

Annulate Lamella: Yapısı ve Fonksiyonları

Annulate Lamellae: Structure and Functions Review

Burcu Gültekin, Aydan Canbilen

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji A.D., Konya

Özet

Annulate lamella (AL), sitoplazmada bulunur ve hem kromatin hem de laminadan yoksun çok sayıda yoğun biçimde paketlenmiş por kompleksleri ile delinmiş yassılaştırılmış membran sisterna yığınlarından oluşmuştur. AL, hızlı gelişen yada farklılaşan hücrelerde (örneğin; erkek ve kadın gametler, tümör hücreleri ve viral infekte hücreler) görülmektedir. Nüklear ve AL porları çeşitli elektron mikroskopi teknikleri ile çalışıldığında onları basit yapılarından morfolojik olarak ayırt etmenin zor olduğu ortaya çıktı. AL, üreme hücrelerinde daha kolay gözlemlenebildiğinden onun fonksiyonu hakkında bilgiler, üreme hücrelerinin olgunlaşmaları sırasında yapılan morfolojik çalışmalardan elde edilmektedir. Çoğu hücre AL oluşturabilmek için kalıtsal bir yeteneğe sahiptir. Hatta, AL tamamen farklılaşmış bir hücrede halihazırda bulunan bir organel değilken, hücrede AL ağının oluşumunu başlatmak mümkündür. Bu derleme ile, bu hücre içi membran sistemini tanıtmak, bazı bilgileri yenilemek ve oldukça ilgi çeken organelin oluşumu, görevleri ve akıbeti ile ilgili birçok temel sorunları ortaya koymak istiyoruz.

Anahtar kelimeler: Annulat lamella, nüklear por, fertilizasyon

Abstract

Annulate lamellae (AL) are found in the cytoplasm and consist of stacks of flattened membrane cisternae perforated by numerous and densely packed pore complexes lacking both chromatin and a lamina. AL are frequently observed in rapidly growing or differentiating cells, such as male and female gametes, tumor cells, and virally infected cells. Nuclear and annulate lamellae pores appear morphologically indistinguishable in their basic structure when viewed by a number of different electron microscopy techniques. Since AL are relatively easier to observe in germ cells, most of our knowledge concerning this organelle and speculations as to the proposed function of these cytomembranes has arisen from morphological studies of annulate lamellae during the course of germ cell maturations. Most cells have an inherent propensity towards AL formation. Even though annulate lamellae are not a ubiquitous feature of terminally differentiated cells, it is possible to induce the formation of the AL network in cells. The purpose of this review is to acquaint or reacquaint the reader with this intracellular membrane network and to address a number of basic questions concerning the origin, function, and fate of this rather intriguing cellular organelle.

Key words: Annulate lamellae, nuclear pores, fertilization.

GİRİŞ

Annulate lamella (AL), omurgasız ve omurgalı hayvanların üreme hücreleri ve neoplastik hücreleri gibi hızlı çoğalan hücrelerinde tanımlanmış bir organeldir. Hücre içerisinde membranların oluşturduğu aktif bir ağ sistemidir¹. Sisternalar oluşturan bu membran sistemi, çekirdek zarının por komplekslerine morfolojik olarak benzeyen bir çok porlar bulundurmaktadır². Annulat lamella üzerinde otuz yılı aşkın bir sürede çalışılmakla birlikte, onun büyüme ve farklılaşmadaki rolü ve fonksiyonu hakkında çok az bilgi edinilebilmiştir³.

Annulate Lamella'nın Genel Özellikleri

AL terimi, ilk kez Swift tarafından 1956'da oosit ve spermatidlerin sitoplazmasında görülen kaba fibröz sitoplazmik komponentleri tanımlamak için kullanılmıştır. Bu organel, "pencereli lamellalar (fenestrated lamellae)", "ikincil membranlar (secondary membranes)", "çukurlu membranlar (pitted membranes)" ve "porlu hücre membranları (porus cytomembranes)" gibi başka isimlerle de tanımlanmıştır³. AL, sitoplazmada bulunur ve hem kromatin hem de laminadan yoksun çok sayıda yoğun biçimde paketlenmiş por kompleksleri

ile delinmiş yassılaştırılmış membran sisterna yığınlarından oluşmuştur⁴. Bütün isimlendirmeler bu membran sisteminin üç farklı ortak özelliğini vurgulamaktadır: a) paralel sisternalar yığını, b) periyodik düzende dizilmiş porların bulunması, c) yoğun boyanan fibriller materyaller ile ilişkisi³.

Her lamella 30-50 nm genişliğinde, uzamış sisternalar oluşturan iki paralel membrandan oluşur. Bu sisternalar sirküler porlar tarafından sıklıkla kesilir. Bazen bu porlar bir diafram tarafından kapatılmıştır. Nüklear zar ile AL arasında bir devamlılık görülebilir. Arasırada olsa intranükleer AL de görülmüştür. Bazı durumlarda AL sisternaları ile komşu granüllü endoplazmik retikulum (GER) sisternaları arasında bir devamlılık vardır, ancak AL genellikle ribozomsuzdur⁵. AL büyük miktarda sıkıca paketlenmiş çift membranlı sitoplazmik yığınları içerir. Her iki membran heksagonal paketlenmiş porlara ve porlar arası bağlantı kuran vertikal dizilmiş şekle sahiptir. AL viral yolla infekte olmuş hücreler, dişi ve erkek gametler ve tümör hücreleri gibi farklılaşan hücrelerde ya da hızlı gelişen hücrelerde çok miktarda bulunmaktadır⁶. AL'nin fonksiyonuna ait bir tanımlama yoktur

ancak hücre bölünmesi esnasında yavru çekirdeğin yeniden bir araya gelmesinde por komplekslerinin depo şekli olarak kullanıldığı ileri sürülmüştür. Nüklear ve sitoplazmik porların elektron mikroskopla değerlendirilip karşılaştırılması sonucu bunların morfolojik yapılarının ayırt edilemez ve AL porlarının karyofilik substratlar ve nüklear proteinlerin etkileri ile çözülebilen mediyatörlerle birbirini etkilediği gösterilmiştir7.

AL'nın en fazla erkek ve dişi gametlerde bulunduğu gözlenmekle birlikte, değişik şartlar altındaki bitki ve hayvan hücrelerinde, tümör hücrelerinde, embriyogenez sırasındaki hücrelerde de görülmektedir2. Gözlemler, AL ağının bulunması ile hücrede sentez yeteneğinin artması arasında bir ilişki olduğunu düşündürmekte ancak deneyler bunu desteklememektedir3. AL insanları da kapsayan çeşitli memeli türlerinde; örneğin maymun, domuz, tavşan, sığır fertilize yumurtalarında gözlemlenmiştir. AL bütün büyük hayvan gruplarının embriyolarında, ilkel omurgalı oositlerinde ve fertilize olmamış omurgasızlarda da mevcut olabilir8. Kessel (1992) ne hayvan ne de bitki hücrelerinde AL'nin ileri sürülen herhangi bir rolüne delil gösterilemediğinden dolayı AL'yı ' hücre organellerinde son sınır' olarak isimlendirmiştir6. Aslında bir çok araştırmacı AL'nin nüklear zarda nüklear por kompleksinin birleşmesi ve bir araya toplanması için gerekli öncü yapıdan ziyade nükleoprin sentezinin yan ürünü olduğuna inanmıştır8.

AL, üreme hücrelerinde daha kolay gözlemlenebildiğinden onun fonksiyonu hakkında bilgiler, üreme hücrelerinin olgunlaşmaları sırasında yapılan morfolojik çalışmalardan elde edilmektedir9,10,11,12. Bu gözlemlere dayanarak araştırmacılar AL hakkında bazı tahminler yapmaktadır. Birincisi, hücrede RNA transkripsiyon oranının artması ile AL'nin görünmeye başlaması arasında bir ilişki vardır, buna bağlı olarak da AL geçici bir organeldir. İkincisi, AL membranlarının oluşumu protein sentezinden bağımsızdır, yani protein sentez inhibitörleri bu membran biriminin toplanmasını bloklayamaz2. Üçüncüsü, bu organel hücrede bulunduğu hücre içindeki diğer membranlı yapılarla yakın ilişkidir13.

AL membranları devamlıdır ve ER içine gömülüdür6. Son olarak, çoğu hücre AL oluşturabilmek için kalıtsal bir yeteneğe sahiptir. Hatta, AL tamamen farklılaşmış bir hücrede halihazırda bulunan bir organel değilken, hücrede AL ağının oluşumunu başlatmak mümkündür2,3.

Annulate Lamella Membranlarının Oluşumu

Çalışmalar, bir hücrede AL bulunmasının ve sıklığının farklı ortamlarda değişebileceğini ortaya koymuştur. Örneğin, rubella, poliensefalomiyelit, hepatit gibi viral transformasyonlar sırasında AL oluşumunun ve sıklığının arttığı gösterilmiştir3,14. Yine AL oluşturmak için üzerinde fazlaca çalışılan bir metod da hücreleri kolsişin, vinblastin gibi antimitotik reagentlerin subletal doza uzun süre maruz bırakmaktır2,13. Böylece hücreler kolaylıkla gözlenebilen AL yığınlarını içermektedir. Mitozu durduran bu ajanlarla muamele sonucu, AL ağı oluşumunun artması bu esnadaki mikrotübül dağılımı ile ilişkilendirilmektedir15,16.

Antimitotik reagentlerden başka bazı antibiyotiklerin, mitogenlerin ve hormonların da AL ağı oluşumunu başlattığı gösterilmiştir. AL oluşmasını başlatan en ilgi çekici

örneklerden birisi Steinert ve ark.17 tarafından çalışılmıştır. Bu deneylerde xenopus laevis yumurtaları hormona maruz bırakılarak bundan bir ekstrat elde edilmiş ve bu ekstrat aynı türden bir başka yumurtaya enjekte edilmiştir. Daha sonra bu yumurtalar progesteronla muamele edilmiştir. Böyle yumurtaların olgunlaştığı fakat olgunlaşmanın tamalanmadığı gözlenmiştir. Yalancı olgunlaşma (pseudomaturation) olarak isimlendirilen bu sürede dikkat çekici oranda AL membranlarının toplandığı ve buna ER'un aşırı büyümesi veya şişmesinin eşlik ettiği saptanmıştır. Bu tür hormon çalışmaları, hormon stimülasyonunun hücrede membran biyogenezi ve olgunlaşmasını etkilediğini ve buna direkt bir cevap olarak da AL oluşabilme yeteneğini arttırdığını göstermesi açısından önemlidir17.

Annulate Lamella ve Çekirdek Zarı

Genellikle AL'nin nüklear zardan meydana geldiği kabul edilirken, oluşumu ile ilgili çeşitli olasılıklar tarif edilmektedir. Lamellalar dış nüklear zarın uzantılarından oluşan keseciklerin birleşmesi yada agregasyonları ile meydana gelebilir5.

Çekirdek zarı ile AL arasında ultrastrüktürel açıdan bir benzerlik vardır. AL membranlarının da porlarla kesilmesi, sadece çekirdek zarında görülen bu morfolojik görüntü ile çoğu kez karşılaştırılmaktadır. Ayrıca, her iki organelde de por kompleksleri yoğun boyanan fibril plakları ile ilişkidir. Bu iki membran sistemlerinin benzerliği, AL'nin çekirdek zarına yakın pozisyonda bulunduğu durumlarda oldukça çarpıcı olarak gözlemlenebilmektedir. Genellikle böyle durumlarda iki membran sistemi birbiriyle devamlıdır2. Bu iki yapı arasındaki benzerlik sebebiyle, çekirdek zarındaki por kompleksleri için önerilen modeller, AL membranlarında yer alan porların yapısı için de uygulanabilmektedir3. AL, bir çok nükleoprin ile nüklear por kompleksine ve eksik laminler ve çekirdeğin bazı membran bileşenlerine katılır8.

Nüklear zarın bir türevi olan AL, muhtemelen karşılıklı şekil değiştirmeye ve yapısındaki büyük değişkenliğinden ötürü dayanıksızlığı ile karakterizedir. Bazı yazarlar mitoz ve mayozda nüklear zarın süresinin uzatılmasında AL'nin katkısı olduğunu not etmişlerdir18.

Genellikle sitoplazmada bulunan AL, nüklear por kompleksine (NPC) çok benzer yapıdaki çok yoğun por kompleksleri ile delikli çift membran içeren sıkıca istif edilmiş tabakalardan meydana gelir. POM121 ve NUP153 içeren nükleoprinlerin AL içinde çoğunlukla hazır olarak bulunduğu gösterildi. Her ne kadar AL, oositler ve embriyonik hücrelerde bol bulunsun da somatik hücrelerde hiç bulunmayabilir. Belirli nükleoprinlerin dışındaki ya POM121 ya da NUP153'ün overekspresyonu kültür hücrelerinde sitoplazmik AL'nin poliferasyonunu önemli derecede indüklemiştir19.

Çekirdek zarı ile ilişkili proteinlerden en çok çalışılardan biri laminlerdir (13). Laminler, zarın nükleositoplazmik yüzeyini döşeyen proteinlerin supramoleküler kompleksini oluşturur. Laminler çekirdek zarı için bir iskelet yapısı sağlar. Bu protein yapılı kafesin, DNA ve ara filamentler gibi makromoleküllerin bağlandığı bir yer olarak görev yaptığını inanılmaktadır20,21,22. Çalışmalar, laminlerin dinamik bir çatı oluşturduğunu ve mitozda çekirdek zarının dağılmasına bu iskelet çatının dağılmasının eşlik ettiğini belirtmektedir23,24.

Çekirdek zarı ve buradaki por kompleksleri ile ilgili

çalışmalara göre, AL ağının biyokimyasal immunokimyasal yapısını karakterize eden çalışmalar daha dağınıktır. Otuz yılı aşan sürede yapılan sitokimyasal çalışmalar bu iki membran kompartmanlarında bazı ortak aktivitelerin olduğunu göstermektedir. Adenozin trifosfataz (ATPaz) aktivitesi²⁵, glukoz-6-fosfotaz aktivitesi²⁶ ve Mg-bağımlı ATPaz aktivitesinin³ hem çekirdek zarı hem de AL ağı ile ilişkili olduğu immunositokimyasal olarak da belirlenmiştir²⁷. İnsan meme karsinomalarında yapılan bu çalışmalarda MFGM antijeni (milk fat globule membran antigen-süt yağı globül antijeni) her iki organelde de belirlenmiştir. Aynı zamanda bu antijenin ER ile de ilişkili olduğu görülmüştür²⁷. Buna rağmen bu sito ve immunositokimyasal çalışmaların kantitatif araştırmalarla da desteklenmesi gerekmektedir³.

Bu benzerliklerin yanı sıra bu iki yapının hem yapısal hem de kompozisyonel farklılıkları vardır. Örneğin, AL ağında birim zar başına gözlenen por sayısı çekirdek zarında gözlenenenden daha fazladır². Ayrıca son çalışmalar ,çekirdek laminlerinin AL ağında bulunmadığını ve AL kompleksi için özgül antikörlerin çekirdek zarı ile çapraz reaksiyona girmediğini göstermektedir²⁷. Bu, AL membran sisteminin en azından antijen yönünden çekirdek zarından farklı olduğunu kuvvetle göstermektedir.

Chen ve Merisko (1988), lupus eritematozlu bir hastanın serumunda AL ağındaki kompleks porlarla özel olarak reaksiyona giren bir antikörün bulunduğunu bildirmişlerdir²⁸. İmmun elektron mikroskopi ve western blot analizi ile antikörün çekirdek zarı porlarını boyamadığı fark edilmiştir. Böylece bu proteinlerin sadece AL ağındaki porlara özgü olabileceği önerilmektedir. Bu proteinler, porun etrafını çevreleyen ince bir sitoplazmanın bulunması sebebiyle "sitoporinler" olarak isimlendirilmiştir. Aynı zamanda bu isimlendirme, çekirdek zarındaki porlarda bulunan proteinlerden (nukleoporinler) ayırmayı da sağlamıştır. "Sitoporinler" in glikoprotein olup olmadığını ve "nukleoporinler" gibi multiple-O bağlı N-asetilglukozamin artıkları içerip içermediğini bilmek ilginç olacaktır²⁸.

NPC nuklear zarda en iyi çalışan parçadır. Por kompleksleri embriyonik ve kanser hücrelerinde ayrıca sitoplazmik AL'da bulunurlar. AL fonksiyonu bu güne kadar açık değildi. Bunların ayrışımından önce nukleoporinlerin fazla miktarlarının Drosophila embriyolarında depo edildiği ileri sürülmüştür. Alternatif olarak, embriyogenezis'de AL sonraki hücre üretimi için gerekli maternal nukleoporinlerin esas deposu gibi görev yapmaktadır ve hızlı hücre gelişmesinde analog bir fonksiyonu olduğu tahmin edilmektedir. İmmünolojik olarak, AL por kompleksleri nuklear por komplekslerine oldukça benzer ve hatta nukleositoplazmik taşıma faktörleri AL'yı hedeflemiştir. Por kompleks yapısı elektron mikroskobu ile belirlenmiştir ve geniş ölçüde yeniden incelenmiştir²⁹.

Nuklear por kompleksleri (NPCs), nukleositoplazmik trafikte makromolekülleri taşıyan, nuklear zara yerleşmiş multiprotein topluluğudur. NPCs'ne benzeyen Annulate lamella por kompleksleri (ALPCs) genelde oositlerde ve erken embriyonik hücrelerde sitoplazmik membran yığınları şeklinde bulunurlar. Bunlar fazla olan nukleoporinlerin depo kısmını oluştururlar. Sinsityal gelişim sırasında NPCs'nin sayısındaki artmayı karşılamak için ALPCs'nin sayısının

azalmadığı elektron mikroskopik olarak gösterilmiştir. Sinsityal embriyolar nukleoporinlerin deposuna katılan büyük bir maternal içerirler. Drosophila embriyolarındaki ALPCs'nin nukleoporinlere katılmış fazla maternalin depolanmasında sadece küçük bir rolü vardır³⁰.

Bu alanda çok daha aydınlatıcı çalışmaların yapılması zorunludur³. Gelecekteki çalışmalarla AL ağı ve çekirdek zarı arasındaki yapısal farklılıklar daha ayrıntılı olarak bulunduğunda, bu yapısal farklılıkların bu iki organel arasındaki fonksiyonel farklılığı da belirleyecek olması önemli olacaktır.

Annulate Lamella'nın Fonksiyonel Özellikleri ve İleri Deneysel Araştırmalar

AL'nin fonksiyonel önemi ile ilgili bir çok araştırmalar vardır. Bu organelle atfedilen fonksiyonlar ATP üretiminden membran biyogenezisine kadar uzanır². Bununla birlikte, en ilgi çekici ve en esaslı tartışmalar porları ile fonksiyonlar arasındaki ilişkiyi ortaya koyan teşebbüsler üzerinedir.

AL özellikle bir çok türde gelişmekte olan oositte ve aynı zamanda embriyonik ve tümör hücrelerinde görülür. Bunların hepsinin ortak özelliği hızlı büyüme ve farklılaşmadır. Bununla beraber, olgun hücrelerde de küçük AL agregatlarının bulunduğu dair raporlar vardır. Böyle lamellalar temel hücre organelleri olarak kabul edilmelidir⁸.

AL, insanda metafaz II oositlerde pronuklear zigotlarda bulunur. NPC'lerin nasıl ve ne zaman insan pronuklei gelişmesindeki NE' ye birleştiği yada NPC ve AL' nin insan fertilizasyonunda ve zigot gelişmesinde oynadığı rol bilinmemektedir. Rawe ve ark. (2003) oositlerin M-I ve M-II, germinal vezikül (GV) safhalarında nadiren gözlenen AL'nin sperm penetrasyonundan sonra oositlerin sitoplazmasında bir araya toplandığını göstermişlerdir. AL, insan oositlerinde pronuklear zigottan GV oositlere kadar ki alanda bütün safhalarda tanımlandı. Bu çalışmanın sonuçları, insandaki sitoplazmik AL topluluğunun fertilizasyonu tetiklediğini ve pronuklear gelişmeye eşlik ettiğini göstermiştir³¹.

AL membranlarının hızlı metabolize olan hücrelerde daha uzun süre gözlenebileceği daha önce söylenmişti. Bu durum, AL ağının çekirdek por kompleksleri için bir iç rezervuar oluşturabileceğini akla getirmektedir³. Bir por kompleksi, klasik görüşe göre sitoplazma ve çekirdek arasında metabolitlerin ve makromoleküllerin iletilmesinde etkin bir kanal görevi görmektedir. Fakat bunu sağlayan porlar oldukça komplekstir³². Küçük moleküller çekirdek ve sitoplazma arasında pasif difüzyonla geçerken , por büyük molekülleri aktif ve seçici olarak iletmektedir³³. Bu aktif transportun hem karyofilik sinyal içeren molekülleri tanıdığı , hem de aynı zamanda sinyalin etkili molekül haline dönüştürebilmesinde de seçici olduğu görülmektedir³⁴. Ayrıca transportun yönünde de seçicilik vardır. Örneğin , karyofilik proteinler sitoplazmadan çekirdeğe geçerken , ribozomal alt birimler ,mRNA ve tRNA ters yönde ilerlemektedir. Ancak tüm bu aktiviteleri por yapısının nasıl yönetebildiği tam olarak bilinmemektedir³.

AL'nin fonksiyonel rolüne ek olarak AL'de ileride kullanmak üzere por komponentleri ve bol miktarda nuklear zar olduğuna inanıldı. Nuklear ve AL porları çeşitli elektron mikroskopi teknikleri ile çalışıldığında onları basit yapılarından morfolojik olarak ayırt etmenin zor olduğu ortaya

çıktı. Altın işaretli wheat germ antibody (WGA) gibi çeşitli spesifik nukleoporin antikorları AL porlarını tanıır. Bundan başka altın parçalarıyla tabakalanmış nukleoplazmin hem nuklear zarın hem de AL'nin porları ile birleşir, çekirdeğin önemli bir basamağını oluşturur⁴.

Son zamanlarda, makromolekül iletiminin yanı sıra çekirdek porlarının genomik ifadenin önemli bir düzenleyicisi olabildiği de ileri sürülmektedir³⁵. Blobel, por kompleksinin genomun üç boyutlu yapısını korumada ve değiştirmede rol alabileceğini önermektedir. Porlar bir düzen içerisinde dizildiğinden ve DNA'nın bağlanması için özel yerler taşıdığına inanıldığından, araştırmacılar porların bu kadar maharetli bir görevi yapabilmek için özel yapılara sahip olabileceğini düşünmektedir³⁵. Fakat bu oldukça tartışmalı bir teoridir.

Hızla metabolize olan bir hücrenin neden kolaylıkla kullanabileceği formda, yani AL halinde stok por komplekslerine ihtiyaç duyabileceğini anlamak, porların fonksiyon ve önemlerinin bilinmesi ile daha iyi anlaşılmaktadır. Ancak çekirdek laminlerinin özellikle de lamin B'nin AL membranlarında bulunmaması bu iki membranın kesinlikle farklı olduğunu göstermektedir. Yine 'nukleoporinler' ve 'sitoporinler' arasındaki farklılık, iki membranlı yapıdaki porların antijenik olarak da farklı olduğunu ortaya koymaktadır²⁸. Farklılıklar ve benzerlikler dikkate alındığında, AL porlarının çekirdek zarı porları ile rastgele birleşme yeteneğinin olup olmadığının bilinmesi ilginç olacaktır.

AL ağı ve hücredeki büyük membranlı yapılar arasında morfolojik devamlılık bulunduğu bilinmektedir. AL membranları sıklıkla hücrede sentez yeteneği arttığı esnada gözlemlendiğinden, bu organelin diğer hücre organellerinin biyogenezini veya yıkımında yer alabileceği de düşünülmektedir. Kessel, Drosophila spermatozoidlerinde yaptığı bir seri çalışmada, AL'nin GER ve ribozomların toplanmasından ve paketlenmesinden sorumlu olduğunu gözlemiştir³⁶. Çoğu kez GER'un AL sistemlerinin son kısmı ile devamlılık göstermesi bunu desteklemekle birlikte, morfolojik bulguları destekleyen fizyolojik deliller yoktur³⁶.

Spermiogenesis sırasında spermatidler spermatozoaya dönüşür ve bir takım olaylar meydana gelir. Organeller radial body, AL ve kromatoid gibi yeni yapıların oluşmasını içeren önemli değişiklikler geçirirler. Rattarda, AL ilk 8. basamak spermatidlerde görülmüş ve bunlar golgi cisimciği ile birleşirler ve kromatoid cisim ve 12. basamakta geniş bir ağ şeklini alır ve residual cisimde geç spermiogenesisin sonuçlanmasına kadar sürer. AL insan testisinin germ hücrelerinde tanımlanmıştır. AL ve radial cisim birbirine bağlıdır. Spermiogenesis'in sonunda, arta kalan bütün Endoplazmik Retikulum sisternaları residual cisimde görülmüştür³⁷.

Yıllardır devam eden bu tartışmalar AL ağını anlamak için sadece morfolojik gözlemler sunmaktadır. Diğer hücre organellerine karşılık bu yapı hakkında çok az bilgi vardır. Bu alandaki en büyük zorluk AL ağının geçici olmasıdır. Çalışma yapabilmek için yeterli miktarda bu organeli içeren bir hücre veya doku tipi bulmak zordur³. Ancak, son zamanlarda Chen ve Merisco, vinblastinle muamele edilen hücrelerde AL'nin stimule olmasına dayanarak çalışmalar yapmışlardır²⁸. Bu

çalışmalarda, hücrelerde AL'ya özgü iki tip antikorun oluştuğu görülmüştür. Bu antikorlar, AL sisternalarının lümeni ile ve AL ağının fibril materyali ile reaksiyona girerek AL preparatlarında iki çeşit protein bulunduğunu ortaya koymaktadır²⁸.

Daigle ve ark (2001) nuklear por kompleksi (NPC) ve onunla ilişkili nuklear zarı (NE) canlı hücrelerde yeşil floresan proteini- POM121 (GFP), GFP-Nup153 ve GFP lamin B1 kullanarak göstermişlerdir. NPCs ile ilişkili Nup153'ün nukleoporene turnover'u ve aktifliği 3 boyutlu dizilimde daha hızlıdır. Her iki nukleoporin'in overekspresyonu Endoplazmik retikulumda annulate lamella (AL)'nin oluşmasını indükler. AL por komplekslerinin dönüşümü NE'dan oldukça yüksektir (her 2,5 dak. da bir). Mitoz esnasında, POM121 ve Nup153 tamamen dağınıktır ve ER'da (POM121) hareketlidir ya da metafazda (Nup153) sitozoldür ve geç anafazda kromatin etrafında hızla yeniden dağılarak hareketsiz halde toplanırlar. Her iki nukleoporinin hareketsizliği ve bir araya toplanması mitozun sonunda NPC bir araya toplanmasını başlatan beklenmedik sebebin lamin B1'in takviyesinden önce meydana geldiğidir²⁹.

Bu alandaki bir başka zorluk, bu organelin önemini vurgulayan fizyolojik delillerin çok az oluşudur. Daha önce de anlatıldığı gibi AL ribozomların üretimi, GER, çekirdek zarı ve Golgi cisimciği gibi hücre içi membranlı yapıların biyogenezini sırasında, ani protein sentezi gerektiren olaylarda hücrede düzenleyici bir görev alıyor olabilir³. Fakat bunları destekleyen verilerin ikinci derecede olduğu unutulmaktadır. Yine bu organelin GER ve çekirdek zarının dejeneratif bir formunu temsil edebileceğine de inanılmaktadır. Tüm bunlara rağmen, AL ağının fizyolojik önemini değerlendirebilmek için bu organelin moleküler yapısı ile ilgili daha ayrıntılı bilgi gerekmektedir. Böyle veriler elde edildiğinde AL ağının oluşumunu etkileyen faktörleri ve hızla metabolize olan hücrelerde AL bulunmasında fizyolojik bir temel olup olmadığını belirlemek mümkün olacaktır².

Her ne kadar hem AL hem de nuklear por kompleksleri fertilize memeli oositlerinde bulunsun da onların pre implantasyon gelişimdeki ve fertilizasyon sürecindeki relatif rolleri bilinmemektedir. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada, epiflorasan ve elektron mikroskop kullanarak AL'nin sığır fertilizasyonu esnasındaki durumu incelenmiştir. Sığır oositlerinde AL toplulukları sperm oosit bağlanması yoluyla tetiklenmiş, kadın ve erkek pronuklei gelişiminde nuklear zarlarda nuklear porların aynı zamanda birleşmesi de devam etmiştir. Bu süreç ayrıca metafaz II'de durdurulmuş oositlerin partenogenetik aktivasyonu yoluyla indüklenmiştir. Kalsiyumun boşaltılması, oositlerin dokunularak önceden uyarılması çekirdek örtüsünde por komplekslerinin oluşumunu engellemiş fakat oosit sitoplazmasında ki AL topluluğunu etkilemediği gözlemlenmiştir. Bu verilere dayanarak, bu nuklear por komplekslerinin başlangıçtan pronuklear yerleşime kadar ki normal pronuklear gelişimde gerekli olduğu söylenebilir. AL, sırasıyla oosit mikrotübüllerinin yeniden organizasyonu ve oosit sitoplazmasına kalsiyum girişini kolaylaştırarak fertilizasyon esnasındaki nuklear por kompleksi dönüşümü ile ilişkili olabilir⁸.

Büyük baş hayvanlardaki bir çok çalışmada, AL topluluğunun, fertilizasyonundaki spermleri tetiklediği,

NPC'nin NE'ye eklenmesiyle paralel olduğu gösterildi³¹.

Yapılan bir diğer çalışma sonucunda ise AL'nın, hücre virüs sisteminde, sık sık ER sisterna ile devamlılık gösterdiği ve antijene bağımlı olduğu gösterilmiştir³⁸.

Sertoli hücrelerinin çekirdekleri yakınına yerleşmiş olarak bulunan AL ve sentriyollerin varikoselektomi sonrası bulunmaları diğer ilginç bir buluştur. Bu organelin torsiyonlu domuz testisinin sustentacular hücreleri dışında herhangi bir türdeki sertoli hücrelerinde şimdiye kadar görüldüğü not edilmemiştir. Her ne kadar bu yazarlar bunun rolünü açıklamanın zor olduğunu bildirseler de, AL'nın varlığının bir çeşit protein senteziyle ilişkili olduğunu, muhtemelen östrojen üretimine katıldığını öne sürmüşlerdir. Ultrastrüktürel bulgularda, varikoselektomiye takiben çekirdek civarında hem AL hem de sentriyollerin bulunuşu ve bunların yerleşimi sertoli hücre bölünmesini işaret edebilir. Bu görüş açısı, sertoli hücrelerinin hızlı çoğalan hücre grupları olduğunu düşündürülebilir³⁹.

AL'nın varlığı insan plasentasında villuslu sinsityotrofoblasta farklılaşma esnasında da gösterilmiştir. Sinsityotrofoblast alanları yoğun bir şekilde bir araya gelmiş çekirdeği içerir, çekirdek AL ile ilgilidir. Rat plasentasının trofoblast hücrelerinde nuklear zar membranlarının aktivitesi artmış olarak elektron mikroskopta gözlemlenmiştir. Membranların aktivitesi AL, intranuklear tubuller ve konsantrik membran yapıları gibi çeşitli nuklear zar türlerini oluşturmuştur¹⁸.

KAYNAKLAR

1. Wustrow TP and Schinko I. Annulate lamellae of in vitro cultivated squamous epithelial cancer cell lines. *Laryngol Rhinol Otol* 1988;67(8):416-9.
2. Kessel RG. The structure and function of annulate lamellae: porous cytoplasmic and intranuclear membranes. *Int Rev Cytol* 1983;82:181-303.
3. Merisco EM. Annulate lamellae: an organelle in search of a function. *Tissue&Cell* 1989;21(3):343-54.
4. Meier E, R.Miller B and J.Forbes D. Nuclear pore complex assembly studied with a biochemical assay for annulate lamellae formation. *Scripps Clinic and Research Foundation* 1995 La Jolla California 92093.
5. Gerace L. Nuclear lamina and the organisation of the nuclear architecture. *Trends Biochem Sci* 1986;11:443-6.
6. Kessel RG. Annulate lamellae: a last frontier in cellular organelles. *Int Rev Cytol* 1992;133:43-120.
7. Cordes VC, Rackwitz HR and Reidenbach S. Mediators of nuclear protein import target karyophilic proteins to pore complex of cytoplasmic annulate lamellae. *Exp Cell Res* 1997;237:419-33
8. Sutovsky P, Simerly C, Hewitson L and Schatten G. Assembly of nuclear pore complex and annulate lamellae promotes normal pronuclear development in fertilized mammalian oocytes. *Journal of Cell Science* 1998;2841-54
9. Kovacs J, Forgo V and Peczey P. The fine structure of the follicular cells in growing and atretic ovarian follicles of the domestic geese. *Cell Tissue Res* 1992;267(3):561-9.
10. Dabauvalle MC, Loos K, Merkert H and Scheer U. Spontaneous assembly of pore complex containing membranes (annulate lamellae) in *Xenopus* egg extract in the absence of chromatin. *J.Cell Biol* 1991; 112(6):1073-82.
11. Bernard RT and Hodgson AN. Ultrastructural changes in the seminiferous epithelium of two seasonally reproducing bats (Mammalia: Chiroptera). *J. Morphol* 1989;199(3):249-58.
12. Ganion LR. Cytoplasmic distribution of poly(A)-containing RNA in developing *Necturus maculosus* oocytes with reference to annulate lamellae. *Anat Rec* 1991;230(2):218-4.
13. Kessel RG and Katow H. Effects of prolonged antitubulin culture on annulate in mouse alpha L929 fibroblasts. *J Morph* 1984;179:291-30.
14. Kiernan RE, Marhsall JA, Coulepis AG, Anderson DA and Gust ID. Cellular changing associated with persistent hepatitis A infection in vitro. *Arch Virol* 1987; 94:81-95.
15. Cleveland DW and Sullivan MK. Molecular biology and genetics of tubulin. *Ann Rev Biochem* 1985;54:331-65.
16. Olumsted JB. Microtubule-associated proteins. *Ann Rev Cell Biol* 1986;2:419-55.
17. Steinert G, Baltus E, Hanocoq-Quertier J and Brachet J. Ultrastructure of *Xenopus laevis* oocytes after injection of an extract from progesterone-treated oocytes. *J Ultrastruct Res* 1974;49:188-210.
18. Zybina EV, Zybina TG. Modifications of nuclear envelope during differentiation and depolyploidization of rat trophoblast cells. *Micron* 39 2008;593-606.
19. Lyman SK, Gerace L. Nuclear pore complex: Dynamics in unexpected places. *J Cell Biol* 2001;154(1):17-20.
20. Sheehan MA, Mills AD, Sleeman AM, Laskey RA and Blow JJ. Steps in the assembly of replication competent nuclei in a cell free system *Xenopus* eggs. *J Cell Biol* 1988;106:1-12.
21. Newport J. Nuclear reconstruction in vitro: stages of assembly around protein free DNA. *Cell* 1987;48:205-17.
22. Geogatos SD and Blobel G. Lamin B constitute an intermediate filament attachment site at the nuclear envelope. *J Cell Biol* 1987;105:117-25.
23. Hogner D, Lepper K, Seibold G and Jost E. Lamin disassembly kinetics: a cell free system with extracts from mitotic HeLa cells. *Exp Cell Res* 1988;176:281-96.
24. Jost E and Lepper K. Nuclear lamins during prophase and telophase in heterophase HeLa and Chinese hamster homokaryons. *Eur. J Cell Biol* 1986;42:84-91.
25. Baglia FA and Maul GG. Nuclear ribonucleoprotein release and nucleoside triphosphatase activity are inhibited by antibodies directed against one nuclear matrix glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci* 1983;80:2285-9.
26. Eyal-Gilado H and Feinstein N. Glycogen metabolism and the nuclear envelope-annulate lamellae system in the early chick embryo. *J Cell Sci* 1985;73:399-407.
27. Petersen OW and Van Deurs B. Characterization of epithelial membrane antigen expression in human mammary epithelium by ultrastructural immunoperoxidase cytochemistry. *J Histochem Cytochem* 1986;34:801-9.
28. Chen TY and Merisko EM. Annulate lamellae: comprasion of antigenic epitopes of AL membranes with nuclear envelope. *J Cell Biol* 1988;167:1299-306.
29. Daigle N and ark. Nuclear pore complex form immobile Networks and have a very low turnover in live mammalian cells. *The Journal of Cell Biyology* 2001;154(1):71-84.
30. Onischenko EA, Gubanova NV, Kieselbach T, Kiseleva EV and Hallberg E. Annulate Lamellae Play Only a Minor Role in the Storage of Excess Nucleoporins in *Drosophila* Embryos. *Blackwell Munksgaard* 2004;5:152-64.
31. Rawe VY, Olmedo SB, Nodar FN, Ponzio R and Sutovsky P. Abnormal assembly of annulate lamellae and nuclear pore complexes coincides with fertilization arrest at the pronuclear stage of human zygotic development. *Hum Reprod* 2003;18(3): 576-82.
32. Dingwall C and Laskey RA. Protein import into cell nucleus. *Ann Rev Cell Biol* 1986;2:367-90.

33. Richardson WD, Mills AD, Dilworth S, Laskey RA and Dingwall C Nuclear protein migration involves two steps: rapid binding at the nuclear envelope followed by slower translocation through nuclear pores Cell 1988;52:655-64.
34. Roberts BL, Richardson WD and Smith AE The effect of protein context on nuclear location signal function Cell, 1987; 50: 465-75.
35. Blobel G Gene rating: a Hypothesis Proc Natl Acad Sci 1985; 85:27-29.
36. Kessel RG The relationship of annulate lamellae, fibrogranular bodies, nucleus and polyribosomes during spermatogenesis in Drosophila J Ultrastruct Res 1985;91:183-91.
37. Hermo L, Pelletier RM, Cyr DG, Smith CE Surfing the Wave, Cycle, Life History, and Genes/Proteins Expressed by Testicular Germ Cells Part 2: Changes in Spermatid Organelles Associated With Development of Spermatozoa Microscopy Research and Technique 2010;73:279-319.
38. Cardinali G and ark. Viral glycoproteins accumulate in newly formed annulate lamellae following infection of lymphoid cells by human Herpesvirus 6 Journal of Virology 1998;72(12): 9738-46.
39. Özgür H, Kaya M, Doran Ş, Solmaz S. Ultrastructure of the seminiferous tubules in human testes before and after varicocelelectomy Anat Embryol 2003;207:343-53.