

DEKZAMETAZONUN KOBAY SURRENAL KORTEKSİ FASİKULATA HÜCRELERİNE ETKİSİNİN İNCE YAPI DÜZEYİNDE İNCELENMESİ

Yüksel SARAN* Müfide GÖRGÜN**

GİRİŞ

Bazı kimyasal maddelerin sürrenal korteksi üzerine etkileri incelenerek korteksin işlev-yapı ilişkileri konusunda veriler ortaya konmuştur (1, 2, 4, 10, 11, 17). Farklı doz ve sürelerde uygulanan ACTH ile kortikosteroidogenezin uyarıldığı (1, 2, 4, 5, 16, 18, 19, 21) ve sentetik bir kortikosteroid olan dekzametazon ile baskılandığına (5, 8) ilişkin çeşitli araştırmalar ele alınmıştır. Bunların etkileri türe uygulanan doz ve süreye bağlı olarak farklı yapı değişmelerine neden olmuştur. Bu çalışma kısa süreli dekzametazonun sürrenal korteksi zona fasikülata hücreleri üzerinde oluşturduğu değişiklikleri ince yapı düzeyinde incelemek amacıyla ele alınmıştır.

MATERYAL VE METOD

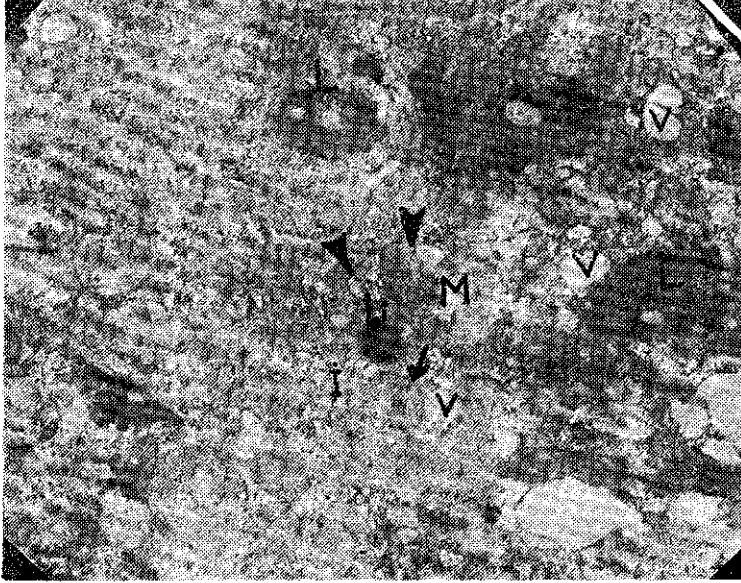
Kontrol ve deneysel çalışmalar için yirmişer ergin erkek kobaylar kullanıldı. Deneysel gruptakilere intramuskuler 0,5 mg dekadron (dekzametazon sodyum fosfat, merk) injekte edildi. 24 saat sonra hayvanlar öldürülerek sürrenalleri alındı. Işık mikroskopik kesitler hematoxilin eosin ve lipid içeriğinin saptanması için Sudan siyahı ile boyandı. Elektron mikroskobu için veronal asetat tamponla pH-7,4'e ayarlanmış % 2'lik osmiyum tetroksid ile bir saat tesbit edildi ve vestopale yatırıldı. Her doku blokundan ışık mikroskobu için bir mikronluk yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı. Ultra ince kesitler, kontrast vermesi için uranil asetat ile boyandı. Kesitler Zeiss EM 8 elektron mikroskobu ile incelendi.

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

(**) Gazi Üniv. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Araş. Gör. Dr.

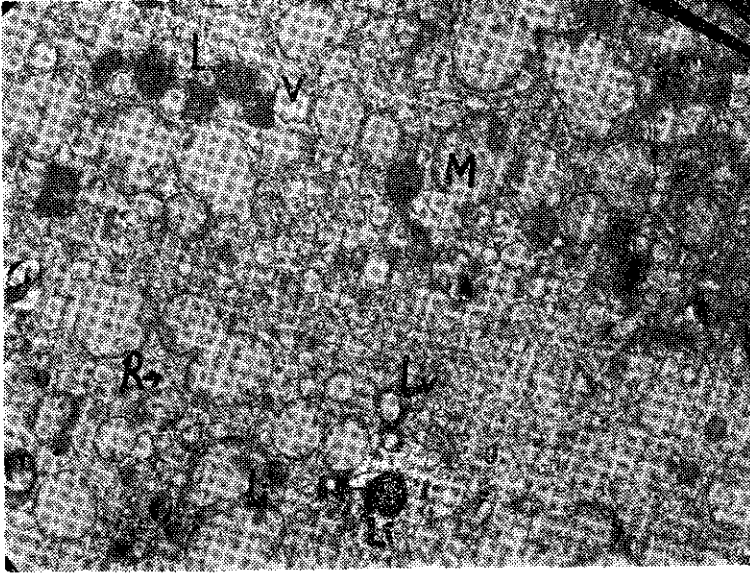
BULGULAR

Kontrol kobay surrenal korteksi zona fasikülata hücreleri iri, yuvarlağımsı, bazan poligonol biçimdeydi. Mitokondriyonlar yuvarlak, oval, değişik büyüklükte ve hücrenin orta kısımlarına yakın daha sık yerleşmişlerdi. Genellikle hücrede mitokondriyon ve lipozomların birbirine ters orantılı olarak yer aldığı gözlemlendi. Lipozomların daha az bulunduğu durumlarda mitokondriyonların daha çok sayıda olduğu gözlemlendi (Şekil 1, 2). Mitokondriyon kristalleri genellikle laminar tipteydi, tubuler yada vesiküler tipte olanlar seyrekti. Kristalar mitokondriyonun her tarafına aynı derecede dağılmamıştı, daha çok değişen aralıklarla gruplaşma gösterdiler (Şekil 1, 2). Mitokondriyonlar orta derecede elektroyoğun bir matriks ve bazıları birkaç küçük granül içerdiler (Şekil 1).



ŞEKİL 1. Kontrol kobay zona fasikülata hücresi. Laminar tipte kristalar gruplaşmaları göstermektedir. M: mitokondriyon, V: vakuol, R: ribzom, I: inter-selüler aralık, L: lipid, Li: lizozom, Granül içeren mitokondriyon(ok), mitokondriyon-endoplazma retikulumu ilişkisi (okbaşı).

Lipozom sayıları her hücrede değişiklik gösterdi. Az lipozom olan hücrede daha düzgün sınırlı homojen elektroyoğun yapıda ve küçük (Şekil 2), çok lipozom bulunduğu durumlarda ise büyük ve düzensiz



ŞEKİL 2. Kontrol kobay zona fasciculata hücresi. M : mitokondriyon, L : küçük homojen lipidler, Lv : ortası açık periferi elektroyoğun yapıdaki lipid, Li : lizozom, V : vakuol, R : ribozom.

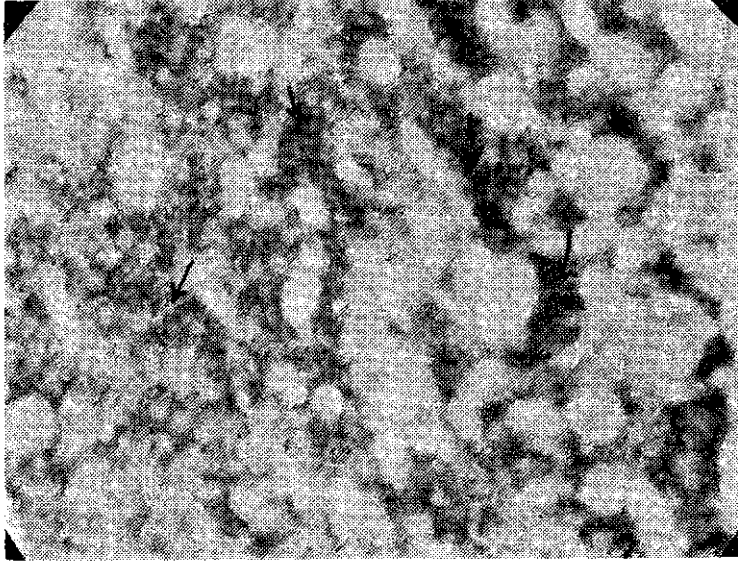
sınırlı ve vakuoller olarak (Şekil 1) gözlemlendi. Lipozomun çok elektroyoğun olması nedeniyle çevresinde sınırlayıcı membran yapısı seçilemedi. Sitoplazma çok sayıda granülsüz endoplazma retikulum kesitleri içerdi (Şekil 1, 2). Endoplazma retikulumu kesitlerinin mitokondriyon ve çeşitli büyüklükteki lipozomlar çevresinde, bunlara yakın ilişkili olarak düzenlendiği gözlemlendi (Şekil 1, 2). Ekstrasellüler aralıkta az sayıda düzensiz mikrovillus kesitleri mevcuttu (Şekil 1). Granüllü endoplazma retikulumu ve Golgi aparatına ilişkin kesitlere seyrek rastlandı. Sitoplazmada bol serbest ribozomlar ve değişik büyüklükte sitoplazmik vakuoller gözlemlendi (Şekil 1, 2).

Lizozomlar, bazen ince granüllü, yada daha iri granüler materyel içeren heterojen yoğun cisimcikler şeklindeydi (Şekil 2).

Hücreler çevresinde sık gözlenen kapillerler, sitoplazmik delikler içeren pencereci sitoplazmaya sahip, ince endotel hücreleriyle örtülmüştü. Endotel hücrelerinde fagositoz materyeli gözlemlenmedi. Endotel çevresinde seyrek olarak makrofaj özelliğinde hücrelere rastlandı, az miktarda ince kollagen ve retikulum lifleri gözlemlendi.

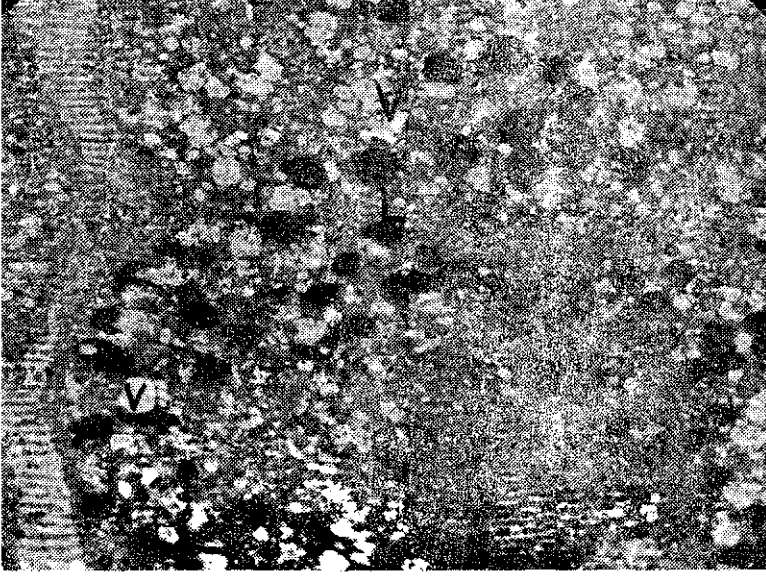
DEKZAMETAZON ETKİSİ

Dekzametazon verilmesinden sonra, zona fasikulata hücreleri kontrollerle kıyaslandığında, sitoplazmalarında gözlenen en belirgin fark hücrelerin çoğunda lipozom miktarının artmış olmasıydı (Şekil 3 ve 4). Lipozomların büyüklüğü ve biçimleri farklı görünümdeydi. Lipozomlar homojen elektroyoğun, küçük yada daha geniş vakuollu, düzenli yada düzensiz sınırlı değişik biçimlerde gözlemlendiler (Şekil 4, 5, 6). Kuvvetli osmiyofilik özellikte olan lipozomların, elektroyoğun görünüşleri nedeniyle membran yapısı ayırdolunamadı.

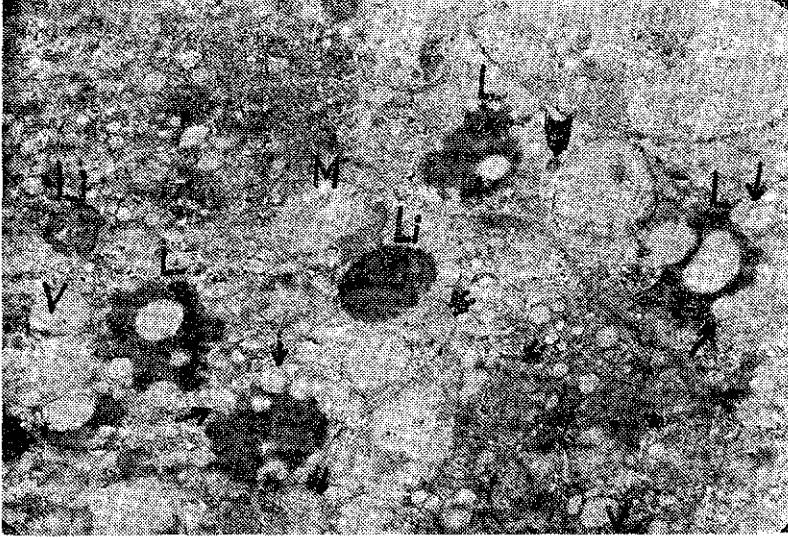


ŞEKİL 3. Dekzametazon verilmesinden sonra zona fasikulata hücreleri. Lipozomlardan zengin koyu hücreler okla işaretli. Sudan siyahı. X7.200

Lipozom çevresinde daha sık endoplazma retikulumu kesitleri gözlemlendi (Şekil 4 ve 5). Çok küçük elektroyoğun granüller lipozomların granülsüz endoplazma retikulumundan oluştuğunu simgeliyordu (Şekil 4, 5). Hücre yüzeyinde lipozomların salınmasına ilişkin görümlere oldukça sık rastlandı (Şekil 6). Mitokondriyonlar yuvarlak oval biçimde, kristalar esas olarak laminar tipteydi (Şekil 5). Bazı hücrelerde krista yapıları çok azalmış yada kaybolmuştu ve mitokondriyon membranı yer yer silinmişti (Şekil 6). Daha yoğun matriks içeren mitokondriyonlar mevcuttu (Şek. 5). Dış mitokondriyon membranının tomurcuklanma oluşturduğu kesitlere rastlandı (Şekil 7). Granülsüz endoplazma retikulumu kesitleri, farklı büyüklükteydi ve mitokondriyon



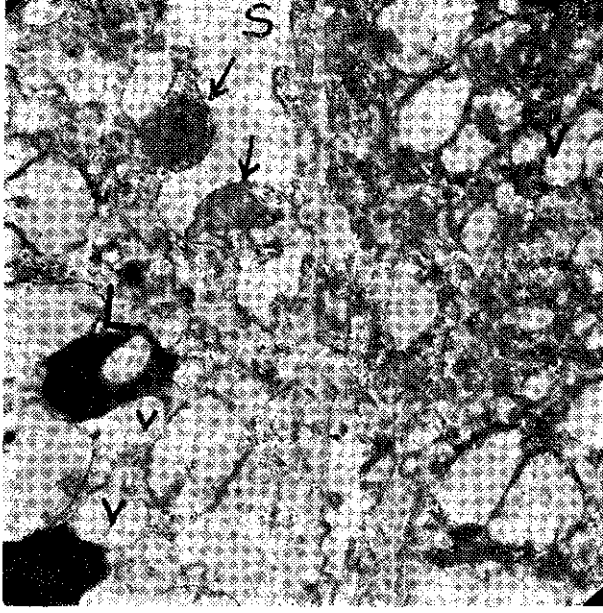
ŞEKİL 4. Dekzametazon verilmesinden sonra zona fasikulata hücresi. Sitoplazmada çok sayıda lipozomlar. L : lizozom, V : vakuol, N : nukleus. Küçük elektroyoğun granüller okla işaretli.



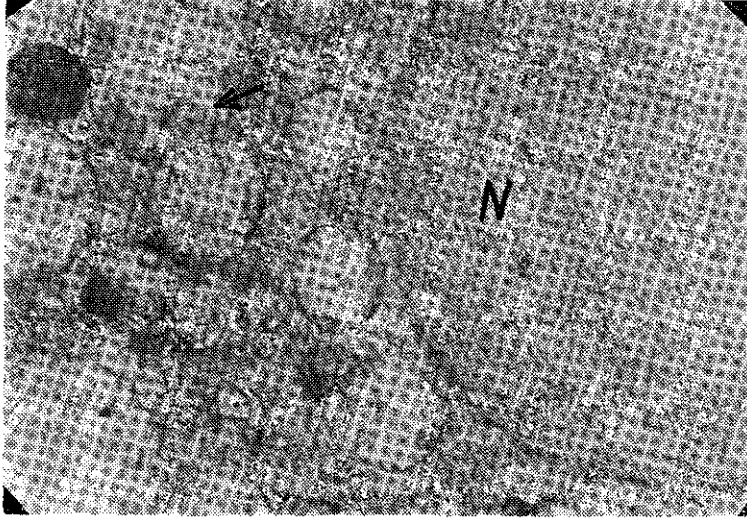
ŞEKİL 5. Dekzametazon verilmesinden sonra zona fasikulata hücre sitoplazması. L : lipid, Li : lizozom, M : mitokondriyon, V : vakuol, Lipid-endoplazma retikulumu ilişkisi (ok) Küçük elektroyoğun granüller (ok başı) Yoğun matrisli mitokondriyonlar (gift ok).

DEKZAMETAZON ETKİSİ

ve lipozomlar çevresinde yoğunlaştılar (Şekil 5 ve 6). Mitokondriyon dışında hücre dejenerasyonuna ilişkin yapı değişmelerine rastlanmadı.



ŞEKİL 6. Dekzametazon deneyinden sonra zona fasikulata hücresi. Salınma evresindeki hücre yüzeyindeki lizozomlar okla işaretli. L : lipid, V : vakuol, S : subendotelyal aralık.



ŞEKİL 7. Dekzametazon deneyinden sonra zona fasikulata hücresi. Sitoplazmasında tomurcuklanma gösteren mitokondriyonlar (okla işaretli). N : nukleus.

TARTIŞMA

Bu çalışma ile normal ve dekzametazon etkisi ile steroid yapımı engellenmiş koşullardaki kobay surrenal korteksinin zona fasikulata hücrelerinin ince yapısı araştırıldı. Önceki çalışmalarda fare, köpek gibi çeşitli türlerin normal surrenal korteksinde koyu ve açık hücre tipleri tanımlanmıştır (6, 13, 21, 22). Bu görünümü dolaşımın ilk dakikalarda kesilmesi sırasında plazma membranı permeabilitesinin ani değişmesi ve oksijen yokluğuna bağlı olarak hücrelerin şişmesi ve büzülmesi sonucunda olabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmada hücreler benzer yoğunlukta idi. Lipozomların biçim ve yoğunlukları çeşitli araştırmalarda fizyasyon özelliğine bağlı olarak, değişik şekilde tanımlanmıştır (21).

Lipozomlar genellikle steroid hormonların ön maddelerini içerirler (3, 7, 9, 15). Hücrelerden lipozomların salınmasını uyaran (2, 4, 16, 21) yada salınmayı baskılayan (5, 8, 22) deneylerle kortikosteroid hormonların sentezinin ve salgılanmasının lipozomlarla ilişkili olduğu saptanmıştır. Kontrol ile kıyaslı olarak ACTH yada dekzametazon verilerek yapılan çeşitli araştırmalarda lipozomların salınma mekanizması incelenmiştir (5, 22). Kontrol kesitlerde, cerrahi işlem gibi, travmatik olaylar nedeniyle normal yada stressiz surrenal korteksi elde etmek olanaksızdır (20). Bu nedenle kontrol surrenaller, zona fasikulata da lipozomların sayısında bir miktar değişme gösterebilir. Bu durumun deney hayvanının öldürülmesi sırasındaki stress derecesindeki farkı ve böylece ACTH ve glukokortikoidlerin salınmasındaki farkı yansıttığı kabul edilir. Bu nedenle kontrollerdeki yapı ara fizyolojik durum olarak kabul edilebilir (1, 16, 19). Dekzametazon etkisi ile glukokortikoid salınması maksimum derecede önlenmiş olmaktadır. Bununla beraber dekzametazon deneyinde bu sentetik hormonun verilmesi lipozomların salınmasının tamamen önlemez, fakat lipozomların hücrelerden salınmasını geciktirir yada bir miktar azaltır. Bu gecikme yada azalma bazı hücre organellerinin karşılıklı etkilerinin incelenmesini ve lipozomların oluşumunun bazı ultrastrüktürel mekanizmalarını izleme olanağı vermektedir (5, 8). Steroid yapımına ilişkin araştırmalarda lipozomların küçük granülsüz endoplazma retikulumu kesitlerinden itibaren oluşmaya başladığı, bunların giderek genişlediği ve büyük lipozomlar halinde belirlendiği gözlenmiştir. Büyüyen lipozomların granülsüz endoplazma retikulumu ile sarıldığı belirtilmiştir (1, 2, 11). Bu çalışmada benzer şekilde bazı küçük granülsüz endoplazma retikulu-

mu kesitlerinin elektroyoğun madde içerdikleri ve büyüyen lipozomların granülsüz endoplazma retikulumu ile sıkı ilişki içinde oldukları gözlemlendi ve lipozomların hücreden salınmasına ilişkin evreler izlenebildi. Surrenal korteks hücrelerinde lipozomların çevresinde sınırlayıcı membranın varlığı bazı araştırmalarda tanımlanmıştır (1, 3, 6), bir kısmında ise gözlenemediği açıklanmıştır (13, 22). Lipozomların farklı elektroyoğunlukta belirlenmeleri, tesbit işlemi, fonksiyonel evre ve lipidlerin eriyebilme derecelerine bağlı olabilir (14, 15).

Bu çalışmada küçük çaplı lipozomların homojen ve düzgün sınırlı oldukları, büyükçe, daha düzensiz ve vakuollü bir yapı kazandıkları gözlemlendi. Komşu hatta aynı hücrede görülebilen bu farklılık, fizyasyon etkisinden çok farklı fonksiyonel evredeki içeriklerinin kimyasal yapısına bağlı olabilir. Dekzametazon etkisiyle glukokortikoidlerin baskılanması ve artan intraselüler kolesterol miktarı sonucunda fasikulata hücrelerinde biriken lipozomlar, kontroldekilere oranla daha büyük ve vakuollü yapıdaydı. Kuvvetli osmiyofilik özellikte olan lipozomların elektroyoğun görünüşleri nedeniyle membran yapısı ayırdolunamadı. Önceki araştırmalarda kolesterol sentezinin deneysel baskılanmasından sonra lipozomlarda kolesterol yada kortikosteron içeren kristal yapıları gözlemlenmiş ve bunların doku kesitlerinin tesbit ve takip işlemleri, sonucunda oluşabileceği, yada patoloji ve dejeneratif hücrelere ait olduğu öne sürülmüştür (12, 14). Bu çalışmada lipozomlar içinde kristal yapıları gözlemlenmedi.

Sonuç olarak, deksametazon verilmesinden 24 saat sonra fasikulata hücrelerinde lipozomların biriktiği gözlemlendi. Steroidogenezin yavaşlaması nedeniyle lipozomların hücre içinde oluşum ve salınma evreleri daha kolay izlenebildi. Lipozomların granülsüz endoplazma retikulumundan oluştuğu, çapları arttıkça endoplazma retikulumu ile daha yakın ilişkili oldukları gözlemlendi. Lipozomlar hücre yüzeyinden salınma evresinde septandılar.

Ö Z E T

Kobay surrenal korteksi kontrol ve deksametazon verilmesinden sonra incelendi. Dekzametazon verilmesinden 24 saat sonra fasikulata hücrelerinde lipozomların biriktiği gözlemlendi. Lipozomların hücre içinde oluşum ve salınma evreleri izlendi. Lipozomların granülsüz en-

doplazma retikulumundan oluştuğu, büyüyen lipozomların endoplazma retikulumu kesitleri ile sıkı ilişkili olduğu görüldü. Subendotel aralıkta lipozom içeriğine ilişkin materyal gözlemlendi.

SUMMARY

FINE STRUCTURAL OBSERVATIONS ON UNTREATED AND DEXAMETHASONE TREATED ADRENOCORTICAL CELLS OF THE ZONA FASCICULATA OF GUINEA PIG

The adrenal glands of guinea pig were observed under normal conditions and after short-term administrations of Dexamethasone (a synthetic glucocorticoid). Under the influence of dexamethasone, lipid droplets accumulated 24 hours after administration. The mechanism of accumulation and depletion of lipid droplets was studied in the zona fasciculata. The lipid droplets appeared to arise from the smooth endoplasmic reticulum. As the droplets enlarged, they became surrounded by an increasing number of profiles of smooth endoplasmic reticulum. The content of the lipid droplet was observed in the subendothelial space.

KAYNAKLAR

- 1 — Armato, U. and Nussdorfer, G.G.: Effects of ACTH on the morphology and metabolism of normal adult human adrenocortical cells in primary tissue culture. *Cell. Tiss. Res.*, 190 : 187-192, 1978.
- 2 — Black, V.M.: Isolated guinea pig adrenocortical cells in vitro: Morphology and steroidogenesis in control and ACTH treated cultures. *Am. J. Anat.*, 165, 3 : 225-234, 1982.
- 3 — Blanchette, E.J.: Ovarian steroid cells. *J. Cell. Biol.*, 31 : 517-522, 1966.
- 4 — Cheng, B.: The Golgi apparatus and adrenal function. The effects of menensin on ACTH-stimulated steroidogenesis. *Arch. Biochem. Biophys.*, 239, 2 : 508-517, 1985.
- 5 — Feldman, E.C.: Evaluation of a six hour combined dexamethasone suppression-ACTH stimulation test in dogs with hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 15, 189 (12) : 1562-1572, 1986.
- 6 — Fujita, H.: An electron microscopic study of the adrenal cortical tissue of the domestic Fowl. *Z. Zellforsch.*, 55 : 80-89, 1961.

DEKZAMETAZON ETKİSİ

- 7 — Funder, J.W. : Adrenal steroids : New answers, new questions. *Science.*, 17 : 237, 4812-4812, 1987.
- 8 — Garvey, D. : Suppression of adrenal cortical growth and differentiation in fetal rats exposed to dexamethasone. *Anat. Rec.*, 205, 4 : 431-442, 1983.
- 9 — Gywynne, J.T. and Strauss, J.F. : The role of lipoproteins and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. *Endoc. Rev.*, 3 : 299-306, 1982.
- 10 — Hill, P.A. : Functional and morphologic studies of the adrenal cortex in ovine toxemia of pregnancy. *J. Pathol.*, 144, 1 : 1-12, 1984.
- 11 — Holmes, W.N. : Some evidence for structural and functional zonation of the steroidogenic tissues. *J. Exp. Zool.*, 232, 3 : 627-639, 1984.
- 12 — Matsu, O.K. : Human normal and neoplastic adrenocortical cells in tissue culture observed by scanning electron microscopy. *Acta. Pathol.*, 37, 1 : 65-73, 1987.
- 13 — Mazzocchi, G. and Beloni, A.S. : Fine structure of the rabbit adrenal cortex and the effects of short-term ACTH administration. *Cell Tiss. Res.*, 201 : 165-172, 1979.
- 14 — Moore, K.N. and Peney, D.P. : Fine structural and biochemical effect of aminoglut. On rat adrenocortical carcinoma and adrenals *Anat. Rec.*, 198 : 113-124, 1980.
- 15 — Moses, H.L. : Adrenal cholesterol localization by electron microscope autoradiography. *Science.*, 163 : 1203-1210, 1969.
- 16 — Nussdorfer, G.G. and Mazzocchi, G. : Long term effects of ACTH on rat adrenocortical cells. *J. Steroid. Biochem.*, 19 : 1753-1761, 1983.
- 17 — Prudence, A. and Coghlan, J. : Structural and functional studies of the adrenal zona glomerulosa in sodium-depleted and sodium-loaded sheep. *Cell Tiss. Res.*, 229 : 515-524, 1983.
- 18 — Selugi, T. : Freeze-fracture replica studies of effects of ACTH treatment and hypophysectomy on the cell surface of rat adrenal inner cortex. *Acta. Anat.*, 128, 2 : 124-130, 1987.
- 19 — Shahin, M.A. : The ultrastructure of adrenocortical cells of normal and ACTH treated chick. *Arch. Anat. Histol. Emb.*, 68 : 903-911, 1985.
- 20 — Sharawy, M. and Dirksen, T. : Increase in free cholesterol content of adrenal cortex after stress. *Am. J. Anat.*, 150 : 567-572, 1979.
- 21 — Yates, R.D. : Fine structural observations on untreated and ACTH treated adrenocortical cells of the zona reticularis of syrian hamster. *Z. Zell. Forsch.*, 66 : 384-393, 1965.
- 23 — Zelander, T. : Ultrastructure of mouse adrenal cortex. An electron microscopic study in intact and hydrocortisone treated male adults. *J. Ultrastruct. Res.*, 2 : 1-10, 1969.