C.S. and Ragab, A.H., Emperipolesis of neutrophils by dysmorphic megakaryocytes. *American Journal of Hematology*, 13:303-311, (1982).
44. Leven, R.M. and Tablin, F., Megakaryocyte and platelet ultrastructure in the Wistar Furth rat. *American Journal of Pathology*, 132(3):417-426, (1988).
45. Bobik, R. and Dabrowski, Z., Emperipolesis of marrow cells within megakaryocytes in the bone marrow of sublethally irradiated mice., *Annals of Hematology*, 70(2):91-95, (1995).
46. Tanaka, M., Aze, Y. and Fujita, T., Megakaryocytic emperipolesis in the rat bone marrow induced by lipopolisaccharide. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 56(6):1173-1175, (1994).

