

## بررسی سرم‌شناسی پادتنهای ضدآنتی‌ژنهای کبدی در گاو، گوسفند و انسان\*

دکتر حسن تاجبخش<sup>۱</sup> دکتر محمد ربانی خوراسگانی<sup>۱</sup>

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۲، ۲۵-۴۱، (۱۳۸۰)

Vogt در سال ۱۹۶۰ با ایمن‌سازی خرگوش برعلیه کبد موش صحرایی، وجود هر دو نوع آنتی‌ژن ویژه بافت و مشترک را در جزء میکروزومی کبد اعلام نمود. آنتی‌ژنهای ویژه کبد محدود به غشاهای میکروزومی بودند.

پرلمان و آملیو در سالهای ۱۹۶۳-۱۹۵۹ با کاربرد آنتی‌سرم خرگوشی ضدکبد موش صحرایی در روشهای ایمنونودیفوزیون و ایمنوالکتروفورز ۱۵ آنتی‌ژن متمایز را در عصاره کامل کبد تشخیص دادند و آنتی‌ژنهای مربوط به میتوکندری، میکروزومها و شیره سلولی کبد را مشخص کردند. آنها با استفاده از ایمنونودیفوزیون حداقل ۵ آنتی‌ژن میکروزومی برای کبد مشخص کردند.

Domer و همکاران در سال ۱۹۶۲ پروتئینی محلول و اختصاصی از کبد را تعریف نموده که به تریپسین و حرارت ۹۰ درجه سانتیگراد (به مدت ۵ دقیقه) حساس است (۲۴).

Asherson و دیگر محققان با تزریق کبد موش صحرایی همراه با مکمل کامل فروند (FCA) به خرگوش آنتی‌ژنهای کبدی را با روشهای CFT، ایمنونودیفوزیون (ID) و ایمنونوفلورسانس (IF) مطالعه کردند (وجود آنتی‌ژنهای بافتی مشترک و ویژه کبد و نیز آنتی‌ژنهای ویژه گونه و مشترک بین گونه‌ها را در کبد مشخص کردند) (۲۹ و ۹).

Milgrom و همکاران در سال ۱۹۶۵ استخراج یک جزء مقاوم به حرارت و قابل ترسیب با اتانل به نام BE (Boiled Ethanol) از کبد گاو را گزارش نمودند که محتوی آنتی‌ژنهای ویژه کبد و نیز آنتی‌ژنهای مشترک با اعضای دیگر بدن است. این محققان با تزریق مکرر BE به خرگوش، پاسخ ایمنی حاصله را با روشهای CFT و هم‌آگلوتیناسیون (HA) ارزیابی کردند.

Dumonde در سال ۱۹۶۶ بیان می‌دارد که آنتی‌ژنهای ویژه کبد، بخشی از ساختار میکروزومی است (۹).

Sargent و همکاران در سال ۱۹۶۶، با ایمن‌سازی خرگوش با آنتی‌ژنهای کبدی گونه‌های مختلف وجود آنتی‌ژنهای کبدی ویژه گونه و نیز مشترک بین گونه‌ها را گزارش نمودند (۲۹ و ۲۶).

Meyer zum Bushcenfelde و Licht در سال ۱۹۶۶ و ۱۹۶۸ پروتئین محلول ویژه کبد را مشخص نمودند. جالب توجه اینکه، اتوانتی‌بادی ضد این آنتی‌ژن در سرم تعدادی از انسانهای مبتلا به هپاتیت مزمن فعال (Chronic "CAH" Active Hepatitis) تشخیص داده شد (۲۴). همچنین با ایمن‌سازی خرگوش با این پروتئین (با منشأ کبد انسان) هپاتیت تجربی با مشخصه نکروز کانونی و پراکنده ایجاد گردید (۲۴، ۲۴، ۲۰).

Miescher و Meyer zum Bushcenfeld در سال ۱۹۷۲ با استفاده از سانتریفوژ دور بالا و ژل فیلتراسیون مایع رو (Supernatant) وجود آنتی‌ژنهای ویژه کبد انسان را مشخص کردند. نامبرندگان آنتی‌ژنهای کبدی را با استفاده از روشهای کروماتوگرافی، الکتروفورز، ایمنوالکتروفورز و پاسخ ایمنی برعلیه آنها را با روشهای CFT، HA غیرفعال، ID، ایمنوالکتروفورز و IF مورد مطالعه قرار دادند (۲۴). یکی از آنتی‌ژنهای فوق‌الذکر که آنتی‌ژن لیپوپروتئینی مربوط به غشای سلولی است به‌عنوان پروتئین اختصاصی کبد ("Liver Specific Protein" LSP) مدنظر قرار گرفت.

Meyer zum Bushcenfeld و همکاران در سال ۱۹۷۹ وجود آنتی‌ژن غشایی متمایز LSP به نام آنتی‌ژن غشایی کبد ("Liver membrane antigen" LM-Ag) را گزارش کردند. آنان همچنین با تهیه سرم در گوسفند، پاسخ ایمنی برعلیه

در این مطالعه به منظور ارزیابی خودایمنی برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی و سنجش حضور آنتی‌بادیهای ضدآنتی‌ژنهای کبدی در سرم حیوانات اهلی و انسان این آنتی‌ژنها از کبد گاو استخراج گردید و برای بررسی پاسخ هومورال برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی و تولید سرم ایمن استاندارد، آنتی‌ژنهای فوق طی روند ایمن‌سازی طولانی به بز و خرگوش تزریق گردید. دوره ایمن‌سازی در بز ۴۲۸ روز (۵۷ نوبت تزریق) و در خرگوش حداکثر ۲۴۰ روز (در مجموع ۳۰ نوبت تزریق) بوده و به ترتیب شامل تزریقات داخل جلدی همراه با مکمل کامل فروند، زیرجلدی و داخل عضلانی بوده است. تولید پاسخ ایمنی در حیوانات آزمایشگاهی با آزمایش ایمنونودیفوزیون مضاعف دوبعدی تأیید شد به‌نحوی که حداکثر ۱۷ خط رسوبی بین سرم بز ایمن و آنتی‌ژنهای کبدی گاو و حداکثر ۴ خط رسوبی بین سرم خرگوشهای ایمن و این آنتی‌ژنها تشخیص داده شد. در مرحله بعد، آزمایش ایمنونودیفوزیون مضاعف دوبعدی بر روی نمونه‌های سرمی گاو، گوسفند و انسان انجام گردید و با مشاهده خط رسوبی ویژه بین آنتی‌ژن کبدی و نمونه‌های سرمی، حضور آنتی‌بادیهای ویژه کبد در سرم حدود ۱/۱ درصد گاوهای هلشتاین ظاهراً سالم، ۲/۱۱ درصد گاوهای بیمار، ۱۴ درصد گوسفندان ظاهراً سالم، ۱۹ درصد انسانهایی که میزان آنزیمهای کبدی آنها غیرطبیعی است، ۶ درصد افراد مراجعه‌کننده به آزمایشگاههای تشخیص طبی مشخص گردید. در سرم گاوهای بومی ظاهراً سالم و انسانهای ظاهراً سالم در جمعیت‌های مورد مطالعه آنتی‌بادیهای ویژه کبد تشخیص داده نشد. واژه‌های کلیدی: سرولوژی، آنتی‌ژنهای کبدی، اتوایمنی، ایمنونودیفوزیون.

دستگاه ایمنی که مأموریت اصلی آن دفاع در مقابل عوامل بیگانه بویژه اجرام عفونی است در مقابل بعضی اجزای طبیعی بدن نیز پاسخ می‌دهد و این پاسخ می‌تواند منجر به اختلالاتی در فعالیت دستگاه ایمنی و بروز بیماریهای خودایمن (Autoimmune diseases) گردد. در بیماریهای خودایمن، دستگاه ایمنی برعلیه آنتی‌ژنهای خودی (Self antigens) یعنی اجزای طبیعی بافت‌های بدن وارد عمل می‌شود و این پاسخ سبب بروز عوارض گوناگون می‌شود چنانچه در بیماریهای لوپوس اریتماتوز سیستمیک ("SLE" Systemic Lupus Erythematosus) و رماتیسم مفصلی (Rheumatoid arthritis) پاسخ ایمنی به ترتیب برعلیه آنتی‌ژنهای هسته‌ای و IgG راه‌اندازی می‌شود (۲۷، ۱۵، ۴).

مطالعه پاسخ ایمنی برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی سابقه‌ای دیرینه دارد که به برخی از آنها اجمالاً اشاره می‌شود: Weil در سال ۱۹۲۸ و Kishioka در سال ۱۹۳۵ از کبد کامل و دست نخورده (Whole liver) به‌عنوان آنتی‌ژن ایمن‌کننده استفاده کردند. Henle و Chambers در سال ۱۹۴۰ ویژگی عضوی را برای اجزای ذره‌ای (غیرمحلول) سیتوپلاسم کبد موش نشان دادند (۹). Henle در سال ۱۹۴۱ اعلام کرد که جزء میکروزومی سلول پارانیشیمی کبد موش صحرایی، محتوی آنتی‌ژنهای ویژه بافت است (۲۹). Kabat و Furth در سال ۱۹۴۱ حضور آنتی‌ژنهای ویژه عضو را در ذرات (پارتیکلهای) سیتوپلاسمی کبد انسان، با استفاده از آنتی‌سرم خرگوشی و روش CFT گزارش کردند. احتمالاً این آنتی‌ژنها نیز ماهیت میکروزومی داشته‌اند (۹).

در دهه ۱۹۵۰، نقش دستگاه ایمنی در بیماریهای مزمن کبدی مطرح می‌شود. Parlmann و D'Amelio اثبات می‌کنند که پروتئینهای میکروزومی محلول کبد، آنتی‌ژنهای مسئول تولید آنتی‌بادیهای ضدکبد هستند (۲۹).

\* این پژوهش با مساعدت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده است.  
۱) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.



۴ - جذب سرمهای ایمن و تهیه سرمهای اختصاصی: با توجه به واکنش سرم حیوانات ایمن با آنتی‌ژنهای بافتی مشترک و به منظور تشخیص آنتی‌بادیهای ویژه بافت کبد در سرم حیوانات و انسان، باید سرم ایمن اختصاصی که تنها با آنتی‌ژنهای کبدی خط رسوبی ایجاد نمایند تهیه کرد. این امر نیازمند جذب سرمهای ایمن با آنتی‌ژنهای بافتی دیگر است. برای این کار عصاره بافتهای سابق الذکر (غیر از کبد) طی آزمایشهای مکرر با سرم ایمن مجاور گردید تا آنتی‌بادیهای غیراختصاصی کبد حذف گردد. پس از مخلوط نمودن سرم ایمن با عصاره‌های بافتی فوق‌الذکر (به مدت یک ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد و حدود ۱۸ ساعت در ۴ درجه سانتیگراد)، مخلوط را در دور ۵۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ نموده و از مایع رو به عنوان سرم جذب شده استفاده گردید. با انجام آزمایش ایمنونودیفوزیون، از عدم پاسخ سرم جذب شده با عصاره آنتی‌ژنی بافتهای دیگر (غیر از کبد) و ایجاد پاسخ تنها با آنتی‌ژن کبدی اطمینان حاصل گردید (۲).

۵ - ارزیابی حضور آنتی‌بادیهای ضد آنتی‌ژنهای کبدی در سرم حیوانات اهلی و انسان: برای ردیابی حضور آنتی‌بادیهای ضد آنتی‌ژنهای کبدی در حیوانات بویژه گاو و انسان نمونه‌های سرمی زیر مورد آزمایش ایمنونودیفوزیون با آنتی‌ژنهای کبدی قرار گرفت.

هزار و چهار صد و پنجاه و چهار رأس گاو (۲۸۴) گاو مبتلا به بیماریهای مختلف که در درمانگاه دانشکده دامپزشکی مورد معاینه قرار گرفته بودند و ۱۱۷۰ گاو ظاهراً سالم شامل ۹۶۲ گاو هلشتاین، ۲۰۸ گاو بومی از نژادهای سرابی، گلپایگانی و سیستانی، ۲۰۷ رأس گوسفند و ۳۶۶ نمونه سرم انسانی شامل: ۵۸ نفر دانشجویان دانشکده دامپزشکی به عنوان افراد ظاهراً سالم، ۱۱ نفر از افرادی که میزان آنزیمهای کبدی در سرم آنها غیرطبیعی بوده است، ۴۲ نفر از افرادی که میزان آنزیمهای کبدی سرم آنها طبیعی بوده است و ۲۵۵ نفر از افراد مراجعه کننده به آزمایشگاههای تشخیص طبی (صرفاً از میزان آنزیمهای کبدی و نوع بیماری آنها).

ویژگی واکنش با استفاده از سرمهای جذب شده با عصاره آنتی‌ژنهای بافتی مختلف که به عنوان سرم اختصاصی ضد آنتی‌ژنهای کبدی مدنظر قرار گرفته بررسی گردید.

### نتایج

سرمهای تهیه شده در حیوانات آزمایشگاهی در آزمایش ID واکنش مثبت با آنتی‌ژنهای کبدی نشان دادند به نحوی که در مورد سرم بزها حداکثر ۱۷ خط رسوبی در مورد آنتی‌ژن C و ۱۳ خط رسوبی در مورد آنتی‌ژن A مشاهده گردید. در مورد سرم خرگوشها نیز حداکثر ۴ خط رسوبی در مورد آنتی‌ژن A و ۳ خط رسوبی در مورد آنتی‌ژن C مشاهده گردید. به عبارت دیگر، قدرت دستگاه ایمنی بز در تفریق آنتی‌بادیهای کبدی گاو بیشتر از مورد خرگوش است. جذب سرم بزهای ایمن با عصاره آنتی‌ژنی بافتهای دیگر (غیر از کبد)، وجود آنتی‌ژن اختصاصی کبد در مورد جزء C و ۴ آنتی‌ژن اختصاصی کبد در مورد جزء A را نشان داد به این معنا که می‌توان سایر آنتی‌ژنها را به عنوان آنتی‌ژن بافتی مشترک با دیگر بافتهای بدن که مورد آزمایش قرار گرفتند مدنظر قرار داد.

نتایج مربوط به ردیابی حضور آنتی‌بادیهای ویژه ضد آنتی‌ژنهای کبدی در سرم حیوانات اهلی و انسان چنین است: گاو: در ۲/۱۱ درصد سرمهای گاوهای مبتلا به بیماریهای مختلف و ۰/۱ درصد گاوهای هلشتاین ظاهراً سالم، آنتی‌بادیهای اختصاصی ضد آنتی‌ژنهای کبدی تشخیص داده شد ولی در سرم گاوهای بومی ظاهراً سالم، این آنتی‌بادیها تشخیص داده نشد. جدول ۱ مشخصات گاوهای بیمار که در سرم آنها، آنتی‌بادیهای اختصاصی کبد تشخیص داده شده را نشان می‌دهد. گوسفند: در ۱۳/۵۳ درصد

LSP انسانی و خرگوش را با روش کانترایمونیوالکتروفورز و ایمونوالکتروفورز متقاطع (Crossed-IEF) مطالعه کردند (۲۳).

تاج‌بخش و برقی در سال ۱۹۷۷ با تولید سرمهای خرگوش برعلیه کبد مرغهای طبیعی و مبتلا به لکوز، وجود حداقل سه آنتی‌ژن مشترک بین کبد و دیگر اعضای طبیعی و دو آنتی‌ژن اختصاصی کبد را گزارش کردند (۳۰ و ۱). در دهه‌های اخیر آنتی‌ژنهای LSP و LM-Ag مورد مطالعات گسترده‌ای قرار گرفته‌اند (۲۳، ۲۱، ۱۹، ۱۳). حداقل دو آنتی‌ژن مربوط به LSP که ویژگی گونه‌ای ندارد ولی اختصاصی کبد است شناخته شده است (۲۲ و ۱۹). همچنین حضور آنتی‌بادیهای ضد LSP در خون نسبتی از مبتلایان به هیپاتیت ویروسی (نوع A و B)، هیپاتیت مزمن خودایمن و گاه در مواردی از بیماریهای کبدی گوناگون (۲۳، ۲۲، ۲۱)، ۱۸ درصد از مبتلایان به گلوبولونفریت و ۱۰ درصد از مبتلایان به بیماریهای خودایمن غیرکبدی گزارش شده است (۳۲). براین اساس دخالت پاسخ ایمنی برعلیه LSP در پاتوژنز بیماریهای کبدی مورد توجه قرار گرفته است (۳۳، ۳۱، ۲۱، ۲۰).

همچنین اتوانتی‌بادیهای ضد LM-Ag در نسبت بالایی از مبتلایان به CAH، مواردی از سیروز و بیماریهای کبدی ناشی از دارو گزارش شده است (۲۳، ۲۲، ۲۱).

در مجموع براساس اطلاعات موجود به نظر می‌رسد که آنتی‌ژنهای غشای کبد اهداف ایمنی هومورال و سلولی در بیماریهای آماسی کبد هستند (۲۲).

در مطالعه حاضر به منظور ارزیابی پاسخ ایمنی برعلیه آنتی‌ژنهای کبد بویژه در گاو، تعدادی آنتی‌ژن از کبد گاو استخراج گردید و با تهیه سرم استاندارد در حیوانات آزمایشگاهی برعلیه این آنتی‌ژنها و مطالعه پاسخ ایمنی برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی، حضور آنتی‌بادیهای ضد آنتی‌ژنهای کبدی در سرم گاو، گوسفند و انسان مورد مطالعه قرار گرفت.

### مواد و روش کار

این مطالعه شامل مراحل ذیل بوده است: تهیه آنتی‌ژنهای بافتی، تهیه سرمهای استاندارد برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی، سنجش پاسخ ایمنی حیوانات ایمن شده در برابر آنتی‌ژنهای کبدی و ارزیابی حضور آنتی‌بادیهای ضد آنتی‌ژنهای کبدی در سرم حیوانات اهلی و انسان.

۱ - تهیه آنتی‌ژنهای کبدی: از کبد گاو پس از خرد کردن و سانتریفیوژ در دور حدود ۴۰۰۰ آنتی‌ژن C و با سانتریفیوژ در دور حدود ۲۰۰۰۰ و دیالیز در کیسه سلوفان در تامپون بیکربنات آنتی‌ژن A به دست آمد. همچنین از بافتهای کلیه، ریه، قلب، مغز استخوان، عضله، عقده لنفاوی و طحال نیز با روشهای مشابه آنتی‌ژنها استخراج گردید (۳۰ و ۱۲).

۲ - تهیه سرمهای استاندارد برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی: به منظور تهیه سرمهای اختصاصی ضد آنتی‌ژنهای کبدی به ۳ رأس بز و ۱۰ سر خرگوش، آنتی‌ژنهای کبدی تزریق گردید. سه تزریق اول آنتی‌ژن توأم با ماده کمکی ایمنی فروند (FCA) از راه داخل جلد و تزریقات بعدی ابتدا از راه زیرجلدی و سپس داخل عضلانی انجام شد. به طور متوسط پس از هر ۹ بار تزریق خونگیری انجام و سرمهای جدا شده از نظر حضور آنتی‌بادیهای ضد آنتی‌ژنهای کبدی مورد آزمایش قرار گرفتند.

طول دوره ایمن‌سازی در بز ۴۲۸ روز (در مجموع ۵۷ نوبت تزریق) و در خرگوشها حداکثر ۲۴۰ روز (در مجموع ۳۰ تزریق) بوده است.

۳ - سنجش پاسخ ایمنی حیوانات ایمن شده در برابر آنتی‌ژنهای کبدی: طی روند ایمن‌سازی حیوانات آزمایشگاهی سرمهای آنها از نظر وجود پاسخ ایمنی برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی مورد آزمایش قرار گرفتند تا هم سیر تولید پاسخ ایمنی برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی بررسی گردد و هم نسبت به دستیابی به سرمهای ایمن استاندارد اطمینان حاصل گردد. روش اصلی مورد استفاده روش ایمنونودیفوزیون مضاعف دو بعدی (ID) بود (۲۷ و ۱۶).



جدول ۱ - مشخصات گاوهای مراجعه کننده به کلینیک شماره یک دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که با آنتی‌ژنهای کبدی در آزمایش ایمونودیفوزیون واکنش مثبت نشان داده‌اند.

ردیف	شماره سرم	جنس	سن	نژاد	سندرم یا بیماری احتمالی	واکنش با آنتی‌ژنهای کبدی			ملاحظات
						A	C	ویژگی واکنش	
۱	۱۳۵	نر	۲ سال	دورگ	کاهش اشتها، کاهش وزن، بیحالی و سوء هضم	+	+	+	علاوه بر خطوط اختصاصی کبد، خطوط رسوبی دیگری نیز وجود دارد.
۲	۲۷۴	نر	نوزاد (۵ روزه)	هلستاین	کدورت یکطرفی چشم	-	+	+	
۳	۱۶۳	ماده	۴ سال	هلستاین	تب ۴۱/۳ درجه سانتیگراد، سابقه سزارین و عفونت محل جراحی	+	+	+	
۴	۱۶۴	ماده	۳ سال	هلستاین	تب ۴۰/۲ درجه سانتیگراد، سابقه سقط عفونت رحمی، پارگی فرج، جفت ماندگی	+	+	+	
۵	۲۶۵	ماده	۴ سال	هلستاین	بروز علایم MCF	+	+	+	
۶	۳۴۷					+	+	+	اطلاعات در دسترس نیست
۷	۱۱۱ (۱۷۸۱)	ماده		هلستاین		+	+	+	از گاوهای کلینیک که برای امور آموزشی استفاده می‌شود.

در مورد نتایج حاصل از واکنش نمونه‌های سرمی مورد آزمایش با آنتی‌ژنهای کبدی موارد زیر قابل توجه است:

نسبت حضور آنتی‌بادیهای ویژه کبد در گاوهای بیمار بسیار بیشتر از گاوهای ظاهراً سالم است و براساس آزمون مربع کای، این اختلاف معنادار است ( $P < 0/001$ ). هر چند حضور آنتی‌بادیهای ضد آنتی‌ژنهای کبدی در نسبت کمی از افراد سالم نیز گزارش شده (۲) اما حضور این آنتی‌بادیها را بعید است بتوان در گاو امری فیزیولوژیک تلقی نمود چون در گاوهای ظاهراً سالم به نسبت بسیار کمی حضور دارد به هر حال قضاوت قطعی در این زمینه نیازمند مطالعات بیشتر است. حضور این آنتی‌بادیها در برخی گاوهای بیمار با توجه به طیف وسیع بیماریهای کبد را به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم درگیر می‌کنند قابل توجه است.

هر چند بیماریهای اولیه کبدی نظیر سندرم گاو چاق (Fat cow syndrome) در گاو کمتر دیده می‌شود (۱۴، ۱۱، ۶) اما بیماریهای ثانوی کبد که حاصل از یک روند بیماری عمومی هستند و یا از راه عضو دیگری انتشار یافته‌اند کم نیستند. طیف گسترده‌ای از بیماریهای عفونی کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهند مانند لیتوسپیروز، سالمونلوز (۶)، بیماری سیاه مرض (Black disease)، هموگلوبینوری باسیلر (Bacillary hemoglobinuria)، آبسه‌های کبدی ناشی از فوزوباکتریوم نکروفورم، هپاتیت انگلی (به‌خصوص فاسیولوز) (۳۲)، هپاتیت‌های توکسیک (۲۵، ۱۰، ۶)، تومورهای کبدی، اختلالات متابولیک که کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۵ و ۶) و اثرات داروها بر کبد را می‌توان مدنظر قرار داد.

به‌نظر می‌رسد لاقط بعضی از این موارد بتوانند با آسیب به کبد و آزادگی آنتی‌ژنهای کبدی، پاسخ ایمنی را برانگیزند و سبب تولید آنتی‌بادیهای ضد کبد شوند. با توجه به اهمیت کبد و نیز نقش مستعدکننده درگیری کبد در برخی بیماریها (۱۸) و مشکلات تشخیص بیماریهای کبدی در گاو و گرانی روشهای جدید تشخیص، شاید بتوان از روشهای ایمونولوژیک نظیر تشخیص انوآنتی‌بادیهای ضدهبات کبدی بهره بیشتری گرفت.

تشخیص آنتی‌بادیهای ویژه کبد در حدود ۱۳ درصد سرمهای گوسفندان با

گوسفندان، آنتی‌بادیهای ویژه کبد تشخیص داده شد. انسان: در ۱۸/۱۸ درصد نمونه‌های سرمی افرادی که میزان آنتی‌بادیهای کبدی آنها غیرطبیعی بود و ۶/۲۷ درصد نمونه‌های سرمی افراد مراجعه کننده به آزمایشگاههای تشخیص طبی، آنتی‌بادیهای ویژه کبد تشخیص داده شد ولی در سرمهای دانشجویان دامپزشکی و نیز افرادی که میزان آنتی‌بادیهای کبدی آنها طبیعی بود این آنتی‌بادیها تشخیص داده نشد.

جدول ۲ فراوانی مطلق و نسبی حضور آنتی‌بادیهای ویژه کبد در سرم گاو، گوسفند و انسان را مقایسه می‌کند.

## بحث

چنانچه در مقدمه اشاره گردید مطالعات مربوط به آنتی‌ژنهای کبدی عمدتاً با استفاده از آنتی‌ژنهای کبدی با منشأ حیوانات آزمایشگاهی و انسان بوده است (۹). در مطالعه حاضر آنتی‌ژنهای کبدی گاو استفاده گردید. فراکسیون کبدی مورد استفاده در این مطالعه با آنتی‌بادیهای موجود در سرم انسان و گوسفند نیز واکنش نشان دادند لذا قاعدتاً باید دارای آنتی‌ژنهای کبدی مشترک بین گونه‌ها نیز باشد. این استنتاج با مطالعات محققین قبلی که وجود آنتی‌ژنهای کبدی ویژه گونه و مشترک بین گونه‌ها را اعلام نموده‌اند همخوانی دارد (۵، ۸، ۹، ۱۳، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۶، ۲۹، ۳۰).

در مطالعات گذشته ایمن‌سازی برعلیه آنتی‌ژنهای کبدی عمدتاً در حیوانات آزمایشگاهی انجام شده (۲۹ و ۲۳) ولی در مطالعه حاضر علاوه بر خرگوش از بز نیز برای ایمن‌سازی استفاده گردید و ترجیح استفاده از بز در تفریق آنتی‌ژنهای کبدی گاو مشخص گردید. به‌نظر می‌رسد مطالعه حاضر، نخستین مطالعه‌ای باشد که در آن برعلیه کبد گاو در بز یعنی دام دیگری که قرابت نسبتاً زیادی با خود گاو دارد ایمن‌سازی صورت می‌گیرد.

بررسی واکنش بین سرم حیوانات ایمن و آنتی‌ژنهای کبدی گاو، نتایج و گزارشهای قبلی مبنی بر وجود آنتی‌ژنهای ویژه و غیرویژه کبد در این عضو را تأیید می‌کند (۱۹، ۲۲، ۲۳، ۲۹).



جدول ۲ - مقایسه فراوانی مطلق و نسبی سرمهای محتوی آنتی‌بادیهای ویژه آنتی‌ژنهای کبد در گاو، گوسفند و انسان

نوع حیوان یا انسان	فراوانی مطلق			فراوانی نسبی		
	+	-	جمع	+	-	جمع
گاوهای مبتلا به بیماریهای مختلف	۶	۲۷۸	۲۸۴	۲/۱۱	۹۷/۸۹	۱۰۰
گاوهای هلاکت‌ناپذیر ظاهراً سالم	۱	۹۶۱	۹۶۲	۰/۱۰۴	۹۹/۸۹۶	۱۰۰
گاوهای بومی ظاهراً سالم	۰	۲۰۸	۲۰۸	۰	۱۰۰	۱۰۰
گوسفند	۲۸	۱۷۹	۲۰۷	۱۳/۵۳	۸۶/۴۷	۱۰۰
افراد که میزان آنزیمهای کبدی آنها غیرطبیعی است	۲	۹	۱۱	۱۸/۱۸	۸۱/۸۲	۱۰۰
افراد که میزان آنزیمهای کبدی آنها طبیعی است	۰	۴۲	۴۲	۰	۱۰۰	۱۰۰
دانشجویان دامپزشکی (افراد ظاهراً سالم)	۰	۵۸	۵۸	۰	۱۰۰	۱۰۰
افراد مراجعه‌کننده به آزمایشگاههای تشخیص طبی	۱۶	۲۳۹	۲۵۵	۹۳/۷۳	۹۳/۷۳	۱۰۰

### منابع

۱. برقی، ع. (۱۳۵۲): بررسی آنتی‌ژنهای کبد طیور سالم و لکوزی. پایان‌نامه دکترای دامپزشکی از دانشگاه تهران.
۲. ربانی، م. (۱۳۷۳): بررسی حضور آنتی‌بادیهای ضدکبد در سرم انسان، گاو و گوسفند و حیوانات دیگر. پایان‌نامه دکترای تخصصی میکروبیولوژی از دانشگاه تهران.
3. Andersson, M. and Sevelius, E. (1992): Circulating autoantibodies in dogs with chronic liver diseases. *J. of Small Animal Practice* (33), 389-394.
4. Avrameas, S. (1991): Natural auto antibodies : From " horror autotoxicus " to " gnothi seauton ". *Immunology Today*, 12(15), 155-159.
5. Bishop, L. (1979): Chronic active hepatitis in dog associated with leptospirosis. *Am. J. Vet. Res.* 40(6): 839-844.
6. Blood, D.C. and Radostitis, O.M. (1988): *Vet. Medicine*, 7th edi., Bailliere Tindall, PP: 288-298.
7. Dienstag, T.L. and Bham, A.K. (1980): Enhanced in vitro cell mediated cytotoxicity in chronic hepatitis B virus infection: Absense of specificity for virus-expressed antigen on target cell membranes. *J. Immunol.* 125(5): 2269-2276.
8. Doige, C.E. and Lester, S. (1981): Chronic active hepatitis in dogs. A review of fourteen cases. *J. Am. Animal Hospital Association*, 17, 725-730, (Abs.).
9. Dumonde, D.C. (1966): Tissue-specific antigens. *Advances in Immunol.* 5, 245-412.
10. Giles, C.J. (1991): Major poisoning, In: *Bovine Medicine*. Edi. Andrews. A.H. et al. Blackwell Sci. Pub. PP: 618-619.
11. Gill, P.A. and Townsend, W.L. (1993): Hepatic vasculopathy and encephalopathy in Braham type calves. *Australian Vet. J.* 70(2), 69.
12. Grabar, P., Tadjbakhiche, H. and Buff, P. (1968): Activités spécifiques d'anticorps anti thymus du rat. *Ann. de l'Institut Pasteur* (114), 159.

استفاده از آنتی‌ژنهای کبدی گاو ضمن تأیید وجود برخی آنتی‌ژنهای کبدی که ویژگی گونه‌ای ندارند (۲۹، ۲۳، ۲۲، ۱۹) می‌تواند مربوط به بیماریهای مختلف بخصوص بیماریهای انگلی کبدی گوسفند باشد. به نظر می‌رسد سنجش ارتباط حضور آنتی‌بادیهای ضدکبد در گوسفند با اختلالات کبدی بویژه آلودگی انگلی کبد در کشور ما مفید باشد.

تشخیص آنتی‌بادیهای ویژه کبد در سرم نسبت قابل توجهی از انسانهایی که میزان آنزیمهای کبدی آنها غیرطبیعی است ضمن آنکه امکان استفاده از آنتی‌ژنهای هترولوگ برای آزمایش سرمهای انسانی را مطرح می‌سازد می‌تواند نشانگر درگیری کبد در این افراد باشد.

همچنین تشخیص این آنتی‌بادیها در سرم حدود ۶ درصد از افراد مراجعه‌کننده به آزمایشگاه تشخیص طبی می‌تواند بعلاقی احتمالی آنها به بیماریهای مختلف که بعضاً کبد را نیز درگیر می‌کنند باشد. این احتمال را می‌توان مطرح نمود که جراحات مختلف کبد سبب راه‌اندازی تولید اتوآنتی‌بادیهای ضدکبد شده و حال، این آنتی‌بادیها ممکن است نقش فیزیولوژیک (دفع اجزای آنتی‌ژنی آزاد شده) داشته باشند و یا اینکه نقش پاتولوژیک (تشدید ضایعه کبدی) داشته باشند (۳۴) و لذا طیف گسترده بیماریهای کبدی انسان و درگیری کبد در بیماریهای مختلف هیپاتیت‌های عفونی (۷)، سل، تولاژمی (Tularemia)، بروسلاز، سیفلیس، آبسه‌های کبدی ناشی از باکتریهای مختلف نظیر باکترئیدس (Bacteriodes)، بیماریهای انگلی مانند آمیبیاز (Amebiasis)، مالاریا، لیشمانیوز احشایی، کرمهای کبدی، اکیونوکوزیس (بیماری کیست هیداتید) را می‌توان مورد توجه قرار داد (۲۸). نتایج آزمایش بر روی سرمهای انسانی امکان استفاده از آنتی‌ژنهای کبدی هترولوگ (از جمله آنتی‌ژنهای کبدی گاو) در تشخیص اختلالات کبدی انسان را مطرح می‌سازد، لذا پیشنهاد می‌شود مطالعات مقایسه‌ای با استفاده از آنتی‌ژنهای کبدی همولوگ نظیر LSP، LM-Ag و نیز آنتی‌ژنهای هترولوگ (و بهره‌گیری از آنها جهت تشخیص اتوآنتی‌بادیهای ضدکبد در انسان) بعمل آید تا ضمن تبیین بیشتر مطالعات بیولوژی، در راه‌اندازی سیستمهای تشخیصی با بهره‌گیری از آنتی‌ژنهای هترولوگ از آنها کمک گرفته شود.

### تشکر و قدردانی

از همکاری آقایان دکتر تقی زهرایی‌صالحی و دکتر سعید بکایی صمیمانه تشکر می‌شود.



13. Hayward, A.R. (1988): Delay in onset of insulinitis in NOD mice following a single injection of CD4 and CD8 antibodies. *J. Autoimmunity* 1(1), 91-96, (Abs.).
14. Herdt, T.H. and Emery, R.S. (1992): Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism. In: *The Vet. Clinics of North America (Food Animal Practice)*, Edi: Hincheliff, K.W. and Jernigan, A.D., PP: 95-107.
15. Hurez, V., Kaveris, V. and Kazatchkine, M.D. (1993): Expression and control of the natural autoreactive IgG repertoire in normal human serum. *Eur. J. Immunol.* 23(4): 783-789, (Abs.).
16. Johnstone, A. and Thorpe, R. (1982): *Immunochemistry in Practice*. Blackwell Sci. Pub. PP: 121-125.
17. Kimberling, C.V. (1988): Jensen and Swift's Diseases of Sheep: Lea and Febiger, PP: 93-94, 164-165, 250-251, 293, 372-374.
18. Liberg, P. and Jonsson, G. (1993): Ultrasonography and determination of proteins and enzymes in blood beef for diagnosis of liver abscesses in intensively feed cattle. *Acta. Vet. Scand.* 34, 21-28.
19. Macfarlane, I.G. (1984): Identification of the hepatic asialo glycoprotein receptor (Hepatic lectin) as a component of liver specific lipoprotein (LSP). *Clin. Exp. Immunol.* 55, 347-354.
20. Mcfarlane, I.G., Wojcicka, B.M., Zucker, G.M., Eddleston, A.L.W.F. and Williams, R. (1997): Purification and characterization of human liver specific membrane lipoprotein (LSP). *Clin. Exp. Immunol.* 27, 381-390.
21. Meyer zum Buschenfelde, K.H., Hutteroth, T.H. and Manns, M. (1983): Immune reactions in liver diseases, In: *Clinical Hepatology*. Edi: Csomos, G. and Thaler, H., Springer Verlag Berlin, Heidelberg, PP: 195-208.
22. Meyer zum Buschenfeld, K.H. (1982): Liver membrane target antigens, In: *Immunological Aspects of Liver Diseases*. Edi: Thomas, H.C., Miescher, P.A. and Muller Eberhard, H.J., Springer Verlag Berlin, Heidelberg, PP: 19-37.
23. Meyer zum Buschenfeld, K.H., Manns, M., Hutteroth, T.H., Hopf, U. and Arnold, W. (1979): LM-Ag and LSP-two different target antigens involved in the immunopathogenesis of chronic active hepatitis? *Clin. Exp. Immunol.* 37, 205-212.
24. Meyer zum Buschenfeld, K.H. and Miescher, P.A. (1972): Liver specific antigens: Purification and Characterization. *Clin. Exp. Immunol.* 10, 89-102,
25. Pinsent, P.J.N. (1991): Diagnosis and differential diagnosis in the cow. In: *Bovine Medicine*. Edi. Andrews, A.H. et al, Blackwell Sci, Pub. PP: 117-118, 120-122.
26. Richter, M., Sargent, A.V., Myers, J. and Rose, B. (1966): Production of autoantibodies in rats immunized with homologous or heterologous liver. *Immunol.*, 10, 211-215.
27. Roitt, I.M., Brostoff, J. and Male, D.K. (1989): *Immunology*, 2nd edi., Churchill Livingstone, PP: 23.1-23.10.
28. Rubin, E. and Farber, J.L. (1990): *Essential Pathology*, J.B. Lippincott Company, PP: 394-422.
29. Sargent, A.V., Meyers, J., Rose, B. and Richter, M. (1966): Organ and species specificity of rat hepatocellular antigens. *Immunol.* (10), 199-210.
30. Tadjebakhche, H. and Barghi, E. (1977): Les antigenes tissulaires spécifiques du foie de poulets leucosiques et normaux. *Revue Med. Vet.* (128), 215.
31. Tizard, I.R., Mittal, K.R. and Nielsen, K. (1980): Depressed immunoconglutinin responses in calves experimentally infected with *Trypanosoma congolense*. *Vet. Bull.*, 50(9): 5749, (Abs.).
32. Van-de-Water, J., Fregeau, D., Davis, P., Ansari, A., Danner, D., Leung, P., Coppel, R. and Gershwin, M.E. (1988): Autoantibodies of primary biliary cirrhosis recognize dihydrolipamide acetyltransferase and inhibit enzyme function. *J. Immunol.* 14(7), 2321-4.
33. Vergani, G.M. (1979): Lymphocyte cytotoxicity to autologous hepatocytes in HBsAg-negative chronic active hepatitis. *Clin. Exp. Immunol.* (38): 16-21.
34. Wright, R. (1982): *The Liver*, In: *Clinical Aspects of Immunology*. Edi. Lachman P.J. and Peters, D.K., 4th edi., Blackwell, Sci. Pub. Vol. 2, PP: 878-902.

### Serological survey of anti-liver antibodies in bovine, ovine and human sera

Tajbakhsh, H.<sup>1</sup>, Rabani, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.

In this study, we have extracted two kinds of tissue antigens from calf liver. We have prepared the goat and rabbit hyperimmune sera by injecting these antigens for a long time: goat; 57 injections on 428 days, rabbit; 30 injections on 240 days. We have studied humoral response by application of immunodiffusion (ID) method and finally the specificity of the method was constructed by production of specific antibodies. By this method 1454 bovine, 207 sheep and 366 human sera have been studied. The results indicated that: 0.1 percent of apparently healthy Holstein cattle and 2.11% of ordinary sick cattle had the hepatic specific antibodies. This state in the sheep was 14%. In human being, 19% of patients with hepatic disorders and 6% of the other patients (that had not hepatic affections) shows the antihepatic antibodies.

**Key words** : Serology, Liver antigens, Autoimmunity, Immunodiffusion.

