

مطالعه هیستوشیمیایی ظهور و الگوی توزیع چربی قهوه‌ای در موش نژاد Balb/c

دکتر مهدی جلالی^۱ - دکتر محمدرضا نیکروش^۲ - دکتر علیرضا فاضل^۳

چکیده

زمینه و هدف: در طی تکامل، دو بافت چربی ظاهر می‌شود که از نظر مورفولوژی، عروق و توزیع با یکدیگر کاملاً متفاوتند. چربی سفید دارای توزیعی گسترده و در تمام نقاط بدن قابل شناسایی است ولی چربی قهوه‌ای دارای پراکندگی محدودی می‌باشد. در جنین انسان نیز چنین بافت‌هایی قابل ردیابی است ولی در پایان زندگی جنینی میزان این چربی معمولاً کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد، به طوری که در افراد بالغ تقریباً از میان می‌رود. مطالعه حاضر با هدف بررسی هیستوشیمیایی ظهور و الگوی توزیع چربی قهوه‌ای در موش انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی (آزمایشگاهی)، از ۲۰ موش نوع Balb/c استفاده شد و پس از آمیزش یافتن و مشاهده پلاک واژن، روز صفر حاملگی در آنان مشخص گردید. جنین‌ها از روز ۱۸-۱۰ حاملگی جمع‌آوری و در فیکساتورهای پارافرمالدئید، فرمالین، الکل و اسیداشتیك قرار داده شدند؛ سپس با استفاده از روش برشهای انجمادی از نمونه‌ها، برشهای سریال تهیه گردید و مورد رنگ‌آمیزی سودان ۴ و نیل بلوسولفات قرار گرفت.

یافته‌ها: اولین علامت ظهور چربی قهوه‌ای در طی روز چهاردهم جنینی در اطراف استخوان شانه و پس از آن پیدایش چربی قهوه‌ای در نقاط دیگری از جمله اطراف آئورت شکمی در طی شانزدهمین روز جنینی مشاهده شد. در طی روز هفدهم در ناحیه ناف کلیه و عروق بزرگ گردن نیز این نوع چربی قابل شناسایی بود اما تجمع عمده آن به صورت دو توده متقارن در حد فاصل دو استخوان شانه قابل ردیابی بود. برای رنگ‌آمیزی افتراقی چربیها نیز از روش رنگ‌آمیزی نیل بلو سولفات استفاده شد. در طی روز شانزدهم جنینی، حدود ۵۵٪ از چربی موجود در سلول‌های چربی قهوه‌ای از نوع چربی خنثی و حدود ۴۵٪ از نوع فسفولیپید و اسیدهای چرب بود اما با گذشت زمان، این وضعیت تغییر کرد، به گونه‌ای که از روز اول تا پانزدهم پس از تولد بر میزان چربی خنثی افزوده شد و جایگزینی این نوع چربی نسبت به فسفولیپید و اسیدهای چرب مشهود بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که در طی زندگی داخل رحمی، بخشی از سلول‌های تمایز نیافته، با تجمع در اطراف همدیگر، منجر به تشکیل توده‌ای لوبوله از سلول‌های اپیتلوئید می‌گردند و به دنبال آن عناصر چربی به صورت قطرات مجزا در قالب بافت چربی قهوه‌ای تکامل می‌یابد، اگرچه ممکن است سلول‌های مزانشیمی به طور مستقیم با ذخیره‌کردن چربی به صورت بافت چربی سفید در آیند.

کلید واژه‌ها: چربی قهوه‌ای، فسفولیپید، اسید چرب، موش

افق دانش؛ مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۱۱؛ شماره ۱؛ سال ۱۳۸۴)

^۱ نویسنده مسؤول: دانشیار گروه آموزشی علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
آدرس: مشهد- خیابان دانشگاه- دانشکده پزشکی- گروه علوم تشریح- کد پستی ۹۱۳۷۶
تلفن: ۰۵۱۱-۸۴۴۴۴۷۷؛ نمابر: ۰۵۱۱-۸۵۹۱۹۲۲؛ پست الکترونیکی: mejalaly@yahoo.com

^۲ دانشیار گروه آموزشی علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
^۳ استاد گروه آموزشی علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقدمه

بیش از نیمی از جمعیت جهان دارای اضافه وزن می‌باشند، اما ماهیت چاقی و اضافه وزن در افراد مختلف ممکن است با یکدیگر متفاوت باشد. زمانی یک فرد، چاق محسوب می‌شود که وزن او ۲۰٪ (در زنان ۲۵٪) بالاتر از حداکثر مطلوب متناسب با اندازه قد قلمداد شود. چنانچه این رقم در یک فرد بالغ به بیشتر از ۲۴/۹ کیلوگرم برسد، آن را چاقی بیمارگونه می‌نامند (۱).

سالها چنین تصور می‌شد که بافت چربی که حدود ۱۰٪ از کل وزن بدن را تشکیل می‌دهد، تنها به صورت عاملی در برابر اتلاف حرارت ایفای نقش می‌نماید (۲-۴) در حالی که امروزه ثابت شده است که این بافت به عنوان پرظرفیت‌ترین منبع انرژی بدن محسوب می‌شود.

رنگ چربی از سفید تا زرد متمایل به قهوه‌ای متغیر و بر حسب نوع، استقرار چربی در آن متفاوت است. در بعضی از سلول‌های چربی، قسمت اعظم فضای سلول توسط یک قطره چربی اشغال می‌شود که این چربی به عنوان نوع تک‌حجره‌ای یا Unilocular شناخته می‌شود (۵).

نحوه استقرار چربی در برخی از سلول‌های چربی که به رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای به نظر می‌رسند، به شکل قطرات ریز متعدد است. از این گذشته علت رنگ چربی قهوه‌ای به دلیل شبکه وسیع عروقی مربوط به استرومای این بافت است؛ از سوی دیگر اخیراً مشخص شده است که رنگ آن به دلیل تراکم زیاد سیتوکروم‌های موجود در میتوکندری‌های این سلول‌ها است (۶،۷).

ثابت شده است که سلول‌های چربی تک‌حفره‌ای می‌توانند منشأ تومورهای خوش‌خیم (لیپوما) باشند (۸). تومورهای بدخیم لیپوسارکوما که از سلول‌های چربی مشتق می‌شوند، در زمرة تومورهای شایع بافت همبند قرار دارند.

تومورهای مشتق از سلول‌های چربی چندحفره‌ای نیز با عنوان Hibernoma نیز در مواردی گزارش شده‌اند (۸). مطالعه حاضر با هدف بررسی هیستوشیمیایی ظهور و الگوی توزیع چربی قهوه‌ای در موش انجام شد.

روش بررسی

برای انجام این مطالعه تجربی و آزمایشگاهی، ۲۰ موش Balb/c به سن تقریبی ۲ ماه تهیه شد و پس از آمیزش با موشهای نر و مشاهده پلاک واژن، روز صفر حاملگی برای هر یک از آنان مشخص گردید.

این حیوانات در شرایط استاندارد خانه حیوانات (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی)، آب و غذای کافی و حرارت 24 ± 1 درجه سانتیگراد مورد مراقبت قرار گرفتند.

در فاصله روزهای سیزدهم تا نوزدهم حاملگی، روزانه دو موش پس از بیهوشی عمیق سزارین شدند و پس از جداسازی شاخه‌های رحم و انتقال آن به سرم فیزیولوژی، پرده‌های جنینی با سرعت و دقت شکافته شدند و جنین‌های به دست آمده با استفاده از فیکساتورهای پارافرمالدئید و فرمالین، الکل، اسید استیک مورد آماده‌سازی و تهیه برشهای میکروسکوپی قرار گرفتند.

به موشهای باقیمانده فرصت داده شد تا دوره حاملگی آنان سپری شود و سپس چربی قهوه‌ای موجود در ناحیه اینتراسکاپولار نوزادان آنها در روزهای اول تا پانزدهم پس از تولد (به فواصل ۵ روز) و همچنین در زمان بلوغ (دو ماهگی) مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفت.

تهیه برشهای بافتی: به منظور بررسی ماهیت چربی واقع در ناحیه بین دو استخوان شانه، بخش توراسیک مربوط به ۶ جنین در هر یک از روزهای یاد شده که شامل قفسه سینه، مهره‌های پشتی و استخوانهای شانه بود، با استفاده از تیغ جراحی از بقیه قسمتها جدا شد و سپس با استفاده از محلول فرمالین-الکل-اسید استیک به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد ثابت شد؛ سپس با استفاده از محلول OCT^۱ و با استفاده از روشهای انجمادی، برشهایی با ضخامت ۸ میکرون تهیه شد.

رنگ‌آمیزی: برای مشاهده بروز چربی قهوه‌ای و تغییرات آن از رنگ‌آمیزی سودان ۴ و نیل بلوسولفات استفاده شد. با این روش رنگ‌آمیزی، چربیهای خنثی به رنگ صورتی متمایل به قرمز در

¹ Organic Cation Transporter

دیگری از این نوع چربی در اطراف آئورت‌های ابدومینال و ناحیه گردن (در محدوده عروق بزرگ) مشاهده گردید. از روز هجدهم نیز شواهدی از پیدایش این نوع چربی در اطراف کلیه‌ها قابل مشاهده بود. پیگیری این تغییرات نشان داد که در طول این مدت در ناحیه اینتراسکاپولار بر حجم این نوع چربی افزوده می‌شود (شکل ۱).

علاوه بر این از حدود روز نوزدهم جنینی تا اولین روز پس از تولد بتدریج در بعضی از نقاط زیر جلدی بخصوص در ناحیه سینه و محل شکل‌گیری غده پستان، علائمی از ظهور سلول‌های این نوع چربی نیز به ثبت رسید.

جهت تشخیص افتراقی اجزای موجود در چربی قهوه‌ای با استفاده از رنگ‌آمیزی نیل بلو سولفات مشخص شد که تا روز شانزدهم، قریب به ۵۵٪ از چربی موجود در آدیپوسیت‌های مربوط به این نوع چربی، از نوع چربی خنثی و چربی باقیمانده را فسفولیپیدها و اسیدهای چرب تشکیل می‌دهند. همچنین تا روز اول پس از تولد بر مقدار چربی خنثی افزوده می‌شد، به گونه‌ای که در این مرحله حدود ۷۰٪ آن متعلق به گروه چربیهای خنثی بود که این مقدار تا روز پانزدهم پس از تولد به حدود ۸۰٪ افزایش یافت و از آن به بعد ثابت ماند (شکل ۲).

مطالعه بافت چربی سفید مشخص کرد که فسفولیپید و اسیدهای چرب موجود در سلول‌های این نوع چربی حدود ۱٪ است و ۹۹٪ باقیمانده را چربیهای خنثی تشکیل می‌دهند.

آمدند، در حالی که اسیدهای چرب و فسفولیپیدها به رنگ صورتی متمایل به آبی ظاهر شدند، پس از این مرحله، بر اساس روشهای استریولوژی، حجم هر یک از چربیهای یاد شده، تعیین گردید (۹).

یافته‌ها

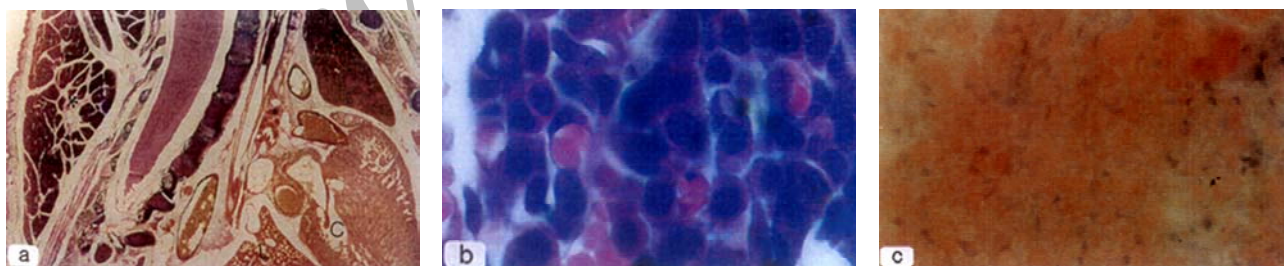
در چربی قهوه‌ای، سلول‌ها چند وجهی بودند و قطرات چربی با اندازه‌های متفاوت، فضای داخل سلول را اشغال کرده بودند. هسته این سلول‌ها جای معینی نداشتند و در لابه‌لای قطرات چربی در فضای میانی سلول قرار داشتند؛ در حالی که در چربی سفید، هسته معمولاً در حاشیه سلول دیده می‌شد.

بخش عمده قطرات چربی موجود در سلول‌های چربی قهوه‌ای از نوع چربی خنثی و بخش کمتر آن از نوع فسفولیپید و اسیدهای چرب بود.

بافت چربی قهوه‌ای، بر خلاف چربی سفید، دارای توزیعی محدود و منحصر به نقاط خاصی از بدن بود و بعد از تولد در نقاط دیگری ظاهر نشد. این بافت از نظر ابعاد و مورفولوژی با چربی سفید قابل مقایسه است.

این نوع چربی که در روز چهاردهم جنینی، اولین شواهد مربوط به پیدایش آن به صورت کلنی‌های سلولی برای اولین بار در نواحی اینتراسکاپولار مشاهده گردید، بتدریج در روزهای بعد افزایش بیشتری نشان داد.

در طی روزهای شانزدهم تا هفدهم جنینی، کانونهای



شکل ۱- (a): مقطع پارامدین از جنین ۱۸ روزه موش، در این نما چربی قهوه‌ای (ستاره) یک سمت بدن در ناحیه پشت مشخص شده است. در جلوی ستون مهره‌ها قلب (C) و ریه (L) قابل مشاهده است (بزرگنمایی ۴۰×). **(b):** در این نما چربی قهوه‌ای ناحیه بین استخوانهای اسکاپولا با بزرگنمایی بیشتر مشاهده می‌شود. این تصویر بعضی از ویژگیهای اختصاصی چربی قهوه‌ای از جمله عروق فراوان، کوچکی ابعاد سلول‌ها، هسته مرکزی و لوبوله بودن چربی موجود در آنها را نشان می‌دهد (بزرگنمایی ۴۰×). **(c):** برش انجمادی از چربی قهوه‌ای که با سودان نوع ۴ رنگ‌آمیزی شده است. در این نما فقط چربیهای خنثی با سودان عکس‌العمل نشان دادند و به رنگ صورتی ظاهر شده‌اند (بزرگنمایی ۱۰۰×).

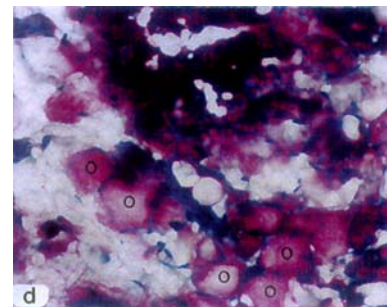
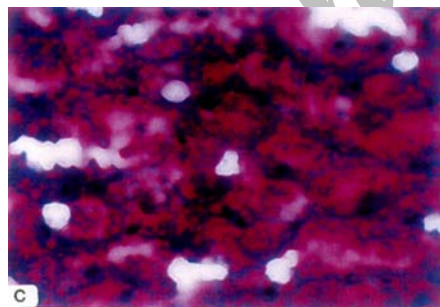
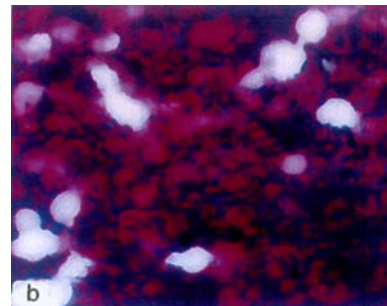
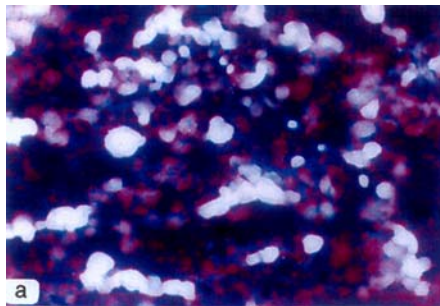
بحث و نتیجه گیری

کوچک و جنین انسان، دو نوع بافت چربی با ظاهر کم و بیش متمایز به وجود می‌آید (۱۲). چربی سفید بخش عمده بافت چربی بدن را تشکیل می‌دهد؛ چربی قهوه‌ای نوع دیگر آن است که در طی فرایند تکامل در نقاط خاصی از ساختمانهای جنینی شروع به ظاهر شدن می‌نماید و پس از تولد از میان می‌رود (۱۳، ۱۴).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که چربی قهوه‌ای به صورت توده‌های سلولی، برای اولین بار در حد فاصل بین دو اسکاپولا در روز چهاردهم جنینی ظهور می‌نماید. بر این اساس همان‌گونه که در بخش یافته‌ها ذکر شد، در اواخر دوران جنینی بتدریج بر مقدار این چربی افزوده می‌شود؛ به گونه‌ای که تا زمان تولد، کانونهای جدید دیگری از چربی قهوه‌ای در نقاط مختلف بدن شروع به ظاهر شدن می‌نمایند، از جمله می‌توان به چربی قهوه‌ای اطراف آئورت، اطراف کلیه‌ها و محدوده عروق گردنی اشاره کرد.

میزان چاقی در جوامع مختلف رو به افزایش است. امروزه بیش از نیمی از جمعیت ایالات متحده از اضافه وزن رنج می‌برند (۱). بر اساس گزارشات سازمان بهداشت جهانی، طی آمار هشداردهنده‌ای، عنوان شده است که تعداد کودکان و نوجوانان مبتلا به چاقی در ۲۰ سال گذشته دو برابر افزایش داشته است (۱۰). عوامل ژنتیکی در به وجود آمدن چاقی حائز اهمیت هستند و کودکانی که دارای والدین چاق باشند، ده بار بیشتر از کودکانی که والدینی با وزن طبیعی دارند، مستعد چاق شدن هستند (۱۰)؛ چاقی در هر سنی انسان را به سمت بیماریها و نارسایی در اندام های مختلف پیش می‌برد. به نظر می‌رسد هپاتیت ناشی از چربی می‌تواند تا ۴۰٪ موارد باعث تبیلی کبد شود و در ۵-۱۰٪ بیماران به سمت سیروز کبدی پیشرفت کند (۱۱).

در طی تکامل جنینی بعضی از پستانداران از قبیل جوندگان



شکل ۲- مقاطع برش انجمادی از چربی قهوه‌ای ناحیه بین اسکاپولا در سنین مختلف که با نیل بلو سولفات رنگ آمیزی گردیده است. در این نما چربیهای خنثی به رنگ صورتی متمایل به قرمز و کلاسترول و فسفولیپیدها به رنگ آبی مشاهده می‌شود. تصاویر a، b و c (بزرگنمایی ۱۰۰×)، مقاطع چربی قهوه‌ای را به ترتیب در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم پس از تولد نشان می‌دهند. سیر صعودی چربی خنثی و جانشینی آن به فسفولیپیدها و کلاسترول قابل مشاهده است. تصویر d (بزرگنمایی ۴۰۰×) که مربوط به یک نمونه بالغ (دو ماهه) می‌باشد، چربی سفید را در مجاورت چربی قهوه‌ای نشان می‌دهد. در این نما به هسته‌های حاشیه‌ای و بزرگی ابعاد سلول‌های چربی سفید (O) در مقایسه با چربی قهوه‌ای توجه شود؛ همچنین این نما اختلاف ماهیت چربیهای یاد شده را نشان می‌دهد. محتویات چربی سفید مربوط به این نما بر اساس نوع عکس‌العمل به نیل بلوسولفات همگی از نوع چربی خنثی می‌باشد؛ در حالی که بخش عمده (حدود ۸۰٪) چربی

قهوه‌ای این نمونه را چربی خنثی تشکیل می‌دهد.

یکی از مواردی که در پژوهشهای مشابه از آن ذکر می‌شود به میان نیامده، مشاهده پیدایش این نوع چربی در ناحیه سینه و در قاعده غده پستان است که در پژوهش حاضر به آن اشاره شده است.

نتایج حاصل از مطالعات مختلف ثابت می‌کند که چربی قهوه‌ای را در طی تکامل جنینی انسان نیز می‌توان یافت. این نوع چربی در هفته بیست‌وهشتم زندگی جنینی انسان ظاهر می‌شود و تا زمان تولد حدود ۲-۵ درصد چربی ساختمان بدن را به خود اختصاص می‌دهد و پس از آن بتدریج در شرایط طبیعی از بین می‌رود و جای خود را به چربی سفید تک‌حجره‌ای می‌سپارد (۱۵-۱۷).

موضوع دیگری که در سایر پژوهشها، کمتر مورد توجه بوده و در این مطالعه مورد تحقیق قرار گرفت، بررسی تفاوت ساختمانی موجود بین چربی قهوه‌ای و سفید از نظر محتویات سلولی بود. بدین منظور با استفاده از روشهای رنگ‌آمیزی افتراقی که به کمک نیل بلو سولفات صورت گرفت، مشخص شد که از زمان پیدایش چربی قهوه‌ای تا روز شانزدهم زندگی جنینی حدود ۵۵٪ چربی موجود در آدیپوسیت‌های مربوط به این نوع چربی، از نوع چربی خنثی هستند و چربی باقیمانده را فسفولیپیدها و اسیدهای چرب به خود اختصاص می‌دهند. پیگیری روند مطالعه چربیها همچنین نشان داد که میزان چربی خنثی در طی روزهای اول پس از تولد همچنان رو به افزایش است تا آنجا که تا روز پانزدهم مقدار این نوع چربی به حدود ۸۰٪ افزایش می‌یابد؛ موضوع دیگر این که بر اساس گزارشات موجود تاکنون عنوان شده است که میزان فسفولیپید و اسیدهای چرب موجود در سلول‌های چربی سفید حدود ۱٪ است و ۹۹٪ باقیمانده را چربیهای خنثی به خود اختصاص می‌دهند (۱۸-۲۰). نتایج حاصل از این مطالعه علاوه بر این که این موضوع را تایید می‌نماید، مشخص‌کننده این واقعیت است که این مقدار در چربی قهوه‌ای به ترتیب به میزان ۲۰٪ و ۸۰٪ تغییر می‌یابد (شکل ۲- d).

از سوی دیگر درباره هیستوژنز چربی قهوه‌ای، نظرات

متفاوتی وجود دارد؛ به عنوان مثال بر اساس برخی از نظریات، بافت چربی در حقیقت همان بافت همبند معمولی است که در فیروپلاست‌های خود به ذخیره چربی مبادرت می‌نماید (۲۱) از سوی چنین نظریه‌ای منطقی به نظر نمی‌رسد، زیرا در پدیده چاقی، بافت چربی در نقاط خاصی از بدن انباشته می‌شود ولی در نقاط دیگری از بدن مثل ساختمان پلک‌ها، بینی و اسکروتوم که دارای مقدار متنابهی بافت همبند هستند، زمینه تجمع بافت چربی وجود ندارد (۲۲).

بر اساس شواهدی دیگر، بافت چربی توسط سلول‌های مزانشیمال تمایز یافته‌ای با عنوان لیپوبلاست‌ها مشتق می‌شوند. بر اساس این نظریه توزیع و پراکندگی چربی افراد بالغ بستگی مستقیم به توزیع و نسبت فراوانی لیپوبلاست‌ها دارد (۲۱). آخرین نظریه‌ای که در باب پیدایش بافت چربی و منشأ آن مطرح شده است، در حقیقت تلفیقی از دو نظریه اخیر است. بر اساس این نظریه روند هیستوژنز بافت چربی منحصر به زندگی جنینی نیست، بلکه در هر سنی می‌تواند شروع به فعالیت نماید (۲۳). بر این اساس روند ساخته‌شدن چربی در طی دوران جنینی لیپوبلاست‌ها انجام می‌پذیرد و حال آن که در طی زندگی پس از تولد روند ذخیره چربی در سلول‌های تمایز نیافته بافت همبند به وقوع می‌پیوندد. بر اساس این نظریه در طی زندگی داخل رحمی بخشی از سلول‌های تمایز نیافته با تجمع در اطراف همدیگر منجر به تشکیل توده‌ای لوبوله از سلول‌های اپیتلوئید می‌گردد که عناصر چربی به صورت قطرات مجزا در قالب بافت چربی قهوه‌ای تکامل می‌یابد؛ در حالی که سلول‌های مزانشیمی ممکن است به طور مستقیم با ذخیره کردن چربی به صورت بافت چربی سفید در آیند (۶، ۲۴).

در جوندگانی که پس از تولد و حتی در زمان بلوغ چربی قهوه‌ای در آنان باقی مانده است، گویای این مطلب است که این نوع چربی در آنان از چربی سفید به صورت متمایز باقی مانده است. ولی این احتمال وجود دارد که در انسان و یا گونه‌هایی که پس از تولد، چربی قهوه‌ای در آنان از بین می‌رود، سلول‌های این نوع چربی نوع واسطی تلقی شود که با به هم پیوستن قطرات آن

به بافت چربی سفید تغییر ماهیت داده است (۲۵-۲۷).
 هر چند که مطالعه حاضر تکامل بافت چربی قهوه‌ای را از
 زمان پیدایش تا زمان بلوغ مورد بررسی قرار داد و سیر تغییرات
 عناصر این نوع چربی را از نظر ساختمانی مشخص نمود اما مسلم
 است که برای مطالعه دقیق‌تر این نوع چربی، استفاده از سایر

روشهای پیشرفته مطالعاتی از جمله به‌کارگیری روشهای
 ایمونوهیستوشیمیایی و بهره‌گیری از میکروسکوپ الکترونی
 می‌تواند به شناخت دقیق‌تر پدیده پیدایش و تغییرات ساختمانی
 آن کمک نماید.

منابع:

- 1- Ashwell W. Is there a continuous spectrum of the adipose tissues in animal and man? In: Vague J, Bjorntorp B, Guy-Grand M, Rebuffe-Srive, Vague P. (Eds.) *Metabolic Complications of Human Obesities*. New York: Elsevier Science Publishers; 1985. pp 265-74.
- 2- Loncar D, Bedrica L, Mayer J, Cannon B, Nedergaard J, Afzelius BA, et al. The effect of intermittent cold treatment on the adipose tissue of the cat. Apparent transformation from white to brown adipose tissue. *J Ultrastruct Mol Struct Res*. 1986; 97: 119-29.
- 3- Nishimura M, Moriya M, Saitoh M, Murakoshi N, Shimizu Y. Is the growth of brown adipocytes necessary for cold acclimation in mice? *Pharmacology*. 1999; 59 (3):149-55.
- 4- Rothwell NJ, Stock MJ. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature*. 1979; 281: 31-35.
- 5- Moulin K, Truel N, Andre M, Arnauld E, Nibelink M, Cousin B, et al. Emergence during development of the white-adipocyte cell phenotype is independent of the brown-adipocyte cell phenotype. *Biochem J*. 2001; 356 (2): 659-64.
- 6- Houstek J, Kopecky J, Baudysova M, Janikova D, Pavelka S, Klement P. Differentiation of brown adipose tissue and biogenesis of thermogenic mitochondria in situ and in cell culture. *Biochim Biophys*. 1990; 1018 (2-3): 243-47.
- 7- Kero JT, Savontaus E, Mikola M, Pesonen U, Koulu M, Keri RA, et al. Obesity in transgenic female mice with constitutively elevated luteinizing hormone secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003; 285 (4): 812-18.
- 8- Joyner CJ, Triffitt J, Puddle B, Athanasou NA. Development of a monoclonal antibody to the aP2 protein to identify adipocyte precursors in tumours of adipose differentiation. *Pathol Res Pract*. 1999; 195 (7): 461-66.
- 9- Wesbel ER. *Elementary Introduction to Stereological Principles*. Stereological Methods. Vol 1; Practical Methods for Biological Morphometry. London: Academic Press; 1979: 9-62.
- 10- Wertheimer E, Shapiro B. The physiology of adipose tissue. *Physio Rev*. 1948; 28: 451.
- 11- Cousin B, Cinti S, Morroni M, Raimbault S, Ricquier D, Penicaud L, et al. Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *J Cell Sci*. 1992; 103: 931-42.
- 12- Trayhurn P, Wusteman MC. Lipogenesis in genetically diabetic (db/db) mice: developmental changes in brown adipose tissue, white adipose tissue and the liver. *Biochim Biophys Acta*. 1990; 1047 (2): 168-74.
- 13- Ailhaud G, Grimaldi P, Negrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr*. 1992; 12: 207-33.
- 14- Cannon B, Nedergaard J. The biochemistry of an inefficient tissue: brown adipose tissue. *Essays Biochem*. 1985; 20: 110-64.
- 15- Cornelius P, McDougald OA, Lane MD. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr*. 1994; 14: 99-129.
- 16- Desautels M, Dulos RA. Effects of neonatal sympathectomy on brown fat development and susceptibility to high fat diet induced obesity in mice. *Can J Physiol Pharmacol*. 1991; 69 (12): 1868-74.
- 17- Geloan A, Collet AJ, Guay G, Bukowiecki LJ. In-vivo differentiation of brown adipocytes in adult mice: an electron microscopic study. *Am J Anat*. 1990; 188 (4): 166-72.
- 18- Mercer SW, Trayhurn P. Developmental changes in fatty acid synthesis in interscapular brown adipose tissue of lean and genetically obese (ob/ob) mice. *Biochem J*. 1983; 212 (2): 393-98.
- 19- Tarkkonen H, Julku H. Brown adipose tissue in young mice: activity and role in thermoregulation. *Experientia*.

1968; 24 (8): 798-99.

20- Trayhurn P. The role of brown adipose tissue in the development of the obese-hyperglycemic syndrome in mice. *Prog Clin Biol Res.* 1988; 65: 69-85.

21- Napolitano L. The differentiation of white adipose cells. *J Cell Biol.* 1963; 18: 663.

22- Kim DW, Kim BS, Kwon HS, Kim CG, Lee HW, Choi WH, et al. Atrophy of brown adipocytes in the adult mouse causes transformation into white adipocyte-like cells. *Exp Mol Med.* 2003; 35 (6): 518-26.

23- Gouon-Evans V, Pollard JW. Unexpected deposition of brown fat in mammary gland during postnatal development. *Mol Endocrinol.* 2002; 16 (11): 2618-27.

24- Himms-Hagen J, Melnyk A, Zingaretti MC, Ceresi E, Barbatelli G, Cinti S. Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2000; 279: C670-C681.

25- Li Y, Knapp JR, Kopchick JJ. Enlargement of interscapular brown adipose tissue in growth hormone antagonist transgenic and in growth hormone receptor gene-disrupted dwarf mice. *Exp Biol Med.* 2003; 228 (2): 207-15.

26- Lowell BB, Susulic V, Hamann A, Lawitts JA, Himms-Hagen J, Boyers BB, et al. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature.* 1993; 366: 740-42.

27- Mandrup S, Lane MD. Regulating adipogenesis. *J Biol Chem.* 1997; 272: 5367-370.

Archive of SID