

## اثر افزایش سن همراه با افزایش وزن بر قطر و درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول‌ها در بافت چربی نواحی مختلف بدن موش صحرائی

دکتر احمد قربانی<sup>۱</sup>، دکتر معصومه واردی<sup>۱</sup>، دکتر غلامحسین رنجبر عمرانی<sup>۲</sup>

(۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شیراز (۲) مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شیراز، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: شیراز، میدان ستاد، دانشکده‌ی پزشکی، طبقه‌ی ۶، گروه فیزیولوژی، احمد قربانی؛ e-mail:ghorbani\_ahmad@yahoo.com

### چکیده

**مقدمه:** افزایش وزن سبب افزایش توده‌ی بافت چربی بدن می‌شود که به طور عمده بخاطر افزایش قطر سلول‌های چربی است. قطر سلول‌های چربی از شاخص‌های مهم میزان متابولیسم آن است. هدف از این مطالعه تعیین اثر افزایش سن توام با افزایش وزن بر اندازه‌ی سلول‌های چربی نواحی مختلف بدن بود. مواد و روش‌ها: بافت‌های چربی از نواحی زیرجلدی (SC)، رتروپریتونئال (RP)، پری‌رنال (PR)، پروگزیمال اپیدیدیم (PE) و دیستال اپیدیدیم (DE) از دو گروه موش صحرائی با تفاوت سنی ۳۰ روز و افزایش وزن ۳۶٪ برداشته شد. قطر سلول‌های چربی با میکروسکوپ مجهز به میکرومتر اندازه‌گیری گردید. درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول‌ها از روی شاخص ضریب پراکندگی از میانگین قطر سلولی تعیین شد. یافته‌ها: در هر دو گروه قطر سلول‌های چربی بین نواحی مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت. افزایش وزن موجب افزایش معنی‌داری در قطر سلول‌های چربی همه‌ی نواحی به استثنای RP شد. بیشترین و کمترین افزایش قطر سلول به ترتیب در نواحی PR و RP مشاهده شد. افزایش وزن تغییر معنی‌داری در درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول در بافت‌های مختلف ایجاد نکرد. نتیجه‌گیری: هنگام افزایش سن همراه با افزایش وزن سلول‌های چربی نواحی مختلف به یک اندازه دچار هیپرتروفی نمی‌شوند، به طوری‌که سلول‌های چربی اطراف اندام‌های با اهمیت حیاتی بیشتر مانند کلیه و اندام تولید مثل بیش از سلول‌های چربی نواحی دیگر تأثیر می‌پذیرند. یافته‌های این مطالعه می‌تواند به شناخت بیشتر از رشد بافت چربی و بیماری‌های مرتبط با آن مانند اختلال‌های قلبی - عروقی و دیابت کمک کند.

**واژگان کلیدی:** بافت چربی، قطر سلول، افزایش وزن، افزایش سن، موش صحرائی

دریافت مقاله: ۸۸/۶/۹ - دریافت اصلاحیه: ۸۸/۷/۱۹ - پذیرش مقاله: ۸۸/۷/۲۵

### مقدمه

مرتبط با این بافت مانند چاقی، سندرم متابولیک و دیابت نوع ۲ از شایع‌ترین بیماری‌های بشری محسوب می‌شوند. بنابراین، امروزه توجه بسیاری از پژوهشگران به این بافت معطوف شده و مطالعه‌های وسیعی برای روشن‌تر شدن ویژگی‌های متابولیک آن در حال انجام است. بسیاری از این مطالعه‌ها در موش‌های

بافت چربی محلی برای ذخیره‌ی انرژی مورد نیاز بدن است و امروزه برای آن اعمال دیگری مانند ترشح هورمون‌ها و فاکتورهای مختلف شناخته شده است.<sup>۱</sup> اختلال‌های متابولیک

درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلولی در بافت چربی نواحی مختلف بدن چه تأثیری دارد. ما در این مطالعه تفاوت ناحیه‌ای قطر سلول‌ها و درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول را در بافت‌های چربی نواحی مختلف بدن موش صحرایی تعیین نموده، اثر افزایش سن همراه با افزایش وزن را بر آنها مورد بررسی قرار دادیم. علت انجام این مطالعه در موش صحرایی این است که این حیوان یکی از متداول‌ترین مدل‌ها برای مطالعه‌های مربوط به چاقی و فیزیولوژیک است.<sup>۲</sup> آگاهی از این‌که سلول‌های چربی کدام ناحیه‌ی بدن در جریان افزایش وزن بیشترین و کمترین تغییر را متحمل می‌شوند، می‌تواند به شناخت بیشتر ما از بافت چربی و بیماری‌های مرتبط با آن مانند اختلال‌های قلبی - عروقی و دیابت کمک کند.<sup>۱۹،۲۰</sup> به علاوه، با در نظر گرفتن تأثیر متابولیسم یک بافت بر قطر سلول‌های آن، یافته‌های حاصل می‌تواند در انتخاب صحیح محل آناتومیک برای برداشت بافت چربی به منظور انجام مطالعه‌های گوناگون مفید باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه، از ۱۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد اسپراگ داوولی استفاده شد. حیوانات با رژیم غذایی استاندارد و در محیط مناسب از نظر نور (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و درجه‌ی حرارت ( $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد) نگهداری شدند. وزن اولیه‌ی حیوانات در شروع مطالعه،  $22.0 \pm 5$  گرم و سن آنها ۸ هفته بود. حیوانات به دو گروه ۶ تایی تقسیم شدند. حیوانات گروه ۱ در اولین روز هفته‌ی نهم تحت عمل جراحی و برداشت بافت‌های چربی قرار گرفتند. حیوانات گروه ۲ برای مدت ۴ هفته‌ی دیگر در شرایط ذکر شده (بدون تغییر در رژیم غذایی) نگهداری و در اولین روز هفته‌ی سیزدهم تحت عمل جراحی و برداشت بافت‌های چربی قرار گرفتند. وزن حیوانات در این روز به  $30.0 \pm 5$  گرم افزایش یافت. این افزایش که تنها ناشی از افزایش سن یک ماهه است، ۳۶٪ وزن اولیه‌ی آنها بود. نکته‌های اخلاقی مربوط به نگهداری حیوانات و آزمایش‌های انجام شده در آنها براساس پروتکل مورد تأیید دانشگاه علوم پزشکی شیراز رعایت شد.

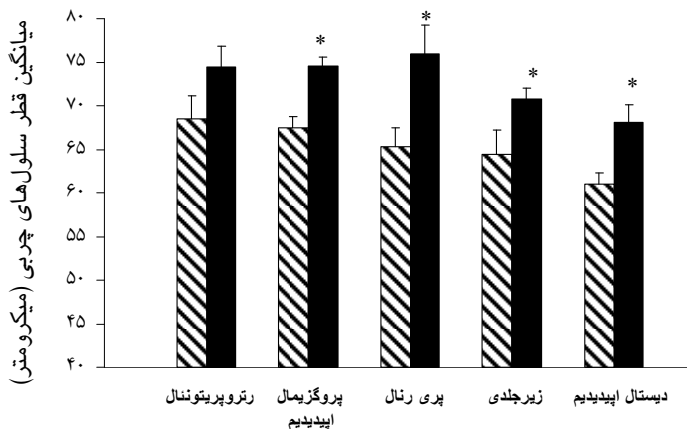
پس از بیهوش کردن حیوانات با اتر، چربی SC از ناحیه‌ی اینگوئینال جدا شد. سپس با برش جراحی حفره‌ی شکم باز و پس از کنار زدن احشای دستگاه گوارش قطعاتی

صحرایی انجام می‌شود و به این منظور بافت چربی از نواحی مختلفی از بدن حیوان برداشته می‌شود. در مطالعه‌ها معمولاً بافت‌های چربی نواحی اپیدیدیم، زیر جلدی (SC)<sup>i</sup>، رتروپریتونال (RP)<sup>ii</sup> و پری‌رنال (PR)<sup>iii</sup> مورد استفاده قرار می‌گیرند.<sup>۲</sup> جالب توجه است که بسیاری از جنبه‌های متابولیسم بافت چربی در این نواحی با یکدیگر متفاوت است. برای مثال، گزارش شده است که برداشت گلوکز از محیط کشت و نیز لیپولیز القا شده توسط کاتکول‌آمین‌ها در بافت چربی احشایی بیشتر از بافت چربی SC است.<sup>۲-۸</sup> از طرف دیگر، بیان mRNA لپتین و اثر آنتی‌لیپولیتیک انسولین در چربی احشایی کمتر از بافت چربی SC است.<sup>۹،۱۰</sup> به نظر می‌رسد که متفاوت بودن قطر سلول‌های چربی نواحی مختلف بدن با یکدیگر یکی از علل مهم تفاوت‌های ناحیه‌ای در رفتار متابولیکی بافت چربی باشد.<sup>۱۱-۱۳</sup> فارنیر و همکاران نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های سازنده‌ی اسیدهای چرب و لیپوپروتئین‌لیپاز در سلول‌های چربی قطورتر بیشتر از سلول‌های دارای قطر کمتر است.<sup>۱۲</sup> همچنین، گزارش شده است که تبدیل گلوکز به تری‌گلیسرید تابعی از قطر سلول چربی است.<sup>۱۴</sup> این یافته‌ها بیانگر آن است که محل آناتومیک برداشت بافت چربی باید متناسب با اهداف مطالعه انتخاب شود و یافته‌های جمع‌آوری شده از مطالعه‌هایی که بدون توجه به تفاوت‌های ناحیه‌ای انجام شده‌اند باید با دقت بیشتری تفسیر شوند.<sup>۲</sup>

افزایش توده‌ی چربی یک ناحیه‌ی بدن می‌تواند هم ناشی از افزایش تعداد سلول‌ها (هیپرپلازی) و هم افزایش قطر (هیپرتروفی) سلول‌های چربی آن ناحیه باشد.<sup>۱۵،۱۶</sup> در شرایط خاصی مانند افزایش وزن بدن افزایش سن یا رژیم پرکالری که منجر به چاقی شود، قطر سلول‌های چربی می‌تواند افزایش یابد.<sup>۱۶،۱۷</sup> از آنجا که رفتار متابولیک بافت چربی نواحی مختلف بدن با یکدیگر متفاوت است،<sup>۲-۱۰</sup> افزایش قطر سلولی در شرایط فوق نیز شاید بین چربی نواحی مختلف، متفاوت باشد. تاکنون مطالعه‌های جامعی در این زمینه انجام نشده است. علاوه بر قطر سلول، درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول‌های چربی ویژگی دیگری است که در بافت چربی دارای اهمیت است. تغییر در درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول‌های چربی با تغییراتی در عملکرد فیزیولوژیک این بافت همراه است.<sup>۱۸</sup> مشخص نیست که افزایش وزن بر

i- Subcutaneous  
ii - Retroperitoneal  
iii - Perirenal

گروه با آزمون واریانس یک طرفه آنوا<sup>۱۱</sup> انجام شد. در صورتی که تفاوت‌ها معنی‌دار بود، از آزمون تعقیبی LSD برای تعیین محل تفاوت‌ها استفاده شد. همچنین، به منظور تعیین میزان پراکندگی قطر سلول‌ها از میانگین (میزان درجه‌ی ناهمگونی بافت) از شاخص CV استفاده شد. این شاخص که از تقسیم انحراف معیار بر میانگین قطر سلول‌ها به دست می‌آید، به صورت درصد بیان شد. داده‌های مربوط به قطر سلول‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد و داده‌های مربوط به درجه‌ی ناهمگونی بافت به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه و مقادیر  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شدند.



نمودار ۱- اثر افزایش سن همراه با افزایش وزن بر میانگین قطر سلول‌های چربی نواحی آناتومیک مختلف بدن موش‌های صحرایی. بارگراف‌ها میانگین قطر سلول‌های چربی برداشت شده از حیوانات جوان‌تر با وزن کمتر (بارگراف‌های هاشوردار) و حیوانات مسن‌تر با وزن بیشتر (بارگراف‌های تیره) نشان می‌دهند. \*تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) نسبت به چربی ناحیه‌ی مشابه در حیوانات جوان‌تر. یافته‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده است.

## یافته‌ها

همان‌طور که بارگراف‌ها در نمودار ۱ نشان می‌دهند، در حیوانات جوان‌تر با وزن کمتر، سلول‌های بافت چربی در ناحیه‌ی RP دارای قطر سلولی بزرگ‌تر ( $68/5 \pm 2/7$ ) و در ناحیه‌ی DE دارای قطر سلول کوچک‌تر ( $61 \pm 1/3$ ) در مقایسه با سلول‌های سایر نواحی ( $2/8 \pm 64/4$ ، SC:  $2/1 \pm 65/4$ ، PR:  $1/3 \pm 67/4$ ) هستند اما تفاوت بین قطر سلول‌های

از چربی نواحی اپیدیدیم، پری‌رنال و رتروپرتینونال برداشته شد. از آنجایی که به طور ماکروسکوپیکی دریافتیم بافت چربی بخش پروگنیزیمال اپیدیدیم با چربی بخش دیستال اپیدیدیم متفاوت است، چربی این دو بخش به عنوان دو ناحیه‌ی مجزا مورد ارزیابی قرار گرفت. همه‌ی بافت‌های چربی از سمت چپ حیوان برداشته شدند. بافت‌ها بلافاصله در محلول نرمال سالین ۳۷ درجه قرار داده شد و به سرعت به آزمایشگاه کشت سلولی برای ارزیابی‌ها منتقل شدند.

برای تعیین قطر سلول‌های چربی، روش جوستروم و همکاران با تغییراتی مورد استفاده قرار گرفت.<sup>۲۱</sup> در شروع آزمایش، قطعات چربی هر ناحیه ۳-۵ مرتبه با نرمال سالین ۳۷ درجه شستشو داده شدند. سپس، بافت هر ناحیه با کمک تیغ جراحی و با احتیاط به قطعات حدود ۱۰ میلی‌گرم برش داده و به سیلندر کوچکی که روی یک لام ثابت شده بود منتقل شد. سیلندرها با ۵۰۰ میکرولیتر نرمال سالین پر شدند تا قطعات چربی به حالت شناور قرار گیرند. این لام برای اندازه‌گیری قطر سلولی به زیر میکروسکوپ منتقل شد. برای اندازه‌گیری قطر سلول‌ها یک میکرومتر در قسمت عدسی چشمی میکروسکوپ قرار داده و فواصل خطوط میکرومتر با یک لام مدرج با بزرگنمایی  $400 \times$  کالیبره شد. قطر استوایی ۲۰۰ سلول چربی به طور تصادفی در هر نمونه اندازه‌گیری و میانگین قطر این تعداد سلول به عنوان میانگین قطر سلول‌های چربی آن ناحیه منظور شدند. قطر سلول‌های چربی همه‌ی نواحی به همین ترتیب تعیین شد. از آنجا که اندازه‌گیری قطر سلول‌های چربی هر ناحیه حدود ۴۵ دقیقه به طول انجامید، سایر بافت‌های چربی در محیط کشت M199، خریداری شده از شرکت سیگما و غنی شده با ۲۵ میلی‌مول HEPES و Earles salts در انکوباتور با شرایط استاندارد (دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، اکسیژن ۹۵٪ و دی‌اکسید کربن ۵٪) نگهداری شدند. برای تعیین درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول‌ها در بافت‌های چربی نواحی مختلف از میانگین قطر سلول هر ناحیه که با روش فوق به دست آمد، به منظور محاسبه‌ی ضریب پراکندگی قطر سلول‌ها از میانگین و یا به عبارت دیگر (CV)<sup>۲۲</sup> استفاده شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS استفاده شد. مقایسه‌ی میانگین قطر سلول‌های چربی برای نواحی مختلف بدن حیوانات هر گروه و بین حیوانات دو

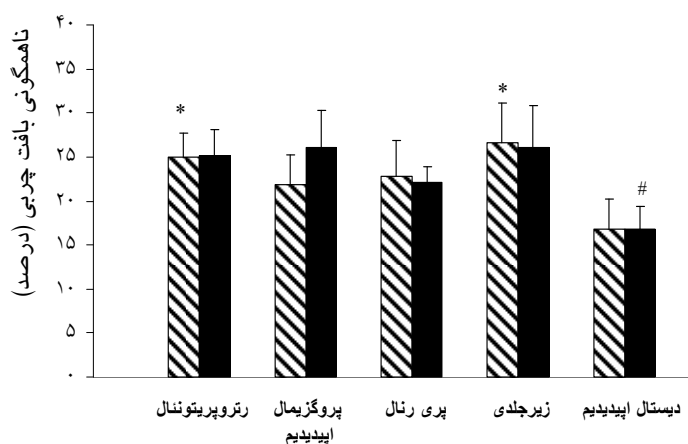
در حیوانات مسن‌تر با وزن بیشتر، درجه‌ی ناهمگونی بافت چربی ناحیه‌ی DE نسبت به سایر نواحی از نظر آماری معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود. در این گروه نیز بافت چربی ناحیه‌ی SC ( $26.1 \pm 4.7\%$ ) بیشترین و ناحیه‌ی DE ( $16.7 \pm 2.6\%$ ) کمترین درجه‌ی ناهمگونی را در مقایسه با سایر نواحی (نمودار ۲). شکل ۱ سلول‌های نمونه‌ی از بافت چربی ناحیه SC را که بیشترین ناهمگونی را در میان بافت‌های چربی نواحی مختلف داشت، در حیوانات جوانتر با وزن کمتر (A) و در حیوانات مسن‌تر با وزن بیشتر (B) نشان می‌دهد.

مقایسه‌ی قطر سلول‌ها در بافت چربی برداشت شده از هر ناحیه در حیوانات جوان‌تر دارای وزن کمتر با قطر سلول‌های چربی همان ناحیه از حیوانات مسن‌تر دارای وزن بیشتر نشان داد که افزایش سن همراه با افزایش وزن سبب افزایش قطر سلول‌های چربی همه‌ی نواحی می‌شود. همان‌طور که بارگراف‌ها در نمودار ۱ نشان می‌دهند، این افزایش در سلول‌های چربی نواحی DE (از  $61 \pm 1/3$  به  $68 \pm 2/1$ )، SC (از  $64 \pm 2/8$  به  $70 \pm 1/2$ )، PR (از  $65 \pm 2/1$  به  $74 \pm 1/3$ ) و PE (از  $67 \pm 1/3$  به  $74 \pm 1$ ) از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ) و تنها در بافت چربی ناحیه‌ی RP (از  $68 \pm 2/7$  به  $74 \pm 1/4$ ) معنی‌دار نشد. بیشترین و کمترین افزایش قطر سلول به ترتیب در بافت چربی ناحیه‌ی RP ( $16.2\%$ ) و PR ( $8.6\%$ ) مشاهده شد. در جدول ۱، درصد افزایش قطر سلول‌های بافت چربی نواحی مختلف نشان داده شده است. شکل ۱، سلول‌های بافت چربی ناحیه DE را که افزایش قابل ملاحظه‌ای در قطر سلول‌ها به نمایش گذاشته است، در حیوانات جوان‌تر دارای وزن کمتر (C) و حیوانات مسن‌تر دارای وزن بیشتر (D) نشان می‌دهد.

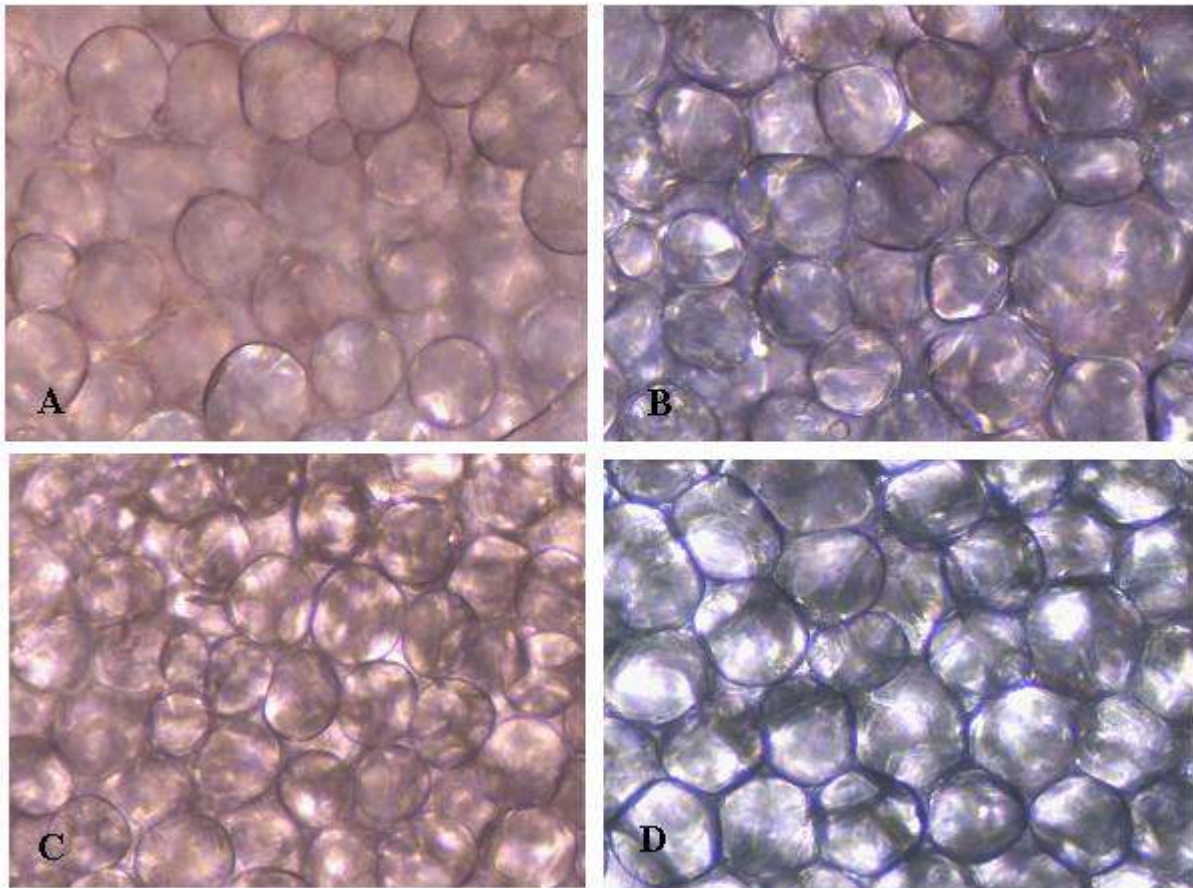
مقایسه‌ی درجه‌ی ناهمگونی اندازه‌ی سلول‌های بافت هر ناحیه از بدن حیوانات جوان‌تر و دارای وزن کمتر با درجه‌ی ناهمگونی همان ناحیه از حیوانات مسن‌تر و دارای وزن بیشتر نشان داد که از نظر آماری بین هیچ یک از نواحی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. با این وجود، همان‌طور که در جدول ۱ دیده می‌شود، با افزایش سن همراه با افزایش وزن بیشترین تغییر درجه‌ی ناهمگونی در ناحیه‌ی PE ( $19.2\%$  افزایش) روی داده است، در حالی‌که درجه‌ی ناهمگونی در چربی نواحی DE و RP تغییری نکرده‌اند.

چربی نواحی مختلف از نظر آماری معنی‌دار نبود. در حیوانات مسن‌تر با وزن بیشتر نیز تفاوت معنی‌داری در قطر سلول بافت‌های چربی نواحی مختلف وجود نداشت اما در این حیوانات سلول‌های چربی در ناحیه‌ی PR بزرگتر ( $76 \pm 3/2$ ) و در بافت چربی ناحیه‌ی DE کوچکتر ( $68 \pm 2/1$ ) از سلول‌های سایر نواحی ( $70.7 \pm 1/2$ : SC،  $74 \pm 2/4$ : RP،  $74 \pm 1$ : PE) بودند.

بررسی میزان پراکندگی قطر سلول‌ها از میانگین نشان داد که درجه‌ی ناهمگونی بافت چربی در حیوانات جوان‌تر با وزن کمتر بین نواحی مختلف بدن، متفاوت است. این تفاوت بین ناحیه‌ی DE و SC، و همچنین بین ناحیه‌ی DE و RP از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). در این گروه از حیوانات بافت چربی در ناحیه‌ی SC ( $26.5 \pm 4.6\%$ ) بیشترین و در ناحیه‌ی DE ( $16.7 \pm 2.6\%$ ) کمترین درجه‌ی ناهمگونی را در مقایسه با بافت چربی سایر نواحی ( $21.8 \pm 3.4$ : PE،  $22.8 \pm 4.1$ : RP،  $25.2 \pm 2.7$ : DE) دارا بودند (نمودار ۲).



نمودار ۲- اثر افزایش سن همراه با افزایش وزن بر درجه‌ی ناهمگونی (ضریب پراکندگی) قطر سلول‌ها در بافت چربی نواحی آناتومیک مختلف بدن موش‌های صحرایی. بارگراف‌ها ناهمگونی قطر سلول‌های چربی را در بافت‌های برداشت شده از حیوانات جوان‌تر با وزن کمتر و حیوانات مسن‌تر با وزن بیشتر نشان می‌دهند. \*تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) نسبت به چربی ناحیه‌ی دیستال اپیدیدیم در حیوانات جوان‌تر. #: تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) نسبت به چربی سایر نواحی در حیوانات مسن‌تر. یافته‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است.



شکل ۱- فتومیکروگراف‌ها اندازه‌ی سلول‌های چربی و درجه‌ی ناهمگونی آن‌ها را در نمونه‌هایی از بافت چربی برداشت شده از موش‌های صحرایی نشان می‌دهند. بافت چربی ناحیه‌ی زیرجلدی بیشترین ناهمگونی را در میان بافت‌های چربی نواحی مختلف دارد اما درجه‌ی ناهمگونی آن بین حیوانات جوان‌تر با وزن کمتر (A) و حیوانات مسن‌تر با وزن بیشتر (D) تفاوت قابل ملاحظه‌ای ندارد. سلول‌های بافت چربی ناحیه‌ی دیستال اپیدیدیم در حیوانات جوان‌تر (C) میانگین قطر سلولی کمتری نسبت به سلول‌های همان ناحیه در حیوانات مسن‌تر (D) به نمایش گذاشته اند. بزرگنمایی:  $\times 200$

جدول ۱- درصد افزایش میانگین قطر سلول‌های چربی و تغییر درجه‌ی ناهمگونی در بافت چربی نواحی مختلف بدن موش‌های صحرایی پس از یک ماه افزایش سن همراه با ۳۶٪ افزایش وزن. علایم (-) بیانگر کاهش و (+) بیانگر افزایش هستند.

محل آناتومیک	پری‌رنال	دیستال اپیدیدیم	پروگزیمال اپیدیدیم	زیرجلدی	رتروپریتونئال
درصد افزایش قطر سلول	۱۶/۲	۱۱/۶	۱۰/۶	۹/۸	۸/۶
درصد تغییر درجه‌ی ناهمگونی	-۳/۵	.	+۱۹/۲	-۱/۹	.

## بحث

اثرپذیری در بافت چربی نواحی مختلف متفاوت است. سلول‌ها در بافت چربی ناحیه‌ی اپیدیدیم بیشترین افزایش و در بافت چربی ناحیه‌ی رتروپریتونئال کمترین افزایش قطر را متحمل می‌شوند. مطالعه‌های مربوط به دینامیک رشد بافت‌های چربی نشان داده‌اند که رشد و افزایش توده‌ی بافت

یافته‌های این مطالعه نشان داد که افزایش سن همراه با افزایش وزن اثر هتروتروفیک قابل ملاحظه‌ای بر سلول‌های بافتهای چربی نواحی مختلف بدن دارد. به ظاهر این

چربی مجموعه‌ای از هیپرپلازی و هیپرتروفی سلول‌ها در این بافت می‌باشد.<sup>۱۶</sup> امروزه، پژوهشگران پذیرفته‌اند که هیپرپلازی بافت چربی فقط در مراحل اولیه تکامل صورت می‌گیرد و حتی در شرایطی که منجر به چاقی می‌شوند، انتظار نمی‌رود که بافت چربی سلول جدید را به کار گیرد.<sup>۲۲،۲۳</sup> به علاوه، گزارش شده است که در هنگام افزایش وزن و پیشرفت چاقی، هیپرتروفی سلولی که در مراحل اولیه صورت می‌گیرد باعث هیپرپلازی در مراحل نهایی می‌شود.<sup>۲۴</sup> بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر با توجه به سن و بلوغ حیوانات فقط هیپرتروفی سلولی مورد بررسی قرار گرفت. اثرپذیری بیشتر در سلول‌های چربی نواحی دیستال اپیدیدیم و پری‌رنال و اثر پذیری کمتر در سلول‌های بافت چربی ناحیه‌ی رتروپریتونئال بیان‌گر آن است که این سلول‌ها تحمل پذیرش ذخایر چربی بیشتر و کمتری را به ترتیب نسبت به سلول‌های سایر نواحی دارا می‌باشند. یافته‌های فوق با تئوری دینامیک رشد بافت چربی، ارایه شده توسط جو و همکاران قابل تفسیر است. این پژوهشگران صفاتی با عنوان «اندازه‌ی حداقل بحرانی» و «اندازه‌ی حداکثر بحرانی» را برای سلول‌های چربی تعریف نموده‌اند. بر اساس این تئوری میزان رشد یک سلول چربی را اندازه‌ی اولیه‌ی سلول و فاصله‌ی آن از «اندازه‌ی حداکثر بحرانی» تعیین می‌نماید.<sup>۱۶</sup> احتمال دارد که علت هیپرتروفی کمتر در سلول‌های چربی ناحیه‌ی رتروپریتونئال بیشتر بودن اندازه‌ی اولیه‌ی آنها و نزدیک‌تر بودن اندازه‌ی آنها به «اندازه‌ی حداکثر بحرانی» در هنگام افزایش وزن باشد. یافته‌های به دست آمده از بررسی قطر سلول‌ها در حیواناتی که سن و وزن کمتر داشتند این نظریه را تأیید می‌کند زیرا در این حیوانات سلول‌های ناحیه‌ی دیستال اپیدیدیم قطر کمتری نسبت به سلول‌های ناحیه‌ی رتروپریتونئال دارند.

عوامل متعدد و گوناگونی رشد بافت‌ها از جمله بافت چربی را در بدن تنظیم می‌نمایند. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که از میان این عوامل، تغذیه و نژاد نقش تعیین‌کننده‌ای دارند.<sup>۲۵-۲۷، ۱۶</sup> باید توجه داشت که در مطالعه‌ی حاضر، هیپرتروفی مشاهده شده در بافت‌های چربی تنها مربوط به افزایش وزن همراه با افزایش سن است زیرا حیوانات در هر دو گروه با رژیم غذایی یکسان و استاندارد در طول مطالعه تغذیه شدند و از یک نژاد بودند. به علاوه، این یافته‌ها مربوط به محدوده‌ی وزن در این

مطالعه است و ممکن است در مورد حیوانات لاغرتر یا مبتلا به چاقی و یا از نژاد دیگر صادق نباشد که باید در مطالعه‌های جداگانه بررسی شوند. دلیل انتخاب این محدوده‌ی وزن، کاربرد زیاد آن در مطالعه‌های علوم بیولوژی در مدل حیوانی موش صحرایی است.<sup>۱۴،۱۵</sup>

اگرچه سازوکار دقیق و علل تفاوت‌های آناتومیک در میزان هیپرتروفی سلول‌های چربی مشخص نیست، ممکن است یکی از علل آن تفاوت در میزان فعالیت آنزیم‌های تنظیم‌کننده‌ی متابولیسم چربی باشد. میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز، عامل تعیین‌کننده‌ی در توانایی ذخیره سازی سوخت سلول‌های چربی و در نتیجه هیپرتروفی آن‌ها است.<sup>۲۸</sup> فرید و همکاران گزارش کردند که در انسان میزان فعالیت آنزیم لیپوپروتئین‌لیپاز در بافت چربی احشایی کمتر از بافت چربی زیر جلدی است.<sup>۲۹</sup> ما دریافتیم که با افزایش وزن حیوان درصد هیپرتروفی سلولی در چربی رتروپریتونئال کمتر از سایر نواحی است. بنابراین، احتمال می‌رود که این تفاوت ناشی از اختلاف در میزان فعالیت این لیپاز در این بافت‌ها باشد که لازم است این موضوع به طور اختصاصی مورد بررسی قرار گیرد. به هر حال، سازوکار این تفاوت میزان هیپرتروفی بین چربی نواحی مختلف هر چه که باشد، وجود آن در جریان افزایش سن همراه با افزایش وزن می‌تواند به شناخت بیشتر ما از رشد بافت چربی و لذا بیماری‌های مرتبط با آن مانند دیابت و نارسایی‌های قلبی - عروقی کمک کند. به عنوان مثال، می‌دانیم که افزایش سن و توده‌ی چربی از عوامل خطر ساز بیماری‌های قلبی - عروقی است.<sup>۳۰،۳۱</sup> از طرفی مشخص شده است که تأثیر توده‌ی چربی نواحی مختلف بر احتمال پیدایش این بیماری‌ها یکسان نیست و مثلاً افزایش توده‌ی چربی احشایی نسبت به چربی دیگر نواحی بدن خطر بیشتری برای ابتلا به فشار خون و سندرم متابولیک به دنبال خواهد داشت.<sup>۱۹</sup> حتی برخی پژوهشگران معتقدند که الگوی تجمع چربی در قسمت‌های مختلف بدن<sup>۱۱</sup> نسبت به چربی کل بدن عامل تعیین‌کننده‌تری برای بروز بیماری‌های مذکور است.<sup>۱۹،۲۰</sup> ما در این مطالعه، الگوی هیپرتروفی سلول‌های چربی نواحی مختلف را در جریان افزایش سن همراه با افزایش وزن ارایه نمودیم که اگر با مطالعه‌های بیشتر در مدل‌های حیوانی یا انسانی تأیید شود، کمک می‌کند نواحی آناتومیک که در آنها استعداد بیشتری به

میزان درجه‌ی ناهمگونی بافت مشهود است. در بیشتر پژوهش‌هایی که در زمینه‌های چاقی، سندرم متابولیک، دیابت و مانند آن در مدل‌های حیوانی انجام شده از چربی ناحیه‌ی اپیدیدیم استفاده شده است. یکی از نکته‌های دارای اهمیت در یافته‌های مطالعه‌ی ما این است که در صورت برداشت بافت چربی از ناحیه‌ی اپیدیدیم برای مطالعه‌ها، لازم است به ناحیه‌ی آنتومیک آن به طور دقیق اشاره شود. به نظر می‌رسد که تفسیر برخی از یافته‌های حاصل از مطالعه‌های گذشته نیاز به بازنگری داشته باشد. به علاوه، می‌توان پیشنهاد نمود که برای بررسی اثر عوامل و فاکتورهای گوناگون بر اندازه‌ی سلول‌های چربی و درجه‌ی ناهمگونی بافت چربی نواحی پری‌رنال و پروگزیمال اپیدیدیم مناسب‌تر از سایر نواحی هستند زیرا می‌توانند تغییرات بیشتری را در موارد فوق بپذیرند.

از یافته‌های این مطالعه می‌توان دریافت که در هنگام افزایش سن همراه با افزایش وزن، سلول‌های چربی نواحی مختلف به یک اندازه هیپرتروفی نمی‌شوند، به طوری که سلول‌های چربی اطراف اندام‌های با اهمیت حیاتی بیشتر مانند کلیه و اندام تولید مثل بیش از چربی نواحی دیگر تأثیر می‌پذیرند. از آن‌جا که امروزه پژوهشگران پذیرفته‌اند ارتباط نزدیکی بین چاقی موضعی و شانس ابتلا به برخی از بیماری‌ها وجود دارد، یافته‌های این مطالعه می‌تواند به شناخت بیشتر ما از رشد بافت چربی و بیماری‌های مرتبط با آن مانند بیماری‌های قلبی - عروقی و دیابت کمک کند.

تجمع چربی وجود دارد، شناسایی شود. این شناخت می‌تواند قدم نخست برای یافتن راه حل جلوگیری از تجمع بیش از حد بافت چربی در نواحی تعیین‌کننده‌تر برای بروز بیماری‌های مرتبط با این بافت باشد.

اکنون پذیرفته شده است که بافت چربی یک ناحیه‌ی مشخص بدن از نظر قطر سلول‌های چربی ناهمگون است.<sup>۲۲</sup> ما نشان دادیم که این ناهمگونی در نواحی آنتومیکی مختلف یکسان نیست. یافته‌های مطالعه‌های گذشته نشان داده‌اند که هر چه بافت چربی درجه‌ی ناهمگونی بیشتری داشته باشد، پاسخ آن به عوامل خونی و موضعی از جمله انسولین ناهمگن‌تر خواهد بود.<sup>۱۸</sup> در این راستا، یافته‌های هنوز منتشر نشده‌ی مطالعه‌ای که قبلاً توسط گروه ما انجام شده، نشان داد که سلول‌های بافت چربی زیر جلدی نسبت به چربی سایر نواحی بیشترین کاهش قطر را در جریان دیابت ناشی از کمبود انسولین به نمایش می‌گذارند. جالب توجه است که ناهمگونی قطر سلول‌ها در بافت‌های چربی نواحی دیگر بدن تقریباً ثابت می‌ماند و تنها در بافت چربی ناحیه‌ی پروگزیمال اپیدیدیم تحت تأثیر افزایش سن همراه با افزایش وزن قرار می‌گیرد. در حال حاضر، علت و اهمیت فیزیولوژیک این رفتار در بافت چربی این ناحیه از بدن مشخص نیست.

یافته‌ی جدید دیگری که در این مطالعه به آن پی بردیم، این است که در بافت چربی ناحیه‌ی اپیدیدیم ویژگی مورفولوژی چربی بخش دیستال با بخش پروگزیمال به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت است. این اختلاف به ویژه در مورد

## References

- Smith SR, Ravussin E. Role of the adipocyte in metabolism and endocrine function. In: DeGroot L, Jameson JL, editors. *Endocrinology*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier 2006. p 1045-62.
- Casteilla L, Penicaud L, Cousin B, Calise D. Choosing an adipose tissue depot for sampling. In: Yang K, editor. *Adipose tissue protocols*. 2nd ed. New Jersey: Humana Press 2008. p 23-38.
- Stolic M, Russell A, Hutley L, Fielding G, Hay J, MacDonald G, et al. Glucose uptake and insulin action in human adipose tissue – influence of BMI, anatomical depot and body fat distribution. *Int J Obes* 2002; 26: 17-23.
- Virtanen KA, Lonnroth P, Parkkola R, Peltoniemi P, Asola M, Viljanen T, et al. Glucose uptake and perfusion in subcutaneous and visceral adipose tissue during insulin stimulation in nonobese and obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3902-10.
- Tchernof A, Belanger C, Morisset AS, Richard C, Mailloux J, Laberge P, et al. Regional differences in adipose tissue metabolism in women minor effect of obesity and body fat distribution. *Diabetes* 2006; 55: 1353-60.
- Van Harmelen V, Lonnqvist F, Thorne A, Wennlund A, Large V, Reynisdottir S, et al. Noradrenaline-induced lipolysis in isolated mesenteric, omental and subcutaneous adipocytes from obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21: 972-9.
- Arner P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. *Ann Med* 1995; 27: 435-8.
- Richelsen B, Pedersen SB, Moller-Pedersen T, Bak GF. Regional differences in triglyceride breakdown in human adipose tissue: effects of catecholamines,

- insulin, and prostaglandin E2. *Metabolism* 1991; 40: 990-6.
9. Zierath JR, Livingston JN, Thorne A, Bolinder J, Reynisdottir S, Lonnqvist F, et al. Regional difference in insulin inhibition of non-esterified fatty acid release from human adipocytes: relation to insulin receptor phosphorylation and intracellular signaling through the insulin receptor substrate-1 pathway. *Diabetologia* 1998; 41: 1343-54.
  10. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Zhang J, Sewter CP, Digby J, et al. Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. *Diabetes* 1998; 47: 1384-91. 5
  11. Edens NK, Fried SK, Kral JG, Hirsch J, Leibel RL. In vitro lipid synthesis in human adipose tissue from three abdominal sites. *Am J Physiol* 1993; 265: 374-9.
  12. Farnier C, Krief S, Blache M, Diot-Dupuy F, Moryl G, Ferrel P, et al. Adipocyte functions are modulated by cell size change: potential involvement of an integrin/ERK signalling pathway. *Int J Obes* 2003; 27: 1178-86.
  13. Boivina A, Brochub G, Marceaub S, Marceaub P, Houldb FS, Tchernof A. Regional differences in adipose tissue metabolism in obese men. *Metab Clin Exp* 2007; 56: 533-40.
  14. Zinder O, Shapiro B. Effect of cell size on epinephrine- and ACTH-induced fatty acid release from isolated fat cells. *J Lipid Res* 1971; 12: 91-5.
  15. Lemonnier D. Effect of age, sex, and site on the cellularity of the adipose tissue in Mice and rats rendered obese by a high-fat diet. *J Clin Invest* 1972; 51: 2907-15.
  16. Jo J, Gavrilova O, Pack S, Jou W, Mullen S, Sumner AE, et al. Hypertrophy and/or hyperplasia: dynamics of adipose tissue growth. *PLoS Comput Biol* 2009; 5: e1000324.
  17. Berger JJ, Barnard RJ. Effect of diet on fat cell size and hormone-sensitive lipase activity. *J Appl Physiol* 1999; 87: 227-32.
  18. Bluher M, Patti ME, Gesta S, Kahn BB, Kahn CR. Intrinsic heterogeneity in adipose tissue of fat-specific insulin receptor knock-out mice is associated with differences in patterns of gene expression. *J Biol Chem* 2004; 279: 31891-901.
  19. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2000; 21: 697-738.
  20. Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 497-511.
  21. Sjostrom L, Bjorntorp P, Vrana J. Microscopic fat cell size measurements on frozen-cut adipose tissue in comparison with automatic determinations of osmium-fixed fat cells. *J Lipid Res* 1971; 12: 521-30.
  22. Drolet R, Richard C, Sniderman AD, Mailloux J, Fortier M, Huot C, et al. Hypertrophy and hyperplasia of abdominal adipose tissues in women. *Int J Obes* 2008; 32: 283-91.
  23. Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008; 453: 783-7.
  24. Faust IM, Johnson PR, Stern JS, Hirsh J. Diet-induced adipocyte number increase in adult rats: a new model of obesity. *Am J Physiol* 1978; 235: 279-86.
  25. Barsh GS, Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000; 404: 644-51.
  26. Almind K, Kahn CR. Genetic determinants of energy expenditure and insulin resistance in diet-induced obesity in mice. *Diabetes* 2004; 53: 3274-85.
  27. Johnson PR, Hirsch J. Cellularity of adipose depots in six strains of genetically obese mice. *J Lipid Res* 1972; 13: 2-11.
  28. Eckel RH. Lipoprotein lipase, A multifunctional enzyme relevant to common metabolic disease. *N Engl J Med* 1989; 320: 1060-8.
  29. Fried SK, Russell CD, Grauso NL, Brodin RE. Lipoprotein lipase regulation by insulin and glucocorticoid in subcutaneous and omental adipose tissues of obese women and men. *J Clin Invest* 1993; 92: 2191-8.
  30. Brochu M, Poehlman ET, Ades PA. Obesity, body fat distribution, and coronary artery disease. *J Cardiopulm Rehabil* 2000; 20: 96-108.
  31. Sanchez-Contreras M, Moreno-Gomez GA, Marin-Grisales ME, Garcia-Ortiz LH. Cardiovascular risk factors in young people. *Rev Salud Publica (Bogota)* 2009; 11: 110-22.
  32. Jernas M, Palming J, Sjöholm K, Jennische E, Svensson PA, Gabrielsson BG, et al. Separation of human adipocytes by size: hypertrophic fat cells display distinct gene expression. *FASEB J* 2006; 20: 832-9. .

## Original Article

# Effects of Aging Associated with Weight Gain on The Cell Size and Heterogeneity of Different Fat Depots in The Rat

Ghorbani A<sup>1</sup>, Varedi M<sup>1</sup>, Ranjbar Omrani GR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, and <sup>2</sup>Endocrine and Metabolism Research Center, Namazi Hospital, Shiraz University of Medical Science, Shiraz, I. R. Iran

e-mail: ghorbani\_ahmad@yahoo.com

Received: 17/10/2009 Accepted: 31/8/2009

### Abstract

**Introduction:** The mass of adipose tissue expands during weight gain mostly because of an increase in fat cell diameter, which is one of the most important determinants of tissue metabolism. The aim of this study was to examine the effects of aging associated with weight gain on cell size and heterogeneity of adipocytes at different fat depots. **Materials and Methods:** Adipose tissues were harvested from subcutaneous (SC), retroperitoneal (RP), perirenal (PR), proximal epididymal (PE) and distal epididymal (DE) regions of two groups of rats with a 30-day difference in age and 36% increase in body weight. Diameters of fat cells were measured using a microscope equipped with a calibrated micrometer. Cell size heterogeneity was deduced from coefficient of variation. **Results:** In both groups, no significant regional differences were observed in diameter of adipocytes in various fat depots. With the exception of the RP depot, the weight gain caused a significant increase in diameter of adipocytes in all other depots. The highest and the lowest increase were seen in PR and RP adipocyte diameter, respectively. The degree of heterogeneity of fat depots was not significantly altered by weight gain. **Conclusion:** Aging associated with weight gain leads to fat cell hypertrophy in a depot specific manner, and cells at depots close to survival organs such as kidney and gonads are more affected than those of the other depots. The results of this study can enhance current knowledge on adipose tissue mass expansion and its related health complications such as cardiovascular diseases and diabetes.

**Keywords:** Adipose tissue, Cell diameter, Weight gain, Aging, Rat