

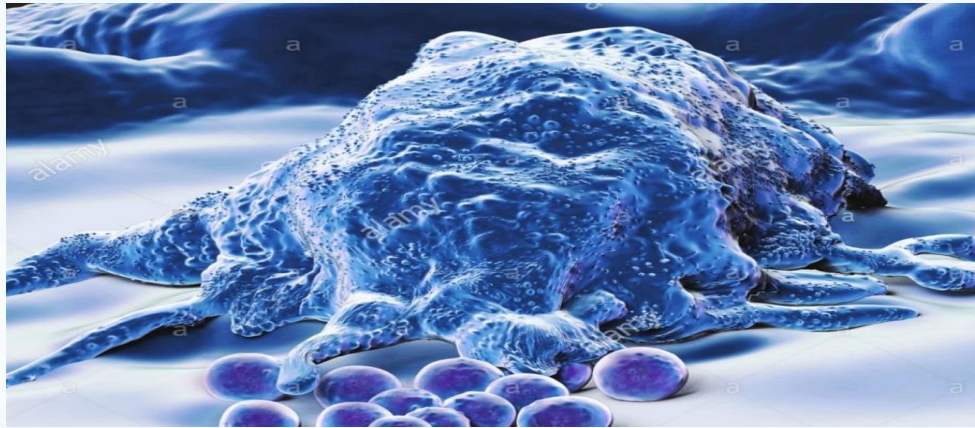


University of Isfahan
Biological Science and Technology
Department of Cell and Molecular Biology
Cellular and Molecular Laboratory
Farzaneh Forouharfar

عنوان

بررسی پدیده فاگوسیتوز یا ذره خواری

Phagocytosis

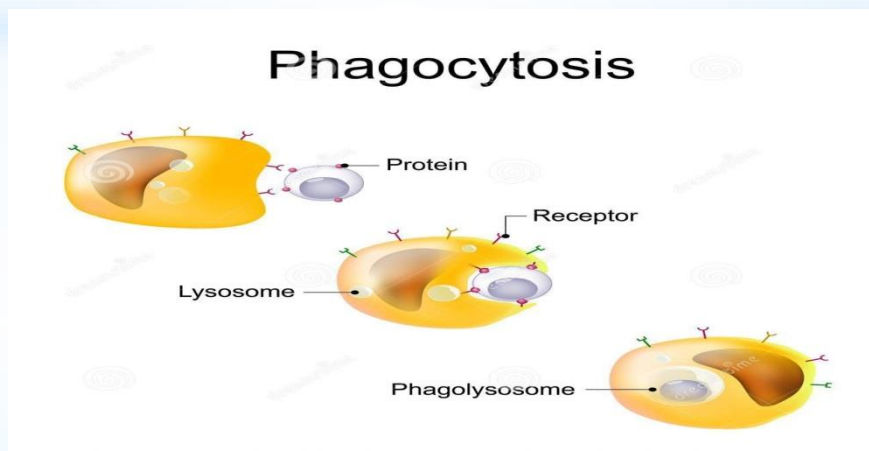
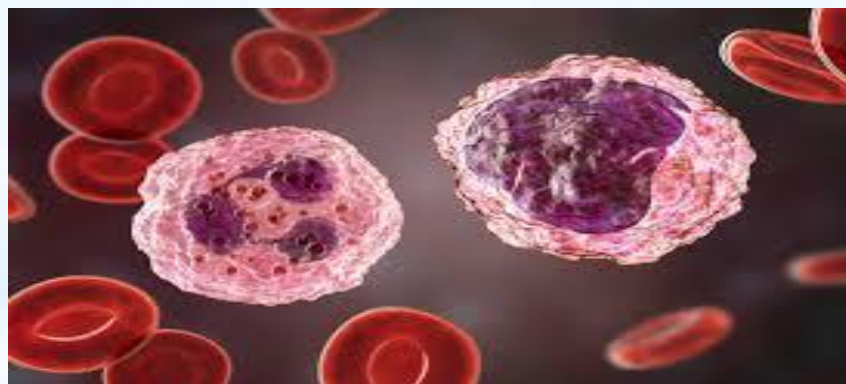


OVERVIEW OF
PHAGOCYTOSIS



اهداف

مشاهده پدیده ریز ذره خواری در سلول های فاگوسیت خون انسان



مقدمه

اندوسیتوز و انواع آن

اندوسیتوز یک فرایند سلولی است که طی آن سلول موادی را از محیط اطراف جذب می‌کند. در این فرآیند، غشای سلول به سمت داخل فرو می‌رود و مواد را درون وزیکول‌هایی وارد سلول می‌کند.

دو نوع اصلی اندوسیتوز عبارتند از:

۱. پینوسیتوز: (Pinocytosis) جذب مایعات و مولکول‌های محلول؛ به آن نوشیدن سلولی نیز می‌گویند.

۲. فاگوسیتوز: (Phagocytosis) بلع ذرات بزرگ مانند باکتری‌ها؛ به آن خوردن سلولی نیز گفته می‌شود.

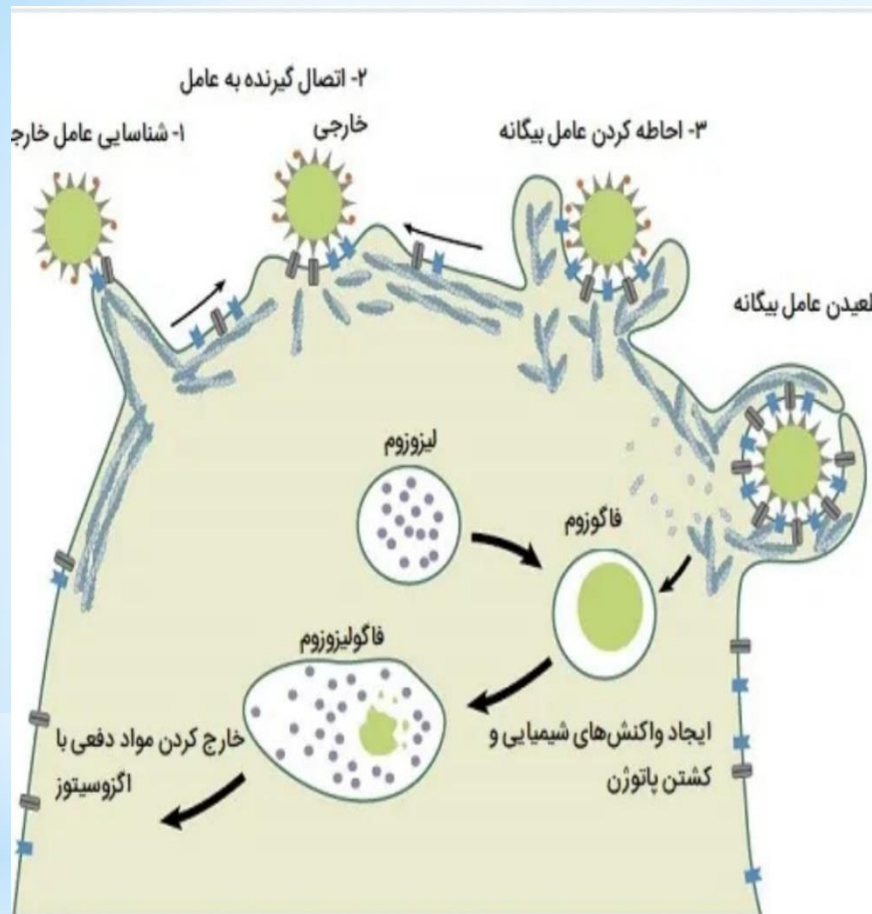
فاگوسیتوز

فاگوسیتوز یکی از انواع اندوسیتوز است که طی آن سلول ذرات بزرگ مانند باکتری‌ها، سلول‌های مرده یا ذرات خارجی را بلعیده و هضم می‌کند. این فرایند در خون بیشتر توسط سلول‌های ایمنی مانند ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها انجام می‌شود.

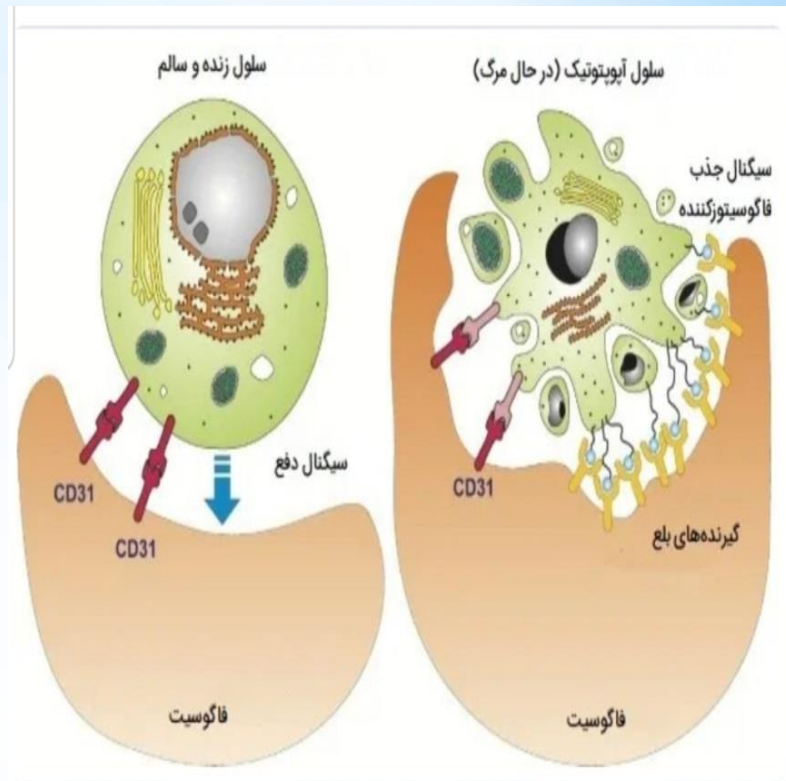
این پدیده هم در موجودات پروکاریوت و هم در یوکاریوت صورت می‌گیرد. در پروکاریوت‌ها معمولاً برای تغذیه و در یوکاریوت‌ها عمدتاً برای دفاع سلولی شناخته می‌شود. فرزندانه فروهر فر

مراحل فرایند فاگوسیتوز (Phagocytosis Steps)

1. شناسایی (Recognition): گیرنده‌های سطحی سلول، ذرات خارجی را شناسایی می‌کنند.
2. چسبیدن (Attachment): ذره به گیرنده‌هایی مانند receptor اختصاصی متصل می‌شود.
3. احاطه کردن و تشکیل فاگوزوم (Engulfment): غشا سلول ذره را در یک فاگوزوم (Phagosome) محصور می‌کند. اندازه فاگوزوم به اندازه و تعداد ذرات بلعیده شده بستگی دارد.
4. ادغام با لیزوزوم (Fusion): فاگوزوم با لیزوزوم ترکیب شده و فاگولیزوزوم (Phagolysosome) تشکیل می‌شود.
5. هضم (Digestion): آنزیم‌های لیزوزومی ذره را تجزیه می‌کنند.
6. دفع محتویات باقی‌مانده (Exocytosis): باقی‌مانده غیرقابل هضم از سلول خارج می‌شود. مواد باقی‌مانده تجزیه می‌شوند یا به بیرون از سلول منتقل می‌گردند و پاسخ ایمنی فروکش می‌کند. این فرایند برای بسیاری از عوامل خارجی از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها، و موارد دیگر مشابه است. تفاوت عمده در نوع گیرنده‌ها و مسیرهای شناسایی است.

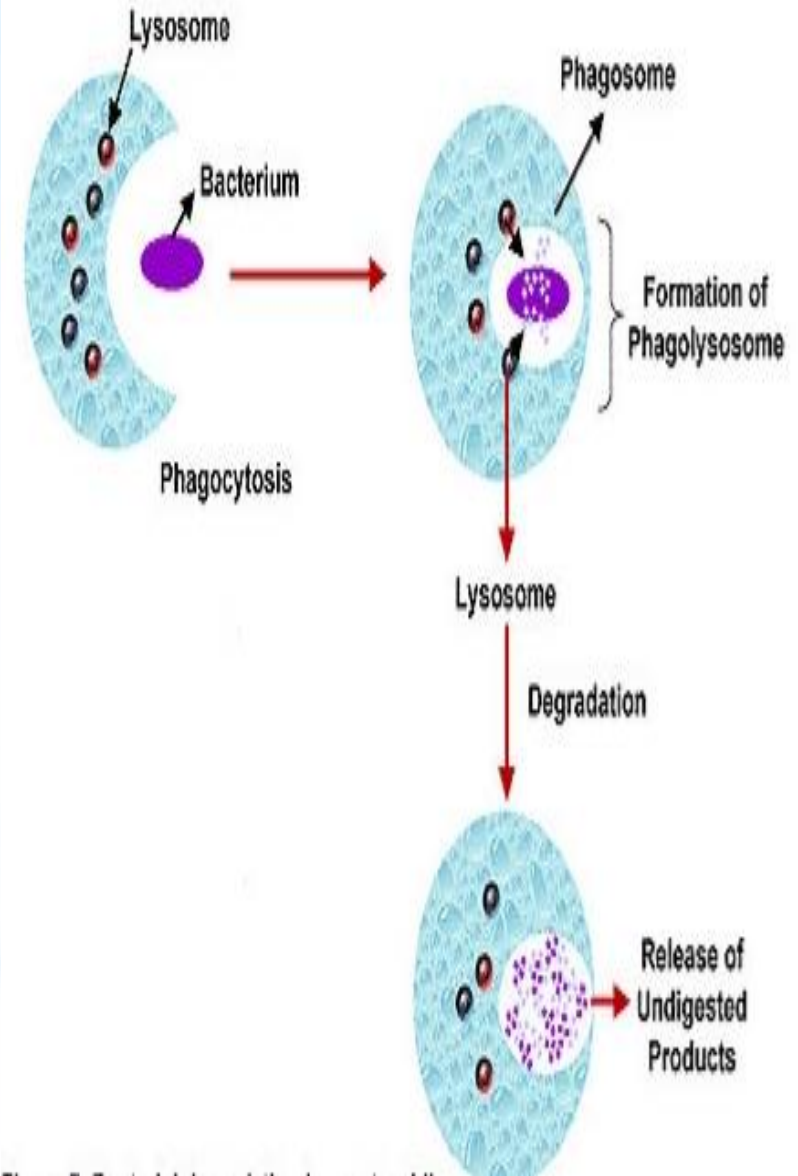
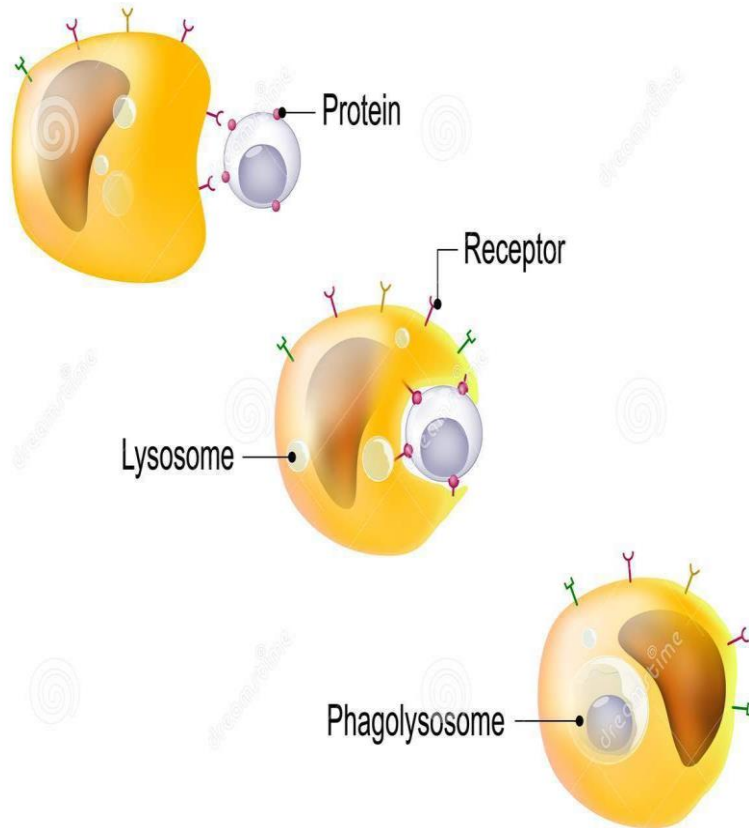


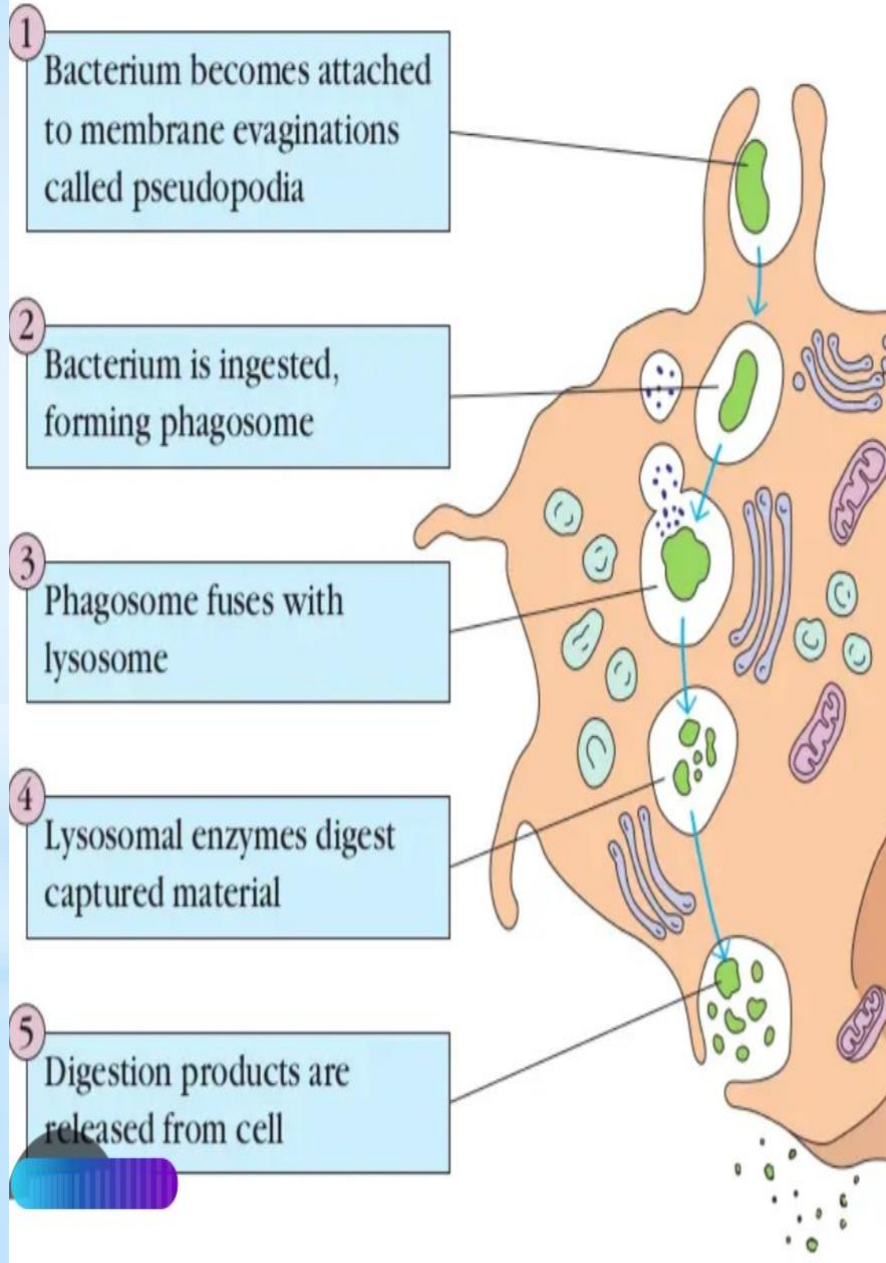
در این تصویر مراحل بیگانه خواری نشان داده شده است.

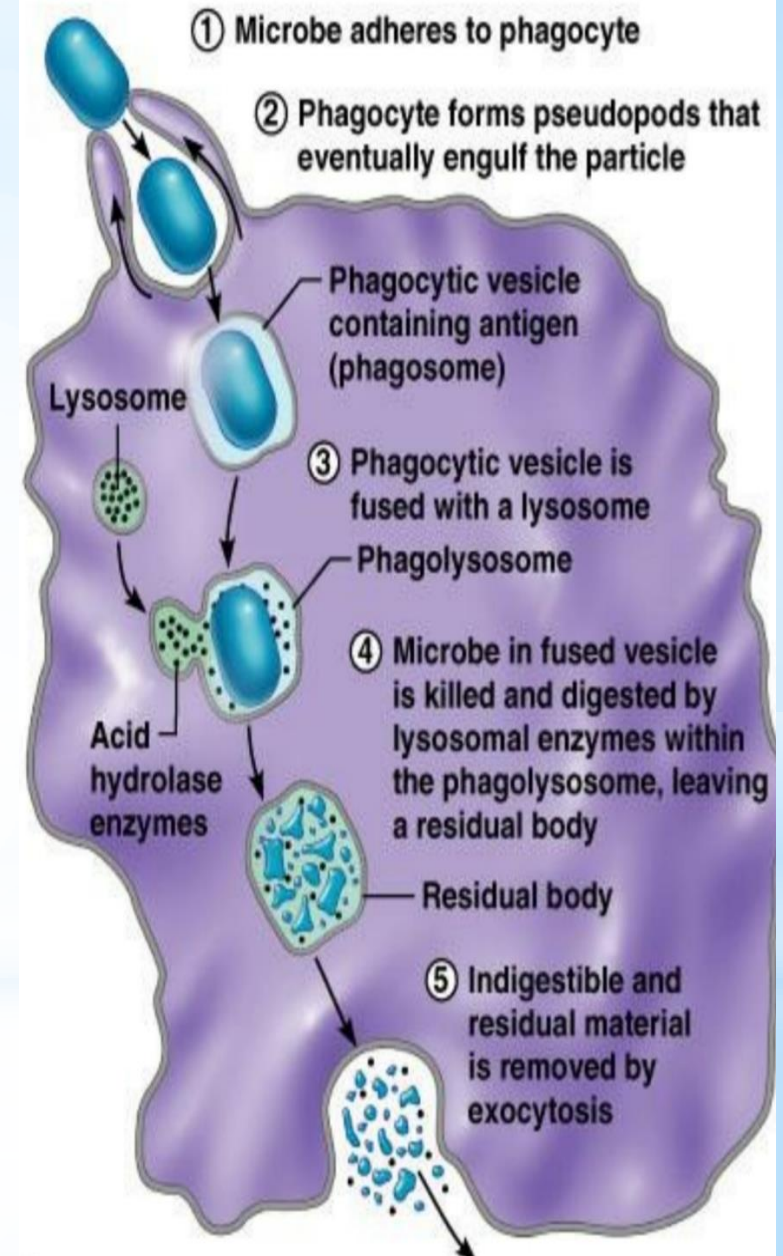
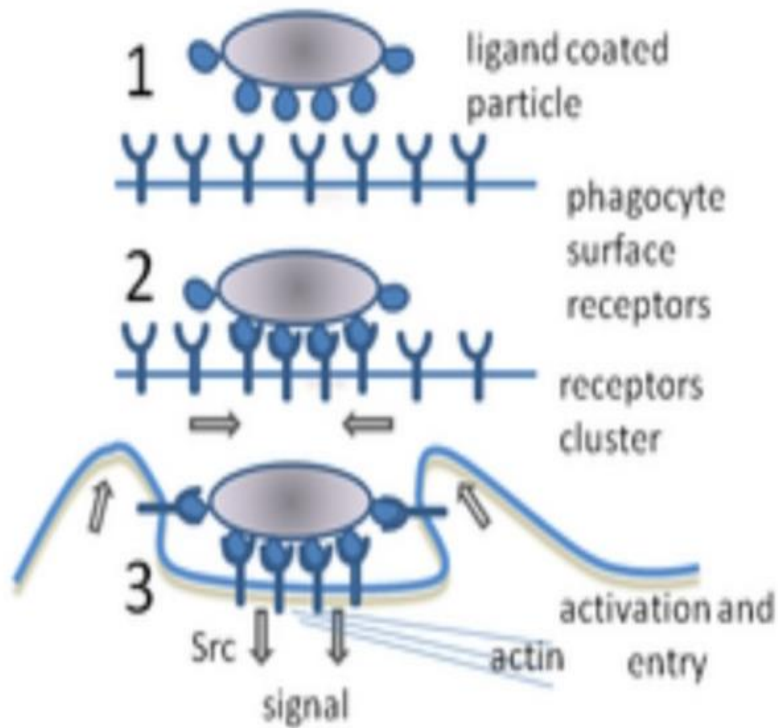


در این تصویر نشان داده شده است که سلول‌های در حال مرگ به فازوسیت‌ها سیگنال‌هایی می‌فرستند که باعث خورده شدن و تجزیه آن‌ها توسط سلول بیگانه خوار می‌شو.

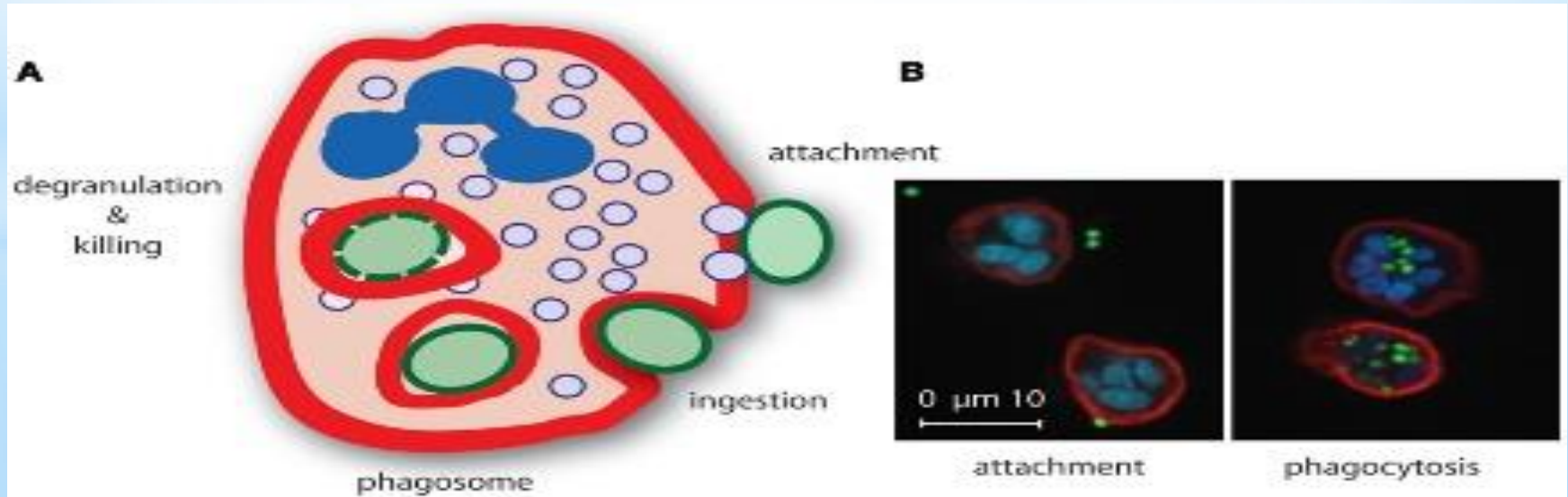
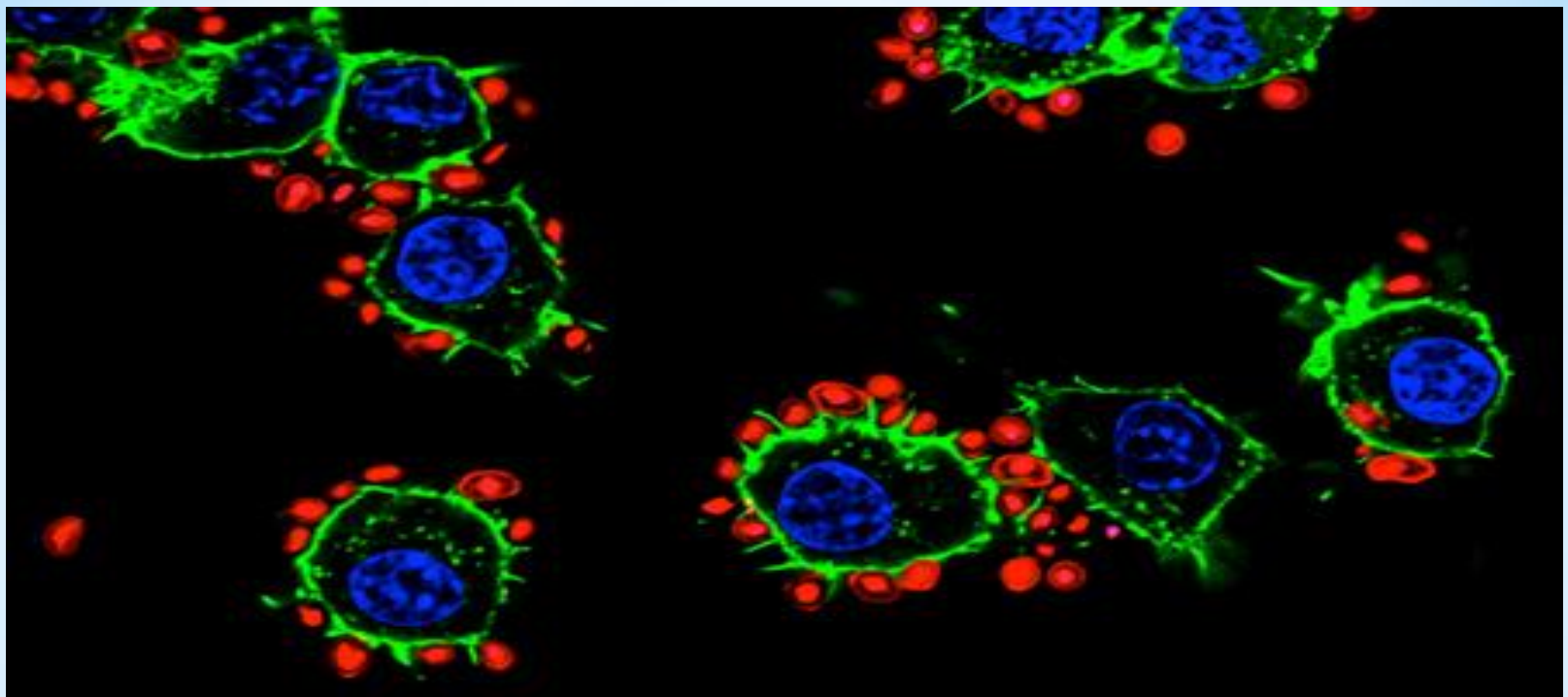
Phagocytosis

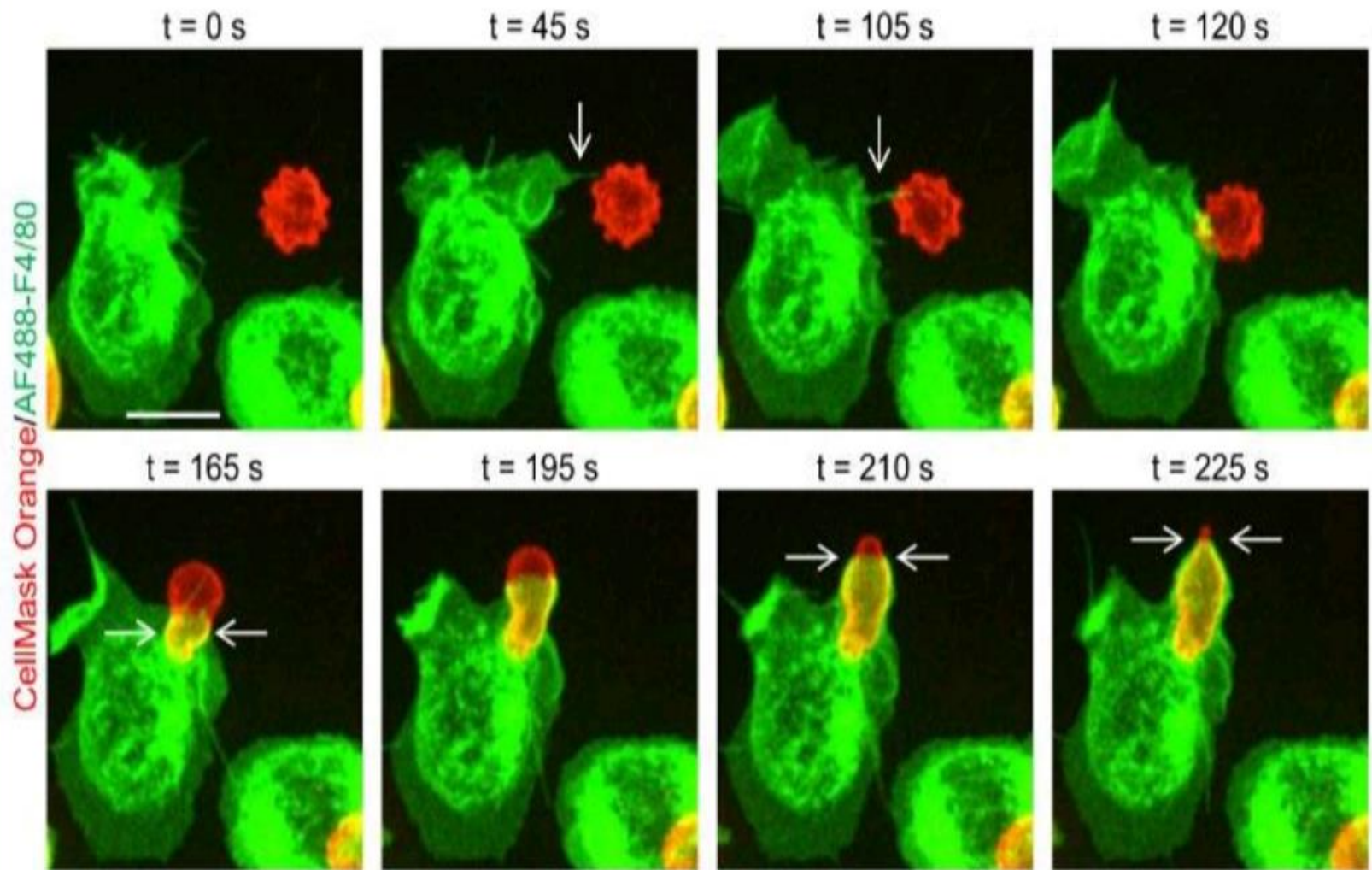




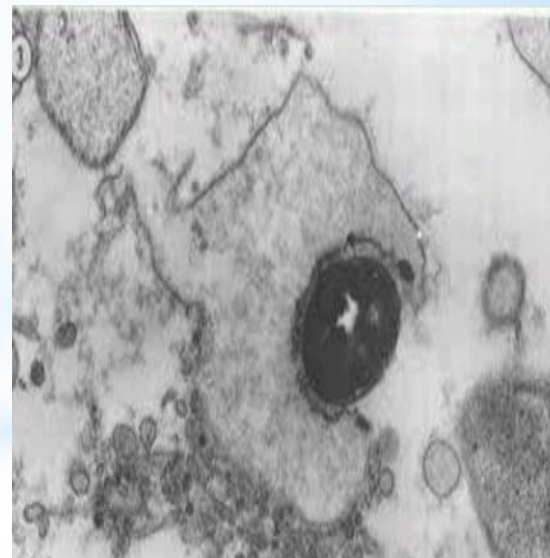
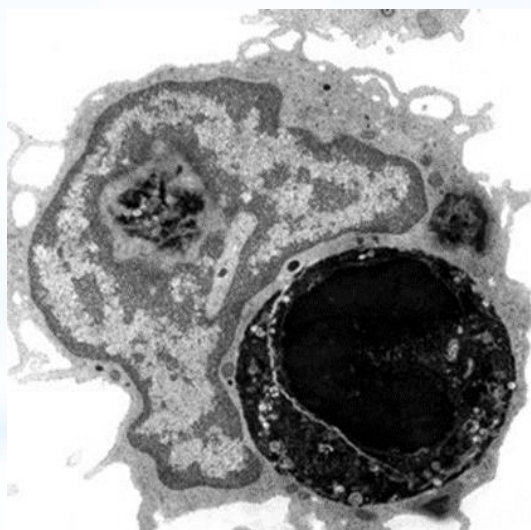
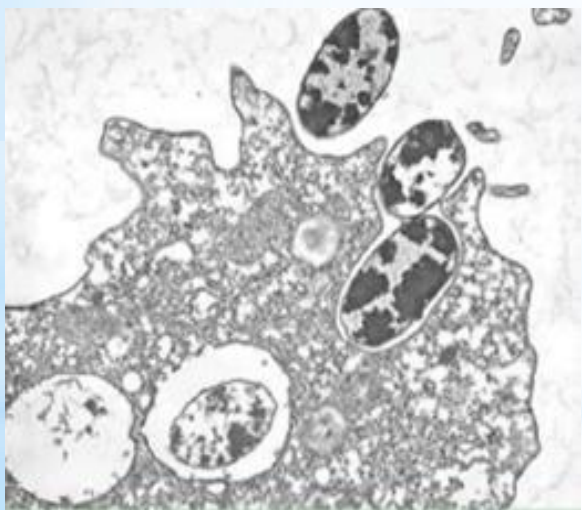


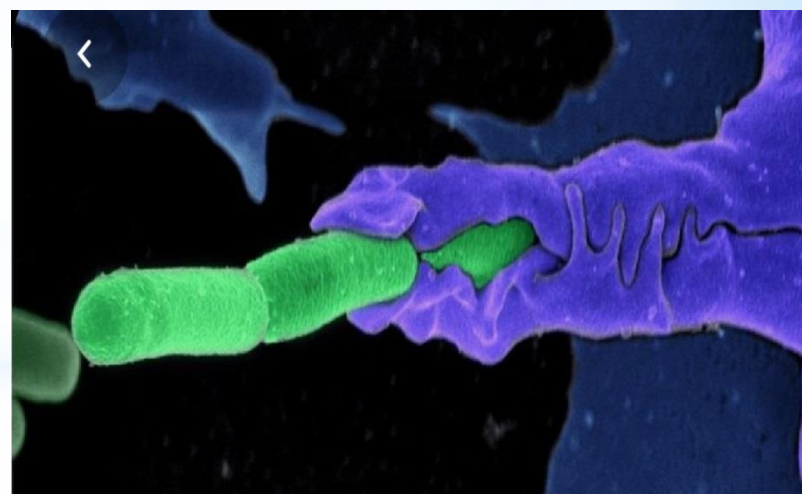
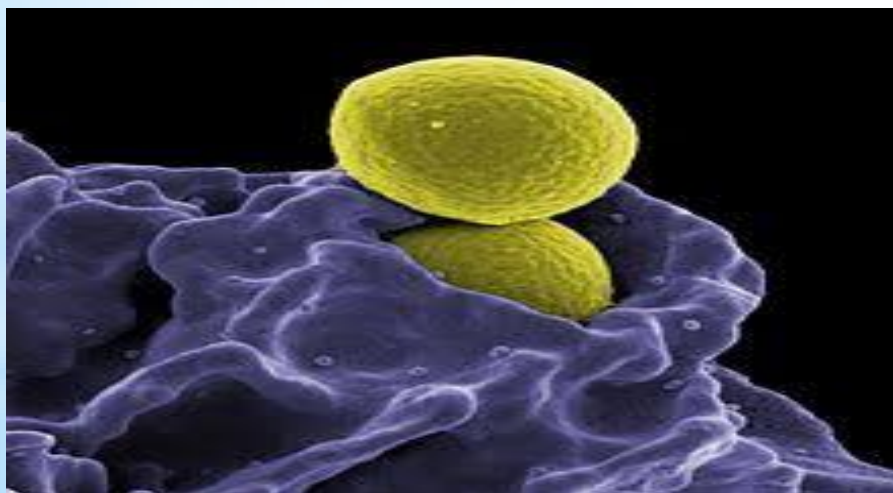
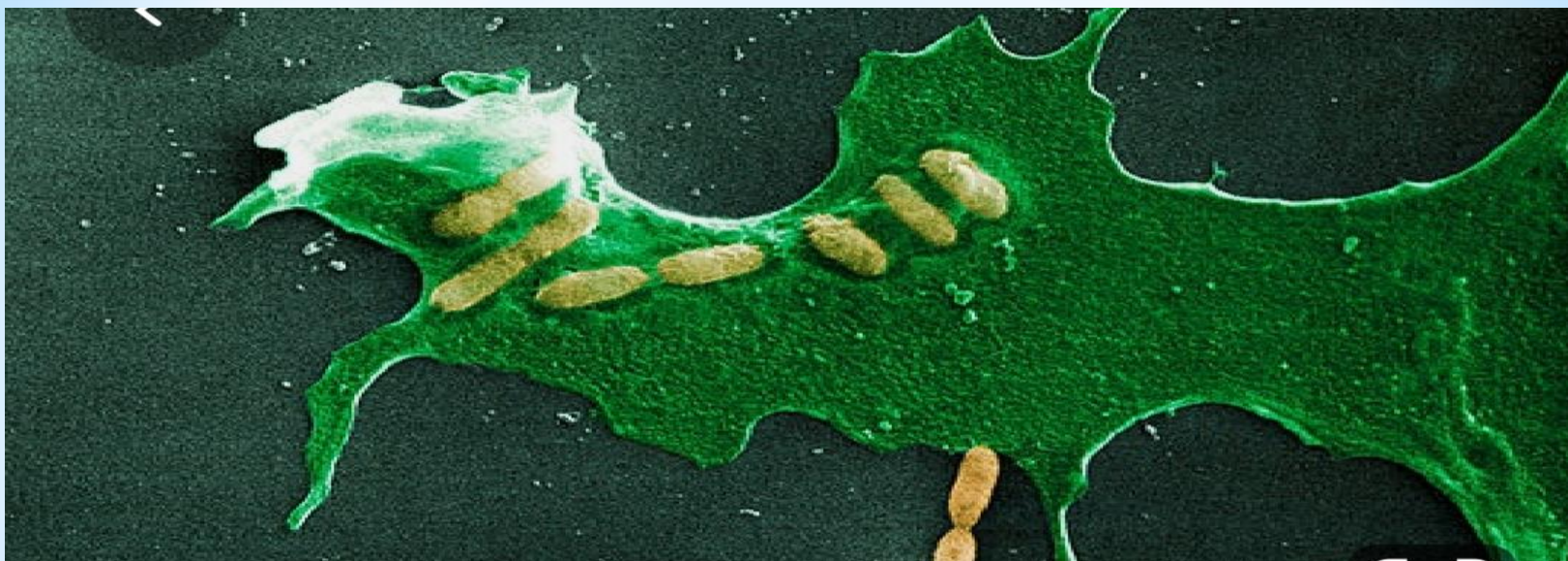
فagosیتوز در سه مرحله: 1. Unbound. phagocyte surface receptors do not trigger phagocytosis. 2. Binding of receptors causes them to cluster. 3. Phagocytosis is triggered and the particle is taken-up by the phagocyte

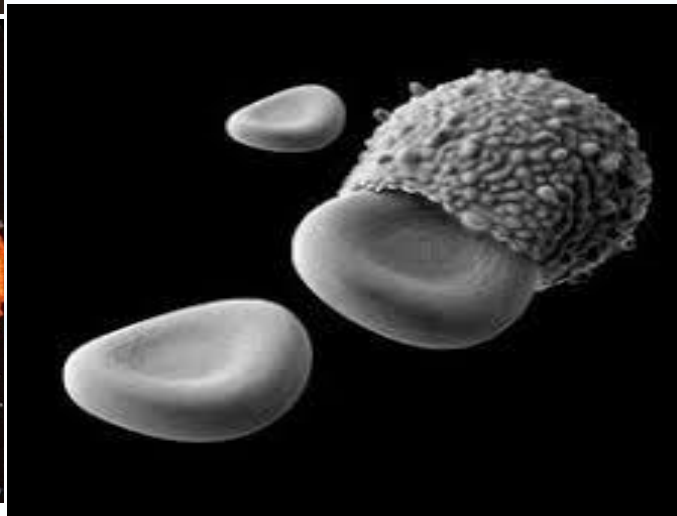
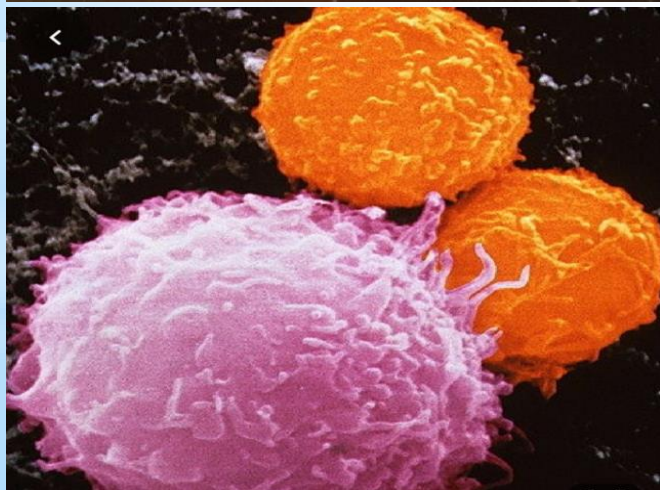
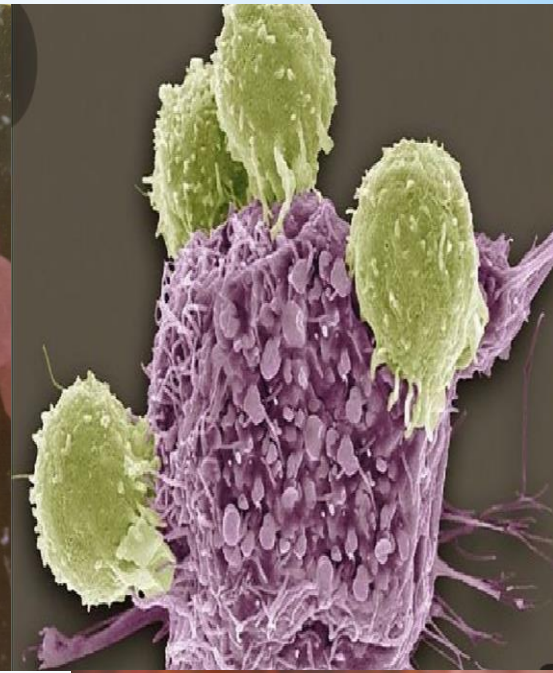
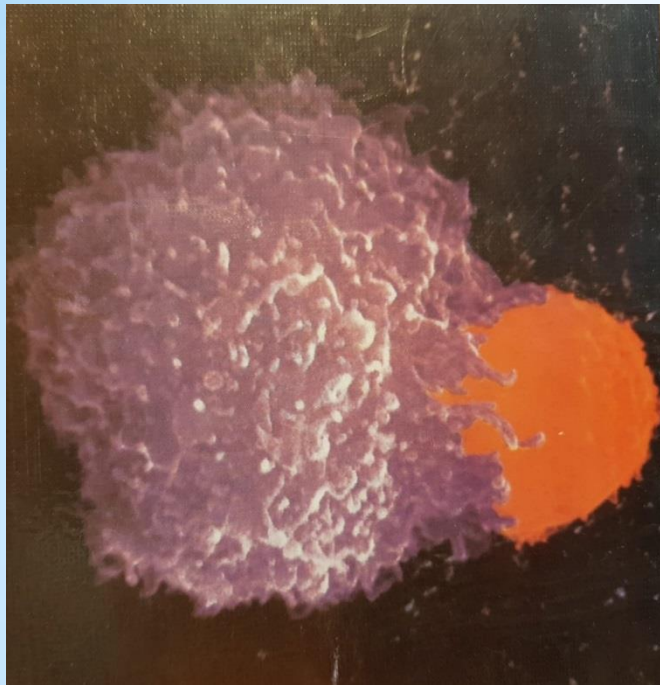




ماکروفاژهای موش در حال ذره خواری







سایتوکاین چیست؟ What is a Cytokine?

سایتوکاین‌ها پروتئین‌ها یا پپتیدهایی هستند که توسط سلول‌های ایمنی ترشح می‌شوند تا ارتباط میان سلول‌ها را تنظیم کنند. آن‌ها در پاسخ‌های ایمنی، التهاب، رشد سلولی و ترمیم بافت نقش دارند.

سایتوکاین‌های مؤثر در فاگوسیتوز به چند دسته تقسیم می‌شوند:
فعال‌سازی فاگوسیت‌ها

جذب فاگوسیت‌ها به محل عفونت

افزایش گیرنده‌های فاگوسیتی

تنظیم و مهار پاسخ ایمنی

انفجار اکسیداتیو چیست؟ What is a oxidative burst

انفجار اکسیداتیو oxidative burst اتفاقی است که همیشه در فرآیند فاگوسیتوز رخ نمی‌دهد و به شرایط خاص بستگی دارد.

1. فاگوسیتوز غیر التهابی (بدون انفجار):

در بسیاری از موارد مانند پاک‌سازی سلول‌های مرده (آپوپتوزی) یا ذرات غیر عفونی، سلول‌های فاگوسیت‌کننده مانند ماکروفاژها بدون فعال‌سازی مسیر اکسیداتیو، ذره را فقط تجزیه می‌کنند.

این حالت بیشتر آرام، ضد التهابی و با ترشح سایتوکاین‌های مهارکننده همراه است.

2. فاگوسیتوز التهابی (با انفجار اکسیداتیو):

زمانی رخ می‌دهد که ذره فاگوسیت‌شونده یک پاتوژن زنده یا فعال (مانند باکتری، قارچ، یا ویروس) باشد.

گیرنده‌های فعال‌کننده آنزیم NADPH oxidase فعال می‌شود و تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را آغاز می‌کند. این مواد ویروس را تخریب و غیرفعال می‌کنند.

انفجار اکسیداتیو مکانیسمی انتخابی است که فقط هنگام نیاز به تخریب فعال پاتوژن‌ها، خصوصاً عوامل عفونی زنده، رخ می‌دهد و همیشه همراه فرآیند فاگوسیتوز است. فاگوسیتوز سلول‌های مرده و مولکول‌های غیر زنده را همراه فر

سلول‌های فاگوسیتی خون

سلول‌های فاگوسیتی در خون آن دسته از سلول‌های ایمنی هستند که توانایی فاگوسیتوز و تخریب ذرات خارجی مانند میکروب‌ها، سلول‌های مرده یا زباله‌های سلولی را دارند. مهم‌ترین سلول‌های فاگوسیتی خون عبارت‌اند از:

1. نوتروفیل‌ها (Neutrophils)

نوتروفیل‌ها پرشمارترین گلبول‌های سفید خون هستند و هسته‌ای چندلوبی دارند. این سلول‌ها نیز دارای توانایی بالا در فاگوسیتوز هستند و می‌توانند ذرات رنگی مانند نوترال رد را بلعیده و درون خود ذخیره کنند. ذرات قرمز کوچک در سیتوپلاسم آن‌ها قابل مشاهده است. اولین سلول‌هایی‌اند که به محل عفونت جذب می‌شوند. آن‌ها دارای توانایی فاگوسیتوز بسیار قوی‌اند ولی عمر کوتاهی دارند و معمولاً پس از بلع ذرات از بین می‌روند.

2. مونوسیت‌ها (Monocytes)

دارای هسته لوبیایی شکل بوده و توانایی فاگوسیتوز ذرات خارجی از جمله رنگ نوترال رد را دارند و در شرایط آزمایشگاهی فعالیت بالایی نشان می‌دهند. پس از بلع رنگ، ذرات قرمز رنگ در سیتوپلاسم آن‌ها قابل مشاهده است.

این سلول‌ها پس از ورود به بافت‌ها، به ماکروفاژها یا سلول‌های دندریتیک تمایز می‌یابند. مونوسیت‌ها و مشتقات بافتی‌شان نقش کلیدی در فاگوسیتوز و پردازش آنتی‌ژن دارند.

3. ائوزینوفیل‌ها (Eosinophils)

ائوزینوفیل‌ها دارای توانایی محدودی در فاگوسیتوز هستند. نقش اصلی آن‌ها در دفاع علیه انگل‌ها و تنظیم پاسخ‌های آلرژیک است. فاگوسیت‌های ضعیف‌تری نسبت به نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها هستند.

در مجموع، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها پیش‌ساز ماکروفاژها مهم‌ترین سلول‌های فاگوسیتی در خون هستند.

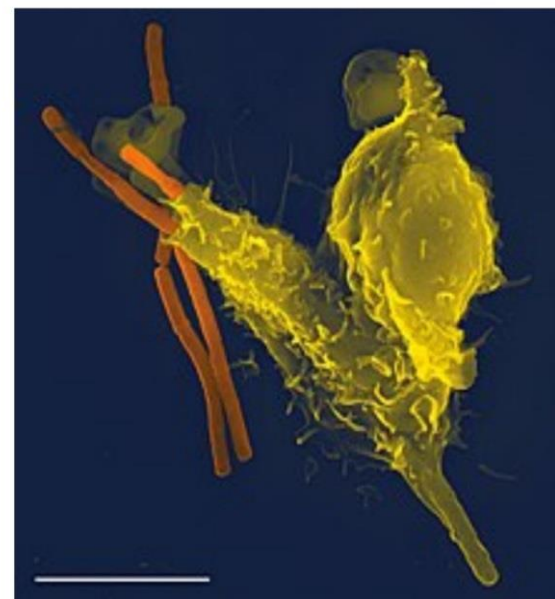
در مطالعات سیتولوژیکی آزمایشگاهی نوترال رد یک رنگ زیستی و اسیدی ضعیف است که قابلیت ورود به داخل لیزوزوم‌های سلول‌های زنده را دارد. درون لیزوزوم‌ها، رنگ قرمز روشن می‌شود و به صورت نقاط رنگی در سلول دیده می‌شود. این ویژگی باعث می‌شود برای ردیابی فعالیت فاگوسیتیک سلول‌ها رنگی کاربردی باشد.



ضایعه پوستی از سیاه زخم



مایعات سیاه زخم بر روی گردن



تصویر میکروسکوپ الکترونی از نوتروفیل در حال
فاگوسیتوز باسیل آنتراکس (نارنجی)

باسیل سیاه زخم به دلیل خطرناک بودن در حملات بیوتروریسم
کاربرد دارد.

Anthrax

سلول نوتروفیل در حال فاگوسیتوز باسیل آنتراکس



مواد و وسایل مورد نیاز

مواد و وسایل مورد نیاز

خون تام یا کامل و تازه

قرمز خنثی

لانست

لام و لامل

الکل ۹۵٪

پنبه

میکروسکوپ



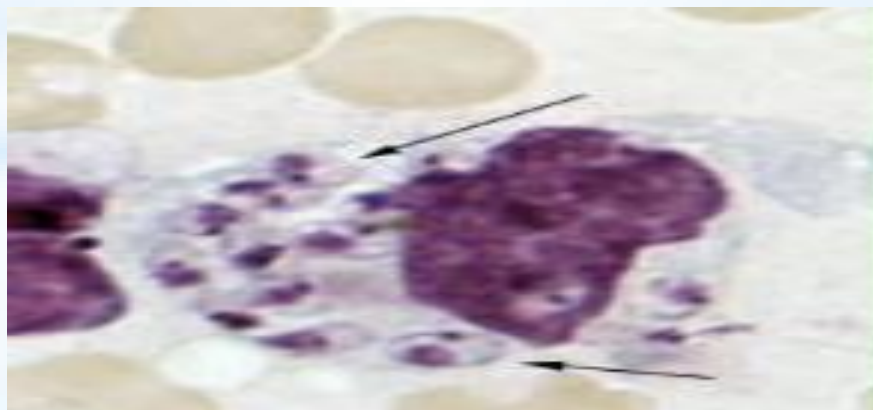
این روش ساده و سریع برای بررسی فرایند فاگوسیتوز و ارزیابی عملکرد سیستم ایمنی سلولی مناسب است.

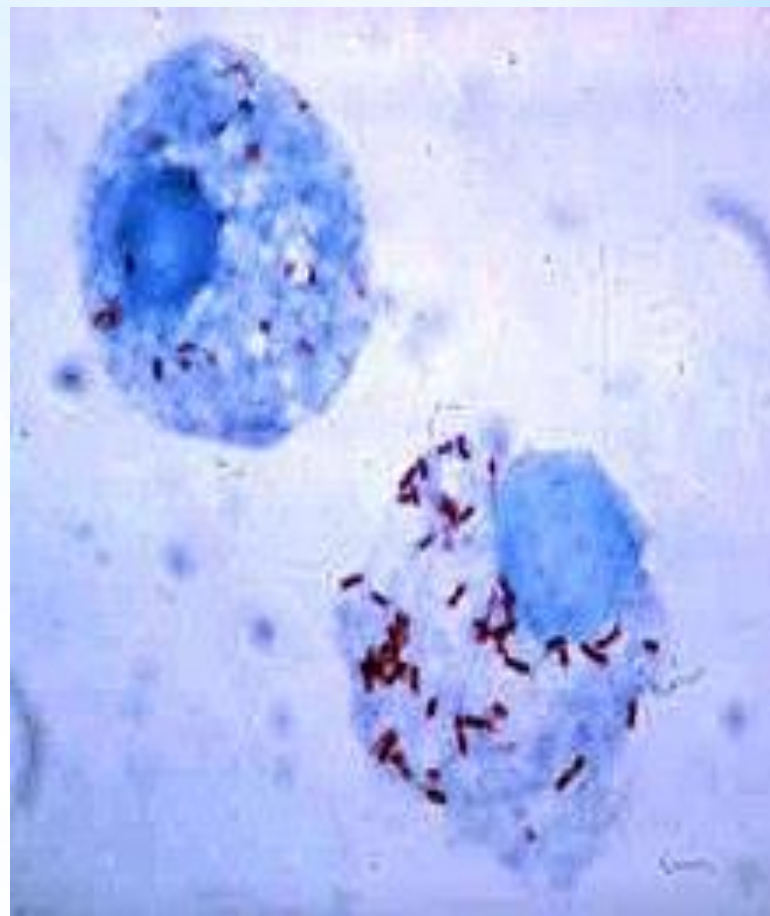
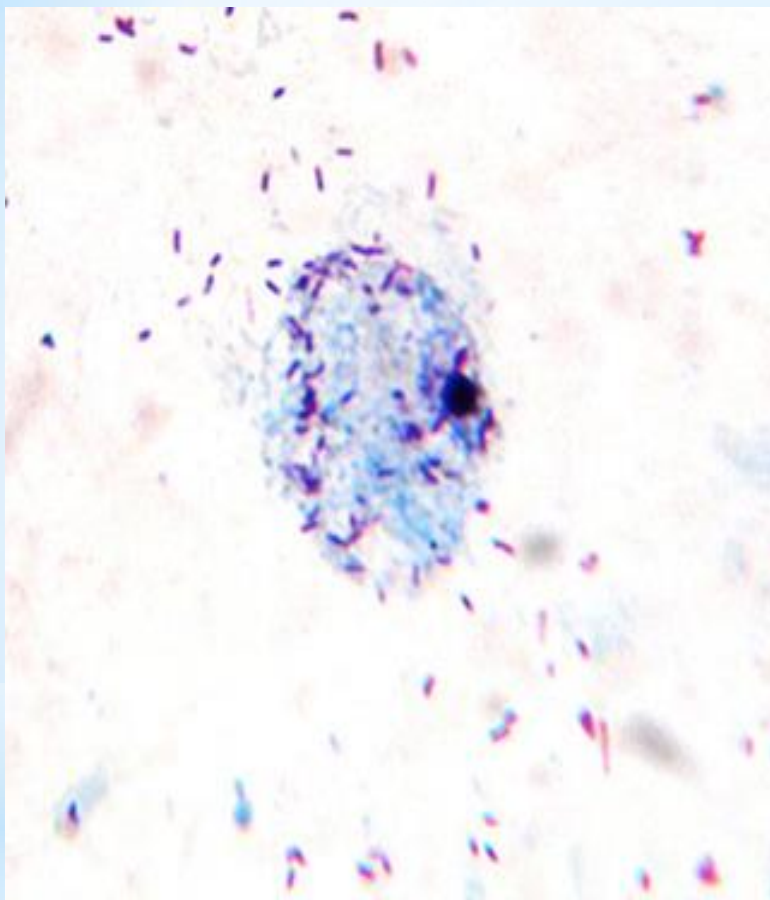
1. با استفاده از لانت، یک قطره خون از نوک انگشت گرفته می‌شود. بهتر است از قطره دوم یا سوم خون خارج شده از سر انگشت دست استفاده شود.
2. قطره خون را سریع روی لام قرار داده و بلافاصله یک قطره محلول نوترال رد (غلظت حدود 0.1%) روی آن می‌ریزیم.
3. با یک لامل نمونه را پوشش می‌دهیم و بدون تأخیر زیر میکروسکوپ نوری مشاهده می‌کنیم.
4. در این مرحله، سلول‌های فاگوسیتوز کننده مانند نوتروفیل‌ها به سرعت ذرات رنگ را می‌بلعند و داخل سیتوپلاسم‌شان ذرات رنگی مشاهده می‌شود.
5. این نشان‌دهنده فعالیت فاگوسیتوز سریع و زنده سلول‌های خون است.

نکات مهم:

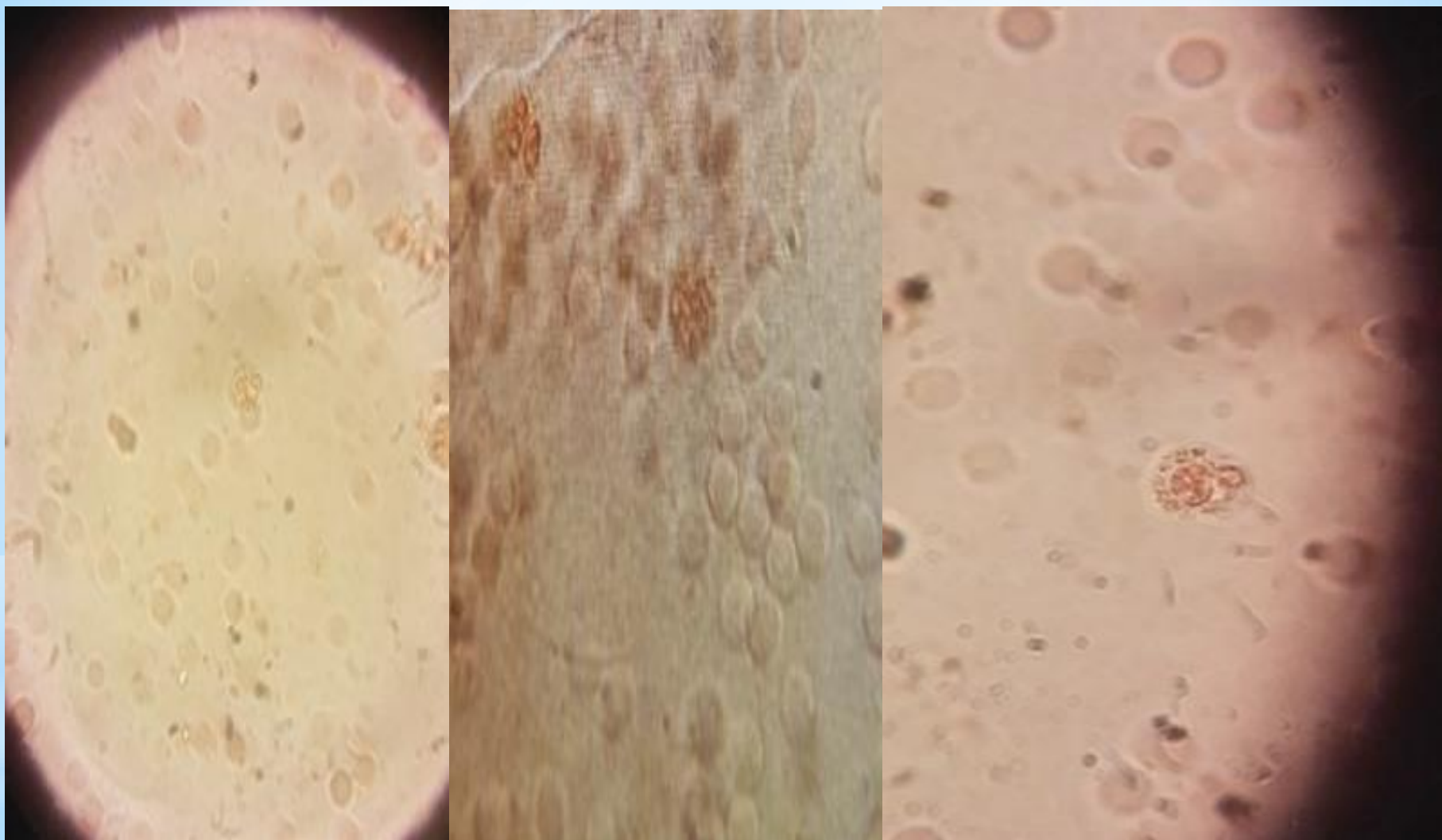
سرعت عمل در کار اهمیت دارد چون فاگوسیتوز به سرعت رخ می‌دهد و باید سریع مشاهده شود. بدیهی است که در صورت کند بودن و طول کشیدن آزمایش، خون لخته شده و قادر به بررسی دقیق نخواهید بود. ذرات رنگ نوترال رد به عنوان ذرات خارجی عمل می‌کنند و توسط نوتروفیل‌ها بلعیده می‌شوند.

دقت شود که بایستی در این لام به دنبال گویچه‌های سفید خون که عمل فاگوسیتوز را انجام می‌دهند بگردید و آن را در مراحل مختلف بررسی کنید. بدیهی است که در صورت کند بودن و طول کشیدن آزمایش، خون لخته شده و قادر به بررسی دقیق نخواهید بود. پس از مشاهده سلول مورد نظر، در صورت زنده بودن از روغن ایمرسیون استفاده کنید و در بزرگنمایی ۱۰۰ جریان سیتوپلاسمی را که موجب حرکت فاگوزوم‌های بلعیده در سیتوپلاسم می‌شود را بررسی کنید.





مشاهده مراحل انجام فاگوسیتوز



مشاهده مراحل انجام فاگوسیتوز