مطالعه آنتی ژن استرالیا درهپاتیت ویروسی
توسط میکرسکوپ الکترونی ومیکرسکوپ فلوئورسنت

مجله نظام پزشکی
سال چهارم ، شمارهٔ ۲ ، صفحه ۱۲۷ ، ۱۳۵۳

دکتر مجتبی طبرستانی ـ دکتر عبدالحسین افکاری *

سیر دانش بشری و پیشرفت روزافزون آن درعلوم پزشکی مدیون زحمات مستمرمحققانی است که باشوقی فراوان عمرها در راه نیل بهمقصود صرف نموده، و براثرمساعی شبانه‌روزی خود جلوه گاه امیدی در روشن نمودن اسرارنهفته ومشی آن برپا ساخته‌اند، لذا در پرتو همکاریها و مجاهدات پژوهندگان پزشکی است که طب امروزی شاهد این همه پیروزیهای شگفت‌انگیز شده‌است.

درسال‌های اخیر بااستفاده ازمیکرسکوپ‌الکترونی ومیکرسکوپ فلوئورسنت مطالعات دامنه داری درباره بیماریهای مختلف کبدی خصوصاً در مورد هپاتیت ویروسی صورت گرفته‌است و پیدا شدن ویروس در داخل سلولهای کبدی راه را جهت تشخیص وتشخیص افتراقی آن از بیماریهای گوناگون کبدی هموار ساخته است.

این‌مقاله بااشاره بهزحمات دانشمندانی که درباره هپاتیت‌ویروسی به تحقیق پرداخته‌اند ، بمنظور معـرفی اشکال ویروسی آنتی‌ژن استرالیاتدوین‌شده‌است. نتایج‌حاصل‌بوسیله‌میکرسکوپ‌الکترونی ومیکرسکوپ فلوئورسنت ازمطالعه سرم وپونکسیون بیوپسی کبد بیماران مبتلا بههپاتیت ویروسی حاد ومزمن ونیزدهندگان خون سالم وکمپلکس آنتی‌ژن ـ آنتی‌کر آن بدست آمده است . ضمناً یادآوری از روش بسیار حساس آنتی‌کرفلوئورسان ، که چگونه میتوان بااین‌روش‌ویروس Au را درهسته وسیتوپلاسم‌سلولهای کبدی بیماران مبتلا به‌هپاتیت‌ویروسی جستجو نمود، دراین‌مقاله آمده‌است.

میکرسکوپ الکترونی واهمیت آن درتشخیص ویروس Au

نخستین‌بار درسال ۱۹۴۵ مبداء ویروسی‌بودن‌بیماری هپاتیت توسط Findlay وهمکاران به‌ثبوت رسید وبی‌شك از زمانی که ویروسی بودن هپاتیت ویروسی مورد توجه قرارگرفت دانش‌ما درباره‌این بیماری فزونی یافت و بسیاری از مسائل تاریك اپیدمیولوژی آن روشن گردید(۸-۷).

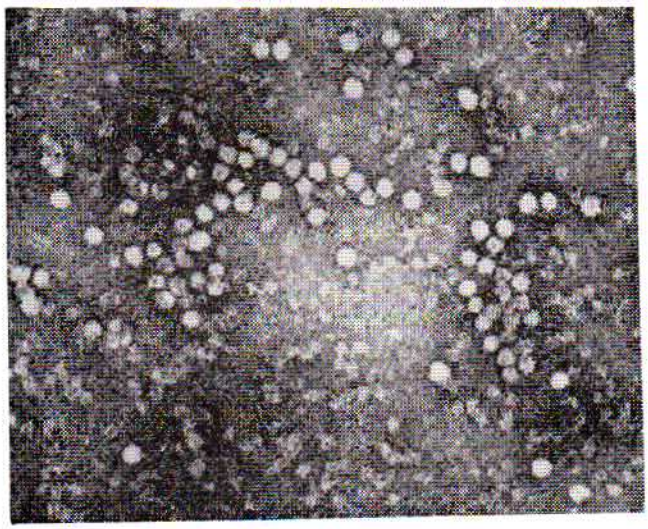
ازسال ۱۹۶۱ بررسیهای پرارزش Blumberg و همکاران تحول بزرگی را درکشف عامل مولد هپاتیت ویروسی پدید آورد بدین ترتیب که شناخت هپاتیت ویروسی تحت نام آنتی‌ژن استرالیا یا ویروس Au راه را برای مطالعه دامنه داری درمورد علل هپاتیت ویروسی باز نمود ، بنابراین هرروز دامنه مطالعات وسیع‌تر شده وبراثر تحقیقات پرارج دانشمندان‌وسایل‌و روش‌های‌تازه‌تری‌برای جداکردن عامل‌بیماری‌مشخص گردید بطوریکه‌امروزه دقیق‌ترین‌و سریع‌ترین‌وسیله وروش‌جهت‌جدانمودن ویروس‌Au بدنیای‌پزشکی معرفی‌شده‌است (۱۸-۱۷-۱۴-۱۳-۱۲-۶-۵-۴-۳-۲-۱).

دراین‌مبحث از دو روش بسیار دقیق عملی میکرسکوپ الکترونی وفلوئورسنت صحبت بمیان خواهدآمدکه نه‌تنها ویروس‌Au را در هسته وسیتوپلاسم‌سلولهای کبدی‌بیماران مبتلابه‌هپاتیت حادومزمن وخون‌دهندگان‌سالم نشان میدهد، بلکه‌اشکال مختلف ویروسی آنرا بطور وضوح مشخص میکند . دراین جا سعی خواهد شد برطبق مدارك موجود نتایج حاصل‌ازمیکرسکوپ‌الکترونی‌بوسیله‌محققان مختلف را متذکر و با بررسی اشکال ویروسی بدست آمده، دلیل ویروسی بودن بیماری ونیزمتحدالشکل بودن این‌عناصر ویروسی معین گردد.

مشاهدات میکرسکوپ الکترونی از سرم بیمـار مبتلا به هپاتیت ویروسی حاد توسط Millman و Bayer صورت گرفته وعناصر

* مشهد ـ دانشکده پزشکی، دانشگاه فردوسی.

ویروسی به قطر ۲۰ میلی میکرن (۲۰۰ انگستروم) که ساختمان ویروسی را دارا بودند مشخص شده‌اند. اندازه این عناصر همانند اندازه ویروس هپاتیت بود که توسط اولترافیلتراسیون بدست آورده شده‌است (۱۰-۹-۴).

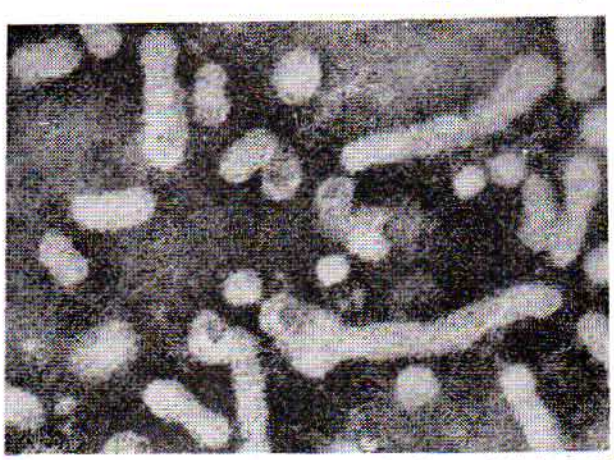


شکل شماره (۱) از آمریکا - میکرسکوپ الکترونی - فراکسیون خالص سرم بیمار مبتلا به‌هپاتیت ویروسی، عناصر ویروسی به‌قطر Å ۲۰۰ (۲۰میلی‌میکرون)

بعداز آن نتایج حاصل از میکرسکوپ الکترونی توسط دانشمندان دیگر مورد بررسی قرار گرفته ودرواقع با بررسی آن توسط میکرسکوپ الکترونی وفلوئورسنت، ویروسی بودن بیماری قطعی گردید، هرچند سایر اختصاصات دیگر این ویروس مانند هپاتیت بعد از انتقال خون Au مثبت توسط Okochi و همکاران به‌ثبوت رسیده بود (۴۱-۳۲-۲۸-۲۴-۲۳-۲۲-۲۱-۲۰-۱۹-۱۶-۱۵).

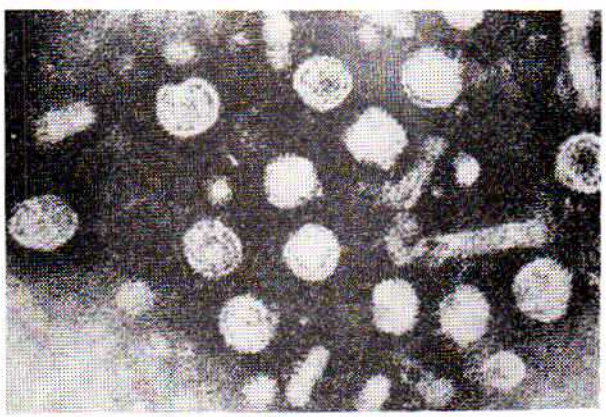
بایددانست که آنتی‌ژن استرالیا حاوی مقدار کمی (۵٪) اسیدنوکلئیک بوده که احتمالا ازجنس R.N.A میباشد (۲۶-۱۰).

مشاهدات Almeida درناقلین آنتی‌ژن Au و هپاتیت سرمی ثابت می‌کند که عناصر ویروسی اکثراً بشکل گرد و میله‌ای و به قطر ۲۰ میلی میکرون هستند که تعداد این عناصر درهرمیلی‌لیترسرم 10^{8} تا 10^{11} است.

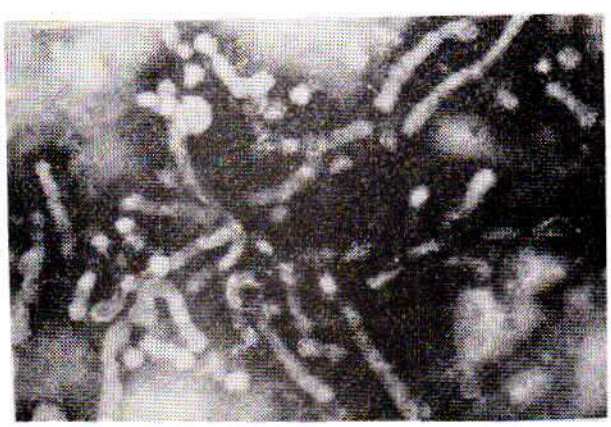


شکل شماره (۲) از لندن - اشکال گرد و کروی که تعداد این عناصر در هر میلی لیتر سرم 10^{8} بوده وقسمت اعظم عناصر ویروسی را تشکیل میدهد (درشت نمائی ۲۵۰/۰۰۰).

دانشمند مذکور این عناصر گرد را شبیه اشکالی میداند که دان درسال ۱۹۷۰ شرح داده و بنام او مشهور شده است. اشکال دان عناصر گردی‌هستند که به‌قطر ۴۲ میلی‌میکرون بوده ودرمرکز آنها ساختمان کروی به‌قطر ۲۷ میلی‌میکرون دیده میشود. باید دانست که غلظت این عناصر درهرمیلی‌لیترسرم 10^{5} است. بررسی دیگر درهپاتیت ویروسی مزمن ثابت نموده‌است که اشکال ویروسی بیشتر شکل لوله‌ای هستند (۳۲-۲۹-۲۸-۲۷).

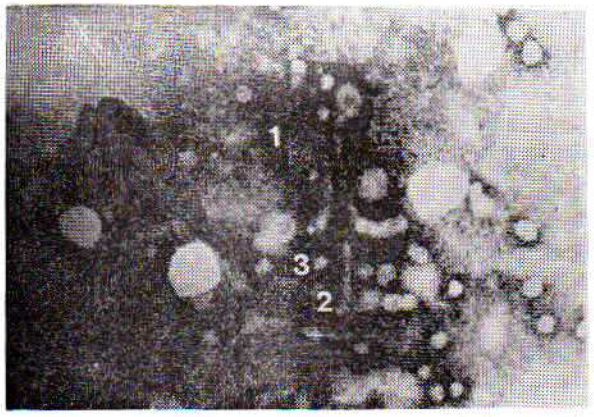


شکل شماره (۳) از لندن - عناصر ویروسی دان (Dane Particles) (درشت نمائی ۳۰۰/۰۰۰).



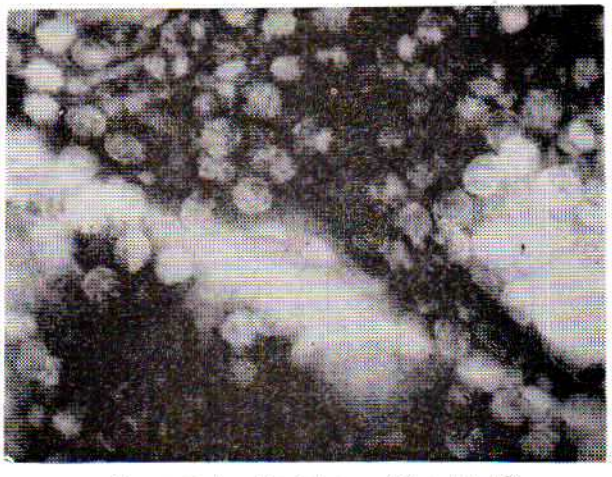
شکل شماره (۴) از لندن - شکل لوله‌ای متجمع آنتی‌ژن Au در بیمار مبتلا به‌هپاتیت ویروسی مزمن (درشت نمائی ۱۸۰/۰۰۰).

بر طبق مشاهدات Taylor و Zuckerman سه نوع اشکال ویروسی به ابعاد مختلف مشخص میشود که شامل اشکال ویروسی شماره (۱) به‌قطر ۴۲/۵-۴۷/۵ میلی‌میکرون‌است که عناصر درشتی بوده‌وآنهارا ویروس هپاتیت می‌پندارند واشکال ویروسی‌شماره (۲) که عناصر کشیده به شکل سوسیس به قطر ۶۲/۵-۲۱۷/۵ میلی میکرون بوده و از اجتماع عناصر کوچك بوجود می‌آیند واشکال ویروسی شماره (۳) که عناصر کوچك و به قطر ۱۷/۵-۲۰ میلی‌میکرون میباشند (۳۵-۳۴-۳۳-۱۱).



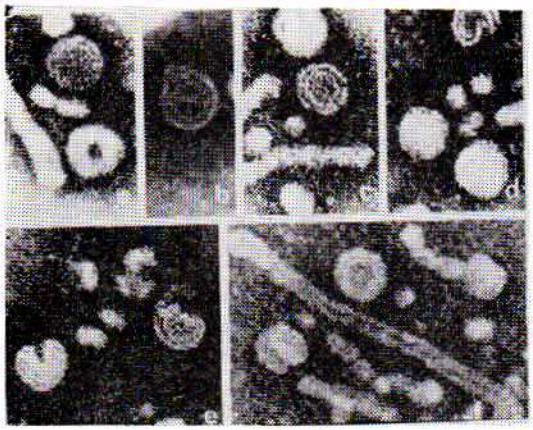
شکل شماره (۵) از لندن
۱ - عناصر ویروسی ۴۲/۵-۴۷/۵ میلی میکرون
۲ - عناصر کشیده بشکل سوسیس
۳ - عناصر کوچك به قطر ۱۷/۵ - ۲۰ میلی‌میکرون

گزارش Drouhet مبتنی برمطالعه ۴۶ نمونه سرم بیمار مبتلا به‌هپاتیت حاداست که ازاین‌تعداد۱۸ نمونهAu مثبت بوده وباروش AGD و میکرسکوپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. نتایج حاصل از میکرسکوپ الکترونی مشتمل برسه تیپ عناصر ویروسی‌است که عبارتنداز: عناصرویروسی کروی کوچك، لوله‌ای شکل وعناصردرشت که دارای دوپوشش‌هستند. از۱۸مورد مثبت۱۶ سرم دارای‌عناصرویروسی کوچك‌ودرشت‌بودند. از۱۶ نمونه‌مذکور ۱۰ سرم دارای شکل لوله‌ای و در ۵ سرم عناصری با دو پوشش (Double Coat) مشاهده گردید (۳۶).



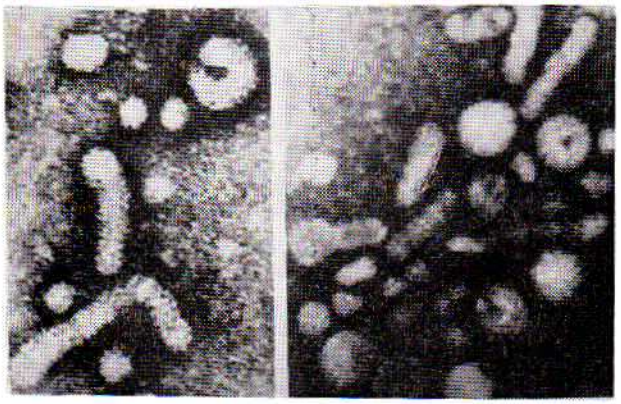
شکل شماره (۶)- سرم‌حاوی عناصردارای دوپوشش.

بررسی Desmyter و همکاران نشان داد که سرم مثبت ازنظر آنتی‌ژن Au، حاوی عناصر گرد و بیضی به‌قطر۲۵ میلی میکرون بوده واین‌اشکال ویروسی‌باغلظت مناسبی‌درسرم مشاهده میگردند. نتایج آزمایشها نشان میدهدکه قدرت آنتی‌ژنی سه‌شکل ویروسی یکسان است.



شکل شماره (۷) از بلژیك - عناصر درشت آنتی‌ژن استرالیا در سرم انسان b فرم ویروسی دارای پوشش دوگانه بوده‌که کمیاب هستند .

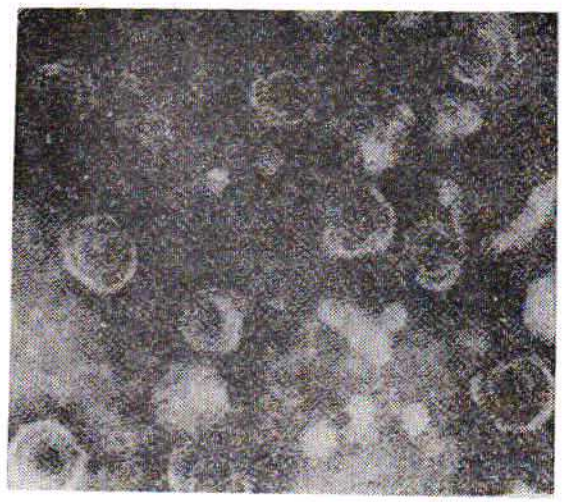
بررسی درنزد شمپانزه نشان داده‌است که‌آنتی‌ژنAu حاوی‌عناصر درشت، کوچك و فرم لوله‌ایست که عناصردرشت‌آن دارای‌خاصیت پلی‌مرفیك هستند(۳۷-۲۵-۲۰).



شکل شماره (۸) از بلژیك - آنتی‌ژن استرالیا در شمپانزه، عناصر درشت همراه باشکل لوله‌ای وعناصر ویروسی‌کوچك که ازنظرشکل شبیه Au انسان میباشد (درشت نمائی۲۶۰/۰۰۰).

مطالعه و بررسی‌آنتی‌ژن Au توسط Couleru دربیمار ۳۶ساله مبتلا به لوسمی میلوبلاستیك حاد عناصری به‌قطر۲۷-۳۰ میلی - میکرون را یادآور میگردد(۳۸).

جستجوی آنتی‌ژن Au نه‌تنها در بیماران مبتلا به‌هپاتیت ویروسی صورت گرفته بلکه درنزد خون‌دهندگان سالم‌نیزمطالعه شده‌است که عناصرویروسی به‌قطر۲۵ میلی‌میکرون را مشخص ساخته‌اند. این مطالعه توسط دانشمندان متعددی از جمله Dane صورت گرفته است. عناصر نامبرده شامل عناصردرشت به‌قطر تقریبی ۴۶ میلی میکرون و نیز عناصر کوچکتری به قطر ۲۰ میلی میکرون میباشندکه معمولا آنتی‌ژن Au است(۳۹-۲۷).



شکل شماره (۹) از لندن ـ اشکال دان (Dane) در هپاتیت سرمی.

مطالعات Hirschman و همکاران نیز عناصر شبه ویروسی باقطر ۱۸ـ۲۱ میلی میکرون را در سرم مبتلایان به هپاتیت ویروسی (عفونی و سرمی) مشخص ساخته است ومطالعه این دانشمند ثابت میکند که این عناصر در نزد انسان وشمپانزه تفاوتی نداشته‌است (شکل‌شماره ۸). ازطرف دیگرعناصرشبیه ویروس مذکور درنزد انسان و شمپانزه سالم مشاهده نگردید (۲۰).

گزارش MacCallum مبتنی بر مطالعهٔ میکرسکوپ الکترونی از سرم بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی حاد و مقایسه اشکال ویروسی آن با عناصر ویروسی آنتی‌ژن Au است که بسیار جالب توجه میباشد.

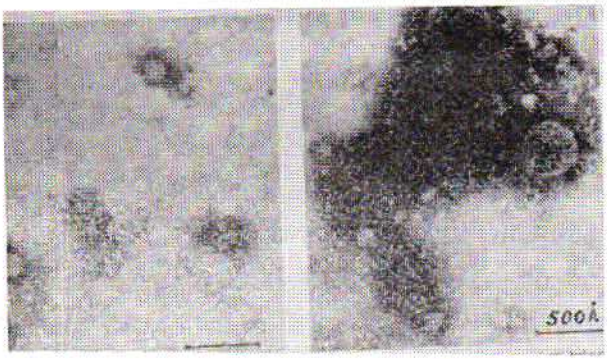


شکل شماره (۱۰) از لندن- میکرسکوپ الکترونی ـ سرم بیمار مبتلا به‌هپاتیت ویروسی‌جمع‌آوری‌شده‌از ۳۰سال‌پیش، تشابه‌آن بااشکال ویروسی Au بخوبی روشن است.

برطبق تحقیقات این‌دانشمنداز بررسی سرم بیمارمبتلا به‌هپاتیت‌ویروسی راکه در ۳۰سال‌پیش‌جمع‌آوری نموده ونتایج مطالعهٔ میکرسکوپی آنرا بااشکال ویروسی Au مقایسه نموده‌است نکات جالبی روشن میگردد، دراین‌تحقیق مسلم گردید که اشکال ویروسی آنتی‌ژن Au یعنی‌شکل گرد ولوله‌ای‌آن همانند اشکال ویروس هپاتیت ویروسی بیماری‌است که سرم‌آن در ۳۰سال‌قبل جمع‌آوری شده‌است(۴۰).

بررسی بسیارقابل‌اهمیت دیگرمطالعه‌بوسیله میکرسکوپ‌الکترونی وازنظر ایمونولوژی ویروس‌Au در ادرار بیماران مبتلا به‌هپاتیت ویروسی‌است که توسط Grob و Tripatzis صورت گرفته‌است.

محققان مذکور با روش AGD و غیره وجود Au را در ادرار و مدفوع بیماران‌مشخص‌ساخته‌اند، سپس‌توسط Tripatzis مطالعه‌ای درباره‌آنتی‌ژن Au موجود در ادرار بوسیله‌میکرسکوپ‌الکترونی بعمل‌آمد که نتایج‌آن شامل عناصرویروسی کوچك و درشت به‌قطر ۲۰ میلی‌میکرون میباشد که همانند عناصر ویروسی بدست آمده از سرم بیماران قبلی است (۴۴ـ۴۳ـ۴۲)



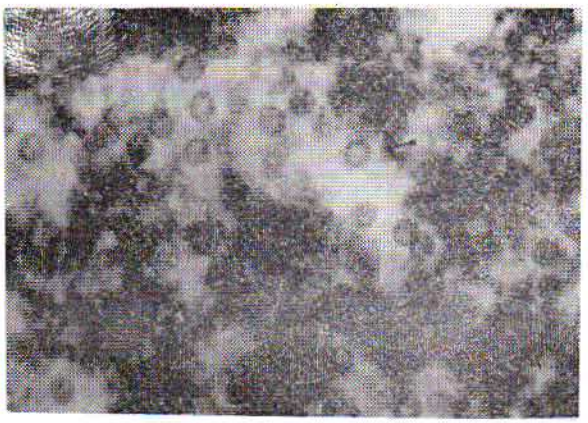
شکل شماره (۱۱) ازآلمان ـ عناصر ویروسی آنتی‌ژن استرالیا درادرار بیمار مبتلا به‌هپاتیت حاد.
قسمت چپ- عناصر ویروسی کوچك به‌قطر ۱۶-۲۰ میلی‌میکرون.
قسمت راست-عناصر ویروسی درشت‌به قطر ۴۵ میلی‌میکرون.

قسمت دیگری که خصوصاً درمورد اثبات ویروسی بودن Au سهم بزرگی دارد جستجو وبررسی آنتی‌ژن Au در هسته و سیتوپلاسم سلولهای کبدی(هپاتوسیت) توسط میکرسکوپ الکترونی‌است که جزئیات ساختمانی این ویروس را معین ساخته‌است.

بی‌شك بررسی دانشمندان مختلف درمورد جستجوی آنتی‌ژن Au درسلولهای کبدی یکسان بوده واز راه بافت برداری کبد بیماران مبتلا به‌هپاتیت‌ویروسی‌حاد ویاناقلین‌بظاهرسالم صورت گرفته‌است.

سعی میکنیم که گزارش هر محققی را جداگانه ذکر کرده و نتایج حاصله را مورد توجه ودقت قراردهیم وهمانندی‌آن را نیز بیابیم . قبلا لازم به تذکر است که نتایج پونکسیون کبد وحصول محل مناسب دراین‌بیماری خود موضوع بغرنجی‌است زیرابرطبق عقائد دانشمندان پونکسیون‌های مکررحتی دریك محل و نواحی دیگرممکن است نتایج متفاوتی را عرضه نماید بدین‌لحاظ مشکل

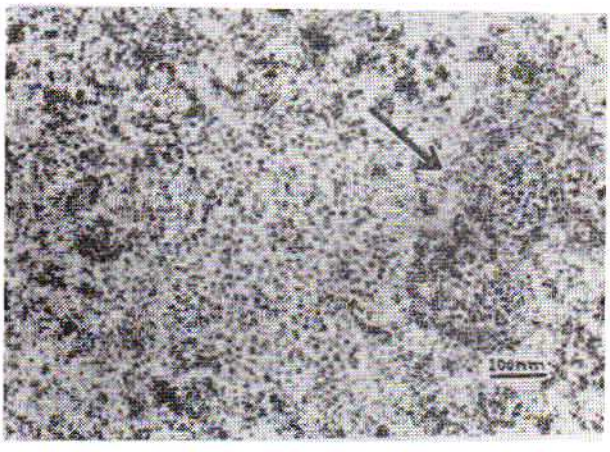
بودن این کار ودرنتیجه منفی شدن برخی نمونه‌ها شگفت‌انگیز نخواهد بود . گزارش Caramia ثابت مینماید که عناصر شبیه ویروس بقطر ۱۸ میلی‌میکرون درهسته وسیتوپلاسم سلولهای کبدی بیماران هپاتیتی مثبت است . مشابه چنین نتایجی را Nelson و Nowoslawski و همکاران نیز گزارش داده‌اند(۴۵-۳۱-۳۰).



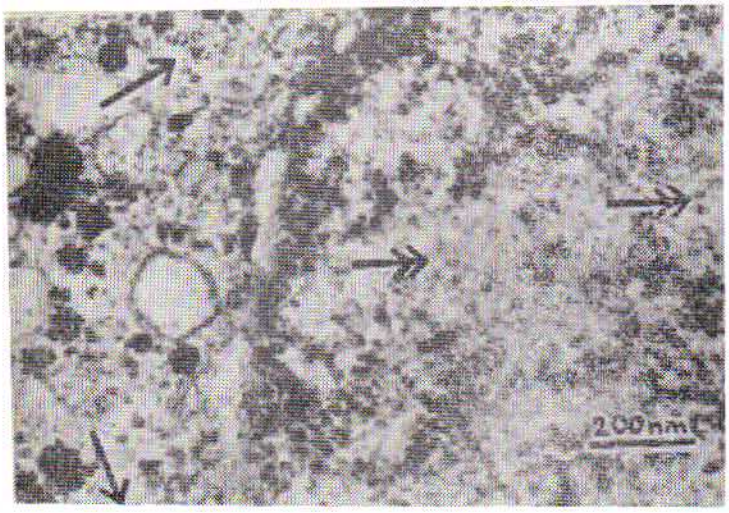
شکل شماره (۱۲) ازرم- قسمتی از هسته سلول کبدی که عناصر ویروسی بخوبی مشخص هستند (درشت نمائی ۳۵۰،۰۰۰).

دراین‌جا یادآور میشودکه ابعاد عناصر ذکرشده توسط Dane با سایرین‌فرق دارد وبه‌قطر ۴۰-۴۲ میلی‌میکرون میباشد ولی‌عناصر ویروسی Au در برش حاصل از بافت‌برداری‌کبد به‌قطر ۱۸-۲۰ میلی‌میکرون برابر با ۱۸۰-۲۰۰ انگستروم میباشد(۳۹-۲۷).

گزارش Scotto متکی بر برش نسجی از بافت برداری کبد ۲۵ بیمار مبتلا به‌هپاتیت ویروسی‌سخت‌که درحال اغماء یا پیش‌از آن بوده‌اند میباشد . این دانشمند وجود انکلوزیونهای سیتو-پلاسمیك وعناصرشبیه ویروس را متذکرمیگردد(۴۶).

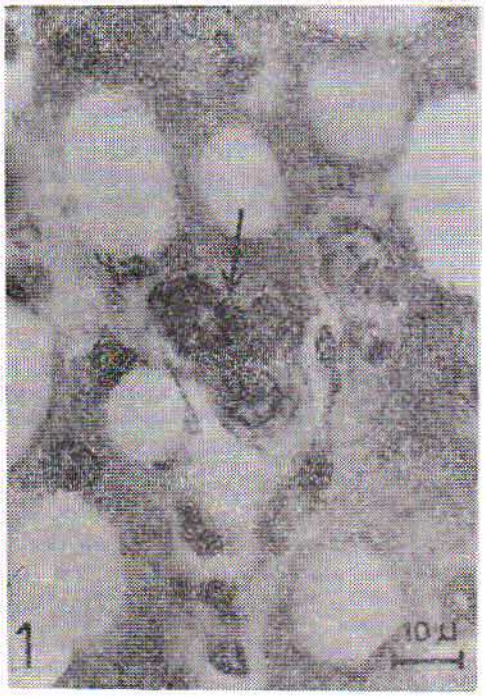


شکل شماره(۱۳) ازپاریس a - تعدادی عناصرشبیه ویروسی‌که بصورت خوشه به‌قطر ۲۰ میلی‌میکرون درهسته مشاهده می‌شود.



شکل‌شماره(۱۳)- b - همان اجسام بادرشت نمائی بیشتر

انکلوزیونهای سیتوپلاسمیك‌در۱۷ بیماراز۲۵ موردمشاهده گردید. لازم‌به‌تذکراست‌که تعدادسلولهای کبدی دارای‌اجسام‌انکلوزیونی ازحالتی بحالت دیگرمتغیرند، حتی‌نمونه‌های‌بافت‌برداری‌شده ازیك منطقه‌بامنطقه دیگرفرق‌دارند. مقایسهٔ‌این‌انکلوزیونها بااجسام‌تیپ Mallory(درسیروز) کاملاازنظرخواص‌مختلف‌متفاوت‌اند(۵۳-۴۷).



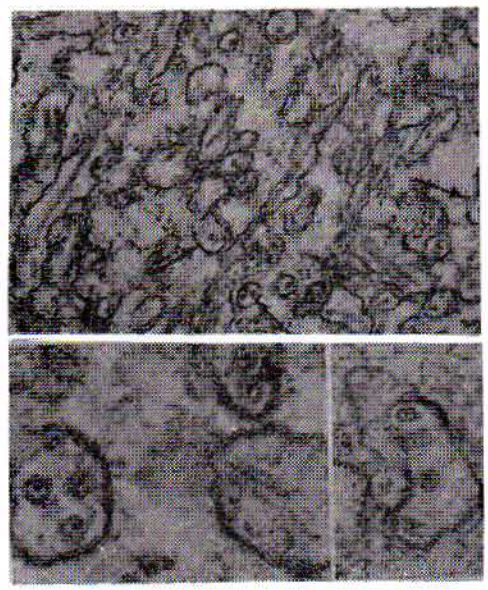
شکل شماره (۱۴) اجسام مالوری (Corps de Mallory) در سلول کبدی (هپاتوسیت) در بیماری سیروز.

انکلوزیونهای فوق به‌انکلوزیونهای حاصل از فاکتور ویروسی، همانند آنچه دربیماریهای ویروسی دیگرشناخته شده‌است، شباهت کامل دارند . عناصر شبیه ویروس فقط در یك حالت از ۲۵ مورد

مشاهده‌شده و شکل خوشه‌ای این عناصر هستند که تشکیل انکلوزیونهای خاصی را در هسته میدهند که دارای ۲۰ میلی میکرون قطر بوده ولی از نظر شکل سطحی گاهی پنج گوشه یا شش گوشه میباشند (۴۸-۴۷-۴۶).

سرم چهار بیمار دارای آنتی‌ژن Au باروش ایمونودیفوزیون و بوسیله میکرسکوپ الکترونی مطالعه گردید و معلوم شد کوچک‌ترین عناصر ویروسی موجود در سرم بیماران از نظر اندازه و شکل با عناصر ویروسی موجود در سلولهای کبدی قابل مقایسه میباشند.

بنابر گزارش Stein مبتنی بر میکرسکوپ الکترونی از بافت برداری کبد پنج مرد بظاهر سالم با واکنش Au مثبت بودند، اشکال رشته‌ای و بیضی که در اطراف کمی ضخیمتر بوده‌اند در سیستر نای کبدی مشاهده گردیده‌است. عقیده دانشمند نامبرده بر آن است که عناصر پیدا شده در سلولهای کبدی معرف شکل داخل کبدی ویروس Au است. اندازه این عناصر ۳۰ میلی میکرون و مطابق با اندازه عناصر آنتی‌ژن Au در ناقلین میباشد. عناصر مشروحه در سیستر نای، گلیکوژن نبوده‌است زیرا در بافت برداری ۶۰ بیمار مبتلا به بیماریهای مختلف کبدی دیده نشده‌است (۴۹).



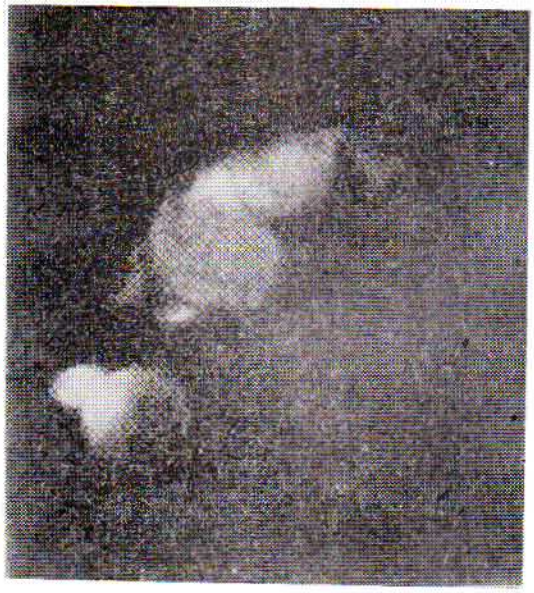
شکل شماره (۱۵) از اسرائیل - بالا : قسمتی از هپاتوسیت که سیستر نای رتیکولوم اندوپلاسمیك آن حاوی عناصر ویروسی است (درشت نمائی ۶۸۰۰۰) پائین - قسمتی از سیستر نا که حاوی عناصر شبیه ویروس است (درشت نمائی قسمت چپ ۱۸۰٫۰۰۰ و قسمت راست ۲۷۹٫۰۰۰)

ضمناً بافت برداری نمونه‌های کبدی از شش خون‌دهنده بظاهر سالم از لحاظ بالینی ولی مثبت از نظر ویروس Au، منطقهٔ وسیع غیرطبیعی از حداقل التهاب تا سیروز پس از نکروز پیشرس را نشان داده‌است (۱۹).

مطالعه ویروس Au توسط میکرسکوپ فلوئورسنت

Millman مطالعه وسیعی را در مورد ویروس Au به روش آنتی کرفلوئورسنت شروع نمود که بهره‌های درخشان آن طی مقالات عدیده منتشر شده است. بررسی این دانشمند نه‌تنها وجود ویروس Au را در سلولهای کبد بیماران به‌تحقق رسانید بلکه تأیید تشخیص بوسیله میکرسکوپی الکترونی انجام شد، بدین‌ترتیب از یك‌طرف وجود عناصر ویروسی در هسته وسیتوپلاسم سلولهای کبدی بوسیله میکرسکوپ الکترونی مشخص شد، ازسوی دیگر تعقیب و تأیید این عناصر بوسیله میکرسکوپ فلوئورسنت میسر گردید.

محقق مذکور توانست مقدار کافی آنتی‌سرم ضد Au کنژوگه شده با فلوئورسئین را که فقط با آنتی‌ژن Au درباند ایمونوالکترو - فورزی واکنش مثبت نشان میدهد تهیه نموده و تحقیق خود را شروع نماید، بدین‌صورت قطعی است که این آنتی سرم ضد Au خالص‌ترین آنتی سرم‌های مورد استعمال است. برطبق مشاهدات این دانشمند سلولهای کبد بیماران مبتلا به هپاتیت حاد (بعد از انتقال خون و عفونی)، (جدول شماره ۱) و هپاتیت ویرال مزمن که Au در خونشان موجود بوده است وقتی با آنتی Au کنژوگه با فلوئورسئین رنگ شده‌اند دانه‌های فلوئورسنت را در هسته سلولهای کبدی آشکار ساخته‌اند، بدین‌لحاظ تعداد ۵۳ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت و تمام بیمارانی که آنتی ژن Au در خون محیطی دارا بوده‌اند عناصر فلوئورسنت نیز در سلولهای کبدی آنان موجود بوده‌است. با این روش حتی مواردی که آنتی‌ژن Au در خون محیطی وجود نداشته حضور آنرا در سلولهای کبدی بخوبی مشخص ساخته است. لذا حساسیت این آزمایش نسبت به آزمایشهای خون محیطی بیشتر میباشد (۵۲-۵۱-۵۰-۴).

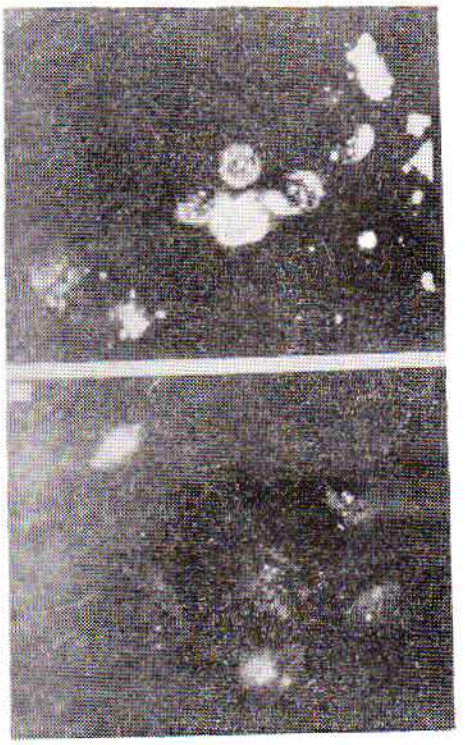


شکل شماره (۱۶)- سلول کبدی طبیعی بدون گرانول فلوئورسنت.

جدول ۱- مقایسه وجود آنتی‌ژن Au درسرم و گرانول فلوئورسنت در داخل هسته سلول کبدی در بیماران مبتلا به‌هپاتیت ویرال

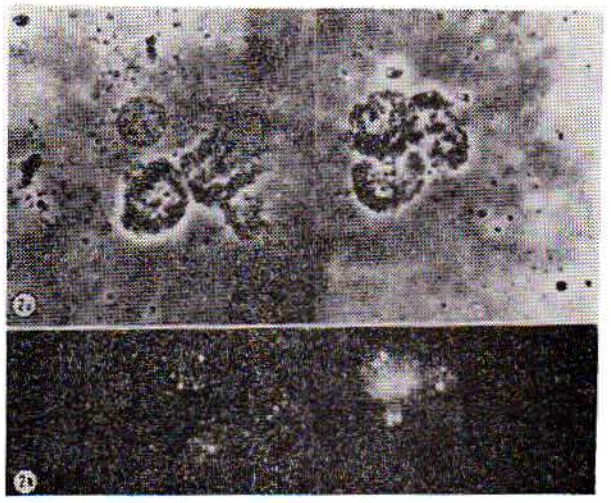
مشخصات	تعداد	Au+	Au−	گرانول فلوئورسنت
بیماران مبتلا به‌هپاتیت *	۴	۴	—	۴
بیماران بدون هپاتیت ولی دارای کبد طبیعی	۵	—	۵	—

* از ۴ بیمار: ۲ بیمارهپاتیت عفونی، ۱ بیمارهپاتیت بعدازانتقال‌خون، ۱ بیمار هپاتیت مزمن بدون یرقان.

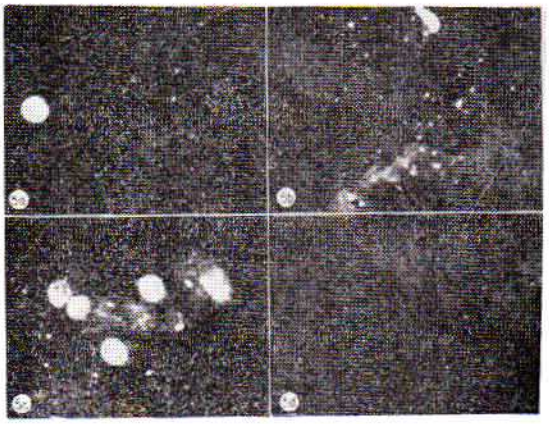


شکل شماره(۱۷) - پائین - گرانول‌های فلوئورسنت در داخل هسته سلولهای کبدی بیمار مبتلا به‌هپاتیت عفونی.
بالا - همان گرانول در هپاتیت بعدازانتقال خون

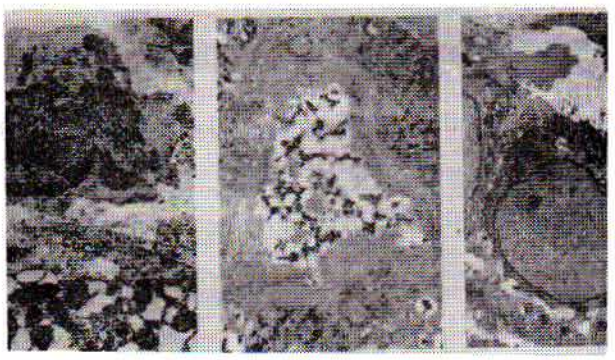
Scotto وهمکارانش‌بوسیله‌میکرسکوپ‌الکترونی‌وبافت‌برداری‌از کبد۲۵ بیمارمبتلا به‌هپاتیت ویروسی‌راکه مورد مطالعه قراردادند وجود انکلوزیونهای ویروسی سیتوپلاسمیك را یادآور شدنـد و به‌جهت بررسی مقایسه‌ای با روش ایمونوفلوئورسنت غیرمستقیم با سرم‌آنتی‌Au، ۱۲ نمونه از ۲۵حالت مورد دقت قرارگرفته‌است. بااین‌آزمایش عناصرفلوئورسنت را در ۶ حالت از ۱۲ موردپیدا نموده واظهار میدارندکه ندرتاً عناصر وراء هسته‌ای بوده وغالباً داخل سیتوپلاسمیك میباشند وبرطبق بررسیهاوشواهد ثابت‌میکنند که عناصرمذکوردارای خاصیت‌آنتی‌ژن‌ویروس‌Au میباشند(۴۶).



شکل شماره (۱۸) a و b : عناصر داخل هسته‌ای فلوئورسنت در بیمار مبتلا به‌هپاتیت مزمن بدون یرقان.



شکل شماره (۱۹)- گرانول‌های فلوئورسنت در بیمار مبتلا به‌سندرم دان، هپاتیت مزمن بدون یرقان و لوسمی میلوبلاستیك.



شکل شماره (۲۰)- شکل چپ : مونونوکلئوز انفکسیوز. یك مونوسیت بزرگ درفضای سینوس دیده میشود. رتیکولوم‌آندوپلاسمیك‌گشاد شده‌است.
شکل وسط : گشاد شدن کانالیکول‌ها درهپاتیت سیتومگالو ویروس.
شکل راست : مجرای صفراوی را درهپاتیت سیتومگالو ویروس‌نشان میدهد.
نتیجه - درهرسه هیچگونه عناصرویروسی یا انکلوزیونهای ویرال مشاهده نمیگردد.

بحث و تفسیر

سرم بیماران مبتلا به‌هپاتیت ویروسی حاد که توسط میکرسکوپ الکترونی‌مورد مطالعه‌قرار گرفته‌است سه نوع ویروس را مشخص میسازد :

- نوع اول‌شامل‌اشکال‌درشت ویروس‌به‌قطر ۴۲ تا ۴۵ میلی‌میکرون.
- نوع دوم‌شامل‌عناصر ویروسی کوچك‌بقطر ۱۸ تا ۲۱ میلی‌میکرون.
- شکل سوم اشکال لوله‌ای است‌که برخی‌آنرا از اجتماع عناصر ویروسی میدانند (۴۱-۳۳-۲۷-۲۲-۲۱-۲۰-۱۹-۱۱).

برخی از دانشمندان مانند Drouhet عناصر ویروسی با پوشش دولایه را یادآور شده ولی Dane می‌گوید اشکال درشت نیز عناصر ویروسی‌هستند، درصورتیکه Almeida اعتقاد داردکه‌آنچه Dane می‌گوید عناصر درشتی هستند که در مرکزشان ساختمان کروی به‌قطر ۲۷ میلی‌میکرون وجود داردکه میتواند عامل‌هپاتیت ویروسی باشد(۳۹-۳۶-۲۹-۲۷).

ضمناً نظیر چنین اشکال ویروسی را درسرم خون دهندگان بظاهر سالم و هپاتیت مزمن و سندرم دان و لوسمی‌که از نظر Au مثبت بوده‌اند مطالعه‌کرده و دیده‌اندکه اشکال لوله‌ای درهپاتیت مزمن وجود دارد. ولی‌باید یادآور شدکه تحقیق وجود ویروس درهسته وسیتوپلاسم سلولهای کبدی توسط میکرسکوپ الکترونی و تأیید آنهاتوسط میکرسکوپ فلوئورسنت، دیگرابهام‌تئوری‌غیرویروسی را برطرف نموده و متفق‌القول اندازه این ویروس بطور متوسط ۲۰ میلی‌میکرون‌تعیین‌شده‌است ونیز ثابت‌شده که‌این‌ویروسها‌دارای خاصیت آنتی‌ژنی Au میباشند(۴۹-۴۶-۴۵-۳۸-۳۷-۳۶-۲۰).

ضمناً گزارش Scotto مبنی بروجود انکلوزیونهای ویروسی در سیتوپلاسم‌سلولهای کبدی ونیز عناصر ویروسی بقطر ۲۰ میلی‌میکرون که پنج گوشه یـا شش گوشه هستند بسیار جالب تـوجه است ، بخصوص که این‌انکلوزیونها بااجسام Mallory درسیروز واجسام دیگر(بعلت سیتومگالوویروس) و یاآنچه در مونونوکلئوز شرح داده شده‌است ازکلیهٔ جهات اختلاف دارند(۵۳-۴۷-۴۶).

اختلاف اندازه و ساختمان ویروس Au در نـزد مبتلایان ، شاید به چند شکلـی بودن مراحل تکثیر ویـروس و نیز دفاع بدن و مراحل مختلف بیمـاری در هنگام مطالعـه بستگی داشته است ، زیراآنچه راکه زیرنام Inclusion Body مشاهده میشود چیزی جزاجتماع ویروسهانیست‌که درداخل‌آنهاوجود Virion به‌اثبات رسیده وخود شکلی ازساختمان ویروسی‌است‌که باغشاء پروتئینی پوشیده شده است . درحالیکه اشکال لوله‌ای گزارش شده توسط زوکرمن و آلمیدا (دربیماران هپاتیت مزمن بیشتر دیده میشود) شاید بعلت ایجاد مجموعه‌آنتی ژن و آنتی‌کور موجود درجریان خون باشدکه به‌این‌شکل درآمده‌اند. این‌اشکال‌ممکن‌است‌اجتماع ویروسی‌نبوده بلکه اجتماعی‌ازآن‌قسمت ویروس‌که دارای‌خاصیت آنتی‌ژنی است باشند که تحت اثـر آنتی‌کور مربـوطه بصورت مجموعه‌ای درآمده وساختمان‌کشیده وطویلی‌را بوجودآورده‌اند.

REFERENCES :

1- Allison, AC., Blumberg, BS. An isoprecipitation reaction distinguishing human serum protein. Lancet 1: 634, 1961.
2- Alter, HJ., Holland, PV., Schmidt, PJ. Hepatitis_associated antigen. Lancet 2: 142, 1970.
3- Blumberg, BS., Harvey, JA. and Visnichs: A new antigen in leukemia sera. J.A.M.A, 191:541, 1965.
4- Blumberg, BS., Sutnick, AI, London. WT: Australia antigen as a hepatitis virus. Amer. J. Med. 4: 1, 1970.
5- Blumberg. BS., Gerstley. BJS, London, WT. Millman, I et al: Hepatitis virus and Australia antigen. J. Clin. Invest 48:9a, 1969.
6- Blumberg, BS., Gerstley, BJS. Hungerford, DA. London, WT et al: A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis. Ann. Inter. Med. 66: 924, 1967.
7- Sohier, R: Diagnostique des maladis a virus. Paris, Flammarion Co., 1964.
8- Tabarestani, M : Australia antigen in viral hepatitis blood donors in Iran. Thesis, School of Medicine. Tehran University, 1971.
9- Bayer, ME., Blumberg, BS. and Werner, B: Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukemia, down's syndrome and hepatitis. Nature 218:1057, 1968.
10- Sutnick, AI., London, WT., Blumberg. BS., and Vierucci, A: Australia antigen, posttransfusion hepatitis and the chronic carrier State: Amer. J. Dis. Child. 123: 392, 1972.
11- Bonacker, L: Virus hepatitis und Australia antigen. Du gelben Hefte, Imm. Inform. Der Bohringwerke AG. Dec, 20: 1033. 1960.
12- Alter, HJ. Holland, PV. Purcell. RH et al: The Auseria test: Critical evaluation of sensitivity and specificity. Blood 42:6, 1973.

13- Gock, DJ. and Kavey, NB : Hepatitis antigen. Lancet 2: 248, 1969.

14- Gock, D J. and Kavey, NB: Hepatitis antigen, correlation with disease and infectivity of blood donors. Lancet 1:1055, 1969.

15. Okochi, K. Murakami, S. Ninomiya, K et al: Australia antigen transfusion and hepatitis. Vox. Sanguinis 18:248, 1970.

16- Okochi, K. Saito, N. Mayumi, M. and Haguino, Y: Observations on Australia antigen in blood donor. (Tokyo) Symposium, XIII Inter. Cong of Hematol. Munich: 217, 1970.

17- Prince, AM: An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. Proc. Natn. Acad. Sci 60: 814, 1968.

18- Prince, AM: Relation of Australia and SH antigen. Lancet 2:462, 1968.

19- Sutnick, AI. London, Wt. Millman, I. Coyne, VE., Blumberg, BS: Viral hepatitis, revised concepts as a result of the study of Australia antigen. Med. Clin. North. Amer. 54: 805, 1970.

20- Hirschman, RJ., Shulman, NR., Barker, LF. et al: Virus-like particles in sera of patients with infections and serum hepatitis. J.A.M.A. 208: 1667, 1969.

21- London, WT. Sutnick, AI. Blumberg, BS: Australia antigen and acute viral hepatitis. Ann. Inter. Med. 70:55, 1969.

22- Carlosirtori. Virus_like particles in infections hepatitis. Lancet 2:824, 1970.

23- Krohn, K. Finlayson, NDC. Jokelainen, PT. et al: Electron microscopical and immunological observations on the serum-hepatitis (SH) antigen in primary biliery cirrhosis. Lancet 2: 379, 1970.

24- Jenson, AB. McCombs, RM. Melnick, JL: Au_antigen particles. Lancet 2:311, 1970.

25- Melartin, L. and Blumberg, BS: Production of antibody against Australia antigen in rabbtis. Nature 210:130, 1966.

26- Jozwiak, W. Koscielak, J. Madalinski, K. et al: RNA of Australia antigen hepatitis. Nature 229:94, 1971.

27- Almeida, JD: Individual morphological variations seen in Australia antigen positive sera. Amer. J. Dis. Child. 123:303, 1972.

28- Almeida, JD. Zuckerman, AJ. Taylor, PE. et al: Immune electron microscopy of the Australia-SH antigen. Microbios. 2: 117, 1969.

29- Almeida, JD. Electron microscopic observations and especulations on Australia antigen. Postgrad. Med. J. 47:483, 1971.

30- Nowoslawski, A. Brzosko, WJ. Madalinski, K. et al: Cellular localisation of Australia antigen in the liver of patients with lymphoproliferative disorders. Lancet 1:494, 1970.

31- Nelson, JM. Barker, LF. Danouitch, SH: Intranuclear aggregates in the liver of a patient with serum hepatitis. Lancet 2: 733, 1970.

32- Almeida, JD. Waterson, AP. Trowell, JM. et al: The finding of virus-like particles in two Australia_antigen positive human liver. Microbios 6: 145, 1970.

33- Zuckerman, AJ., Viral hepatitis and the Australia-SH antigen. Nature. 223: 569, 1969.

34- Zuckerman, AJ., Progress in viral hepatitis_on infection of antiquity. VIIth. Cong. of the world. Federation of hoemophilia, May 17, Tehran: 55, 1971.

35- Zuckerman, AJ., Taylor, DE. Almeida, JD: Presence of particles after than Australia-SH antigen in a case of chronic active hepatitis with cirrhosis. Brit Med. J. 1: 262, 1970.

36- Drouhet, V., Dao,VL. and Netter, R: Development of antigen during the cours of serum hepatitis. Amer. J. Dis. Child. 123: 320, 1972.

37- Desmyter, J. Tseliu, W. and Creemers, J: The large particle of Australia antigen. Amer. J. Dis. Child. 123: 315, 1972.

38- Couleru, OG., Moulias, R. and German, A: Morphologic evolution of the Australia antigen in one case of hepatitis. Amer. J. Dis, Child. 123:318, 1972.

39- Dane, DS. Cameron, CH., Briggs, M : Virus_like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. Lancet, 1: 695, 1970.

40- MacCallum, FO: Hepatitis. Amer. J. Dis. Child. 123:332, 1972.

41- Babudieri, B., Fiaschi, E., Naccarato, R., et al: Presence of virus-like bodies in liver cells of patients with infections hepatitis. J. Clin. Path. 19: 577, 1966.

42- Grob, PJ. Jemelka, H: Faecal SH (Australia) antigen in acute hepatitis. Lancet, 1:206, 1971.

43- Tripatzis, I: Australia antigen in urine and feces. Amer. J. Dis. Child 123:401, 1972.

44- Grob, PJ. Jemelka, HI: Fecal SH_antigen in acute hepatitis. Amer. J. Dis. Child. 123: 400, 1972.

45- Caramia, F. Debac, C. and Ricci, G: Virus-like particles with in hepatocytes of Australia antigen carriers. Amer. J. Dis. Child. 123:309, 1972.

46- Scotto, JM., Homberg, JCL. and Caroli, J: Electron microscopy studies of severe virus hepatitis. Amer. J. Dis, Child. 123:311, 1972.

47- Fldmann, G. Oudéa, P. Molas, G. et al: L'ultrastructure des hépatocytes au cours des cirrhoses alcooliques. Press. Med. 78:409, 1970.

48- Scotto, J. Homberg, JCL. Stralin, H. et al: Observation ultrastructurale d'inclusions cytoplasmiques partculieres dans des cas d'hepatites virales: Rapport avec l'antigene Australia: Presse. Med. 78:2061, 1970.

49- Stein, O. Fainaru, M. and Stein, Y: Virus-like particles in the cytoplasm of the liver of Australia antigen carriers. Amer. J. Dis. Child. 123:313, 1972.

50- Millman, I. Zavaton. V, Gerstley. BJS and Blumberg. BS: Australia antigen in the nuclei of liver cells of patients with viral hepatitis detected by the fluorescent antibody technique. Nature. 222:518, 1969.

51- Coyne, VE. Millman, I. Cerda, J. et al: The Localization of Australia antigen by immunofluorescence. J. Exper. Med 131:307, 1970.

52- Shikata, T: Australia antigen in liver tissue. An immunofluorescent and immunoelectron microscopic study. Jap. J. Exp. Med. 43:231, 1973.

53- Wills, EJ: Electron microscopy of the liver in infections mononucleosis hepatitis and cytomegalovirus hepatitis. Amer. J. Dis. Child. 123:301, 1972.