

TİROKSİNİN SOĞUK ORTAMDA SIÇAN SKAPULALAR ARASI KAHVERENGİ YAĞ DOKUSUNA ETKİSİNİN ELEKTRON MİKROSKOBU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ*

Dr.Nusret Çiftçi**

ÖZET

Sıçanlara + 4 C⁰'de L-Tioksin Na enjekte edildi ve skapulalar arası kahverengi yağ dokusu incelendi. Lipid granüllerinin çapı azalmış, buna karşılık sayıları artmıştı. Ayrıca mitokondria kristalleri de sıklaşmıştı.

SUMMARY

ELECTRO MICROSCOPIC STUDY ON THE EFFECT OF THYROXIN IN INTERSCAPULAR ADIPOSE TISSUE OF RATS CLIMATED TO COLD

In this study L-Thyroxine Na was injected to the rats at + 4 C⁰ and the interscapular brown adipose tissue was examined. The diameters of the lipid granules decreased, but their numbers increased. And also the cristae of mitochondria increased.

Key words: Brown Adipose Tissue, Thyroxine, Rat, Cold Acclimatization.

Anahtar kelimeler: Kahverengi Yağ Dokusu, Tiroksin, Sıçan, Soğuk Ortam.

¹
Hatai 1920 yılında insan fötüsünün dorsal ve servikal bölge yağ kitlesiyle kış uykusuna yatan memelilerde skapulalar arasında bulunan ve hibernasyon bezi olarak adlandırılan yapıların arasında bir benzerlik olduğunu gördü. Her iki dokuda birçok küçük yağ vaküolleri içeren hücrelerden oluşmuştur.

* Hacettepe Üniv. Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji Bilim Dalı çalışmalarından.

** Ondokuz Mayıs Üniv. Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Doçenti.

1961 yılında bu dokunun ısı üretebildiği gösterildi². Bir hayvan kış uykusundan uyanmaya başladığında ısı üretiminde ve O₂ kullanımında dikkati çekecek kadar artma olduğu bilinmektedir. Sıçan ve tavşan gibi kış uykusuna yatmayan hayvanlarda da skapulalar arası kahverengi yağ dokusunda (K.Y.D) bölgesel ısı üretme işlevi görülmektedir^{3,4}.

Son zamanlarda insan yenidoğanının da ısı üretimi için aynı yolu kullandığı gösterilmiştir. İnsan yenidoğanı 35 C⁰'den 25 C⁰'ye geçirildiğinde O₂ kullanımında artma ve plazma gliserol miktarında çok belirgin bir yükselme görülmüştür. Erişkinlerde de bu dokunun az da olsa ısı üretme işlevinin olabileceği zannedilmektedir, ancak kesinlik kazanmamıştır^{3,5,6}.

Bu çalışmada, sıçanlara soğuk ortamda trioksin verilerek akapulalar arası K.Y.D transmisyon elektron mikroskobu düzeyinde incelendi. Kaynak verilerinin ışığı altında, yapı ve görevi üzerindeki son görüşler tartışıldı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, yaklaşık 100-150 gr. ağırlığında 20 adet, üç aylık, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Merkezinde üretilmiş İsviçre tipi beyaz erkek sıçanlar üzerinde yapıldı. Deney +4 C⁰'lik bir odada yürütüldü.

Sıçanlar IV gruba ayrıldılar. I. grup sıçanlara hiç bir işlem yapılmadı. II., III. ve IV. gruplara her gün tartılarak karın içi enjeksiyonları yapıldı. II. grup kontrol grubunu oluşturdu ve sadece serum fizyolojik enjekte edildi. III. grup sıçanlara ise, yine 100 gr. için 50 mikrogram L-Tiroksin Na (Abdi İbrahim İlaç Sanayii ve Ticaret A.Şirketinden temin edildi) uygulandı. L-Tiroksinin Na tuzu, H.Ü.Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümünde serum fizyolojik içerisinde- 325 milimikron dalga boyundaki 6210 olan extinction sabitinden yararlanılarak çözeltideki aktif L-Tiroksin derişimi bulundu.

Deney süresince özel diyet uygulanmadı ve deney 3 hafta olarak planlandı.

K.Y.D skapulalar arası bölgeden çıkarılarak 1/15 Sorenson fosfat tamponu ile hazırlanmış % 2 Gluteraldehit ve % 1 Osmik asit çözeltileri içinde tespit edildiler. Daha sonra % 70'lik alkolde doymuş uranil asetat ile blok boyaması yapıldı. Elektron mikroskobun doku izleme yöntemlerinin diğer basamakları uygulanarak dokular bloklandı. Bloklardan kalın kesitler alınarak dokulara uyum sağlandı. LKB Ultratom III mikrotomu ile 400-600 Angstrom kalınlığında ince kesitler alınarak Carl Zeiss EM 9 S 2'ye dönüştürülmüş EM 9 A transmisyon elektron mikroskobunda incelendi. İlfort ve Kodak fotoğraf kağıtları kullanıldı.

BULGULAR

Hücreler büyük olduğu için elektron mikrograf sahasına ancak bir kaç bazı bölümleri girebildi. Hücrelerin kapillerlerle sıkı ilişkide oluşu bütün kesitlerde belirgindi. Kapillerlerde bir veya iki eritrosit daima mevcuttu, belirgin bir bazal lamina ile adipoitlerden ayrılmışlardı.

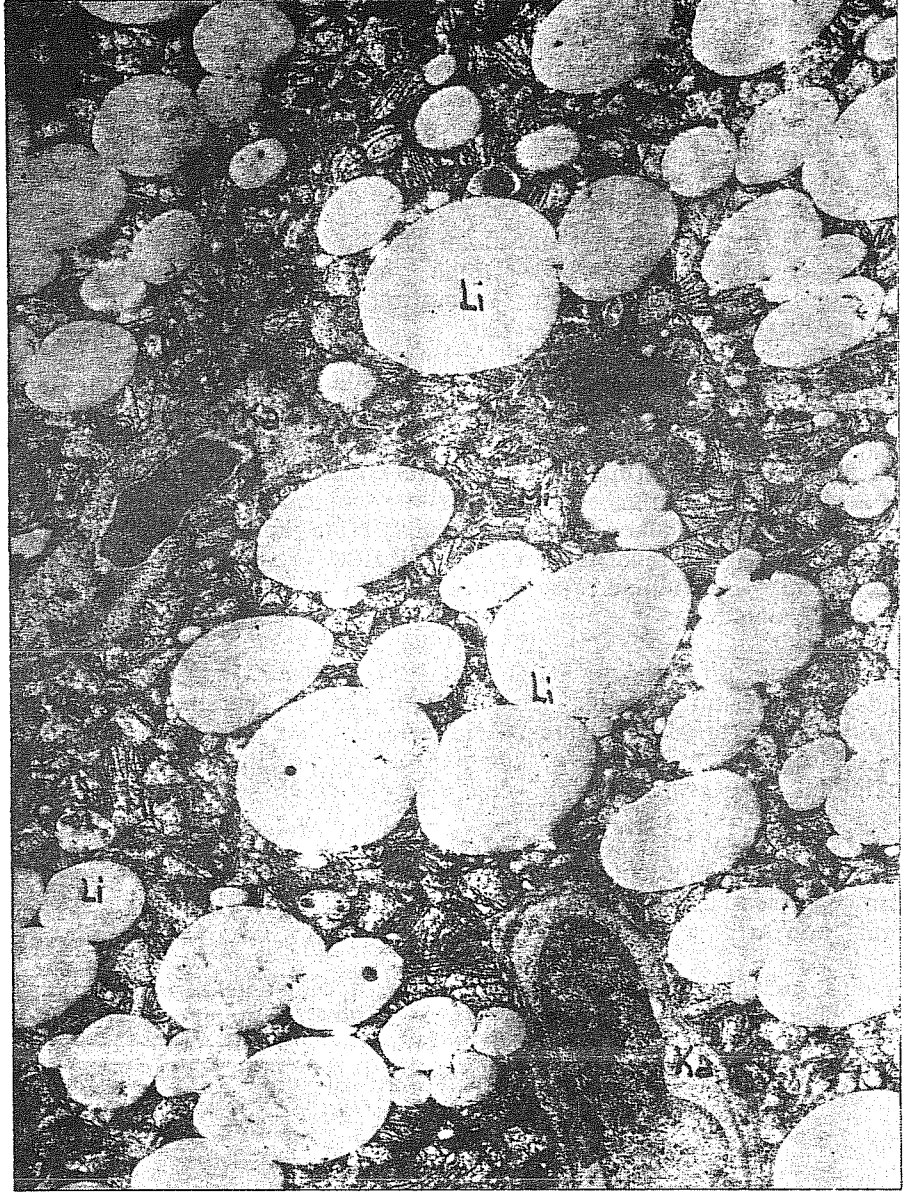
Hücrelerde en göze batan oluşumlar lipid damlaları ile mitokondrionlardı. Genellikle hücrelerin ortasına yakın yerleşim gösteren büyük kaba ve çentikli çekirdekler, kromatin dağılımı bakımından kontrol gruptan bir ayrıcalık göstermediler.

Sitoplazmanın en belirgin ve bol olan organeli yine mitokondrionlardı. Genellikle yuvarlak ve yuvarlağımsı olan mitokondrionlarda kristalar daha bolca, birbirlerine paralel ve bir baştan bir başa kadar uzanmaktaydı. Kontrol gruptan oldukça farklıydı. Mitokondrionlar arasını ribozom ve polizomlar içeren matriks doldurmuştu. Golgi kompleksi az gelişmiş ve oldukça nadir gözlemlendi. Buna karşın yoğun cisimlere oldukça fazla rastlandı. Seyrek pinositotik veziküllere ve granülsüz endoplazmik retikuluma rastlandı. Glikojen partiküllerine bu grupta hiç rastlanamadı.

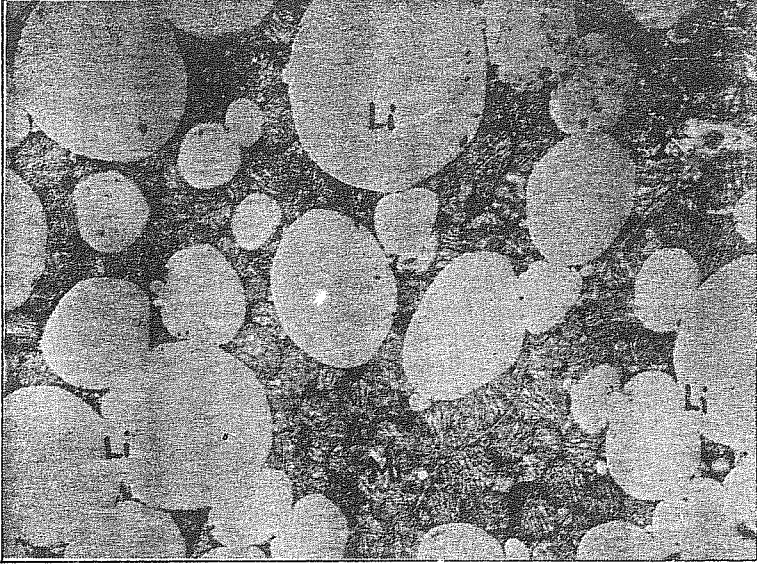
Adipoitlerde en belirgin bulgu çoğunlukla küçük olan değişik çapta lipid damlalarının varlığı idi. Kontrol grupla karşılaştırıldıklarında belirgin bir fark oluşturmakta idiler. Çok küçük damlalar olduğu gibi, birbiriyle birleşen ve kümeler oluşturan lipid damlalarına da rastlanıldı. Bu gruptaki lipid damlaları homojen ve çok açık renkte idi (Şekil 1).

Soğukta tutulan 25 mikrogram L-Tiroksin Na enjekte edilen sıçanların elektron mikrograflarındaki görünüm soğukta bırakılmış kontrol grupla benzerlik gösteriyordu (Şekil 2).

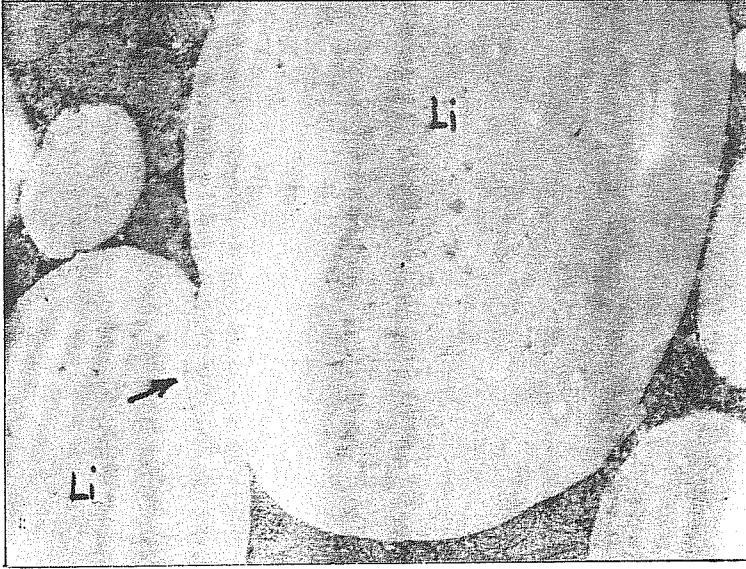
Soğukta tutulan 50 mikrogram L-Tiroksin Na enjekte edilen sıçanların elektron mikrograflarında da irili ufaklı lipid damlaları gözlemlendi. Bazı lipid damlaları 25 mikrogram enjekte edilenlere göre daha büyükçeydi (Şekil 3).



Şekil 1. Soğukta bırakılmış sıçan K.Y.D'nun E.M. düzeyinde genel görünümü. Yağ hücrelerinde çoğunluğu oluşturulan küçük çaplı lipid damlaları ve aralarını dolduran mitokondrionlar belirgin. Adipositler arasında kan kapillerleri izlenmekte.
Li: Lipid damlaları, Mi: Mitokondrion, Ka: Kapiller. X.5700.



Şekil 2. 25 mikrogram L-Tiroksin Na verilmiş sıçan materyeli. Adipositlerin genel görünümü. İri ufaklı lipid damlaları, sık ve paralel düzenlenmiş mitokondrionlar belirgin. X.4750.



Şekil 3. İri iki lipid damlasının birbirine kaynaşması ve aralarındaki (ok) son sitoplazma artığı izlenmekte. Mitokondrionlarda kristalar sık, matriks daha yoğun gözlenmekte. X.11750.

TARTIŞMA

K.Y.D. soğuk ortamlarda değişik bir görünüme bürünmektedir. İnsan ve hayvan yenidoğanlarında K.Y.D. dış ortama uyabilecek şekilde gelişimini tamamlamıştır ve özgül işlevine hazırdır. Isıya ihtiyaç duyulduğunda, bu doku bütün vücudu ısıtabilecek kadar ısı oluşturabilir. Isı ihtiyacı memelilerin yeni doğdukları, soğuk ortama uyum sağladıkları ve kış uykusundan uyandıkları anlardır^{7,8,9}. Sıçanlarda skapulalar arası K.Y.D'nun soğut etkisine hipertrofi ile cevap verdiği ilk defa 1950 yılında Page tarafından gösterildi^{10,11,12}. Halbuki K.Y. hücrelerinde yağ tüketimi, soğukta, kış uykusunda ve uzun süreli açlık gibi durumlarda arttığı için hücrelerdeki yağ damlalarında azalma olur. Bundan dolayı hücreler küçülür ve düzensiz şekil alırlar. Hücrelerin üzerinde uzantılar ve derin girintiler oluşur. Burada iki ayrı bulgu ortaya çıkmaktadır. Sorunun çözümü için hayvanın soğuk etkisine bırakıldıktan sonra kısa aralıklarla dokunun alınıp incelenmesi gerekmiştir. Gerçekten soğuk etkisinin ilk saatinde K.Y hücreleri ısı üretimi için lipidlerinin çoğunu boşaltır. Sıçan 1 saat soğuk suda yüzdürülünce, K.Y.D'da önemli derecede lipid boşalımı olmaktadır. Soğuk etkisi uzarsa 1. ve 3. günler arasında doku ödemi bir görünüm alır. Bununla birlikte yeni lipid damlaları çok çabuk sentezlenmektedir. İkinci haftanın sonunda doku kitleleri ve hücrelerinin iç yapısı değişmeyecek değerlere ulaşır, bundan sonra ne kadar soğuk ortamda kalırsa kalsın etkilenmez. Dokuda soğuk ortama uyum sağlanır. Soğuk ortama, olgun K.Y.D hücresi yapısal olarak, ilk 3 günde yağ damlalarında çap olarak azalma, bunu izleyen sürede 2. haftaya kadar çapta dereceli bir artışla cevap verir^{13,14}. İkinci haftanın sonunda soğuk ortama gösterilen uyum +2 C⁰'de bir yıl kalan sıçanlarda bile ince yapı yönünden hiç bir fazla değişme olmaz^{13,15-17}.

Soğuk ortamdaki sıçanların K.Y.D'ları üzerinde çalışan araştırmacıların bulguları bazı farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıkların çoğu belkide soğuk etkisi anında hayvanın yaşına, kafesteki yaşam koşuluna ve deneyin yönlendirilmesine bağlı nedenler olabilir¹⁸. Olgun kahverengi yağ hücrelerinin soğuk etkisine karşı verdiği ilk cevap bu hücrelerin glikojen ve lipid içeriğinin yanması ve hacim olarak azalmasıdır¹⁹. Soğuk esnasında olgun kahverengi yağ hücrelerinin çaplarında biraz büyüme olmasına karşılık mitoz hiç gözlenmemiştir^{19,20}.

Bu çalışmada sıçanlar bir, iki ve üç hafta soğukta tutulmuştu. Kendi aralarında belirgin bir farklılık göstermediler. Literatür bilgilerimize göre hücrelerdeki değişiklik ilk 3 günde olup daha sonra normale dönmektedir. Çalışmamızda ilk grup soğuk etkisinden bir hafta sonra açıldığı için ilk üç günlük değişiklikler gözlenemedi.

Multiloküler hücrelerin eski durumuna gelmesi bölgesel veya genel olarak beyaz yağ hücrelerindeki yağın çözülmesiyle aynı zamana rastlar. Beyaz yağın içeriği yeniden bir dağılıma tabi tutulur ve multiloküler hücrelere yerleşir²¹. Soğukta 1 hafta kalan sıçanlarda

ne lopçuklar içinde, ne de trabekülalar üzerinde beyaz yağ hücrelerine rastlanamaz.

Bu çalışmada da trabeküla ve lopçuklar içinde beyaz yağ hücrelerine rastlanamadı.

Yaşlı sıçanlarda yağ damlalarının bir zarla çevrili olduğunu 1968'de Dyer iddia etmiştir²². Bu görüşe hiç bir araştırmacı katılmamıştır. Ancak bu çalışmadaki bazı elektron mikrograflarda birbirine kaynaşan lipid damlaları arasında zar izlenimini veren sitoplazma artıkları gözlemlendi. Bunların iki damla arasında sıkışmış ve giderek incelmış matriks ve ribozom zinciri olduğu kanısına varıldı (Resim 3).

Kahverengi yağ dokusu mitokondrionları sitokromlardan çok zengindir. Bu dokunun hücrelerinde fosforilasyonla ADP'den ATP oluşması ayrılmıştır. Yani enerji transport sistemi ile fosforilasyon olayı birbirinden ayrı gider. Oksidasyonla lipidlerden açığa çıkan enerji dokunun geniş damar ağıyla vücuda yayılır. bu metabolik özelliği kullanarak yenidoğan insan ve diğer memeliler kahverengi yağ dokusundan ısı üretmeyle doğumdan sonraki kritik dönemde ısılarını ayarlarlar^{8,23-27}.

Soğuk ortamda, oda ısısında bulunanlara zıt olarak, K.Y.D hücrelerinde mitokondrionların kristalleri başlangıçta çevre zara yakın iken, soğuğa uyum arttıkça paralellik oluşur ve kristaller sıklaşır. Soğuk ortamdaki sıçanların K.Y.D hücrelerinin mitokondrion çapları, oda ısısındakilerden % 20 daha fazlaydı¹⁹.

Bu çalışmada da, mitokondrion kristallerinin sıklaştığı ve paralel bir düzenlenme gösterdiği saptandı.

Soğukta K.Y.D lopçukları içinde genellikle bol eritrosit bulunan genişlemiş kapillerler gözlenir.

Çalışmamızda da lopçuklar arasında ve içinde bulunan kan kapillerlerinde bol eritrosit olduğu gözlemlendi.

Tiroksin, tirozin amino asidine dört iyot atomunun eklenmesi sonucu oluşur. Tiroksin hormonu mitokondrionlardaki oksidatif enzimleri çoğaltır ve böylece, oksidasyon sonucu ısı üretimi hızlanır. Vücuda tiroksin verilecek olursa ısı üretimi artar. Tiroksin, ısı üretimini mevsimlere ve ihtiyaçlara göre ayarlayarak vücut sıcaklığının sabit tutulmasını sağlar. Hücre içinde oksidatif enzimleri çoğaltabilmek için enzim yapıcı, protein sentezi mekanizmasına etkilidir⁹. Bu etkinin ayrıntıları bugün için tam olarak bilinmemektedir. Bazı deneyler bizzat iyot atomlarının etkili olduklarını ve tiroksinin görevi hücre içinde iyodu hassas bölgelerde tutmak veya yaklaştırmak şeklinde sanılmaktadır. Fazladan tiroksin verildiğinde etkisi 24 saat sonra başlar. Etkisinin kaybolması da yavaş olmaktadır. Tiroksin yerine tri-iodo tironin kullanıldığında etki çabuk başlar, daha şiddetli olur

ve daha çabuk silinir.

Tiroksin bir taraftan sindirim kanalında karbonhidrat emilimini, diğer taraftan da dokularda karbonhidrat kullanımını artırır. Yağların yıkılımı da tiroksin tarafından artırılır. Böylece, kanda ve karaciğerde yağlar azalır. Hipertiroidide beklenildiği gibi yağ depoları biter. Ancak dışardan alınan yağın miktarı da önemlidir. Tiroksin, karbonhidrat ve yağların oksidasyonunu artırırken, proteinleri korumuş olur. Çünkü genellikle karbonhidrat ve yağlar yanınca ihtiyaç karşılanır ve değerli yapı maddesi niteliğindeki proteinler kullanılmaz⁸.

K.Y.D'na; tiroksin, glukagon ve norepinefrin hormonları etkiler. Bunlar arasında birinci sırayı tiroksin alır. Ancak tiroksinin yağ hücresine etki mekanizması bilinmemektedir²⁹⁻³¹.

Lachance^{29, 32} ilk defa hipertiroidizmin kahverengi yağ dokusunda hipertrofiye neden olduğunu gösterdi. Soğuk ortamda tiroid aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Tiroksin enjekte edilen hayvanların K.Y. hücrelerinin lipid içeriklerinde belirgin artma olur. Böylece soğukta bulunan hayvanlarda ısı üretme gücünün artması ve ısı üretme yeteneği buna bağlanmaktadır. İskelet kasları ve K.Y.D'larının ısı ayarlanmasında önemli oldukları bugün kabul edilmektedir³³.

Bir sıçan -25 C⁰'ye konursa, kuyruğu çok çabuk donar. Halbuki, tiroksin ve noradrenalin enjekte edilen hayvanlarda karında yüksek düzeyde ısı oluşmakta ve uzun süre devam etmektedir. Ancak, soğuk ortama alışıp daha sonra 6 saat oda ısısında kalan sıçanlar donmamakta ve kuyrukları bükülebilmektedir. Bu gözlem, belkide başlı başına metabolik ayarlanmaya veya vasküler adaptasyona kanıt teşkil etmektedir. Sonuç olarak, bir çok araştırmacı tiroksinin soğuk ortama karşı vücut direncini artırdığına inanmaktadırlar^{29, 34-36}.

Bu çalışmada soğukta tutulan ve L-Tiroksin Na verilen materyalde lipid damla ve vakuüllerinin ve mitokondrion kristallarının beraber etkilendiği gözlemlendi.

KAYNAKLAR

1. Hatai S. On the presence in Human of an interscapular gland corresponding to the so-called hibernating gland of lower mammals. Anat. Anz. 21: 369, 1902, alınmıştır: Smith RE, Horwitz BA, Brown fat and thermogenesis. *Physiol Rev* 49: 330, 1969.
2. Lindberg O. **Brown Adipose Tissue**, American elsevier pub com, New York, I. Baskı, 1970.
3. Bloom W, Fawcett DW. Adipose tissue. In. **A Textbook of Histology** WB Saunders Comp, X. Baskı s: 196, 1975.

4. Smith RE. Thermogenic activity of hibernating gland in the cold-acclimated Rat. *Physiologist*, 4: 113, 1961.
5. Reichling S, Ridley RG, Patel HV, and at all. Loss of brown adipose tissue uncoupling protein mRNA on deacclimation of cold-exposed rats. *Bioch and Bioph Res Commun*, 142 (3): 696-701, 1987.
6. Foster DO, Frydman ML. Tissue distribution of cold-induced thermogenesis in conscious warm-or cold-acclimated rats reevaluated from changes in tissue blood flow: The dominant role of brown adipose tissue in the replacement of shivering by nonshivering thermogenesis. *Can J Physiol Pharmacol*, 57: 257, 1979.
7. Beauvallet M, Portet R, Blancher G, Solier M. Post-natal development of brown adipose tissue in the rat. Bred at 23 C°. *Arch Int Physiol Biochem*, 86 (1): 145, 1978.
8. Lindberg O, Pierre J, Rylander E, Afzelius B. Studies of the mitochondrial energy-transfer system of brown adipose tissue. *J Cell Biol*, 34: 293, 1967.
9. Smith RE, Horitz, BA. Brown fat and thermogenesis. *Physiol Rev*, 49: 330, 1969.
10. Puerta ML, Adelenda M, Fraile A. Effects of thyroxine and 3,5,3, Triiodothyronine in brown adipose tissue of rats. *Comp Biochem Physiol*, 79A (4): 563-566, 1984.
11. Kuroshima A, Habara Y, Uehara A, and at all. Cross adaption between stress and cold in rats. *Pflugers Arch*, 402: 402-408 1984.
12. Gubern M, Portet R. Modulation of fatty acid syntesis in vivo in brown adipose tissue, liver and white adipose tissue of cold-acclimated rats. *Ann Nur Metab* 30: 380-385, 1986.
13. Portet R. Variation of rat brown adipose tissue composition during cold acclimatization. *Arch Int Physiol Biochim*, 84(1): 89, 1976.
14. Roberts JC, Smith RE. Time dependent responses of brown fat in cold exposed rats. *Amer J Physiol*, 212: 519, 1967.
15. Desautels M, Zaror-Behrens G, Himms-Hagen J. Increased purine nucleotide binding, Altered polypeptide composition and thermogenesis in brown adipose tissue mitochondria of cold-acclimated rats. *Can J Biochem*, 56: 378, 1978.
16. Heaton GM. Hamster brown adipose tissue mitochondria. The role of fatty acide in the control of the protein conductance of the inner membrane. *Eur J Biochem*, 67(2): 511, 1976.

17. Vatnick I, Tyzbitz RS, Welch JG, Hooper AP. Regression of brown adipose tissue mitochondrial function and structure in neonatal goats. *Amer Physiol Soc (Am J Physiol)*, 252: 391-395, 1987.
18. Jennings G, Richard D, Trayhurn P. Effect of caging singly or groups of different sizes on the thermogenic activity of interscapular brown adipose tissue in mice. *Comp Biochem Physiol*, 85A: 3, 583-586, 1986.
19. Thomson JF, Habeck DA, Nance SL, Beetham KL. Ultrastructural and biochemical changes in brown fat in cold exposed rats. *J Cell Biol*, 41: 312, 1969.
20. Senault C, Cherqui G, Cadot M, Portret R. Cold-induced developmental changes in fat cell size and number in brown adipose tissue of rat. *Am J Physiol*, 240 (4): E 379, Part 2, 1981.
21. Cameron I, Smith RE. Cytological responses of brown fat tissue in cold-exposed rats. *J Cell Biol*, 23: 89, 1965.
22. Dyer RF. Morphological features of brown adipose cell maturation in vivo and in vitro. *Am J Anat*, 123: 255, 1968.
23. Lin CS. Isolation of the uncoupling protein from brown adipose tissue mitochondria. *FEBS Lett* 113 (2): 299, 1980.
24. Nicholls DG. Cellular mechanism in brown fat thermogenesis mitochondria. *Experientia* 33(9): 1130, 1977.
25. Nicholls DG. Brown adipose tissue mitochondria. *Biochim Biophys Acta*, 3: 549(1), 1-29, 1979.
26. Wheathen PR, Burkitt HG, Daniels VG. *Functional Histology A Text and Colour Atlas*, s:44, 1979.
27. Mercer SW, Trayhurn P. Effect of high fat diets on the thermogenic activity of brown adipose tissue in cold-acclimated mice. *J Nutr* 114: 1151-1158, 1984.
28. Desautels M, Dulos RA, Mozaffari B. Selective loss of uncoupling protein from mitochondria of surgically denervated brown adipose tissue of cold-acclimated mice. *Biochem Cell Biol* 64: 1125-1134, 1986.
29. Ricquier D, Mory G, Hemon P. Effects of chronic treatments upon the brown adipose tissue of young rats. I. cold exposure and hyperthyroidism. *Pflügers Arch* 362: 241, 1976.
30. Ricquier D, Mory G, Hemon P. Changes induced by cold adaptation in the brown adipose tissue from several species of rodents, with special reference to the mitochondrial components. *Can J Biochem*, 57(1w): 1262, 1979.
31. Bürgi U, Bürgi-Savielle ME. Brown fat nuclear triiodothyronine receptors in rats. *Am J Physiol*, 251:503-508, 1986.

-
32. Lachance JP. Quelques aspects de la biochimie tisu adipeux brun interscapulaire chezle rat blanc. *Level Med.* 18: 1258, 1953. Alınmıştır: Ricquier D, Mory G, Hemon P. Effects of chronic treatments upon the brown adipose tissue of young rats. I. cold exposure and hyperthyroidism. *Pflügers Arch*, 362: 241, 1976.
 33. Sbarbati A, Zancanaro M, Cigolini M, Cinti S. Brown adipose tissue: A scanning electron microscopic study of tissue and cultured adipocytes. *Acta Anat*, 128: 84-88, 1987.
 34. Heick HMC, Vachon C, Kallai MA, Begin-Heick N, Leblanc J. The effects of thyroxine and isoproyl noradrenaline on cytochrome oxidase activity in brown adipose tissue. *Can J Physiol Pharmacol*, 51: 751, 1973.
 35. Koch BMJ, Portier C. TSH and thyroxine secretion rates following prolonged exposure to cold in the rat. *Federation Proc*, 25: 1838, 1966.
 36. Leblanc J, Villemaire A. Thyroxine and noradrenaline on noradrenaline sensitivity. Cold resistance and brown fat. *Am J Physiol* 218: 1742, 1970.

