

UYARILMIŞ KOBAY SURRENAL KORTEKSİNDE MİTOKONDRIYON VE LİPOZOMLARDA GÖZLENEN KANTİTATİF DEĞİŞİKLİKLER

Yüksel SARAN*

GİRİŞ

ACTH un çeşitli sürelerle (1 gün 1 3 ay süreyle) sıçanlara verilmesiyle yapılan çalışmalarda lipid sayı ve volümünde azaldığı, mitokondriyon sayı ve volümünün ise çoğaldığı gözlenmiştir (2, 5, 6).

Tripsin ile ayrıştırılmış surrenal korteksi fasikulata hücrelerinin yapıları morfolojik olarak (3, 12) ve steroid oluşumu yönünden fizyolojik olarak incelenmiştir (8).

Bu çalışma surrenal korteks hücrelerinde steroid sentezinde önemli rol oynayan üç organeldeki granülsüz endoplazma retikulumu, mitokondriyon ve lizozom değişiklikleri araştırmak amacıyla ele alındı ve hücrenin uyarılmasından sonra, mitokondriyon ve lipozomlardaki ince yapısal değişikliklerin değerlendirilmesi yapıldı.

MATERYAL VE METOD

Materyal olarak otuz adet ergin erkek kobaylar kullanıldı. Bunlar kontrol ve deneysel gruplara ayrıldılar. Deneysel gruptaki hayvanlara intramuskuler 10 U ACTH (Schering) enjeksiyonu yapıldıktan 1 saat sonra öldürüldüler. Elektron mikroskobu için surrenaller veronal-asetat tamponla pH 7,4'e ayarlanmış % 2'lik osmiyum tetroksit ile oda ısısında 1 saat tesbit edildi ve vestopale yatırıldı. Her doku blokundan ışık mikroskobik bir mikronluk yarı ince ve elektron mikroskobu için 200-400A° luk ultra ince kesitler alındı. Işık mikroskobu için yarı ince kesitler toluidin mavisiyle boyandı, ultra ince kesitler, kontrast

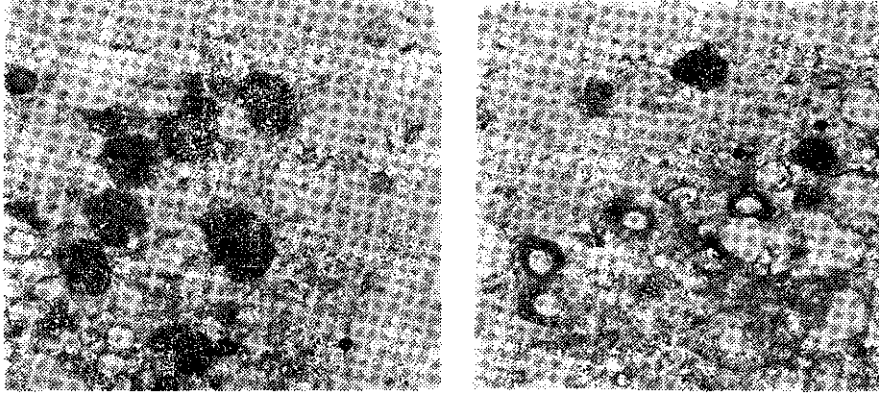
(*) A.Ü. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Doç. Dr.

sağlanması için uranil asetat ile işlem yapıldı. Kesitler Zeiss EM 8 elektron mikroskobu ile incelendi.

İstatistik olarak değerlendirmede, kesitler rastgele seçildi. Her bloktan birer kesit alındı ve bunlardan beşer negatif film çekildi. Bütün pozitif elektronmikrograflar onaltıbin büyültme ile hazırlandı (12). Farklı noktalardan ölçümler ile Weibel yönteminde olduğu gibi (12) hücre volumu, mitokondriyon. Lipozomlarının volumu (volum yoğunluğu) ve mitokondriyon lipozomların sayısal değerlendirilmesi (sayısal yoğunluk) hesaplandı (11) ölçülen her birim için sayımlar kontrol ve uyarılmış yüzüymü - yüzelli hücrede yapıldı. Sonuçların istatistik değerlendirilmesi hazırlandı.

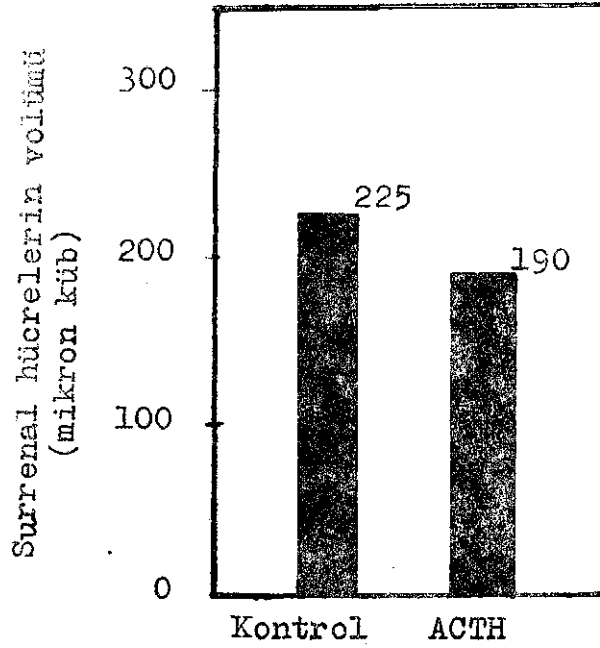
BULGULAR

ACTH verilmesinden sonra alınan kesitlerde lipozom ya da mitokondriyon yapısında gözlenen değişimler her hücrede aynı değildi (Şekil 1 ve 2). Bu nedenle morfometrik ölçümle değerlendirme yapıl-



ŞEKİL 1-2. ACTH verilmesinden sonra kobay surrenal korteksi zona fasciculata hücreleri. Her hücrenin lipozom ve mitokondriyonlarında gözlenen değişiklikler aynı değildir. X 23.500 - 22.000

dı. Kontrol surrenal korteksi hücrelerinin volumu 225 mikron küb, ACTH verilen hücrelerin volümü ise 190 mikron küb olarak saptandı. Arada bulunan yüzde 15'lik farkın önemli olmadığı gözlemlendi (Şekil 3). Böylece 1 saatlik ACTH etkisinin hücre volümünde değişiklik oluşturmadığı saptandı.

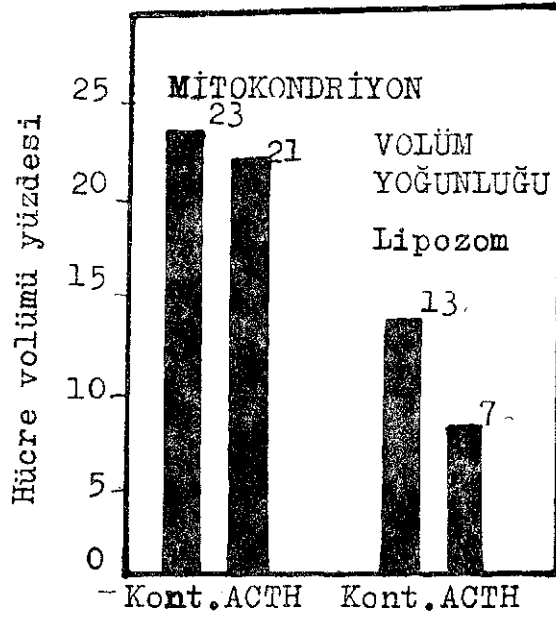


ŞEKİL 3. ACTH'ın kobay surrenal korteksl hücrelerinin volümüne etkisi.

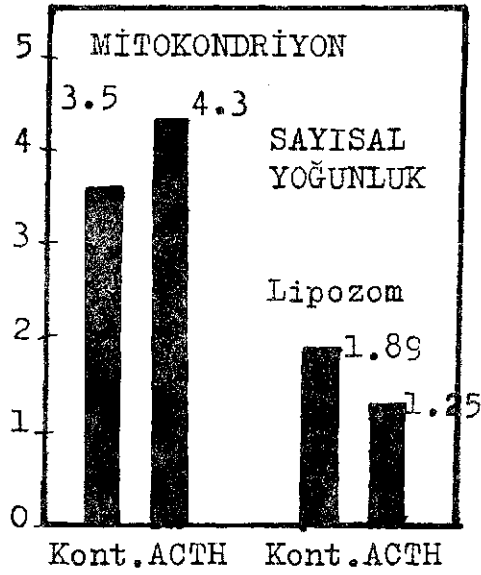
Her hücrenin mitokondriyonlarının volüm yüzdesinde değişiklik saptanmadı. Bununla beraber, lipid volüm yüzdesinde azalma bulundu (Şekil 4). Mitokondriyonlar kontrol hücrelerde total hücre volümünün % 23'ünü, ACTH muamele edilen hücrelerde ise % 21'ini oluşturdu. Bu % 7'lik azalmanın önemli olmadığı saptandı. Kontrol hücrede lipozomların volüm yüzdesi % 13 ACTH muamele edilen hücrede ise % 7 bulundu. İki arasında % 41'lik azalma olduğu saptandı.

Uyarılmış ve kontrol hücreler kıyaslandığında mitokondriyon sayısında çoğalma, lipozom sayısında ise azalma olduğu saptandı (Şekil 5). Kontrol hücrelerde mitokondriyon sayısal yoğunluğu her santimetre küp için 3,5 trilyon, ACTH muamele edilen hücrelerde ise her santimetreküp için 4,3 trilyon bulundu. Sayısal yoğunlukta % 20'lik önemli bir artma saptandı. Kontrolde lipozomlardaki sayısal yoğunluk her santimetreküp için 1,89 trilyon, ACTH verilen hücrelerde ise her santimetreküp için 1,25 trilyon olarak bulundu. Arada % 34'lük önemli bir azalma olduğu saptandı.

MİTOKONDRIYON VE LİPOZAMLARDAKİ DEĞİŞİKLİKLER



ŞEKİL 4. Surrenal korteksi hücrelerinin ACTH ile uyarılmasının hücrenin mitokondriyon ve lipozomlarının volüm yoğunluğuna etkisi.



ŞEKİL 5. Surrenal korteksin ACTH ile uyarılmasının mitokondriyon ve lipozomların sayısal yoğunluğuna etkisi.

TARTIŞMA

ACTH ile 1 saat muamele edilen kobay surrenal korteksi hücrelerinde önemli değişikliğin olmayışı, organel volümü ve sayısal yoğunluktaki değişikliklerin, organellerin kendisindeki değişiklikten kaynaklandığını gösterir.

2 saatlik ACTH etkisi lipozom volümünde % 41'lik azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Surrenal korteksi hücreleri yaklaşık % 75 - 80 oranında kolesterol içerdiğinden (14) lipozom volüm yoğunluğunda bu azalma steroid hormon öncüsü olan kolesterolün çabuk olarak salgılandığını işaret eder. Bundan başka ACTH, lipozom sayısında % 34'lük çoğalmaya yol açmaktadır. Lipozomun sayısında değişme olmadan yalnız volümü azalsaydı, bütün lipozomların aynı zamanda salınmış olduğu kanısına varılabildi. Ancak lipozom sayısal yoğunluğunun azaldığı saptandı ve bu azalma yaklaşık olarak lipozom volüm yoğunluğu ile aynıydı. Bu durum lipozomların salınmasının, hemen tamamen bunların volümlerinin küçülmesinden çok, kaybolmalarıyla olduğunu belirler. Bu durum bazı lipozomların salınmasının başlamasından önce, diğer lipozomların kullanılmış olabileceğini gösterir. Bu salınma diğer aynı süreli (bir gün - üç ay gibi) deneylerle (2, 5, 6) kıyaslanırsa daha kısa zaman sürecinde olmaktadır.

Kısa süreli ACTH etkisiyle oluşan lipozom salınması üzerinde yapılan çalışmalar (6,9) istatistiksel değerlere dayanmamakla beraber bulgularımıza uymaktadır.

Bir saatlik ACTH verilmesinden sonra mitokondriyal volüm yoğunluğunda önemli değişme olmadı. Bu durum hücrelerin akut ACTH uyarılmasına cevap verebilen yeterli mitokondriyona sahip olduğunu açıklar. Sıçan surrenal korteksi hücrelerinde kısa süreli ACTH uyarılması ile yapılan çalışmalarda, steroid oluşumunun yaklaşık elli misli çoğaldığı saptanmıştır (3). Bu çalışmada mitokondriyon volümünde değişme olmamasına karşın, mitokondriyon sayısında çoğalma gözlemlendi.

ACTH uyarılması ile yapılan önceki çalışmalarda hücrelerin strese uyumu durumunda hem mitokondriyon sayısında hem de volümünde artma olduğu ileri sürülmüştür (5, 7). ACTH etkisiyle mitokondriyonların bölünerek çoğaldığını açıklayan bulgular (9, 1) bu çalışmadaki mitokondriyon sayısal yoğunluğunda elde edilen sonuçlara uymaktadır. Ancak akut ACTH verilmesinden sonra sıçan surrenal korteksin-

de, % 40 oranında mitokondriyon volüm artması olduğunu açıklayan çalışmalara uymamaktadır (13). Sözü edilen çalışmalarda mitokondriyonların yuvarlak biçimli olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ve diğer bazı çalışmalarda (3,6) ise birçok uzun mitokondriyon kesitleri gözlenmiştir.

Steroid oluşumunda genelde mitokondriyon lipozom ve granülsüz endoplazma retikulumun rolleri olduğu konusunda görüş birliği olmasına karşın, ACTH uyarılmasına surrenal korteksi hücrelerin verdiği ilk cevapta, bu organellerin katkı biçimi hususunda yeterli açıklama yoktur. Bu çalışma bu konuda bazı bilgileri ortaya koyabilmektedir. ACTH ile uyarılan hücrede mitokondriyon ve lipozom ölçümlerinde olduğu gibi, granülsüz endoplazma retikulumunun katkısı da gerekli araştırmalara açıktır.

Sonuç olarak ACTH ile uyarılan hücrenin total hücre volümünde değişiklik olmadı, lipozom volüm yoğunluğu ve sayısal yoğunluk azaldı. Mitokondriyon volüm yoğunluğu değişmedi fakat sayısal yoğunluk çoğaldı.

Ö Z E T

Yüksek seviyede steroid yapımını etkileyen dozda ACTH verilmesinden sonra, steroid yapımında rolü olan lipozom ve mitokondriyonlardaki değişiklikler incelendi. Kontrol ve ACTH verilen deney grubunda hücrelerin elektron mikroskobu ile alınan resimleri elde edildi ve ACTH etkisiyle oluşan hücre volümü lipozom ve mitokondriyonların sayısal ve volüm yoğunluğundaki değişiklikleri saptamak için morfolometrik inceleme yapıldı. Total hücre volümünde değişiklik bulunmadı. Lipozom volüm yoğunluğu ve sayısal yoğunluk azaldı. Mitokondriyon volüm yoğunluğu değişmedi fakat sayısal yoğunluk çoğaldı.

Lipozom volüm yoğunluğunda azalma, steroid yapımı için kolesterolün salgılandığının belirtisidir. Lipozom sayısal yoğunluğunda azalma oluşu kolesterol salgılanmasının, lipozomların hacminin küçülmesinden çok lipozomların kayboluşuna bağlı olduğu açıklanabilir. Hücrelerin uyarılması ile mitokondriyonlarda gözlenen değişiklik mitokondriyon volümünde artma olmadan, sayısal artma ile kendini göstermektedir.

SUMMARY

QUANTITATIVE CHANGES IN MITOCHONDRIA AND LIPID DROPLETS
IN STIMULATED GUINEA PIG ADRENAL CORTEX

To study the role of certain organelles in steroidogenesis, guinea pig adrenocortical cells stimulated with ACTH at the time that induces a high level of steroid production. Sections of ACTH treated and untreated cells were photographed in the electron microscope and morphometric analysis was undertaken to assess possible ACTH-induced changes in total cell volume, volume density and numerical density of lipid droplets and mitochondria. There was no change in total cell volume. Lipid droplet volume density and numerical density decreased. Mitochondrial volume density did not change but numerical density increased.

The decrease in lipid droplet volume density indicates a rapid depletion of cholesterol for steroid production. This depletion is almost entirely due to the disappearance of lipid droplets, rather than to an overall diminution in their size as shown the decrease in lipid droplet numerical density. The mitochondrial data suggest that the adrenocortical cell has an adequate mitochondria to respond to acute ACTH stimulation with increased steroid output without an increase in mitochondrial volume.

KAYNAKLAR

- 1 — Canick, J.A. and Purvis, J.L. : The maintenance of mitochondrial size in the rat adrenal cortex zona fasciculata by ACTH. *Exp. and Mol. Path.*, 16 : 79-93, 1972.
- 2 — Idelman, S. : Ultrastructure of the mammalian adrenal cortex. *Int. Rev. Cytol.*, 27 : 181-189, 1980.
- 3 — Malamed, S., Sayers, G. and Swallow, L.R. : Fine structure of trypsin dissociated rat adrenal cells., *Z. Zellforsch.*, 107 : 447-453, 1970.
- 4 — Moses, M.L. and Davis, A.S. : Adrenal cholesterol : localization by electron microscope autoradiography., *Science.*, 163 : 1203-1205, 1979.

MİTOKONDRIYON VE LIPOZAMLARDAKİ DEĞİŞİKLİKLER

- 5 — Nussdorfer, G. and Mazzochi, G. : Long-term trophic effect of ACTH on rat adrenocortical cells., *Z. Zellforsch.*, 115 : 30-45, 1980.
- 6 — Pajor, L. : Functional morphology of the adrenal cortex in newborns. 1 : Morphometric study., *Acta Morphol.*, 34, 1-2 : 31-37, 1986.
- 7 — Robba, C. : Effect of a prolonged treatment with aminogluthemide on the zona fasciculata of rat adrenal cortex : a morphometric investigation. *Cell. Tiss. Res.*, 248, 3 : 519-525, 1986.
- 8 — Sayers, G., Swallow, R.L. and Giordano, N.D. : An improved technique for the preparation of isolated rat adrenal cells. *Endocrinology.*, 88 : 1063-1068, 1981.
- 9 — Soeder, H. and Themann, H. : Fine structure of rat zona fasciculata after ACTH injection. *Beitr. Path. Anat.*, 138-189, 1978.
- 10 — Taki T.M. : Validation of cell volume determination for stereological studies of adrenocortical cells. *Am. J. Anat.*, 171, 4 : 415-426, 1984.
- 11 — Weibel, E.R. : Practical stereological methods for morphometric cytology. *J. Cell. Biol.*, 30 : 23-53, 1976.
- 12 — Weibel, E.R. : Stereological principals for morphometry in electron microscope cytology. *Int. Rev. Cytol.*, 26 : 235-302, 1979.
- 13 — Yago, N., Sekiyama, S. and Murokawa, H. : Volume increase in rat a adrenocortical mitochondria by single ACTH administration. *Endocrinol.* 18 : 309-354, 1971.