● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال ششم، شمارهٔ ٤ (پی‌درپی ٢٤)، صفحه ٧ الی ١١، پاییز ١٣٨٣
دریافت:٨٢/٤/٢٥، پذیرش: ٨٣/٣/١٣

تأثیر فسفر در میزان فسفاتاز اسیدی سلولهای جوانه چشایی در پاپیلاهای زبان Rat

دکتر عسکری رادفر[1*]، حمیده حمزه[2]، دکتر کریم اله حاجیان[3]، دکتر مهدی پورامیر[4]

١- استادیار گروه بافت شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل ٢- مربی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل ٣- دانشیار گروه پزشکی اجتماعی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۴- استادیار گروه بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه علوم پزشکی بابل

سابقه و هدف: در جوانه های چشایی Rat سه نوع سلول حسی با تعداد کمی سلولهای بازال تشخیص داده شده اند، این سلولها در انواع I تیره، II و III (روشن) وجود دارند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر غلظتهای مختلف فسفات بر میزان فسفاتاز اسیدی سلولهای جوانه چشایی در پاپیلاهای زبان Rat بود.

مواد و روشها: برای تعیین تاثیر فسفر در میزان فسفاتاز اسیدی سلولهای جوانه چشایی دوزهای ٠/٥، ١/٥، ٣ و ٦ درصد و گروه کنترل (صفر درصد) نمک فسفات در آب آشامیدنی به مدت ٣٠ روز بکار رفت. آنگاه کلیه موشها معدوم و زبان آنها جهت بررسی میکروسکوپی خارج گردید. تعداد دانه های سیاهرنگ داخل سیتوپلاسمی سلولها، که نشانگر رسوب سولفید سرب حاصل از واکنش بین فسفر و اسیدفسفاتاز در راژین رنگ آمیزی است، شمارش گردید. نتایج رنگ آمیزی گوموری و شمارش دانه ها، با روش غیر پارامتری آزمون کروسکال والیس و نیز آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل آماری گردید.

یافته‌ها: براساس مصرف نمک ها در آب آشامیدنی موشها، رابطه خطی بین غلظت نمک مصرفی و میزان فسفاتاز اسیدی مشاهده گردید. میانگین تعداد دانه های سیاهرنگ موجود در سلولهای چشایی در ٥ گروه دوز فسفر غذایی اختلاف معنی‌داری داشت($p<0/0001$).

نتیجه‌گیری: رابطه مستقیمی بین غلظت نمک موجود در آب آشامیدنی با دانه های موجود در سلولهای جوانه های چشایی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: *جوانه های چشایی، زبان، رت، اسیدفسفاتاز، پاپیلا.*

مقدمه

جوانه های چشایی اجسامی به اندازه ٥٠ تا ٧٠ میکرون هستند. سلولهای نوع I گرانولار و سلولهای نوع III رسپتورهای چشایی می باشند. جوانه های چشایی در مخاط اپیگلوت، سقف دهان و حلق، و در جدار پاپیلای قارچی و جامی شکل زبان قرار گرفته اند. پاپیلای قارچی بیشتر در نوک زبان و پاپیلاهای جامی شکل در خلف زبان قرار گرفته اند(١). درک مزه های شیرینی، شوری، تلخی و ترشی مربوط به فعالیت آنزیم های فسفاتاز، لیپاز و استراز موجود در سلولهای جوانه چشایی و اپیتلیوم اطرافش می باشد (٢). با تکنیک رنگ آمیزی اختصاصی، از طریق میزان رسوب سولفیدسرب سیاهرنگ در سلولهای نوع I تا IV جوانه های چشایی

▣ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ١٣٧٩٢٩ از اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل تأمین شده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.1.7]

پاپی های مختلف در بخشهای مربوط به طعم های گوناگون غذا، می توان به ارتباط کلیدی آنزیم فسفاتاز اسیدی در بروز یک طعم ویژه پی برد. عصب گیری حسی پاپیلاهای قارچی شکل بخش پشتی زبان رت از شاخه های دو عصب جمجمه ای مشتق می شود: شاخه زبانی عصب سه قلو که عصب گیری سوماتوسنسوری را فراهم می آورد و شاخه کوردا تیمپانی Chorda Tympani از عصب صورتی که به جوانه های چشایی عصب می دهد(۴و۳). سلولهای اپیتلیالی در جوانه های چشایی بوزینه های امریکایی (Callithrix Jacchus & Callithrix Enicillata) مقدار متوسطی از اسیدریبونوکلئیک و غلظتی از مواد مقاوم به دیاستاز در رنگ آمیزی پاس مثبت در قسمت رأسی آنها نشان داد. این سلولها فاقد UDPG-GT، فسفریلاز، G6PD، آلانیل آمینوپپتیداز، لوسین آمینوپپتیداز، کولین استراز و MAO هستند، آنها واکنش ضعیفی از 6-P ALD ، F-1، LDH، MDHSDH، سیتوکروم اکسیداز، بتا ـ OHBDH، استراز غیر ویژه و اسیدفسفاتاز و یک فعالیت قویتر به ADH، NADPHZ-TR، ATPases، alpha-GPDH، فسفاتاز قلیایی، ۵- نوکلتیداز وGDH دارند. اگرچه بعضی از آنزیمها (فسفاتاز قلیایی، ۵- نوکلتیداز و ATPase ها) فعالیت نسبتاً یکسانی در جوانه های چشایی دارند ولی فعالیت سایر آنزیمها متفاوت است(۵). از نقطه نظر تکاملی جوانه های چشایی احتمالاً در پاسخ به سیگنالها از بافتهایی نظیر neural crest و نیزبطور مستقل بواسطه عوامل درون زای اپیتلیوم موضعی دهان بوجود می آیند. تشکیل جوانه چشایی در حدود هفته ۶ الی ۱۵ پس از تخمک گذاری بصورت اولیه است. جوانه چشایی تا هفته ۱۵ بارداری به عملکرد کاملاً تکامل یافته ای دست نمی یابد. در واقع از هفته ۸ تا ۱۴ عملکردی پاراکرینی و غیر چشایی دیده می شود(۶). هدف از این تحقیق بررسی ارتباط مقادیر مختلف فسفر رژیم غذایی Rat و میزان فسفاتاز اسیدی در سلولهای جوانه های چشایی زبان بود و اینکه کدام پاپیلا بیشترین رسوب سولفید سرب را (که شاخصی از میزان فسفاتاز اسیدی است) نشان می دهد.

مواد و روشها

تمامی مواد شیمیایی بکار رفته در این مطالعه از شرکت پـویا جهش طب خریداری گردید. جهت بررسی مقدار فسفر در رژیم غذایی Rat از Ratهای نر و ماده در محدوده وزنی ۶۰gr انتخاب و در ۵ گروه با تعداد مساوی (هر گروه ۱۰ Rat) قرار داده شدند. برای تعیین تاثیر فسفر در میزان فسفاتاز اسیدی سلولهای جوانه چشایی پاپیلاهای زبان، دوزهای ۰/۵، ۱/۵، ۳ و ۶درصد $2H_2O$ و NaH_2PO_4 با وزن مولکولی ۱۵۶/۱g/mol در آب آشامیدنی روزانه به مدت ۳۰ روز به Ratهای هر گروه خورانده شد. برای گروه کنترل آب آشامیدنی بکار رفته فاقد فسفر بود (دوز صفر). آب آشامیدنی روزانه Ratها در هر ۴۸ ساعت، یکبار تعویض می گردید. پس از اتمام دوره آزمایش ۳۰ روزه، کلیه موشها معدوم و زبان آنها از دهان خارج گردید و برای بررسی میکروسکوپی در محلول فیکساتیو فرمالدئید ۱۰٪ قرار داده شدند.

برای تعیین میزان اسیدفسفاتاز رنگ آمیزی اختصاصی گوموری بکار گرفته شد. در این رنگ آمیزی اجسامی که دارای فعالیت اسیدفسفاتاز هستند دانه هایی به رنگ قهوه ای تا سیاه و سایر عناصر قرمز رنگ می شوند. راژین لازم، سوبسترای شامل بافر استات نرمال با pH=5 (۳ قسمت) بوده که می بایست پس از چند ساعت، محلول صاف شده به نسبت یک به سه با آب مقطر رقیق شود و حداکثر ۲۴ ساعت در داخل اتو و در حرارت 37^{oc} قرار گیرد. رنگ آمیزی افتراقی نمونه ها قرمز خنثی به مدت ۱ دقیقه بود و تمامی نمونه های بافتی رنگ آمیزی شده با دستگاه ویدئو میکروسکوپ مارک Euromex ساخت هلند مورد بررسی قرار گرفتند.

در این بررسی در هر دوز فسفر تعداد دانه‌های کاملاً سیاهرنگ با اندازه گیری مختلف که نشاندهنده رسوب سولفید سرب حاصل از واکنش بین فسفر، اسیدفسفاتاز و راژین رنگ آمیزی است در سلولهای جوانه چشایی شمارش شد و نتایج بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS انجام گردید. برای مقایسه اثرات دوز فسفر غذایی بر میانگین فسفاتاز اسیدی جوانه های چشایی از روش غیر پارامتری آزمون کروسکال والیس و نیز آنالیز واریانس استفاده شد. همچنین با استفاده از روش آنالیز رگرسیون خطی رابطه خـطی بین مقدار دوز و

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.1.7]

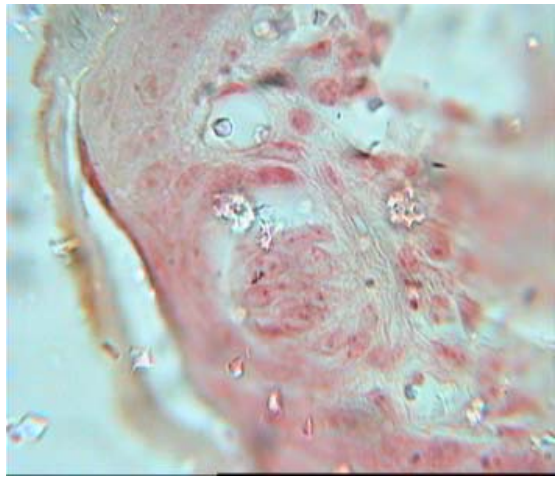
پاسخ بدست آمد.

یافته‌ها

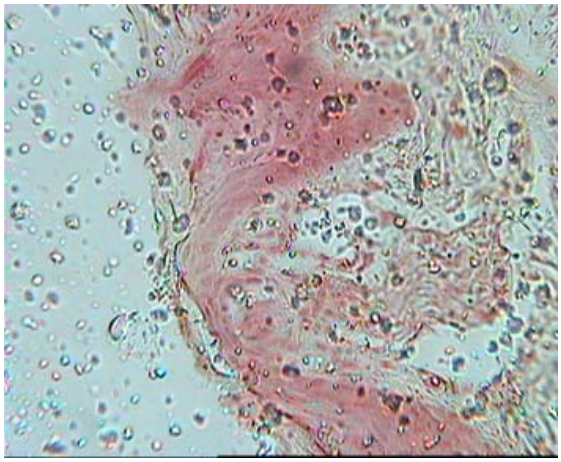
در خاتـمه آزمـایش ۳۰ روزه، تعداد موشهای زنده هر گروه از ۱۰ موش اولیه، به ترتیب شامل، گروه کنترل ۹ مورد زنده، گروه ۰/۵٪ چهار مورد زنده، گروه ۱/۵٪ هشت مورد، گروه ۳٪ پنج مورد و گروه ۶٪ یک مورد زنده مشاهده گردید. در این آزمایش گروههای ۰/۵٪ و ۶٪ از بالاترین میزان مرگ و میر برخوردار بودند. طیف تغییرات دانه های فسفاتاز در هریک از درصد های نمک مصرفی نسبت به گروه کنترل در جدول ۱ نشان داده شده است.

از طریق آنالیز واریانس و روش غیر پارامتر آزمون کروسکال والیس، میانگین تعداد سلولهای چشایی در ۴ گروه مختلف دوز فسفر غذایی موردآزمون قرار گرفت و اختلاف معنی داری($p<۰/۰۰۰۱$) بین آنها مشاهده گردید. در مقایسه چندگانه بین دوزهای مختلف در میزان رسوب دانه های چشایی، بیشترین اختلاف در تعداد سلولهای چشایی بین دوزهای کنترل (۰/۰۰) و دوز ۳٪ است.

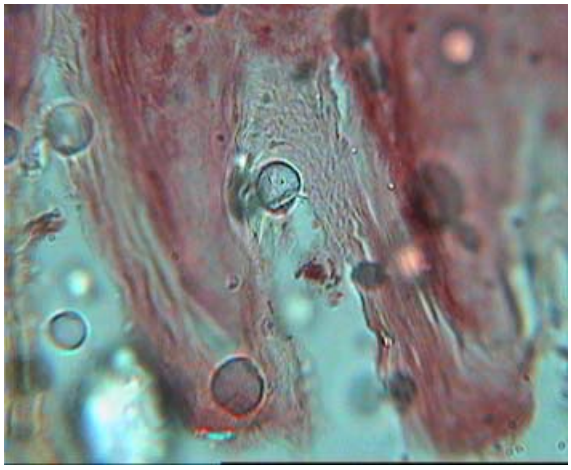
براساس نتایج آنالیز رگرسیون رابطه خطی بین تعداد دانه های درون سلولهای چشایی و دوز فسفر غذایی را نشان می دهد و براساس نتایج آنالیز رگرسیون به ازای افزایش هر واحد دوز فسفر غذایی ۷/۴ عدد دانه های درون سلول چشایی افزایش می یابد($p<۰/۰۰۰۰۱$) (شکل های ۴-۱).



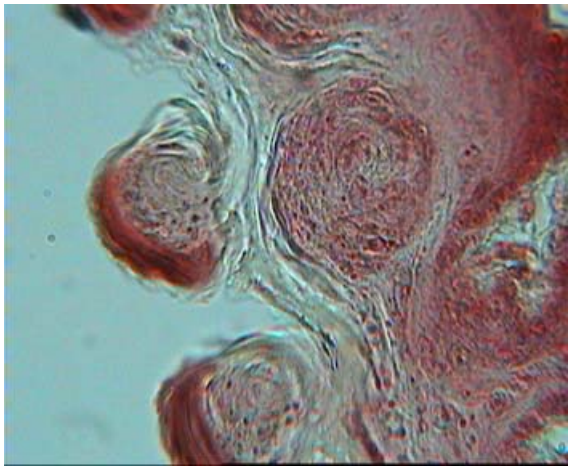
شکل ۱. میزان رسوب سولفید سرب در جوانه چشایی پاپیلای قارچی با دوز ۰/۵٪



شکل ۲. یک پاپیلای قارچی با جوانه چشایی با میزان رسوب سولفید در دوز ۰/۵٪



شکل ۳. میزان رسوب سولفید سرب در پاپیلای نخی شکل زبان رت در دوز ۳٪



شکل ۴. میزان رسوب سولفید سرب جوانه های چشایی دره ای زبان رت با دوز ۱/۵٪

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.1.7]

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار و حدود اعتماد ۹۵٪ میانگین تعداد جوانه چشایی برحسب دوز فسفرغذایی

درصد نمک مصرف شده	تعداد نمونه های جوانه چشایی	میانگین دانه های جوانه چشایی (حدود اطمینان ۹۵٪)
۰/۰	۱۰	٢٤ (١٤/٩٩ – ٣٣/٠١)
۰/۵	۲۱	٢٢/٥٧ (١٤/٩٠–٣٠/٢٤)
۱/۵	۱۷	٣٦/٧٦ (٢٩/٤٥–٤٤/٠٨)
۳	۱۸	٤٧/١١ (٣٦/٣١–٥٧/٩١)
٦	١٤	٥٦/٢١ (٤٣/٧٠–٧٢/٨٦)
جمع	۸۰	٣٨/٧٥ (٣٢/٨٧–٤٤/٩٣)

بحث

براساس نتایج این تحقیق ارتباط مستقیمی بین غلظت نمک فسفات در آب آشامیدنی با دانه های موجود در سلولهای جوانه چشایی زبان رت وجود دارد، که با یافته های سایر محققین (۶-۴) مطابقت می نماید. آزمایشات مشابه روی موش هایی که با اسیداوروتیک به مدت ۱۰ روز تغذیه شدند(۷) در مقایسه با روش تجربی این طرح نشانگر تأثیر بیشتر نمک فسفات بر روی جوانه چشایی زبان Rat و افزایش دانه های فسفاتاز اسیدی سیاهرنگ درون سلولی است.

در تحقیق حاضر تعداد دانه های داخل سیتوپلاسمی جوانه های چشایی پرزهای قارچی و دره ای شمارش شد. میزان رسوب سولفید سرب نه تنها در جوانه های چشایی بلکه در سلولهای اپیتلیوم زبان Rat نیز به مقدار دوز مصرفی بستگی داشت. طبق مشاهدات انجام شده بنظر می رسد که سلولهای اپیتلیالی زبان بویژه پاپیلاها از جمله پاپیلاهای نخی شکل که فاقد جوانه چشایی است، واکنشی مشابه با سلولهای جوانه چشایی در سایر پاپیلاها نشان می دهند. سه نوع سلول حسی مشخص همراه با تعداد کمی سلولهای بازال در جوانه های چشایی انسان تشخیص داده شده‌اند، سلولهای نوع I تیره، سلولهای نوع II و III روشن. این سلولها از تیغه پایه اپی تلیالی تا کانال چشایی یعنی جائیکه سیتوپلاسم راسی آنها انشعابات میکروویلی طویلی از خود خارج می کنند، امتداد دارند. در نوع پاپیلاهای قارچی ـ که سلولهای آن هرگز از یک سوم زیرین کانال چشایی فراتر نمی روند، و همیشه عاری از مواد متراکم هستند ـ انشعابات میکروویلوسی تا حاشیه خارجی منفذ چشایی ادامه می یابند. سلولهای نوع I تیره غنی از ریبوزومهای آزاد، RER توبولی، و گرانولهای متراکم بزرگ هستند.

سلولهای نوع II روشن با ریبوزومهای پراکنده و RER، مشخصات اولتراساستراکچر (ریز ساختمانی) ویژه ای ندارند تا بعنوان عامل یا اجزای فاگوسیتی معرفی شوند. سلولهای نوع III روشن، دارای وزیکولهای با مغز متراکم ویژه هستند که مشخصات ریز ساختمانی ویژه‌ای را در پاپیلاهای برگی و جامی (دره‌ای) نشان می‌دهند. مشاهده شده است که همه سلولهای چشایی از طریق میکروویلی در کانال چشایی و سلولهای چشایی مربوط به پایانه های عصبی در انتقال مزه نقش دارند(۸).

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری کارشناس محترم بخش پاتولوژی و آقای حمید منصف متصدی امور حیوانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می شود.

****

منابع

۱. گانونگ وگ، فیزیولوژی پزشکی، ترجمه دکتر فرخ شادان، انتشارت چهر، جلد اول، ۱۹۹۹؛ ص: ۹-۳۰٤.

۲. رجحان م ص. اطلس دهان و دندان، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۳؛ ص: ٥٤.

۳. بلوم و، فاوست د. بافت شناسی، ترجمه دکتر خدیجه تمدن، دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۹۸٦؛ ص: ٦١-١٠٥٢.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.1.7]

4. Montavon P, Hellekant G, Farbman A. Immunohistochemical electrophysiological and electron microscopical study of rat fungiform taste buds after regeneration of chorda tympani through the non-gustatory lingual nerve. So: J Comp Neural 1996; 367(4): 491-502.

5. Moura CS, Miraglia I. Histochemical observation on the taste buds of the marmosets callithrix jacchus and callithrix penicillata. I Mikrosk Anat Forsch 1978; 92(30): 587-97.

6. Witt M, Reutter K. Embryonic and early fetal development of human taste buds: a transmissican electron microscopical study. Anat Rc 1996; 246(4): 507-23.

7. Cha JY, ChoYS, Kin I, Anno T, Rahman SM, Yanagta T. Effect of hesperetin acitrus flavonoid, on the fiver triacylglycerol content and phosphatidates phospho hydrolase activity in orotic acid fed rats. Plant Foods Hum Nutt 2001; 56(4): 349-58.

8. Ajjali G, Gennari PU, Maffei G, Ferri T. Vallate foliate and fungiform human papillae gustatory cells. An immunocytochemical and ultrastructural study. So: Minerva stomatal 1996; 45(9): 363-79.

* آدرس نویسنده مسئول: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، بخش بافت شناسی، تلفن: ٤-۲۲۲۹۵۹۱-۰۱۱۱.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.1.7]