مبانی مولکولی بیماریزائی در کلستاز

ترجمه از: دکتر سیدحسین میرمجلسی*

تشکیل و ترشح صفرا به وسیله کبد عملی حیاتی است که می‌تواند به علل مختلف از جمله داروها، عفونت‌ها، بیماری‌های خودبرانداز و بیماری‌های متابولیکی و ژنتیکی مختل شود. حاصل این اختلال پیدایش کلستاز است.

ترشح صفرا به طور طبیعی به عوامل زیر بستگی دارد:

درستی کارکرد تعدادی از سیستم‌های انتقال دهنده جدار سلولی هپاتوسیت‌ها و کولانژیوسیت‌ها (سلول‌های اپی‌تلیال جدار مجاری صفراوی) و سلامت ساختار و کارکرد مجاری ترشح صفرا. هدف این مقاله بررسی کاستی‌های مولکولی در انتقال‌دهنده‌های (Transporters) جدار هپاتوسیت‌ها است که در انواع مختلف بیماری‌های کولستاتیک کبدی در انسان مشاهده شده‌اند.

چگونگی تشکیل صفرا : مکانیسم‌های مولکولی

ترشح صفرا حاصل روندی است بر پایه فشار اسمتیک که از غلظت مؤثر املاح صفراوی و دیگر مواد تشکیل‌دهنده صفرا ناشی می‌شود و در نتیجه آن صفرا به طرف کانالیکول‌های صفراوی رانده می‌شود. موادی که صفرا را می‌سازند باید ابتدا از خون وارد هپاتوسیت و سپس از هپاتوسیت وارد مجاری صفراوی شوند. این انتقال توسط سیستم‌های انتقال‌دهنده‌ای انجام می‌گیرد که در جدار پلاسمایی سطوح سینوزوئیدی (قاعده‌ای ـ جانبی Baso lateral) و کانالیکولی (یا تارکی Apical) هپاتوسیت‌ها قرار دارند. در شکل (۱) تصویر سیستم‌های انتقال‌دهنده که نقش برجسته‌ای در ترشح صفرا در انسان دارند دیده می‌شوند و در جدول (۱) نیز کارها و وظایف هرکدام شرح داده شده اند.

جدار پلاسمائی سطح سینوزوئیدی هپاتوسیت‌ها، حاوی آنزیم Na+/K+-ATPase است. این آنزیم، اختلاف غلظت یونی را که به طور طبیعی در داخل سلول نسبت به خارج آن وجود دارد تنظیم می‌کند، به طوری که همواره سدیم خارج سلولی بیشتر از سدیم داخل سلولی است و بالعکس پتاسیم خارج سلولی کمتر از پتاسیم داخل سلولی می‌باشد. علاوه بر این آنزیم، در جدار سلول، یک کانال پتاسیم (Potassium channel) نیز وجود دارد. این دو سیستم باعث ایجاد یک پتانسیل الکتریکی تراغشائی (ترانس ممبران) به مقدار ۳۵- میلی‌ولت می‌شوند. این پتانسیل‌های شیمیائی و الکتریکی در جهت ترازماند (هوموستاز) یون‌های داخل سلولی و pH آن عمل می‌کنند. هم چنین نیروی رانشی برای خروج پروتون از طریق مکانیسم تبادل سدیم به جای هیدروژن و دخول بی‌کربنات از طریق مکانیسم انتقال توأمان سدیم - بی‌کربنات یا (sodium-bicarbonate symport) به وجود می‌آورند و همین کار را هم برای انتقال املاح صفراوی مرکب یا اسیدهای صفراوی انجام می‌دهند که مکانیسم آن انتقال الکتروژنیک وابسته به سدیم املاح صفراوی (electrogenic sodium-dependent uptake) است.[I]

املاح صفراوی فراوان‌ترین مواد حل‌شونده در صفرا هستند. در انتقال املاح صفراوی از خون به داخل سلول کبدی، سیستم انتقال‌دهنده‌ای شرکت دارد که NTCP[II] یا سیستم انتقال توأمان سدیم ـ تورکولات نام دارد. برخلاف املاح صفراوی مرکب، انتقال املاح صفراوی غیرمرکب، آنیون‌های آلی سولفوبروموفتالئین و بسیاری از مواد لیپوفیل متصل به آلبومین توسط سیستم‌های انتقال‌دهندهٔ دیگری صورت می‌گیرد که یکی از آنها OATP[III] یا پلی‌پپتید انتقال دهندهٔ آنیونی – آلی نام دارد (شکل یک جدول یک).

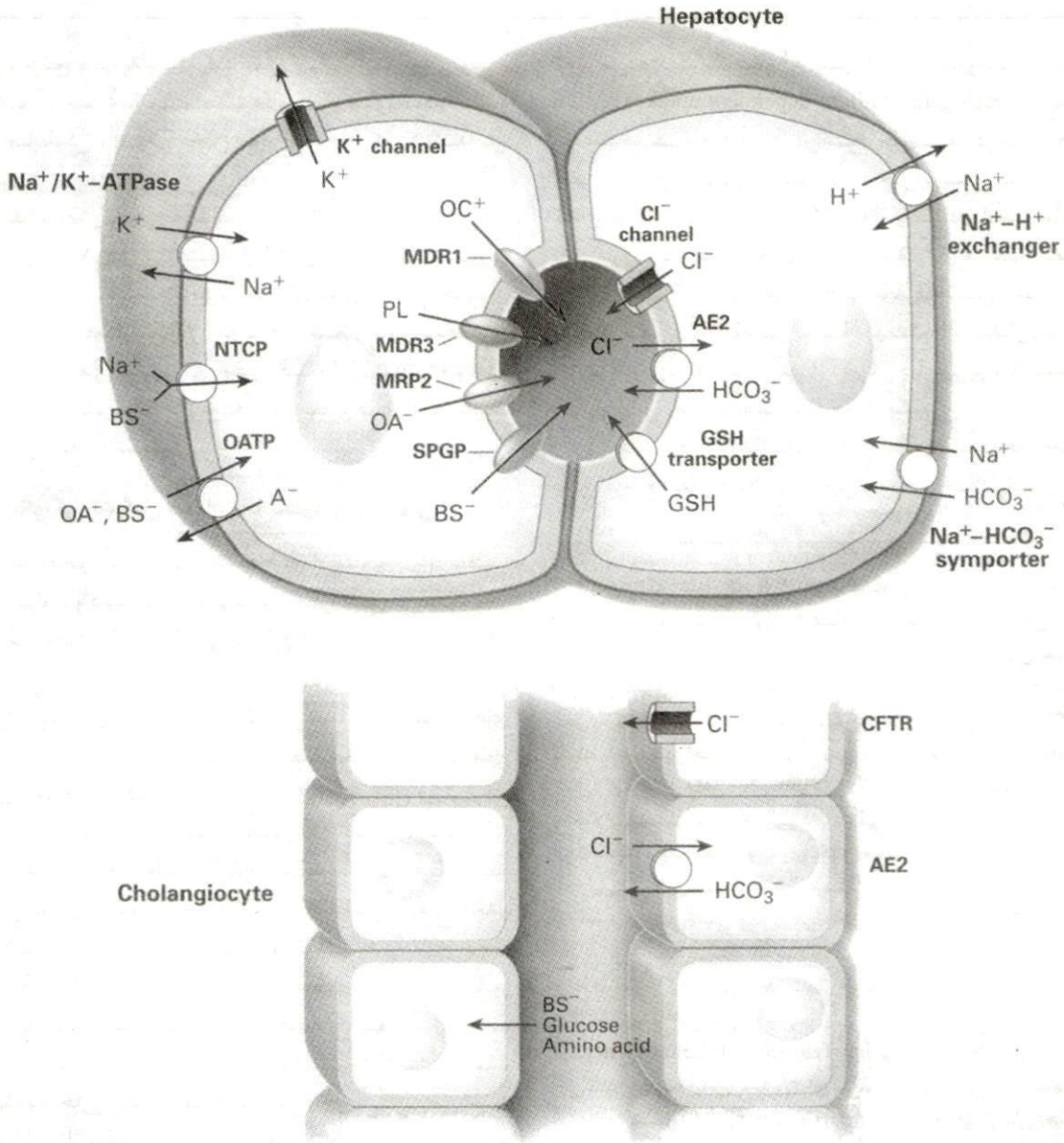
در حالت‌های فیزیولوژیک، مرحله محدودکننده در روند تشکیل صفرا، مرحله انتقال فعال مواد حل‌شونده از خلال جدار کانالیکولی

[I] ـ خلاصه آنکه، سلول کبدی بایستی با غشاء بازولاترال مواد را بگیرد، به داخل سلول بفرستد و سپس از طریق به غشاء اپیکال به داخل کانالیکول دفع کند.
در این عمل پمپ Na^+/K^+-ATPase نقش محوری دارد. این پمپ سدیم را خارج و پتاسیم را داخل می‌کند (یک یون سدیم در ازاء دو یون پتاسیم) این عمل سبب می‌شود که داخل غشاء سلول کبدی بار منفی (حدود ۳۵ میلی‌ولت) داشته باشد یعنی اختلاف پتانسیل داخل و خارج غشاء ۳۵ میلی‌ولت می‌شود. کانال پتاسیم نیز همان طور که در متن آمده است در این برقراری بار الکتریکی و اختلاف پتانسیل داخل و خارج دخالت می‌کند.
این وضعیت سبب ایجاد دو نیروی رانشی می‌شود.
۱ – نیروی رانشی ناشی از شیب سدیم داخل سلولی
۲ – نیروی رانشی ناشی از بار منفی داخل سلولی
این دو نیرو سبب می‌شود که مواد حل شونده (Solute) به داخل سلول کبدی برخلاف جهت گرادیانشان رانده شوند که اصطلاحاً این پدیده را انتقال ثانویه فعال می‌گویند. (ویراستار)

[II] ـ (NTCP) Sodium-Taurocholate Cotransporter :
این انتقال‌دهنده در ناحیه بازولاترال سلول کبدی قرار دارد. انتقال‌دهنده‌ای است که در عمل انتقالی آن ملح صفراوی و سدیم به طور توامان (همزمان) عمل می‌کنند. این انتقال‌دهنده به خانواده انتقال‌دهنده‌های (Na-Solute Symporter) توامان سدیم – ماده حل‌شونده تعلق دارد. در ایلئوم ترمینال دسته‌ای از این خانواده وجود دارند. (ویراستار)

[III] ـ (OATP) Organic-anion-transporting polypeptide :
این انتقال‌دهنده (ناقل) غیروابسته به سدیم است که مواد گوناگونی را بدون در نظر گرفتن بار الکتریکی آنها منتقل می‌کند. نیروی رانشی این انتقال‌دهنده مشخص نشده است اما احتمالاً از طریق مبادله آنیونی این عمل صورت می‌گیرد. خلاصه آنکه انتقال بایستی صورت بگیرد، تکامل سلول‌های کبدی سبب شده است که این انتقال به صورت بخش بخش و با انتقال‌دهنده‌های گوناگون انجام شود. بر حسب مواد انتقالی و دست‌آوردهای آزمایشگاهی نام‌های متفاوتی در این موارد داریم. (ویراستار)

شکل ۱:



هپاتوسیت‌ها به درون کانالیکول است. در این مرحله، ترشح صفرا یک طرفه است و به غلظت مواد موجود در صفرا بستگی دارد. انرژی لازم توسط تعدادی از پمپ‌های تخلیه‌ای وابسته به ATP[I] تأمین می‌شود. این پمپ‌ها به خانواده ATP-binding Cassette [II] انتقال‌دهنده‌های جداری تعلق دارند (شکل یک و جدول یک). یکی از اولین انتقال‌دهنده‌های

I ـ ATP-dependent export pumps

II ـ از این واژه‌ها نترسید: یک سری انتقال از سلول به داخل کانالیکول صفراوی، در ایجاد صفرا صورت می‌گیرد که در همه اینها ATP دخالت دارد و به اصطلاح اینها را پمپ می‌کند. در واقع موتور این پمپها ATP است ولی ساختمان آنها متفاوت است. همه اینها را کاسِتِ ATPدار یا (ATP-binding Cassette) می‌گویند. از جمله این پمپها، پمپی است که املاح صفراوی را پمپ می‌کند، پمپی است که خروج مواد داروئی گوناگونی multidrug را به عهده دارد، پمپی است که فسفولیپید را خارج می‌سازد و ... (ویراستار)

شرح شکل ۱ - قطب‌بندی انتقال ملکولی سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) و سلول‌های اپی‌تلیال مجاری صفراوی (کولانژیوسیت‌ها).

دو سیستم سینوزوئیدی گیرش املاح صفراوی در سلول‌های کبدی وجود دارند (نیمه بالا، بخش دست چپ) که عبارتند از :

۱) NTCP (Sodium Taurocholate Cotransporter) و ۲) OATP (Sodium independent Organic Anion Transporter) ، گیرش وابسته به سدیم املاح صفراوی توسط NTCP نتیجه انتقال آنها به طرف داخل سلول است. این انتقال خود نتیجه شیب سدیم (تقاضل سدیم داخل و خارج سلولی) ایجاد شده به وسیله آنزیم Na^+/K^+ ATPase و از طرفی اختلاف پتانسیل دو سوی غشای سلولی که قسمتی به وسیله کانال پتاسیم ایجاد شده است می‌باشد. به علاوه غشای بازولاترال حاوی یک سیستم تبادل سدیم - هیدروژن (Sodium Hydrogen Exchange) و یک سیستم انتقال توأمان سدیم - بی‌کربنات (Sodium Bicarbonate Symptorter) است (نیمه بالا، بخش دست راست). غشای کانالیکولی حاوی چند سیستم اخراج سدیم وابسته به ATP (ATP dependent Export Pumps) ، انتقال‌دهنده MDRI (Multidrug Resistance-1 P-Glycoprotein) ، انتقال‌دهنده فسفولیپیدی MDR3 (Multidrug Resistance-3 P-Glycoprotein) انتقال‌دهنده cMOAt[I] یا MRP2 (Canalicular Mutispecific Organic Anion Transporter) و انتقال‌دهنده SPGP یا BSEP (Canalicular Bile Salt Export Pumps) می‌باشد.

علاوه بر این ، غشای کانالیکولی، حاوی چند سیستم انتقال‌دهنده غیروابسته به ATP می‌باشد که شامل یک کانال کلر (غیر از پروتئین CFTR)، یک سیستم تبادل کلر - بی‌کربنات ایزوفورم ۲ (AF2)[I] برای ترشح بی‌کربنات و یک انتقال‌دهنده گلوتاتیون (GSH) می‌باشند.

کولانژیوسیت (نیمه زیرین) حاوی یک کانال کلر که همان CFTR (Cystic Fibrosis Transmemberane Regulator) و یک سیستم تبادل کلر - بی‌کربنات ایزوفورم ۲ (AF2) برای ترشح بی‌کربنات می‌باشد. بعلاوه کولانژیوسیت‌ها دارای خاصیت جذب انواع مواد محلول در صفرا از قبیل املاح صفراوی، اسیدهای آمینه و گلوکز هستند.

PL بیانگر فسفولیپید، OA بیانگر آنیون‌های آلی، BS بیانگر املاح صفراوی، +OC بیانگر کاتیون آلی و -A آنیون (مثلاً GSH) است.

کانالیکولی که محل و ساختمان مولکولی آن مشخص شده است MDR1[I] نام دارد. این انتقال‌دهنده ترشح کانالیکولی کاتیون‌های لیپوفیل حجیم مانند داروهای ضدسرطان،مهارکننده‌های کانال‌های کلسیم، سیکلوسپورین A و بسیاری از داروهای دیگر را به عهده دارد. معهذا اهمیت فیزیولوژیک این سیستم در کل روند تشکیل صفرا هنوز مشخص نیست. علت آن اینست که تجلی (اکسپرسیون) این ژن در هپاتوسیت پائین است و نوع ماده گیرنده مربوطه که در داخل سلول کبدی هدف قرار می‌گیرد هنوز مشخص نشده است. در عوض در تشکیل صفرا در کبد انسان یک عمل مشخص و ویژه به سیستم انتقال‌دهنده دیگری به نام MDR3[II] که در موش mdr2 نامیده می‌شود مربوط است (شکل یک و جدول یک). این یک انتقال‌دهنده فسفولیپیدی است که باعث جابجائی فسفاتیدیل کولین از لایه داخلی جدار کانالیکولی به لایه خارجی آن می‌شود و در آنجا است که املاح صفراوی داخل کانالیکولی به خارج از سلول کبدی انتقال یافته و به صورت حباب‌ها (Vesicles) و یا میسل‌های مختلط صفراوی درمی‌آیند. این کارکرد به طور تجربی در موشی که در آن ژن mdr2 حذف شده و یا در سلول‌های مخمری آلوده شده از طریق مهندسی ژنتیک ثابت شده است.

یکی دیگر از پمپ‌های ترشحی صفراوی انتقال‌دهنده‌ای است به نام انتقال‌دهنده کانالیکولی با چند ویژگی، آنیونی آلی یا OATPی با چندین ویژگی کانالیکولی که هم ـ نماهای (ایزوفورم)[III] کانالیکولی MPR2[IV] است. این سیستم انتقال‌دهنده با وساطت ATP عمل می‌کند و انتقال کانالیکولی تعداد زیادی از مواد آنیونی آمفوپاتیک (قابل حل در آب و چربی) از جمله لوکوترین C4، آمیخته‌های گلوتاتیون S–، گلوکورونیدها (دی – گلوکورنید بیلی‌روبین و گلوکورونید – استرادیول هفده بتا) و ترکیبات سولفاته را به عهده دارد. همچنین این انتقال‌دهنده مسئول اصلی برقراری جریان صفرای کانالیکولی غیروابسته به املاح صفراوی می‌باشد.[V]

و بالاخره در ترشح کانالیکولی املاح صفراوی سیستم انتقال‌دهنده دیگری که آنهم به ATP وابسته است شرکت دارد.

باید اعتراف کرد که با وجود اهمیت کمّی املاح صفراوی در روند

ATP binding Cassette که آنرا به اصطلاح ABC می‌خوانند، گروه‌های مختلفی را در بر می‌گیرد. یکی از این گروه‌ها MDRها از گروه داروهای متعدد مقاوم شده هستند، وجه تسمیه یا ریشه این نامگذاری از آنجا می‌آید که این انتقال‌دهنده‌ها در بیماران سرطانی و نیز در موش‌های سرطانی سبب دفع داروهای سرطانی و در نتیجه مقاوم شدن سرطان به این داروها بوده‌اند. هنگامی که این انتقال‌دهنده‌ها را در موش یا حیوانات شرح می‌دهند آنرا با حروف کوچک «mdr» می‌آورند.

از این گروه MDR3 علی‌رغم شباهت و همانندی ساختمانی (هومولوگی) که با دیگر MDRها دارد در دفع داروهای سرطانی دخالت نمی‌کند. MDR3 در غشاء سلول‌های کانالیکولی فسفولیپید را از لایه داخلی غشاء کانالیکولی به لایه خارجی آن (غشاء دارای لایه داخلی لیپیدی و لایه خارجی لیپیدی است، در واقع Bilayer یا دولایه است) منتقل می‌کند. کمبود این انتقال‌دهنده در فرمی از خانواده بیماری بایلر (کلستاز داخل کبدی فامیلیال پیشرونده) گزارش شده است. (ویراستار)

[III] ـ ایزوفرم یا هم ـ نما: عبارتند از پروتئین‌هائی که از ژن‌های مختلف ساخته می‌شوند و اختصاص به بافت‌های متفاوت دارند، اما از نظر ردیف و فونکسیون (کارکرد) شبیه هم عمل می‌کنند. (ویراستار)

[IV] MultiDrug Resistance Associated Protein

[V] ـ جریان صفراوی به دو بخش: جریان صفراوی وابسته به املاح صفراوی (BSDF) که حدود ۲۵۰cc در ۲۴ ساعت است و جریان صفراوی غیروابسته به املاح صفراوی (BSIF) که حدود ۲۵۰cc در ۲۴ ساعت است تقسیم می‌شود. البته اپی‌تلیوم مجاری صفراوی نیز مقادیری ترشح دارند که آن نیز حدود ۲۵۰cc در ۲۴ ساعت می‌شود. (ویراستار)

[I] MultiDrugp Resistance - 1 P-Glycoprotein ـ

[II] MultiDrug Resistance-3 P-Glycoprotein ـ

تشکیل صفرا مشخص کردن قطعی سیستم‌های انتقال‌دهنده کانالیکولی املاح صفراوی در کبد پستانداران نسبت به سایر سیستم‌های انتقال‌دهنده با تأخیر صورت گرفته است. ابتدا مسئول این انتقال، آنزیم Ecto-ATPase کانالیکولی در نظر گرفته شده بود ولی بعضی از پژوهشگران دلائلی ارائه داده‌اند مبنی بر این که انتقال‌دهنده کانالیکولی املاح صفراوی ممکن است به پروتئین‌های انتقال‌دهنده خانواده ATPase-binding Cassette متعلق باشد. از جمله این دلائل می‌توان نکات زیر را بیان داشت: کلون کرون تمامی یک گلیکوپروتئین P به نام spgp[I] از کبد موش و تجلی (اکسپرسیون) عملکرد آن در اووسیت Xenopus Laevis و در سلول‌های حشره‌ای و Sf نشان داده است که این سیستم انتقال‌دهنده به طور قابل توجهی به سیستم انتقال املاح صفراوی وابسته به ATP تعلق دارد. بعلاوه اکسپرسیون (تجلی) این پروتئین در کبد خوک‌ها کاملاً ثابت کرده است که این سیستم انتقال‌دهنده، سیستم انتقال کانالیکولی است که سبب دفع املاح صفراوی به داخل کانالیکول‌ها می‌شود.

علاوه بر روندهای فعال انتقالی فوق که در غشای پلاسمائی جدار کانالیکول‌ها حضور دارند، تشکیل و ترکیب نهائی صفرای کانالیکولی به چند مکانیسم کمتر شناخته شده دیگری نیز مربوط است که بعضی از آنها را می‌توان به ترتیب زیر نام برد : اگزوسیتوز حباب‌های ترانس‌سیتوتیک و حباب‌های زیر کانالیکولی[II]، فعالیت تعداد زیادی از آنزیم‌های نوع نوکلئوتیداز و پپتیداز، انقباض متناوب جدار کانالیکول‌های صفراوی و فعالیت انتقال‌دهنده‌های الکترولیت‌ها و کانال‌های یونی در سلول‌های کبدی و سلول‌های اپی‌تلیال دوکتول‌های صفراوی. مکانیسم اخیر همچنین در ترشح صفراوی کلروبیکربنات شرکت دارد و شامل انتقال‌دهنده‌ای است به نام : ایزوفورم 2 تبادل کلر - بی‌کربنات که چه در سلول‌های کبدی و چه در کولانژیوسیت‌ها قرار دارد، بعلاوه CFTR[III]

یک کانال ترشح کلر که در سطح لومینال کولانژیوسیت‌ها موجود است (شکل یک جدول یک) تنها با تجلی هماهنگ و متناسب این سیستم‌ها و سایر سیستم‌های انتقال‌دهنده مجاری صفراوی و کانال‌های ترشحی است که ترشح صفرا به طور طبیعی صورت می‌پذیرد. از طرف دیگر اختلال در کارکرد این سیستم‌ها سبب پیدایش بیماری‌های کلستاتیک کبد می‌شوند.

نمونه‌های تجربی و نتایج بالینی حاصله

در جانوران مختلف نمونه‌های فراوانی از بیماری‌های کولستاتیک داخل کبدی و انسدادی وجود دارند که مشابه بیماری‌های دیده شده در انسان هستند. این بیماری‌ها عبارتند از کلستاز وابسته به سپتی‌سمی‌ها (sepsis) (که معادل آن کلستاز ناشی از آندوتوکسین در موش خرمائی است)، کلستازهای ناشی از مصرف داروهای ضدبارداری و کلستاز حاملگی (که معادل آن کلستاز حاصل از درمان موش خرمائی با استرادیول است) و انسداد مجاری صفراوی (که با بستن مجاری صفراوی در جانوران ایجاد می‌شوند).

در کلستاز وابسته به سپتی‌سمی‌ها، هم اندوتوکسین و هم سیتوکین‌های رها شده توسط آندوتوکسین نقش مهمی دارند و همین امر در اختلالات کبدی - صفراوی ایجاد شده در دوران تغذیه از راه رگ و هپاتیت‌های الکلی و ویروسی نیز می‌تواند صادق باشد.

داروهای مختلف (مانند سیکلوسپورین A و کلرپرومازین) نیز چه در جانوران و چه در انسان می‌توانند کلستاز داخل کبدی در سطح کانالیکول‌های صفراوی ایجاد کنند.

هرچند علل ایجادکننده کلستاز در بیماری‌های کلستاتیک متعددند ولی در همه این بیماری‌ها مسئله اصلی کاهش گیرش املاح صفراوی و دیگر آنیون‌های آلی توسط سلول‌های کبدی و ترشح کانالیکولی آنها می‌باشد. با وقفه در انتقال این مواد از داخل هپاتوسیت به کانالیکول صفراوی، نیروی رانشی اسمتیک لازم برای خروج صفرا از بین می‌رود و کلستاز پدیدار می‌گردد.

مکانیسم‌های مولکولی کلستاز
انتقال‌دهنده‌های موجود در سلول‌های کبدی

پژوهش‌های انجام شده نشان داده‌اند که در بسیاری از بیماری‌های

[I] ـ Sister of P-Glycoprotein (spgp) :
پروتئینی است کانالیکولی که شباهت به mrp2 دارد و در غشاء سلول‌های کانالیکولی تجلی می‌کند، بررسی‌های مربوط به آن مربوط به انسان نبوده است.

[II] ـ مسیرهای رفت و برگشتی در سلول‌های مجاری صفراوی شرح داده شده است، آندوسیتوز با واسطه رسپتور از آن جمله‌اند. در نواحی اپیکال سلولی در پی آندوسیتوز حباب حاوی فاز مایع به وجود می‌آید، در پی این آندوسیتوز، ترانس‌سیتوز صورت می‌گیرد و حباب‌ها از سمت رأس به قاعده انتقال می‌یابند. این حباب‌ها می‌توانند در ناحیه رأسی با مامبران آن ناحیه داده‌پردازی کنند. اگزوسیتوز نیز می‌تواند صورت بگیرد. سکرتین می‌تواند در این رفت و آمدهای وزیکولی دخالت داشته باشد و می‌تواند این وضعیت‌ها با دفع بیکربنات همراه شود. (ویراستار)

[III] ـ Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) :
از گروه ABC یا کاست دارای اتصال ATP است. سلول‌های مجاری صفراوی CFTR را اکسپرس می‌کنند (متجلی می‌کنند) که نتیجه آن ایجاد یک کانال کلر است که در ترشح داکتولر دخالت می‌کند. این انتقال‌دهنده در فیبروز کیستیک دچار نقص است که نتیجه آن کلستاز و سیروز صفراوی می‌تواند باشد. انتقال‌دهنده در غشاء کانالیکولی وجود دارد که در واقع یک ایزوفورم تعویض آنیونی (AE) است. این انتقال‌دهنده در مجاری صفراوی دومین انتقال‌دهنده با اهمیت در BSIF ، یعنی ترشح صفرای غیروابسته با املاح صفراوی است. این انتقال‌دهنده از راه تعویض کلر/ بی‌کربنات عمل می‌کند و باعث ترازماند pH سلولی می‌شود. هنگامی که pH داخل سلولی بالا می‌رود، با تعویض یونی آن را حفظ می‌کند و مانع بالا رفتن می‌شود و در این هنگام صفرا قلیائیت بیشتری می‌یابد (به علت ترشح بی‌کربنات و مبادله آن با کلر). (ویراستار)

جدول ۱ . نامگذاری ، جایگاه و کارکرد سیستم‌های انتقال‌دهنده مؤثر در ترشح صفرا در سلول‌های کبدی و اپی‌تلیوم مجاری صفراوی

نام	مخفف	جایگاه	کارکرد (وظایف)
سلول‌های کبدی			
انتقال‌دهنده‌های یونی سدیم - پتاسیم	Na+/K+-ATPase	غشای (سینوزوئیدی) قاعده‌ای جانبی	اختلاف غلظت طبیعی سدیم و پتاسیم را تنظیم می‌کند (سدیم خارج سلولی بیش از سدیم داخل سلولی پتاسیم داخل سلولی بیش از پتاسیم خارج سلولی)
کانال پتاسیم	K+Channel	غشای (سینوزوئیدی) قاعده‌ای جانبی	اختلاف پتانسیل غشاء را تنظیم می‌کند
سیستم تبادل سدیم - پروتون ایزوفورم ۱	NHE 1	غشای (سینوزوئیدی) قاعده‌ای جانبی	اخراج کننده اسید، ژن خانه نگهدار برای PH داخل سلولی و حجم سلولی
سیستم انتقال همزمان سدیم - بی‌کربنات	Na+ - HCO3- Symporter	غشای (سینوزوئیدی) قاعده‌ای جانبی	اخراج کننده اسید، تسهیل‌کننده ورود بی‌کربنات به سلول کبدی و صفرا از طریق سیستم تبادل کلر - بی‌کربنات ایزوفورم ۲
سیستم تبادل کلر - بی‌کربنات ایزوفورم ۲	AE2	غشای کانالیکولی	واردکننده اسید، باعث ترشح بی‌کربنات به درون صفرا می‌شود و جریان صفرا بدون دخالت املاح صفراوی افزایش می‌یابد.
کانال کلر	Cl-Channel	غشای کانالیکولی	باعث تسهیل ورود کلر به صفرا می‌شود.
سیستم انتقال‌دهنده حل‌شونده‌های آلی انتقال‌دهنده همزمان سدیم - توروکولات	NTCP	غشای قاعده‌ای جانبی	انتقال‌دهنده اولیه برای املاح صفراوی مرکب از خون ورید باب در کبد
پولی‌پپتید انتقالی آنیون‌های آلی	OATP	غشای زیرین جانبی	انتقال‌دهنده چند منظوره برای گیرش غیروابسته به سدیم املاح صفراوی، آنیون‌های الی و دیگر حل‌شونده‌های آمفی‌پاتیک آلی از جریان خون ورید باب
* Multidrug - resistance - 1 p glycoprotein	MDR1	غشای کانالیکولی	دفع وابسته به ATP کاتیون‌های آلی مختلف، گزنوبیوتیک‌ها و سیتوتوکسین‌ها در صفرا
* Multidrug resistance-3 P-Glycoprotein	MDR 3	غشای کانالیکولی	انتقال وابسته به ATP فسفاتیدیل کولین از برگه داخلی به برگه خارجی غشای دولایه‌ای سلول
Multidrug-resistance associated protein (Canalicular multyspecific organic anion transporter)	(C MDAT) MRP2	غشای کانالیکولی	انتقالات چند منظوره وابسته به ATP آنیون‌های آلی (مثلاً دی‌گلوکورونید بیلی‌روبین) به صفرا را انجام می‌دهد. به جریان صفرای غیروابسته به املاح صفراوی کمک می‌کند.
*Canalicular bile salt export pump (sister of P-glycoprotein)	BSFP (SPGP)	غشای کانالیکولی	انتقال وابسته به ATP املاح صفراوی به داخل صفرا؛ جریان صفرای وابسته به املاح صفرا را افزایش می‌دهد spgp کبد موش خرمائی (Rat) انتقال وابسته به ATP املاح صفراوی را هدایت می‌کند که خود نشان‌دهنده این است که این پروتئین انتقال‌دهنده کانالیکولی املاح صفراوی در کبد پستانداران است.
انتقال‌دهنده گلوتاتیون**	GHS transporter	غشای کانالیکولی	انتقال گلوتاتیون به صفرا، جریان صفرای غیروابسته به املاح صفرا را زیاد می‌کند.
سلول‌های اپی‌تلیال مجاری صفراوی			
انتقال‌دهنده‌های یون‌ها			
Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator	CFTR	غشای رأسی یا لومینال	کانال کلر - ورود کلر به صفرا را تسهیل می‌کند.
سیستم تبادل کلر - بی‌کربنات ایزوفورم ۲	AE2	غشای رأسی یا لومینال	ترشح بی‌کربنات به صفرا را تسهیل می‌کند و به ترشح جریان صفرای غیروابسته به املاح صفراوی کمک می‌کند.
سیستم‌های انتقال‌دهنده مواد حل‌شونده آلی ***			

* این انتقال‌دهنده‌ها اعضای خانواده ATP-binding cassette (ABC) هستند.

** این انتقال‌دهنده‌ها بر مبنای شواهد کارکردی مشخص شده‌اند. هنوز در کبد انسان به صورت شبیه‌سازی (Clone) اثبات نشده‌اند.

*** تعدادی از سیستم‌های انتقالی که خصوصیت کارکردی (فونکسیونل) آنها در غشاء داخل لومنی کولانژیوسیست‌ها مشخص شده است و می‌توانند موادی را از صفرا پس بگیرند که از آن جمله اند گلوکز، اسیدهای آمینه و املاح صفراوی.

جدول ۲ - تغییرات مولکولی سیستم‌های انتقال‌دهنده سلول‌های کبدی در بیماران با بیماری‌های کولستاتیک

بیماری	تغییرات ملکولی	توضیح
کولستاز داخل کبدی پیش‌رونده خانوادگی		
تیپ ۱	جهش در ATPase تیپ P	موضع در کروموزوم $18q_{21-22}$ ، کاهش غلظت گاماگلوتامیل ترانسفراز سروم
تیپ ۲	فقدان sister of P-glycoprotein	جهش در ژن SPGP ، موضع کروموزوم $2q_{24}$ ، کاهش غلظت گاماگلوتامیل ترانسفراز سروم
تیپ ۳	فقدان پروتئین و RNAی MDR3 (۱)	جهش ژن MDR3 ، موضع کروموزوم $7q_{21}$ ، غلظت بالای گاماگلوتامیل ترانسفراز سروم
کولستاز داخل کبدی خوش‌خیم عودکننده	جهش P-type ATPase	موضع در محل کولستاز داخل کبدی پیش‌رونده خانوادگی نوع ۱، $18q_{21-22}$
آترزی صفراوی خارج کبدی	کاهش RNAی NTCP (۲)	رابطه معکوس با غلظت بیلی‌روبین سروم: افزایش بعد از عمل جراحی موفقیت آمیز پورتوآنتروستومی
کولانژیت اسکلروزان اولیه	افزایش RNAی OATP (۳)	
سیروز صفراوی اولیه	کاهش سیستم تبادل کلر - بی‌کربنات، RNA و پروتئین ایزوفورم ۲	سلول‌های کبدی و سلول‌های اپی‌تلیال مجاری صفراوی گرفتارند.
انسداد صفراوی	افزایش RNA سیستم‌های MDR 1 و MDR 3	رابطهٔ مستقیم با غلظت بیلی‌روبین

(۱) MDR3 = Multi Drug Resistance 3

(۲) NTCP = Sodium (Na) – Taurocholate Cotransporter

(۳) OATP = Organic Anion Transporting Polypeptide

کلستاتیک، پروتئین‌های سلول کبدی که نقش انتقال‌دهنده دارند، یا کاهش یافته‌اند و یا وجود ندارند؛ یعنی به اصطلاح تجلی (اکسپرسیون) نیافته‌اند. (جدول ۲) و این نکته در کلستازهای تجربی نیز تأیید شده است.

این کمبودها (نابهنجاری‌ها) می‌توانند توضیح‌دهنده اختلال در عمل انتقالی (Transport) و در پی آن اختلال در جریان صفرا (Bile Flow) و پیدایش کولستاز باشند. در اشکال خانوادگی کلستاز، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که در ژن‌های کنترل‌کننده سیستم‌های انتقال سلول‌های کبدی که در تشکیل صفرا دخیل‌اند، جهش‌هائی صورت می‌پذیرد. بیماری کلستاز داخل کبدی خانوادگی پیش‌رونده[I] که یک بیماری کلستاتیک وخیم کبدی است به طریق توارث اتوسومی مغلوب انتقال می‌یابد (جدول ۲). بیماری در کودکی شروع و به کلستاز پیشرونده و نارسائی کبد منجر می‌شود. تاکنون سه نوع از این بیماری شناخته شده است. نوع اول بیماری بایلر (Byler's Disease) نیز نام دارد و ابتدا در یک خانواده Amish[II] آمریکائی شرح داده شده بود. در این بیماری میزان گاماگلوتامیل ترانسفراز سروم پائین، غلظت املاح صفراوی سروم بالا و غلظت کلسترول سرم طبیعی است ولی غلظت صفراوی املاح اسیدکینودئوکسی کولیک پائین است. اختلال ژنی در این نوع از بیماری با استفاده از روش Positional Cloning در کروموزوم 18q21-22 پیدا شده است.

همین اختلال ژنی در همان محل کروموزومی در بیماری کلستاز داخل کبدی خوش‌خیم عودکننده[III] نیز که در بالغین دیده می‌شود شرح داده شده است. از اینجا نتیجه گرفته می‌شود که ممکن است یک ژن کلستاز خانوادگی وجود داشته باشد که مسئول هر دو نوع بیماری ولی با فنوتیپ و پیش‌آگهی متفاوتی باشد.

در حقیقت اخیراً در هر دو نوع بیماری فوق (کلستاز داخل کبدی خانوادگی و پیشرونده نوع ۱ و کلستاز داخل کبدی خوش‌خیم عودکننده) یک جهش ژنی در ژنی که ژن F1C1 نامیده می‌شود، پیدا شده است که معمولاً آنزیم P-type ATPase را کُد می‌کند که به طور قابل ملاحظه در روده و همین طور در کبد وجود دارد. این آنزیم به احتمال زیاد نقش مهمی در چرخه روده‌ای - کبدی املاح صفراوی بازی می‌کند. کار مشخص این پروتئین، انتقال آمینوفسفولیپیدها از لایه

I ـ Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis

II ـ فرقه‌ای مسیحی و ارتودوکس؛ به اصطلاح فرقه‌ای از زیرشاخه‌های مسیحیت. از نظر قومی ریشه‌ای آلمانی ـ سوئیسی دارند.

III ـ Benign Recurrent Intrahepatic Cholestasis

خارجی به لایه داخلی در لایه غشای پلاسمائی سلول‌ها است. بررسی‌های بیشتر در باره نحوه عملکرد این پروتئین ممکن است به فهم بهتری در چگونگی ترشح صفرا و مکانیسم ایجاد کلستاز بیانجامد.

جدا از اعضای خانواده بایلر در آمریکا، بیماران دیگری نیز به طور پراکنده در خاورمیانه، گرین‌لاند و سوئد با همان منظره بالینی کلستاز داخل کبدی خانوادگی پیشرونده نوع ۱ مشاهده شده‌اند. در خانواده بیماران در خاورمیانه بررسی با روش‌های Homozygosity mapping and linkage analysis، محل ژنی (locus) را در کروموزوم 2q24 مشخص کرده است. این نوع از بیماری نوع ۲ کلستاز داخل کبدی خانوادگی پیشرونده نامیده شده است. محل ژنی (locus) انتقال دهنده کانالیکولی املاح صفراوی[I] نیز در همان ناحیه کروموزوم ۲ تعیین شده است و جهش در این ژن انتقال‌دهنده املاح صفراوی می‌تواند مسئول پیدایش کلستاز داخل کبدی خانوادگی پیشرونده نوع ۲ باشد (جدول ۲).

علاوه بر نوع ۱ و ۲ بیماری نوع سومی نیز وجود دارد که در آن میزان گاماگلوتامیل ترانسفراز سروم بالا است. علاوه بر این در این نوع، تکثیر مجاری صفراوی و تجمع سلول‌های التهابی در فضاهای باب دیده می‌شوند. اختلال ژنی در نوع ۳ بیماری از نوع حذفی (7-bp deletion) یا جهش نقطه‌ای (point mutation) در ژن MDR3 می‌باشد (جدول ۲) که منجر به حذف کامل پروتئین مربوطه در کبد این بیماران می‌شود. در این بیماران فسفولیپید صفراوی کاهش می‌یابد در حالی که ترشح کانالیکولی املاح صفراوی طبیعی است. یکی از کارهای فسفولیپید موجود در صفرا، محافظت سلول‌های اپی‌تلیال مجاری صفراوی از گزند سمی املاح صفراوی موجود در صفرا می‌باشد و این عمل با تشکیل میسل‌های مختلط املاح صفراوی صورت می‌پذیرد. در نتیجه، کاهش قابل توجه و یا فقدان کامل فسفولیپیدهای صفراوی در این بیماران، می‌تواند وجود ضایعات در مجاری صفراوی آنها را توجیه کند.

با توجه به مراتب فوق نوع ۳ بیماری را می‌توان رابط مهمی بین عیب‌های انتقال کانالیکولی هپاتوسیت‌ها و بیماری‌های ارگانیک مجاری صفراوی یا کولانژیوپاتی‌ها به شمار آورد. بسیاری از بیماران با کلستاز نوزادان (مانند آترزی مجاری صفراوی خارج کبدی و سندرم کاهش تعداد مجاری صفراوی[II] و کولانژیوپاتی‌های بالغین و سایر سندرم‌های کلستاتیک (مانند سیروز صفراوی اولیه، کولانژیت اسکلروزان اولیه و سندرم ناپدیدشدگی مجاری صفراوی[III] باید در رابطه با امکان بروز جهش در ژن MDR3 و اختلال در پروتئین مربوط بررسی مجدد شوند. در سیروز صفراوی اولیه مقدار m RNA مربوط به MDR3 P-glycoprotein طبیعی است و کاهش بیان (اکسپرسیون) این ژن نقشی در بیماریزائی این بیماری ندارد. همچنین تاکنون هیچ بیماری در رابطه با بروز جهش در ژن MDR1 گزارش نشده است ولی ممکن است بروز جهش در این ژن به طور غیرمستقیم در پیدایش بعضی از کلستازهای داروئی نقش داشته باشد. در نتیجه این اختلالات فرضی، تجمع داروها در کبد ممکن است به آسیب سلول‌های کبدی منجر شود. در موش خرمائی، موادی که تحت تأثیر و عملکرد این پروتئین قرار می‌گیرند مثلاً سیکلوسپرین A باعث منع انتقال کانالیکولی املاح صفراوی و آنیون‌های آلی که وابسته به ATP می‌باشند می‌شوند.

اختلال ژنی در سندرم دوبین - جانسون از نوع جهش نقطه‌ای است و در ژنی به وجود می‌آید که مسئول پروتئین انتقال‌دهنده کانالیکولی آنیون‌های آلی[IV] می‌باشد. این پروتئین همچنین Multidrug Resistance Associated Protein نیز نامیده شده است. نتیجه جهش، حذف کامل پروتئین از کبد این بیماران است. گرچه در سندرم دوبین - جانسون فقط بالا رفتن بیلی‌روبین خون ولی نه کلستاز وجود دارد، معهذا اختلال ژنی در این سندرم نیز نشان‌دهنده مکانیسمی است که در آن جهش در ژن پروتئین‌های انتقال‌دهنده کبدی ممکن است باعث اختلال در ترشح صفرا شود. در این سندرم اختلال در دفع صفراوی ترکیبات درون‌زا (آندوژن) نظیر دی‌گلوکلورونید بیلی‌روبین و کوپروپرفیرین I و ترکیبات آنیونی آمفیپاتیک خارجی مانند ترکیبات سولفوبروموفتالئین، ایندوسیانین سبز و داروهای خوراکی برای حاجب کردن کیسه صفرا از قبیل اسید یوپانوئیک نیز وجود دارد. همه این مواد به وسیله پروتئین انتقال‌دهنده کانالیکولی چندین ویژگی آنیونی - آلی[V] دفع می‌شوند.

علاوه بر عیب‌های ژنتیکی مربوط به پروتئین‌های انتقال‌دهنده در سلول‌های کبدی که سبب بروز کلستازهای ارثی می‌شوند بعضی از مواد نیز می‌توانند با ایجاد اختلال مولکولی در سطوح سینوزوئیدی و یا کانالیکولی سلول‌های کبدی اشکال اکتسابی کلستاز را به وجود آورند. در رابطه با این موارد اکتسابی، مکانیسم‌های بالقوه بیماریزائی را می‌توان در سطوح زیر در نظر گرفت. تغییرات در نسخه‌برداری (ترانس کریپسیون) ژن‌ها، تغییرات در مرحله بعداز نسخه‌برداری (ترانس کریپسیون) در روند ساختار، ثبات و یا کاربری مؤثر ترجمه m RNA، اختلال در تنظیم یا هدف‌گیری در داخل سلول‌های کبدی، اختلال در فعال کردن پروتئین‌ها از طریق فسفوریلاسیون یا دفسفوریلاسیون، و بالاخره افزایش روند تجزیه و تخریب پروتئین‌های انتقال‌دهنده.

اگر پروتئین‌های انتقال در سطوح سینوزوئیدی دچار اختلال شوند گیرش مواد تشکیل‌دهنده صفرا از طرف سلول‌های کبدی کاهش می‌یابد و در نتیجه، اختلال در روند ترشح صفرا بروز می‌کند. از طرفی این

I - Canalicular bile-salt transporter

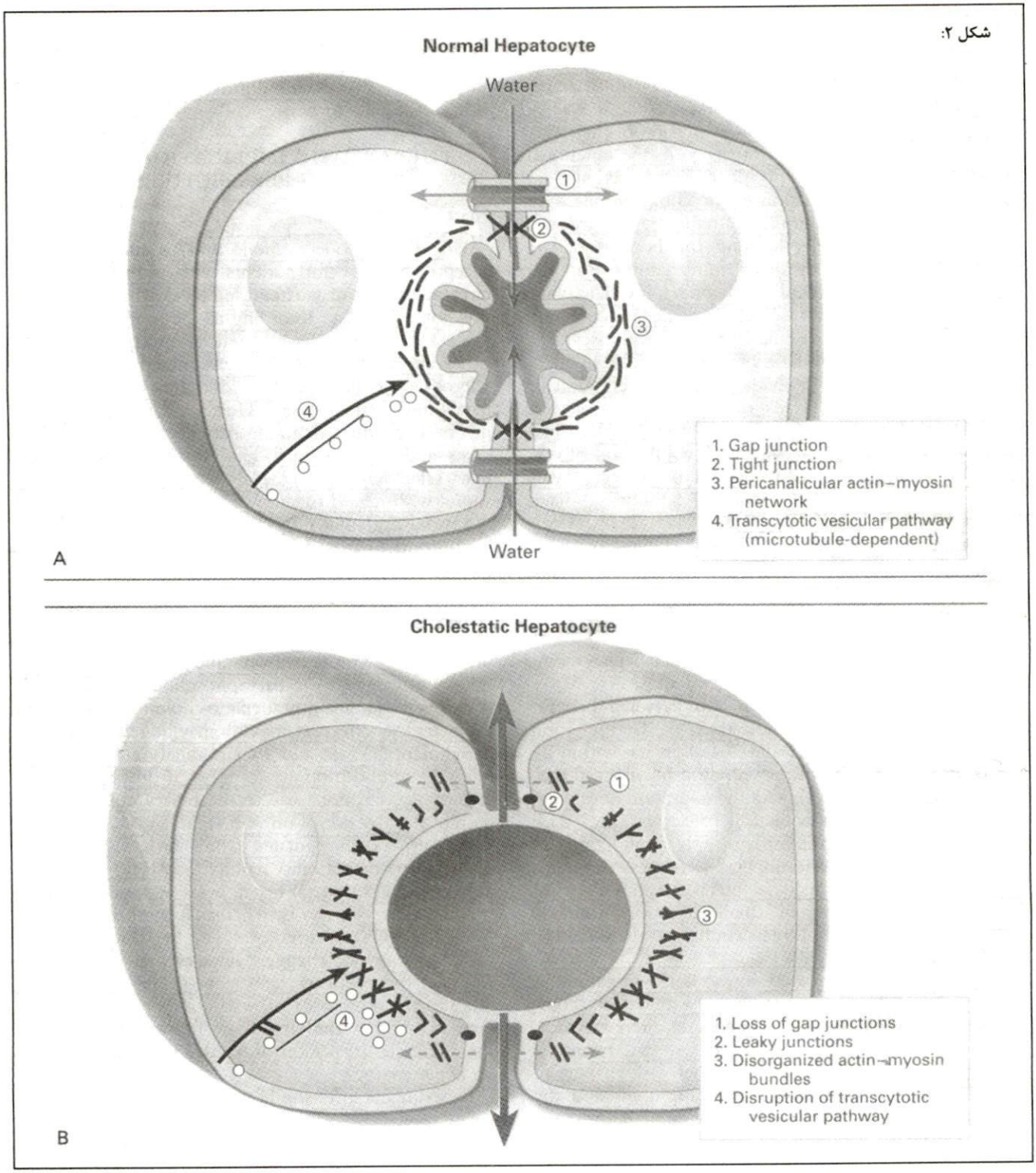
II - Bile-Duct Paucity Syndrome

III - Vanishing Bile Duct Disorder

IV - Canalicular Mutispecific Organic Anion Transporter

V - Canalicular multispecific organic anion transporter یا OATP پروتئین انتقال دهند کانالیکولی چندین ویژگی آنیونی - آلی

شکل ۲:



اختلالات ممکن است سبب شوند کـه مـواد سـمی موجـود در صفـرا از جمله املاح صفراوی در داخل سلول‌های کبدی تجمع نیابند. بـه عنـوان مثال در بیماران مبتلا به آترزی مجاری صفراوی، غلظـت mRNA یـک پروتئیـــن انتقـــال جـــدار ســـینوزوئیدی بـــه نـــام NTCP[1] کاهش می‌یابد که درست بعد از برقراری درنـاژ صفـراوی مثـلاً

[1] Sodium Taurocholate Cotransporter Polypeptide

شرح شکل ۲ - اتصالات سلولی، اسکلت سلولی و هدف‌گیری حبابی در سلول‌های کبدی

سلول کبدی سالم (بخش A) دارای اتصالات باز Gap Junctions (۱) می‌باشد که رابطه بین سلولی برقرار می‌سازد (مثلاً از طریق انتشار واسطه‌های ثانوی و انتقال امواج کلسیم با پیکان‌های آبی) و اتصالات بسته tight Junctions(۲) که لومن کانالیکولی را محدود و مشخص می‌کند و مانع برگشت مواد تشکیل‌دهنده صفرا به داخل پلاسما می‌شود.

ترشح صفرای کانالیکولی به واسطه انتشار اسمتیک آب و الکترولیت‌های کوچک (پیکان قرمز) از طریق سلول‌های کبدی و اتصالات بسته در واکنش به اختلاف سطح اسمتیک که در نتیجه فعالیت سیستم‌های انتقال‌دهنده فعال سلول‌های کبدی به وجود می‌آید صورت می‌گیرد. یک شبکه پری‌کانالیکولی آکتین - میوزین (۳) باعث انقباضات کانالیکولی می‌شود که جریان صفرا را از نواحی لوبولی مرکزی به طرف نواحی لوبولی محیطی کبد تسهیل می‌کند. یک سیستم انتقال وابسته به میکروتوبول که مسیر حبابی ترانس‌سیتوتیک (۴) نام دارد انتقال مواد محلول و ماکرومولکول‌ها (مانند Ig A) را تسهیل می‌کند (پیکان سیاه). بعلاوه، این مسیر، سیستم‌های انتقال کانالیکولی را به سوی کانالیکول صفراوی سوق می‌دهد.

در سلول‌های کبدی دچار کولستاز (بخش B) - پروتئین‌های اتصالات باز (کونکسین‌ها) (۱) از بین می‌روند که نتیجه آن اختلال در روابط بین سلولی است. جابجائی پروتئین‌ها از محل طبیعی خود در اتصالات بسته، اتصالات نشتی‌دار (Leaky Junction) (۲) را به وجود می‌آورد و باعث از بین رفتن شیب (گرادیان) اوسمتیک که خود نیروی رانشی را برای جریان یافتن صفرا ایجاد می‌کند، می‌شود (پیکان‌های قرمز).

تجزیه (دپولیمریزاسیون) دسته‌های آکتین - میوزین (۳) باعث از دست رفتن تون غشای کانالیکولی و عدم توانائی آن به انقباض می‌شود که نتیجه آن فلج کانالیکولی، اتساع کانالیکول‌ها و تشکیل رسوبات صفراوی Bile Plugs در لومن کانالیکول‌ها است. انهدام مسیر حباب ترانس‌سیتوتیکی (۴) باعث کاهش حرکت از راه غشاها و تجمع متعاقب حباب‌ها در فضای پری‌کانالیکولی سلول‌های کبدی می‌شود. حرکت و هدف‌گیری حبابی مختل شده ممکن است تا حدی نتیجه مهار مولکول‌های حرکت‌دهنده میکروتوبولی مانند کینزین (Kinesin) و دای‌نئین (Dynein) باشد.

بعد از عمل جراحی پورتوآنتروستومی (Kasai Operation) افزایش پیدا می‌کند. غلظت m RNA با غلظت بیلی‌روبین تام سروم رابطه معکوس دارد و نشان می‌دهد که احتباس مواد تشکیل‌دهنده صفرا باعث تنظیم کاهنده (down regulation) این پروتئین انتقال‌دهنده می‌شود. بخش برانگیزاننده (Promoter) این ژن در موش خرمائی حاوی چند عنصر تنظیم‌کننده نسخه‌برداری است که در پیام‌رسانی (Signaling) به سیتوکین‌ها و همچنین عناصر حساس به استروئیدها و املاح صفراوی شرکت دارند. املاح صفراوی قادرند فعالیت این برانگیزاننده (Promoter) را به طور تجربی (in-vitro) خنثی کنند. علاوه بر این، در تنظیم این برانگیزاننده (Promoter) عوامل نسخه‌برداری (ترانس کریپسیونی) مهمی نظیر Hepatocyte Nuclear Factor I شرکت دارند که متعاقب دادن آندوتوکسین به موش خرمائی فعالیت‌شان مهار می‌شود و نتیجه آن می‌تواند به بروز کولستاز در سپتی‌سمی‌ها (Sepsis) بیانجامد.

در مقابل، در بیمای‌های کولستاتیک انسان، تجلی (اکسپرسیون) ژن انتقال‌دهنده دیگری به نام OATP[I] تنظیم افزاینده (Up-regulation) می‌یابد. مثلاً در کولانژیت اسکلروزان اولیه، m RNA این پروتئین در سلول‌های مصنوعاً آلوده شده (transfected) که در معرض املاح صفراوی قرار گیرند به طور تجربی بیشتر شده و تنظیم افزاینده می‌یابد. این تنظیم افزاینده ممکن است باعث کاهش تجمع مواد بالقوه سمی در سلول‌های کبدی شوند و این کار را با انتقال این مواد از داخل سلول‌های کبدی به خارج در پلاسمای خون ورید سیستم باب به انجام رسانند.

از آنجا که انتقال مواد از خلال غشای کانالیکولی، مرحله محدودکننده در ترشح صفرا را تشکیل می‌دهد، اختلال در سیستم انتقال کانالیکولی، نقش عمده‌ای در بیماریزائی انواع اکتسابی کولستازهای داخل کبدی - مشابه آنچه در بیماری‌های ارثی شرح داده شد، ایفا می‌کند. کاهش ترشح کانالیکولی املاح صفراوی و تعداد زیادی از ترکیبات آنیونی (نظیر دیگلوکلورونید بیلی‌روبین) عیب اساسی در همه اشکال کلستاز می‌باشد. در حقیقت، در اشکال تجربی کلستاز، تجلی (اکسپرسیون) مولکولی سیستم‌های انتقال‌دهنده مربوطه مانند مانند پمپ تخلیه املاح صفراوی «OATP کانالیکولی چندین ویژگی‌دار»[II] کاهش می‌یابد. با این داده‌ها می‌توان مبنای مولکولی اختلال در ترشح املاح صفراوی و پیدایش یرقان را در بیماری‌های کولستاتیک انسان توجیه کرد.

در سیروز صفراوی اولیه بیان ژنی به نام ایزوفورم ۲ تبادل آنیونی کلر - بی‌کربنات کاهش می‌یابد. از آنجا که تبادل کلر - بی‌کربنات هم به ترشح صفراوی کانالیکولی و هم به ترشح صفراوی دوکتولی کمک می‌کند (جدول ۱) کاهش تجلی این ژن تبادل، ممکن است به کاهش ترشح صفرا منجر شود. کاهش تجلی این ژن همچنین در غدد بزاقی بیماران مبتلا به سیروز صفراوی اولیه و سندرم شگرن (Sicca syndrome) مشاهده شده است. این داده‌ها نشان می‌دهند که عیبی فراگیر در ترشح بی‌کربنات در سلول‌های اپی‌تلیال وجود دارد. در مقابل در بیماران مبتلا به کولستازهای انسدادی، غلظت کبدی ژن mRNA MDR 1 و mRNA MDR3 افزایش می‌یابد و این افزایش به طور قابل توجهی با بالا رفتن میزان بیلی‌روبین و فسفاتاز قلیائی سروم هماهنگی دارد.

به طور خلاصه : اختلال در تجلی (اکسپرسیون) سیستم‌های انتقال‌دهنده سلول‌های کبد می‌تواند مبنای مولکولی تغییرات عملکرد کبدی در بیماری‌های کولستاتیک انسان و موارد تجربی کولستازها باشد. برخی از این تغییرات باعث شدت فرایند کولستاز می‌شوند در حالی که

I - Organic anion transporting polypeptide

II - Canalicular Multispecific organic-anion transporter

بعضی دیگر احتمالاً مانع تجمع مواد سمی صفراوی در کبد می‌شوند.

سیستم‌های انتقال‌دهنده در کولانژیوسیت‌ها (سلول‌های اپی‌تلیال مجاری صفراوی)

آگاهی در باره سیستم‌های انتقال‌دهنده کولانژیوسیت‌ها در کولستاز اندک است. ژن CFTR در سطح لومینال غشای کولانژیوسیت و نه در هپاتوسیت‌ها قرار دارد. جهش در این ژن ممکن است باعث اختلال در ترشح دوکتولی آب و کلر شود. نتیجه این اختلال، رسوب صفرا در مجاری صفراوی داخل کبدی و انسداد آنها می‌باشد که ضایعات موضعی فیبروز صفراوی و سیروز صفراوی را در بیماری فیبروز سیستیک (Cystic Fibrosis) به وجود می‌آورد.

دیگر عیب‌های ساختاری و عملکردی در:

اسکلت سلولی (Cytoskeleton) ،

اتصالات محکم (Tight-Junctions) ،

حباب‌های انتقالی (Vesicular Transport)

و پیام‌رسانی فراسلولی (Signal Transduction)

ساختار سلولی کبدی در بسیاری از بیماری‌های کولستاتیک انسان و جانوران با تغییرات مهمی از جمله تخریب میکروتوبول‌ها، افزایش فیلامان‌های متوسط (Intermediate filaments) و تجمع دستجات درهم‌برهم میکروفیلامان‌های آکتینی در فضای پری‌کانالیکولی همراه می‌باشد. نتیجه این تغییرات در استخوان‌بندی سلولی، از بین رفتن میکروویلوزیته‌های آپیکال وکاهش قدرت انقباضی غشای کانالیکولی است. به علاوه اتصالات محکم نیز ممکن است شل شوند. در نوعی از کولستاز خانوادگی وخیم که در اطفال در کانادا دیده شده و به سیروز کبدی می‌انجامد و North American Indian Childhood Cirrhosis نامیده می‌شود افزایش میکروفیلامان‌های پری‌کانالیکولی مشاهده شده است. نظیر این تغییرات در مسمومیت ناشی از سم Phalloidin هم دیده شده است.

در کولستازهای تجربی ایجاد شده در موش خرمائی، پاره شدن اتصالات محکم بین سلولی و اختلال در عملکرد آنها در سلول‌های کبدی دیده شده است (شکل ۲). این اختلالات باعث افزایش نفوذپذیری پاراسلولر، بازگشت مواد تشکیل‌دهنده صفرا به داخل پلاسما، و کاهش شیب فشار اسمتیک در کانالیکول‌های صفراوی که به طور طبیعی نیروی رانشی برای ترشح صفرا است می‌شوند. ایجاد کولستاز در موش خرمائی با بستن مجرای کوله‌دوک و یا دادن اتینیل استرادیول، موضع کبدی و بیان (اکسپرسیون) پروتئین‌هایی که در ساختمان اتصالات محکم بین سلولی وجود دارند مختل می‌کند. از جمله این پروتئین می‌توان از Zona Occludens I و Occludin نام برد. محل این پروتئین‌ها که معمولاً در اطراف کانالیکول قرار دارند تغییر پیدا می‌کند و در داخل سیتوپلاسم قرار می‌گیرند. با جابجائی Occludin اتصالات محکم نشت‌کننده (Leaky) می‌شوند.

هدف قرارگیری اجزاء غشای سلولی و ترانس‌سیتوز و اگزوسیتوز کانالیکولی حباب‌ها نیز در کولستاز تغییر می‌یابند که نتیجه آن احتباس انتقال‌دهنده‌های کانالیکولی در سطوح سینوزوئیدی سلول‌های کبدی و تأخیر در انتقال حباب‌ها به داخل کانالیکول‌ها می‌باشد. یکی از تغییرات آسیب‌شناسی مهم در بسیاری از بیماری‌های کولستاتیک تجمع حباب‌ها در فضاهای پری‌کانالیکولی سلول‌های کبدی می‌باشد (شکل ۲).

در سلول های کبدی، مولکول‌های حرکت‌دهنده (molecular motors) مانند کینزین (Kinesin) و دای‌نئین (dynein) وجود دارند. با افزایش داخل سلولی اسیدهای صفراوی نظیر اسید کنودئوکسی‌کولیک، کارکرد این مولکول‌ها دچار اختلال می‌شوند. کار این مولکول‌ها، حرکت حباب‌ها از طریق میکروتوبول‌ها است. در کلستاز، اختلال در حرکت حباب‌ها، باعث کاهش تعداد انتقال‌دهنده‌های مؤثر در غشای کانالیکولی می شود.

در کولستاز، پیام‌رسانی کلسیم (Calcuim signaling) بین و داخل سلول‌های کبدی مختل می‌شود. ۲۴ ساعت بعد از بسته شدن مجرای کوله‌دوک در موش خرمائی، پروتئین‌های اتصالات Gap-Junction از جمله کونکسین ۳۲ و ۲۶ ناپدید می‌شوند که نتیجه آن کاهش انتقال امواج کلسیم بین سلول‌های کبدی می‌باشد. (شکل ۲) متعاقب این اختلال، انقباض منظم کانالیکول های صفراوی کاهش می‌یابد و در نتیجه در روند میکروپریستالتیسم که سبب تسهیل حرکت صفرا از کانالیکول صفراوی انتهائی به طرف دوکتول صفراوی در جهتی برعکس جهت جریان خون می‌شود وقفه ایجاد می‌شود.

پیام‌رسانی (Signaling) داخل سلولیِ مرتبط به Cyclic AMP نیز بعد از بسته شدن مجرای کوله‌دوک دچار اختلال می‌شود که نتیجه آن اختلال در بیان (اکسپرسیون) و متمرکز شدن داخل سلولی هتروداپمرهای G Protein می‌باشد. علاوه بر این تغییرات، آشفتگی در ترکیب لیپیدهای غشای سلولی و اثر detergent املاح صفراوی ممکن است سبب اختلال در فعالیت آدنیلات سیکلاز و کاهش اثر محرک گلوکاگون و VIP بر ترشح صفرا شود.

در مقابل، پس از بسته شدن مجرای کوله‌دوک، تجلی ژن گیرنده سکرتین در کولانژیوسیت‌ها تنظیم افزاینده می‌یابد و ممکن است به افزایش اثر کولرتیک (افزایش ترشح صفرا) سکرتین که بعد از تکثیر دوکتول‌های صفراوی در موش خرمائی رخ می‌دهد کمک کند. تنظیم افزاینده ترشح بی‌کربنات به وسیله کولانژیوسیت‌ها همراه با تنظیم کاهنده انتقال‌دهنده بیلی‌روبین (Canalicular Mutispecific Organic Anion Transporter) می‌تواند توجیه ترشح صفرای سفید (White Bile) باشد که پس از انسدادهای طولانی مجاری صفراوی دیده شده است.

نتیجه‌گیری‌های درمانی و دورنمای آینده

درمان داروئی

در حال حاضر درمان مورد قبول برای سیروز صفراوی اولیه اورسودیول (اسید اورسودئوکسی‌کولیک) است. این درمان می‌تواند باعث طولانی‌تر شدن عمر بیماران و کند شدن پیشرفت بیماری شود. سه مطالعه مختلف این ادعا را ثابت کرده‌اند. علاوه بر آن، اورسودیول ممکن است در درمان سایر بیماری‌های کبدی از قبیل کولانژیت اسکلروزان اولیه، کولستاز داخل کبدی دوران حاملگی و بیماری فیبروز سیستیک به کار رود. معهذا در مورد این بیماری‌ها مطالعات گسترده‌ای انجام نشده است. در یک مطالعه کوچک کنترل شده، اثر مثبتی بر طول عمر در کولانژیت اسکلروزان اولیه مشاهده نشده است. مکانیسم تأثیر اورسودیول کاملاً مشخص نیست و در این مورد چند فرضیه وجود دارد. این اسید صفراوی، جایگزین اسیدهای صفراوی هیدروفوب در سروم، کبد و صفرا می‌شود. اورسودیول مرکب به سطوح بین سلولی غشای پلاسمائی سلول‌ها در فضای خارج سلولی متصل می‌شود و در آنجا ممکن است مانع استخراج لیپیدهای غشای سلولی توسط املاح صفراوی هیدروفوب شود. در بیماران مبتلا به کلستاز داخل سلولی خانوادگی پیشرونده نوع ۳ (که ترشح ناقص صفراوی فسفولیپیدها دارند) اثر درمانی اورسودیول ممکن است به این علت باشد که این اسید صفراوی در صفرا ترشح می‌شود و ترکیب املاح صفراوی صفرا را چنان تغییر می‌دهد که حتی در غیاب فسفولیپیدها املاح صفراوی هیدروفوب دیگر اثر مسموم‌کننده بر اپی‌تلیوم صفراوی نداشته باشند. همچنین در سیروز صفراوی اولیه، اورسودیول سبب تنظیم کاهنده تجلی مولکول‌های غیرطبیعی MHC Class I در سلول‌های کبدی اطراف فضای باب می‌شود. در صورتی که تجلی (اکسپرسیون) مولکول‌های غیرطبیعی MHC Class II در سلول‌های اپی‌تلیال مجاری صفراوی تغییر نمی‌کند. معهذا هنوز مشخص نیست که آیا این اثرات اورسودیول ناشی از خواص تنظیم سیستم ایمنی است و یا این که مربوط به بهبود ضایعات ناشی از کولستاز کبدی است که خود تجلی مولکول‌های MHC Class I را افزایش می‌دهد.

شکل اصلی اورسودیول در بدن ترکیب تورینی اسید اورسودئوکسی کولیک می‌باشد. در موش‌های خرمائی که دچار کلستاز هستند این ترکیب می‌تواند قدرت ترشحی محلول‌های کبدی را با تحریک اگزوسیتوز اپیکال افزایش دهد. در نتیجه، این تأثیر می‌تواند باعث بهبود هدف‌گیری و اتصال پروتئین‌های انتقال‌دهنده به جدار کانالیکولی شود و قابلیت مقدار ورود بیشتری از املاح صفراوی هیدروفوب را به درون صفرا ممکن سازد تا ضایعات کبدی کاهش یابند.

مطالعات در سیروز صفراوی اولیه و کولانژیت اسکلروزان اولیه نشان داده است که درمان با اورسودیول قابلیت کبد برای ترشح املاح صفراوی را افزایش می‌دهد و باعث تنظیم افزاینده سنتز ایزوفورم ۲ تبادل کلر - بی‌کربنات می‌شود. این دارو همچنین با فعال کردن کانال‌های حساس به کلسیم، مستقیماً ترشح کلر را توسط سلول‌های کیسه صفرای انسان افزایش می‌دهد. این اثر مطلوب در درمان بیماران مبتلا به بیماری فیبروز سیستیک نیز ممکن است مشاهده شود.

ژن درمانی

تزریق پس‌نورد (Retrograde) آدنوویروسی که ژن CFTR انسانی را کُد می‌کند در کلدوک سبب‌ساز تجلی (اکسپرسیون) موقتی پروتئین‌های این ژن می‌شود. همچنین در سلول‌های منفرد حاصل از دو بیمار مبتلا به بیماری فیبروز سیستیک، درمان با ناقل (وکتور) حاوی آدنوویروس سبب رفع موقت عیب مولکولی این سلول‌ها شده است.

این تجربه‌ها افق جدیدی را در بیماری فیبروز سیستیک باز می‌کند که با تجویز ناقل‌های (وکتورهای) حاوی ژن‌های کُدکننده CFTR از راه کولانژیوگرافی آندوسکوپیک رتروگراد بتوان این بیماری را درمان کرد.

* ـ مؤسسهٔ پزشکی ایرانیان – تهران

مأخذ:

TRAUNER, M, MEIER, PJ, BOYER, JL:
Molecular pathogenesis of cholestasis. N Engl J Med 1999; 339 : 1217-1227

واژه‌های استفاده شده در این متن توسط ویراستار

کاستی‌ها، نقیصه‌ها defects
وظیفه – کار – کرد Function
Function نه تنها به معنای کار است بلکه متضمن مقصود است یعنی وظیفه عضو را می‌رساند. بنابراین شاید واژه «وظیفه» در برخی موارد برای آن متناسب‌تر باشد.

ترا Trans
این پیشوند در پزشکی به معنای «از طریق»، در عرض . «در دو طرف» از این سر به‌آن سر» است و در فارسی معادل تقریباً کامل آن «تَرا » است.
رانشی Driving
نیروی رانشی Driving force

ترازماند Homeostasis
هم – نما Isoform
آمیخته Conjugated
آمیخته‌های با گلوتاتیون S glutathione-s Conjugates
پس نورد – پس گذرنده Retrograde
موقتی Temporary

ناقل Vector
پیام‌رسانی Signaling
نسخه‌برداری – رونویسی Transcription
برانگیزاننده – پیش‌برنده Promoter