

TİROKSİNİN ODA İSİSİNDE SIÇAN SKAPULALAR ARASI KAHVERENGİ YAĞ DOKUSUNA ETKİSİNİN ELEKTRON MİKROSKOBU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ *

Dr.Nusret Çiftçi **

ÖZET

Siçanlar oda ısısında tutuldular (24-26 C°). L-tiroksin Na enjekte edilerek skapulalar arası kahverengi yağ dokusu incelendi. Mitokondrionların krista yapısı düzensizdi. İri lipid damlaları gözlemlendi.

SUMMARY

EFFECTS OF THYROXINE TO THE RAT INTERSCAPULAR BROWN ADIPOSE TISSUE AT ROOM TEMPERATURE AN ELECTRON MICROSCOPIC STUDY

The rats were kept at room temperature (24-26 C°). After l-thyroxine Na injection the interscapular brown adipose tissue was investigated. The cristae of mitochondria were irregular. Large lipid granulus were seen.

Key words : Brown adipose tissue, Thyroxine, Rat, Room temperature.

Anahtar kelimeler : Kahverengi yağ dokusu, Tiroksin, Oda ısısı.

Yağ dokusu, birçok memelide iki tiptir. Vücuttaki dağılımı, rengi, damarlarla ilişkisi ve metabolik aktiviteleri farklıdır. Birinci tip sarı veya beyaz yağ dokusudur. Bağ dokusu hücrelerinden olan yağ hücreleri tarafından oluşturulur ve genel vücut yağını yapar. Diğeri ise, kahverengi yağ dokusudur (KYD). Vücutta daha az olup, belirli bölgelerde toplanmıştır. Kış uykusuna yatan veya uzun süre soğuk ortamda kalan hayvanlarda çoktur ^{1,2,3}.

* Hacettepe Üni. Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı'nda yapılmıştır.

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

Bu çalışmada sıçanlara oda ısısında tiroksin enjekte edilerek skapulalar arası KYD elektron mikroskobu düzeyinde incelendi. Kaynak verilerinin ışığı altında, yapı ve görevi üzerindeki son görüşler tartışıldı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Merkezi'nde üretilmiş, yaklaşık 100-150 gr. ağırlığında 20 adet, üç aylık İsviçre tipi, beyaz erkek sıçanlar üzerinde yapıldı. Deney yaz mevsimi olduğu için 24-26 °C'de oda ısısında yürütüldü.

Sıçanlar IV gruba ayrıldılar. I. grup sıçanlara hiçbir işlem yapılmadı. II, III ve IV. gruplara hergün tartılarak karın içi enjeksiyonları yapıldı. II. grup kontrol grubunu oluşturdu ve sadece serum fizyolojik enjekte edildi. III. grup sıçanlara ağırlıklarının 100 gr'ı başına 25 mikrogram, IV. grup sıçanlara ise, yine 100 gram vücut ağırlığına 50 mikrogram L-Tiroksin Na (Abdi İbrahim İlaç Sanayii ve Ticaret A.Ş.'den 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. Deney 3 hafta olarak planlandı. Ancak L-Tiroksin Na verilen sıçanlar 16. günde öldükleri için 3. hafta deney yapılamadı.

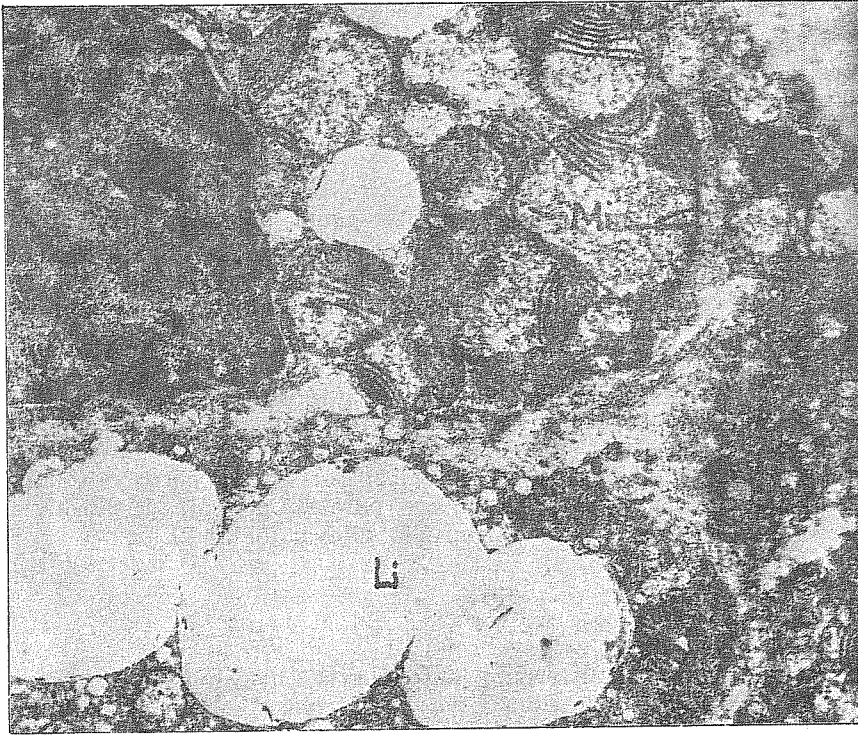
KYD skapulalar arası bölgeden çıkarıldılar. Elde edilen dokular 1/15 Sorenson fosfat tamponu ile hazırlanmış % 2 Gluteraldehit ve % 1 Osmik asit çözeltileri içinde tesbit edildiler. Daha sonra % 70 alkolde doymuş uranil asetat ile blok boyaması uygulandı. Elektron mikroskopun doku izleme yöntemlerinin diğer basamakları uygulanarak dokular elektron mikroskobu için 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

Oda ısısında tutulan, hiçbir işlem yapılmamış sıçanlarda, gene oda ısısında tutulan ve sadece serum fizyolojik enjekte edilen sıçan gruplarından alınan doku materyalleri kontrol olarak değerlendirildi.

Elektron mikrograflarda, hücreler büyük olduğu için sahaya birkaç hücrenin bazı bölümleri ancak girebiliyordu. Hücrelerin kapillerlerle sıkı ilişkide olduğu belirgindi. Hücrelerde değişik çapta lipid damlacıkları en belirgin oluşumlardı. Çekirdekler genellikle hücrenin ortasında büyük, kaba ve çentikli olarak gözlemlendi. Kromatin ağı çekirdek

ünit zarının altında yoğunlaşmalar gösteriyordu. Bazı kesitlerde çekirdekçiklerde gözlemlendi. Sitoplazmanın en belirgin organeli büyük, genellikle yuvarlak veya yuvarlağımsı mitokondrionlardı. Değişik çaplardaki lipid damlaları arasında sıkıca paketlenmişti. Yer yer aralarını ribozom ve polizom içeren sitoplazma matriksi doldurmaktaydı. Mitokondrion kristalarının düzeni ilgi çekiciydi. Mitokondrion matriksi genellikle az yoğun olarak gözlemlendi. Kristaların bir kısmı genellikle bir bölgede yoğunlaşmış paralel bir dizilim gösterirken, diğerleri eğri, veya yarım septalar oluşturmaktaydı. Kristaların bu düzeni, sıçanın diğer organlarının mitokondrionlarından farklıydı (Şekil 1).



Şekil 1. Bir adipositin çekirdeğe yakın bir bölümünün daha büyük bir büyütmede görünümü. İri, yuvarlak veya yuvarlağımsı mitokondrionlar (Mi) kristaları bakımından bir özellik göstermekte. Az yoğun bir matriks içinde birbirine paralel düzenlenmiş, kesintili, eğri büğrü kristalar bir bölgede yoğunlaşmakta. Sahanın alt yarısında birbiriyle kaynaşmış üç büyük lipid damlası (Li) ve çevresinde pekçok ufak lipid damlaları ayırt edilmekte. Sahanın sağında sitoplazma matriksi içinde granülsüz endoplazma retikulumu vezikülleri (Ager), ribozomlar ve çekirdeğe yakın bir bölgede bir mitokondriyona yapışık olarak yoğun bir cisim ayırtedilmekte (ok). X 21250.

Golgi kompleksi ve düzgün yüzeyle endoplazma retikülümü az gelişmiş olarak gözlemlendi. Granüllü endoplazma retikülümü ve sentriole hiç rastlanmadı. Ayrıca pinositotik veziküllerle glikojen granüllerine de rastlanmadı.

KYD hücresinin en belirgin özelliği değişik çapta lipid damlalarının varlığıydı. Lipid damlaları zarla sarılı değildi. İrili ufaklı damlalar mitokondrionlarla sıkı ilişkideydi. Sitoplazma içinde dağılmış pek çok ufak lipid damlaları olduğu gibi birbirleriyle birleşen lipid damlaları da dikkati çekmekteydi. Lipid damlaları bazen okadar büyüktü ki, bir veya ikisi tüm elektron mikroskop sahasını doldurabilmekteydi.

Yağ hücreleri arasında bolca kan kapillerlerine rastlandı. Kapiller endotel sitoplazmasında ribozomlar arasında bol miktarda pinositotik veziküller gözlemlendi. Çevreleri dıştan bazal lamina ile çevriliydi. İçlerinde nadiren eritrosite rastlandı.

Oda ısısında 25 ve 50 mikrogram L-tiroksin Na enjekte edilen sıçan materyelinin elektron mikrograflarında genel görünüm kontrol grupla bir farklılık göstermedi. Hücrelerin kapillerlerle sıkı ilişkide oluşu her sahada belirgindi. Kapiller endotel sitoplazması bol miktarda pinositotik veziküllerle doluydu. Çoğunlukla kapillerlerin lümenlerinde eritrosit vardı.

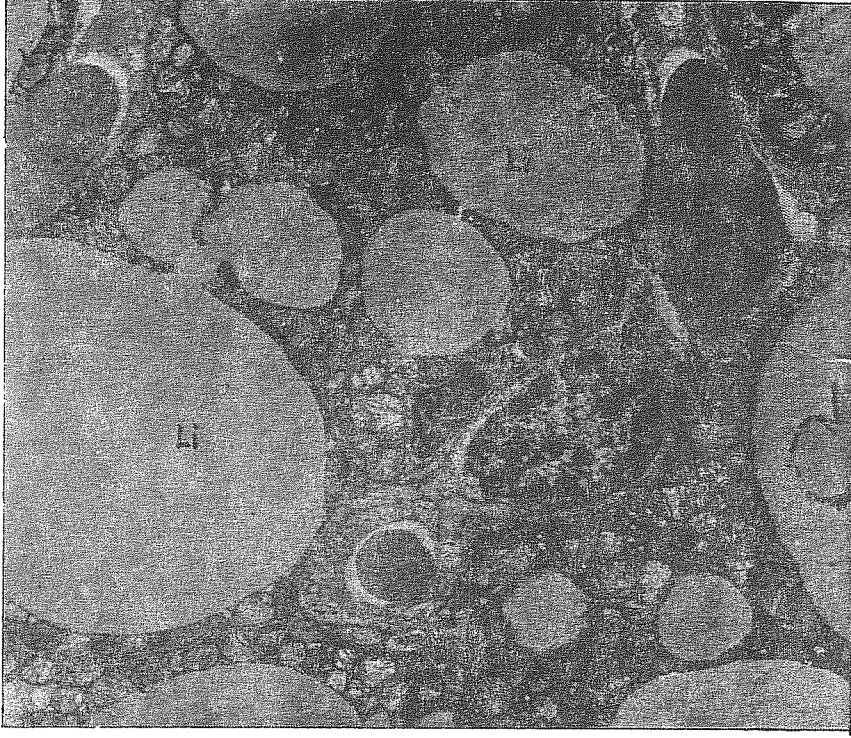
Sitoplazma matriksi kontrol grupla hiç farklılık göstermedi. Sitoplazmanın en belirgin organeli yine mitokondrionlardı. Çoğunlukla yuvarlak veya yuvarlağımsı olan mitokondrionlar arasında oldukça uzun mitokondrionlara sıklıkla rastlandı. Kontrol gruba göre mitokondrion kristalleri daha sıkça ve birbirine paralel düzenlenmişlerdi. Lipid damlalarıyla ilişkileri diğer gruplardaki gibiydi (Şekil 2).

TARTIŞMA

KYD çeşitli hayvan türlerinde ontogenetik, histolojik, histokimyasal, elektron mikroskopik, fizyolojik ve biyokimyasal olarak birçok araştırmacı tarafından ilgiyle incelenmiştir.

Doku, ilk kez 1551 yılında Conrad Gesner⁴ tarafından dağ sıçanlarında skapulalar arasında deri altında tariflenmiştir. Bu tarihten beri bu dokuya çeşitli roller atfedilmiştir. 1961'den itibaren doku, içinden geçen kanı ısıtan termojenik etkisi olan bir organ olarak kabul edilmiştir⁵.

İnsan vücudunda KYD varlığı ilk defa 1920'de Cramer⁶ ve 1951'de Wegener⁷ tarafından gösterildi. Doku, yenidoğandan erişkine kadar tüm yaşam boyunca vardır. İnsanda skapulalar arası bölgede, boyun damarları ve kasları çevresinde, klavikula ve aksillar bölgelerde, karın ön duvarında, özefagus-trakea çevresinde, perikardium akciğer hilusu, paraaortik bölgelerde, pankreas, dalak hilusu, böbrek ve böb-



Şekil 2. Grup IV. 50 mcg. L-tiroksin Na verilen grup. Elektronmikrografta adipositler kapillerlerle (ka) sıkı ilişkide. Lipid damlaları (Li) çoğunlukla büyük, aralarını mitokondrionlar (Mi) doldurmakta. X. 4750.

rek üstü bezleri çevresinde, mezokolon ve büyük omentum'da bulunur. 0-10 yaş grubundaki çocuklarda; bu bölgelerde kahverengi yağ hücreleri çoktur, yaş ilerledikçe azalmaktadır. 70-80 yaşlarında çocuklara kıyasla çok azdır^{8,9}.

Şıçanlarda 6 günlük fütöste KYD'nun farklanmaya başladığı gösterilmiştir. Bu evrede mitokondrionlar arasında bol miktarda endoplazmik retikulumu vardır. Yer yer küçük birkaç yağ damlası gözlenir^{5,10}.

18 günlük fötüslerde ise doku, lobuler bir yapı kazanır ve tipik yağ hücreleri sahaya hakim olur¹¹.

21. günde sitoplazmada lipid damlaları büyürler. Mitokondrionlar da sayıca artarlar. İnsan fötüsünde KYD 28. hafta gibi oldukça erken bir dönemde gözlenebilir. Yeni doğan bebekte ise bütün vücut ağırlığının % 2-5'ini oluşturur¹².

Kahverengi yağ dokusu, bütün memelilerde aynı yapısal görünümde. Bu doku üzerinde çalışan araştırmacılar iki önemli özelliği saptamışlardır. Bunlardan biri dokunun lobuler yapısı, diğeri ise dokunun kan kapillerleri ağı ve sinir liflerinden zengin oluşudur^{13, 14}.

Bu çalışmada da doku, lobuler bir görünümde ve kan kapillerleri ile sinir liflerinden zengin olarak gözlemlendi. KYD'da çoğunluğu oluşturulan hücre yağ hücreleridir. Bu hücreler yanyana ve poligonal bir görünüm gösterirler.

Beyaz ve kahverengi yağ dokuları arasındaki ayırıcı özellikler birçok araştırmacı tarafından yayınlanmıştır. Bu iki doku arasındaki en önemli fark kahverengi yağ dokusundaki yağ damlalarının birden fazla (multiloküler), beyaz yağ dokusunda tek (üniloküler) olmasıdır¹⁵.

Bu çalışmada da elektron mikroskopik olarak birçok granülün hücreyi doldurduğu gözlemlenmiştir.

KYD hücresinde çekirdek, sitoplazmanın orta bölgesinde yerleşmiştir. Bazı hücrelerde bir kenara itilmiş yassıca çekirdekler de izlenebilir. Bir lobtaki bütün yağ hücrelerinin çekirdekleri aynı görünümde. Bu durum hücrelere tek düze bir görünüm verir. Bu görünüm ise kahverengi yağ dokusunun ileri bir farklanmaya uygunluğunu gösterir. İleri farklanma aşamasına ulaşmış olmasının bir kanıtı da mitoza rastlanamamasıdır⁵.

Bu çalışmada kahverengi yağ hücrelerinin üniform görünümü dikkati çekmiş ve mitoza rastlanamamıştır.

Kahverengi yağ hücreleri mitokondrionlardan zengindir. Beyaz yağ dokusu hücre mitokondrionları 0,3 mikron büyüklüğünde ve az sayıda iken kahverengi yağ dokusu hücrelerindeki 0,5 mikronun üzerinde bir büyüklükte ve çok sayıdadırlar. Kristalar mitokondrionların bütün genişliği boyunca uzanır. Mitokondrionların bir mikronluk uzunlukları boyunca 8-15 kadar sıkıca düzenlenme gösteren kristaları vardır. Kristalar hafifçe eğridirler. Bu durum çoğu aktif doku hücrelerinin mitokondrionlarında gözlenen bir olgudur. Mitokondrionlar oval veya yuvarlaktırlar².

Bu çalışmada da bol miktarda mitokondriona rastlanıldı. Mitokondrionlardaki kristalar bazan mitokondrionun bir çeperinden diğerine kadar uzanabilmekteydi.

Oksidasyon mitokondrionlarda yürütülmektedir. Bu organeller yağ damlalarına yakın bir yerleşim düzeni gösterirler. Bu yapısal düzen yağın daha çabuk okside olmasını sağlar. Karaciğer ve beyaz yağ dokusu hücrelerinde mitokondrionlar lipid damlalarına kahverengi yağdaki kadar yakın değildir. Karaciğer ve beyaz yağ dokusu daha çok yağın depolanması ile ilgili olmalıdır. Kahverengi yağ, beslenme değişikliklerine beyaz yağ gibi cevap vermez. Hipofizektomili hayvan-

larda ise hızlı bir yağ boşalımı olur.

Bu dokunun endokrin bir organ olabileceği varsayılmış ve doku ezme-leri enjeksiyonu sonucu endokrin bir organ olmadığı anlaşılmıştır¹⁶⁻²⁰.

Çalışmamızda çok bol miktarda mitokondrion gözlemlendi. Yuvarlak veya oval şekildediler. Oda ısısında tiroksin enjekte edilen sıçan materyelinde ise krista yapıları sıklaşmış mitokondrionlar gözlemlendi.

Kahverengi yağ hücreleri genellikle çok az granülsüz endoplazma retikülümü içerir. Granüllü endoplazma retikülümü ise hemen hiç yoktur.

Golgi kompleksi hücrenin kenar bölümüne yerleşmiş birkaç tüp ve vezikülden ibarettir.

Genç ve ergin hayvanların kahverengi yağ hücrelerinde bol miktarda serbest ribozomlar bulunur, polizomlar ise yer yer izlenebilir^{1-3,21}.

Bu çalışmada, oda ısısında tutulan ve L-tiroksin Na verilen sıçan materyelinde, mitokondrionların etkilendiği gözlemlendi. Kristalar paralel ve daha sıklaşmış bir görünümdeydi. Buna mukabil lipid vakuol ve damlaları fazlaca etkilenmemiş olarak gözlemlendi.

KAYNAKLAR

1. Bloom W, Fawcett DW. Adipose tissue. In. *A Textbook of Histology*, W B Saunders Comp, X.Baskı, 196, 1975.
2. Suter ER. The fine structure of brown adipose tissue. I. Coldinduced changes in the rat. *J Ultrastruct Res* 26: 216, 1969.
3. Revel JP, Sheridan JD. Electrophysiological and ultrastructural studies of intercellular junction in brown fat. *J Physiol (London)*, 194: 34, 1968.
4. Gesner C. *Medici tigurini historiae animalium liber II. qui est de quadrupedibus qui Paris (De Mure Alpino). 1551, 840.*, alınmıştır; Smith RE, Horwitz BA: Brown fat and thermogenesis. *Physiol Rev* 49: 330, 1969.
5. Lindberg O. *Brown Adipose Tissue*, American elsevier Pub Comp, New York, I. Baskı, 1970.
6. Cramer W. on glandular adipose, tissue and its relation to the endocrine organs and the vitamin problem. *British Journal of Experimental Pathology* 1: 184, 1920. alınmıştır; Heaton JM, The Distribution of Brown Adipose Tissue in the Human. *J Anat*, 112: 35, 1972.

7. Wegener F. Braunes lipom und braunes Fettgewebe des Menschen. **Beitrage Zur Pathologischen Anatomie und Zur Allgemeinen Pathologie** III: 252, 1951. alınmıştır; Heaton JM.: The distribution of Brown Adipose Tissue in the Human. *J Anat* 112: 35, 1972.
8. Heaton GM. The Distribution of Brown Adipose Tissue in the Human *J Anat*, 112: 35, 1972.
9. Kayalı H. **Genel Histoloji**. İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak His ve Embr Bilim D Teksir Yay s:90, 1972.
10. Barnard T. The ultrastructural differentiation of brown adipose tissue in the rat. *J Ultrastruct Res*, 29: 311, 1970.
11. Suter ER. The fine structure of brown adipose tissue. II Perinatal Development in the Rat. *Lab Invest* 21: 246, 1969.
12. Hull D. The structure and function of brown adipose tissue. *Brit Med Bull* 22: 92, 1966.
13. 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.
14. Scarbati A, Zancanaro C, Cigolini M, Cinti S. Brown Adipose Tissue: A scanning electron microscopic study of tissue and cultured adipocytes. *Acta Anat* 128: 84-88, 1987.
15. Erkoçak A. **Genel Histoloji**. A Ü Tıp Fak Yay sayı: 405, 190, 1980.
16. Lin CS. Isolation of the uncoupling protein from brown adipose tissue mitochondria. *FEBS Lett* 113(2): 299, 1980.
17. Linberg O, Pierre J, Rylander E, Afzelius B. Studies of the mitochondrial energy-transfer system of brown adipose tissue. *J Cell Biol*, 34: 293, 1967.
18. Nicholls DG. Cellular mechanisms in brown fat thermogenesis mitochondria. *Experimentia* 33 (9): 1130, 1977.
19. Nicholls DG. Brown adipose tissue mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 3: 549 (1): 1-29, (133 ref), 1979.
20. Wheather PR, Burkitt HG, Daniels VG. **Functional Histology, A Text and Colour Atlas**, s:44, 1979.
21. Jankovic BD. Brown adipose tissue: Effect on immune reactions in the rat. *Naturwissenschaften* 61: 36, 1974.