مجله دانشکده پزشکی ـ دانشگاه ملی ایران
سال هفتم ـ شماره سوم ـ صفحه ۲۲۰ ـ ۲۰۹

Medical Journal
National University of Iran
Vol. 7 No. 3 P. 209 – 220

پژوهش در کنترل آینده هپاتیت ویروسی B و مطالعه Anti - HBC به عنوان حساس‌ترین آزمایش برای ناقلین ویروس B در ایران

دکترمجتبی طبرستانی ✿ دکتر ج ـ هوف ناگل ✿✿ دکترمنوچهر صائب ✿✿✿

مطالعه وتحقیق پیرامون شناخت عامل هپاتیت ویروسی بخصوص نوع B ثابت نمودکه درساختمان ویروس هپاتیت نوع B دونوع پادگن قابل تشخیص است . یکی آنتی‌ژن مربوط به قسمت خارجی ویروس که بنام آنتی‌ژن سطح ویروس B یا HBsAg Hepatitis B Surface antigen of HBsAg (Australia antigen) .
(که بنام آنتی‌ژن استرالیانیزنامیده میشود) ودیگری بنام آنتی ژن مرکزی یا قسمت مغزی ویروس B یا HBcAg Hepatitis B Core antigen of HBcAg نامگذاری گردید . کشف این دونوع آنتی‌ژن درساختمان ویروس B فصل تازه‌ای درباره کنترل وتشخیص هپاتیت ویروسی B گشود .آنچه مسلم است تاکنون آزمایش دقیق وصددرصد قطعی برای جداساختن ناقلین ویروس B شناخته نشده است ، زیرا باوجود آزمایش خون دهندگان ازنظر آنتی‌ژن استرالیا وحذف خون دهندگان مثبت دربانک خون امریکا ، مع‌الوصف هپاتیت نوع B بعداز انتقال خون بخوبی مشاهده میگردد . از سال ۱۹۷۲ تا ۱۹۷۴ امریکا بطوروزمره تمام خون دهندگان را از نظر HBsAg به روش CEP ومشابه آن آزمایش و در نتیجه هپاتیت رابطورقابل ملاحظه‌ای ، درحدود ۲۵٪ کاهش داده است . بعد ها روش کار دقیق تر وبسیار حساس از قبیل ایمنوگلوبیاسیون پاسیووراردیو ـ ایمونواسی (RIA) ، که تقریبا " ۵۰ تا ۱۰۰۰ برابر حساس‌تراست کشف ومورداستفاده قرار گرفت . با وجود حساس ترین آزمایش که امروزه RIA و PHA مباشدومورد تائید NIH امریکا است معهذا درنتیجه تزریق خونهای HBsAg منفی بازهم هپاتیت ویروسی نوع B نزدگیرندگان خون مشاهده گردید . بدین جهت مسلم شدکه باوجودافزایش حساسیت آزمایشات ، سدبزرگی درباره حذف خون دهندگان ناقل ویروس B وجودداشته کمجلوگیری ازبروزهپاتیت B براثرانتقال خون راغیر ممکن ساخته است .
درسال ۱۹۷۰ درمطالعه میکروسکوپ الکترونی توسط Dane عناصری درسرم بیماران مبتلا به هپاتیت ، که از نظر آنتی‌ژن استرالیا مثبت بودند ، مشاهده شد که دوقسمت متمایز در ساختمان این عناصر مشخص گردید .و عبارت بود از HBsAg و HBcAg که بعدها این عناصر بنام عناصر ویروسی Dane نامگذاری گردید .اما طولی نکشیدکه درسال ۱۹۷۳ Hoofnagle و همکاران وجود آنتی‌کر ضد آنتی‌ژن core (anti-HBc) را درانسان گزارش نمودند . بنابراین در نتیجه مطالعات دانشمندان یادشده دوسیستم آنتی‌ژن وآنتی کری درساختمان ویروس B مشخص شدکه یکی آنتی‌ژن سطح ویروس B (HBsAg) وآنتی‌کرآن anti-HBs و دیگری آنتی‌ژن مرکزی ویروس B یا (HBcAg) وآنتی‌کرآن anti-HBc نام گرفت . این دوپادگن از نظر قدرت آنتی‌ژنی بایکدیگر متفاوت و هرکدام مستقلا " واجد شخصیت آنتی‌ژنی مربوط به خود هستند (۸ـ ۶ـ ۴ـ ۳ـ ۲ـ ۱) . مطالعه دیگری که بنوبه خودواجداهمیت بسیار است تحقیق پیرامون DNA پلی‌مرازدر ساختمان ویروس B میباشدکه به جهت قابل‌فهم بودن مطالب ، بحث جداگانه ای پیرامون ساختمان ویروس هپاتیت B ، DNA پلی‌مراز و سیرایمونولوژی آنتی‌کر ضد آنتی‌ژن core (anti-HBc) و سایر سیستم‌های آنتی‌ژن ـ آنتی‌کری از نظر خوانندگان میگذرد .

* استادیارگروه آسیب شناسی وعلوم آزمایشگاهی دانشکده پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد .
** انستیتوبهداشت ملی آمریکاوسرویس پزشکی بیمارستان VA واشنگتن امریکا .
*** استادیارومدیر گروه داخلی دانشکده پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد .

ساختمان و ترکیب ویروس B

درمطالعه میکروسکوپ‌الکترونی وجودسه شکل ازعناصر ویروسی باثبات رسیده که به نسبت‌های متفاوت در خون مبتلایان به هپاتیت‌ویروسی B موجود میباشد : اول عناصر شبه ویروس‌گردبقطرتقریبا" ۲۲ نانومتر ، دوم‌اشکال‌رشته‌ای بطول ۲۰۰ ــ ۴۰۰ نانومتر ، سوم عناصر ویروسی که دارای دوپوشش به قطر ۴۲ نانومتر هستند . در سال ۱۹۷۰ Dane توجه خاصی‌بدین عناصر ، که به قطر ۴۲ نانومتر است‌نموده که امروزه بنام‌عناصردان معروف‌است . عناصر مذکور دارای یک‌قسمت پوششی ویک قسمت‌مرکزی‌نوکلئوئید ویروسی‌است ، بدین ترتیب عناصر ۴۲ نانومتر راویریون کامل هپاتیت B دانسته وسایر اشکال تحت ۲۲ نانومتر راپروتئین‌های‌پوششی ویروسی‌B و یا بعبارت دیگر کپسید ویروس میدانند (شکل شماره ۱) . بنابراین درساختمان ویروس B دوقسمت‌متمایز

شکل شماره (۱) : ویریون‌کامل‌هپاتیت B که دارای‌دوقسمت است :

۱ ــ پوشش خارجی یا HBsAg

۲ ــ پوشش داخلی یا HBcAg

این ساختمان کامل به قطر ۴۰ میلی‌میکرون بوده کــه بنام عناصر" دان "معروف‌است .

مشاهده میگردد که شامل Coat یا ترکیب سطح ویروس که بنام آنتی‌ژن سطح ویروس یا (HBsg)و قسمت یا آنتی‌ژن مرکزی ویروس یا (HBcAg) میباشد . عوامل‌آنتی‌ژنی‌سطح ویروس که به قطر۲۲ نانومتر ونیزاشکال رشته ای عناصر دان بیکدیگر شبیه بوده و مجموعا" آنها را بنام آنتی‌ژن سطح ویروس هپاتیت B یا آنتی‌ژن استرالیا مینامند (۴۰ــ ۳۹ــ ۳۸ــ ۱۸ــ ۱۷ــ ۸ ــ ۶ــ ۵ ــ ۴ ــ ۳ ــ ۲ ــ ۱)

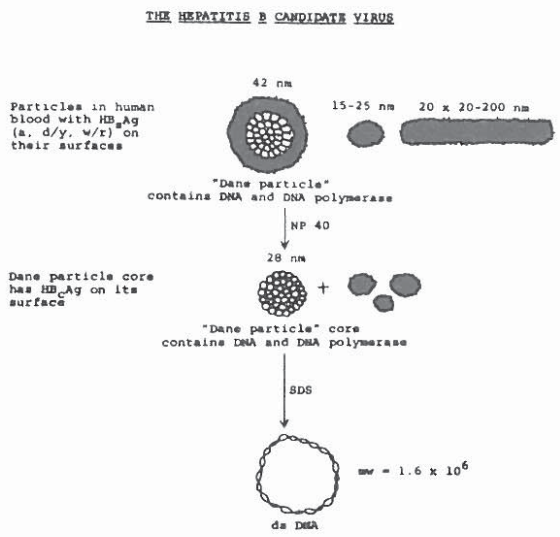
قسمت مرکزی ویروس که به قطر ۲۷ میلی میکرون است از نظر آنتی‌ژنی کاملا" با آنتی‌ژن سطح ویروس B متفاوت و با آنتی‌کر مخصوص بخود آگلوتینه‌میشود (جهت اطلاعات بیشتربه مقاله نویسنده در نظام پزشکی سال پنجم شماره ۴ مراجعه شود) (۲۸) .

عوامل‌آنتی‌ژنی‌مختلفی (Subtype) در ترکیب ساختمانی HBsAg (یا آنتی‌ژن استرالیا) وجود دارد کهواجدخاصیت‌آنتی‌ژنی‌مخصوص‌بخودبوده‌وبنام دترمیتانت یا تحت گروه ویروس B میباشد .

تحت گروههای آنتی‌ژنی دارای یک عامل آنتی‌ژنی گروهی‌هستندکه درهمه مشترک وبنام a معروف است‌وتاکنون چهار تحت گروه مشخص شده بنام های r, w, y, d راگزارش کرده‌اند . بنابراین‌فنوتیپ آنتی‌ژنی‌هرفرد ayr, ayw, adr, adw خواهد بود . البته عامل دیگری بنام X را گزارش کرده‌اند که به نظر میرسد ترکیبی مشتق از میزبان باشد . مطالعات دانشمندان ثابت کرده است کــه خصوصیت‌تحت‌گروههای‌ویروس HB ژنتیکی‌است زیراتلقیح یک ویروس HBبا تحت گروه مشخص ایجاد عفونت ویروس HB مینماید که دارای همان نوع تحــت گــروه میباشــد (۸ ــ ۱۵ــ ۱۴ــ ۱۳ــ ۱۲ــ ۱۱) شکل شماره(۲)

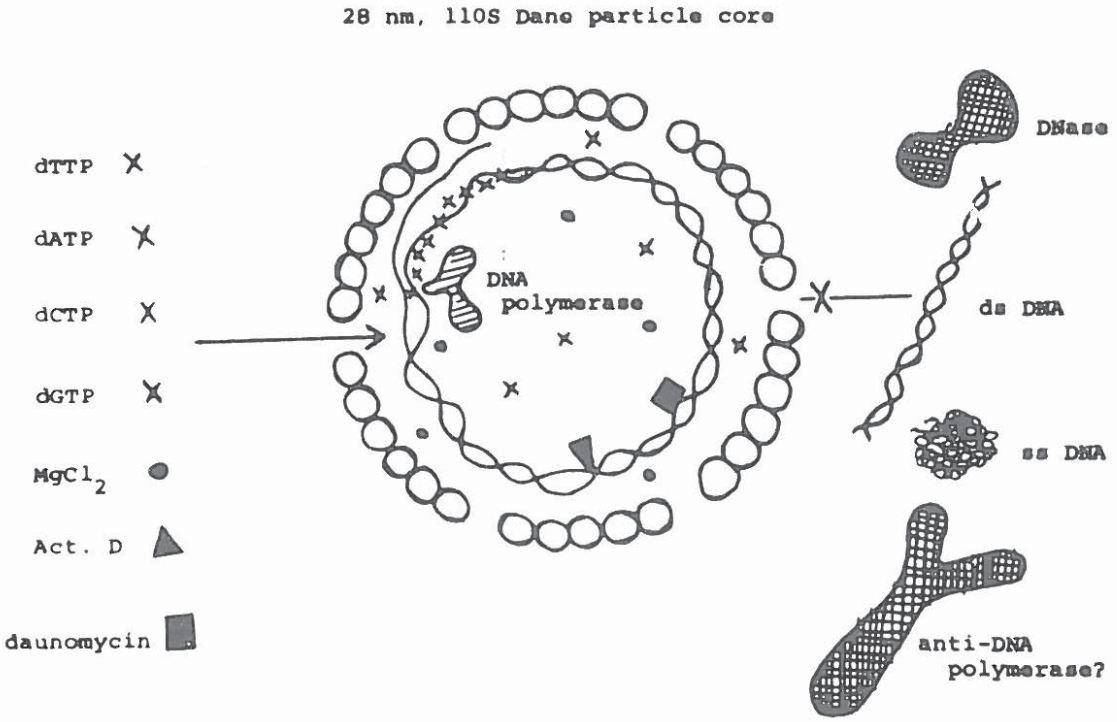
نکته جالبی که توسط کاپلان و همکاران روشن گردید فعالیت DNA پلی‌مراز مخصوص HBV است که از آنتی‌ژن ویروس هپاتیت‌مشتق ازقسمت‌مرکزی‌عناصردان (HBcAg) جداشده است . برطبق‌مطالعه محققان ، قسمت مرکزی‌عناصر دان‌راویروس‌قطعی‌هپاتیت B میدانندزیراDNA دورشته‌ای بدست آمده ، چه در Core عناصر دان و خواه درCore بدست آمده از هسته سلول‌های کبد مبتلا ، مشابه هستند .

DNA حاصل ازقسمت‌مرکزی (Core) عناصر دان‌کروی ودارای وزن‌ملکولی $۱/۶ \times ۱۰^{۶}$دالتون‌واگونین + سیتوزین ۴۹% آن راتشکیل میدهد . ازطرف دیگر هیرشمن و همکاران گزارش کرده‌اندکه Core بدست‌آمده از هسته سلولهای کبدی‌فاقدفعالیت‌پلی‌مرازی‌است و این DNA خطی ، باوزن مولکولی $۲/۳ \times ۱۰^{۶}$دالتون‌است . اخیرا "Hung وهمکاران



شکل شماره (۲) : نمای مرفولوژیک پادگن‌های هپاتیت B که در خون انسان موجود است .

بیان نمودند که DNA مشتق از عناصر دان با DNA آزاد موجود درپلاسمای HBsAg مشت تشکیل هیبرید میدهد ولی با DNA کبدی‌هیچ‌واکنشی‌نشان‌نمیدهد (شکل‌شماره۳) .



شکل شماره (۳) : این‌نمودارترکیبات گوناگون عناصر دان را ، که شامل آنتی‌ژن Core مشتق‌از عناصر دان که‌حاوی DNA پلی‌مرازو DNA دورشته ای‌میباشد ، بخوبی‌مشخص میکند .

Core مشتق از عناصر دان و یا حاصل از هسته سلولهای کبد مبتلا حاوی دوپلی‌پپتید اصلی ، به ترتیب با وزن مولکولی ۵۳۰۰۰ و ۵۹۰۰۰ دالتون‌است . چندین پلی‌پپتید کوچک را در ساختمان Core مشتق از عناصر دان ذکر کرده‌اند که در Core حاصل از کبد مبتلا موجود نیست ، بعلاوه اینطور میپندارند که یکی از پلی‌پپتیدها باوزن مولکولی بزرگتر ممکن است پروتئین DNA پلی مراز باشد (۲۷ ـ ۲۶ ـ ۱۳ ـ ۱۹ ـ ۱۶ ـ ۸ ـ ۱۰ ـ ۹ ـ ۷) .

جدول شماره (۱) پلی‌پپتیدهای موجود درآنتی‌ژن Core حاصل از :

عناصردان	هسته سلولهای‌کبد آلوده‌به ویروس
۸۵۰۰۰	
۸۰۰۰۰	
* ۵۷۰۰۰*	* ۵۹۰۰۰ *
* ۵۲۰۰۰*	* ۵۲۰۰۰ *
۴۰۰۰۰	
۳۴۰۰۰	
۲۹۰۰۰	
۲۳۰۰۰	

خواص بیوفیزیک و بیوشیمیائی HBsAg پیچیده است‌ولی عناصرخالص شده HBsAg دارای وزن مخصوص ۱/۲۱ g/cm^3 در کلرورسزیوم است . و در نگاه اول عناصرمشروحه درشکل (۱) بنظرمیرسد که متحدالشکل‌بوده و با وزن مولکولی بین $۱۰^۶ \times ۳/۷$ تا $۱۰^۶ \times ۴/۶$ دالتون است وقطرآنها بین ۱۷ ـ ۲۵ نانومتر (آنتی‌ژن استرالیا) میباشد ، که برخی‌ازمحققین‌نقطه ایزوالکتریک آنرا بین ۳/۹ تا ۵/۳ یافته اند (۲۴ ـ ۲۳ ـ ۲۲ ـ ۳) .

خواص‌بیوشیمیائی HBsAg خالص‌شده‌توسط عده‌ای از دانشمندان مطالعه و تجزیه شیمیائی آن وجود پروتئین ، کربوهیدرات‌و لیپیدرا روشن‌ساخته است . معذالک برعکس عناصر حاوی HBcAg در اجتماع عناصر ۲۲ نانومتر (HBsAg) نه اسیدنوکلئیک‌و نه فعالیت DNA پلی‌مراز یافته اند .

وزن‌ملوکولی ۷ و یا ۹ پلی‌پپتید مجزا شده از HBsAg ازتحت‌گروه adw , ayw به ترتیب درجدول شماره (۲) نشان داده شده است (۲۵ ـ ۲۴ ـ ۲۱ ـ ۱۱ ـ ۸ ـ ۱۰) .

جدول ۲ = پلی‌پپتید و گلیکوپروتئین‌های موجود در HBsAg خالص شده

پروتئین	HBsAg/adw		HBsAg/ayw
ـ ۱	۱۲۰۰۰۰		۱۲۰۰۰۰
ـ ۲	.....		۱۰۵۰۰۰
ـ ۳	.....		۶۹۰۰۰
ـ ۴	۵۵۰۰۰		۵۵۰۰۰
ـ ۵	۴۰۰۰۰		۴۰۰۰۰
ـ ۶	۳۵۰۰۰ (PAS+)	(PAS+)	۳۵۰۰۰
ـ ۷	۲۷۰۰۰ "	"	۲۷۰۰۰
ـ ۸	۲۴۰۰۰ "	"	۲۴۰۰۰
ـ ۹	۱۹۰۰۰ "	"	۱۹۰۰۰

رنگ‌آمیزی اختصاصی با PAS ثابت کرده است که حداقل سه جزء فرعی HBsAg گلیکوپروتئین هستند . بعلاوه ترکیبات‌اسیدهای‌آمینه موجود درHBsAg خالص نشان داد که از ترکیبات موجود در چندین ویروس حیوانی شناخته شده ونیز ازلیزای سلول بستانداران متفاوت است . مقادیر زیاد سیستئین‌یافت‌شده در HBsAg این حقیقت را روشن میسازدکه وجود باندهای دی‌سولفید نقش مهمی‌در نگهداری‌ساختمان‌آنتی‌ژنی عناصراراست . علاوه برپروتئین و کربوهیدرات‌سه لیپید دارای بارالکتریکی شامل فسفاتیدیل‌کولین اسفنگومیلین و لیزوفسفاتیدیل‌کولین و نیز لیپید بدون بار الکتریکی مانند کلسترول در ترکیب ثابت HBsAg دخالت دارند (۲۵ ـ ۲۴ ـ ۲۳ ـ ۲۲ ـ ۸ ـ ۱۰) "جدول شماره ۳ "

جدول ۳ = ترکیب لیپید موجود درآنتی‌ژن سطح B ویروس (HBsAg)B

لیپید	نسبت درصدفسفرلیپیدها
دارای‌بارالکتریکی = فسفاتیدیل‌کولین	۶۵
اسفنگومیلین	۳۰
لیزوفسفاتیدیل‌کولین	۵
گلیکواسفنگولیپید *	....
بدون‌بار الکتریکی = کلسترول	....

* آزمایش مقدماتی آنتی‌ژنی بروس رادیو ایمونواسی نشان‌میدهدکه این‌ترکیب‌هاپنن‌مخصوص HBsAg است .

رویدادهای سرولوژی در عفونت هپاتیت ویروسی B

رویدادهای سرولوژی در افراد مبتلا به HBV اخیرا" بخوبی شناخته شده است . همانطوریکه بیان شد حداقل دو سیستم آنتی‌ژن ــ آنتی‌کر مشخص با ویروس‌هپاتیت B (HBV) همراه است ، اینها عبارتند از HBsAg که آنتی‌کر مربوط به آن anti-HBs میباشد، HBcAg که آنتی‌کر مربوط به آن anti-HBc میباشد .ضمنا" سیستم آنتی‌ژنی e و anti-e نیز توسط Magnius و همکاران گزارش شده که اهمیت آن هنوز بدرستی روشن نیست ، ولی مطالعات اخیر ثابت مینماید که آنتی ژن e به ویریون وخاصیت‌بیماری‌زائی آن ارتباط دارد . علاوه براین سیستم‌هافعالیت DNA پلی‌مرازدرسرم مبتلایان به عفونت HBV را باید نام برد .حداقل چهارجواب سرولوژیک در بیمارانی که با HBV تماس گرفته‌اند رخ میدهد که توسط Hoofnagle و همکاران بخوبی مشخص شده است .

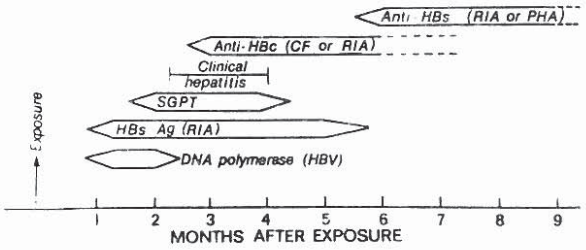
درحالت معمولی هپاتیت حادویروسی HBsAg ۱۸تا۸۴ روز (حد متوسط ۱۷ ± ۴۹ روز) بعد از تلقیح یا دو تا ۸ هفته قبل ازنشانگان کلینیکی و اعمال غیرطبیعی کبد قابل تشخیص است .

پایداری‌آنتی‌ژن HBS درسرم‌بمدت ۱۴ تا ۱۴۸روز (حدمتوسط ۴۰ ± ۸۰ روز) است . در این دوره از تکثیر ویروس ، DNA پلی‌مراز یا HBcAg گاهگاهی قابل تشخیص است .

فعالیت DVA پلی‌مرازناپایدار و مدت کوتاهی بعداز ظهور HBsAg درسرم‌بیماران‌مبتلا به هپاتیت B وقبل‌از افزایش قابل توجه آنزیم‌های کبدی قابل تشخیص است . DNA پلی‌مراز روزها و یا هفته ها در حالت حاد و ماهها و یاسالهادرناقلین مزمن‌پایدارباقی میماند ،البته هیچگونه ارتباطی فیمابین حداکثرتیتر HBsAg و DNA پلی مراز موجود نیست .

anti-HBc ظهورش بمدت کوتاه و یا همزمان باعلائم‌کلینیکی و۶۰ تا ۱۵۰روز بعداز تماس (حد متوسط ۲۶ ± ۹۸ روز)با ویروس است‌یا ۳۱ تا ۸۷ روز بعدازظهور HBsAg (۱۵ ± ۵۰ روز)میباشد . دوام anti-HBc باتیترنسبتا" بالا بمدت‌یک تا سه سال ، به بهترین‌وجهی با آندسته بیمارانی‌که HBsAg درخونشان‌بیش از سه‌ماه جریان دارد ارتباط پیدا مینماید شکل شماره (۴) .

دردوره نقاهت‌مقدار HBsAg بتدریج کاهش‌یافته و سپس غیرقابل‌تشخیص میشود . anti-HBs ۱۰روز بعد به صفر میرسد . در مراحل حاد هپاتیت B مقدار کمی anti-HBs ایجادمی‌کندولی‌بعلت‌تولید ایمن‌کمپلکس



شکل شماره (۴) : رویدادهای‌سرولوژی‌وکلینیکی بعدازتماس با ویروس B یا HBV .

بخاطروجودبیش ازاندازه HBsAg قابل‌تشخیص‌نمیباشد .

زمانی که HBsAg ناپدید میشود حواب ایمن anti-HBs تظاهرمینمایدواین موضوع در سرم‌بیماران مبتلا به هپاتیت حاد و مزمن بخوبی‌مشاهده میگردد .

دربرخی مواقع ، مانندوره محدودی از زمان‌نقاهت است‌که فقط anti-HBc درسرم بیماران قابل‌تشخیص است ، اینطور تصور مینمایند که چنین سرمی (سرمهائی‌که با تیتر زیاد anti-HBc و در غیاب anti HBS,HBAg تظاهرمینمایند)حاوی مقدارکمی HBV میباشد ، و مقدار HBsAg باحساس‌ترین آزمایش‌های‌موجودمشخص نمیگردد . معذالک چنین سرمی ممکن است شایستگی ایجاد عفونت هپاتیت B راداراباشد . شاهد این موضوع بیمارانی هستند که بعدازانتقال خون HBsAg منفی به هپاتیت B مبتلا میگردند .

بیمارانی که‌آنتی ژن مزمن HBsAg درآنهاتولید میشود جریان سرولوژی ــ همانند آنچه اشاره شد ــ میباشد، باستثنای آنهائیکه HBsAg برای مدت بیشتر از ۶ ماه دوام میابد . لذا anti-HBs قابل تشخیص نبوده و anti-HBc باتیتر زیادتولیدو دوام‌خواهد یافت .

در افرادی که عفونت هپاتیت B بدون تظاهر (بظاهر سالم) بالینی ــ بدون شواهد بیوشیمی یا هیستولوژی دال بر ضایعه کبدی ــ دارند غالبا" ۲۲ تا ۷۵ روز پس از تماس با HBV جواب‌ایمنی anti-HBs بدون‌تولیدHBsAg ایجادمیگردد . anti-HBc بطورناپایدار معمولا"بعداز تولید anti-HBs ایجاد میشود و این تظاهر بعنوان

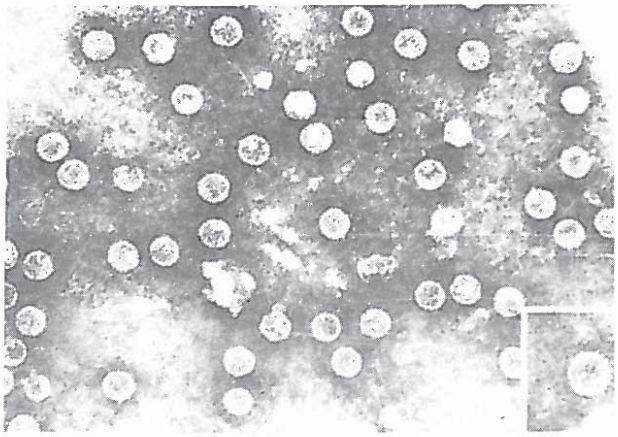
شاهدتکثیر ویریون ذکرشده است . دلیل واضح بر این‌موضوع عدم جواب ایمنی anti-HBc است که نزد بیماران تلقیح شده با واکسن کشته شده مشاهده میشود .

نمونه چهارم ، جواب‌آنتی‌کری ثانویه است که معمولا" در فردایمن مشاهده میشود . در این مرحله نشانه سرولوژی تکثیر ویروس موجودنمیباشد (مثلا "HBsAg قابل‌تشخیص نیست ، anti-HBc موجودنبوده ویا اگر هست غیرقابل تغییر میماند) در عوض جواب آنامنستیک anti-HBs در دوره کوتاهی (کمتر از دو هفته) رخ میدهد .

آنتی‌ژن eفقط درافرادی‌که دارای HBsAg درجریان خون هستند مجزا گشته و با فعالیت DNA پلی‌مراز و وجود عناصردان ارتباط دارد . anti-e فقط در بیمارانی‌که سرمشان حاوی HBsAg بوده و نیز در سرم‌حاوی anti-HBs ممکن است جدا گردد . مهمتر آنکه درسرم حاوی anti-e سایر پارامترهای مربوط به عفونت‌زائی‌ویروس مشاهده نمیگردد . بیماران مبتلا به هپاتیت حاد و مزمن آنتی‌ژنe داشته در صورتیکه ناقلین بظاهر سالم ، اکثر قریب باتفاق anti-e دارند . از نظر اپیدمیولوژی شواهدی است که خون ناقلین HBsAg مثبت که حاوی anti-e است‌بسیارکمترمسری‌است تا خونی که HBsAg مثبت بوده و حاوی آنتی‌ژن e میباشد . محافظت در قبال رانفکسیون با HBV بنظر میرسد با فراکسیون anti-HBs بستگی داشته تا Lander et al. anti-HBc نشان داده‌اند بیمارانی که anti-HBs درآنها تولید شد وقتی دوباره در معرض HBV قرار گرفتند ابتلا در آنها مشاهده نشده است ، ولی دربرابر عوامل هپاتیت غیر ازنوع B محافظت‌نشدند . در مطالعه ای که درباره هپاتیت بعداز انتقال‌خون توسط Melnick وهمکاران انجام شدنشان دادند که از ۱۳۲ گیرنده خون ، که سرم‌شان حاوی anti-HBs از پیش بوده است ، در هیچکدام هپاتیت Bبدون یرقان و با یرقان تولید نشده است . ولی برعکس در ۱۶نفر از ۳۷۱ گیرنده خون ، که در سرم آنان anti-HBs از پیش وجود نداشت هپاتیت کلینیکی B تولید گردید . وجود anti-HBc به مقاومت در برابر عفونت محدد ارتباط ندارد . در حال حاضرحساس‌ترین روش‌ها برای حدا ساختن anti-HBc, HBcAg, HBsAg و anti-HBs رادیوایمونواسی است اما CF بـرای anti-HBc و PHA برای anti-HBs بسیارمورد استفاده قرار میگیرد .

جوابهای سرولوژی مشروحه و مطالعاتی کـه توسـط Krugman انجام گرفته است دلالت‌مینمایدکه ظهور DNA پلی‌مراز ، anti-HBc ,HBsAg,HBcAg بطور واضح با تکثیرHBV همراه است . نقش‌آنتی‌ژن e و anti-e درعفونت‌زائی‌بدرستی‌روشن نبوده واحتیاج به مطالعات‌بیشتری‌دارد .

(۱ – ۲ – ۳ – ۴ – ۵ – ۷ – ۸ – ۹ – ۱۰ – ۱۶ – ۱۹)
(۳۳ – ۳۴ – ۳۵ – ۳۶ – ۴۱)



شکل شماره (۵) : قسمت‌مرکزی‌عناصردان که نوکلئوکپسیدی به قطر ۲۷ میلی‌میکرون یا نانومتر و یا (HBcAg) میباشد .

مواد و روش‌ها

نمونه های سرمی : تعداد ۶۰ نمونه سرمی از بیماران مبتلا به هپاتیت‌ویروسی ، خون‌دهندگان‌حرفه ای ،حذامیها و بیماران متفرقه انتخاب گردیده که جهت آزمایشات anti-HBc, HBsAg وSubtype به انستیتوی بهداشت امریکافرستاده شد . از ۶۰ نمونه سرمی ۴۲نمونه آن‌ازبیماران مبتلا به هپاتیت‌ویروسی ، ۱۱نمونه ازخون‌دهندگان‌حرفه‌ای ، دونمونه ازبیماران جذامی وپنج‌نمونه ازبیماران متفرقه بطور انتخابی جمع‌آوری گردید .

روشهای بکار رفته برای آزمایش نمونه هائی که توسط ما مورد مطالعه قرار گرفته بشرح زیر میباشد :

مطالعه HBsAg درتمام‌چهار گروه یادشده بروش (RIA) انجام گردید و anti-HBc بروش Counterimmunoelectrophoresis و Subtype بروش ایمونودیفوزیون عمل‌گردید .

نتـایـج

تعداد ۶۰ نمونه سرم گوناگون که برای HBcAg, anti-HBc Subtype مورد آزمایش قرار گرفت نتایج بدست آمده بشرح زیر میباشد :

از ۴۲نمونه مربوط به بیماران‌مبتلابه هپاتیت‌ویروسی ، ۳۳ نمونه ازنظر HBsAg مثبت‌بود که تمام آنها ازلحاظ anti-HBc مثبت بوده‌اند ، از ۱۱ نمونه مربوط به خون‌دهندگان ۸ نمونه HBsAg مثبت و ۹ نمونه anti-HBc مثبت‌بودند . از دو نمونه جذامی‌هردو هم از نظر HBsAg و هم‌از لحاظ anti-HBc مثبت‌بودند . از ۵ نمونه متفرقه دونمونه HBsAg مثبت که هردونمونه ازنظر anti-HBc مثبت هستند .

تمام‌نمونه های HBsAg مثبت بدست آمده‌از گروههای مختلف ، که از نظر Subtype مورد آزمایش قرار گرفته‌اند همه ayw میباشند . خلاصه آزمایشات در **جدول شماره (۴)** نشان داده شده است .

جدول شماره (۴) : مطالعه anti-HBc و Subtype در ایران

گروه مورد مطالعه	تعداد	$HBsAg^+$	$anti\text{-}HBc^+$	Subtype
هپاتیت ویروسی	۴۲	۳۳	۳۳	ayw
خون‌دهندگان	۱۱	۸	۹	ayw
جذامی	۲	۲	۲	ayw
متفرقه	۵	۲	۲	ayw
جمع کل	۶۰	۴۵	۴۶	ayw

بحث

مطالعه بی‌گیر دانشمندان و توجه خاص دکتر دان در ساختمان عناصر ویروسی موجود در سرم بیماران مبتلا به هپاتیت ویروسی نوع B منجر به کشف دو سیستم آنتی‌ژن ـ آنتی‌کر گردید ، که در نتیجه دانش ما در ساختمان حقیقی ویروس B فزونی‌یافت‌وچنانچه میدانیم عناصر ویروسی مذکور بافتخارخود او بنام‌عناصر Dane معروف‌شده است .هرچند که دانشمندان دیگری نظیر Hoofnagle , Barker Almeida نیزدرشناخت‌ساختمان ویروس‌عامل‌هپاتیت B نقش‌اساسی را ایفاء نمودند .

بسال ۱۹۷۳ بود که Hoofnagle آنتی‌کر ضد core (anti-HBc) را درسرم بیماران مبتلا به‌هپاتیت‌ویروسی نشان‌داد .لذامسیرتحقیق‌متوجه‌پیرامون‌دوسیستم‌آنتی‌ژن ـ آنتی‌کر ، که هرکدام واحد شخصیت مربوط بخود هستند ، گردید . بدین‌ترتیب‌دوسیستم‌آنتی‌ژن ـ آنتی‌کر در HBV مشخص‌شدکه بنامهای HBsAg (آنتی‌کرمربوط‌آن anti-HBs) و HBcAg (آنتی‌کرمربوط به‌آن anti-HBc نام گرفتند (۱ـ۲ـ۳ـ۴ـ۵ـ۶ـ۸ـ۱۷ـ۱۸ـ۳۸ـ۳۹ـ۴۰)

در سال ۱۹۷۳ کاپلان مطالعه جالبی پیرامون DNA پلی‌مراز دربیماران مبتلا به هپاتیت B نمود که ارتباط آنرا گزارش کرد . ولی در سال ۱۹۷۴ Hoofnagle و همکاران Krugman مطالعه جالب خودشان را در باره ساختمان ویروس B و اهمیت anti-HBc در ناقلین و نیز سیر سرولوژی DNA پلی‌مراز ، anti-HBc و HBsAg درعفونت‌هپاتیت B را گزارش نمودند که‌درنتیجه دانش اپیدمیولوژی ویروس B بخوبی روشن گردید (۵ـ۷ـ۹ـ۱۰ـ۱۶) .

بحث‌پیرامون‌ساختمان ویروس‌B و سیرسرولوژی هریک از آنتی‌ژن ـ آنتی‌کر قبلا" بخوبی بیان گردید ، که ادامه آن درآنجا ضروری بنظرنمیرسد . بنابراین‌آنچه از مباحث مطالعات دقیق محققان بر اساس میکروسکوپ‌الکترونی و ایمونولوژی میتوان نتیجه گرفت آن است که عناصر Dane به قطر ۴۲ نانومتر (یا میلی‌میکرون) ویریون کامل‌هپاتیت B است و این شکل شکل‌بیماریزای ویروس B میباشد .امادر مرکزعناصر دان نوکلئوکپسیدی به قطر۲۷نانومتر وجوددارد که شامل DNA و DNA پلی‌مرازمیباشد و بدین جهت‌است که HBV بطور یقین از دسته ویروسهای DNA خواهد بود (۳ـ۷ـ۸ـ۱۸ـ۲۱ـ۲۸) .

اهمیت anti-HBc و DNA پلی‌مراز ، بر اثر مطالعه دامنه دار Hoofnagle و Kaplane Krugman و همکاران بخوبی روشن گردید و ثابت شد که نه تنها anti-HBc در ناقلین ویروس صد درصد مثبت‌است و آزمایش بسیار حساسی برای ناقلین این‌ویروس خواهدبودبلکه یافته‌های anti-HBc و DNA پلی‌مراز مخصوص B سبب تشخیص افتراقی خوبی مابین هپاتیت B از سایر هپاتیت‌ها میباشد (۴ـ۵ـ۷ـ۱۰ـ۲۹) .

درمطالعه ما که برروی ۶۰نمونه سرمی انجام پذیرفت ثابت‌شده است که تمام نمونه های HBsAg مثبت ازنظر anti-HBc نیز مثبت بوده‌اند (۱۰۰ درصد) . و این خود ضمن تائید یافته Hoofnagle و همکاران ثابت‌مینمایدکه آزمایش anti-HBc حساس‌ترین‌آزمایش برای بیمارانی که واجد HBsAg و یا ناقلینی که ویروس در بدن آنان وجود دارد ـ میباشد . زیرا anti-HBc ارتباط واضحی با تکثیر ویروسB در بدن دارد . چنانچه ویروس درکبدجایگزین شده باشدبراثر تکثیر خود HBcAg و HBsAg و anti-HBc در مراحل مختلف سرولوژی به خون رامیافته وبعلاوه DNA پلی‌مرازنیز در سرم‌بیماران افزایش‌خواهدیافت .اما اگرویروس بدن را ترک‌نماید ،بدون تردیددرخون‌چنین‌بیمارانی HBsAg و anti-HBc مشاهده نمیگردد . این مطلب در مطالعه ما کاملا "مشهود است ، زیرا در ۳۳ بیمار مبتلا به هپاتیت ویروسی که HBsAg در سرمشان موجود است تمام آنها از نظر anti-HBc مثبت‌بودندولی از۱۱خون‌دهنده ۸ بیمار HBsAg مثبت‌اما۹ بیمار از نظر anti-HBc مثبت بودند . و این دلیل بارزی بر حساسیت anti-HBc درناقلین ویروس و ارتباط تکثیر ویروسB با anti-HBc در ناقلین HBV است .

در اینجا دو پدیده مهم ممکن است در بیماروناقلین بوجودآید . اگربیمار پس ازدوره نقاهت از ویروس پاک‌شود و در کبد جایگزین نشود بدون شک آزمایش anti-HBc منفی خواهد بود ، اما اگر آنتی‌ژنمی HBsAg بیش‌از شش ماه طول بکشدبدون تردیداین بیمار جزو دسته ناقلین درآمده و anti-HBc برای سالها دوام خواهدیافت . این موضوع‌در گروه خون‌دهندگان‌حرفه ای ناقل ، جذامیان و بیماران‌متفرقه ناقل ، که تحت‌مطالعه قرار گرفتند بخوبی ثابت‌شده است . نظیرچنین‌شواهدی در۳۶۳ خون‌دهندگان ناقل HBsAg توسط Hoofnagle (۵)وهمکاران باثبات رسیده و ثابت شده است که ۱۰۰ درصد ناقلین HBsAg از نظر anti-HBc مثبت هستند . در مطالعات Hoofnagle (۴ـ۵ـ۸) Melnick،

و همکاران و نیز در مطالعه ما این موضوع روشن شده است که آندسته بیماران و یا ناقلینی که HBsAg در سرمشان با دقیق‌ترین روشهای‌علمی قابل‌تشخیص نمیباشدولی آزمایش anti-HBc نزد آنان مثبت است ، خونشان واحد اهمیت‌خاصی در بروز هپاتیت ویروسی B بعداز انتقال‌خون هستند .مطالعات جدید ثابت نموده است که با وجود حذف خونهای HBsAg مثبت‌مع‌الوصف‌بروزهپاتیت‌بعدازانتقال خون بخوبی مشاهده میگردد . و این خود دلیل خوبی بر حساسیت کم آزمایش HBsAg بروش رادیوایمونواسی‌در یافتن ناقلین در بانک خون میباشد . بطور خلاصه آنچه میتوان نتیجه گرفت به شرح زیر میتوان بیان نمود :

۱ ــ مطالعات میکروسکوپ الکترونی و ایمونولوژیائی ثابت مینماید ، آنچه را که امروزه‌تحت عامل عفونت زای هپاتیت ویروسی B (HBV) میشناسیم ساختمانی است‌به قطر ۴۲ نانومتر بنام عناصر دان (Dane) مرکب ازیک نوکلئوکپسیدمرکزی به قطر ۲۷ نانومتر که پوششی ازترکیبات لیپوپروتئینی آنرا احاطه کرده است .

۲ ــ بر اساس آخرین مطالعه در ساختمان عناصر دان و فعالیت پلی‌مراز مخصوص HBV مشخص گردید که ویروس B از دسته ویروسهای DNA میباشد .

۳ ــ تحقیق پیرامون anti-HBc نزد بیماران‌مبتلا به هپاتیت‌ویروسی B و ناقلین HBsAg ثابت کرده است که‌بیماران‌HBsAg مثبت‌صددرصد از نظر anti-HBc مثبت هستند . بعلاوه ناقلینی هستند که ازنظر HBsAg منفی‌ولی ازنظر anti-HBc مثبت‌میباشند .این‌ناقلین واجد اهمیت خاص در ایجاد هپاتیت بعداز انتقال خون هستند ، بنابراین در شرایطی که دقیق‌ترین آزمایش HBsAg(RIA) نمیتواند ناقلین ویروس را تفکیک‌نماید با آزمایش anti-HBc میتوان‌صددرصد ناقلین‌ویروسی را شناسائی وخطر بروزهپاتیت بر اثر انتقال خون را کاهش داد . لذا آزمایش مذکور از نظر جلوگیری بروز هپاتیت در نتیجه انتقال خون‌باید درمراکز انتقال خون اهمیت‌بسزائی پیدا نماید .

۴ ــ آزمایش anti-HBc و DNA پلی مراز مخصوص ویروس B ، در تشخیص افترافی هپاتیت نوع B از سایر هپاتیت‌ها بسیار پر ارزش‌تر است . لذا کار برد آزمایش‌های مذکوردرتشخیص‌پاراکلینیکی هپاتیت B ازسایر هپاتیت‌ها امری ضروری است .

SUMMARY

Two antigen-antibody systems were discovered in hepatitis B virus. Hepatitis B surface antigen (HBsAg or Australia antigen) and hepatitis B core antigen (HBcAg). 60 Sera from Patients with acute viral hepatitis, blood donors, lepers and miscellaneous were tested for HBsAg, anti-HBc and subtype; HBsAg by radioimmunoassay, anti-HBc by counterimmunoelectrophoresis and subtype by gel diffusion techniques.

Out of 42 sera from patients with acute viral hepatitis 33 were positive for HBsAg, all HBsAg positive individuals possessed anti-HBc. From 11 blood donors sera 8 were positive for HBsAg and 9 were Positive for anti-HBc; 2 leprosy sera were tested, both of them were positive for HBsAg and anti-HBc. 5 miscellaneous samples, 2 were positive for HBsAg and anti-HBc.

These findings show that antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) is the most sensitive indicator for hepatitis B carriers and differentiate between hepatitis B from other forms of hepatitis.

REFERENCES

1 -Almeida.JD,Rubenstein.D and Stott.EJ: New antigen antibody system in australia antigen positive hepatitis.Lancet: 1225,1971.

2 -Dane.DS,Cameron.CH and Briggs.M:Virus-like Particles in serum of patients with australia antigen associated hepatitis.Lancet 1:695,1970.

3 -Barker.LF,Almeida.JD,Hoofnagle.JH et al: Hepatitis B core antigen;immunology and electron microscopy. J.Virol 14:1552,1974.

4 -Hoofnagle.JH,Gerety.RJ and Barker.LF:Antibody to hepatitis B virus core in man.Lancet 2:869,1973.

5 -Hoofnagle.JH,Gerety.RJ,Ni.LY et al:Antibody to hepatitis B core antigen; A sensitive indicator of hepatitis B virus replication.New.Eng.J.Med 290:1336, 1974.

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

7 -Krugman.S,Hoofnagle.JH,Gerety.RJ et al:Viral hepatitis,type B:DNA polymeraseactivity and antibody to hepatitis B core antigen.New.Eng.J.Med 290:1331,1974.

8 -Melnick.JL,Dreesman.GP and Hollinger.FB:Approaching the control of viral hepatitis type B.J.Infect.Dis 133:210,1976.

9 -Hirschman.SZ:DNA polymerasa and hepatitis B antigen. J.Infect.Dis 130:206.1974.

10-Kaplan.PM,Greenman.RL,Gerin.JL et al:DNA Polymerase associated with humanhepatitis B antigen.J.Virol 12: 995,1973.

11-Le Bouvier.GL:Subspecificities of the australia antigen complex.Amer.J.Dis.Child 123:420,1972.

12-Le Bouvier.GL:Subtypes of hepatitis B antigen:clinical relevance.Ann.Intern. Med.79:894,1973.

13-Hadziyannis.S,Le Bouvier.GL:Australia antigen subtypes in Greece.Jatriki 22:453,1972.

14-Courouce-peuty.AM,Soulier.JP:Further data on HBs antigen subtypes,geographical distribution.Vox.Sang 27:533,1975.

15-Le Bouvier.GL:The heterogenety of australia antigen.J. Infect.Dis 123:671,1971.

16-Kaplan.PM,Gerin.JL,Alter.HJ:Hepatitis B specific DNA polymerase activity during posttransfusion hepatitis. Nature(Lond) 249:762,1974.

17-Jokelainen .PT,Krhon.K,Prince.AM et al:Electron microscopic observations on virus-like particles associated with SH antigen.J.Virol 6:685,1970.

18-Robinson.WS,Clayton.DA,Greenman.RL:DNA of a human hepatitis B virus candidate J.Virol 14:384,1974.

19-Hirschman.SZ,Vernace.SJ,Schafner.F:DNA polymerase in preparations containing australia antigen.Lancet 1: 1099,1971.

20-Hirschman.SZ,Gerber.M,Garfinkel.E:Purification of naked intranuclear paticles from human liver infected by hepatitis B virus.Proc.Nat.Acad.Sci(USA)71:3345,1974.

21-Hung.PP,Mao.Jc.H,Ling.CM et al: Hybridisation of Dane particle DNA with the free plasma DNA of hepatitis carriers.Nature (Lond) 253:571,1975.

22-Dreesman.GR,Hollinger.FB,Melnick.JL:Biophysical and biochemical properties of purified preparations of hepatitis B surface antigen(HBsAg).Amer.J.Med.Sci 270: 123,1975.

23-Chairez.R,Hollinger.FB,Brunschwig.JP et al:Comparative biophysical studies of hepatitis B antigen,subtypes, adw and ayw.J.Virol 15:182,1975.

24-Howard.CR,Zuckerman.AJ;Electrofocusing of hepatitis B antigen.J.Gener.Virol 20:253,1973.

25-Burrele.CJ,Proudfoot.E,Keen.GA et al: Carbohydrates in hepatitis B antigen.Nature(Newxbiol)243:260,1973.

26-Sukeno.N,Shirachi.R,Yamaguchi.J et al:Reduction and reoxidation of australia antigen;loss and reconstitution of particle structure and antigenicity.J. Virol 9:182.1972.

27-Dreesman.GR,Hollinger.FB,McCombs.RM et al:Altralien of hepatitis B antigen(HBAg) determinations by reduction and alkylation.J.Gener.Virol 19:129,1973.

28-Tabarestani.M,Hoofnagle.JH:Progress in knowledge of viral hepatitis type B;HBsAg and HBcAg studies in Iran. J.Iran.Med.Council.4:304,1976.

29-Tabarestani.M,Hoofnagle.JH:Anti-HBc and subtype in Iran;a sensitive indicatior for hepatitis B virus.Eight medical congress,Pahlavi university,Shiraz,1976.

30-Magnius.Lo:Characterization of a new antigen-antibody system associated with hepatitis B.Clin.Exp.Immunol 20:209,1975.

31-Magnius.Lo,Lindholm.A,Lundin.P et al:A new antigen-antibody system;clinical significance in long-term carriers of hepatitis B surface antigen.J.A.M.A 231:356, 1975.

32-Barker.LF,Peterson.MR,Shulman.NR et al:Antibody responses in viral hepatitis type B.J.A.M.A 223:1005,1973.

33-Millman.I,London.WT,Sutnick.AI,Blumberg.BS:Australia-antigen-antibody complexes Nature(Lon)226:83,1970.

34-Hollinger.FB,Aach.RD,Gitnick.GL et al:Limitations of a solid phase radioimmunoassay for HBAg in reducing frequency of post-transfusion hepatitis.New.Eng.J.Med 289: 385,1973.

35-Nielsen.Jo,Dietrichson.O,Juhl.E:Incidence and meaning of the e determinant among hepatitis B-antigen positive patients with acute andchronic liver diseases.Lancet 2:913,1974.

36-Lander.JJ,Giles.JP,Purcell.RH,Krugman.S:Viral hepatitis, type B(MS2 strani)-detection of antibody after primary infection.New.Eng.J.Med 285:303,1971.

37-Hollinger.FB,Dreesman.GR,Fields.H et al:HBcAg,anti-HBc and DNA polymerase activity in transfused recipients followed prospectively.Amer.J.Med.Sci 270:343,1975.

38-Hirschman.SZ,Schwartz.J,Vernace.S et al:Electronmicroscopic study of the structural polymorphism of hepatitis B antigen.J.Infect.Dis 128:605,1973.

39-Bayer.ME,Blumberg.BS,Werner.B:Particles associated with australia antigen in the sera of patients with leukemia, Down,s syndrome and hepatitis.Nature (Lond)218:1057,1968.

40-Moodie.J,Stannard.LM and Kipps.A:Dane complexes in hepatitis B antigen.J. General.Virol 24:37-,1974.

41-Vyas.G et al:Hemagglutination assay for antigen and antibody associated with viral hepatitis.Science 170:332,1970.

42-Tabarestani.M,Hoofnagle.JH:Personal communication.1976.

43-Wai-Kuo.J and Gerin.JL:Proteins of hepatitis B surface antigen:amino-acid compositions of the major polypeptides J.Virol 21:1219,1977.