

جزوه سم شناسی

تاریخ ۹/۲۷

جله ۱۴

تهیه کنندگان: جعفریان - صدیقی

دانشگاه داروسازی زنجان - ورودی ۸۶

سم شناسی سلولی

شاخص سم شناسی سلولی مرگ سلولی است دو نوع مرگ سلولی داریم

۱. مرگ Apoptosis

۲. مرگ Necrosis

Apoptosis

خیلی از فیزیولوژیستها معتقدند یک مرگ پاتولوژیک و سمی نیست و امش را گذاشتند *Physiological cell death (PCD)*. سم شناسها می گویند هم فیزیولوژیک است هم پاتولوژیک.

اپوپتوز پدیده ای نیازمند انرژی است اگر در سلول ذخایر *ATP* تخلیه شده باشد امکان ندارد سلول به این سمت برود.

در فیزیولوژی حیات نقش مهمی ایفا میکنند:

سه نوع سلول را در بدن حذف می کند:

۱) سلولهای اضافی (*Superfluous*)

۲) سلولهای پیر

۳) سلولهای آسیب دیده

سلولهای اضافی (*Superfluous*): سلولهایی که اضافه تکثیر شده اند، جنین و تومور رشد انفجاری دارند عاملی که باعث توقف رشد جنین می شود چیست؟ یا دست چپور شکل می گیرد؟ اولن چیزی که سبب توقف رشد و حذف قسمتهایی در حال تکامل می شود اپوپتوز است. در یکجا *Proliferation* را متوقف می کند و سلولها را سمت و سوق میدهد. سلولهای اضافی یا (غیر مورد نیاز) همیشه در مورد جنین مطرح نیستند، وقتی پاسخ ایمنی تشکیل می شود چه *T* سل های رده بان درگیر باشند چه قاتل ما شاهد *Proliferation* هستیم. وقتی

پاسخ ایمنی به آنها برسد بدن فرمان خودکشی را برای سلولهای اضافی صادر می کند در انحصار پاسخ ایمنی فعال بودن سلولهای اضافی فراموشی ندارد در این حالت بدن با استفاده از آپوپتوز به سلولهای اضافی فرمان خودکشی میدهد. آپوپتوز مرگ فیزیولوژیک است یا به عبارتی دستور خودکشی سلولهاست که بدن صادر می کند. دسته دوم سلولها که با مرگ فیزیولوژیک از بین می روند سلولهای پیر هستند. اکثر سلولهای بدن در طول حیات بارها نوسازی می شوند. سلولهایی که پیر شده اند یا چروکیده شدند با مرگ آپوپتوز از بین می روند.

آپوپتوز مرگ تمیز است، مرگ بدون اثر انگشت. دسته سوم سلولهایی که آپوپتوز برایشان صادر می شود سلولهای آسیب دیده یا Damage هستند. وقتی یک متابولیست فعال بیولوژیک با پیوند کووالانسی به DNA سلول وصل می شود و DNA را Infect می کند این سلول Damage است. به این سلول پیش آغازین هم می گویند که با یک تقسیم به سلول آغازین تبدیل می شود. این سلولهای آغازین و پیش آغازین تارگت آپوپتوز هستند.

پس از دید فیزیولوژیک فقط ۳ نوع سلول تارگت آپوپتوز هستند. این غیر از سموم آپوپتوتیک و بیماریهاست و فقط فیزیولوژیک است.

مر فوژیک آپوپتوز:

شکل ۱: شامل ۶ مرحله است. (a) سلول طبیعی وقتی می خواهد دچار آپوپتوز شود در ابتدا حجمش کاهش می یابد به این پدیده Cellular Shrinkage می گن. (b) اولاً هسته کوچک شده و ثانیاً رشته های کروماتین حاوی DNA آمدند در محیط غشای هسته دچار تراکم شدند. به این پدیده Chromatin Conversation می گن و در اصطلاح سلول به آن پیکنوز (Pyknosis) می گن. علت موضع گیری کروماتین ها چیست؟

علت این پدیده، تخریب غشای هسته است و این رفلکس دفاعی است. به سطح داخل غشای هسته لامینا می گن. لامینا از یکسری پروتئین های فیلامنی به نام لامین تشکیل شده. قطعاً این پروتئین های فیلامنی لامین دارن تخریب می شن و این غشای هسته داره از بین می ره که رشته های کروماتین اینطور در محیط تراکم پیدا می کنند.

(c) در این مرحله غشای سلول دچار یکسری تلاطماتی می شود. به اینها جوانه یا روایر می گن که غلظت و به خاطر ریزه ۲ بعدی است. به این حالت Bleb Forming می گن. مثل امواج دریا حالت بالا و پایین ایجاد می شود در واقع جوانه یا روایر می روند و بیرون می آیند. در این مرحله قوام غشای از بین می رود.

چه چیزی سبب قوام غشای سلول می شود؟

رشته های اکتین دور غشا سبب قوام می شوند. لیپید دو لایه که پلازما ممبرین را تشکیل می دهد توسط رشته های اکتین گره خورده علت ثبات فیزیکی همین گره خوردن اکتین هاست. آنزیم کالپین رشته های اکتین را پاره می کند. در شرایط نرمال نمی تواند اینکار را بکند در آپوپتوز شرایطی به وجود می آید که آنزیم کالپین به اکتین دسترسی می یابد. Cytoskeleton سد حایل بین غشا و سیتوپلازم است. جز اصلی سیتواکتونوم اسپکتترین است که یک سپر دارد به نام Fodrin. برای اینکه آنزیم Calpain رشته های اکتین را پاره کند باید از سد سپر سیتواکتونوم رد شود. زمانی که Fodrin دچار مشکل است این آنزیم به رشته های اکتین دسترسی دارد آنها را پاره می کند و قوام سلول از بین می رود.

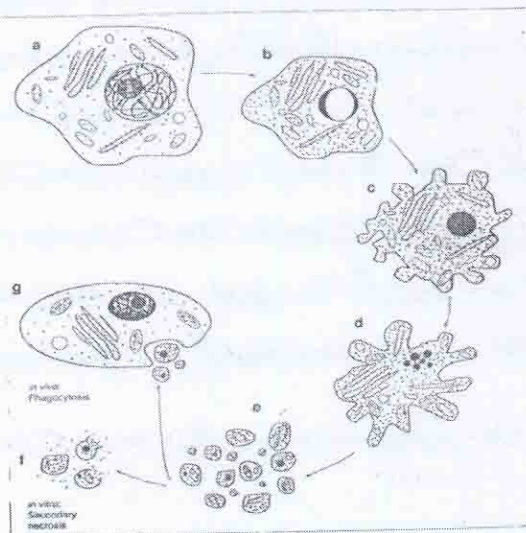
(d) Blebbing ها خلیج عمیق شده اند. وقتی Bleb تعمیق می شود رو حالت است: (۱) Spikes (خلیج نوک تیز) (۲) Blister (قلبه می شود)

اتفاق دیگری که افتاده این است که هسته ای که رشته های کروماتین در محیطش بودند تیره شده است.

در آپوپتوز رشته های DNA دچار قطعه قطعه شدن می شود به این پدیده Endonucleolysis می گویند. وقتی DNA قطعه قطعه شد هسته سیاه می شود (مرحله c)، در مرحله (d) هسته کاملاً متلاشی می شود چون از مرحله (b) غشای اطراف هسته در حال تخریب است و در (d) تخریب کامل شده است. به این فرایند Nuclear Fragmentation یا به اصطلاح لاتین Karyrrhexis می گویند.

(e) Spike و Blister ها باعث تقسیم سلول به اجسام کوچک می شوند. اجسام ریز مثل سلول بدون هسته اند اصطلاحاً به آنها اجسام آپوپتوتیک می گویند.

(f) اجسام آپوپتوتیک توسط فاگوسیت ها بلعیده می شوند. تا آخرین مرحله غشای سلول ثابت است و چیزی از محتویات سلول نشت نکرده بیرون پس هیچ واکنش التهابی نداریم به همین علت است که به آپوپتوز مرگ بدون اثر انگشت می گویند.



چه اتفاقی می افتد که فاگوسیت ها اجسام آپوپتوتیک را

فاگوسیتها در نتیجه کموتاکسی چیزی را می بلعند. در اینجا هم کموتاکسی اتفاق افتاده، چیزی باعث شده که فاگوسیتها به سمت این اجسام بیایند. به طور کلی مونوسیتها، B سلها و ماکروفاژها رستپوزی دارند به نام Scavenger. هر ماده ای که این رستپوز را تحریک کند می تواند سبب تحریک کموتاکسی شود. در رابطه با لیزو فسفولیسیدها همشون رستپوز اسکونجر را تحریک می کنند. یکی از مشهورترین لیزو فسفولیسیدها، ففاتیدیل سرین است که در جریان واکنش های اکسیداتیو درون سلول مرتب تشکیل می شود. منتهی آنزیمی در غشاست که به ففاتیدیل سرین اجازه تجمع روی غش را نمی دهد این آنزیم ففاتیدیل سرین ترانس لوکاز است. اگر ففاتیدیل سرین در سطح خارجی تجمع یابد با تحریک ماکروفاژها و مونوسیتها سلول را مورد تهاجم آنها قرار می دهد. در مراحل اولیه اپوتوز این آنزیم مهار می شود. رفته رفته مهار تکمیل می شود. وقتی به اجسام اپوتوتیک می رسیم غشایشان پر از ففاتیدیل سرین است، تجمع ففاتیدیل سرین سبب حمله ماکروفاژ و مونوسیتها می شود.

اگر با کمک میکروسکوپ الکترونی از اپوتوز فیلم برداری کنید فاگوسیتی وجود ندارد تا بلع صورت گیرد. در این حالت بر سر اجسام اپوتوتیک چه می آید؟

اجسام اپوتوتیک در سته غش دارند و چیزی از شون نشت نکرده اما تا آخرین لحظه غشون فوق العاده شکننده و آسیب پذیر است، در مقایسه با غشای سلول خود به خود دچار پارگی می شود. در محیط *In Vitro* که فاگوسیتها وجود ندارد اجسام خود به خود غشون پاره می شود. اگر رتلهای ندروزی به کار ببریم (رتلهایی که از غشای پاره سلولها رد می شوند) اجسام رنگ می گیرند. اصطلاحی هست در علم سلولی به نام ندروز ثانویه، ندروز فقط برای سلول به کار میرود وقتی غشای پاره شده، ندروز ثانویه ربطی به سلول ندارد. به آخرین مرحله اپوتوز در *In Vitro* که غشای اجسام اپوتوتیک پاره می شود ندروز ثانویه می گویند که ربطی به ندروز و مرگ سلولی ندارد و غلط مصطلح است.

اپوتوز در فیزیولوژی نقش دارد. اگر در فردی به دلایلی مثل اختلال ژنتیکی یا بیماری اپوتوز تضعیف شود چه اتفاقی می افتد؟

(۱) مفلورمیشن (*Malformation*): در هنگام جنینی اگر اپوتوز کار نکند ما شاهد ناقص الخلقه زایید یا مفلورمیشن هستیم، مثل انگشت شکل دست اردک، کورک قوز کرده، یا فوکومریا که ناشی از مصرف تالیدوماید در خانمهای باردار بود.

(۲) بیماری های اتوایمیون: *T* سلها و *B* سلها تکثیر یافته، وقتی پاسخ تمام شده باید از بین بروند، اگر از بین نروند بیماری های اتوایمیون ایجاد می شود.

(۳) سرطان: نقطه مقابل اپوتوز است. اگر اپوتوز تضعیف شود سرطان تقویت می شود، میرهای سیلانینگ اپوتوز تشدید می شود. اگر اپوتوز در بدن تشدید شود امکان وقوع سرطان به شدت کاهش می یابد.

داروهای جدید ضد سرطان سبب ایجاد اپوتوز در سلول سرطانی می شوند.

سلولهای سیستم ایمنی (T سل، B سل) وقتی کارشون تموم شد، بدن با ایجاد آپوپتوز سبب مرگشان می‌شود. سلولهای T قاتل در غشای زایده ای دارند به نام لیگاند FasL، در سلولهای سیستم ایمنی تماماً رسپتور این لیگاند وجود دارد. این لیگاند در رسپتور FasL می‌نشیند و دستور آپوپتوز را صادر می‌کند. این T سل که دستور خودکشی می‌دهد غیر از T سل تکثیر شده است. یک T سل دیپلر است.

آنزیم‌های میانجی آپوپتوز Caspase ها هستند. همه مراحل آپوپتوز در اثر فعال کردن کاسپازها صورت می‌گیرد. همه کاسپازها پروتئاز هستند. کاسپازها پروتئازهای ویژه ای هستند در جهت‌های آپوپتوز.

۱۳ آنزیم هستند. کاسپاز نهایی که کار آپوپتوز را یکسره می‌کند کاسپاز شماره ۳ است. اسم گذاری براساس زمان کشفشان بوده، کاسپاز شماره ۹ شروع کننده است.

آگر آپوپتوز بیش از حد فعال شود چه اتفاق می‌افتد؟

دو حالت دارد:

(۱) حاد:

❁ مسمومیت با سموم ایجادکننده آپوپتوز (Intoxication)

❁ در شوک سپتیک (Septic shock)

❁ در Hypoxia/reperfusion

(۲) مزمن:

❁ بیماری‌های نورودژنراتیو مثل پارکینسون و آلزایمر. در پارکینسون در منطقه سابستانتیال نیگرا نورونهای دوپامینرژیک با مرگ آپوپتوز از بین می‌روند. در آلزایمر نورونهای که با حافظه ارتباط دارند در اثر آپوپتوز از بین می‌روند.

❁ بیماریهای نورو ماسکولار مثل ALS (Amyotrophic Lateral Amyotrophic)، رسترافی مادرزادی (Bethlem Myopathy Collagen - VI Deficiency) و رستروفی عضلانی. در این بیماری، هم نورون‌هایی که در مغز فرماندهی حرکات ارادی را انجام می‌دهند هم نورون‌های حرکتی دچار آپوپتوز می‌شوند. در این افراد فعالیت کلیه اعمال اختیاری از بین می‌رود. حتی اختیاری شون را روی اسفنجتر بول (دفعی) و ادراری هم از دست می‌دهند. فقط حرکات چشم شون ارادی باقی می‌ماند. این بیماری گذشته است. در رستروفی عضلات چشمی- حلقی شخص دچار پتوز است. تمام عضلات قسمت جمجمه ای اش و سیستم بلعی دچار مشکل می‌شود. برعکس ALS در اینجا حرکات چشم از بین نمی‌رود. رطلسی مردمک در اینجا از بین می‌رود.

بیماری $T: Aids$ سل های ریدبان با مرگ اپیتوز از بین می روند. اگر فاگوسیت ها جرم یا تئوزن را ببلعند T سل ریدبان نیست که بهش پجید و B سلها بیابند متصل شوند و پلاسما سل و خاطره تولید کنند. خود ویروس HIV کننده نیست آنچه فرد را می کشد عفونت های فرصت طلب است.

نگروز: مرگ سلولی تقارنی است.

- ذخایر ATP سلول به صفر می رسد.

- سلول دچار تورم می شود. (از نوع تورم ثانویه)

- غشای سلول پاره می شود. (\downarrow ATP \leftarrow مختل شدن پمپ \leftarrow غشای \leftarrow هجوم یونها \leftarrow هجوم آب \leftarrow)

- بخاطر آزادسازی مواد درون سلول عوارض التهابی دیده می شود.
تورم سلول
پارگی غشا

یا د آوری

دو نوع تورم داریم: اولیه: سیستم RVD فعال می شود و یک آنزیم غشایی بعد به نام پمپ Na-K-ATPase که ۱۰ برابر همه فعالیت می کرد و یک کانال کلرید. نماز مانند RVD داریم تورم نمی تواند غشای سلول را پاره کند. ولی وقتی که RVD از کار افتاد، تورم غشای سلول را پاره می کند که می شود تورم ثانویه !!! این اتفاق زمانی می افتد که ذخایر ATP سلول به صفر برسد و عملکرد پمپ رویم بنایم مختل شود.

در نکروز برخلاف Apoptosis (AP) مراحل زیادی نداریم. فقط سلول باد می کند و می ترکند. اما نکروز مرگ فیزیولوژیک نیست بلکه یک حالت پاتولوژیک است. چرا که مرگ نکروزی موجب التهاب می شود از این رو بدست می تواند از نکروز به عنوان مرگ فیزیولوژیک استفاده کند. وقتی کوفته می شود که سستی AP ایجاد می کند. در غلظت بالا نمی تواند AP ایجاد کند.

در chronic exposure که غلظت کم اما طولانی مدت هم با لول مناسب دارد احتمال AP بالاست.
اما در Acute exposure که غلظت بالای هم به لول می رود نگرش رخ می دهد. که این موضوع علاوه بر
سموم برای بیماری ها هم وجود دارد که بیماری های حاد نگرش در بیماری های مزمن AP را القا
می کنند.

در یک سری AP در انهای جزده آمده است. و همچنین تقارنهای بین AP و نگرش نیز آورده شده.
AP چگونه شکل می شود؟

آخرین مرحله سمیت میکوتوکندریایی AP بود. AP در لول از 2 مسیر اتفاق می افتد:
الف) مسیر داخلی که همان میکوتوکندریایی است.

ب) مسیر خارجی که در آن ریسپورهای مثل Fas.L نقش دارند.

✓ مسیر داخلی یا میکوتوکندریایی:

روزنه های NPT: در مناطقی که فضای داخل و خارج میکوتوکندری با هم تماس اند روزنه های

NPT وجود دارند که در حالت عادی همیشه بسته است. در سمیت و AP این روزنه ها

باز می شوند که در این صورت یکی از اجزای سیستم انتقال الکترون به نام سیتوکرم C از این

روزنه خارج شده به سیتوپلازم لول می رود. که در این حالت زنجیره انتقال الکترون هم

درجا نقص می شود و بخاطر نبود سیتوکرم C در این زنجیره از این پس الکترون را بجای

سیتوکرم C می گیرند و در حال اکسیداسیون سیتوکرم C در این سیتوکرم که وارد سیتوپلازم می شود

رابطه بین AP خواهد بود. (شکل 1)

درون سیسپلازم سیتوکرم C به یک جز پروتئینی رنگر به نام Apaf-1 متصل می شود.

Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor) یک pro مولی است بلکه این هم

از روزنی NPT و از فضای خارجی سیتوکندی جدا شده و به سیسپلازم آمده است. و در

سیسپلازم این در جز به هم متصل می شوند که به آنها آپوپتوزوم اولیه گویند. که این جزو زیاده کار است

نیست. که به کاپیاز 9 متصل می شوند و کاپیاز در لول صورت غیر فعال وجود دارد.

اتقان رنگری که می افتد oligomerization است به این معنی است که یک منومر حدوداً

10 تا 30 بار تکرار می شود.

پس تا اینجا که جز سیتوکرم C و Apaf-1 و Casp 1 به هم وصل شده و oligomer

شده اند و اون ساختار چماق مانند که در شکل دیده می شود ساخته می شود. (شکل 2)

که به این چماق " آپوپتوزوم نهایی " گویند که در واقع « کاپیاز و فعال » است. این Cas 9

فعال میمانی نهایی Ap را فعال می کند که همان Cas 3 است. که وقتی Cas 3 فعال شود

Ap اتقان می افتد. که مراحل ذکر کرده در بالا به ATP هم احتیاج دارند.

این میر، میردانی بود. کاپیاز و یک ترقی با اون 12 تا کاپیاز رنگر دارد:

اون 12 تا برای فعال شدن باید یک تک از آنها جدا شود اما Cas 9 برای فعال شدن باید یک

تک بگیرد. آپوپتوزوم نهایی هم قسمتی از Cas 3 را حذف می کند و فعال می شود.

که میر خارجی یا میر استووی:

این برگ مولی از طریق لیگاند رستور اتقان می افتد. (مثلاً از انقال Fas.Ligand و Fas

و یا TNF- α بار استووی)

نشانده باغ ایچی مولی در بدن فعالیتش را علیه یک عفونت به اتمام رسانده باید مولکولهای اضافه از بدن حذف شوند. در فضای مولکولهای T قاتل Fas.L وجود دارد که بواسطه با صادر کردن دستور Ap و اکتل Fas و Fas.L باعث حذف مولکولهای اضافی می شود.

زیستور Fas در دسترس مولکول 2 انگشت دارد به نام Fas Associated Dead Domain (FADD) که این دو صین ها در زمان اکتال Fas به Fas.L فعال می شوند. FADD حاوی کاپساز 8 غیر فعال است که این هم به کنفی مثل Cas 9 شروع کننده ی Ap است. FADD قتی از Cas 8 را می برد و آنرا فعال می کند. (شکل 3)

برخی از دانشندان میز خلجی را قبول ندارند و می گویند که حتما میز خارجی هم باید با استفاده از مستوکنده ی Ap را القا کند. در مولکولهای پرو داریم که می توانند Ap را فعال کنند که به آنها Pro apoptotic گویند و پرو ها را دیگر هم داریم که از Ap جلوگیری می کنند که به آنها Anti apoptotic گویند. در تصویر شماره ی در کنار راه Cas 8 به Cas 3 میز مستوکنده ی وجود دارد. Cas 8 با

FADD فعال شده است و یکی از پرو apoptotic ها به نام Bid را فعال می کند که فرم فعال آن

tBid (translocated Bid) است و این tBid روی فضای مستوکنده ی جای می گیرد و محتاج Npt را باز می کند که همان تصویر خروج سیگنال است. (دوباره رخ می دهد) Ap القا می شود.

در واقع دانشندان بر این باورند که در میز خارجی فقط شروع کننده ی Ap فرق دارد که اینجا بر خلاف میز داخلی که شروع کننده ی Ap مستوکنده ی بود در میز خارجی شروع کننده

را میسر است.

یکی از دانشمندان به نام J.J. Lemaster که از طرفداران نظریه میسر داخلی است برای اثبات این موضوع که میسر می‌تواند ریایی اولیسم و آفرین میسر AP است آزمایشی را طراحی کرد که این نحوه: هسته‌های سلولهای هلا را اینزوله کرد و هسته را کنت داد و نزدیک به صد نوع ترکیب مولد AP را به کنت هسته اضافه کرد اما هیچ درگی در سلول اتفاق نیفتاد. و گفت که این نظریه که هسته میسر کشته‌ی AP است غلط است. پس با اولترا سانتریفوژ سیتوپلازم سلول را جدا کرد و سیتوپلازم اینزوله را همراه با کنت هسته‌ها در معرض مواد مولد AP قرار داد اما باز هم AP رخ نداد پس می‌تواند را اضافه کرد و دید که AP اتفاق افتاده است. این نظریه برای اثبات میسر داخلی انجام شد اما چیزی که ما باید در نظر داشته باشیم این است که هر کدام از میسر برای خودشان کمی در AP دارند.

مرادلی را که برای AP در شکل بیان کردم به چه دلیلی اتفاق می‌افتد؟
گفتم که Cas3 میانجی‌هایی AP است. این Cas3 با بقیه کاسپازها تفاوت‌هایی دارد. همی این کاسپازها اندونوکلیزهای سلولی را تمزیک می‌کنند که DNA سلول را قطعه قطعه کرده و به ذراتی به اندازه‌ی 80، 160، 400، 200 تقسیم می‌کنند. در شکل مرحله‌ای که هسته سیاه شده است می‌توانم این موضوع را ببینم. اما Cas3 علاوه بر فعال کردن اندونوکلیزها دیگری سوبر برای اختفای دیگری هم دارد:

① Lamin: یک پرو فیلان است که نامیاری می‌تازد که در سطح داخلی هسته وجود دارد. Cas3 این فضای داخلی را تمزیک می‌کند و فضای هسته از بین می‌رود.

در ابتدای تخریب هسته مرحله b اتفاق می افتد (در شکل مرحله b نشان داده شده)
و در انتهای مراحل تخریب غشای هسته شکل d دیده می شود.

② Poly ADP Ribosyl Polymerase (PARP)

این آنزیم در واقع همان DNA پلی مراز است. ترمیم DNA چهار مرحله دارد که یکی از مرحله ها در واقع آنزیم لوم آن همین PARP است. فرض کنید که DNA در حال تخریب توسط اندرونوکلئازهای فعال شده توسط Cas 3 با باندولی با وجود PARP این تخریب ترمیم می شود. اما Cas 3 این PARP را هم هار می کند تا هسته نتواند DNA را ترمیم کند.

③ Inhibitors of Caspase Activated DNase (ICAD)

در هسته pro های داریم که اجازه نمی دهند اندرونوکلئازها توسط کاپسازها فعال شوند.

ICAD ها از این گروه pro ها هستند و تا زمانی که این ICAD ها سالم

باشند اجازه نمی دهند که DNA خراب شود. اما تنها کاپساز می تواند ICAD را هار کند Cas 3 است.

④ Fodrin

blebbing که در لابل اتفاق می افتد خاطر دلیل ذکر شده در پاشن است !!! گفتیم که اسپکترین

یک پمپی دارد به نام Fodrin که از من محافظت می کنند حال Cas 3 این فودرین

را تخریب می کند و نتایج حالت blebbing بخور می گیرد

چرا Cas3 میانجی نمایی است؟

- بخاطر این 4 نوکلئاز برای اختفای که دارند در حالتی بقیهی دیگرها فقط اندرونونکلئاز
رافعال می کنند.

- این 3 Cas یا از مسیر داخلی و یا خارجی فعال می شود. اما خور Cas3 سایر Casها
رافعال می کند. Cas3 فعال ندهد Casهای 2 و 6 رافعال می کند که Cas6 هم
Cas8 و 10 رافعال می کند این کارها را 2، 6، 8 و 10 باید یک فیدبک مثبت
خور 3 Casها رافعال می کنند و آبشار کاپسیدی اتفاق می افتد. (شکل 4)