مکان رنگهای صفرا دوست در یاخته‌های کبدی*

دکتر رضا نفیسی
گروه شیمی پزشکی ـ دانشکده پزشکی ـ دانشگاه تهران

«مقدمه»

میکروسکپ الکترونیك تحولی عظیم در دانش یاخته شناسی پدید آورد و چهره پنهان سیتوپلاسم یاخته‌ای که درآغازقرن ما دستگاه یکنواختی بشمارمیآمد، درسالهای اخیرباتشکیلات درهم پیچیده خود آشکار شد و ببرکت استفاده از اولتراسانتریفوژ مجزا ساختن عناصر مختلف یاخته‌ای از یکدیگر امکان پذیر گردید و پژوهندگان توانستند ترکیب شیمیایی و فعالیت آنزیمی هریك از این عناصررا مطالعه کنند وارتباط حیاتی وفیزیولوژیك آنان را با یکدیگر کم یا بیش مشخص سازند .

اکنون میدانیم که سراسرسیتوپلاسم یاخته‌ای را تشکیلات تشریحی که به « تورینه درون پلاسمایی» [1] موسومند فراگرفته‌اند[۳۸،۳۹]. تورینه‌های مذکور که ازدولایه تشکیل یافته‌اند ازسویی به غشاء یاخته‌ای پیوند دارند وپس ازآنکه سراسرسیتوپلاسم را پیمودند ، دولایه آنهااز یکدیگرمجزا میشوند وهسته یاخته را درخود میگیرند وبعبارت دیگربمنشاء هسته مبدل میشوند [۵۰] وجمعی ازپژوهندگان برآنند [۴۲،۵۱] که تورینه درون پلاسمایی ازغشاء هسته بوجود میآید واز همینجاست که درهمه یاخته‌های هسته‌دارمشاهده میشود . درحالیکه در گویچه‌های‌سرخ بالغ دیده نشده است .

مدارك متعدد نشان‌میدهد که تورینه‌های درون پلاسمایی ، مجاری درون یاخته‌ای هستند که ازاین‌مجاری مواد شیمیایی‌بدرون‌یاخته‌راه مییابندوآنزیم‌هاو ذرات‌پروتئینی که‌درياخته ساخته

* ـ این تحقیقات دربخش شیمی پاتولوژیك دانشگاه لیدز انجام‌گرفت و بسزاست که‌در اینجا مراتب سپاسگزاری و امتنان خود را از استاد بخش مذکور Prof. G. H Lathe که در جریان‌اجرای این طرح وطرح‌های دیگرهمیشه مشوق و راهنمای‌نگارنده بوده‌اند اظهار دارم .

1 – Endoplasmic reticulum

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

شده‌اند بخارج رانده میشوند [۱۸،۳۵،۴۱] .

بسطح تورینه درون پلاسمایی کـه مجاور سیتوپلاسم حقیقی یاخته است عناصری بقطر ۵۰ـ۱۵۰ آنگستروم وموسوم به ریبوزوم[1] اتصال دارند، این‌عناصر بخصوص از اسیدریبونوکلئیك (RNA) ساخته شده‌اند ومرکزپروتئین سازی یاخته میباشند . ریبوزومها درسراسرسطح تورینه درون پلاسمایی مشاهده نمیشوند و در قسمتی از یاخته تورینه های مذکور فاقـد این عناصرند و باصطلاح سطح تورینه دراین ناحیه صاف میباشد . این قسمت از تورینه درون پلاسمایی کـه فاقد ریبوزومهاست شاید همان دستگاه گلژی[2] باشد که مصنفان درکتب کلاسیك بشرح آن پرداخته‌اند [۱۷،۳۳] .

در فضای بین تورینه‌های درون پلاسمایی ، سیتوپلاسم حقیقی یاخته مـکان دارد و درآن عناصرمتعددی شناورند که ازجمله میتوکندری‌ها[3] ولیزوزومها[4] را باید نام برد .

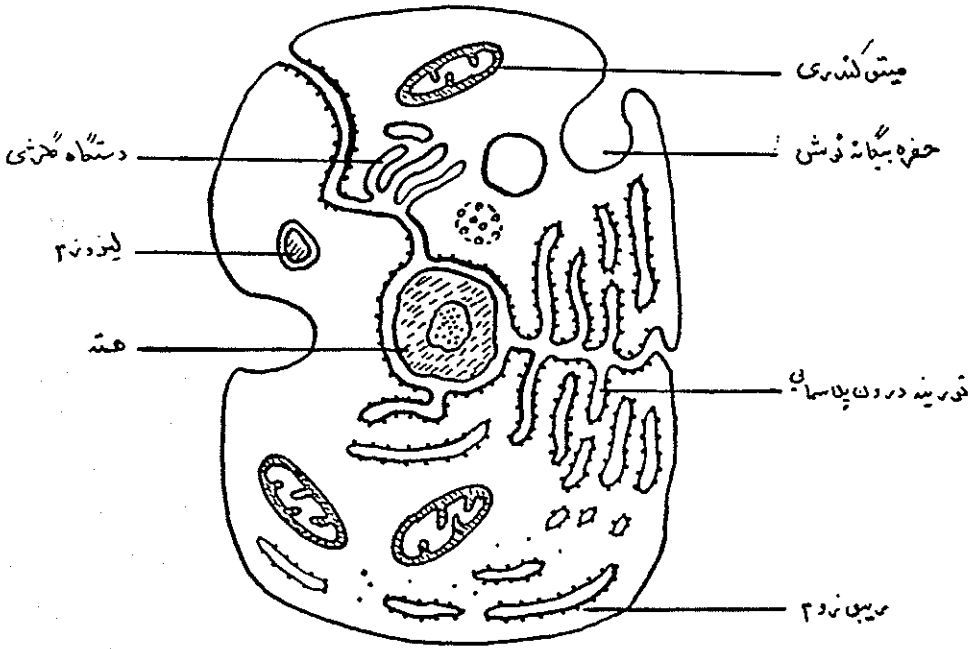
با میکروسکپ معمولی میتوکندری‌ها بشکل رشته‌هایی که بطور متوسط نیم میکرون‌قطر و دومیکرون طول دارند مشاهده میشوند ، میتوکندری های دیگری با ابعادکوچکتر نیز دیده شده‌انـد [٤] . این عناصردر درون یاخته‌ها متحرك هستند و میتوانند در سیتوپلاسم یاخته‌ای از سویی بسوی دیگرعزیمت کنند [۱۵] و ساختمان میتوکندری‌ها بویژه با میکروسکپ الکترونیك مطالعه شده است . غشاء این عناصررا پرده دولایی تشکیل می‌دهدکه لایه درونی انشعاباتی ازخود خارج میسازد وفضای درونی میتوکندری‌ها را بحجره‌های کوچك تقسیم میکند [۳۱].

ازجمله عناصردیگر درون سیتوپلاسم یاخته‌ای لیزوزومها هستندکه مطالعات دقیقی درباره آنزیم‌های موجود در آنان انجام گرفته است [۱۰] اما تاکنون از نظر میکروسکپی مشخص نشده‌اند وباندیشه جمعی از پژوهندگان این عناصرهمان حفره‌های درون پروتوپلاسم هستندکـه رنگهای بازیك ازجمله آبی تولوئیدین وقرمزخنثی را بخود میگیرند [٤] و درباخته‌های کبدی میتوان آنان را بکمك اولترا میکروسکپ در اطراف مجاری بین یاختـه‌ای و صفراوی مشاهده کرد [۲۹] .

هرچند شیوهٔ تجزیه شیمیایی عناصر مختلف یاخته‌ای یـك قرن سابقه دارد و درآن اوان «میشر» بتجزیه‌هسته یاخته‌ها پرداخت [۲۷] وهمچنین بسال ۱۹۱۳ واربورگ نتایج حاصل از تجزیهٔ عناصر درون پـلاسمایی را منتشر کرد [٤۹] با اینهمه این روش تنها پس از بـکار بردن

1_ Ribosome
2_ Golgi apparatus
3_ Mitochondria
4_ Lysosome

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]



شکل شماره ۱ ساختمان یاخته‌ای

اولترا سانتریفوژ رونق گرفت وبسال ۱۹۳٤ مجزا ساختن میتوکندری‌ها امکان‌پذیر گردید [۳] و پس ازچند سال کلود بابکار بردن قدرتی معادل صد هزار g [1] بمدت یکساعت در دستگاه اولترا ـ سانتریفوژ بمجزا ساختن عناصر ریزتری که بامیکروسکپ معمولی مشاهده نمیشوند موفق گردید وعناصر مذکور را میکروزوم [2] نامید [۷،٦] . بعدها ثابت شد که میکروزم‌ها شامل ذرات‌خرد شده تورینه درون پلاسمایی و همچنین ذرات ریبوزوم هستند [۳۲،٤۰] .

برمبنای روش کلاسیك کلود که مصنفان دیگر تغییراتی در آن داده‌اند [٤۵،۱] نخست یاخته‌ها را در دستگاه همگن‌ساز [3] خرد میکنند وسپس ماده همگن [4] را در اولترا سانتریفوژ قرار میدهند وبرحسب نیروی g بترتیب دسته‌های زیررا ازیکدیگر جدا میسازند .

۱ ـ هسته ها .

$1 - g = 1118 \times 10 \times R \times (rpm)^2$

Rعبارت از فاصله‌محورچرخش تامادہ مورد آزمایش و (rpm) تعداد دوران دردقیقه‌است

2 - Microsome
4 - Homogenizer
5 - Homogenate

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

۲ ـ میتوکندری ها .

۳ ـ میکروزم ها (ذرات تورینه درون پلاسمایی و ریبوزوم ها) .

٤ ـ لیزوزم ها که برحسب نیروی g ممکن‌است در گروه میتوکندری ها یامیکروزم ها قرارگیرند .

٥ ـ مایع باقیمانده کـه به شیره یاختهای [1] موسوم است و شامل سیتوپـلاسم حقیقی یاخته میباشد .

ترکیب شیمیایی وآنزیم‌های موجود درهرگروه بقرار زیراست :

الف ـ هسته‌ها ـ اسید دزکسی ریبونوکلئیك (DNA) منحصراً دراین دسته قرار دارد و همانطورکه میدانیم ژن ها یا واحد های بیولوژیك توارث از این ماده ساخته شده‌اند علاوه براین هسته محتوی اسید ریبونوکلئیك (RNA) است . شیوه‌های رنگ‌آمیزی اختصاصی نشان داده‌اندکه مادهٔ اخیردرهستك جایگزین شده است . ازدیگر ترکیبات هسته ، هیستون‌ها ومواد چربی بویژه فسفولیپید ها را میتوان نام برد .

هسته جایگاه نوعی واکنش‌های « فسفریلاسیون اکسیداتیو » است که روش‌آنها ازبسیاری جهات همانند واکنش‌های فسفریلاسیون اکسداتیو میتوکندری هاست [۳۰] و در جریان این واکنش‌ها ذرات‌آدنوزین ـ منوفسفات (AMP)به آدنوزین تری‌فسفات(ATP)مبدل‌میشوند ، بجز ازآدنوزین تری فسفات ، نوکلئوتید های آزاد دیگری که بمثابه‌کو آنزیم در واکنش های حیاتی شرکت دارند درهسته ساخته میشوند [٤٧.۳۰] واهم‌آنها عبارتند از :

اوریدین تری فسفات (UTP)

اوریدین دی فسفوگلوکز (UDPG)

نیکوتین‌آمید ـ آدنین دی نوکلئوتید (NAD)

ب ـ میتوکندری‌ها ـ این عناصر جایگاه اساسی واکنش های فسفریلاسیون اکسیداتیو هستند [٤٦] . بعلاوه بیشترآنزیم‌های دوره‌کربس وآنزیم‌های مؤثر درکاتابولیسم اسیدهای‌چرب واسیدهای آمینه وکولین در این‌گروه قرار دارند [۲٤] . ۲٥ـ۳۰٪ وزن میتوکندری‌ها از مواد لیپیدی تشکیل یافته‌که بیشترآن بحالت فسفولیپید بویژه لسیتین است [۱۹] .

ج ـ میکروزوم ها ـ چنانکه‌گذشت این دسته ازذرات تورینه درون پلاسمایی خرد شده و دانه‌های ریبوزوم تشکیل یافته است . همه‌آنزیم‌ها و پروتئین‌ها و فسفولیپید و هموکروموژن این دسته در ذرات تورینه درون پلاسمایی‌واسید ریبونوکلئیك در ذرات‌ریبوزوم قرار دارند[۳٤].

1 - Cell Sap or Supernatant Fluid

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

از جمله آنزیم های موجود در تورینه درون پلاسمایی گلوکز شش فسفاتاز ، کلسترل سنتتاز ، کلسترل استراز ، نوعی سیتوکروم اکسیداز ، ویتامین « آ » استراز و سرانجام گلوکورونیل ترانسفرازرا باید نام برد .

گلوکورونیل ترانسفراز [۴۸،۱۳،۲] بویژه‌بامطالعاتی که‌شرح‌آن در اینجا خواهد آمد ارتباط دارد ، این‌آنزیم باشرکت«اوریدین دی‌فسفوگلوکورونیك اسید» (UDPGA)بیلیروبین را درکبد به بیلیروبین ـ گلوکورونید مبدل میسازد .

د ـ شیرهٔ یاخته‌ای ـ این دسته شامل سیتوپلاسم حقیقی یاخته میباشد و از ترکیبات موجود در آن نوعی اسید ریبونوکلئیك محلول [1] است [۳۷،۳۶] که اسیدهای آمینه را بجایگاه پروتئین‌سازی یاخته ، ریبوزوم‌ها حمل میکند . ۳۵ ـ ۴۰٪ ازت یاخته‌ای دراین‌دسته یافت میشود . ازآنزیم‌های این دسته ایزوسیتریك دهیدرژناز ، لاکتیك دهیدرژناز ، پیروفسفاتاز فسفاتازقلیائی ، ترانس آمیناز ، گلوکزشش فسفات دهیدرژناز وآنزیم های گلیکولیتیك که گلیکوژن را به اسید پیرووبك مبدل میسازند [۲۶] باید نام برد .

ه ـ لیزوزوم ها ـ چنانکه‌گذشت این دسته زمانی با میکروزوم ها و زمانی دیگر با میتوکندری ها مخلوط میگردند[۱۰]. فسفاتاز اسید ،بتاگلوکورونیداز ، ریبونوکلئاز دزکسی‌ـ ریبونوکلئاز وکاتپسین‌ازآنزیم‌های موجود دراین دسته‌اند . نکتهٔ قابل توجه آنست که آنزیم های مذکور همه مخرب ساختمان یاخته‌ای هستند ودر دوران حیات یاخته فعالیتی ندارند و جمعی از پژوهندگان‌برآنند که پاره شدن لیزوزم‌ها وآزاد شدن آنزیم‌های مخرب‌نشانهٔ تغییرات مرضی و سرآغاز مرگ یاخته‌ایست [۱۱].

ازآنچه باختصار گذشت میتوان ازساختمان یاخته‌ای تصویری بدست‌آورد ومطلب در خور توجه حرکت درون یاخته‌ای ذرات شیمیایی در جریان واکنش های آنابولیسم است . چنانکه گلوکز درسیتوپلاسم حقیقی یاخته که جایگاه واکنش‌های گلیکولیتیك است به اسید پیرووبك مبدل میشود وسپس‌اسید پیرووبك درمیتوکندری‌ها در واکنش‌های دوره کربس بکارگرفته‌میشود ومیسوزد . همچنین گلوکز شش فسفات درتورینه درون‌پلاسمایی ذره فسفات خودرا ازدست‌میدهد وگلوکزآزاد میشود .

همین امر درمورد حرکت بیلیروبین درون یاخته کبدی توجه لیت[2] را بخود جلب کرد و بسزاست که دراینجا قطعه‌ای ازنوشتهٔ او را نقل کنیم :

1 _ Soluble or Tranfer RNA
2 – Lathe

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

« تجربیات ما ودیگر پژوهندگان (۱۹۵۷) نشان داد کـه میکروزوم هاجایگاه»
« تبدیل بیلروبین به بیلیروبین گلو کورونید هستند . این مشاهـدات سئوالهای‌بسیار»
« جالب توجهی را درمورد حرکت‌بیلیروبین دریاخته کبدی مطرح میکند. این ماده»
« درسطح یاخته کبدی بحالت مجموعه بیلیروبین - آلبومین است و درمیکروزوم ها»
« ترکیب میشود و سپس بمجاری صفراوی بین یاخته ای منتقل میگردد . درجریان»
« این تغییرات دیگرمکانهای یاخته‌ای نیزشرکت دارندزیرا UDPG درهسته‌ساخته»
« میشود ودرسیتوپلاسم یاخته‌ای به U DPGA تبدیل میگردد وسپس مادهٔاخیر در»
« سطح یادرون میکروزم ها بمصرف گرایش بیلیروبین به بیلیروبین ـ گلوکورونید»
« میرسد [۲۵] .

لیت و همکارانش در سالهای اخیر همه کوشش خود را در راه هویـدا ساختن چگونگی حرکت بیلیروبین در یاخته کبدی بکار برده‌اند ودر راه کمك بانجام همین منظور بود که نگارنده این مقاله درصدد برآمد که مکان رنگهای صفرا دوست را در یاخته کبدی معلوم کند . مقصود از رنگهای صفرا دوست مواد رنگینی هستند که پس از ورود بجریان خون بسرعت بوسیله یاخته کبدی جذب وهمراه باصفرا دفع میشوند وبروده‌ها میریزند .

یکی ازرنگهای صفرا دوست B.S.P. [1] است که نخستین‌بار بسال ۱۹۲۵ بوسیله روزنتال [2] برای تعیین ارزش‌کارکبد مصرف شد [٤٤]

واکنون بتحقیق پیوسته است که یاخته‌های کوپفر در ترشح آن دخالتی ندارند واین ماده ازجریان خون بوسیله یاخته‌های پارانشیم کبد جذب‌میشود [٤٣]وقسمت اعظم آن در یاخته‌های کبدی باگلوتاتیون‌ترکیب میشودوسپس‌بحالت‌ترکیب‌ازراه‌مجاری صفراوی دفع میگردد[۲۲،۸]

ماده رنگین صفرا دوست دیگری که‌مورد مطالعه قـرار گرفت « ایندوسیانین سبز » I.C.G. [3] است که نخستین بار در مایوکلینیك درارزیابی کارفیزیولوژیك قلب مصرف شد [۱۶] وشریك وهمکارانش نشان دادند که این ماده منحصراً ازراه مجاری صفراوی دفع میشود ومیتوان آنرا همانند B.S.P. برای ارزیابی کارکبد بکار برد[۵]. با این‌همه‌این‌دوماده رنگین یك تفاوت اساسی دارند و در حالیکه B.S.P. بحالت ترکیب با گلوتاتیون از راه مجاری صفراوی دفـع میشود I.C.G. بدون تغییر و بحالت آزاد ازیاخته کبدی میگذرد وبروده‌ها میریزد .

1 – Bisodium Phenoltetrabromophtalein Sulfonate
2 – Rosenthal
3 – Indocyanine green

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

سومین ماده رنگینی که ما در تجربیات خود بکار بردیم فنل فتالئین است که شیوه ترشح آن از بسیاری جهات همانند بیلیروبین میباشد و در یاخته کبدی با اسید گلیکورونیك ترکیب میشود وبحالت فنل فتالئین ـ گلوکورونید بمجاری صفراوی میریزد [۲۳] . بعلاوه فنل فتالئین همچون بیلیروبین درآب غیرمحلول است وتنها بحالت فنل فتالئین ـ گلوکورونید درآب حل میشود .

جدول شماره ۱ حالت رنگهای صفرا دوست درخون وصفرا

صفرا	پلاسما	ماده رنگین
BSP - Glutathione	BSP - Albumin	B.S.P.
ICG	ICG - Albumin	I.C.G.
PP - Glucuronide	PP - Albumin	PP (فنل فتالئین)
B - Glucuronide	B - Albumin	B (بیلیروبین)

هرسه ماده رنگینی که نام بردیم در جریان خون به آلبومین های پلاسما پیوند دارند و جدول شماره ۱ حالت هریك ازآنها وهمچنین بیلیروبین را درخون وصفرا نشان میدهد .

« روش های آزمایشگاهی »

موش‌های نر از تیره شفیلد [1] بوزن ۲۵۰ ـ ۳۰۰ گرم تحت تزریق درون صفاتی محلول بیحس کننده نمبوتال [2] (۰/۰۷ سانتیمتر مکعب برای هر صدگرم وزن موش) قرارگرفتند و سپس جداگانه بهرموش یکی از رنگهای B.S.P. یا I.C.G. یا فنل فتالئین 4×10^{-3} ملکول گرم برای هرصدگرم وزن موش) بدرون رگ رانی تزریق شد .

محلول تزریقی B.S.P. در آب مقطر تهیه شد و محلول تزریقی ایندوسیانین بروش زیر مهیا گردید .

ایندو سیانین سبز	۸ میلی گرم
آب مقطر	۷ سانتیمتر مکعب
پلاسما	۱ » »
کلرورسدیم ۰/۱۰٪	۱ » »

برای تهیه محلول تزریقی فنل فتالئین به بیست میلی گرم ازاین ماده ، قطره قطره محلول

1 - Sheffield Rat
2 - Nembutal
3 - Spinco model L., Rotor No:41

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

دوبرابر نرمال سود محرق افزودیم تا ماده رنگین بطور کامل حل شود سپس با افزایش محلول دوبرابر نرمال جوهرنمك pH محلول رابه ۷٫۸ رساندیم وبلافاصله بتزریق مقدار لازم این‌محلول اقدام نمودیم ـ پنج دقیقه بعـد از تزریق ماده رنگین ، کبد حیوان را خارج کردیم و آنرا در محلول سرد سرم فیزیولوژیك قرار دادیم ودر همان محلول کبد را با قیچی بقطعات کوچك تقسیم نمودیم و قطعات کبد را سه مرتبه با محلول سرد سرم فیزیولوژیك بخوبی شستشو دادیم و سپس قطعات را درلابلای کاغذ صافی تا حد مقدور خشك نمودیم و آنان را توزین نموده و در دستگاه همگن ساز در محلول ۲۵٪ ملکول گرم درلیتر سوکروز قرار دادیم وبا سرعت سه هزار دوردر دقیقه بمدت دو دقیقه همگن یاخته‌ای را ساختیم وبا افزایش محلول سوکروز نسبت ماده همگن را بنحوی تنظیم نمودیم که هر ده سانتیمتر مکعب آن محتوی یك گرم نسج کبد باشد . و در همه حال کلیه عملیات مذکور را در اطاق سرد (٤درجه سانتیگراد)بپایان رساندیم .

سپس همگن یاخته‌ای را دردستگاه اولتراسانتریفوژ[1] قراردادیم وعناصرمختلف یاخته‌ای (هسته‌ها ومیتوکندری‌ها ، میکروزوم‌ها ، شیره یاخته‌ای) را از یکدیگر جداکردیم و در مورد I.C.G. ماده رنگین را باالکل استخراج نمودیم وبا مقایسه‌آن بامحلول الکلی که غلظت I.C.G. آن معلوم بود مقدار ماده رنگین را در هریك از دسته‌های یاخته‌ای مشخص ساختیم .

اندازه‌گیری BSP را بروش نتلسون [۲۸] و انـدازه‌گیری فنل فتالئین و فنل فتالئین ـ کلوکورونید را بروش مندرج درمجله بیوشیمی [۲۳] انجام دادیم و درهمه موارد برای سنجش ماده رنگین دستگاه اسپکتروفوتومتر[1] را بکار بردیم .

شیوه دیالیزرا برضد فشار خلاء انجام دادیم و برای این منظور لولـه‌های دیالیز کارخانه هود[2] را بکار بردیم . روش الکتروفورز استات سلولزرا برای مشخص ساختن دستجات پروتئین‌های یاخته‌ای انتخاب نمودیم و از محلول تامپون و روتال (pH = 8.6) استفاده کردیم ، زمان الکتروفورز یکساعت‌وشدت‌جریان‌یك میلی‌آمپربرای‌هر ۲٫۵ سانتیمتر عرض کاغذاستات‌سلولزبود.

برای مجزا ساختن ریبوزوم ها و ذرات تورینه درون پلاسمایی در میکروزم‌ها روش هالتن [۲۰] وبرای محلول ساختن میکروزم‌ها روش ایسل باکر[۲۱] را بکار بردیم .

برای مجزا ساختن لیزوزم‌ها از سایر عناصریاخته از شیوه مندرج در مجله بیوشیمی [۹] استفاده نمودیم . پروتئین های مختلف یاخته‌ای را در درجات متغیر اشباع سولفات آمونیوم از یکدیگرجدا کردیم و دراین راه از فرمول $X = \frac{V(C_1 - C_2)}{100 - C_2}$ استفاده‌نمودیم که درآن X

1 ـ Unicam Spectrophotometer SP 600

2 ـ Visking dialysis tubing, Hudes Merchandising Co .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

تعداد سانتیمترمکعب محلول سولفات آمونیوم اشباع شده است که باید بمحلول محتوی پروتئین افزوده شود و V حجم محلول و C_1 درجه اشباع موجود و C_2 درجه اشباعی است که خواستار آن هستیم .

«نتیجه»

نخستین تجربیات ما نشان داد که رنگهای صفراوی دریاخته کبدی ، در میکروزمها یا در شیره یاخته‌ای جمع میشوند ومقدارشان درهسته‌ها ومیتوکندری‌ها ناچیز وشاید ناشی ازآلودگی دستجات اخیربا میکروزمها باشد. جدول شماره۲ تقسیم .I.C.G و .B.S.P را دردسته‌های‌مختلف یاخته‌ای برحسب چند درصد نشان می‌دهد :

جدول شماره ۲ ـ تقسیم مواد رنگین در دسته‌های یاخته‌ای

ماده رنگین	شیره‌یاخته‌ای	میکروزم‌ها	میتوکندری‌ها وهسته‌ها
BSP	٪۸۵ر۰	٪۹ر۰	٪۵ر۰
ICG	٪۱۲ر۷	٪۷۳ر۶	٪۱۳ر۷

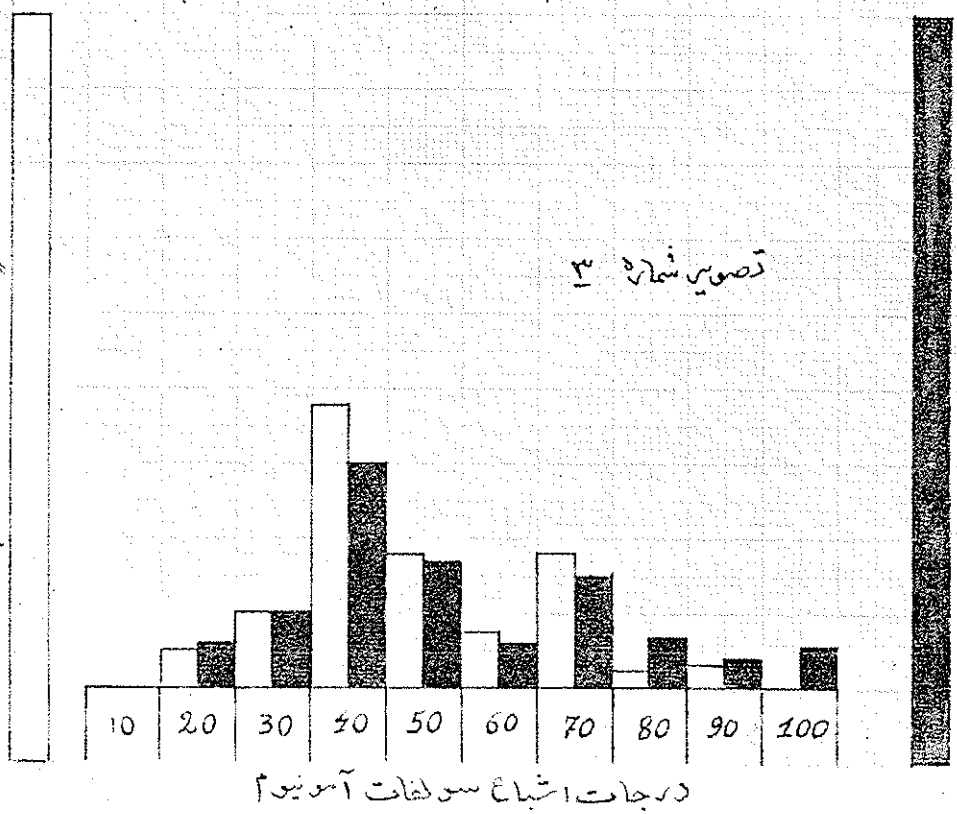
پس ازآنکه اطمینان یافتیم کـه رنگ‌های صفرا دوست ، درشیره یاخته‌ای یا میکروزمها متراکم‌می‌شوند تنها باندازه گیری مواد رنگین دراین دودسته اکتفاکردیم وجدول شماره۳نتیجه چندین‌آزمایش را نشان می‌دهد .

جدول شماره۳نسبت مواد رنگین درمیکروزم‌ها وشیره یاخته‌ای

ماده رنگین	٪.BSP		٪.ICG		فنل‌فتالئین٪	
شماره‌آزمایش	شیره یاخته‌ای	میکروزم‌ها	شیره یاخته‌ای	میکروزم‌ها	شیره یاخته‌ای	میکروزم‌ها
۱	۸۶	۱۴	۱۵	۸۵	۲۵	۷۵
۲	۸۵	۱۵	۵	۹۵	۱۷ر۵	۸۲ر۵
۳	۸۲ر۵	۱۷ر۵	۵	۹۵		
٤	۸۵	۱۵	۱۲	۸۸		

همانطورکه مشاهده میشود .B.S.P در شیره یاخته‌ای متراکم میشود و شیوه دیالیز نشان داد که۹۸٪ آن با پروتئین‌های شیره یاخته‌ای پیوند دارد وتنها ۲٪ ازماده رنگین بحالت‌آزاد است . برای شناسائی نوع پروتئینی کـه به .B.S.P پیوند دارد براه اشباع با سولفات آمونیوم پروتئین‌های شیره یاخته‌ای را از یکدیگرجدا کردیم . همچنان که تصویرشماره ۲ نشان می‌دهد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]



همه پروتئین‌های شیره یاخته‌ای با B S.P پیوند دارند .

مقدار B. S. P که درناحیه اشباع ۱۰۰٪ دیده میشود ماده رنگینی‌است که بحالت‌آزاد در شیره یاخته‌ای وجود دارد و روش دیالیز نیز وجود آنرا تائید کرده است .

I. C. G در میکروزم‌ها متمرکز میشود اما بروش دیالیز نمیتوان پیوند آنرابا پروتئین‌ها بثبوت رسانید زیرا این‌ماده رنگین درآب‌بحالت محلول حقیقی‌درنمیآید و ایجاد میسل[1] میکند و از غشاء دیالیز نمیگذرد . از اینرو ما نخست عناصر میکروزم را محلول کردیم و سپس با استفاده از الکتروفورز استات سلولز نشان دادیم‌که ماده رنگین بیکی از پروتئین‌های این دسته پیوند دارد . پس از مجزا ساختن عناصر ریبوزم و ذرات تورینه درون پلاسمایی تقریباً همه ماده رنگین را در قسمت اخیر یافتیم وعناصر ریبوزم فاقد I.C.G بودند .

1. Micelle

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

لیزوزم ها را برای تعیین مقدار I.C. G و B.S. P از سایر عناصر یاخته‌ای مجزاساختیم و در هر دو مورد مقدار مواد رنگین در این دسته ناچیز بود .

فنل فتالئین همانند I.C. G در میکروزم‌ها متراکم میشود اما در یك مورد آزمایشی که بجای این ماده نوع ترکیب شده آن ، فنل فتالئین ـ گلوکورونید بحیوان تزریق شد ۷ر۰۶۳٪ آن در شیره یاخته‌ای و تنها ۳ر۰۳۶٪ آن در میکروزم‌ها موجود بود .

« بحث »

یك‌نکته درموردرنگهای‌صفرا دوستی که دریاختهٔ کبدی نخست ترکیب وسپس دفع میشوند (B.S. P ،بیلیروبین ، فنل فتالئین) مسلم است . این مواد باید از جایگاه آنزیمی که عامل ترکیب آنـان است عبورکنند ـ بیلیروبین و فنل فتالئین هر دو با اسید گلیکورونیك ترکیب میشوند و عامل ترکیب آنان (آنزیم گلوکورونیل ترانسفراز) در تورینه درون پلاسمایی‌جای دارد . منطقی است که گفته شود این مواد از جریان خون نخست بفضای دیس[1] و سپس از راه مجاری تورینه درون پلاسمایی بیاخته کبدی وارد میشوند و درآنجا به‌بیلیروبین ـ گلوکورونید و فنل فتالئین ـ گلوکورونید مبدل میگردند .

B.S. P درکبد با گلوتاتیون ترکیب میشود وآنزیمی که این دورا با یکدیگر ترکیب میکند در سیتوپلاسم یـاخته‌ای جای دارد . مـا نیز در تجربیات خود B.S. P را در سیتوپلاسم یاخته‌ای یافته‌ایم. دراین مورد میتوان ورود B.S. P را بدرون یاخته کبدی بدو راه توجیه کرد، یکی آنکه این ماده همانند بیلیروبین وفنل فتالئین نخست از راه مجاری تورینه درون پلاسمایی بیاخته کبدی راه مییابد و سپس ازآنجا بسیتوپلاسم حقیقی یاخته وارد و درآنجا با گلوتاتیون ترکیب میشود . توجیه دوم آنست که B.S. P پس از ورود بفضای دیس ببرکت فعالیت بیگانه نوشی[2] یاخته مستقیم بدرون سیتوپلاسم حقیقی یاخته راه مییابد ، بدون‌آنکه ازمجاری تورینه درون پلاسمایی عبورکند .

پذیرش قطعی هریك از این دو فرضیه دشوار است . با اینهمه اگر توجه داشته باشیم که مـا در تجربیات خود ، تنهـا پنج دقیقه پس از تزریق B.S. P قسمت اعظم آنـرا در سیتوپلاسم یاخته‌ای یافته‌ایم ، توجه ما بفرضیه دوم بیشتر معطوف میشود و اگر تصورکنیم که دوراه برای ورود رنگهای صفرا دوست بدرون یـاخته کبدی وجود دارد ، یکی راه مجـاری تورینه درون پلاسمایی و دیگری راهی که مستقیم بسیتوپلاسم حقیقی یاخته منتهی میشود ، باید بنحوی‌تفاوت

1. Disse's Spaces
2. Pinocytosis

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

این دو راه را توجیه کنیم . تجربیات ما راه این توجیه را گشوده است ، ترکیبات صفرادوستی که درآب نامحلولند از جمله بیلیروبین و فنل فتالئین و I.C. G (که درآب بحالت میسل درمیآید و ازغشاء دیالیز نمیگذرد) از راه مجاری‌تورینه درون پلاسمایی‌بیاخته‌کبد راه مییابند ، در حالیکه B.S. P که درآب محلول است مستقیماً بدرون سیتوپلاسم حقیقی یاخته‌وارد میشود، تجربه دیگر ما نیز مؤید این فرضیه است ، در یك مورد که بجای فنل فتالئین (غیر محلول در آب) فنل فتالئین ـ گلوکورونید (محلول درآب) بحیوان تزریق شد ماده اخیر در سیتوپلاسم یاخته‌ای وجود داشت .

پیداست که بیلیروبین وهمچنین فنل فتالئین پس‌ازآنکه در تورینه درون پلاسمایی بحالت گلوکورونید درآمدند باید از مرحله دیگری عبور کنند تا بمجاری صفراوی بین یاخته‌ای راه یابند ، مؤید این مطلب وجود سندرم دوبن ـ جونسون [۱۲] است و همچنانکه میدانیم در این سندرم ، بیلیروبین بدرون یاخته کبدی راه مییابد و در آنجا به بیلیروبین گلوکورونید مبدل میشود . اما انتقال بیلیروبین ـ گلوکورونید از تورینه درون پلاسمایی بمجاری صفراوی بین یاخته‌ای انجام نمیگیرد ، از اینرو ماده مذکور بخون باز میگردد و نشانه‌های یرقان انسدادی را ظاهر میسازد ، بدون‌آنکه انسداد مجاری صفراوی درکار باشد .

نویکوف و همکارانش عقیده دارند ، دانه‌های درون سیتوپلاسم که شاید همان‌لیزوزم‌ها هستند عمل انتقال بیلیروبین را در مرحله دوم انجام میدهند و دلیلی که بر صحت فرضیه خود ارائه میدهند تصویر میکروسکپ الکترونی یاخته‌های کبدی حیوانی است که قبل از هلاکت ، بطور مداوم بیلیروبین بدرون رگهایش تزریق میشده است . در این تصویر تعداد زیادی‌دانه‌های مذکور در اطراف مجاری بین یاخته‌ای صفراوی دیده میشوند [۲۹] ، نویکوف عقیده دارد که در سندرم دوبن ـ جونسون مواد نامعلومی در این دانه‌ها رسوب کرده‌اند و بدین جهت از عهده جذب بیلیروبین ـ گلوکورونید و حمل‌آن بمجاری صفراوی برنمیآیند [۱۴]

از جانب دیگر وجود آنزیم‌های لیزوزم‌ها درصفرا نشانه دیگری است که این دانه‌ها از یاخته کبدی بدرون مجاری صفراوی راه مییابند و یا لااقل محتویات خود را بدرون این مجاری میریزند .

با اینهمه ما در تجربیات خود قادر نبودیم که تراکم مواد رنگین را در لیزوزم‌ها مشاهده کنیم و این تجربیات مؤید فرضیه نویکوف نیست و بدون شك حل مسأله حرکت ذرات‌شیمیایی در یاخته کبدی به پژوهش‌های وسیع‌تر وپر دامنه‌تری نیازمند است .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

References

1- Anderson, N. G. , in «Physical Techniques in Biological Research» Oster and Pollister ed. Vol. 3, Academic Press (1956)

2- Arias, I. M., et al., Science 126, 563 (1957)

3- Bensley, R. R. et al., Anat. Record. 60, 449 (1934)

4- Brachet, J., in «Biochemical Cytology» Academic Press (1957)

5- Cherrik et al., J. Clin. Invest . 39, 592 (1960)

6- Claud, A., Science, 97, 451 (1943)

7- « « J. Exptl. Med. 84, 51 (1946)

8- Combes, B., J. Clin. Invest., 38, 1426 (1959)

9- de Duve, C., 59, 438 (1955)

10- « « et al., Biochem. J., 60, 604 (1955)

11- « « in «Subcellular Particles», Hiyashi, T. ed. Am. Physiol. Soc., Washington (1959)

12- Dubin, I. N., and Johnson, F. B., Medicine 33, 155 (1954)

13- Dutton, G. J., et al., Biochem. J., 57, 275 (1954)

14- Essner and Novikoff, J. Ultrastrut. Research, 3, 374 (1960)

15- Feredric, J., Ann. N. Y. Acad. Sci , 58, 1245 (1954)

16- Fox et al., Proc. Mayo. Clin., 32, 478 (1957)

17- Haguenau, F. Arch. anat. microscop., Paris., 44, 27 (1955)

18- « « , in «Biological Approaches to Cancer Chemothrapy» R. J. C. Harris ed. Academic Press (1961)

19- Harel, L., et al., Bull. Soc. chim. biol., 39, 819 (1957)

20- Hultin, T., Exptl. Cell. Research. Suppl., 3, 210 (1955)

21- Isselbacher, K. J., Biochem. Biophys. Research. Comm., 5, 243 (1961)

22- Javitt, N,, Am. J. of Med , 30, 341 (1961)

23- Karunairatnan, M. C., et al., Biochem. J., 49, 210 (1951)

24- Kennedy, E. P., J. Biol Chem., 179, 957 (1949)

25- Lathe, G. H., et al., Biochem. J., 70, 705 (1958)

26- le Page, G. A., J. Biol. Chem., 176, 1021 (1948)

27- Miescher, F., « Die histochemischen und physiologischen Arbeiten, » Leipzig (1897)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

28- Natelson, S. in «Microtechniques of Clinical Chemistry» C. C. Thomas Publ. (1961)
29- Novikoff, A. B., in «The Cell» Brachet and Mirsky ed. Vol. 2 Academic Press (1961).
30- Osawa, S., et al., J. Gen. Physiol., 40, 491 (1957)
31- Palade, G. E., J. Appl. Phys., 24, 419 (1953)
32- « « , J. Biophys. Biochem. Cytol., 1, 59 (1955)
33- « « , J. Biophys. Biochem. Cytol. Suppl., 2. 85 (1956)
34- « « , et al., J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 171 (1956)
35- Palay, S. L., et al., J. Biophys. Biochem. Cytol., 5, 379 (1959)
36- Petermann, M. L., Texas. Reports. Biol. and Med., 12, 921 (1954)
37- « « « , Cancer Research., 16, 620 (1956)
38- Porter, K. R., J. Histochem. Cytochem., 2, 346 (1954)
39- « « , Federation Proc., 14, 673 (1955)
40- « « , Harvey Lectures., 51 175 (1957)
41- « « , in «The Cell» Brachet and Mirsky ed., Vol 2 (1961)
42- Rebhun, L. I., J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 93 (1956)
43- Reinhold, J. D., Clin. Chem., 4, 399 (1955)
44- Rosenthal, S. M., et al., J. A. M. A., 84, 1112 (1956)
45- Schneider, W. C., et al., Ann. Rev. Biochem., 25, 201 (1956)
46- Siekevitz, P., J. Biol. Chem., 195, 549 (1952)
47- Stern, H., et al., J. Gen. Physiol., 37, 177 (1953)
48- Strominger, J. L., etal., J. Biol. Chem., 224, 79 (1957)
49- Warburg, O., Pflügers Arch. ges. Physiol., 154, 599 (1913)
50- Watson, M. L., J. Biophys. Biochem. Cytol., 1, 257 (1955)
51- Weiss, J. M., J. Explt. Med. 98, 607 (1953)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]