

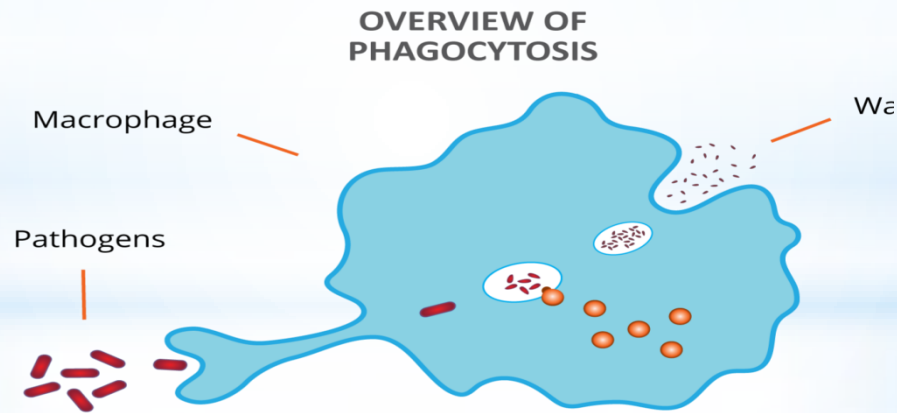


University of Isfahan
Biological Science and Technology
Department of Cell and Molecular Biology
Cellular and Molecular Laboratory
Farzaneh Forouharfar

عنوان

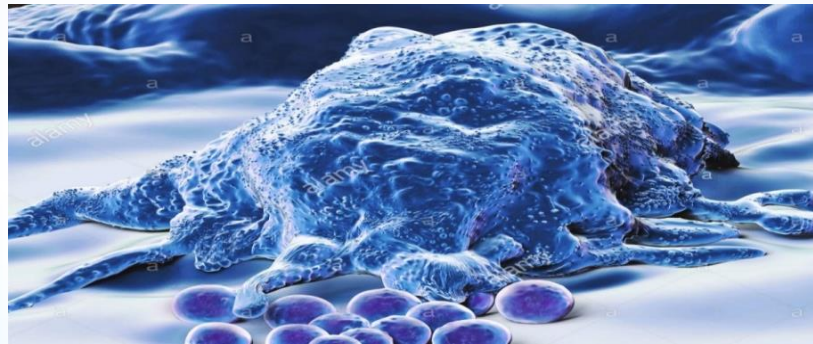
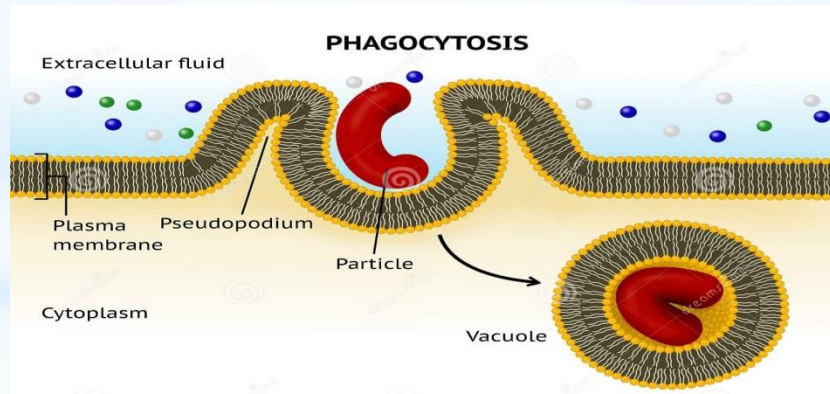
بررسی پدیده فاگوسیتوز یا ذره خواری

Phagocytosis



اهداف

مشاهده پدیده ذره‌خواری 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 فرایند، 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 چیست؟

این پدیده هم در موجودات پروکاریوت و هم در یوکاریوت صورت می‌گیرد. در پروکاریوت‌ها معمولاً برای تغذیه و در یوکاریوت‌ها برای دفاع به کار می‌رود.

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 بیشتر توسط سلول‌های ایمنی مانند ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و سلول‌های دندریتیک انجام می‌شود.

مراحل فرایند فاگوسیتوز (Phagocytosis Steps)

1. شناسایی (Recognition): گیرنده‌های سطحی سلول، ذرات خارجی را شناسایی می‌کنند.

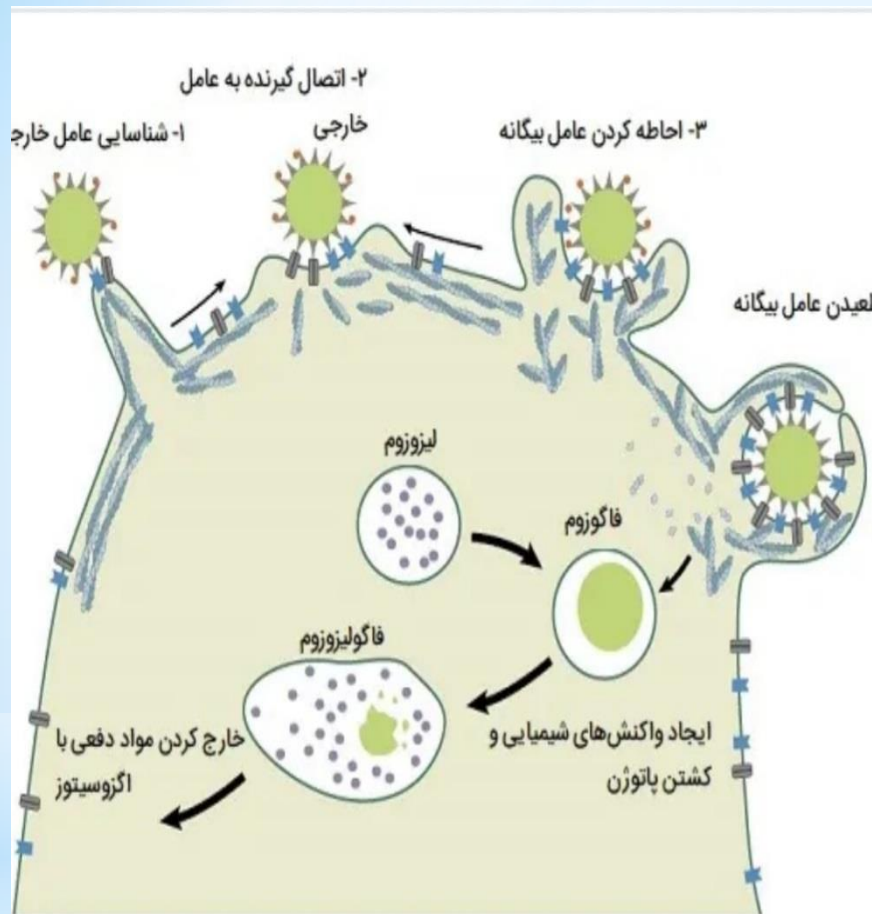
2. چسبیدن (Attachment): ذره به گیرنده‌هایی مانند receptor اختصاصی متصل می‌شود.

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.

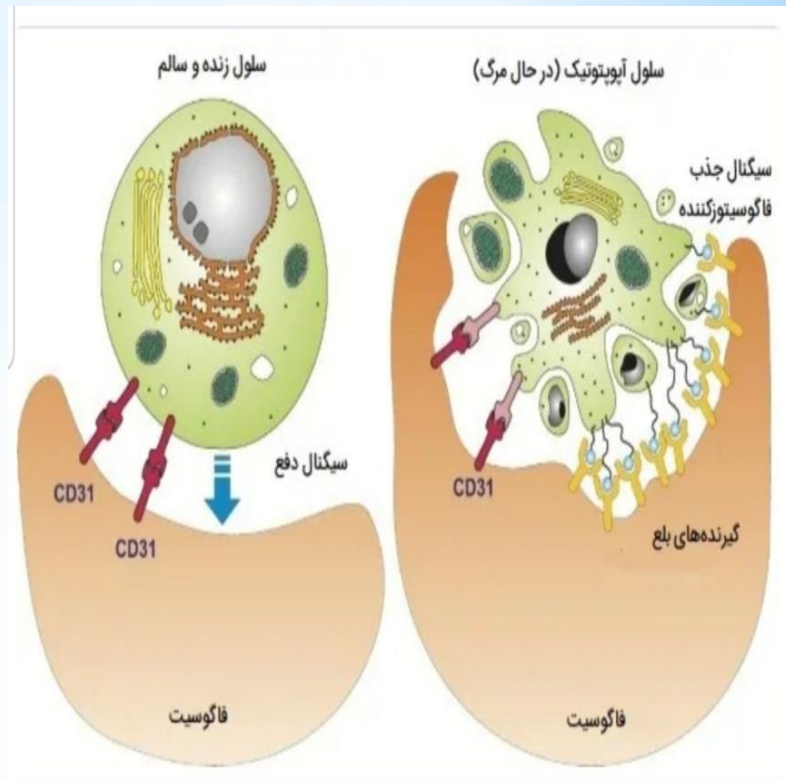
4. ادغام با لیزوزوم (Fusion): فاگوزوم با لیزوزوم ترکیب شده و فاگولیزوزوم Phagolysosome تشکیل می‌شود.

5. هضم (Digestion): آنزیم‌های لیزوزومی ذره را تجزیه می‌کنند.

6. دفع 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 رنگ‌های آزمایشگاهی نیز مشابه است. تفاوت در نوع گیرنده‌ها و مسیرهای شناسایی است. مولکولی، فرزانه فروهر فر

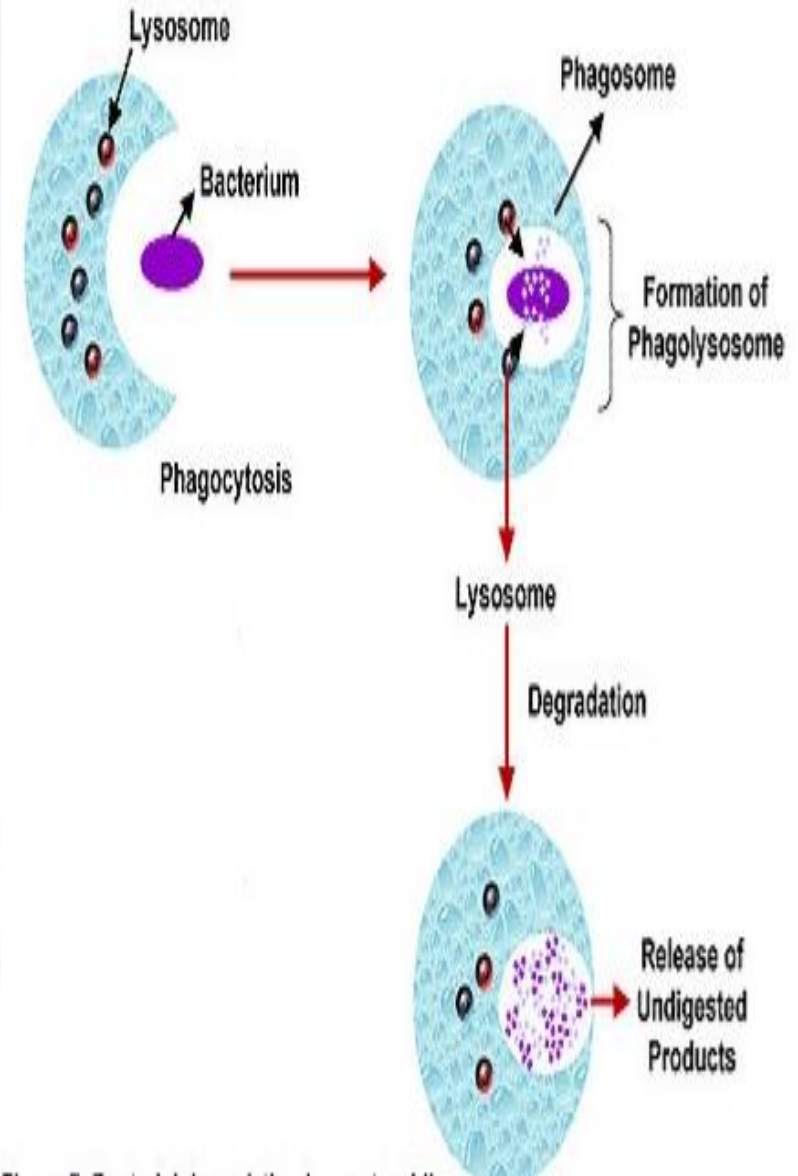
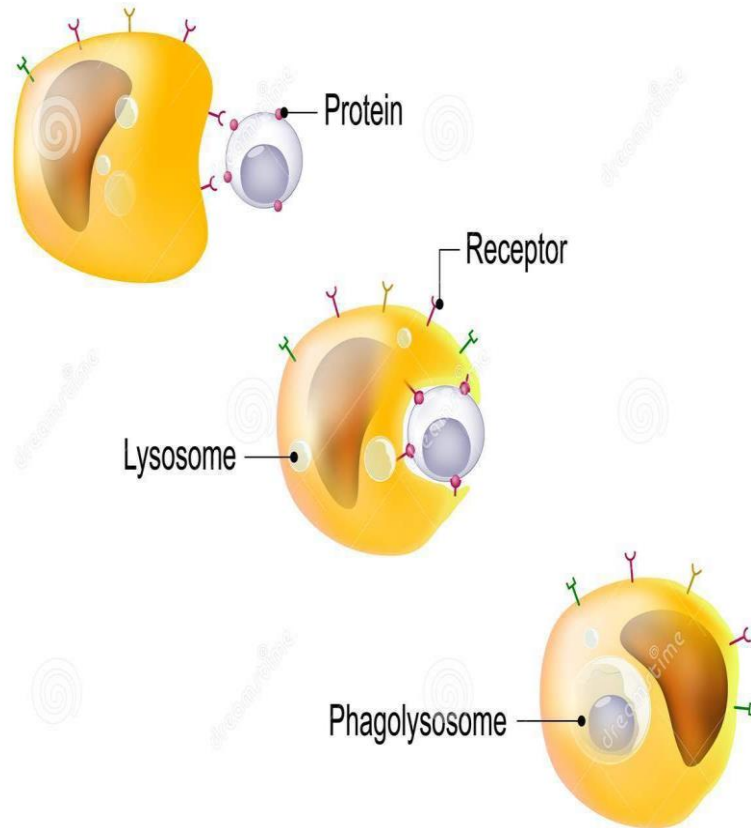


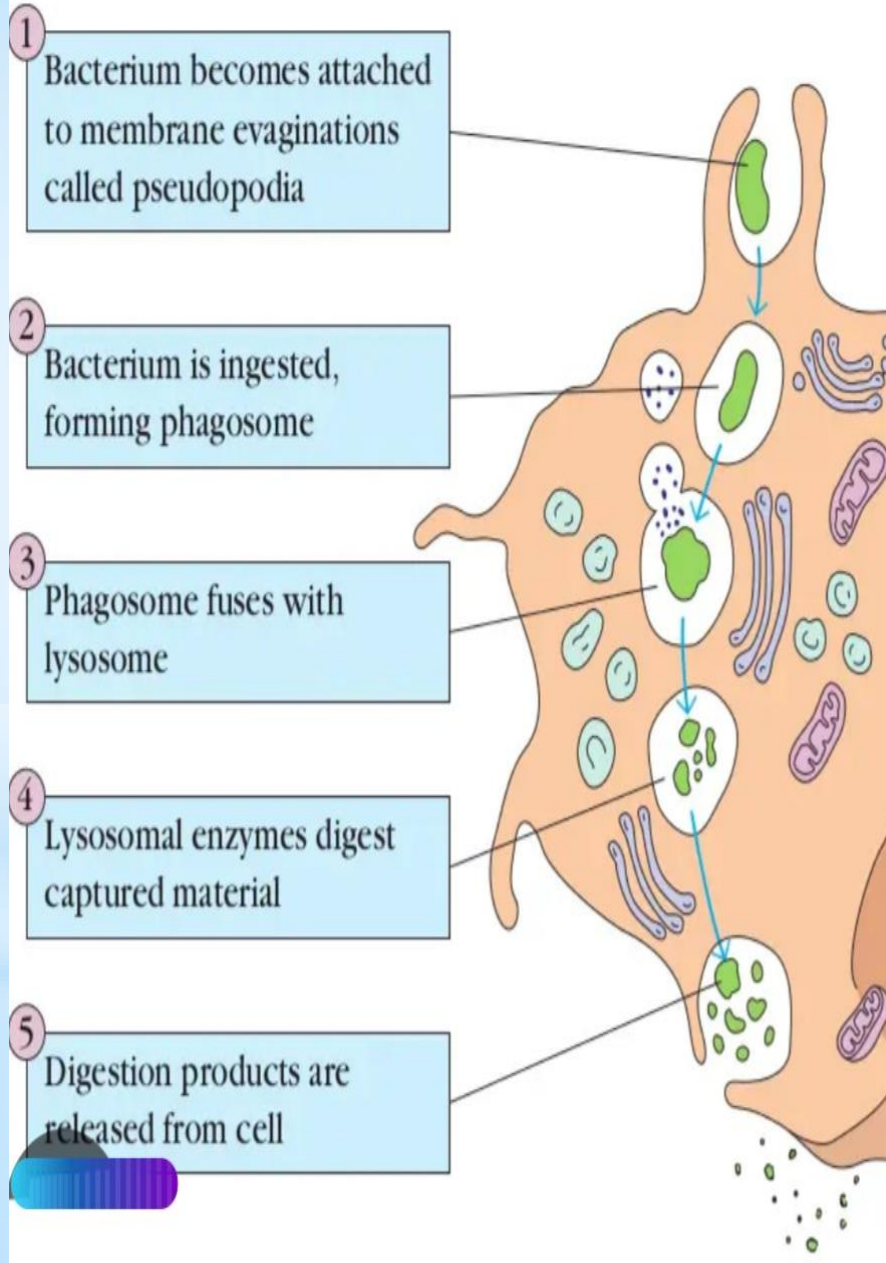
در این تصویر مراحل بیگانه خواری نشان داده شده است.

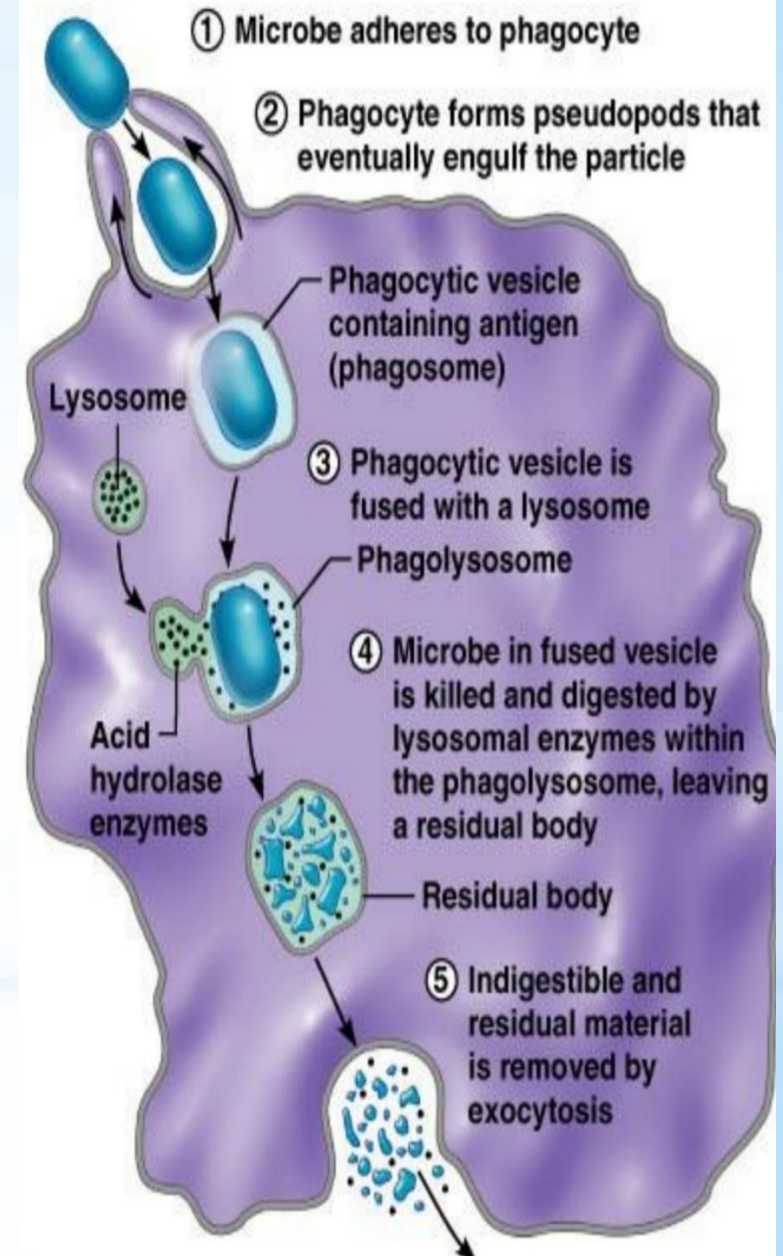
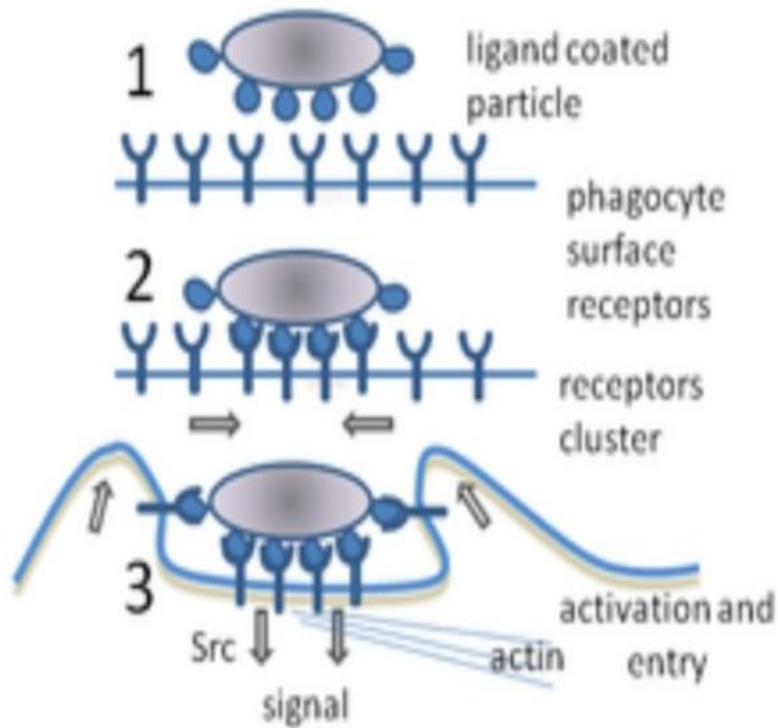


در این تصویر نشان داده شده است که سلول‌های در حال مرگ به فازوسیت‌ها سیگنال‌هایی می‌فرستند که باعث خورده شدن و تجزیه آن‌ها توسط سلول بیگانه خوار می‌شو

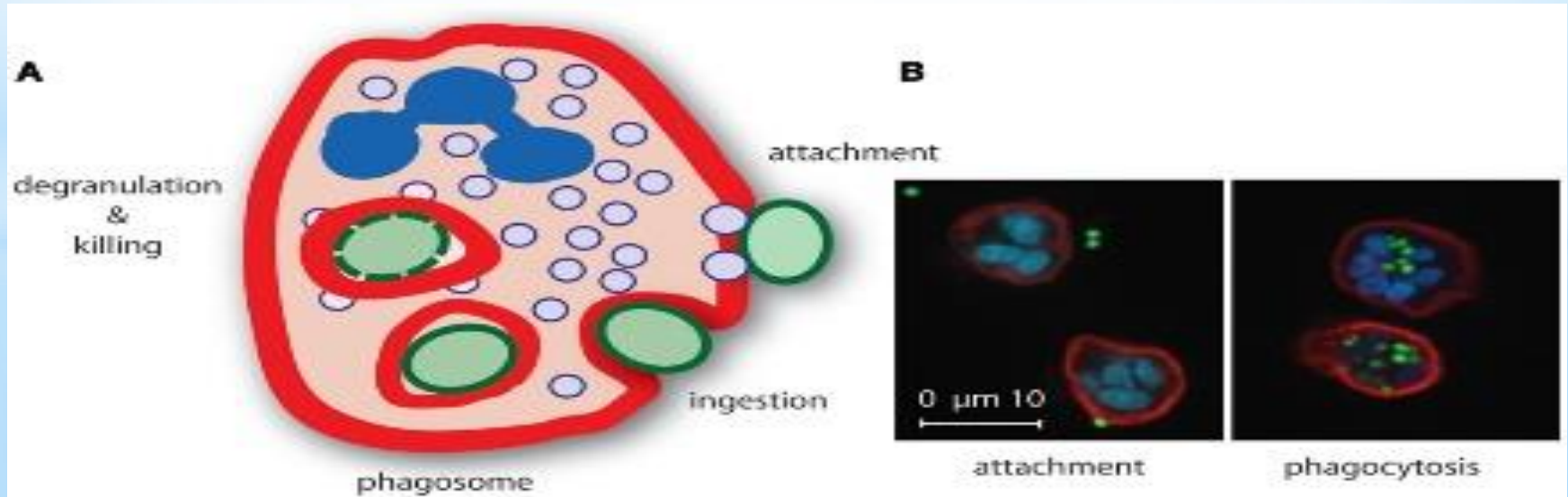
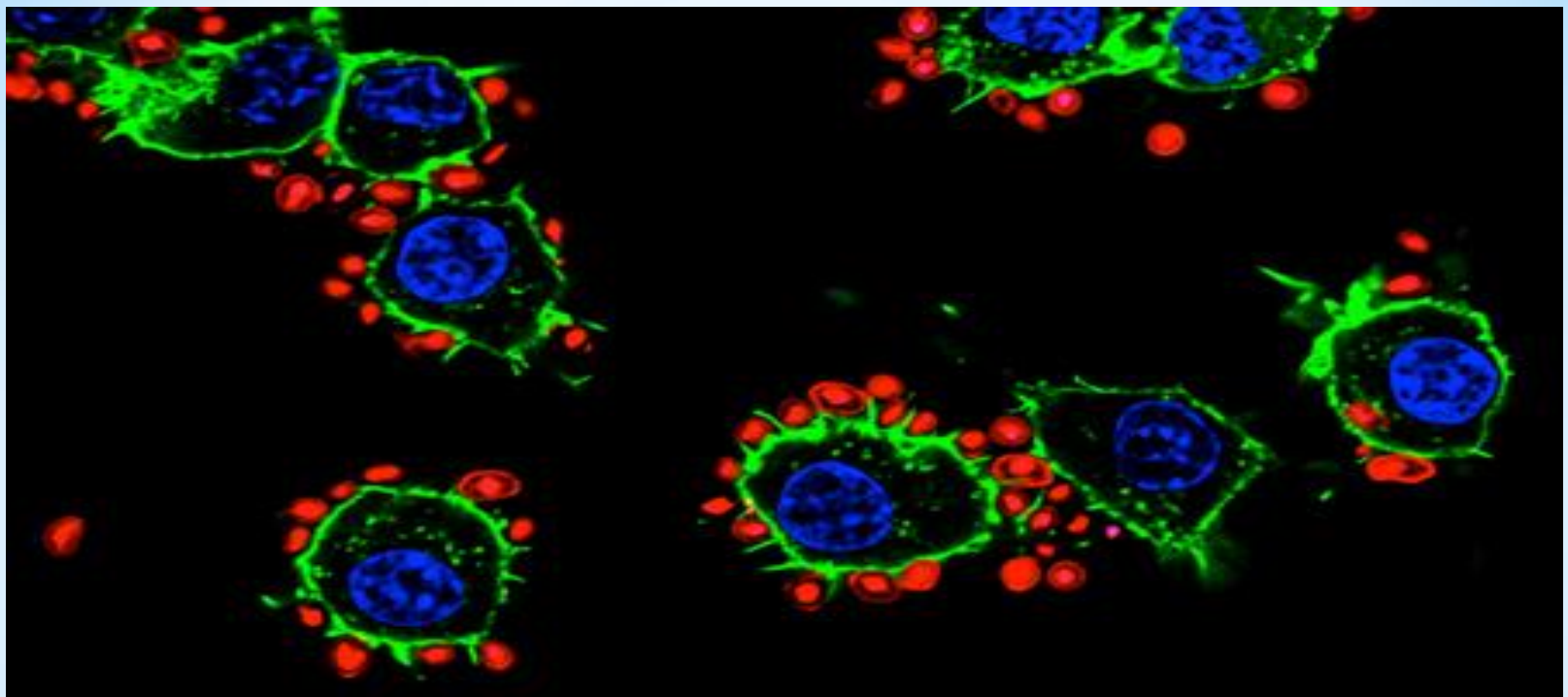
Phagocytosis

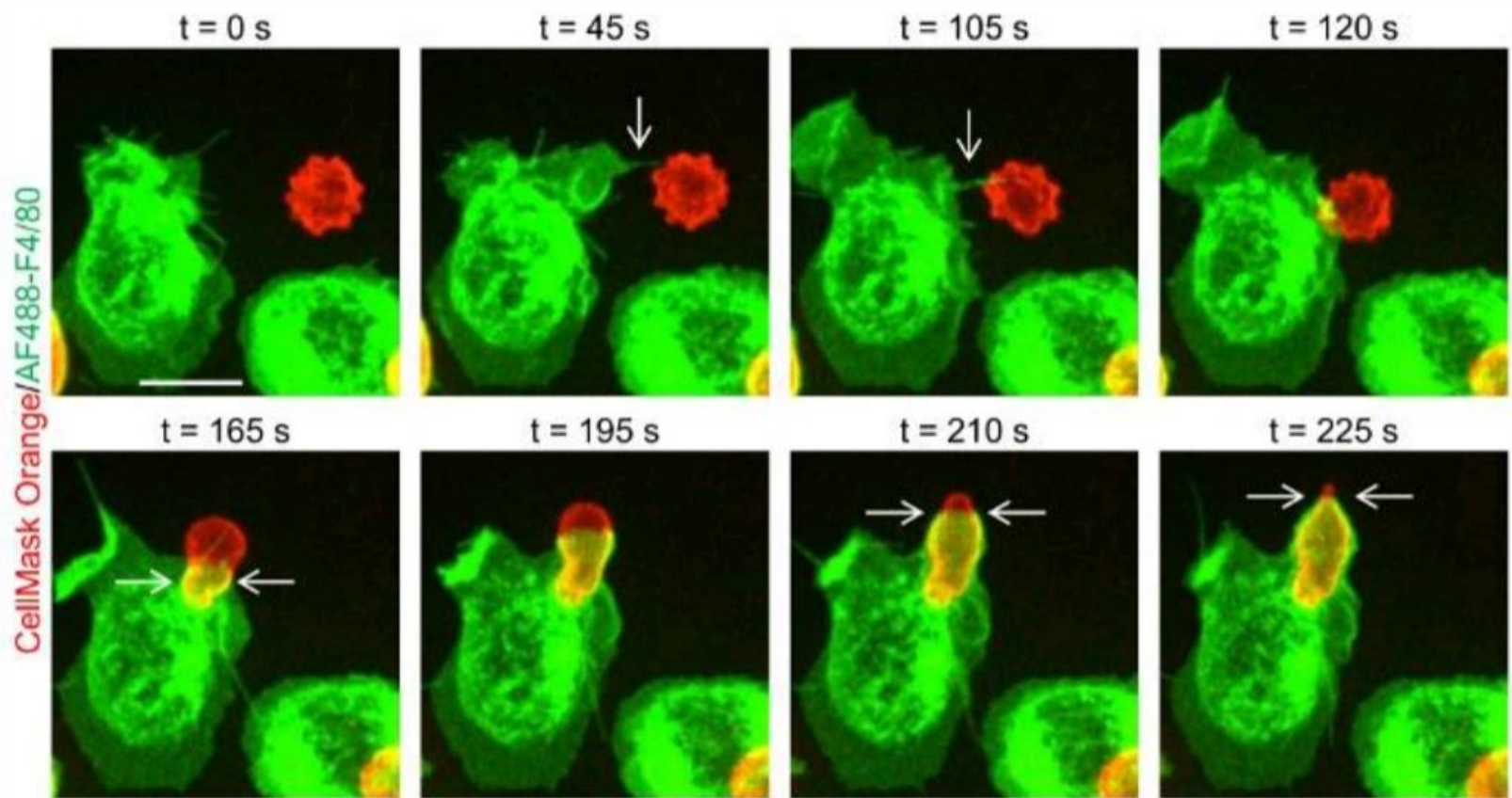




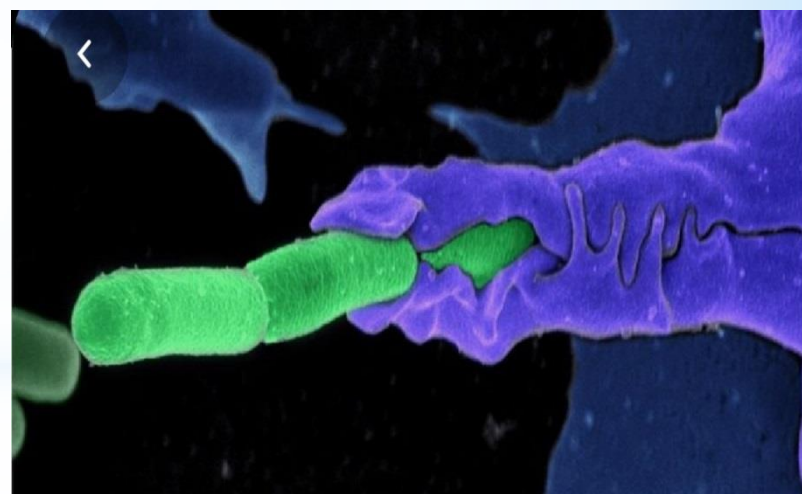
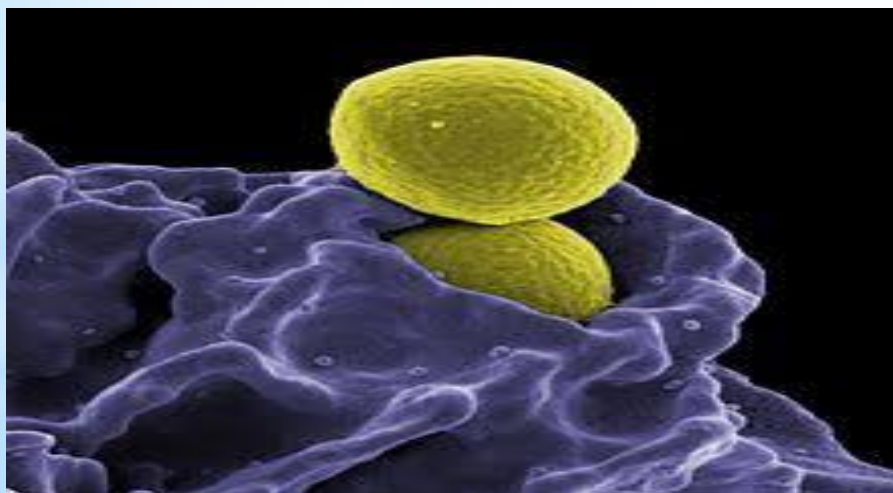
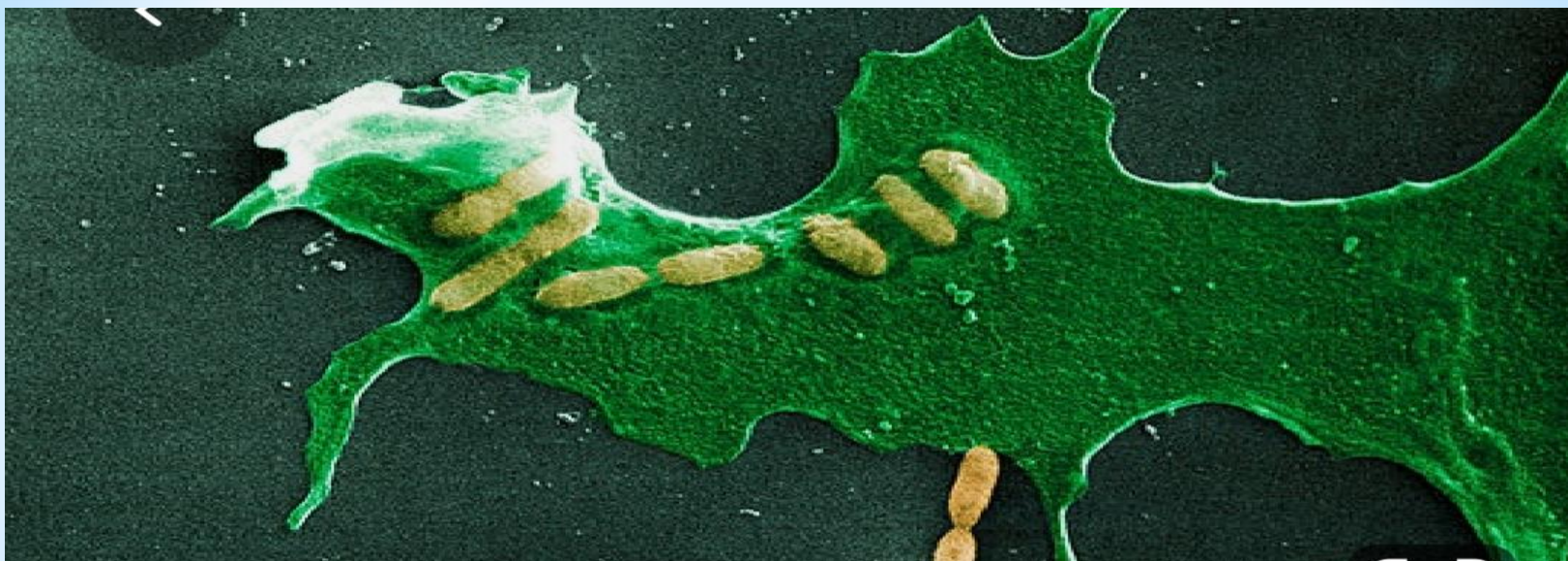


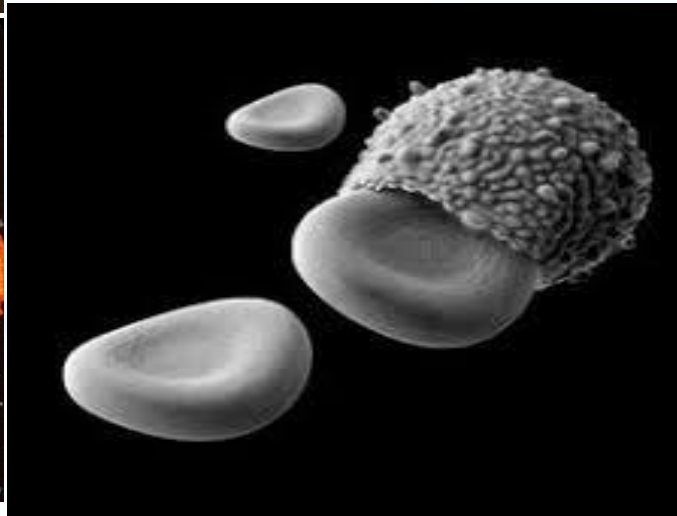
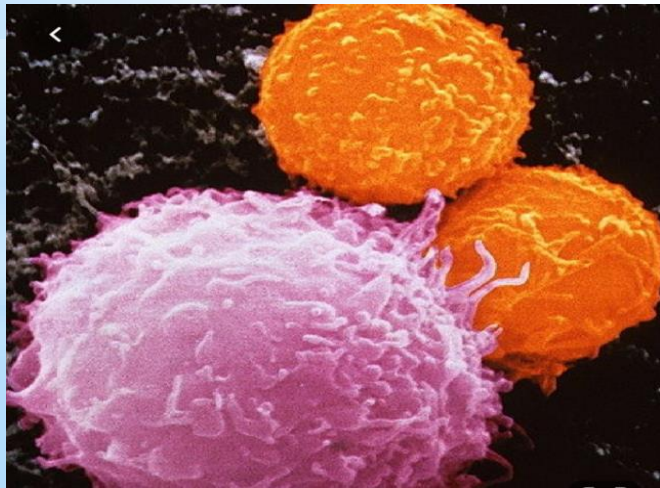
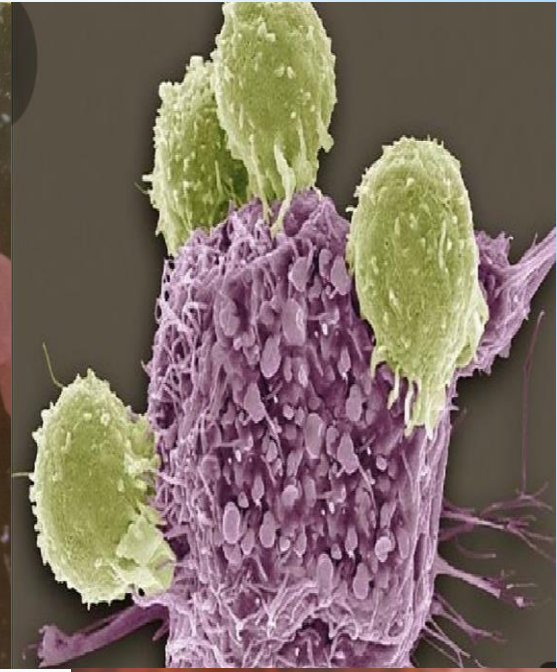
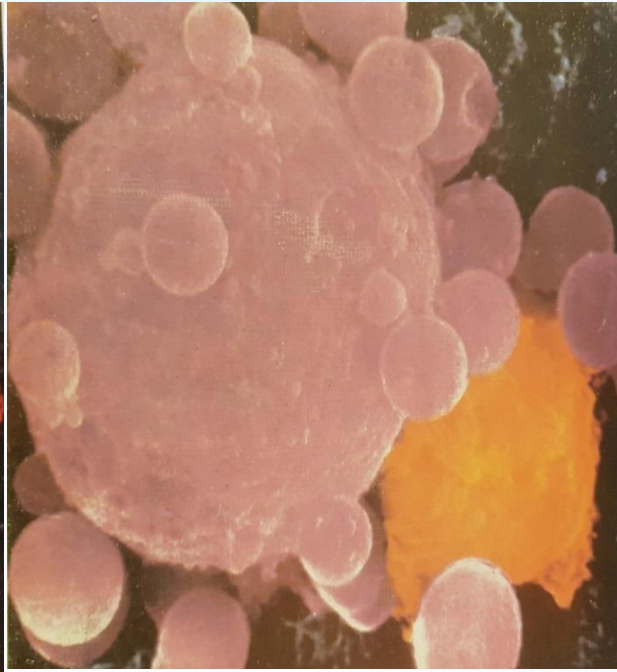
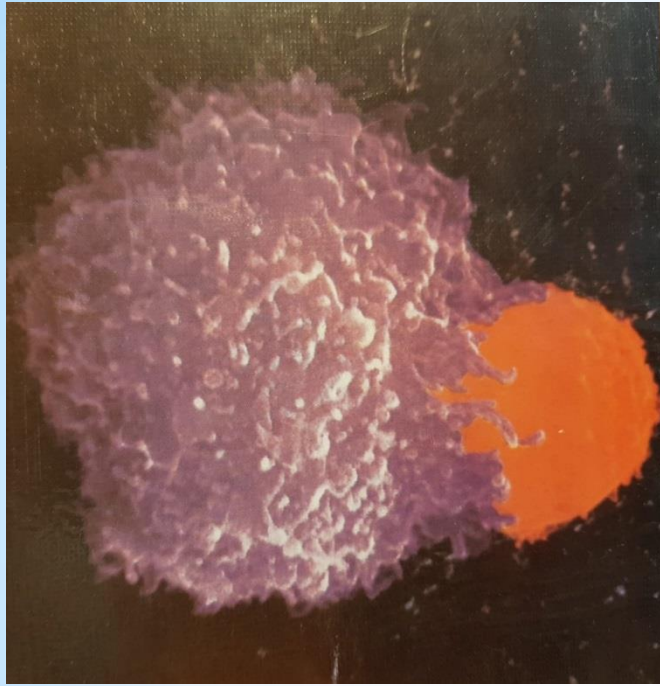
فاگوسیتوز در سه مرحله: 1. Unbound phagocyte surface receptors do not trigger phagocytosis. 2. Binding of receptors causes them to cluster. 3. Phagocytosis is triggered and the particle is taken-up by the phagocyte

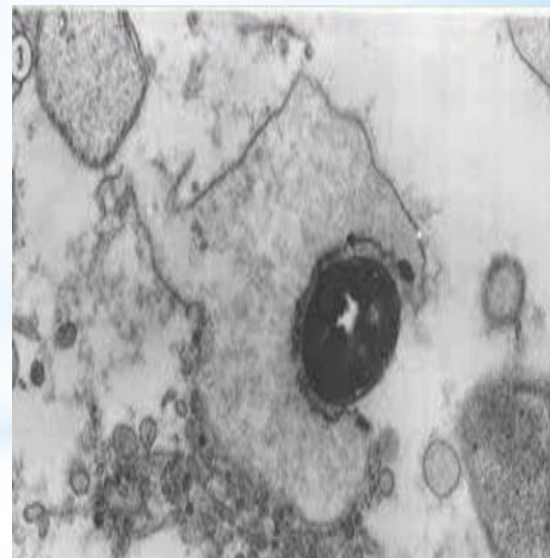
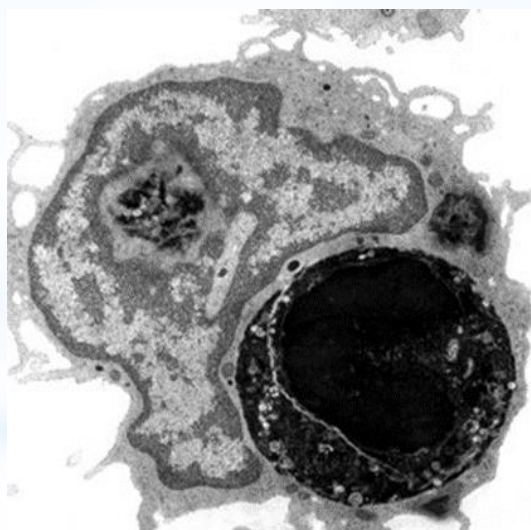
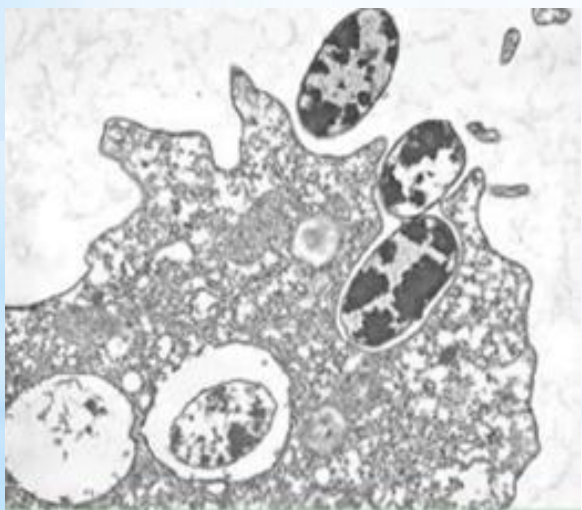




ماکروفاژهای موش در حال ذره خواری







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 oxidative burst چیست؟

انفجار اکسیداتیو oxidative burst 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 فعال کننده 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 با ترشح فاگوسیتوز مولکول‌های قاتلانه فروهر 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.

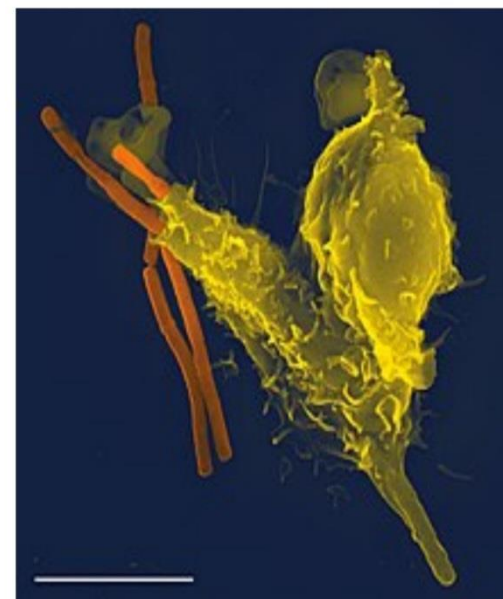
نوترال رد یک رنگ زیستی و اسیدی ضعیف است که قابلیت ورود به داخل لیزوزوم‌های سلول‌های زنده را دارد. درون لیزوزوم‌ها، رنگ قرمز روشن می‌شود و به صورت نقاط رنگی در سلول دیده می‌شود. این ویژگی باعث می‌شود برای ردیابی فعالیت فاگوسیتیک سلول‌ها کاربردی باشد.



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



مواد و وسایل مورد نیاز

مواد و وسایل مورد نیاز

خون تام و کامل
قرمز خنثی

لانست

الکل ۹۵٪

پنبه

میکروسکوپ



روش کار

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

1. با استفاده از لانت، یک قطره خون از نوک انگشت گرفته می‌شود.
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، فاگوسیت ها مانند نوتروفیل ها به سرعت ذرات رنگ را می‌بلعند و داخل سیتوپلاسمشان ذرات رنگی مشاهده می‌شود.
5. این نشان دهنده فعالیت فاگوسیتوز سریع و زنده سلول های خون است.

نکات مهم:

سرعت 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 گویچه های 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.

