

VİTAMİN A'NIN SIĞIR KARACİĞERİNDE
HÜCRESEL DEPOLANMASI

The cellular storage of Vitamin A in the cattle liver

Reşat Nuri AŞTI¹
Ziya ÖZCAN²
İlhami ÇELİK³
Kenan ÇINAR⁴

Summary : This study was carried out under the light and fluorescence microscopy to investigate the cellular storage of Vitamin A in the liver of cattle given normal or excess dose Vitamin A palmitate.

Seven beef cattles whose ages range from one to one an half year were used as a materials.

Examination of control animals' liver tissue revealed few fat storing cells carrying one or two small lipid droplets in their cytoplasm. These cells gave weak reactions with Sudan III and gold chloride fluorescence against Vitamin A was also meager.

In the animals given Vitamin A palmitate, the number of cells found in the perisinuzoidal space and lipid droplets being exist in the cytoplasm of the cells increased rapidly. Lipid droplets given strong reaction against Sudan III and gold chloride also gave strong fluorescence with Vitamin A palmitate.

According to our findings it was concluded that Vitamin A is stored as a Vitamin A ester in perisinuzoidal cells of cattle liver.

Özet : Bu araştırma normal ve yüksek dozda Vitamin A palmitat verilen sığırların karaciğerinde, Vitamin A'nın hücresel depolanmasını, ışık ve floresan mikroskopik düzeylerde, ortaya koymak amacıyla yapıldı.

- (1) Doç. Dr., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Konya.
- (2) Dr., A. Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Ankara.
- (3) Araş. Gör., S. Ü. Veteriner Fakültesi . Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Konya.
- (4) Biolog., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Konya.

Materyal olarak 7 adet 1 - 1,5 yaşında Holştayn melezi erkek dana kullanıldı.

Kontrol grubundaki sığırlarda, sitoplazmalarında bir iki adet lipid damlacığı taşıyan az sayıda perisinuzoidal hücrelere rastlandı. Bu hücrelerin, Sudan III ve altın klorüre zayıf reaksiyon, Vitamin A'ya karşıda zayıf fluoresens verdikleri saptandı.

Yüksek dozda Vitamin A palmitat verilen sığırlarda, perisinuzoidal hücrelerin ve bunların sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının sayısının çok fazla arttığı gözlemlendi. Bu hücrelerde Sudan III ve altın klorüre karşı kuvvetli reaksiyon veren lipid damlacıklarının, Vitamin A'ya karşıda kuvvetli fluoresens verdikleri tesbit edildi.

Bu bulgular ile, Vitamin A'nın sığırların karaciğerinde, perisinuzoidal hücrelerde Vitamin A esterleri şeklinde depo edildiği sonucuna varıldı.

Giriş

Evcil hayvanların ve insanların, sağlıklarının ve verim yeteneklerinin devam edebilmesi için A vitaminine büyük gereksinimleri vardır. Bu canlılar A Vitaminini, ekzogen olarak günlük diyetleriyle almak zorundadır.

Memelilerde Vitamin A'nın karaciğerdeki hücrel depolanması üzerine yapılan çalışmalar oldukça eskiye dayanmaktadır. İlk yapılan ışık ve fluoresan mikroskopik çalışmalara dayanılarak, Vitamin A'nın Kupffer hücrelerinde depo edildiği kabul edilmiştir (12, 13). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da Vitamin A'nın Kupffer hücrelerinde depo edildiğini kabul eden çalışmaların (10) yanısıra, karaciğer epitel hücrelerinde depo edildiğini bildiren çalışmalar da (5) bulunmaktadır.

İlk defa Ito (7), insanların karaciğerinde, sinuzoidlerin duvarında endotel ve Kupffer hücrelerinden başka, sitoplazmasında yağ damlacıkları bulunan bir diğer hücrenin varlığına değinmiş ve bu hücrelere Perisinuzoidal hücreler adını vermiştir.

Son zamanlarda Kobayashi ve Takahashi (8), Wake (16), normal ve yüksek dozda Vitamin A verilen ratlarda; Aşti (1), Aşti ve ark. (2), Tatum ve Fujita (15) tavuklarda yaptıkları çalışmalarda perisinuzoidal hücrelerin varlığına değinmişler ve bu hücrelerin Vitamin A'yı depo ettiklerini bildirmişlerdir.

Ruminantlarda ise Vitamin A'nın hücrel depolanması üzerine yapılan bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, yüksek dozda Vitamin A palmitat verilen sığır karaciğerinde, Vitamin A'nın hücresel depolanması ışık ve fluoresan mikroskopik düzeylerde saptanmaya çalışıldı.

Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak 7 adet 1 - 1,5 yaşında Holştayn melezi erkek dana kullanıldı.

Bu hayvanlar 3 gruba ayrıldı. Birinci grupta bulunan 3 adet hayvan kontrol grubu olarak kullanıldı. İkinci grupta bulunan 2 adet hayvanın her birine toplam 2 milyon, üçüncü grupta bulunan 2 adet hayvanın her birine de toplam 6 milyon I.U. Vitamin A palmitat, subcutan yolla, bir defada verildi ve 15 gün sonra hayvanlar kesildikten sonra, karaciğer örnekleri alındı.

Her vakada ışık ve fluoresan mikroskopik çalışmalar için karaciğerin çeşitli yerlerinden parçalar alındı ve bu parçalar Baker'ın (3) %10 formol-kalsiyum tesbit solusyonunda tesbit edildi. 15-20 mikron kalınlığında alınan dondurma kesitleri, karaciğerde yağların demonstrasyonunu sağlamak için Sudan III'le (14), perisinuzoidal hücrelerin demonstrasyonunu sağlamak için altın klorürle (16) ve bir kesitte iki boya reaksiyonunu bir arada demonstre edebilmek içinde altın klorür+Sudan III kombine boyaması ile boyandı.

Fluoresan mikroskopik çalışmalar için Vitamin A'nın, on-yirmi saniyede kaybolan, sarı-yeşilimsi renkteki spesifik primer fluoresansından yararlanıldı (14). Her vakadan alınan karaciğer parçalarından, 15 mikron kalınlığında kesitler alındı ve HBO 200 merkuri lambası olan Leitz marka epifluoresan mikroskopta incelendi.

Bulgular

Kontrol grubuna ait kesitlerde, karaciğer epitel hücrelerinde Sudan III ve altın klorür boyamasına karşı negatif reaksiyon, Vitamin A'ya karşı negatif fluoresans gözlenirken, perisinuzoidal bölgede yerleşmiş az sayıdaki bazı hücrelerde (Resim 1 - de okla işaretlenmiştir) her iki boyamaya karşı az da olsa pozitif reaksiyon, Vitamin A'ya karşı da zayıf olarak pozitif fluoresans saptandı.

İki milyon I.U. Vitamin A palmitat verilen ikinci gruptaki hayvanlara ait kesitlerde, karaciğer epitel hücrelerinde Sudan III ve altın klorür boyamalarına karşı negatif reaksiyon, Vitamin A'ya karşıda negatif fluoresans gözlenirken, kontrol grubunda az sayıda görülen ve az miktarda lipid damlacığı taşıyan hücrelerin perisinuzoidal bölgede giderek

artan sayıda görülmeye başladıkları saptandı (Resim 2 de oklarla işaretlenmiştir). Bu hücrelerin sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının Sudan III (Resim 3 de oklarla işaretlenmiştir) ve altın klorüre karşı (Resim 4 de oklarla işaretlenmiştir) pozitif reaksiyon verdiği, kombine boyama uygulanan kesitlerde altın klorür partiküllerinin bu hücrelerdeki lipid damlacıklarının üzerinde lokalize oldukları görüldü (Resim 5 de oklarla işaretlenmiştir). Bu hücrelerdeki lipidlerin Vitamin A'ya karşı da kuvvetli fluoresens verdikleri tesbit edildi (Resim 6).

Altı milyon I.U. Vitamin A palmitat verilen üçüncü gruptaki hayvanlara ait kesitlerde, ikinci grupta sayıları ve sitoplazmasında taşıdığı lipid damlacıkları artmış olan perisinuzoidal hücrelerin, sayılarının ve sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının daha da artmış olduğu saptandı. Bu hücrelerin, ikinci gruba nazaran Sudan III (Resim 7 de oklarla işaretlenmiştir) ve altın klorür boyamasına karşı çok daha kuvvetli reaksiyon (Resim 8), Vitamin A'ya karşı da kuvvetli fluoresens verdikleri görüldü (Resim 9). Karaciğer epitel hücrelerinde ise bu grupta da, Sudan III ve altın klorüre karşı negatif reaksiyon, Vitamin A'ya karşı da negatif fluoresens tesbit edildi.

Tartışma ve Sonuç

Işık mikroskopunun büyütme gücünün zayıf oluşundan dolayı uzun yıllar karaciğer epitel hücreleri dışında görülen diğer hücreler endotel ve Kupffer hücreleri olarak tanımlanmışlardır (12, 13). İlk defo Ito (7), insan karaciğerinde sinuzoidlerin duvarında perisinuzoidal hücrelerin bulunduğunu bildirmiştir.

Nakane (11), bu hücrelerin fare karaciğerinde bulunduğunu, Bronfenmajer ve ark. (4), insan karaciğerinde bulunan bu hücrelerin lipid depo ettiklerini, Wake'in (16), ratlarda, Aşti'nin (1), Aşti ve ark. (2) nın, tavuklarda yaptıkları çalışmalarda normalde az sayıda görülen ve az sayıda lipid damlacığı taşıyan bu hücrelerin Sudan III ve altın klorüre karşı zayıf reaksiyon, Vitamin A'ya karşı da zayıf fluoresens verdiklerini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da sığırlarda, kontrol grubuna ait kesitlerde, çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen perisinuzoidal hücrelere az sayıda rastlandı. Bu hücrelerin Wake'in (16), ratlarda, Aşti'nin (1), Aşti ve ark. (2) nın tavuklarda bildirdikleri gibi Sudan III ve altın klorüre karşı zayıf reaksiyon, Vitamin A'ya karşı da zayıf fluoresens verdikleri tesbit edildi.

Hruban ve ark. (6) nın, hipervitaminosis A'lı insanlarda, Nakane (11), Kobayashi ve Takahashi (8), Wake'in (16) ratlarda; Aşti'nin (1), Aşti ve ark. (2) nın tavuklarda yüksek dozda Vitamin A vererek yaptıkları araş-

tırmalarda Vitamin A'nın verilmesine bağlı olarak perisinuzoidal hücrelerin sayısının ve sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının hızla artmaya başladığını, Sudan III ve altın klorür boyamasına karşı kuvvetli reaksiyon veren bu hücrelerin Vitamin A'ya karşıda kuvvetli reaksiyon verdiklerini bildirmişlerdir. Yüksek dozda Vitamin A verilen ikinci ve üçüncü gruba ait hayvanlarda benzer bulgular elde edilmiştir. Yine, perisinuzoidal hücrelerin sayılarının arttığı, Sudan III ve altın klorüre karşı kuvvetli reaksiyon, Vitamin A'ya karşıda kuvvetli fluoresens verdikleri saptandı.

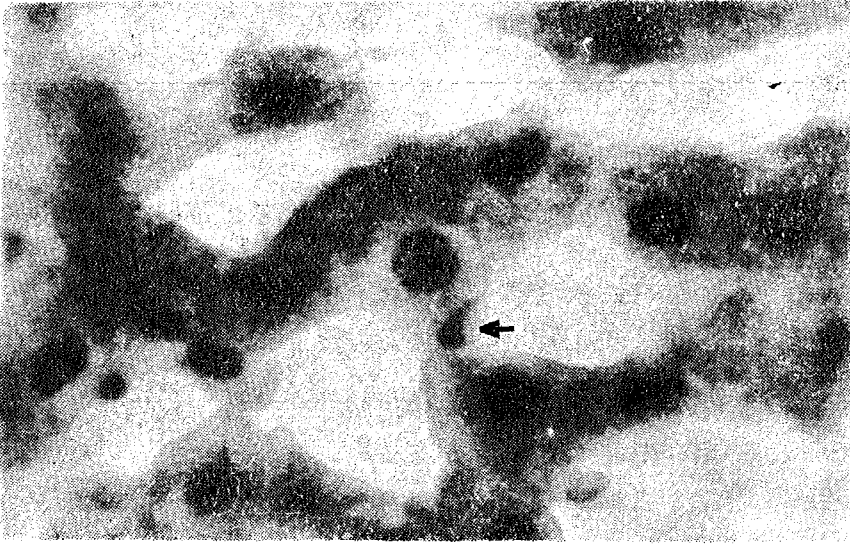
Normal ve Vitamin A verilen hayvanlarda, endotel, Kupffer ve karaciğer epitel hücrelerinde Vitamin A'ya karşı negatif fluoresens elde edildiğinden dolayı, Popper (12), Popper ve Greenberg (13) ve Lane'nin (10) bildirdikleri Vitamin A'nın Kupffer hücrelerinde; Hori ve Kitamuro'nun (5) karaciğer epitel hücrelerinde depo edildiği görüşüne katılmaktayız. Buna karşılık Wake (16), Kusumato ve Fujita'nın (9) memelilerde, Aştı'nın (1), Aştı ve ark. (2) nın kanatlılarda bildirdikleri, Vitamin A'nın karaciğerde perisinuzoidal hücrelerde Vitamin A esterleri şeklinde depo edildiği görüşüne sığırlar içinde katılıyoruz.

Bu çalışmadan elde edilen ışık ve fluoresan mikroskopik bulguların ışığında Vitamin A'nın sığırların karaciğerinde bulunan perisinuzoidal hücrelerde Vitamin A esterleri şeklinde depo edildiği, buna karşılık endotel, Kupffer ve karaciğer epitel hücrelerinin ise Vitamin A depoladıkları sonucuna varıldı.

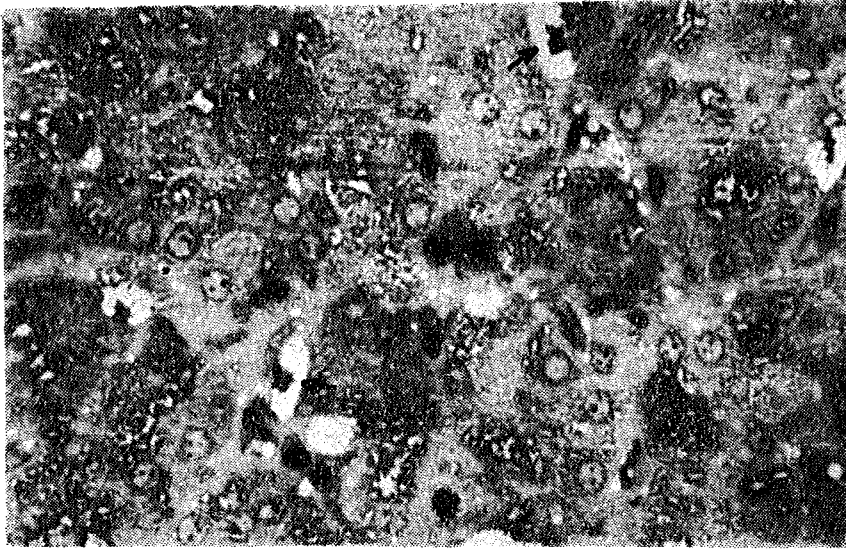
Kaynaklar

- 1 — Aştı, R. N. (1982). Kanatlılarda perisinuzoidal hücrelerin (fat storing cell) varlığı, bunların A vitamini ve lipid metabolizmasıyla ilişkisinin ışık, elektron ve fluoresan mikroskopik incelenmesi üzerinde araştırmalar. Doçentlik tezi, A. Ü. Vet. Fak.
- 2 — Aştı, R. N., Tanyolaç, A. ve Çelik, İ. (1985). Kafeste tutulan tavukların yüksek enerjili ve yüksek dozda Vitamin A'lı rasyonla beslenmelerinde karaciğer yağlanması. S. Ü. Vet. Fak. Derg., 1, 1, 15-24.
- 3 — Baker, J. R. (1946). The histochemical recognition of Lipine. Quart. J. Micr. Sci., 87 : 441 - 463.
- 4 — Bronfenmajer, S., Schaffner, F. and Popper, H. (1966). Fat storing cells (lipocytes) in human Liver. Arch. Path., 82 : 447 - 453.
- 5 — Hori, S. H. and Kitamuro, T. (1972). The Vitamin A content and

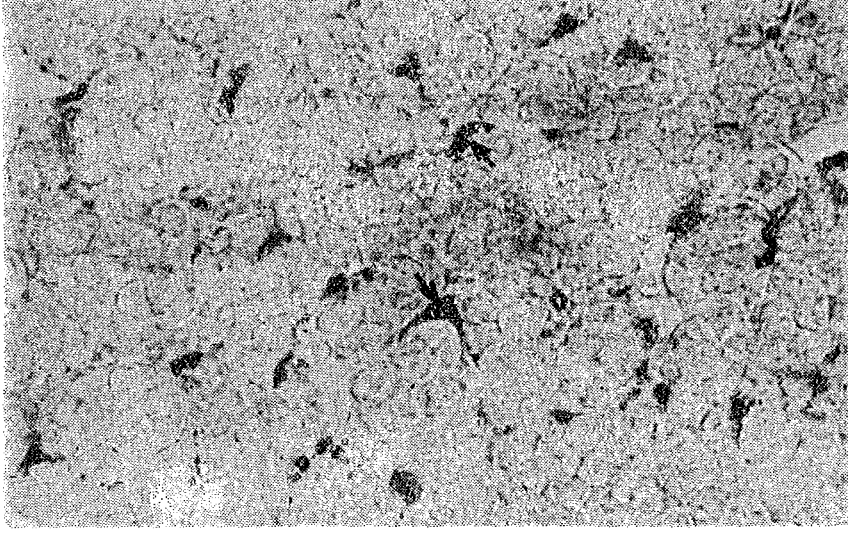
- retinol esterifying activity of a Kupffer cell fraction of rat liver. *J. Histochem. Cytochem.*, 20, 10, pp : 811 - 816.
- 6 — *Hruban, Z., Robert, R. M., James, B. L., Seymour, G. and Saeed, B. A.* (1974). Ultrastructural changes in livers of two patients with Hypervitaminosis A. *Amer. J. Path.*, 73, 3, 451 - 459.
 - 7 — *Ito, T.* (1951). Cytological studies on stellate cells of Kupffer and fat storing cells in the capillary wall of the human liver. *Acta. Anat. Nippon.*, 26 : 2.
 - 8 — *Kobayashi, K. and Takahashi, Y.* (1971). Effect of the administration of large doses of Vitamin A on the fine structure of rat liver with special reference to changes in the fat storing cell. *Arch. Hist. Jap.*, 33, 5, p : 421 - 443.
 - 9 — *Kusumoto, Y. and Fujito, T.* (1977). Vitamin A uptake cells distributed in liver and other organs of the rat. *Arch. Hist. Jap.*, 40, 2, p : 121 - 136.
 - 10 — *Lane, B. P.* (1968). Hepatic microanatomy in hypervitaminosis A in man and rat. *Amer. J. Path.*, 53 : 591 - 598.
 - 11 — *Nakane, P. K.* (1963). Ito's «fat storing cell» of the mouse liver. *The Anat. Record.*, 145 : 265 - 266.
 - 12 — *Popper, H.* (1944). Distribution of Vitamin A in tissue as revealed by fluorescence microscopy. *Physiol. Rev.*, 24 : 205 - 224.
 - 13 — *Popper, H. and Greenberg, R.* (1941). Visualisation of Vitamin A in rat organs by fluorescence microscopy. *Arch. Pathol.*, 32 : 11 - 32.
 - 14 — *Romeis, B.* (1968). «Mikroskopische Technik.» R. Oldenburg Verlag. München-Wien.
 - 15 — *Tatsumi, H. and Fujita, H.* (1983). Fine structural aspect of the development of Ito cells (Vitamin A uptake cells) in chick embryo livers. *Arch. Histol. Jap.*, 46 : 691 - 700.
 - 16 — *Wake, K.* (1971). «Sternzellen» in the liver: Perisinuzoidal cells with special reference to storage of Vitamin A. *Am. J. Anat.*, 132: 429 - 462.



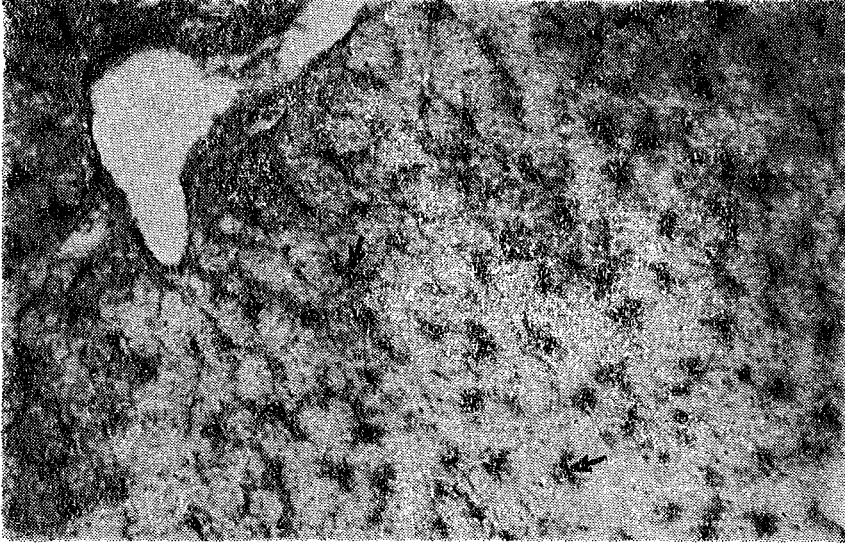
Resim — 1 : Kontrol grubunda az sayıda görülen Perisinuzoidal hücre, (ok), X 750. Perisinuzoidal cell in the control animals (Arrow), X 750.



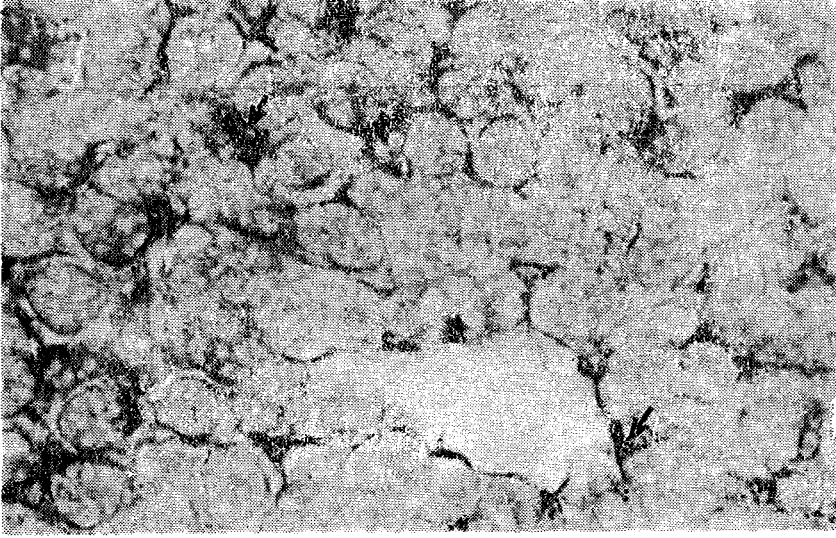
Resim — 2 : Vitamin A verilen ikinci grup hayvanlardaki durum : Perisinuzoidal hücrelerin ve taşıdıkları lipidlerin sayısının arttığı görülmekte (Oklar). Toluidin blue., X 200. Perisinuzoidal cells in a second group treated with Vitamin A. Numerous lipid droplets were seen in the perisinuzoidal cell (Arrows). Toluidin blue., X 200.



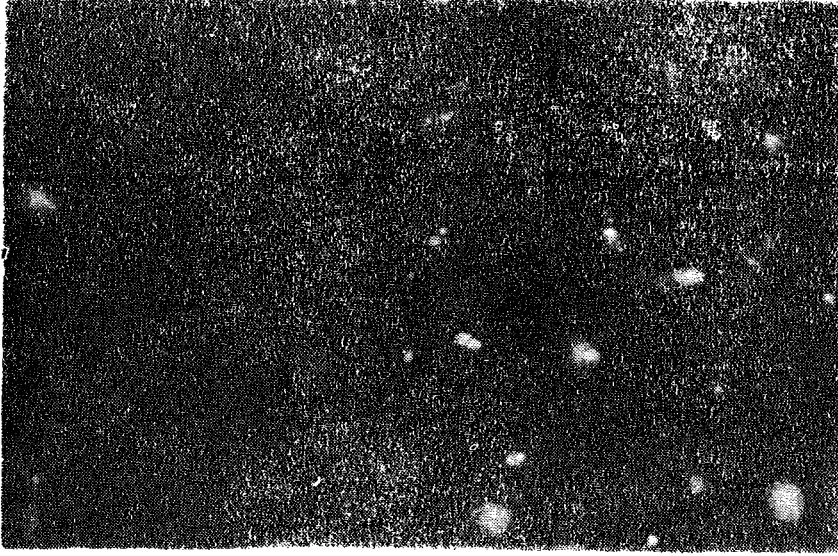
Resim — 3 : Vitamin A verilen ikinci gruptaki hayvanların Perisinuzoidal hücrelerinde Sudan III'e karşı kuvvetli reaksiyon görülmekte (Oklar). Sudan III., X 200. Perisinuzoidal cells in a second group treated with Vitamin A. Strong reaction were seen in the perisinuzoidal cells against the Sudan III (Arrows). Sudan III., X 200.



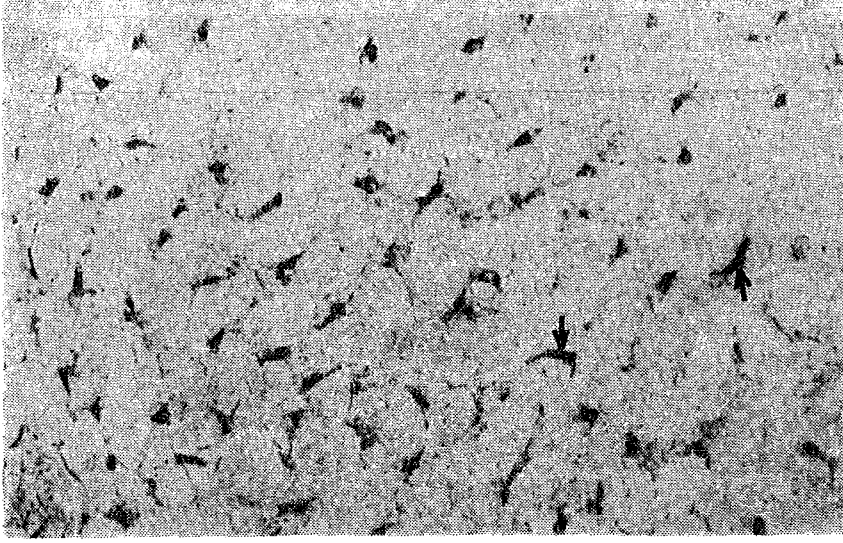
Resim — 4 : Vitamin A verilen ikinci gruptaki hayvanların Perisinuzoidal hücrelerinde altın klorüre karşı pozitif reaksiyon görülmekte (Oklar). Altınklorür., X 240. Perisinuzoidal cells in a second group treated with Vitamin A. Strong reaction were seen in the perisinuzoidal cells against the gold chloride. Gold chloride., X 240.



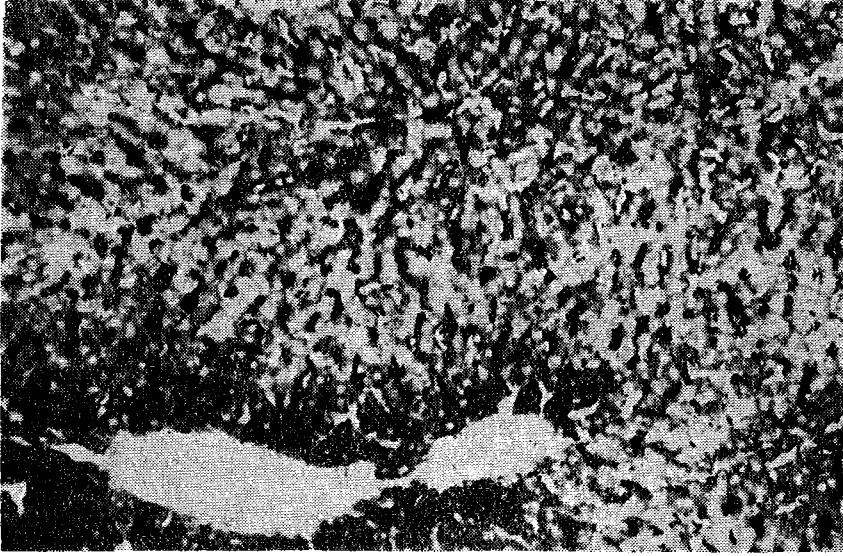
Resim — 5 : Vitamin A verilen hayvanların perisinuzoidal hücrelerinde Sudan III ve altın klorüre karşı pozitif reaksiyon görülmekte (Ok-lar). Sudan III + altın klorür., X 240. Perisinuzoidal cells treated with Vitamin A. Pozitif reaction were seen against the Sudan III and Gold chloride in the same cell. Sudan III + Gold chloride., X 240.



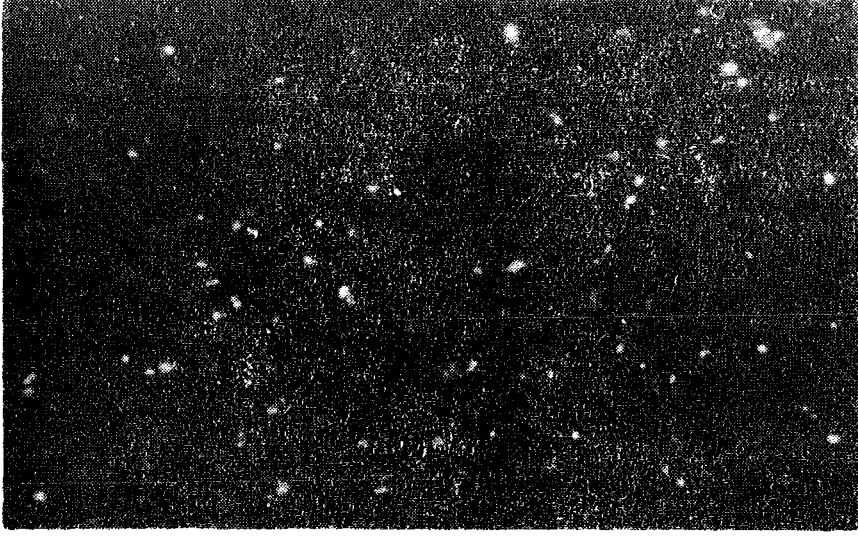
Resim — 6 : Vitamin A verilen ikinci grup hayvanların perisinuzoidal hücrelerinde Vitamin A'ya karşı kuvvetli fluoresens görülmekte., X 250. Perisinuzoidal cells in a second group treated with Vitamin A. Strong fluorescenc were seen against the Vitamin A in the perisinuzoidal cells., X 250.



Resim — 7 : Vitamin A verilen üçüncü gruptaki hayvanların perisinuzoidal hücrelerinde Sudan III'e karşı kuvvetli reaksiyon görülmekte (Oklar). Sudan III., X 200. Perisinuzoidal cells in a third group treated with Vitamin A. Strong reaction were seen in the perisinuzoidal cells against the Sudan III (Arrows). Sudan III., X 200.



Resim — 8 : Vitamin A verilen üçüncü gruptaki hayvanların perisinuzoidal hücrelerinde Altın klorüre karşı kuvvetli reaksiyon görülmekte. Altın klorüre., X 220. Perisinuzoidal cells in a third group treated with Vitamin A. Strong reaction were seen in the perisinuzoidal cells against the Gold chloride. Gold chloride., X 220.



Resim — 9 : Vitamin A verilen üçüncü gruptaki hayvanların perisinuzoidal hücrelerinde Vitamin A'ya karşı kuvvetli fluoresens görülmekte., X 130. Perisinuzoidal cells in a third group treated with Vitamin A. Strong fluorescence were seen against the Vitamin A in the perisinuzoidal cells., X 130.

