

مطالعه آنتی ژن استرالیا در هپاتیت ویروسی توسط میکروسکوپ الکترونی و میکروسکوپ فلوئورسنت

مجله نظام پزشکی

سال چهارم، شماره ۲، صفحه ۱۲۷، ۱۳۵۳

دکتر مجتبی طبرستانی - دکتر عبدالجبار افکاری *

بودن هپاتیت ویروسی مورد توجه قرار گرفت دانش ما درباره این بیماری فزونی یافت و بسیاری از مسائل تاریک اپیدمیولوژی آن روشن گردید (۷-۸).

از سال ۱۹۶۱ بررسیهای پرارزش Blumberg و همکاران تحول بزرگی را در کشف عامل مولد هپاتیت ویروسی پدید آورد بدین ترتیب که شناخت هپاتیت ویروسی تحت نام آنتی ژن استرالیا یا ویروس Au راه را برای مطالعه دامنه داری در مورد علل هپاتیت ویروسی باز نمود، بنابراین هر روز دامنه مطالعات وسیع تر شده و بر اثر تحقیقات پرارج دانشمندان وسایل و روش های تازه تری برای جدا کردن عامل بیماری مشخص گردید بطوریکه امروزه دقیق ترین و سریع ترین وسیله و روش جهت جدا نمودن ویروس Au بدنای پزشکی معرفی شده است (۱۸-۱۷-۱۴-۱۳-۱۲-۶-۵-۴-۳-۲-۱).

در این مبحث از دو روش بسیار دقیق عملی میکروسکوپ الکترونی و فلوئورسنت صحبت بمیان خواهد آمد که نه تنها ویروس Au را در هسته و سیتوپلاسم سلولهای کبدی بیماران مبتلا به هپاتیت حاد و مزمن و خون دهندگان سالم نشان میدهد، بلکه اشکال مختلف ویروسی آنرا بطور وضوح مشخص میکند. در این جا سعی خواهد شد بر طبق مدارک موجود نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی بوسیله محققان مختلف را متذکر و با بررسی اشکال ویروسی بدست آمده، دلیل ویروسی بودن بیماری و نیز متحدالشکل بودن این عناصر ویروسی معین گردد.

مشاهدات میکروسکوپ الکترونی از سرم بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی حاد توسط Bayer و Millman صورت گرفته و عناصر

سیر دانش بشری و پیشرفت روزافزون آن در علوم پزشکی مدیون زحمات مستمر محققانی است که باشوقی فراوان عمرها در راه نیل به مقصود صرف نموده، و بر اثر مساعی شبانه روزی خود جلوه گاه امیدی در روشن نمودن اسرار نهفته و مشی آن بر پا ساخته اند، لذا در پرتو همکاریها و مجاهدات پژوهندگان پزشکی است که طب امروزی شاهد این همه پیروزیهای شگفت انگیز شده است.

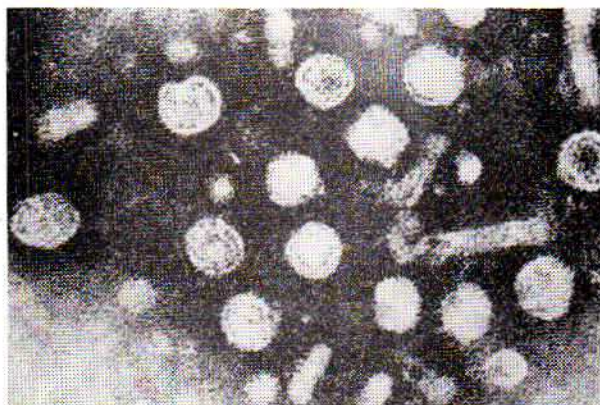
در سالهای اخیر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و میکروسکوپ فلوئورسنت مطالعات دامنه داری درباره بیماریهای مختلف کبدی خصوصاً در مورد هپاتیت ویروسی صورت گرفته است و پیدا شدن ویروس در داخل سلولهای کبدی راه را جهت تشخیص و تشخیص افتراقی آن از بیماریهای گوناگون کبدی هموار ساخته است.

این مقاله با اشاره به زحمات دانشمندانی که درباره هپاتیت ویروسی به تحقیق پرداخته اند، به منظور معرفی اشکال ویروسی آنتی ژن استرالیا تدوین شده است. نتایج حاصل بوسیله میکروسکوپ الکترونی و میکروسکوپ فلوئورسنت از مطالعه سرم و پونکسیون بیوپسی کبد بیماران مبتلا به هپاتیت ویروسی حاد و مزمن و نیز دهندگان خون سالم و کمپلکس آنتی ژن - آنتی کر آن بدست آمده است. ضمناً یادآوری از روش بسیار حساس آنتی کرفلوئورسان، که چگونه میتوان با این روش ویروس Au را در هسته و سیتوپلاسم سلولهای کبدی بیماران مبتلا به هپاتیت ویروسی جستجو نمود، در این مقاله آمده است.

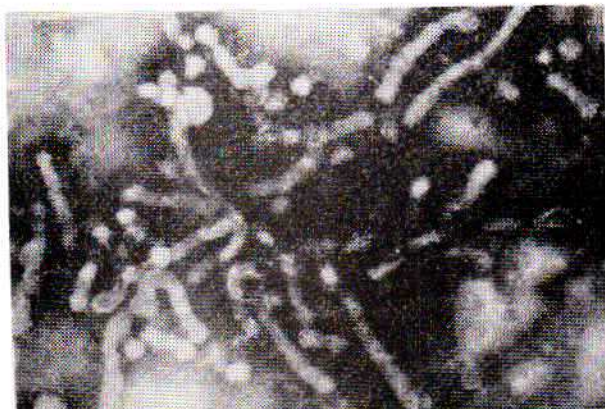
میکروسکوپ الکترونی و اهمیت آن در تشخیص ویروس Au نخستین بار در سال ۱۹۴۵ میلادی ویروسی بودن بیماری هپاتیت توسط Findlay و همکاران به ثبوت رسید و بی شک از زمانی که ویروسی

* مشهد - دانشکده پزشکی، دانشگاه فردوسی.

دانشمند مذکور این عناصر گرد را شبیه اشکالی میدانند که دان در سال ۱۹۷۰ شرح داده و بنام او مشهور شده است. اشکال دان عناصر گردی هستند که به قطر ۴۲ میلی میکرون بوده و در مرکز آنها ساختمان کروی به قطر ۲۷ میلی میکرون دیده میشود. باید دانست که غلظت این عناصر در هر میلی لیتر سرم ۱۰۵ است. بررسی دیگر در هپاتیت ویروسی مزمین ثابت نموده است که اشکال ویروسی بیشتر شکل لوله ای هستند (۲۷-۲۸-۲۹-۳۲).



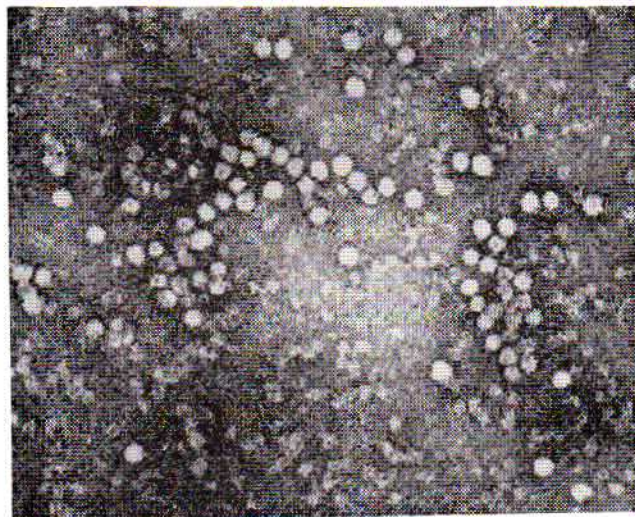
شکل شماره (۳) از لندن - عناصر ویروسی دان (Dane Particles) (درشت نمایی ۳۰۰۰۰۰).



شکل شماره (۴) از لندن - شکل لوله ای متجمع آنتی ژن Au در بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی مزمین (درشت نمایی ۱۸۰۰۰۰).

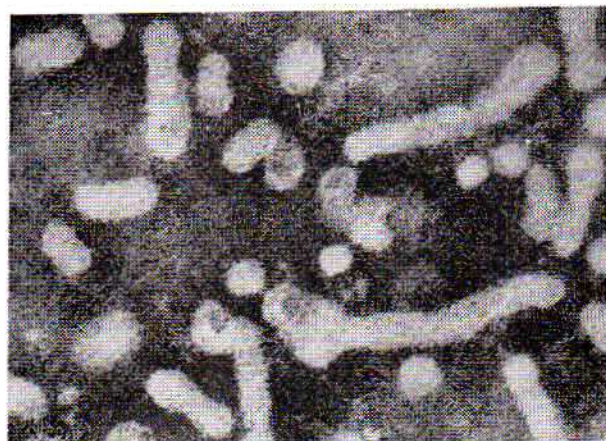
بر طبق مشاهدات Taylor و Zuckerman سه نوع اشکال ویروسی به ابعاد مختلف مشخص میشود که شامل اشکال ویروسی شماره (۱) به قطر ۴۲/۵-۴۷/۵ میلی میکرون است که عناصر درشتی بوده و آنها را ویروس هپاتیت می پندارند و اشکال ویروسی شماره (۲) که عناصر کشیده به شکل سوسیس به قطر ۶۲/۵-۲۱۷/۵ میلی میکرون بوده و از اجتماع عناصر کوچک بوجود می آیند و اشکال ویروسی شماره (۳) که عناصر کوچک و به قطر ۱۷/۵-۲۰ میلی میکرون میباشد (۳۵-۳۴-۳۳-۱۱).

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

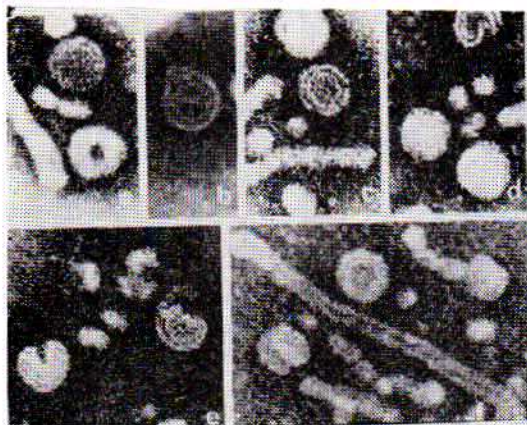


شکل شماره (۱) از آمریکا - میکروسکوپ الکترونی - فراکسیون خالص سرم بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی. عناصر ویروسی به قطر ۳۰۰ Å (۴۰ میلی میکرون)

بعد از آن نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی توسط دانشمندان دیگر مورد بررسی قرار گرفته و در واقع با بررسی آن توسط میکروسکوپ الکترونی و فلوئوروسنت، ویروسی بودن بیماری قطعی گردید، هر چند سایر اختصاصات دیگر این ویروس مانند هپاتیت بعد از انتقال خون مثبت توسط Okochi و همکاران به ثبوت رسیده بود (۴۱-۳۲-۲۸-۲۴-۲۳-۲۲-۲۱-۲۰-۱۹-۱۶-۱۵).
باید دانست که آنتی ژن استراليا حاوی مقدار کمی (۵٪) اسید نوکلئیک بوده که احتمالاً از جنس R.N.A میباشد (۲۶-۱۰).
مشاهدات Almeida در ناقلین آنتی ژن Au و هپاتیت سرمی ثابت می کند که عناصر ویروسی اکثراً بشکل گرد و میله ای و به قطر ۲۰ میلی میکرون هستند که تعداد این عناصر در هر میلی لیتر سرم ۱۰ تا ۱۰۱۱ است.

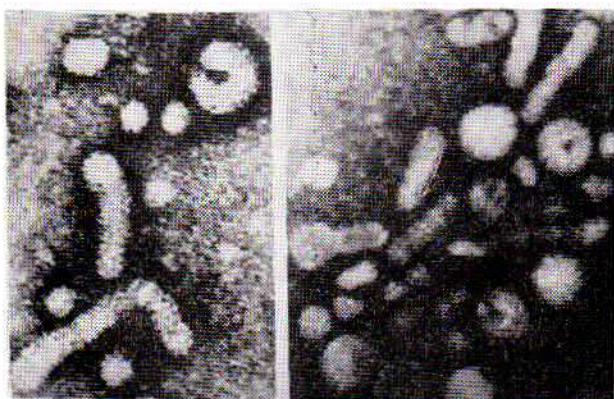


شکل شماره (۲) از لندن - اشکال گرد و کروی که تعداد این عناصر در هر میلی لیتر سرم ۱۰^۸ بوده و قسمت اعظم عناصر ویروسی را تشکیل میدهد (درشت نمایی ۲۵۰/۰۰۰).



شکل شماره (۷) از بلزیک - عناصر درشت آنتی ژن استرالیا در سرم انسان
b فرم ویروسی دارای پوشش دوگانه بوده که کمیاب هستند.

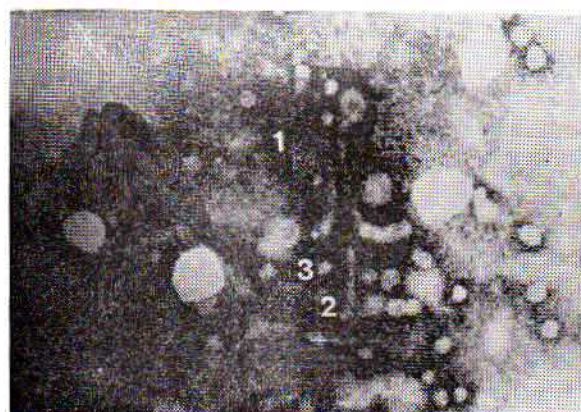
بررسی در نزد شپانزه نشان داده است که آنتی ژن Au حاوی عناصر
درشت، کوچک و فرم لوله ایست که عناصر درشت آن دارای خاصیت
بلی مرفیک هستند (۲۵-۳۷-۲۰).



شکل شماره (۸) از بلزیک - آنتی ژن استرالیا در شپانزه، عناصر درشت
همراه با شکل لوله ای و عناصر ویروسی کوچک که از نظر شکل شبیه Au انسان
میباشد (درشت نمایی ۲۶۰/۰۰۰).

مطالعه و بررسی آنتی ژن Au توسط Couleru در بیمار ۳۶ ساله
مبتلا به لوسمی میلو بلاستیک حاد عناصری به قطر ۲۷-۳۰ میلی -
میکرون را یاد آور میگردد (۳۸).

جستجوی آنتی ژن Au نه تنها در بیماران مبتلا به بهپاتیت ویروسی
صورت گرفته بلکه در نزد خون دهندگان سالم نیز مطالعه شده است
که عناصر ویروسی به قطر ۲۵ میلی میکرون را مشخص ساخته اند.
این مطالعه توسط دانشمندان متعددی از جمله Dane صورت
گرفته است. عناصر نامبرده شامل عناصر درشت به قطر تقریبی ۴۶
میلی میکرون و نیز عناصر کوچکتری به قطر ۲۰ میلی میکرون
میباشد که معمولاً آنتی ژن Au است (۳۹-۲۷).



شکل شماره (۹) از لندن
۱ - عناصر ویروسی ۴۲/۵-۴۷/۵ میلی میکرون
۲ - عناصر کشیده بشکل سوسیس
۳ - عناصر کوچک به قطر ۱۷/۵ - ۲۰ میلی میکرون

گزارش Drouhet مبتنی بر مطالعه ۴۶ نمونه سرم بیمار مبتلا
به بهپاتیت حاد است که از این تعداد ۱۸ نمونه مثبت بوده و باروش
AGD و میکروسکوپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفته اند.
نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی مشتمل بر سه تیپ عناصر
ویروسی است که عبارتند از: عناصر ویروسی کروی کوچک، لوله ای
شکل و عناصر درشت که دارای دو پوشش هستند. از ۱۸ مورد مثبت ۱۶
سرم دارای عناصر ویروسی کوچک و درشت بودند. از ۱۶ نمونه مذکور
۱۰ سرم دارای شکل لوله ای و در ۵ سرم عناصری با دو پوشش
(Double Coat) مشاهده گردید (۳۶).



شکل شماره (۱۰) - سرم حاوی عناصر دارای دو پوشش.

بررسی Desmyter و همکاران نشان داد که سرم مثبت از نظر
آنتی ژن Au، حاوی عناصر گرد و بیضی به قطر ۲۵ میلی میکرون
بوده و این اشکال ویروسی با غلظت مناسبی در سرم مشاهده میگردد.
نتایج آزمایشها نشان میدهد که قدرت آنتی ژنی سه شکل ویروسی
یکسان است.

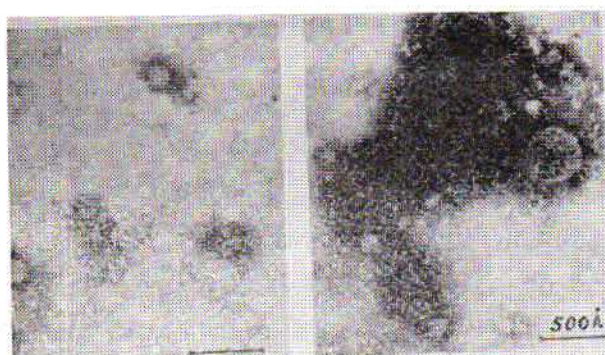
آنرا با اشکال ویروسی Au مقایسه نموده است نکات جالبی روشن میگردد، در این تحقیق مسلم گردید که اشکال ویروسی آنتی ژن Au یعنی شکل گرد و لوله‌ای آن همانند اشکال ویروس هپاتیت ویروسی بیماری است که سرم آن در ۳۰ سال قبل جمع آوری شده است (۴۰). بررسی بسیار قابل اهمیت دیگر مطالعه بوسیله میکروسکوپ الکترونی و از نظر ایمونولوژی ویروس Au در ادرار بیماران مبتلا به هپاتیت ویروسی است که توسط Grob و Tripatzis صورت گرفته است. محققان مذکور با روش AGD و غیره وجود Au را در ادرار و مدفوع بیماران مشخص ساخته‌اند، سپس توسط Tripatzis مطالعه‌ای درباره آنتی ژن Au موجود در ادرار بوسیله میکروسکوپ الکترونی بعمل آمد که نتایج آن شامل عناصر ویروسی کوچک و درشت به قطر ۲۰ میلی میکرون میباشد که همانند عناصر ویروسی بدست آمده از سرم بیماران قبلی است (۴۴-۴۳-۴۲)



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

مطالعات Hirschman و همکاران نیز عناصر شبه ویروسی با قطر ۲۱-۱۸ میلی میکرون را در سرم مبتلایان به هپاتیت ویروسی (عفونی و سرمی) مشخص ساخته است و مطالعه این دانشمندان ثابت میکند که این عناصر در نزد انسان و شپانزه تفاوتی نداشته است (شکل شماره ۸). از طرف دیگر عناصر شبیه ویروس مذکور در نزد انسان و شپانزه سالم مشاهده نگردید (۲۰).

گزارش MacCallum مبتنی بر مطالعه میکروسکوپ الکترونی از سرم بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی حاد و مقایسه اشکال ویروسی آن با عناصر ویروسی آنتی ژن Au است که بسیار جالب توجه میباشد.



شکل شماره (۱۱) از آلمان - عناصر ویروسی آنتی ژن استراليا در ادرار بیمار مبتلا به هپاتیت حاد.

قسمت چپ - عناصر ویروسی کوچک به قطر ۱۶-۲۰ میلی میکرون.
قسمت راست - عناصر ویروسی درشت به قطر ۴۵ میلی میکرون.

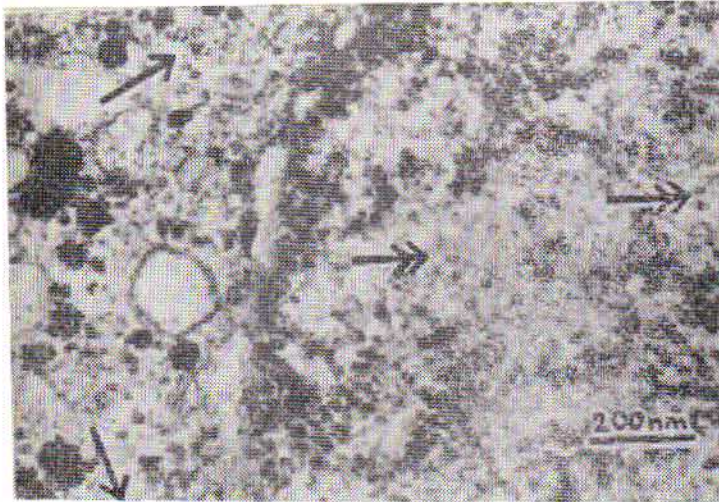
قسمت دیگری که خصوصاً در مورد اثبات ویروسی بودن Au سهم بزرگی دارد جستجو و بررسی آنتی ژن Au در هسته و سیتوپلاسم سلولهای کبدی (هپاتوسیت) توسط میکروسکوپ الکترونی است که جزئیات ساختمانی این ویروس را معین ساخته است.

بی شک بررسی دانشمندان مختلف در مورد جستجوی آنتی ژن Au در سلولهای کبدی یکسان بوده و از راه یافت برداری کبد بیماران مبتلا به هپاتیت ویروسی حاد و یا ناقلین بظاهر سالم صورت گرفته است. سعی میکنیم که گزارش هر محقق را جداگانه ذکر کرده و نتایج حاصله را مورد توجه و دقت قرار دهیم و همانندی آن را نیز بیابیم. قبلاً لازم به تذکر است که نتایج پونکسیون کبد و حصول محل مناسب در این بیماری خود موضوع بغرنجی است زیرا بر طبق عقائد دانشمندان پونکسیونهای مکرر حتی در یک محل و نواحی دیگر ممکن است نتایج متفاوتی را عرضه نماید بدین لحاظ شکل



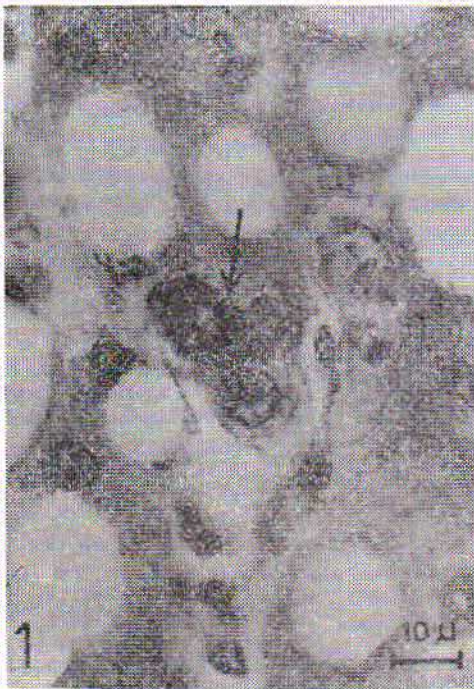
شکل شماره (۱۰) از لندن - میکروسکوپ الکترونی - سرم بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی جمع آوری شده از ۳۰ سال پیش، تشابه آن با اشکال ویروسی Au بخوبی روشن است.

بر طبق تحقیقات این دانشمندان از بررسی سرم بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی را که در ۳۰ سال پیش جمع آوری نموده و نتایج مطالعه میکروسکوپی



شکل شماره (۱۳) - b - همان اجسام با درشت نمایی بیشتر

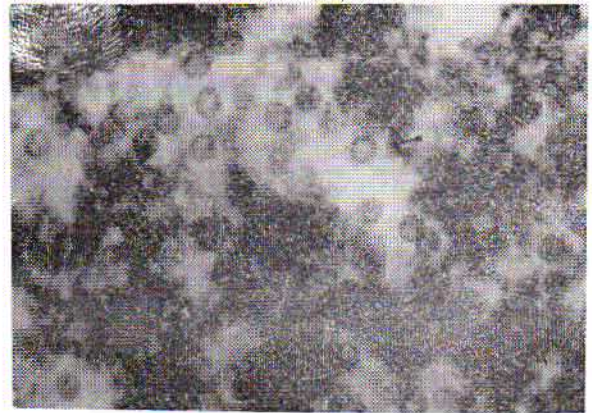
انکلوزیو نهایی سیتوپلاسمیک در ۱۷ بیمار از ۲۵ مورد مشاهده گردید. لازم به تذکر است که تعداد سلولهای کبدی دارای اجسام انکلوزیونی از حالتی بحالت دیگر متغیرند، حتی نمونه‌های بافت برداری شده از یک منطقه با منطقه دیگر فرق دارند. مقایسه این انکلوزیونها با اجسام تیپ Mallory (در سروز) کاملاً از نظر خواص مختلف متفاوت اند (۵۳-۴۷).



شکل شماره (۱۴) اجسام مالوری (Corps de Mallory) در سلول کبدی (هیپاتوسیت) در بیماری سروز.

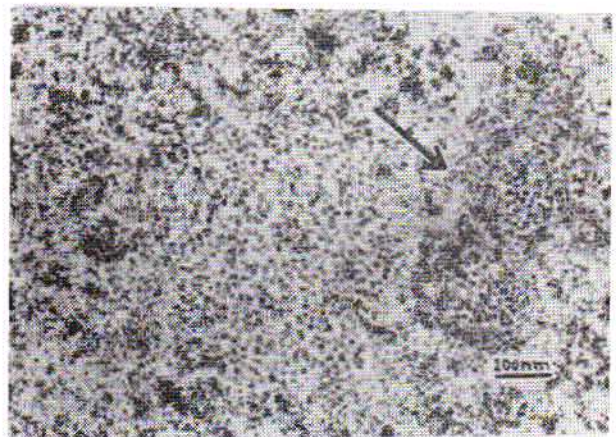
انکلوزیو نهایی فوق به انکلوزیو نهایی حاصل از فاکتور ویروسی، همانند آنچه در بیماریهای ویروسی دیگر شناخته شده است، شباهت کامل دارند. عناصر شبیه ویروس فقط در یک حالت از ۲۵ مورد

بودن این کار و در نتیجه منفی شدن برخی نمونه‌ها شگفت‌انگیز نخواهد بود. گزارش Caramia ثابت مینماید که عناصر شبیه ویروس به قطر ۱۸ میلی میکرون در هسته و سیتوپلاسم سلولهای کبدی بیماران هیپاتیتی مثبت است. مشابه چنین نتایجی را Nelson و Nowoslawski و همکاران نیز گزارش داده‌اند (۳۱-۴۵-۳۰).



شکل شماره (۱۲) از رزم قبلی از هسته سلول کبدی که عناصر ویروسی بخوبی مشخص هستند (درشت نمایی ۲۵۰۰۰).

در این جا یادآور میشود که ابعاد عناصر ذکر شده توسط Dane سایرین فرق دارد و به قطر ۴۰-۴۲ میلی میکرون میباشد ولی عناصر ویروسی Au در برش حاصل از بافت برداری کبد به قطر ۱۸-۲۰ میلی میکرون برابر با ۱۸۰-۲۰۰ انگستروم میباشد (۲۷-۳۹). گزارش Scotto متکی بر برش نسجی از بافت برداری کبد ۲۵ بیمار مبتلا به هیپاتیت ویروسی سخت که در حال اغما یا پیش از آن بوده‌اند میباشد. این دانشمند وجود انکلوزیو نهایی سیتوپلاسمیک و عناصر شبیه ویروس را متذکر میگردد (۴۶).



شکل شماره (۱۳) از باریس a - تعدادی عناصر شبیه ویروسی که بصورت خوشه به قطر ۲۰ میلی میکرون در هسته مشاهده می‌شود.

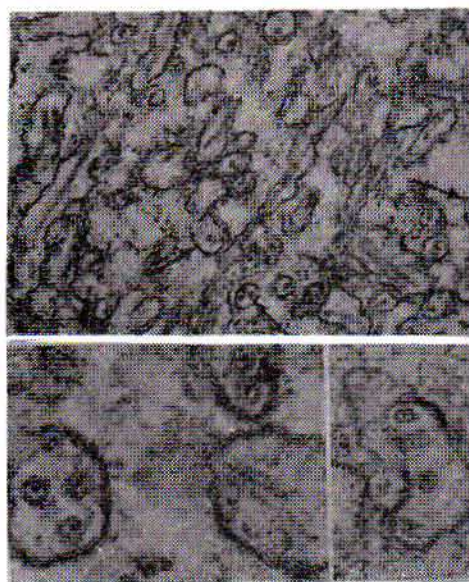
مقالات عدیده منتشر شده است. بررسی این دانشمندان تنها وجود ویروس Au را در سلولهای کبد بیماران به تحقق رسانید بلکه تأیید تشخیص بوسیله میکروسکوپ الکترونی انجام شد، بدین ترتیب از یک طرف وجود عناصر ویروسی در هسته و سیتوپلاسم سلولهای کبدی بوسیله میکروسکوپ الکترونی مشخص شد، از سوی دیگر تعقیب و تأیید این عناصر بوسیله میکروسکوپ فلورسنت میسر گردید.

محقق مذکور توانست مقدار کافی آنتی سرم ضد Au کتروگه شده با فلورسنتین را که فقط با آنتی ژن Au در باند ایمونو الکترو-فورزی واکنش مثبت نشان میدهد تهیه نموده و تحقیق خود را شروع نماید، بدین صورت قطعی است که این آنتی سرم ضد Au خالصترین آنتی سرمهای مورد استعمال است. بر طبق مشاهدات این دانشمندان 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 کتروگه با فلورسنتین رنگ شده اند، دانههای فلورسنت را در هسته سلولهای کبدی آشکار ساخته اند، بدین لحاظ تعداد ۵۳ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت و تمام بیمارانی که آنتی ژن Au در خون محیطی دارا بوده اند عناصر فلورسنت نیز در سلولهای کبدی آنان موجود بوده است. با این روش حتی مواردی که آنتی ژن 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 سراسر انول فلورسنت.

مشاهده شده و شکل خوشه‌ای این عناصر هستند که تشکیل آنکلو زیونهای خاصی را در هسته میدهند که دارای ۲۰ میلی میکرون قطر بوده ولی از نظر شکل سطحی گاهی پنج گوشه یا شش گوشه میباشد (۴۸-۴۷-۴۶). سرم چهار بیمار دارای آنتی ژن Au باروش ایمنو نو دیفوزیون و بوسیله میکروسکوپ 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 میباشد. بنابراین گزارش Stein مبتنی بر میکروسکوپ الکترونی از بافت برداری کبد پنج مرد بظاهر سالم با واکنش Au مثبت بودند، اشکال رشته‌ای و بیضی که در اطراف کمی ضخیمتر بوده اند در سیستم نای کبدی مشاهده گردیده است. عقیده دانشمندان 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 آنتی ژن Au در ناقلین میباشد. عناصر مشروطه در سیستم نای، گلیکوژن نبوده است زیرا در بافت برداری ۶۰ بیمار مبتلا به بیماریهای مختلف کبدی دیده نشده است (۴۹).



شکل شماره (۱۵) از اسرائیل - بالا: قسمتی از همپانوسیت که سیستم نای رتیکولوم اندوپلاسمیک آن حاوی عناصر ویروسی است (درشت نمایی ۶۸۰۰۰) پایین - قسمتی از سیستم نای که حاوی عناصر شبیه ویروس است (درشت نمایی قسمت چپ ۱۸۰۰۰ و قسمت راست ۲۷۹۰۰۰)

ضمناً بافت برداری نمونه‌های کبدی از شش خون دهنده بظاهر سالم از لحاظ بالینی ولی مثبت از نظر ویروس Au، منطقه وسیع غیر طبیعی از حداقل التهاب تاسیروزیس از نکروز پشیرس را نشان داده است (۱۹).

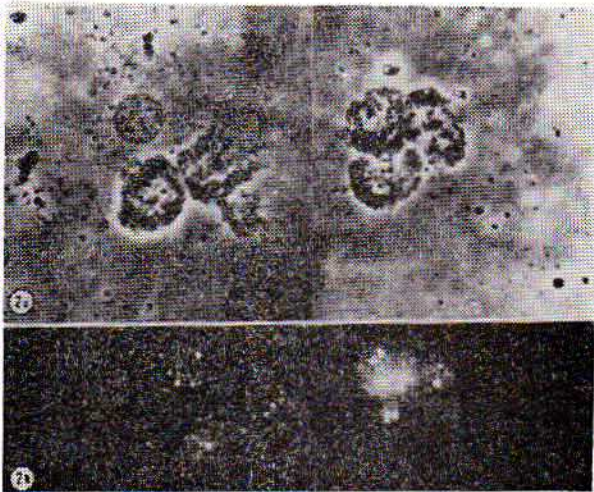
مطالعه ویروس Au توسط میکروسکوپ فلورسنت

Millman مطالعه وسیعی را در مورد ویروس Au به روش آنتی کرفلورسنت شروع نمود که بهره‌های درخشان آن طی

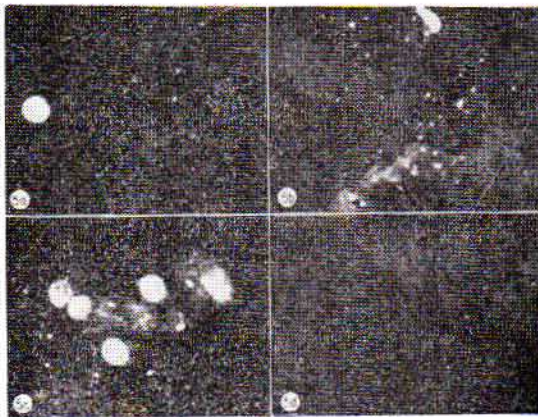
جدول ۱- مقایسه وجود آنتی ژن Au در سرم و گرانول فلوئورسنت در داخل هسته سلول کبدی در بیماران مبتلا به هپاتیت ویرال

مشخصات	تعداد	Au+	Au-	گرانول فلوئورسنت
بیماران مبتلا به هپاتیت *	۴	۴	-	۴
بیماران بدون هپاتیت ولی دارای کبد طبیعی	۵	-	۵	-

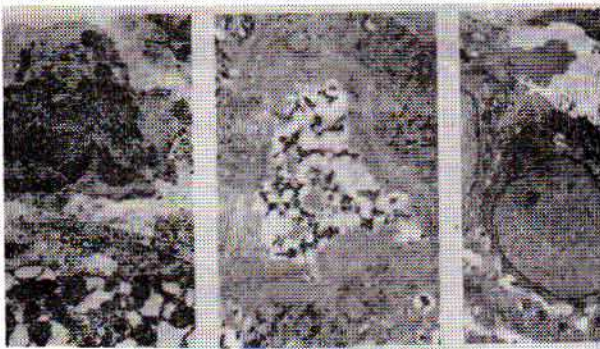
* از ۴ بیمار: ۲ بیمار هپاتیت عفونی، ۱ بیمار هپاتیت بعد از انتقال خون، ۱ بیمار هپاتیت مزمن بدون یرقان.



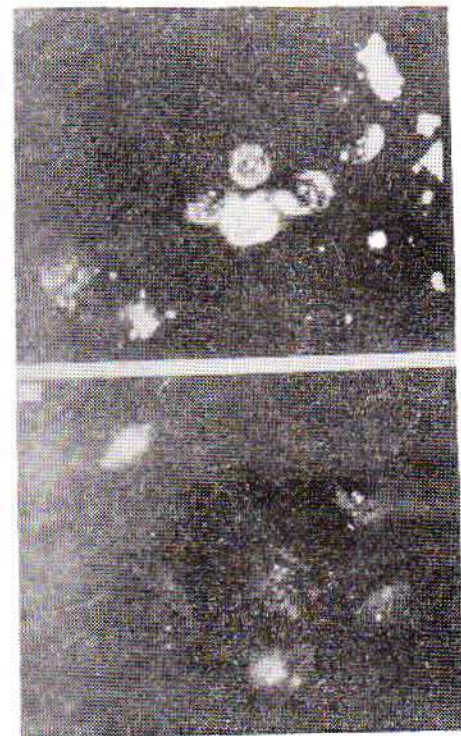
شکل شماره (۱۸) a و b: عناصر داخل هسته ای فلوئورسنت در بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن بدون یرقان.



شکل شماره (۱۹) - گرانول های فلوئورسنت در بیمار مبتلا به سندرم دان، هپاتیت مزمن بدون یرقان و لوسمی میلو بلاستیک.



شکل شماره (۲۰) - شکل چپ: مونتوکلوز انفکویز. یک مونوسیت بزرگ در فضای سینوس دیده میشود. رتیکولوم آندوپلاسمیک گشاد شده است. شکل وسط: گشاد شدن کانالیکول ها در هپاتیت سیتومگالو ویروس. شکل راست: مجرای صفراوی را در هپاتیت سیتومگالو ویروس نشان میدهد. نتیجه - در هر سه هیچگونه عناصر ویروسی یا انکلوزیونهای ویرال مشاهده نمیکرد.



شکل شماره (۱۷) - پالین - گرانول های فلوئورسنت در داخل هسته سلولهای کبدی بیمار مبتلا به هپاتیت عفونی. بالا - همان گرانول در هپاتیت بعد از انتقال خون

Scotto و همکارانش بوسیله میکروسکوپ الکترونی و بافت برداری از کبد ۲۵ بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی را که مورد مطالعه قرار دادند وجود انکلوزیونهای ویروسی سیتوپلاسمیک را یادآور شدند و به جهت بررسی مقایسه ای با روش ایمونوفلوئورسنت غیر مستقیم با سرم آنتی Au، ۱۲ نمونه از ۲۵ حالت مورد دقت قرار گرفته است. با این آزمایش عناصر فلوئورسنت را در ۶ حالت از ۱۲ مورد پیدا نموده و اظهار میدارند که ندرتاً عناصر وراء هسته ای بوده و غالباً داخل سیتوپلاسمیک میباشند و بر طبق بررسیها شواهد ثابت میکنند که عناصر مذکور دارای خاصیت آنتی ژن ویروس Au میباشند (۴۶).

بحث و تفسیر

سرم بیماران مبتلا به هپاتیت ویروسی حاد که توسط میکروسکوپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفته است سه نوع ویروس را مشخص میسازد :

- نوع اول شامل اشکال درشت ویروس به قطر ۴۲ تا ۴۵ میلی میکرون.
- نوع دوم شامل عناصر ویروسی کوچک به قطر ۱۸ تا ۲۱ میلی میکرون.
- شکل سوم اشکال لوله ای است که برخی آنرا 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 می گوید اشکال درشت نیز عناصر ویروسی هستند، در صورتیکه Almeida اعتقاد دارد که آنچه Dane می گوید عناصر درشتی هستند که در مرکزشان ساختمان کروی به قطر ۲۷ میلی میکرون وجود دارد که میتواند عامل هپاتیت ویروسی باشد (۳۹-۳۶-۲۹-۲۷).

ضمناً نظیر چنین اشکال ویروسی را در سرم خون دهندگان بظاهر سالم و هپاتیت مزمن و سندرم دان و لوسمی که از نظر Au مثبت بوده اند مطالعه کرده و دیده اند که اشکال لوله ای در هپاتیت مزمن وجود دارد. ولی باید یادآور شد که تحقیق وجود ویروس در هسته و سیتوپلاسم سلولهای کبدی توسط میکروسکوپ الکترونی و تأیید آنها توسط میکروسکوپ فلورسنت، دیگر ابهام تئوری ویروسی را برطرف نموده و متفق القول اندازه این ویروس بطور متوسط

۲۰ میلی میکرون تعیین شده است و نیز ثابت شده که این ویروسها دارای خاصیت آنتی ژنی Au میباشند (۴۹-۴۶-۴۵-۳۸-۳۷-۳۶-۲۰). ضمناً گزارش Scotto مبنی بر وجود انکلوژیونهای ویروسی در سیتوپلاسم سلولهای کبدی و نیز عناصر ویروسی به قطر ۲۰ میلی میکرون که پنج گوشه یا شش گوشه هستند بسیار جالب توجه است ، بخصوص که این انکلوژیونها با اجسام Mallory در سروز و اجسام دیگر (بعلت سیتومگالوویروس) و یا آنچه در مونیونوکلئوز شرح داده شده است از کلیه جهات اختلاف دارند (۵۳-۴۷-۴۶).

اختلاف اندازه و ساختمان ویروس Au در نزد مبتلایان ، شاید به چند شکلی بودن مراحل تکثیر ویروس و نیز دفاع بدن و مراحل مختلف بیماری در هنگام مطالعه بستگی داشته است ، زیرا آنچه را که زیر نام Inclusion Body مشاهده میشود چیزی جز اجتماع ویروسها نیست که در داخل آنها وجود Virion به اثبات رسیده و خود شکلی از ساختمان ویروسی است که باغشاء پروتئینی پوشیده شده است . در حالیکه اشکال لوله ای گزارش شده توسط زوکرمن و آلمیدا (در بیماران هپاتیت مزمن بیشتر دیده میشود) شاید بعلت ایجاد مجموعه آنتی ژن و آنتی کور موجود در جریان خون باشد که به این شکل درآمده اند. این اشکال ممکن است اجتماع ویروسی نبوده بلکه اجتماعی از آن قسمت ویروس که دارای خاصیت آنتی ژنی است باشند که تحت اثر آنتی کور مربوطه بصورت مجموعه ای درآمده و ساختمان کشیده و طولی را بوجود آورده اند.

REFERENCES :

- Allison, AC., Blumberg, BS. An isoprecipitation reaction distinguishing human serum protein. *Lancet* 1: 634, 1961.
- Alter, HJ., Holland, PV., Schmidt, PJ. Hepatitis-associated antigen. *Lancet* 2: 142, 1970.
- Blumberg, BS., Harvey, JA. and Visnichs: A new antigen in leukemia sera. *J.A.M.A*, 191:541, 1965.
- Blumberg, BS., Sutnick, AI, London. WT: Australia antigen as a hepatitis virus. *Amer. J. Med.* 4: 1, 1970.
- Blumberg. BS., Gerstley. BJS, London, WT. Millman, I et al: Hepatitis virus and Australia antigen. *J. Clin. Invest* 48:9a, 1969.
- 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.
- Sohier, R. *Diagnostique des maladies a virus*. Paris, Flammarion Co., 1964.
- Tabarestani, M : Australia antigen in viral hepatitis blood donors in Iran. Thesis, School of Medicine. Tehran University, 1971.
- 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.
- 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.
- Bonacker, L. Virus hepatitis und Australia antigen. *Du gelben Hefte, Imm. Inform. Der Bohringwerke AG.* Dec, 20: 1033. 1960.
- 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 biliary 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 rabbits. *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 particulieres 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.