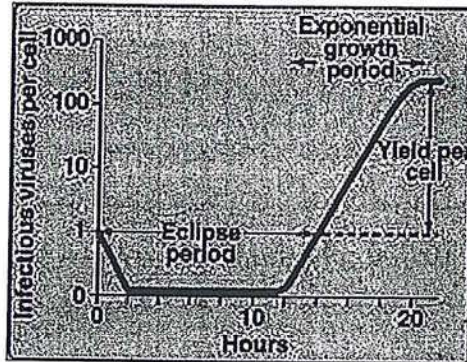


IV- التنسخ الفيروسي:

نظرة عامة:

تتكاثر الفيروسات في الخلايا الحية فقط ويجب أن تؤمن خلية الثدي كلاً من الطاقة وآلية الاصطناع والطلائع ذات الوزن الجزيئي المنخفض لاصطناع البروتينات الفيروسية والحموض النووية. يحمل الحمض النووي الفيروسي النوعية الوراثية لترميز كافة الجزيئات الكبيرة النوعية للفيروس بطريقة منظمة جداً. من أجل أن يتنسخ الفيروس يجب اصطناع البروتينات الفيروسية بواسطة آلية اصطناع البروتينات في خلية الثدي. لذلك يجب أن يكون مجين الفيروس قادراً على إنتاج mRNA قابل للاستخدام. تم التعرف على آليات مختلفة تسمح للـ RNAs الفيروسي بالتفافس بشكل ناجح مع mRNA الخلوي لإنتاج مقادير كافية من البروتينات الفيروسية. إن الميزة الفريدة لتكاثر الفيروسات هو أنه مباشرة بعد التداخل مع خلية الثدي يتخرب الفيرون الخامج ويفقد قدرته الإخمائية التي يُمكن قياسها. يسمى الطور من دورة النمو فترة الكسوف eclipse، وتختلف هذه المدة حسب نوع الفيروس ونوع خلية الثدي ويليهما فترة من التراكم السريع لنسل من جسيمات الفيروس القادرة على الإخماج.

مُنحنى النمو ذو الخطوة الواحدة:



الشكل 1-8: منحنى نمو وحيد الخطوة لخلية مفردة مصابة بجسيم فيروسي مفرد. يكون بدء الخمج بالوقت

صفر

يمثل منحنى النمو ذو الخطوة الواحدة التغير الكلي مع الزمن في كمية الفيروس المسبب للخمج في خلية وحيدة تمت إصابتها بجسيم فيروسي واحد. وفي الممارسة العملية يتم تحديد ذلك من خلال متابعة الأحداث ضمن مجموعة كبيرة من الخلايا المصابة يتتابع فيها الخمج بشكل

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

متزامن تقريباً كما لو تم تحقيق ذلك بالتعامل مع الشروط المخبرية، وبينما يتفاوت الزمن والناتج من نسل الفيروس بشكل كبير بين فصائل الفيروسات فإن العلامات الأساسية للدورة الإخمائية متشابهة في كل الفيروسات. إن منحنى النمو ذو الخطوة الواحدة يبدأ بفترة كسوف (احتجاب) يليها فترة نمو أسّي (الشكل 1-8).

أ) فترة الكسوف:

بعد الارتباط الأولي للفيروس مع خلية الثوي تختفي قدرة الفيروس على إصابة خلايا أخرى. وهذه هي فترة الكسوف أو الاحتجاب والتي تمثل الفترة المنقضية بين الدخول الأولي وتفكك الفيروس الأم وبين تجمع النسل الأول للفيروس، تكون فترة الكسوف في الواقع هي الفترة من النشاط الاصطناعي الكثيف حيث يتم توجيه الخلية لتلبية متطلبات الفيروس "القرصان". ويحدث خلال هذه الفترة اصطناع فعال لمكونات الفيروس. تقع فترات الكسوف لمعظم الفيروسات البشرية ضمن مجال يتراوح بين 1 و 20 ساعة.

ب) النمو الأسّي:

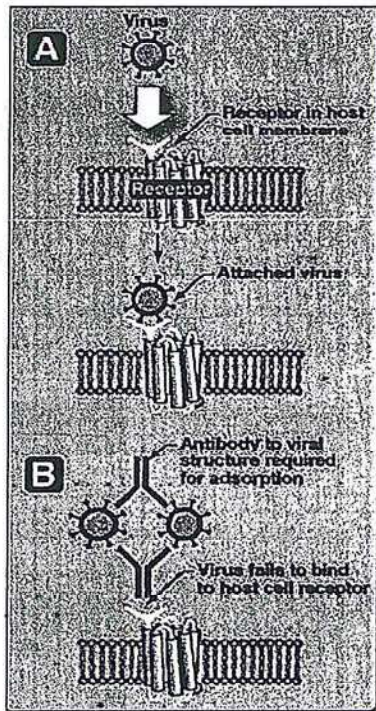
يزداد بشكل أسّي عدد نسل الفيروس الناتج ضمن الخلية المصابة. وذلك لفترة معينة من الزمن ليصل بعدها العدد إلى مستوى لا تتلوه أي زيادة إضافية. يكون الناتج الأعظمي لكل خلية مميزاً لكل مجموعة خلية- فيروس ويعكس التوازن بين المعدل الذي يستمر فيه اصطناع مكونات الفيروس وتجمعها لتكوين الفيروسات والمعدل الذي تفقد فيه الخلية قدرة الاصطناع والتكامل البنيوي اللازم لإنتاج جسيمات فيروسية جديدة. قد يستغرق ذلك النمو من 8 إلى 72 ساعة (6-8 ساعات "الفيروسات البيكورتاوية" وأكثر من 40 ساعة "بعض الفيروسات الهربسية") أو لفترة أطول مع حصيلة تتراوح بين 100 إلى 10.000 فيروسون لكل خلية.

خطوات ضمن دورات تنسُخ الفيروس:

نقدم فيما يلي الخطوات المنفصلة في دورة تنسُخ الفيروس على شكل متوالية تبدأ بارتكاز الفيروس على خلية الثوي مما يؤدي إلى النفاذ وإزالة غلاف مجين الفيروس ثم إظهار (تغيير) عن الجينة والتنسُخ وما يليه من تجمع وتحرر نسل الفيروس.

(أ) الامتزاز:

يتضمن الارتكاز الأولي لجسيم الفيروس على خلية الثدي تفاعلاً متبادلاً بين بنىات جزيئية نوعية على سطح الفيرون وجزيئات في الغشاء الخلوي للثدي التي تتعرف على هذه البنىات الفيروسية (الشكل 1-9 A).



الشكل 1-9: A: ارتكاز الفيروس على مستقبل في

غشاء خلية الثدي. B: الأضداد تقي من امتزاز

الفيروس

1- مواقع الارتكاز على سطح الفيروس:

تملك بعض الفيروسات بنى ارتكاز متخصصة مثل أشواك البروتين السكري الموجودة في الغلاف الفيروسي (مثل الفيروسات الرئوية)، بينما في حالات أخرى تشكل طريقة الطي الفريدة لبروتينات القفيصة مواقع ارتكاز (مثل الفيروسات البكتيرية). وفي كلتا الحالتين تتوزع نسخ عديدة من هذه البنى الجزيئية للارتكاز حول سطح الفيرون. [ملاحظة: تكون في بعض الحالات الآلية التي تُعدل فيها الأضداد القدرة الإجمالية للفيروسات عبارة عن ارتباط ضدي مع البنى الفيروسية الضرورية للامتزاز (الشكل 1-9 B)]. قد تحرض خطوة الارتكاز بدء حدوث تغيرات بنيوية غير عكوسة في الفيرون.

2- جزيئات مستقبل خلية الثدي:

تكون جزيئات المستقبل على غشاء خلية الثدي نوعية لكل فصيلة من الفيروسات. ومن غير المفاجئ أن هذه المستقبلات هي عبارة عن بنى جزيئية تقوم عادة بوظائف خلوية طبيعية (على سبيل المثال إن المستقبلات الغشائية الخلوية لمركبات مثل عوامل النمو قد تفيد أيضاً وبشكل غير مقصود كمستقبلات لفيروس معين). قد تحتوي كل خلية مستعدة على عدد قد يصل حتى

100.000 موقع مستقبل لفيروس معين. العديد من المركبات التي تعمل كمستقبلات للفيروس توجد فقط على خلايا متميزة بشكل نوعي أو أنها تكون فريدة بالنسبة لنوع حيواني واحد. لذلك فإن وجود أو غياب مستقبلات خلية الثوي هو عامل محدد هام للنوعية النسيجية ضمن نوع مستعد من الأتوياء وكذلك استعداد أو مقاومة النوع لفيروس معين (ملاحظة: يتم حالياً ولعدد من الفيروسات الهامة سريرياً تحديد البنية المفصلة ثلاثية الأبعاد للمستقبلات الخلوية و/أو مواقع ارتباط الفيروس الموافقة. وتستخدم المعلومات الناتجة لتصميم أدوية مضادة للفيروسات تتفاعل بشكل نوعي مع هذه المواقع مما يؤدي لحصر عملية الامتزاز).

ب) النفاذ:

النفاذ هو مرور الفيروس من سطح الخلية عبر الغشاء الخلوي إلى داخل الهيولى. تدخل الفيروسات إلى الخلايا عبر آليتين رئيسيتين: الالتقام الخلوي المتوسط بالمستقبل والالتحام الغشائي المباشر.

1. الالتقام الخلوي المتوسط بالمستقبل:

وهذه بشكل أساسي هي نفس العملية التي تقوم بها الخلية لإدخال مركبات مثل الجزيئات المنظمة للنمو والبروتينات الشحمية المصلية لكن مع ارتباط جسيم الفيروس المسبب للخمج مع المستقبل السطحي لخلية الثوي بدلاً من الالتحام الطبيعي (الشكل 1-10). يتغلف الغشاء الخلوي ليحيط بالفيروس ضمن حويصل الالتقام خلوي (الدخلول Endosome). يحدث تحرر الفيروس إلى الهيولى بطرق مختلفة حسب الفيروس لكن بشكل عام يصبح أسهل بوجود جزيئات فيروسية واحدة أو أكثر. في حالة الفيروسات المغلفة قد يلتحم غشاؤها مع غشاء الدخلول مؤدياً لتحرر القفيصة المنواة إلى الهيولى. وباستثناء فصيلة الفيروسات الريوية Reovirus فإن فشل الخروج من الدخلول قبل الالتحام مع الدخلول lysosome يؤدي لتفكك الفيروس بواسطة الأنزيمات المحلولة (الجسيمات الحالة)، وهذا هو أحد الأسباب وراء عدم كون كافة الجزيئات الإخماجية المحتملة ناجحة في إحداث الخمج.

2: الالتحام الغشائي:

تدخل بعض الفيروسات المغلفة (مثل فيروس العوز المناعي البشري) إلى الخلية الثوي عن طريق التحام غلافها مع الغشاء الهيولي للخلية (الشكل 1-11). يعزز الالتحام واحد أو أكثر

من البروتينات السكرية في غلاف هذه الفيروسات. تكون النتيجة النهائية لهذه العملية هي تحرير القفيصة المنواة ضمن الهيولى بينما يبقى غشاء الفيروس مرتبطاً بالغشاء الهيولي لخلاية الثدي.

ج) إزالة الغلاف:

يشير تحرير إزالة الغلاف إلى العملية المرحلية لفك تجميع الفيرون مما يمكن من تعبير الجينات الفيروسية التي تقوم بالتتسخ. تكون عملية النفاذ بالنسبة للفيروسات المغلفة الخطوة الأولى في إزالة الغلاف. وبشكل عام تحدث معظم خطوات عملية إزالة الغلاف ضمن الخلية معتمدة على الانزيمات الخلوية لكن في بعض الفيروسات الأكثر تعقيداً هناك حاجة لبروتينات فيروسية مصطنعة حديثاً لإكمال العملية. قد يتحرر المجين بشكل حمض نووي حر (الفيروسات البيكورناوية) أو كقفيصة منواة (الفيروسات الريوية) هذا وتحتوي القفيصات المنواة عادة على البوليميراز. قد تحتاج عملية إزالة الغلاف إلى درجة PH حامضية في الدخول. يتوقع خلال إزالة الغلاف أن يؤدي فقدان واحد أو أكثر من المكونات البنيوية للفيرون إلى فقدان قدرة هذه الجسيم على إصابة خلايا أخرى وهذا هو أساس فترة الكسوف في منحنى النمو. حيث تكون الفيروسات هي العوامل الخمجية الوحيدة التي يكون تحلل عامل إخماتها خطوة إجبارية في سبيل تنسخها. هذا ويبدأ التعبير الجيني الفيروسي خلال هذا الطور من دورة التتسخ.

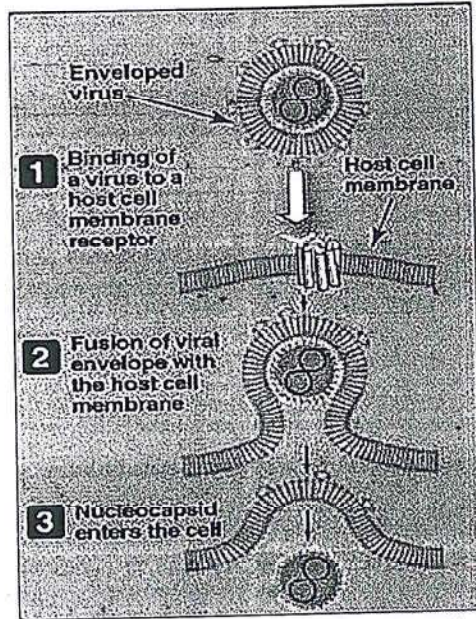
د) آليات تنسخ مجين DNA الفيروس:

تختلف كل فصيلة من الفيروسات بشكل جوهري عن الفصائل الأخرى بتفاصيل الأحداث كبيرة الجزيئات التي تشكل دورة التتسخ. لكن تشترك الفيروسات ذات نفس نوع المجين (أي DNA أو RNA) بالعديد من الملامح الأساسية للتعبير الجيني وآليات تنسخ المجين فعلى سبيل المثال تشابه الآليات الأساسية لتتسخ المجين والتعبير الجيني في الفيروسات ذات مجين الـ DNA تلك الخاصة بالخلايا حقيقية النواة ولكن المجال الواسع في الأوزان الجزيئية لهذه المجينات (من حوالي 2 إلى 250×10^6) يؤدي لنشوء اختلافات كبيرة في عدد البروتينات التي يستطيع الفيروس ترميزها. وبشكل عام كلما كان مجين الفيروس أصغر كلما اعتمد الفيروس أكثر على خلية الثدي لتأمين الوظائف اللازمة لتتسخ الفيروس.

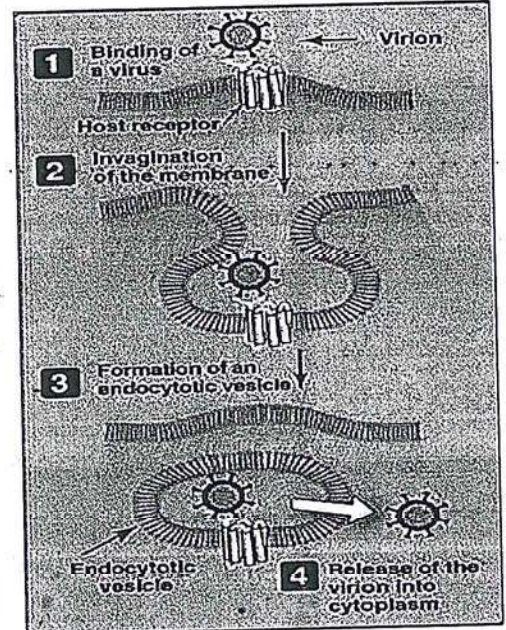
الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

تنتج بعض فيروسات الـ DNA الصغيرة على سبيل المثال (كالفيروسة التورامية Polyomavirus) واحد أو اثنين فقط من المنتجات الجينية المتعلقة بالتسّخ والتي تكون وظيفتها تحويل عمليات خلية الثوي إلى تلك الخاصة بالتسّخ الفيروسي. بينما تقدم في الواقع فيروسات الـ DNA الأخرى الأكبر حجماً (مثل الفيروسة الجذرية Poxvirus) كافة الجزيئات التنظيمية والإنزيمية اللازمة لإتمام دورة التسّخ. يشير الشكل 1-12 إلى الملامح الرئيسية للتعبير الجيني وتنتسخ فيروسات الـ DNA (ملاحظة تتفاوت الآلية المفصلة لتسّخ DNA الفيروسي بشكل جوهري بين الفصائل لكن المبدأ العام هو أن اصطناع نسل من طيّقان DNA مُتممة لقالب DNA الأم ينطبق على الجميع باستثناء فصيلة فيروسات الـ DNA الكبدية)، حيث يُترجم DNA الأم لهذه الفيروسات إلى RNA وبسيط الذي يُترجم بعد ذلك بشكل عكسي إلى نسل DNA ثنائي الطاق.



الشكل 1-11: التحام الغلاف الفيروسي مع غشاء خلية الثوي



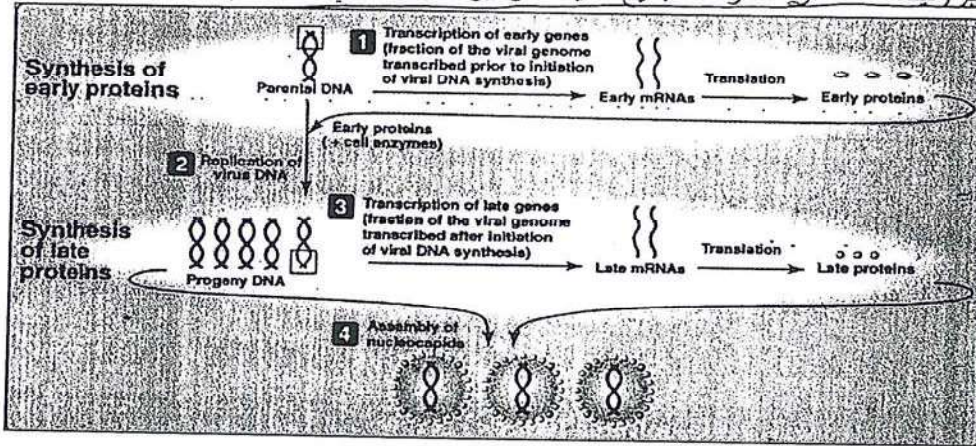
الشكل 1-10: النقام جسيم الفيروس المتوسط بالمستقبل

1- الجينات الباكرة:

تسمى الجينات الفيروسية التي يتم انتساخها قبل أن يبدأ تنسخ الـ DNA باسم الجينات الباكرة، وتسمى نواتج انتساخها بالـ mRNA (الرنا المرسل messenger RNA) الباكر والبروتينات الناتجة بالبروتينات الباكرة. تتعلق وظيفة البروتينات الباكرة بشكل رئيسي بتنسخ المجين وهذه البروتينات لا تشكل عادة جزءاً من البنية الفيزيائية للفيروس.

2- الجينات المتأخرة:

تسمى الجينات التي تبدأ بالانتساخ بعد بدء تنسخ المجين الفيروسي باسم الجينات المتأخرة وتسمى نواتج انتساخها بالـ mRNA المتأخر والبروتينات الناتجة بالبروتينات المتأخرة. يحدث انتساخ الجينات المتأخرة عادة على مجين DNA الفيروسي المنتسخ حديثاً وتندمج معظم البروتينات المتأخرة إلى جسيمات نسل الفيروس (ملاحظة: تنتج بعض الفيروسات الأكثر تعقيداً البروتينات المتأخرة اللازمة لتجميع القفيصة وغير الموجودة في الفيروس).



الشكل 1-12: تنسخ فيروسات الـ DNA

هـ- آليات تنسخ مجين فيروسات RNA :

يجب أن تتغلب الفيروسات ذات المجين RNA على مشكلتين نوعيتين تنشآن من الحاجة لتنسخ المجين الفيروسي وعليها أن تنتج عدد من البروتينات الفيروسية في خلايا الثوي حقيقية النواة. أولاً: لا يوجد في خلية الثوي بوليميراز RNA يمكنه استخدام RNA الفيروس الأم كقالب لاصطناع طبقان RNA متممة. ثانياً: تبدأ ترجمة mRNAs حقيقيات النواة في موقع بدء

الفصل الأول

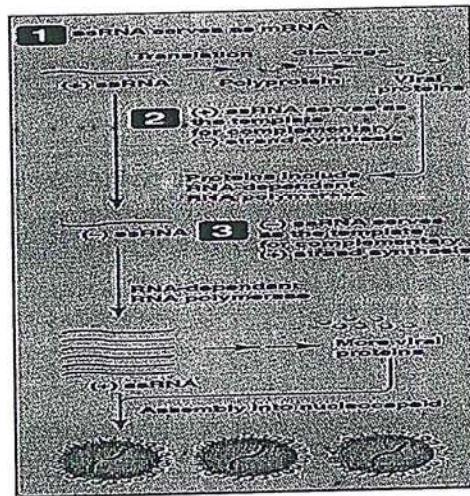
مقدمة في علم الفيروسات

واحد ولذلك يتم ترجمتها إلى عديد ببتيد واحد. لكن يجب على فيروسات الـ RNA التي تحتوي غالباً جزيئة واحدة من الـ RNA أن تعبر عن المعلومات الجينية لبروتينين على الأقل: بوليميراز الـ RNA المعتمدة على RNA و نمط واحد كحد أدنى من بروتينات القفصية. ورغم أن تتسخ كل فصيلة من فيروسات الـ RNA له ميزات فريدة لكن يمكن تصنيف الآليات في 4 أنماط من التسخ:

النمط I: الفيروسات ذات المجين RNA وحيد الطاق ذات قطبية (+) والتي تتسخ من خلال توسط طاق (-) متمم:

تعمل جزيئة RNA الخامجة الأم في النمط I من التسخ الفيروسي كـ mRNA و من ثم كقالب لاصطناع طاق (-) المتمم (الشكل 1-13) (الجدول 1-2).

أ- دور ssRNA (+) كـ mRNA :



الشكل 1-13: فيروس النمط I مع مجين ssRNA

إيجابي القطبية يتضاعف عبر وسيط متمم سلبي

الطاق

ب- دور ssRNA (+) كقالب لاصطناع طاق (-) متمم:

إن وظائف ssRNA (+) الفيروسي في المرحلة الباكرة من الخمج لا تكون فقط كـ mRNA لترجمة عديدات البروتين لكن أيضاً كقالب لبوليميراز RNA المعتمدة على RNA المرمز

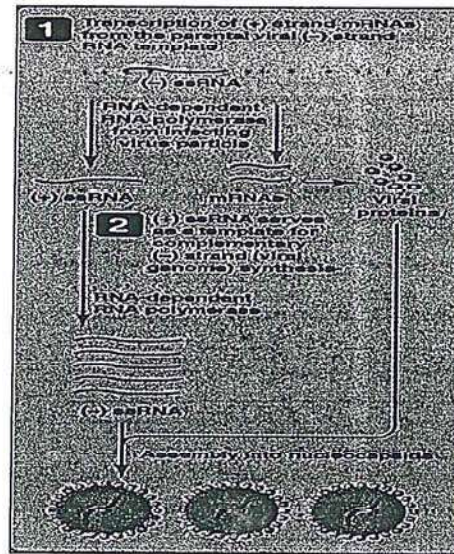
بالفيروس من أجل اصطناع ssRNA (-) متمم. يعمل النسل (-) الطاق الناتج بدوره كقالب لاصطناع النسل (+) الطاق والذي يمكن أن يعمل كـ mRNA إضافي وهكذا تتضخم القدرة على إنتاج بروتينات الفيرون لنسل الفيروس. عند تراكم كمية كافية من بروتينات القفصة في مرحلة متأخرة من الخمج فإن نسل ssRNAs (+) يبدأ بالتجمع إلى قفصات منوأة حديثة التشكل.

2- النمط II : الفيروسات ذات المجين RNA وحيد الطاق ذات قطبية (-) والتي تنتسخ من خلال تواسط طاق (+) متمم:

تمتلك أيضاً المجينات الفيروسية ذات القطبية السلبية مثل المجينات إيجابية الطاق وظيفتين: الأولى تأمين معلومات لاصطناع البروتين، ثانياً العمل كقالب للتتسخ. وبعبارة أخرى المجينات إيجابية الطاق فإن المجينات سلبية الطاق لا تستطيع تحقيق هذه الأهداف دون إنشاء أولي لطاق وسيط إيجابي متمم (انظر الشكل 1-14).



الشكل 1-15: النمط الثالث للفيروس مع مجين dsRNA



الشكل 1-14: النمط II للفيروس مع مجين ssRNA سلب القطبية يتضاعف عبر وسيط متمم إيجابي الطاق

أ- آلية تنسخ RNA وحيد الطاق الفيروسي ذي القطبية (-): تكون مشاكل التنسخ في هذه الفيروسات مضاعفة. أولاً: لا يمكن ترجمة مجين الطاق سلبي القطبية ولذلك لا يمكن اصطناع بوليميراز RNA الفيروسي الضرورية بعد الخمج مباشرة، وثانياً: ليس لخلية الثدي إنزيم قادر على نسخ مجين RNA (-) الطاق إلى RNA (+) الطاق قابل للترجمة. وحل هذه المشاكل بالنسبة لجسيم الفيروس الخامج نفسه هو أن يحتوي على البوليميراز RNA المعتمدة على RNA الفيروسي وإحضار هذا الأنزيم إلى خلية الثدي مع المجين الفيروسي. وكنيجة لذلك فإن حادثة الاصطناع الأولى بعد الخمج هي انتساخ mRNA (+) الطاق من قالب RNA الأم (-) الطاق الفيروسي.

ب- آليات اصطناع البروتينات الفيروسية المتعددة في النمط II من الفيروسات:

يتحقق اصطناع البروتينات المتعددة في فصائل الفيروسات سلبية الطاق بإحدى طريقتين:

(1) أن يكون المجين الفيروسي جزيئة مُتَعَدِّدة الجينات Polycistronic ومنها يُنتَج التنسخ عدد من mRNAs كل منها يختص بعديد ببتيد واحد.

(2) وبشكل بديل يمكن للمجين الفيروسي سلبي الطاق أن يتجزأ (أي يتكون من عدد من جزيئات RNA المختلفة والتي بمعظمها ترمز لنوع وحيد من عديد الببتيد).

ج- إنتاج جسيمات الفيروس الخامجة:

رغم اختلاف التفاصيل إلا أنه تتماثل بشكل أساسي مجمل المعلومات في الفيروسات ذات المجين المجزأ أو غير المجزأ. يوجد في النمط II من مخطط التنسخ عنصر ضبط هام هو الزيجان من اصطناع mRNAs (+) الطاق إلى إنتاج نسل جزيئات RNA (-) الطاق يمكن أن تتغلف ضمن الفيروونات. لا يعزى هذا الزيجان إلى بوليميراز مختلفة ولكن إلى احتجاز جزيئات RNA (+) الطاق عن طريق التفاعل المتبادل بين واحد أو أكثر من البروتينات المصطنعة حديثاً. وهذا يجعل الطيقان (+) متوفرة كقالب لاصطناع الطيقان (-) المجين، وأكثر من ذلك إن فيروسات المجين المجزأ لديها مشكلة إضافية وهي ضمان أن كافة الأجزاء أُدخِلَت إلى نسل الفيروونات. إن الآلية التي يحدث فيها ذلك غير واضحة وهي في الواقع ليست

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

كاملة لأن نسبة عالية نسبياً من جسيمات النسل الفيروسي ذات المجنات المجزأة تكون غير مسببة للدمج غالباً بسبب غياب واحد أو أكثر من الأجزاء.

3- النمط III : الفيروسات ذات المجين RNA ثنائي الطاق :

يكون المجين dsRNA مجزأ وكل جزء يرمز لعدد ببتيد واحد (الشكل 1-15) . لكن الخلايا حقيقية النواة لا تملك أنزيماً قادراً على نسخ dsRNA . لذلك فإن نسخ النمط 3 من mRNA الفيروسي تنتج بواسطة بوليميراز RNA المعتمدة على RNA المرمزة بواسطة الفيروس (إنزيم المُنسَخَة transcriptase) والمتوضعة في جسيم فرعي لللب الفيروسي. يتكون هذا الجسيم من مجين RNA ثنائي الطاق مترافق مع بروتينات الفيرون بما في ذلك إنزيم المُنسَخَة . إن آلية انتساخ dsRNA فريدة في أن نسخ RNA (+) لا تستخدم فقط للترجمة لكن أيضاً كقوالب لاصطناع الطاق (-) المتمم مما يؤدي لتشكل نسل RNA ثنائي الطاق.

4- النمط IV : الفيروسات ذات مجين RNA وحيد الطاق ذات قطبية (+) التي تنتسخ من

خلال وسيط DNA:



الشكل 16-1: النمط الرابع للفيروس مع مجين ssRNA إيجابي القطبية والذي يتضاعف عبر وسيط DNA

يتم تحويل RNA إيجابي الطاق إلى DNA ثنائي الطاق بواسطة بوليميراز DNA المعتمدة على RNA وتسمى عادة إنزيم المُنسَخَة العكسية reverse transcriptase والتي تكون محتواة ضمن الفيرون. يتكامل DNA ثنائي الطاق الناتج مع مجين الخلية بتأثير إنزيم الدمج

"integrase" الفيروسي. تنتسخ الـ mRNA الفيروسي ونسل مجينات RNA إيجابية الطاق من هذه الـ DNA المتكاملة بواسطة بوليميراز RNA خلية الثوي (الشكل 1-16) [ملاحظة: إن فصيلة واحدة هي فصيلة الفيروسات القهقرية هي من هذا النمط. لكن أيضاً يحتاج انتساخ فيروسات الـ DNA الكبدية التي لها مجين DNA إلى خطوة تحول RNA إلى DNA بواسطة المنتسخة العكسية المماثلة لإنزيم الفيروس القهقري] (الجدول 1-2).

و- التجمع وتحرر ذراري الفيروسات:

يحدث تجمع القفيصات المنواة بشكل عام في خلية الثوي حيث يتم تنسخ الحمض النووي الفيروسي في الهيولى بالنسبة لمعظم فيروسات الـ RNA وفي النواة بالنسبة لمعظم فيروسات الـ DNA. يحتاج ذلك بالنسبة لفيروسات الـ DNA إلى أن تنتقل بروتينات القفيصة من موقع اصطناعها في الهيولى إلى النواة.

تتراكم المكونات المختلفة للقفيصة ضمن مجموعات خلال فترة الاصطناع لتبدأ بالتجمع الذاتي عندما تصل التراكيز لمستويات كافية. يكون غالباً تجمع القفيصة عملية متسلسلة تبدأ من مقدمات القسيمات مروراً بالقسيمات القفيضية إلى القفيصات الجزئية وفي النهاية يحدث الارتباط مع الحمض النووي لتكتمل القفيصة المنواة.

1- الفيروسات العارية:

يكتمل الفييريون في هذه المرحلة في حالة الفيروسات العارية. أما تحرر النسل فهو عادة عملية منفصلة تنتج عن انحلال الخلية الميته ولذلك قد تكون في وقت متأخر نسبياً بعد الخمج.

2- الفيروسات المغلفة:

يتم اصطناع البروتينات السكرية النوعية للفيروس في حالة الفيروسات المغلفة وتنقل إلى غشاء خلية الثوي بنفس طريقة البروتينات الغشائية الخلوية. عندما تدخل إلى الغشاء فهي تزيج البروتينات السكرية الخلوية وتؤدي لبقع في السطح الخلوي لها نوعية مستضدية فيروسية. ترتبط هذه المواقع الهيولية لهذه البروتينات بشكل نوعي مع واحد أو أكثر من البروتينات الفيروسية الإضافية (البروتينات الأساسية) التي ترتبط معها القفيصات المنواة. يتضمن النضج النهائي بعد ذلك انغلاف القفيصة المنواة بعملية برعمة (الشكل 1-17).

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

إن من نتائج هذه الآلية في التنسخ الفيروسي تحرر مستمر لنسل الفيروس، بينما يتتابع التتسخ ضمن الخلية وينتهي عندما تفقد الخلية قدرتها على الحفاظ على وحدة الغشاء الهولي. وهناك نتيجة ثانية هي أنه في حالة معظم الفيروسات المغلفة يكون كامل النسل الخمج خارج الخلية، يستثنى من ذلك الفيروسات التي تكتسب غلافها بواسطة التبرعم من خلال أغشية خلوية داخلية مثل تلك الموجودة في الشبكة الهيولية الباطنة أو في النواة. تكون الفيروسات التي تحتوي أغلفة شحمية حساسة للأذية الناجمة عن البيئة القاسية و لذلك تميل إلى الانتقال بالطريق التنفسي والطريق الوالدي والطرق الجنسية، بينما تكون الفيروسات غير المغلفة أكثر ثباتاً في ظروف البيئة العدائية و تنتقل غالباً بالطريق البرازي- الفموي.

ز- تأثيرات الخمج الفيروسي على خلية الثدي:

يمكن أن تتفاوت استجابة خلية الثدي للخمج بأحد الفيروسات من: (1) تأثير قليل أو لا يمكن كشفه، إلى (2) تبدل في النوعية المستضدية للسطح الخلوي بسبب وجود البروتينات السكرية الفيروسية، إلى (3) أخماج كامنة تسبب في بعض الأحيان إستيحاءة في الخلية، أو في النهاية (4) موت الخلية بسبب تعبير الجينات الفيروسية الذي يؤدي إلى إغلاق الوظائف الأساسية لخلية الثدي (الشكل 1-18).

1- أخماج الفيروسات التي لا ينتج فيها نسل الفيروسات:

يسمى الخمج في هذه الحالة بالمُجهّض. تعزى عادة الاستجابة المجهضة للخمج إلى:

(1) فيروس طبيعي يصيب الخلايا التي تفتقد إلى الأنزيمات، الـ protomers، عوامل الانتساخ، أو مركبات أخرى ضرورية لإكمال التنسخ الفيروسي وهذه الحالة تسمى الحالة بـ

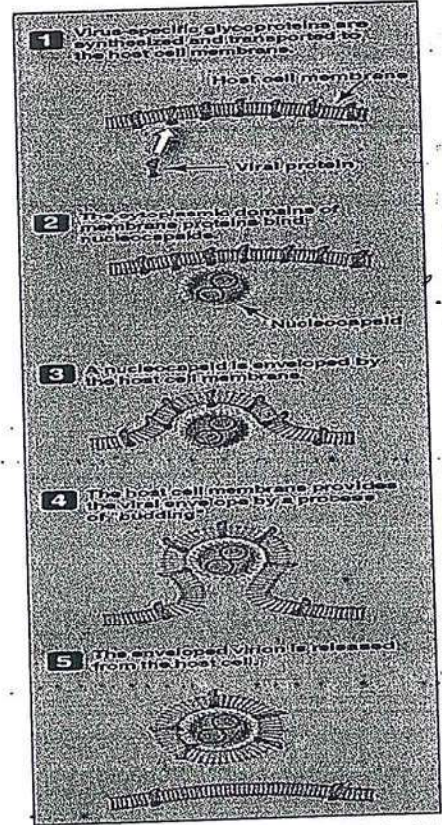
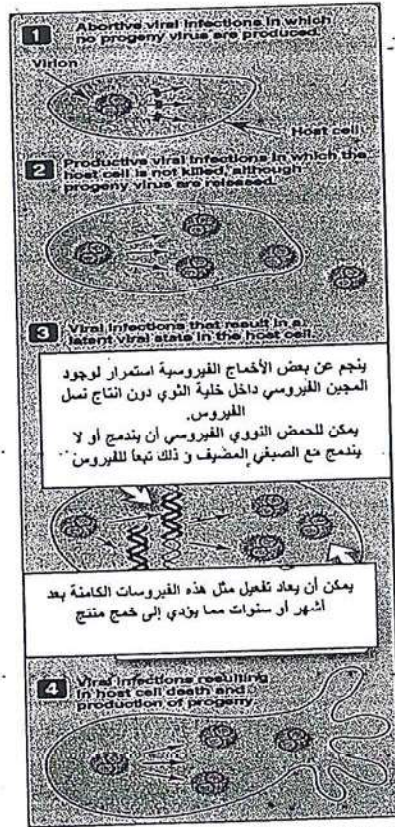
"غير السموحة" Nonpermissive.

(2) الإصابة الخمجية بفيروس فيه خلل ما لخلية تدعم في الحالة الطبيعية التنسخ الفيروسي (أي الإصابة بفيروس فقد بحد ذاته جينياً القدرة على التتسخ في هذا النمط الخلوي)

(3) موت الخلية كنتيجة للخمج قبل اكتمال التنسخ الفيروسي.

2- أخماج الفيروسات التي يحدث فيها تبدل مستضدي في خلية الثدي دون أن تقتل هذه

الخلية رغم تحرر نسل الفيروس: تكون خلية الثدي في هذه الحالة سموحة permissive والخمج منتج (يتحرر نسل الفيروس من الخلية)،



الشكل 1-17: تحرر الفيروسات المغلفة من خلية النوى عبر عملية البرعمة
الشكل 1-18: تأثير الخمج الفيروسي على خلية النوى

لكن التسخ والتحرر الفيروسي لا يقتل خلية النوى ولا يتدخل في قدرتها على التكاثر والقيام بوظائفها المميزة لذلك يسمى الخمج مستمراً. قد تتبدل النوعية المبتدئية للسطح الخلوي بسبب إقحام البروتينات السكرية الفيروسية. قد يكون نمط الاستجابة مميزاً للفيروس بحد ذاته ويشاهد ذلك في كثير من أنواع الفيروسات القهقرية، وبالعكس يمكن أن يكون مميزاً لتركيبية معينة من الفيروس/الخلية لكن ليس في الحالات الأخرى. على سبيل المثال تتكاثر الفيروسات الطخائية في خلايا مفصليات الأرجل لكنها لا تقتل هذه الخلايا بينما تقتل أخماج الفيروسات الطخائية خلايا الفقاريات.

3- أخماج الفيروسات المؤدية لمرحلة كمون فيروسي في خلية الثدي:

تؤدي بعض الأخماج الفيروسية لاستمرار وجود المجين الفيروسي داخل خلية الثدي دون إنتاج لنسل الفيروس، يمكن أن يعود نشاط مثل هذه الفيروسات في المستقبل (مثل الفيروسات الهربسية Herpesviruses) بعد أشهر أو سنوات مما يؤدي لخمج مُنتِج (ملاحظة: في العديد من الحالات على مستوى كامل العضوية لم يتم تحديد فيما إذا كان يُعزى الوجود طويل الأمد للفيروس إلى إعادة تنشيط خمج كامن أو بقاءه كخمج مستمر). تحتوي بعض الخلايا المصابة بخمج كامن على مجينات فيروسية تتكامل بشكل ثابت مع صبغي خلية الثدي، هذا يمكن أن يسبب تبدلات في سطح خلية الثدي وفي الوظائف الاستقلابية الخلوية وبشكل جوهري في نماذج النمو الخلوي والتَنَسُّخ. إن مثل هذه الفيروسات قد تحرض ظهور أورام في الحيوانات. في مثل هذه الحالة تسمى فيروسات ورمية وتسمى الخلايا المصابة إستِحالِيَّة transformed .

4- أخماج الفيروسات التي تؤدي لموت خلية الثدي وإنتاج نسل من الفيروسات:

إن التخلص من منافسة الخلية الثدي على أنزيمات الاصطناع والجزيئات الطليعة يزيد من فعالية الفيروس في اصطناع مكوناته. لذلك فالنتيجة النموذجية للخمج المنتِج (المنتِج لنسل من الفيروسات) بواسطة فيروس قاتل للخلايا هو إيقاف معظم الاصطناع الخلوي للجزيئات الكبيرة بواسطة واحد أو أكثر من منتجات جينة الفيروس مما يسبب موت الخلية. يُدعى مثل هذا الخمج بالـ "حَال": هذا وتتفاوت آلية الإيقاف بين الفصائل الفيروسية.

V- وراثيات الفيروسات الحيوانية:

يعتبر التحليل الجيني طريقة فعالة لفهم بنية ووظيفة المجين الفيروسي ومنتجاته الجينية ودورها في الخمج والمرض. إن الاختلاف في الخصائص الفيروسية له أهمية كبيرة في الطب البشري. يمكن ضبط و مكافحة الفيروسات التي لها مستضدات ثابتة على سطوحها (الفيروسات السُجَابِيَّة ، فيروس الحصبة) بواسطة التلقيح بينما تكون الفيروسات الأخرى التي توجد بشكل أنماط مستضدية مختلفة (الفيروسات الأَنْفِيَّة) أو التي تتغير باستمرار (فيروس إنفلونزا A) صعبة الضبط باللقاح. هذا وقد يساعد علم الوراثة الفيروسي في تطوير لقاحات أكثر فعالية. تعود بعض أنماط أخماج الفيروسات بشكل متكرر (فيروسات نظيرة الإنفلونزا) أو أنها تستمر (الفيروسات القهقرية) رغم وجود الأضداد، ولكن يمكن ضبطها بشكل أفضل باستخدام الأدوية

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

المضادة للفيروسات. يساعد التحليل الوراثي في تحديد العمليات النوعية للفيروس التي قد تشكّل أهدافاً ملائمة لتطوير معالجة مضادة للفيروسات.

إن التعابير التالية أساسية عند مناقشة الوراثة: النمط الجيني Genotype ويشير إلى المحتوى الجيني (الوراثي) لعضوية ما. النمط الظاهري Phenotype ويشير إلى الخصائص التي يمكن ملاحظتها لعضوية ما والتي تنتج عن النمط الجيني بالتعاون مع البيئة. الطفرة mutation وهي تغير موروث في النمط الجيني. المجهين وهو مجموع جينات عضوية ما. الفيروس من النمط البري Wildtype ويشير إلى الفيروس الأصلي الذي اشتقت منه الأشكال الطافرة والتي يتم مقارنة الأشكال الطافرة معه، وهذا التعبير قد لا ينطبق تماماً على الفيروس عند عزله من الطبيعة. إن العزلات الحديثة للفيروس من الثوي الطبيعي تسمى بعزلات حقليّة field isolates أو عزلات أولية primary isolates.

أنماط أشكال الفيروسات الطافرة:

تحتاج الدراسات الجينية الكلاسيكية المفيدة حول فيروسات الحيوانات لمقايسة كمية حساسة ودقيقة مثل اختبار اللويحة من أجل قياس القدرة الإخمائية للفيروس والأشكال الطافرة (الطافرات) النظيف (الناتجة عن طفرات وحيدة) التي يمكن تسجيلها بسهولة والثابتة إلى حد ما. تتضمن بعض الواصفات شائعة الاستخدام: دراسة شكل اللويحة، هروب أو مقاومة الأضداد للمصول. المضادة المستعجلة، فقدان بروتين الفيروس، مقاومة الأدوية، مجال الأنواء، وعدم القدرة على النمو في درجات حرارة منخفضة أو مرتفعة. يتم الحصول على الطافرات الحاملة لمثل هذه الواصفات إما بعد طفرة تلقائية أو بعد المعالجة مع مطفر أو بعد هندسة الطفرة باستخدام التقنيات الجزيئية.

يستخدم الآن بشكل شائع في التحليل الوراثي الجزيئي تنسيل DNA مأشوب لمتواليات فيروسية، وتكون فيروسات الـ DNA ثنائية الطاق هي الأسهل في الحصول على نسايل رغم أن الفيروسات الأكبر تحتاج لتتسيل على عدة مراحل لأجزاء المجين الفرعية. يتم تنسيل مجينات فيروس الـ RNA كنسخ cDNA وهذا يسمح بالتحليل الجيني للفيروسات التي لا يمكن زرعها (فيروسات الـ الليمي) وفيروسات الـ RNA (لأن الطرق الجينية والكيميائية الحيوية لا تتوفر لمجينات RNA) ويضمن نقاوة متواليّة DNA الذي تتم دارسته وتجنب

التغيرات التي قد تحدث في الفيروس الأصلي خلال دورة التنسخ في خلايا الزرع. من الممكن الآن تقنياً إدخال أنماط مختلفة من الطفرات إلى مواقع محددة في نسل DNA الفيروسي. إن طفرات الإلغاء وطفرات الربط والطفرات النقطية مفيدة في التحليل الوظيفي لمتواليات الترميز والعناصر المؤثرة الفيروسية.

إن الأشكال الطافرة الشرطية المميتة هي طافرات مميتة (حيث لا يتم إنتاج فيروس قادر على الإخماج) وفق مجموعة من الشروط تسمى شروط غير سموحة، ولكنها تسبب الحصول على نسل طبيعي قادر على الإخماج تحت شروط أخرى والتي تسمى "شروط سموحة". إن الأشكال الطافرة الحساسة لدرجة الحرارة تنمو في درجات حرارة منخفضة "شروط سموحة" لكن ليس في درجات حرارة مرتفعة "شروط غير سموحة". تكون الأشكال الطافرة لمجال الأتوباء قادرة على النمو في نوع واحد من الخلايا (خلية سموحة) بينما يحدث خمج مُجهض في نمط آخر (خلية غير سموحة). بعد إدخال وعزل مجموعة من الأشكال الطافرة المميتة الشرطية يمكن للدراسات الإخماجية المختلطة بوجود زوج من الأشكال الطافرة في شروط تسمح وشروط أخرى لا تسمح أن تعطي معلومات حول وظيفة الجينة ومتواليات الجينة (خراطج جينية) وآلية التنسخ الفيروسي على المستوى الجزيئي.

الفيروسات المعطلة (المعيبة):

الفيروسات المعيبة هي التي تفتقد لجين وظيفي واحد أو أكثر من الجينات الضرورية للتنسخ الفيروسي. تحتاج الفيروسات المعيبة إلى فعالية مساعدة من فيروس آخر في بعض مراحل التنسخ أو النضج. يفتقد نمط من الفيروس المُعيب لجزء من المجين (أي طفرة إلغاء) ويختلف مقدار فقدان أو الإلغاء من متواليات أساسية قصيرة إلى مقدار كبير من المجين. قد تتداخل الأشكال التلقائية من طفرات الإلغاء مع تنسخ الفيروس المماثل وتسمى جسيمات فيروسية مُتداخلة معيبة. تكون هذه الجسيمات المُتداخلة قد فقدت أجزاء أساسية من المجين لكنها تمتلك بروتينات قفصية طبيعية وهي تحتاج لفيروس مماثل قادر على الإخماج كمساعد على التنسخ، وهي تتداخل في تكاثر الفيروس المماثل. لقد تم الافتراض أن جسيمات الفيروس المعيبة المتداخلة قد تلعب دوراً في حدوث وبقاء الأخماج المستمرة.

توجد فئة أخرى من الفيروسات المعيبة تحتاج لفيروسات أخرى منافسة كمساعدة، وتتضمن

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

الأمثلة الفيروسات المرتبطة بالفيروس الغدي وفيروس التهاب الكبد D (عامل دلتا) التي تنتسخ فقط في وجود الفيروسات الغذائية البشرية أو فيروس التهاب الكبد B على الترتيب. هذا ولم يتم استرداد عزلات غير معينة من هذا النمط من الفيروسات معينة. تختلف الوظيفة الأساسية للفيروس المساعد حسب النظام.

تعتبر الفيروسات الكاذبة نمطاً مختلفاً من الجسيمات معينة وتحتوي على DNA خلية الثدي بدلاً من مجين الفيروس. يحدث أحياناً خلل تنسخ الفيروس انغلاق للقيصة على أجزاء عشوائية من الحمض النووي للثدي بدلاً من الحمض النووي للفيروس، تبدو مثل هذه الجسيمات مثل جسيمات الفيروس الطبيعية عند رؤيتها بالمجهر الإلكتروني لكنها ليست كذلك عندما تنتسخ. قد تكون الفيروسات الكاذبة نظرياً قادرة على نقل الحمض النووي الخلوي من خلية لأخرى.

تكون الفيروسات القهقرية المتحولة معطلة (معيبة) عادة ويكون جزء من المجين الفيروسي قد ألغي وحل محله جزء من DNA من منشأ خلوي يرمز لبروتين محول. تسمح هذه الفيروسات بالتعرف على الجينات الورمية الخلوية. هذا وهناك حاجة لفيروس آخر من الفيروسات القهقرية كمساعد من أجل أن يحدث تنسخ الفيروس المتحول.

التفاعلات المتبادلة (التأثرية) بين الفيروسات:

عندما يقوم إثنين أو أكثر من جسيمات الفيروس بإصابة نفس خلية الثدي فقد تتفاعل (تتأثر) مع بعضها البعض بطرق مختلفة. يجب أن يكون هناك تشابه وثيق بينهما (عادة يكونان من نفس الفصيلة الفيروسية) لكي تحدث معظم هذه التفاعلات التأثرية. يؤدي التداخل الجيني (الوراثي) إلى نسل ينتقل بالوراثة ويكون مختلف مورثياً عن كلا من الوالدين من الفيروسات. يكون النسل الناتج عن التداخل غير الجيني مشابهاً للفيروسات الوالدية. تتأثر جزيئات الحمض النووي في حالة التأثيرات الجينية بينما في حالة التأثير غير الجيني تتأثر منتجات الجينات فقط.

أ - التآشب Recombination:

يؤدي التآشب لإنتاج نسل من الفيروسات (مأشوب) يحمل خلة trait ليست موجودة في أي من الوالدين. والآلية الكلاسيكية هي أن طاق الحمض النووي ينكسر ويتحد جزء من مجين أحد الوالدين مع جزء من مجين الوالد الآخر. يكون الفيروس المأشوب ثابتاً جينياً ويعطي نسلًا

مشابهة له عند التنسخ. تتفاوت الفيروسات بشكل واسع في تواتر خضوعها للتأشب. في حالة الفيروسات ذات المجين المجرأ مثل فيروس الإنفلونزا يُعزى تشكل المأشوب لإعادة التنسيق (التقارز) بين أجزاء مستقلة من المجين أكثر مما هو تفاعل تعابري فعلي ويحدث ذلك بسهولة.

ب - عودة نشاط (استنشاط) الفيروس Genetic Reactivation:

تمثل هذه الظاهرة حالة خاصة من التأشب. يحدث "إنقاذ الواصمة Marker rescue" بين مجين فيريون فعال مع مجين جسيم فيروسي معطل لسبب ما. يتأشب جزء من مجين الفيروس المعطل مع جزء من الفيروس الوالدي الفعال بحيث يتم إنقاذ واصمات معينة من الفيروس المعطل لتظهر في النسل العيوش. لا يكون أي من النسل الناتج مماثلاً للفيروس المعطل الأصلي ويكون النسل الذي يحمل الواصمات المُنقّذة للفيروس الوالدي المعطل ثابتاً جينياً.

يمكن أن يحدث عودة نشاط متعدد عندما تتفاعل جسيمات فيروس معطل عديدة في نفس الخلية لتولد فيروس حي غير معطل، قد يحدث ذلك عند استعمال محضر فيروسي متأذي بشكل كبير لإصابة خلايا بجمع متعدد. يحدث التأشب بين الحموض النووية المتخربة للوالدين مما ينتج عنه مجين عيوش يمكنه التنسخ. وكلما كان التخرب أكبر في مجين الوالدين كلما كان عدد الجسيمات المعطلة الضرورية لكل خلية أكبر لضمان تشكل مجين عيوش غير معطل.

ج - التتام Complementation:

وهذا يشير إلى التفاعل المتبادل بين منتجات الجين الفيروسي في خلايا مصابة بنوعين من الفيروسات أحدهما أو كلاهما معطل. ويحدث نتيجة لتنسخ أحد الفيروسين أو كلاهما في شروط لا يحدث فيها التنسخ بشكل طبيعي. إن أساس عملية التتام هو أن أحد الفيروسين يُقدم منتجا جينياً يكون معطلاً في الفيروس الثاني مما يسمح للفيروس الثاني بالنمو. ويبقى النمط الجيني للفيروسين دون تغير.

إذا كان الفيروسين الطافرين معطلين بالنسبة لنفس المنتج الجيني فلن يكن بالإمكان لأحدهما أن يتم نمو الآخر. لذلك لا يستخدم هذا الاختبار بشكل روتيني لتصنيف الأشكال الطافرة المميتة الشرطية لفيروس ما قبل إجراء تحليل كيميائي حيوي. مفصل لوظائف الجينة التي يقدمها هذا الشكل الطافر.

د - امتزاج النمط الظاهري phenotypic mixing:

توجد حالة خاصة من التآمل وهي امتزاج النمط الظاهري أو ارتباط نمط جيني مع نمط ظاهري مغاير (غير وري). يحدث ذلك عندما يدخل مجين أحد الفيروسات بشكل عشوائي ضمن بروتينات القفيصة لفيروس آخر أو قفيصة تحتوي مكونات الفيروسين. إذا دخل المجين ضمن غلاف بروتيني مغاير كلياً فهذا المثال من امتزاج النمط الظاهري يمكن تسميته قناع النمط الظاهري phenotypic masking أو ناقلة تصنيع القفيصات transcapsidation. لا يُعتبر مثل هذا التمازج تغييراً جينياً ثابتاً لأنه عند التنسخ سوف يُعطي الوالد الذي حدث له امتزاج النمط الظاهري نسلًا مغلفاً ضمن قفيصات مماثلة للنمط الجيني.

يحدث امتزاج النمط الظاهري عادة بين أعضاء مختلفين من نفس الفصيلة من الفيروسات. يجب أن تكون بروتينات القفيصة الممتزجة قادرة على التفاعل بشكل صحيح لتشكيل قفيصة سليمة بنويًا. لكن قد يحدث أيضاً امتزاج النمط الظاهري بين فيروسات مغلفة وفي هذه الحالة ليس من الضروري أن تكون الفيروسات متشابهة متقاربة. تصبح القفيصة المُنوأة لأحد الفيروسات مغلفة ضمن غلاف نوعي لنوع آخر وهي ظاهرة تسمى بشكل نمطاً كاذباً pseudotype وهناك أمثلة عديدة حول تشكل النمط الكاذب بين فيروسات RNA الورمية. تميل القفيصة المُنوأة لفيروس التهاب الفم الحويصلي (الفيروسات الربدية) بشكل غير اعتيادي لتشكيل نمط كاذب مع مادة غلاف فيروس غير قريب منها.

هـ - التداخل Interference:

تؤدي الإصابة الخمجية بنوعين من الفيروسات للمزارع الخلوية أو الحيوانات الكاملة غالباً إلى تثبيط تضاعف أحد نوعي الفيروسات وهذا التأثير يسمى التداخل. هذا ويتميز التداخل لدى الحيوانات عن المناعة النوعية. وأكثر من ذلك لا يحدث التداخل في كل البنى الفيروسية حيث يمكن لنوعين من الفيروسات أن يصيب ويتكاثر ضمن نفس الخلية بشكل فعال كما في حالة الخمج المفرد.

تم توضيح آليات عديدة لأسباب التداخل: (1) قد يُثبط أحد الفيروسين قدرة الثاني على الامتزاز على الخلية إما بحضر مستقبلاتها (الفيروسات القهقرية، الفيروسات المعوية) أو بتخريب مستقبلاتها (الفيروسات المخاطية القوية). (2) قد يتنافس أحد الفيروسين مع الثاني على

مكونات جهاز التنسخ (مثل البوليميراز، عامل بدء الترجمة). (3) قد يجعل الفيروس الأول الخلية المصابة تنتج مثبطاً (الإنترفيرون) يمنع تنسخ الفيروس الثاني. المجينات الفيروسية كنواقل:

أ - DNA المأشوب:

أحدثت تقنية الـ DNA المأشوب ثورة في إنتاج المواد الحيوية والهرمونات واللقاحات والإنترفيرون والمنتجات الجينية الأخرى. تتم هندسة مجينات الفيروسات كي تخدم كنواقل إظهار (تعبير) وتنسخ للجينات الخلوية والفيروسية معاً. يمكن تحويل أي فيروس إلى ناقل في حال وجود معرفة كافية حول وظائف التنسخ وضبط الانتساخ وإشارات التغليف. تعتمد تقنية الناقل الفيروسي على فيروسات DNA (الفيروسات الهربسية، الفيروسات الغدائية، فيروسات الورم الحليمي البشري، الفيروسات الصغيرة، SV40، فيروس الوقس) وفيروسات RNA (الفيروسات السنجابية، فيروس سونديس، الفيروسات القهقرية). ولكل نظام ميزاته ومساوئه. تحتوي نواقل الإظهار النموذجية حقيقية النواة على عناصر تنظيم فيروسية (محرزات promoters أو محرضات enhancers) تضبط انتساخ الجينة المُتسللة المرغوبة المجاورة، وإشارات من أجل الإنهاء الفعال وعملية تذييل بغير الأدينيلات للنسخ وتحتوي أيضاً متواليات إدخال مرتبطة بمعطى للتضفير ومواقع مُتَقَبَلَات. قد تكون هناك متواليات تحرض الترجمة أو تؤثر على الإظهار في نمط خلوي معين. تقدم هذه الطريقة إمكانية إنتاج مقادير كبيرة من المستضد النقي لأغراض اللقاح.

ب - الانتقال الجيني المتواسط بالفيروسات في خلايا الثدييات:

عندما يصبح بالإمكان تقديم معلومات جينية خارجية بشكل ثابت إلى خلايا حقيقية النواة فإن هذا قد يسمح بإصلاح العيوب الجينية. يمكن على سبيل المثال تصحيح حالة الغالاكتوزيميا الخلقية بإدخال جينة الغالاكتوزيداز (إنزيم) إلى خلايا المريض. هناك نتائج مشجعة في بعض الأنظمة التجريبية. وما زالت الدراسات الهادفة لإصلاح الجينات البشرية في مراحلها الأولية. يتم إجراء محاولات لاستخدام معالجة الجينات للتعامل مع الخلايا لدى مرضى الإيدز لجعلها مقاومة للعدوى بفيروس العوز المناعي البشري. إن المعالجة الجينية هي أيضاً تحت التطوير لمعالجة السرطانات.

يمكن إجراء نقل الجين في الجراثيم عن طريق الاستحالة transformation و التنبغ العائوي phage transduction والاتحاد Conjugation. في الخلايا حقيقية النواة تم إجراء نقل الجينة بالاستحالة Transformation والحقن الصغري microinjection ونقل transfection لأجزاء DNA أو المجينات المأشوية. تمت دراسة إحدى طرق المعالجة الجينية للأعطال الوراثية لدى البشر وهي استخدام نواقل من الفيروس المعيب تحمل جينات منسلة مستبدلة. في حالة الفيروسات القهقرية أو أي نظام نقل آخر من الصعب إيصال الناقل إلى الخلايا المستهدفة المناسبة لدى البشر لإحداث تبدل في جزء كبير من الخلايا المستهدفة و قد يكون تعبير الجينة المدخلة غير متوقع. هناك أيضاً مشاكل حول عدم التوافق المناعي المحتمل للمنتجات الجينية الجديدة وإمكانية انتقال جينات غير مرغوب بها مع الجينات المطلوبة، و حدوث تأثيرات جانبية خطيرة تعزى لموقع تداخل الناقل وتبدل في نظام التعبير الجيني مما قد يكون ضاراً ومؤذياً.

VI-الإمراضية الفيروسية:

يمكن للفيروسات بتعريفها أن تنتسخ داخل الخلايا الحية فقط ونتيجة لذلك فإن التظاهرة الإمراضية الأولى للخمج الفيروسي تشاهد على المستوى الخلوي. إن مجموعة الأحداث التي تلي التعرض الأولي لبعض الفيروسات قد تتضمن البداية السريعة للأعراض الملاحظة والتي تسمى الخمج الحاد. وبشكل بديل فإن الخمج الأولي بواسطة فيروسات أخرى قد يكون معتدلاً أو دون أعراض. بعد الخمج الأولي تكون النتيجة الأكثر شيوعاً هي أن الفيروس يتم تصفيته بشكل كامل من الجسم بواسطة الجهاز المناعي. ويحدث لبعض الفيروسات بعد الخمج الأولي واحد من احتمالين لهما أهمية طبية وهما: (1) حدوث الخمج المستمر. (2) حدوث الخمج الكامن.

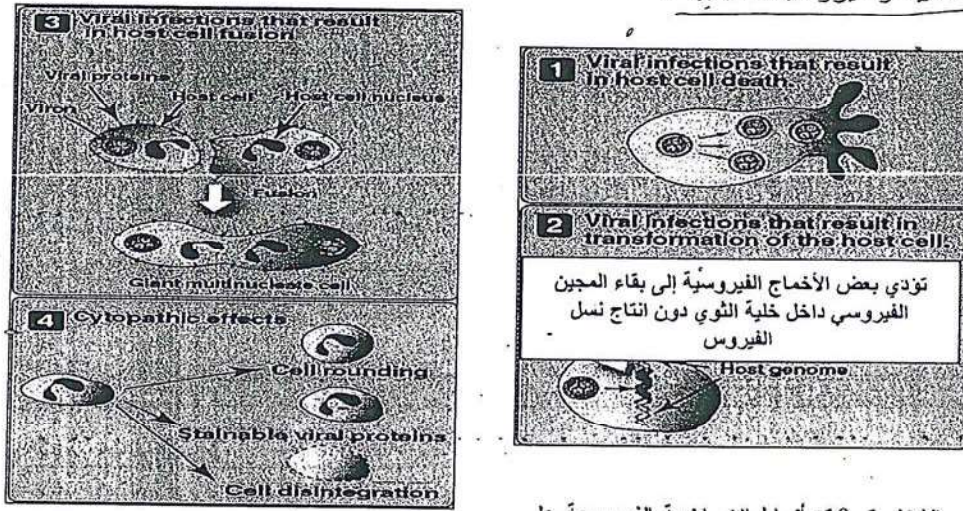
أ- الإمراضية الفيروسية على المستوى الخلوي:

تبدلي الخلايا أنواعاً مختلفة من الاستجابات تجاه الخمج الفيروسي وفقاً للنمط الخلوي ونوع الفيروس. لا يسبب العديد من أحماج الفيروسات تغيرات وظيفية أو شكلية واضحة في الخلية. عندما تحدث مثل هذه التغيرات يمكن التعرف على العديد من الاستجابات (المترابكة أحياناً) (الشكل 1-19)

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

1- موت الخلية cell death: يمكن أن تموت الخلية مباشرة بسبب الفيروس ويعزى ذلك في معظم الحالات إلى تثبيط اصطناع الـ DNA الخلوي، و الـ RNA ، والبروتين. بعض الفيروسات لها جينات معينة مسؤولة عن هذا التثبيط. تحرر الخلايا الميتة نسل من الفيروسات يقوم بتكرار عملية التتسخ. ومن الأمثلة على الفيروسات التي تقتل خلاياها الثوية الفيروسة الغذائية والفيروسة السنجابية.

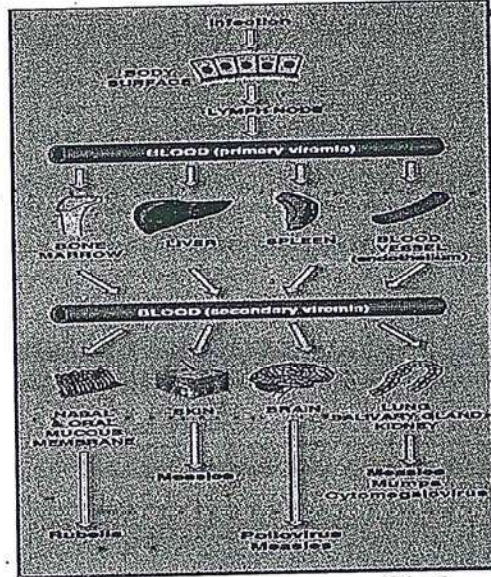


الشكل 1-19: أنماط الأمراض الفيروسية على المستوى الخلوي

2- الاستحالة Transformation: يمكن لبعض الفيروسات أن تحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا خبيثة وهذا يعتبر من جوانب كثيرة عكس الموت الخلوي لأن الخلايا الخبيثة تكون أقل تطلباً لمتطلبات النمو من الخلايا الطبيعية ولها مدة حياة ممتدة بشكل لا نهائي. إن الاستحالة هي عملية جينية غير عكوسة يسببها تكامل الـ DNA الفيروسي مع DNA الثوي.

3- الالتحام الخلوي Cell fusion: تسبب إصابة الخلايا الخمجية بفيروسات معينة التلاحم الخلايا مما ينتج عنه خلايا عملاقة متعددة النوى (نوع خاص من CPE). تتضمن الفيروسات التي لها هذه الخاصية الفيروسات الهربسية و الفيروسات المخاطانية. وتعزى قابلية الخلايا المخموجة للالتحام على الأرجح إلى التغيرات التي يحدثها الفيروس في بنية الغشاء الخلوي.

4- التأثير المرضي للخلايا (CPE) : تعبير عام يشير إلى تغير مرئي في مظهر الخلية المخموجة، على سبيل المثال استدارة الخلايا، وإنتاج بقع من البروتينات الفيروسية القابلة للتلون داخل الخلية، وتفكك الخلايا. يمكن التعرف على بعض الفيروسات في وقت بدء المرض من نموذج CPE في المزرعة الخلوية وكذلك من أنماط الخلايا التي سببت الفيروسات فيها تغيرات CPE .



الشكل 1-20: أمثلة عن انتشار الفيروس إلى المواقع الثانوية في الجسم

ب- الأخماج الأولية:

بعد التكاثر البدئي في الموقع الأولي لدخول الفيروس فإن خمج الفيروس يمكن أن يكون موضعاً أو قد يصبح منتشرًا. يمكن للخمج أن يكون لا عرضياً (غير ظاهر) أو عرضياً فتظهر الأعراض النموذجية للمرض غالباً بشكلين مختلفين زمنياً: (1) الأعراض المبكرة في الموقع الأولي للخمج (2) الأعراض المتأخرة وتغزى إلى الانتشار من الموقع الأولي مما يسبب انتشار الخمج إلى مواقع ثانوية. إن سير الخمج الحاد (أي درجة الانتشار وشدة المرض....الخ) ليست صفة مطلقة لنوع فيروسي معين و يتأثر ذلك بشكل رئيسي بفعالية ونمط آليات دفاع اللّوي وفوعة الفيروس الخامج. قد يحدث انتقال الفيروس قبل أن تظهر أعراض المرض المعقدة مما يجعل ضبط انتشار الأمراض الفيروسية أمراً صعباً.

1- طرق الدخول والانتشار إلى المواقع الثانوية:

تكون الطرق الشائعة لدخول الفيروسات إلى الجسم بشكل رئيسي هي حالة الأخماج الجرثومية (أي من خلال الجلد والسبيل التنفسي والسبيل المعوي والسبيل البولي التناسلي). وفي كل من هذه الحالات تبقى بعض الفيروسات متوضعة وتسبب مرضاً يقتصر بشكل كبير على هذا الموقع الأولي للخمج. وتخضع بعض الفيروسات الأخرى لدورة تكاثر في الخلايا في الموقع الأولي مما قد يترافق أو لا مع ظهور أعراض يلي ذلك مهاجمة الجهاز اللمفي والدم.

يسمى وجود الفيروس في الدم بـ *viremia* ، وبذلك ينتشر الفيروس في أنحاء الجسم ويمكن أن يغذي الخلايا في المواقع الثانوية المميزة لكل نوع معين من الفيروسات وبذلك يسبب المرض المترافق بشكل نموذجي مع هذا النوع (الشكل 1 - 20).

أ- الجلد: يتضمن الدخول عبر الجلد عادة وجود انكسار في سطح الجلد بسبب سحجة أو جرح أو دخول العامل الممرض بواسطة حشرة أو عضة حيوان أو إبرة. الشكل الأول هو الطريق النموذجي لأخماج الفيروسات التي تبقى موضعة في الجلد (مثل الفيروسات التي تسبب الثآليل). أما التلقيح من جهة أخرى فيؤدي عادة إلى أخماج منتشرة.

ب- السبيل التنفسي: تسبب الفيروسات التي تدخل الجسم من خلال السبيل التنفسي وتبقى موضعة أعراضاً تكون بشكل رئيسي في الممرات التنفسية (مثل الفيروسات الأنفية المسببة للزكام). وهناك فيروسات أخرى يتم استنشاقها وتنتشر في الأجهزة بعد الخمج الأولي وتنتج مرضاً مميزاً بسبب الإصابة الخمجية للخلايا في مواقع ثانوية (مثل الحصبة و الحماق).

ج- السبيل المعوي المعوي: تتبع الفيروسات التي تسبب الإصابة من خلال السبيل المعوي المعوي نموذج انتقال مميز " فموي - برازي " (أي أن الفيروس يدخل من خلال الفم عن طريق مادة ملوثة بالبراز). قد تسبب الفيروسات التي تبقى متوضعة في خلايا السبيل المعوي المعوي أعراضاً مثل مرض الإسهال (مثل الفيروسات الغدائية المعوية أو الفيروسات العجلية). لكن العديد من أخماج الفيروسات التي تبقى متوضعة في السبيل المعوي المعوي تكون لأعراضية (أي يمكن استرداد الفيروس من عينات البراز من أشخاص لا عرضيين). بعض الفيروسات

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

التي تُعدي من خلال السبيل المعدي المعوي تدخل الجهاز اللمفي والدم ومنها تنتشر إلى أعضاء معينة. ويمكن أن تسبب أمراضاً ذات أعراض غير متعلقة بالسبيل المعدي المعوي مثلاً في الكبد (التهاب كبد) أو الجملة العصبية المركزية (الفيروسات السنجابية).

د- السبيل البولي التناسلي: تنتقل الفيروسات التي تصيب هذا الطريق بشكل رئيسي خلال الاتصال الجنسي. يمكن أن تسبب مثل هذه الفيروسات (مثل فيروس الهربس البسيط) آفات حويصلة قرحية موضعية. يمكن أن يؤثر انتشار الفيروس على الأنسجة خارج السبيل البولي التناسلي مثل CNS حيث يمكن للفيروسات الهربسية أن تسبب التهاب السحايا أو التهاب الدماغ (ملاحظة: النساء المصابات بجمع فيروسي تناسلي يمكن أن يمرروا الفيروس إلى الوليد خلال مروره من قناة الولادة).

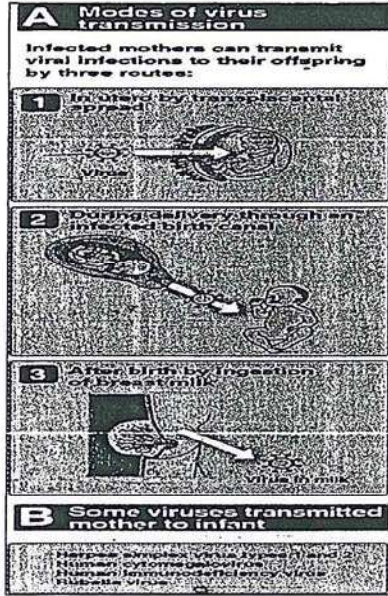
2- المواقع الثانوية النموذجية للتوضع:

تحدد المواقع الثانوية للجمع طبيعة الأعراض المتأخرة كما تحدد عادة الخصائص الرئيسية المترافقة مع المرض الناتج. تبدي الفيروسات غالباً ميلاً تجاه أنماط نوعية من الخلايا والأنسجة. وهذه النوعية سببها عادة وجود مستقبلات سطحية خلوية نوعية في الثوي تتعرف عليها فيروسات معينة. وبينما يكون أي نسيج أو عضو معين هو هدف محتمل لجمع فيروسي فهناك القليل من الأعضاء أو الأنسجة يكون لها أهمية أكبر فيما يتعلق بالأمراض الفيروسية.

أ- الجلد: يمكن أن يؤدي تقيُّس الدَّم إلى طفح يغزى إلى عذوى الخلايا في الظهارة ، هذا النمط من الطفح يحتوي على الفيروس المعدي ويجب تمييزه عن الطفح المترافق مع الفيروس الذي له أساس مناعي ولا يحتوي على فيروسات.

ب- الجملة العصبية المركزية: إن الطريق الأكثر شيوعاً الذي تُعدي به الفيروسات الجهاز العصبي المركزي هو عندما يُحمل الفيروس بالدم إلى الخلايا البطانية للأوعية الدماغية ولكنها في النهاية تتحرر إلى الدماغ بحد ذاته ، أو بشكل بديل يمكن للفيروس أن يتحرر من الخلايا البطانية إلى السائل الدماغي الشوكي في الضفيرة المشيموية choroid plexus.

وهناك طريق هام آخر أقل شيوعاً للانتشار الفيروسي وهو الهجرة المخوارية للفيروس من النهايات العصبية المحيطية مباشرة إلى CNS (مثلاً هذا الطريق الأخير يستخدمه فيروس داء الكلب).



الشكل 1-21: الانتقال (العمودي) للأخماج الفيروسية من الأم إلى الرضيع

ج- الجنين: يمثل الجنين موقعاً خاصاً وهاماً جداً للتوضعات الثانوية لأخماج (عداوى infections) الفيروسات. يمكن أن يُعدي الفيروس من دوران الأم خلايا المشيمة وبالتالي يجد لنفسه طريقاً إلى دوران الجنين وفي النهاية إلى كافة أنسجة الجنين المتنامي. وتكون النتيجة غالباً وفاة الجنين أو شذوذات تطوره، حيث أن الخلايا التي تشارك في نمو و تمايز الأعضاء تتأذى أو يقتلها الخمج. يمكن أن تحدث أيضاً عدوى حديثي الولادة خلال الولادة عندما يصبح الجنين بتماس مع

الإفرازات التناسلية المصابة للأم أو عن طريق الإرضاع الوالدي (الشكل 1-21).

3- إطراح الفيروس وطريقة الانتقال:

تحدد بشكل كبير طريقة انتقال مرض فيروسي بواسطة الأنسجة التي تنتج نسل الفيروس، و/أو السوائل التي تتحرر فيها. وهي ليصت بالضرورة مواقع ثانوية للخمج لكنها في العديد من الحالات موقع أولي للإصابة الخمجية في وقت يسبق ظهور الأعراض. وتكون النسيج المتورطة بشكل شائع في الإطراح الفيروسي: الجلد والسبيل التنفسي و السبيل البولي التناسلي وسوائل الجسم (مثل البول والسائل المنوي والحليب والدّم).

4- العوامل المساهمة في إنهاء الخمج الحاد:

في الخمج الحاد النموذجي دون مضاعفات يتم التخلص من الفيروس بشكل كامل من الثدي خلال 2 - 3 أسابيع. وهذه النتيجة هي بشكل رئيسي بتأثير الجهاز المناعي للثدي وبمشاركة الاستجابة الخلطية والاستجابة المتوسطة بالخلايا. إن الأهمية النسبية لهاتين الاستجابتين تعتمد على الفيروس وطبيعة المرض:

أ- الاستجابات المتوسطة بالخلايا (مناعة خلوية): تكون الاستجابة المناعية المبكرة لخمج الفيروسات استجابة التهابية معممة تترافق مع قتل غير نوعي للخلايا المُنعدية (المخموجة) بواسطة الخلايا الفاتكة الطبيعية. تتعرض هذه الفعالية الأخيرة بالإنترفيرون والسييتوكينات الأخرى وتبدأ قبل فترة من الاستجابة المناعية النوعية للفيروس. وبعد ذلك يحدث انحلال خلوي بواسطة اللمفاويات التائية السامة للخلايا التي تتعرف على ببندبات الفيروس التي تظهر على السطح الخلوي وتقوم أيضاً بالتخلص من الخلايا المخموجة. هذه الاستجابات الخلوية هامة بشكل خاص في أنها تساعد في الحد من الخمج عن طريق قتل الخلايا المخموجة قبل أن تحرر نسل الفيروس (ملاحظة: المحددات المناعية على السطح الخلوي التي تتعرف عليها الخلايا التائية تشق غالباً من البروتينات الداخلية أو غير البنيوية للفيروس. وبذلك فإن هذه الاستجابة تتم تعطيل الفيروس الحر عن طريق الأضداد الخلطية الموجهة ضد بروتينات القفيصة أو الغلاف. كذلك فإن استجابة الخلايا التائية تميل إلى أن تكون نوعية للمجموعة أكثر من نوعيتها للذرية أو النوع لأن البروتينات الداخلية وغير البنيوية يتم المحافظة عليها بدرجة أعلى بين الفيروسات القريبة من بعضها أكثر من بروتينات القفيصة).

ب- الاستجابة الخلطية: بينما تكون الأضداد الجائلة موجهة ضد أي من بروتينات الفيروس فإن الأضداد ذات الأهمية الأكبر في ضبط الخمج تتفاعل بشكل نوعي مع الحواتم (في المستضد) epitopes على سطح الفيرون وتؤدي إلى تعطيل القدرة الإخماجية (الإعداء) للفيروس، تسمى هذه العملية الاستبدال neutralization. لهذه الاستجابة أهمية رئيسية في التخفيف من الأمراض التي تكتف مرحلة وجود الفيروسات بالدم. لكن الأضداد في المفرزات (IgA) تلعب أيضاً دوراً وقائياً هاماً في الإخماج الأولية للسبيل التنفسي والسبيل المعدي المعوي. كما تلعب الأضداد الخلطية دوراً في قتل الخلايا المخموجة بإحدى آليتين :

- (1) السمية الخلوية المتوسطة بالخلايا المعتمدة على الأضداد حيث الخلايا الفاتكة الطبيعية والكريات البيض الأخرى التي تحمل مستقبلات Fc ترتبط مع أجزاء Fc من الأضداد المشكلة لمعقدات مع مستضدات الفيروس على سطح الخلية المخموجة وتقتلها.
- (2) الانحلال الذي تتوسطه المتممة للخلايا المخموجة التي تكون الأضداد النوعية للفيروس مرتبطة بها.

ج- الأخماج المستمرة:

الخمج المستمر (المزمن) هو الخمج الذي يكون فيه الفيروس موجوداً بشكل مستمر (عادة بغير انخفاض) خلال فترة ممتدة من الوقت بعد انتهاء الخمج الحاد والمرض. قد لا يكون هناك مرض ظاهر مرتبط بتأذي الخلايا أو الأنسجة بواسطة تنسخ الفيروس بحد ذاته لكن هناك غالباً تطور متأخر لمرض ذو أساس مناعي يعزى مثلاً لترسب معقد مناعي أو سمية خلوية مناعية. كإتية متوسطة بالخلايا. إن الأخماج المستمرة لها أهمية وبائية أكبر لأن إطراح الفيروس من أشخاص مصابين لا عرضيين يعمل كمصدر مستمر للفيروس ضمن مجموعات الناس. يعد فيروس التهاب الكبد B مثال هام عن الفيروس البشري الذي يؤدي لأخماج مستمرة.

د- الأخماج الكامنة:

يتميز عادة الخمج الكامن عن الخمج المستمر في أن الفيروس لا يكون ظاهراً بشكل مستمر و عوضاً عن ذلك هناك تناوب بين فترات من التنسخ الفعال للفيروس والقتل الخلوي مع فترات لا يوجد فيها فيروس خامج أو دليل على تنسخ الفيروس. ويتظاهر المرض عادة فقط خلال فترات المعاودة (أو النكس) من تنسخ الفيروس. تكون الفيروسات الهربسية البشرية كلها قادرة على التسبب بأخماج كامنة.

VII- التشخيص المخبري:

توجد خمس طرق لتشخيص الأمراض الفيروسية باستخدام العينات السريرية: 1- التعرف على الفيروس في المزرعة الخلوية 2- التعرف بالفحص المجهرى المباشر للعينات 3- الإجراءات المصلية لكشف ارتفاع عيار الأضداد من نوع IgM 4- كشف المستضدات الفيروسية في الدم أو سوائل الجسم 5- كشف الحموض النووية الفيروسية في الدم أو خلايا المريض.

التعرف في المزرعة الخلوية:

يمكن أن ينمو العديد من الفيروسات في المزارع الخلوية أو في البيوض المخصبة وذلك ضمن شروط مضبوطة صارمة. وما زال حتى الآن يُستخدم نمو الفيروسات في الحيوانات من أجل العزل الأولي لفيروسات معينة ومن أجل دراسة الآلية الإمراضية للأمراض الفيروسية والقدرة المسرطنة لها. تحاول مخابر التشخيص استرداد الفيروسات من العينات السريرية من أجل

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

تحديد أسباب الأمراض كما وتقوم المخابر البحثية بزرع الفيروسات كأساس من أجل التحليل المفصل للتعبير والتتسخ الفيروسي .

سهل توفر الخلايا التي تنمو في الزجاج تشخيص وزرع الفيروسات المعزولة حديثاً وتحديد خصائص الفيروسات المعروفة سابقاً. هناك ثلاثة أنماط رئيسية من المزرعة الخلوية. تتم الزروع الأولية عن طريق بثره الخلايا (عادة بواسطة الترسين) من أنسجة منزوعة حديثاً من الثدي وتكون بشكل عام غير قادرة على النمو إلا لعدة إمرارات في المزرعة. إن الخطوط الخلوية الضيقانية هي مزارع ثانوية خضعت لتغير يسمح بزرعها بشكل محدود (حتى 50 إمرار) مع المحافظة على النموذج الطبيعي للصبغي لديها. إن الخطوط الخلوية المستمرة هي مزارع قادرة على النمو لفترة أطول (ربما بشكل غير محدد) وتم اشتقاقها من الخطوط الخلوية الضيقانية أو من أنسجة خبيثة. وتكون قد بدلت حتماً وتحتوي عدداً غير منتظم من الصبغيات. يعتمد نمط خط الزرع الخلوي المستخدم للزرع الفيروسي على حساسية الخلايا تجاه فيروس معين.

أ - كشف الخلايا المصابة بالفيروس:

يمكن رصد تضاعف الفيروس بطرق مختلفة:

1 - تطور تأثيرات إمراضية للخلايا (CPE) كظهور تغيرات شكلية في الخلايا. تتضمن أنماط التأثيرات المرضية الخلوية التي تحدثها الفيروسات انحلال الخلية أو تنخرها أو تشكل مشتملات ضمنها و تشكل خلية عملاقة أو تشكل فجوات في الهيولى. تحدث معظم الفيروسات بعض التأثيرات الإمراضية الخلوية الواضحة في الخلايا المصابة والتي تميز بشكل عام المجموعة الفيروسية.

2 - ظهور بروتين مرزوم من قبل الفيروس كما هو الحال في ظهور الراصة الدموية لفيروس الإنفلونزا هذا ويمكن استخدام مصول ضدية نوعية لكشف اصطناع البروتينات الفيروسية في الخلايا المصابة.

3 - امتزاز الكريات الحمر على الخلايا المصابة ويدعى الامتزاز الدموي وهو يعزى لوجود رصاصات دموية يرمزها الفيروس (فيروسات النزلة الوافدة ونظيرة النزلة الوافدة) في الأغشية

الخلوية. يصبح هذا التفاعل إيجابياً قبل أن تصبح التغيرات الإمراضية في الخلايا مرئية وفي بعض الحالات يحدث الامتزاز في غياب حدوث التأثيرات الإمراضية الخلوية.

4 - كشف الحمض النووي للفيروس. تؤمن المقاييس المعتمدة على الجزيئات مثل تفاعل البوليميراز السلسلي طرق سريعة وحساسة ونوعية للكشف.

5 - نمو الفيروس في مُضغّة بيضة الدجاج قد يؤدي لموت الجنين (مثل فيروسات التهاب الدماغ)، أو ظهور بثرات أو لويحات على الغشاء السقياني المشيمائي (مثل الهربس والجذري والوقس) أو تطور رصاصات دموية في السوائل الجنينية أو أنسجته (مثل النزلة الوافدة) أو تطور الفيروس الخامج (مثل الفيروس السنجابية نمط 2).

ب - تشكل المُشتملات:

قد يتم خلال دورة تنسخ الفيروس ضمن الخلايا إنتاج بنى نوعية للفيروس تدعى المُشتملات. وتصبح بحجم أكبر من جسيم الفيروس بحد ذاته ويكون لها غالباً ألفة تجاه الأصباغ الحامضية (مثل الإيوزين) ويمكن لها أن تتوضع ضمن النواة (الفيروس الهربسية) أو في الهيولى (الفيروس الجذرية) أو في كليهما (فيروس الحصبة). تكون المُشتملات في العديد من الأحماج الفيروسية موقعاً لتطور الفيرونيات (المعامل الفيروسية). يعتمد كثيراً التفاوت في ظهور المُشتملات على المُنبّت النسيجي المستخدم. قد يكون لوجود المُشتملات فائدة تشخيصية هامة كما هو الحال في وجود مُشتملات داخل هيولى الخلايا العصبية (أجسام نيجري) وهي واصمة على الإصابة بداء الكلب.

إذا لم يحدث الفيروس CPE فيمكن كشف وجوده بواسطة تقنيات أخرى متعددة:

1- الامتزاز الدموي: أي ارتباط الكريات الحمر إلى سطح الخلية المصابة بالفيروس. هذه الطريقة محدودة بالفيروسات التي تمتلك بروتين الراصة الدموية على غلافها مثل فيروسات النكاف، النزلة الوافدة ونظيرة النزلة الوافدة.

2- التداخل: وذلك بأحداث CPE بواسطة فيروس ثاني فمثلاً يمكن كشف فيروس الحصبة الألمانية والذي لا يسبب CPE بواسطة التداخل في تشكيل CPE فيروسات معوية معينة مثل فيروسات الإيكو أو فيروسات الكوكساي.

3- تناقص إنتاج الحمض في الخلايا المصابة المحتضرة. يكشف ذلك عياناً بواسطة تغيير لون

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

أحمر الفينول (مشرع PH) في وسط الزرع. حيث يبقى المشعر بلون أحمر (قلوي) عند وجود خلايا ذات استقلال طبيعي كنتيجة لإنتاج الحمض. يمكن استخدام هذه التقنية لكشف فيروسات معوية معينة. يوضع التشخيص النهائي للفيروس الذي نما في المزرعة الخلوية باستخدام أضداد معروفة في إحدى الاختبارات المتعددة. وأكثر الاختبارات المستخدمة عادة هي تثبيت المتممة، تثبيط التراص الدموي، تعديل CPE وكذلك بعض الإجراءات الأخرى التي تستخدم في حالات خاصة مثل الأضداد المتألقة، المقاييس المناعية الشعاعية، مقاييس المتممات المناعية المرتبطة بالإنزيم ELISA، والمجهر الإلكتروني المناعي. ستشرح هذه الاختبارات بشكل مختصر.

تثبيت المتممة:

إذا كان المستضد (الفيروس المجهول في سائل المزرعة) والضد المعلوم متطابقين homologous يتم تثبيت المتممة (ترتبط) إلى معقد الضد-مستضد وهذا يستنفذها فلا تحل جملة المشعر المكون من خلايا الدم الحمراء المحسنة.

تثبيط التراص الدموي:

إذا كان الضد والمستضد متطابقين فسيتم حصار الفيروس ومنعه من الارتباط مع الكريات الحمر فلا يحصل ترصص دموي. تتيح هذه الطريقة التعرف على الفيروسات الراصة لخلايا الدم الحمراء فقط.

الاستبدال (التعديل):

إذا كان الضد والمستضد متطابقين يحصر الضد المرتبط إلى سطح هذا الفيروس ويمنعه من دخول الخلية. تعدل هذه الطريقة قدرة الفيروس على الخمج لأنها تمنع تنسخ الفيروس وبالنتيجة تمنع تشكل CPE أو إصابة الحيوان.

مقاييس الأضداد المتألقة:

إذا كانت الخلايا المصابة بالفيروس والضد الموسوم بالفلورسنتين متطابقين سيؤدي ذلك لرؤية لون الفلورسنتين الأخضر التفاحي النموذجي في الخلايا بواسطة المجهر فوق البنفسجي. المقاييس المناعية الشعاعية:

إذا كان الفيروس والضد متطابقين فلا يبقى سوى كمية قليلة من الأضداد التي ترتبط مع

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

فيروس معلوم موسوم شعاعياً

مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA:

من أجل تحديد الفيروس بطريقة ELISA يتم ربط ضد معلوم إلى السطح. إذا كان الفيروس موجوداً في عينة المريض فسيرتبط بالضد. تضاف عينة من الضد المرتبط بالأنزيم الذي يرتبط مع الفيروس المرتبط بالضد. تضاف ركيزة الأنزيم substrate وتحدد كمية الأنزيم المرتبط.

المجهر الإلكتروني المناعي:

عندما يكون الضد والمستضد متطابقين تشاهد معقدات الضد-الفيروس بواسطة المجهر الإلكتروني.

التعرف المجهري:

يمكن كشف الفيروسات والتعرف عليها بواسطة الفحص المجهري للعينات السريية مثل الخزعة أو الآفات الجلدية يمكن استخدام ثلاث إجراءات مختلفة (1) يستطيع المجهر الضوئي إظهار أجسام اندخالية مميزة أو خلايا عرطلة متعددة النوى. وتعد لطاخة ترانك مثلاً جيداً لهذا الإجراء حيث تظهر وجود خلايا عرطلة متعددة النوى في الآفات الحويصلية الجلدية الناتجة عن فيروس الحلا: (2) المجهر فوق البنفسجي: يستخدم في تلوين الفيروس ضمن الخلايا المصابة بالأضداد المتألقة. (3) المجهر الإلكتروني: يظهر جزيئات الفيروس التي تميز من خلال حجمها وشكلها.

الإجراءات المصلية:

يمكن استخدام ارتفاع عيار الأضداد في هذه الطريقة لتشخيص الانتان الحالي. يتم الحصول على عينة من المصل عندما تتوقع المسبب الفيروسي (الطور الحاد Acute-phase)، ويتم الحصول على العينة الثانية بعد (10-14) يوم (طور النقاهة Convalescent-phase). فإذا كان عيار الأضداد في عينة المصل المأخوذ في دور النقاهة أعلى بأربعة أضعاف على الأقل من عيار الأضداد في عينة الطور الحاد فيعتبر المريض أنه قد أصيب بالانتان. فمثلاً إذا كان عيار الأضداد في الطور الحاد 4/1 وعيار الأضداد في دور النقاهة 16/1 فالمريض لديه ارتفاع مميز في عيار الأضداد ويكون مصاباً بالانتان حديثاً. ومن جانب آخر إذا كان عيار

الأضداد في طور النقاثة 8/1 فلا يعد ارتفاعاً مميزاً ولا يفسر كعلامة على انتان حديث. من المهم أن ندرك أن عيار الأضداد في عينة واحدة لا يميز بين انتان حالي وسابق. يمكن تحديد عيار الأضداد بالعديد من الاختبارات المناعية المشار إليها في الأعلى: يوضع التشخيص المصلي عادة بشكل راجع حيث يكون المرض قد بدأ سيره عادة في الوقت الذي تم الحصول فيه على النتائج المصلية.

يتم الاعتماد في أمراض فيروسية معينة على وجود الأضداد IgM لتشخيص الانتان الحالي فمثلاً: يشير وجود الضد من نوع IgM للمستضد اللبي إلى انتان بفيروس التهاب الكبد B. كما تتوافر إجراءات مصلية أخرى غير نوعية كاستخدام اختبار الأضداد المتغايرة (Monospot) لتشخيص داء وحيدات النوى. الخمجي.

كشف المستضدات الفيروسية:

يمكن كشف المستضدات الفيروسية في دم المريض أو سوائل الجسم بواسطة اختبارات مختلفة والأكثر استخداماً هي طريقة ELISA. والأمثلة الشائعة لهذا الإجراء هي الاختبارات لكشف المستضد P24 لفيروس HIV والمستضد السطحي لفيروس HBV.

كشف الحموض النووية الفيروسية:

يمكن كشف الحموض النووية الفيروسية أي المجين الفيروسي أو mRNA الفيروسي في دم المريض أو أنسجته باستخدام (DNA أو RNA) المتمم Complementary (cRNA أو cDNA) كمسبار. إذا وجدت كمية قليلة من الحموض النووية الفيروسية عند المريض فيمكن استخدام PCR لتضخيم الحموض النووية الفيروسية. تستخدم بشكل شائع مقاييس RNA فيروس نقص المناعة HIV في دم المرضى (الحمل الفيروسي Viral load) لمراقبة سير المرض ولتقييم الإنذار عند المريض.

تشخيص جسيم ما على أنه فيروس:

عندما يتم الحصول على جسيم ذي خصائص فيزيائية معروفة فيجب أن يتوافق مع المعايير التالية قبل أن يتم التعرف عليه كجسيم فيروس:

- (1) يمكن الحصول على الجسيم من خلايا أو نسيج مصابة فقط.. (2) تكون الجسيمات المستحصل عليها من مصادر مختلفة متماثلة بغض النظر عن المصدر الخلوي الذي ينمو فيه

الفيروس. (3) درجة القدرة الإخمائية للمحضر تتفاوت بشكل مباشر مع عدد الجسيمات الموجودة. (4) يرتبط تخرب الجسيم الفيزيائي باستخدام وسائل فيزيائية أو كيميائية مع فقدان القدرة الإخمائية للفيروس. (5) يجب أن يظهر أن بعض الخصائص المعينة للجسيمات وقدرتها الإخمائية متماثلة مثل طريقة ترسيبها في المبنزة الفائقة ومنحنيات ثباتها في درجات pH مختلفة. (6) يجب أن يتوافق طيف الامتصاص للجسيم الفيزيائي المنقى في المجال فوق البنفسجي مع طيف التعطيل فوق البنفسجي للفيروس. (7) يجب أن تتفاعل المصول المضادة المحضرة ضد الفيروس الخامخ مع هذا الجسيم المميز والعكس بالعكس. يمكن إجراء ملاحظة مباشرة لفيروس غير مغروف من خلال الفحص بالمجهر الإلكتروني لتشكل تكتلات في مزيج من مصل مضاد مع معلق للفيروسات. (8) يجب أن تكون الجسيمات قادرة على تحريض المرض المميز للفيروس في الزجاج (في حال توفر مثل هذه التجارب). (9) يجب أن يؤدي مرور الجسيمات في الزرع النسيجي لإنتاج نسل ذو خصائص بيولوجية ومستضدية للفيروس.

التفاعل مع العوامل الفيزيائية والكيميائية

الحرارة والبرودة:

هناك تفاوت كبير في الثبات الحراري للفيروسات المختلفة. تميل الفيروسات العشريئية الوجوه إلى أن تكون ثابتة وتفقد القليل من القدرة الإخمائية (الإغداء) بعد ساعات عديدة من التعرض للدرجة 37°س. بينما تكون الفيروسات المغلفة عطوبة أكثر بالحرارة ويقل عيارها بسرعة في الدرجة 37°س. تتخرب بشكل عام القدرة الإخمائية الفيروسية عند التسخين لدرجة 50-60°س لمدة 30 دقيقة رغم وجود بعض الاستثناءات الملحوظة (مثل فيروس التهاب الكبد B، الفيروسات التورامية، عامل الراغوش). يمكن حفظ الفيروسات بالتخزين في درجات حرارة تحت التجميد وبعضها يتحمل التجميد (التجفيف بالتجميد) وبالتالي يمكن حفظه بالحالة الجافة في درجة 4° أو حتى في درجة حرارة الغرفة. تكون الفيروسات التي تتحمل التجفيف أكثر مقاومة للحرارة عند تسخينها في الحالة الجافة، تميل الفيروسات المغلفة إلى فقدان قدرتها الإخمائية بعد التخزين المديد حتى في درجة حرارة -90°س وتكون حساسة بشكل خاص لتكرار التجميد وفك التجميد.

تثبيت الفيروسات في الأملاح:

يمكن تثبيت العديد من الفيروسات بواسطة الأملاح بتركيز 1 مول/ليتر أي أن الفيروسات لا تتعطل حتى بالتسخين لدرجة 50°س لمدة ساعة. إن الآلية التي تثبت فيها الأملاح المحضرات الفيروسية ليست معروفة. ويمكن تثبيت الفيروسات بشكل تفضيلي باستخدام أملاح معينة. يثبت الـ $MgCl_2$ بتركيز 1 مول/ليتر كلاً من الفيروسات البيكورتناوية و الفيروسات الريوية، كما ويثبت $MgSO_4$ بتركيز 1 مول/ليتر الفيروسات المخاطية القوية و الفيروسات المخاطية، بينما يثبت 1 مول/ليتر من الـ Na_2SO_4 الفيروسات الهرسية.

إن ثبات الفيروسات هام في تحضير اللقاحات، حيث يجب مثلاً تخزين لقاح شلل الأطفال القموي العادي غير المثبت في درجات حرارة تجميد من أجل الاحتفاظ بفعالته... لكنه مع إضافة الأملاح لتثبيت الفيروس يمكن المحافظة على الفعالية لأسابيع في درجات الحرارة العادية وحتى في درجات الحرارة المرتفعة في المناطق المدارية.

PH:

تكون الفيروسات عادة ثابتة في قيم PH تتراوح بين 5 و 9. إن بعض الفيروسات (مثل الفيروسات المعوية) مقاومة للشروط الحمضية. تتخرب كافة الفيروسات في الشروط القلوية. قد يؤثر الاختلاف لأقل من وحدة PH على نتيجة تفاعلات التراص الدموي.

الإشعاع:

تتعطل الفيروسات تحت تأثير الأشعة فوق البنفسجية والأشعة السينية والجزيئات ذات الطاقة المرتفعة، وتختلف الجرعة تبعاً للفيروسات المختلفة. تكون القدرة الإخمائية الخاصة الأكثر حساسية للأشعة لأن التنسخ يحتاج إلى التعبير عن كامل المحتوى الجيني. قد تبقى الجسيمات المشعة غير القادرة على التنسخ قادرة على إظهار بعض الوظائف النوعية في خلايا النوي.

التعطيل الضوئي الحركي:

يمكن للأصبغة الحيوية أن تنفذ بدرجات متفاوتة إلى الفيروسات كما هو الحال مع زرقة الطولويدين والحمرة المتعادلة والبروفلافين. ترتبط هذه الأصبغة مع الحمض النووي الفيروسي وبذلك يصبح الفيروس مؤهلاً للتعطيل بواسطة الضوء المرئي. تستخدم الحمرة المتعادلة بشكل شائع لتلوين اختبارات اللويحات بحيث يمكن رؤية هذه اللويحات بشكل أفضل. يجب حماية

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

صفائح الاختبار من لمعان الضوء بعد إضافة الحمزة المتعادلة وإلا فهناك خطورة لتعطل نسل الفيروس وتوقف تطور اللويحة.

الحساسية للأثير:

يمكن استخدام خصائص الحساسية للأثير للتمييز بين الفيروسات التي تمتلك غلافاً عن تلك التي ليس لها غلاف.

المنظفات:

تحل المنظفات غير الشاردية (غير الأيونية) كـ Nonidet P40 و Triton X100 المكونات الشحمية في الأغشية الفيروسية فيحدث تحرر للبروتينات الفيروسية من الغلاف (دون أن يمسحها). تحل المنظفات غير الأيونية مثل سلفات دوديسيل الصوديوم الأغلفة الفيروسية أيضاً وبالإضافة لذلك فهي تحلل القفصيات المنوأة إلى عديدات ببتيد منفصلة.

الفورمالدهيد:

يُخرب الفورمالدهيد القدرة الإجماعية الفيروسية عن طريق تفاعله مع الحمض النووي. هذا ويتعطل الفيروسات ذات المجين وحيد الطاق بصورة أسرع من الفيروسات الحاوية على مجين ثنائي الطاق. يملك الفورمالدهيد تأثيرات معاكسة بسيطة على القدرة المستضدية للبروتينات ولذلك يُستعمل بشكل شائع لإنتاج اللقاحات الفيروسية المعطلة.

الصادات والعوامل الأخرى المضادة للجراثيم:

لا تملك الصادات المضادة للجراثيم والسلفوناميدات أي تأثير على الفيروسات ومع ذلك تتوفر بعض الأدوية المضادة للفيروسات. لا تكون مركبات الأمونيوم الرباعية ومركبات اليود العضوية فعالة ضد الفيروسات بشكل عام. يحتاج الكلور لتراكيز مرتفعة لتخريب الفيروسات أكثر من التراكيز اللازمة لقتل الجراثيم وخاصة مع وجود بروتينات خارجية. فعلى سبيل المثال تكون معالجة البراز بالكلور كافية لتعطيل العصيات التيفية وغير كافية لتخريب فيروس شلل الأطفال الموجود في البراز. أما الكحوليات مثل الإيزوبروبانول والإيثانول فتكون غير فعالة نسبياً ضد بعض الفيروسات ولا سيما الفيروسات البيكوروناوية.

الطرق الشائعة في تعطيل الفيروسات لأغراض مختلفة:

يتم تعطيل الفيروسات لأسباب مختلفة: تعقيم معدات المخابر وتجهيزاتها، تطهير السطوح

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

والجلد، جعل مياه الشرب آمنة وصحية، إنتاج لقاحات فيروسية معطلة. هذا وتستخدم طرق ومواد كيميائية مختلفة لهذه الأغراض. يمكن إجراء التعقيم بالبخار تحت الضغط، أو الحرارة الجافة، أو أكسيد الإيثيلين أو إشعاع غاما. تتضمن مظهرات السطوح: هيبوكلوريت الصوديوم، غلوتارالدهيد، الفورمالدهيد، وحمض البيروكسي أسيتيك. أما مظهرات الجلد فتتضمن: الكلوروكسيدين، والإيثانول 70%، وحوامل اليود. قد يتضمن إنتاج اللقاحات استخدام الفورمالدهيد، و البروبيولاكتون B، والسورالين مع الإشعاع فوق البنفسجي، أو المنظفات (في لقاحات الوحدات الفرعية) وذلك لتعطيل فيروس اللقاح.

VIII- اللقاحات:

نظرة عامة:

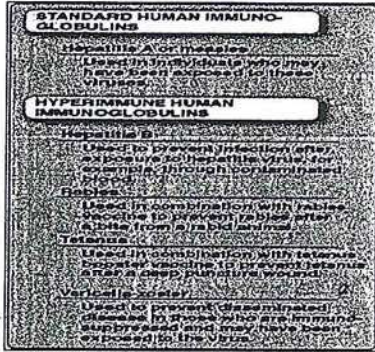
أدى توفر اللقاحات إلى الاجتثاث العالمي للجذري والتخلص الفعلي من التهاب سنجابية النخاع والكزاز والخناق في الـ U.S.A. يمكن أن تأخذ وقاية الأشخاص من الأمراض بواسطة التلقيح أحد شكلين: التمنيع المُنْفَعِل والفاعل. يتم التمنيع المُنْفَعِل عن طريق حقن المتلقي بـ غلوبيولينات مناعية محضرة مسبقاً موجهة ضد خمج موجود، بينما يتضمن التمنيع الفاعل حقن عوامل إمرضية معدلة أو مُنْقَاة أو منتجاتها. وكلاهما يؤمن استجابة مناعية وافية. يختلف التمنيع الفاعل و المنفعل عن بعضهما البعض بطرق مختلفة. تعتمد الحالات التي يفضل فيها استخدام التمنيع الفاعل أو المنفعل أو كليهما معاً على نوع العضوية الدقيقة المسببة للخمج، وعمر المريض والتماس المتوقع مع العامل الممرض أو الزمن المنقضي منذ حدوث التماس.

التمنيع المُنْفَعِل:

يتم إنجاز التمنيع المنفعل عن طريق حقن المتلقي بـ غلوبيولينات مناعية محضرة مسبقاً مستحصل عليها من المصل البشري (أو من الخيل أحياناً). يؤمن التمنيع المنفعل وقاية مباشرة وفورية للأشخاص الذين تعرضوا لعضوية مسببة للخمج والذين يفتقدون للمناعة الفاعلة تجاه هذا العامل الممرض. وبما أن التمنيع المنفعل لا ينشط الجهاز المناعي فهو لا يحرض استجابة ذاكرية. المناعة المنفصلة ليست دائمة وتراجع بعد أسابيع إلى أشهر قليلة مع تناقص عيار الغلوبيولينات المناعية في مصل المتلقي.

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات



الشكل 1-22: الغلوبولينات المناعية المستخدمة في

التمنيع المنفعل

1- الغلوبولينات المناعية القياسية غير النوعية: تحتوي مزيج بروتينات البلازما على طيف واسع من الأضداد مع سيطرة IgG. تحتوي هذه الغلوبولينات المناعية (سابقا الغلوبولينات غاما) على مزيج من الأضداد التي تعكس حالات التعرض السابقة للأشخاص المعطيين للبلازما إلى المستضدات المختلفة إما بسبب الخمج الطبيعي أو التمنيع. تستخدم الغلوبولينات المناعية القياسية من أجل الوقاية أو التخفيف من شدة الأمراض التي لا يتوفر لها محضر نوعي. من الغلوبولينات المناعية. هذا النمط من التمنيع فعال عندما يعطى مباشرة قبل أو بعد التعرض إلى مرض معد مثل التهاب الكبد A.

2- الغلوبولينات المناعية البشرية مفرطة المناعة:

يحتوي هذا النمط من الغلوبولينات المناعية على تراكيز مرتفعة من الأضداد الموجهة ضد عامل إمراضي معين أو ذيفان معين (مثل الغلوبولين المناعي للفيروس النطاقي الحماقي أو ضيق ذيفان الخناق). قد يعطى هذا النوع إلى المرضى الذين تعرضوا مؤخراً إلى عامل إمراضي معين.

ب- التأثيرات الجانبية:

توجد أخطار: تترافق مع حقن الأضداد المحضرة مسبقاً. على سبيل المثال قد يبدي المتلقي استجابة ضائرة adverse response للمُحْدَثَات المستضدية للضد الأجنبي مما قد يؤدي إلى حالة تأق جهازية (ملاحظة: يكون هذا صحيحاً بشكل خاص عندما يتم الحصول على الغلوبولينات المناعية من مصدر غير بشري مثل الحصان).

التمنيع الفاعل:

يتم إجراء التمنيع الفاعل عن طريق حقن عوامل إمراضية حية أو غير حية أو منتج منقى من العامل الإمراضي مما يحرض الجهاز المناعي لكي يستجيب كما لو أن الجسم قد هاجمته العضويات الدقيقة المُعدية السالمة. وبينما يؤمن التمنيع المنفعل وقاية فورية فإن التمنيع الفاعل قد يحتاج أياماً عديدة إلى أشهر حتى يصبح فعالاً. يؤدي التمنيع الفاعل إلى مناعة طويلة الأمد وهو مفضل عادة على المناعة قصيرة الأمد التي يقدمها التمنيع المنفعل بواسطة الغلوبولينات المناعية المحضرة مسبقاً.

قد تكون هناك حاجة في بعض الأحماج مثل التهاب الكبد B لإعطاء تمنيع فاعل وتمنيع منفعل في نفس الوقت:

أ- التركيبات المستخدمة في التمنيع الفاعل:

يتم تحضير اللقاحات من: (1) العضويات الدقيقة الحية المضعفة. (2) العضويات الدقيقة المقتولة. (3) الخلاصات الميكروبية (الجرثومية أو الفيروسية). (4) اللقاحات المتقارنة. أو (5) الذيفانات المعطلة (ذوفانات toxoids)... وهذه الوسائل تستخدم بالنسبة للجراثيم والفيروسات.

1- العوامل الإمراضية الحية:

عند استخدام العوامل الإمراضية الحية يتم إضعافها للتخلص من الأعراض السريرية للخمج. تتكاثر العضوية الدقيقة الحية المضعفة لدى المتلقي وتؤدي بشكل نموذجي إلى استجابة مناعية أقوى وتدوم لفترة أطول مما يتم الحصول عليه من التلقيح باستخدام عضويات مقتولة. لكن في حالة اللقاحات الحية المضعفة هناك احتمال أن تتحول الذرية المضعفة في اللقاح إلى عامل إمراضي فعال بعد إعطائها إلى المريض. على سبيل المثال يحدث التهاب سنجابية النخاع المرتبط باللقاح بعد إعطاء جرعة تقريباً من كل 2,4 مليون جرعة من لقاح سَلَل الأطفال الحي.

يجب عدم إعطاء اللقاحات الحية المضعفة إلى منقوصي المناعة حيث يزداد احتمال حدوث خمج منتشر.

2- العضويات الدقيقة المقتولة:

تمتلك اللقاحات المقتولة ميزة تفوق الأحياء الدقيقة المضغفة وهي أنها لا تتضمن أي خطورة لحدوث خمج مرتبط باللقاح. وكما ذكر سابقاً تقدم العضويات المقتولة غالباً استجابة مناعية ضعيفة أو قصيرة الأمد. تتوفر بعض اللقاحات مثل لقاحات شلل الأطفال والخناق بالشكلين الحي والمقتول.

3- الخلاصات الميكروبية:

بدلاً من استخدام العضويات الكاملة يمكن أن تتكون اللقاحات من جزيئات مستضدية (غالباً من تلك المتوضعة على سطح العضوية الدقيقة) مستخلصة من العامل الإمبراضي أو محضرة بتقنيات الدنا المأشوب. وتكون فعالية هذه اللقاحات متفاوتة. في بعض الحالات يكون مستضد اللقاح موجوداً في كافة ذراري العضوية الدقيقة وبذلك فإن اللقاح يحمي من حدوث الخمج بكافة الذراري.

بعض العوامل الإمبراضية مثل فيروس النزلة الوافدة تغير بتواتر كبير محدثاتها المستضدية لذلك يجب أن تتغير أيضاً لقاحات فيروس الانفلونزا بشكل منتظم كي تشمل المستضدات المختلفة لذراري فيروسات الانفلونزا A و B المنتشرة.

في حالة أخماج الفيروسات الأنفية (السبب الرئيسي للزكام) هناك 100 نمط معروف على الأقل من الفيروس، ومن غير العملي تطوير لقاح يقدم الوقاية تجاه هذا العدد الكبير من الأنماط المستضدية.

4- اللقاحات المتقارنة:

يمكن للقاحات أن تنتج مناعة خلطية من خلال تكاثر الخلية B مما يؤدي لإنتاج الأضداد والذي قد يتضمن أو لا يتضمن خلايا T المساعدة.

5- الذوفانات Toxoids :

وهي مشتقات من الذيفانات الخارجية الجرثومية يتم إنتاجها إما بإجراء تعديل كيميائي على الذيفان الطبيعي أو بهندسة الجراثيم بحيث تنتج أنواع غير مؤذية من الذيفان. تستخدم اللقاحات الحاوية على الذوفان عندما تكون إمبراضية العضوية الدقيقة ناتجة عن الذيفان المفرز. ويكون إعطاء اللقاح بشكل عام بالطريق العضلي أو تحت الجلد حسب نوع اللقاح.

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

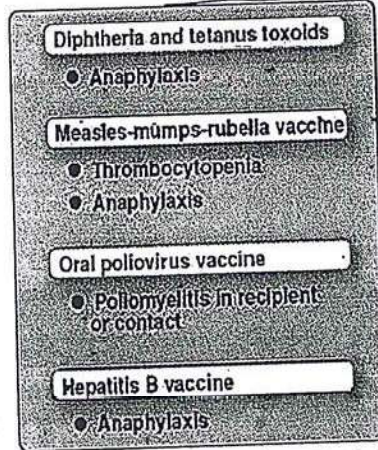
ب- أنواع الاستجابات المناعية للقاحات:

إن اللقاحات الآحوية على عوامل إمراضية مقتولة (مثل التهاب الكبد A أو لقاح سوك لشلل الأطفال) أو المكونات المستضدية للعوامل الإمراضية (مثل لقاح الوحدة الفرعية لالتهاب الكبد B) لا تدخل إلى خلايا الثدي لذلك فهي تسبب ارتفاعاً في الإستجابة الخلطية الأولية التي تتواسطها خلايا B. وتكون هذه الأضداد غير فعالة في مهاجمة العضويات داخل الخلايا. وبالعكس فإن اللقاحات الحية المضعفة (عادة الفيروسات) تدخل إلى داخل الخلايا. وهذا يؤدي لإنتاج مستضدات داخل الخلايا تظهر على سطح الخلية المصابة ، مما يحرض حدوث استجابة ضدية للخلايا T السامة للخلايا والتي تكون فعالة في التخلص من العوامل الإمراضية الداخل خلوية.

ج- تأثير العمر على فعالية التمنيع:

1- المناعة المنفعلة من الأم: يتلقى حديثي الولادة أضداداً IgG مصلية من أمهاتهم مما يقدم لهم وقاية مؤقتة ضد الأمراض التي تكون الأم ممنعة تجاهها. بالإضافة لذلك يحتوي حليب الأم أضعداً إفرازية تؤمن بعض الوقاية تجاه أخماج السبيلين المعوي والتنفسي.

2- التمنيع الفاعل: تتطور قدرة الرضيع على إنتاج الأضداد بشكل بطيء خلال السنة الأولى من العمر. ورغم أن الجهاز المناعي لا يكون متطوراً بشكل كامل لكن من المفضل بدء التمنيع بعمر شهرين لأن الأمراض شائعة في هذه المجموعة العمرية ويمكن أن تكون خطيرة بشكل خاص (مثل السعال الديكي أو التهاب السحايا بالمستدمية النزلية). وكما في حالة الرضع فإن الكهول لديهم استجابة ضدية منخفضة تجاه التلقيح.



الشكل 1-23: التأثيرات الجانبية النادرة المترافقة مع لقاحات الأطفال

د- التأثيرات الجانبية للتلقيح الفاعل:

تتراوح التأثيرات الجانبية للتلقيح بين المعتدلة إلى الشديدة إلى المهددة للحياة أحياناً. تتفاوت

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

الأعراض بين الأشخاص وحسب طبيعة التلقيح. ومن بين العقاقير الأكثر شيوعاً والأخف للتمنيع هناك حدوث تورم وقساوة في موقع الحقن وحمى خفيفة.

اللقاحات الفيروسية:

تحتاج المناعة تجاه الأحماس الفيروسية إلى استجابة مناعية تجاه المستضدات المتوضعة على سطح الجسيمات الفيروسية أو على الخلايا المصابة بالفيروس. وبالنسبة للفيروسات المغلفة فإن هذه المستضدات هي غالباً بروتينات سكرية سطحية. إن العائق الرئيسي تجاه اللقاحات الفيروسية يحدث بالنسبة للفيروسات التي تبدي عدم استقرار وثبات وراثي في قدرتها المستضدية (وهذا يعني أنها تبدي محددات مستضدية تتغير باستمرار مثل فيروسات الانفلونزا أو فيروس الغوز المناعي البشري).

تتضمن الفيروسات الممرضة الشائعة التي توجد لها لقاحات ما يلي:

أ- التهاب الكبد A :

يؤدي لقاح الفيروس الكامل المعطل بالفورمالين إلى إنتاج عيارات ضدية لدى البالغين مشابهة لتلك الملاحظة بعد الخمج الطبيعي وأكثر بحوالي 15 مرة من تلك الناتجة عن الحقن المنفعل للغلوبولينات المناعية. تشير الدراسات إلى أن المناعة الناتجة عن فيروس التهاب الكبد A سوف تدوم على الأرجح لـ 10 سنوات تقريباً بعد جرعتين من اللقاح. يوصى بإعطاء هذا اللقاح إلى المسافرين إلى مناطق موطونة بالمرض ، والرجال الشاادين جنسياً، ومستخدمي أدوية الحقن، والعاملين في مجال الرعاية اليومية.

حالياً في الـ U.S.A لا يوصى بإعطاء لقاح فيروس التهاب الكبد A إلى الأطفال الأصغر من عمر سنتين لأن الأضداد المضادة للـ HAV المتبقية والمكتسبة بشكل منفعل من الأم قد تتداخل مع القدرة المناعية للقاح.

ب- التهاب الكبد B:

يحتوي اللقاح الحالي على مستضد سطحي مأسوب لالتهاب الكبد. والفعالية هي 95 إلى 99% لدى الرضع والأطفال والبالغين الشباب الأصحاء. يوصى باستخدامه لدى العاملين في مجال الرعاية الصحية الذي هم على تماس مع الدم والأشخاص المقيمين في منطقة ذات معدل مرتفع من المرض المتوطن. يمكن للغلوبولينات المناعية المستخلصة من البشر مفرطي المناعة أن

الفصل الأول

مقدمة في علم الفيروسات

تؤمن مناعة منفعة بعد التعرض بشكل عرضي (مثل وخزة إبرة أو حديث ولادة من أم مصابة بالخمج) . يمكن إعطاء المعالجات الفاعلة والمنفعة في مواضع مختلفة في نفس الوقت.

ج- الحُمَاق – الحلأ النطاقي:

يحتوي اللقاح على الفيروس النطاقي الحُمَاقِي المضعف الحساس للحرارة. إن فعاليته في الوقاية من الحُمَاق هي حوالي 85-100% لدى الأطفال والمناعة دائمة.

تؤمن الغلوبولينات المناعية المضادة للفيروس النطاقي الحُمَاقِي مناعة منفعة للأشخاص منقوصي المناعة المعرضين لخطر الإصابة بالخمج.

د- شلل الأطفال Polio :

يعتبر اللقاح الطريقة الفعالة الوحيدة للوقاية من شلل الأطفال. ولقد أثبت كلاً من لقاحي شلل الأطفال المعطل والحي المضعف المعطى فموياً فعاليته في الوقاية من خمج التهاب سنجابية النخاع الشللي وخمج الفيروسات السنجابية.

1- لقاح الفيروسات السنجابية المعطل (لقاح سوك Salk):

بما أن اللقاح المعطل لا يمكن أن يسبب التهاب سنجابية النخاع فهو آمن من أجل استخدامه لدى الأشخاص منقوصي المناعة والأشخاص المحيطين بهم. إن مساوئ اللقاح المعطل هي: (1) يكون إعطاؤه عن طريق الحقن فقط. (2) يقدم مناعة معيئة معوية أقل تؤدي لإمكانية حدوث خمج لا عرضي في السبيل المعوي بالفيروسات السنجابية من النمط البري wild والتي يمكن أن تنتقل إلى أشخاص آخرين.

ومن أجل التخلص من خطر الإصابة بالتهاب سنجابية النخاع الشللي المرتبط باللقاح (انظر المقطع التالي)، يوصى باتباع جدول تلقيح الفيروسات السنجابية المعطلة بشكل كامل من أجل التلقيح الروتيني في الطفولة في الـ U.S.A.

2- لقاح الفيروسات السنجابية الحي المضعف (سابين Sabin):

إن ميزة هذا اللقاح تتضمن: (1) يمكن إعطاؤه فموياً. (2) يؤمن وقاية طويلة الأمد من الفيروسات السنجابية لأكثر من 95% من المتلقين بعد سلسلة الجرعات الثلاث الأولية. و (3) يؤمن مناعة هضمية باكرة. إن السبب الرئيسية للقاح بالفيروس الحي المضعف هي الخطورة القليلة لحدوث الخمج والتي تقدر بـ 1 لكل 2.4 مليون جرعة.

هـ- النزلة الوافدة (الانفلونزا):

يحتوي اللقاح التقليدي "flu shot" على الفيروس المعطل بالفورمالين. يعطى لقاح الانفلونزا الحي المضعف داخل الأنف. يؤمن اللقاح وقاية تصل إلى الذروة بعد حوالي أسبوعين من إعطائه. تتراوح فعالية اللقاح من 70 إلى 90% ويتم الوصول إليها بشكل عام لدى البالغين الشباب. يوصى باللقاح من أجل البالغين الأكبر من 65 والأشخاص بعمر 6 أشهر أو أكبر ذوي الخطورة العالية. وأولئك الذين قد ينقلون الفيروس إلى الأشخاص المعرضين لخطر الإصابة. يستلزم الانزياح المستضدي أن يتم تلقيح الأشخاص ضد الانفلونزا سنوياً قبل موسم

الانفلونزا الشتوي

و- الحصبة و النكاف و الحصبة الألمانية (MMR):

يحتوي هذا اللقاح المشترك على فيروس حي مضعف ويجب أن يعطى إلى صغار الأطفال قبل الدخول إلى المدرسة. يجب أيضاً إعطاء لقاح الحصبة إلى الأشخاص المسافرين إلى المناطق الموطونة بالمرض.

Vaccine	Age	Birth	1 Month	2 Months	4 Months	6 Months	12 Months	15 Months	18 Months	24 Months	4-6 Years	11-12 Years	13-14 Years	15 Years	16-18 Years
Hepatitis B	Infant														
Diphtheria, Tetanus, Pertussis			DTaP	DTaP	DTaP						DTaP	TT		TT	
Haemophilus influenzae type b			Hib	Hib	Hib										
Measles, Mumps, Rubella											MMR	MMR	MMR	MMR	MMR
Varicella											Varicella	Varicella	Varicella	Varicella	Varicella
Meningococcal											PCV	PCV	PCV	PCV	PCV
Pneumococcal Conjugate											PCV	PCV	PCV	PCV	PCV
Influenza															
Hepatitis A															

الشكل 1-24: برنامج التلقيح الموصى به للأطفال خلال عام 2006 (قد تختلف برامج التلقيح كل سنة ويجب على الأطباء استشارة الجهات المختصة حول التفاصيل المتعلقة بالتمنيع) [DTaP: ذوفان الديفتيريا و الكزاز، ولقاح الشاهوق اللاخوي، Hib: لقاح المستدمية النزلية b المتقارن، MMR: حصبة، وحصبة ألمانية ونكاف، IPV: لقاح الفيروسية السنجابية المعطل]

لقاحات الـ DNA:

تمثل لقاحات الـ DNA طريقة جديدة في التلقيح. ويمكن تلخيص الآلية المقترحة لهذه اللقاحات

كما يلي: يتم تنسيل جينة المستضد المطلوب إلى داخل البلازميدة الجرثومية (bacterial plasmid) التي تتم هندستها لزيادة تعبير الجينة المدخلة في خلايا الثدييات. بعد الحقن تدخل البلازميدة إلى خلية الثدي حيث تبقى في النواة بشكل يصنوع episome (أي أنه لا يتكامل مع DNA الخلية). وباستخدام آلية الاصطناع البروتيني لخلية الثدي يقوم DNA البلازميدة في التصنوع بتوجيه اصطناع البروتين الذي يرمزه. هذا البروتين المستضدي للعضوية الحية الدقيقة قد يغادر الخلايا ويتفاعل مع خلايا B و الخلايا T المساعدة ، أو قد ينشطر إلى أجزاء ويظهر بشكل معقد مستضدي MHC I على سطح الخلية مما يؤدي لتفعيل خلايا T القاتلة. وحتى تاريخه فإن فعالية لقاحات الـ DNA لدى البشر كانت مخيبة للآمال.

IX- المضادات والعوامل الدوائية المستخدمة في الأخماج الفيروسية:

تستخدم الفيروسات عندما تتكاثر الكثير من الآليات الاستقلابية الخاصة بالثوي. لذلك فهناك أدوية قليلة انتقائية بشكل كاف لمنع تنسخ الفيروس دون إيذاء الثدي. ولا تتأثر الفيروسات أيضاً بالعوامل المضادة للجراثيم. على كل حال تميز بعض الأدوية وبشكل كاف بين التفاعلات الخلوية وتفاعلات الفيروس وبالتالي تكون غير مامة نسبياً. على سبيل المثال تتوفر استراتيجيات تدبير كافية بالنسبة للأخماج التي تعزى إلى فيروس الهربس البسيط و الفيروس النطاقي الحماقي و الفيروس المضخم للخلايا وفيروسات الانفلونزا A و B والتهاب الكبد المزمن B و C.

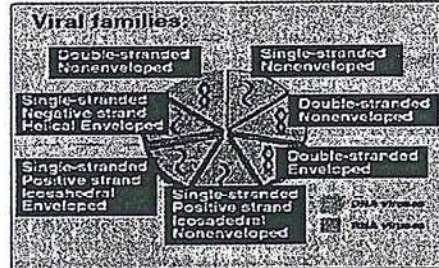
أ- تصنيف الفيروسات:

يمكن تقسيم الفيروسات الهامة سريريا إلى سبعة مجموعات اعتماداً على طبيعة مجينها وتناظر تنظيمها ووجود أو غياب غلاف شحمي (الشكل 1-25).

ب- معالجة أخماج فيروسات الحلا (الهربس):

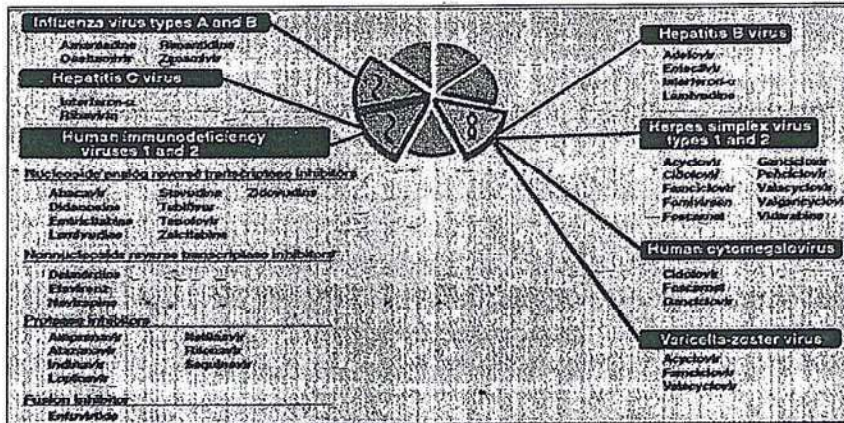
إن معظم العوامل المضادة للفيروسات المستخدمة في معالجة أخماج الفيروسات الهربسية هي مضاهبات النوكليوزيد والتي تحتاج إلى التحول إلى شكل أحادي وثنائي و ثلاثي الفوسفات بواسطة الكيناز الخلوية أو الكيناز الفيروسية أو كلاهما من أجل التنشيط الانتقائي لاصطناع

DNA الفيروس. يضم هذا الصنف من مضادات الفيروس: acyclovir - cidofovir - famciclovir - ganciclovir - penciclovir - valacyclovir - vidarabine.



الشكل 1-25: تنظيم الفيروسات ضمن سبع مجموعات

يوجد صنف آخر من الأدوية المضادة للفيروسات ذات التأثير المضاد لفيروسات الحلأ ويمثلها foscarnet وهو مضاهي للبيروفوسفات. تبدي معظم العوامل المضادة للفيروسات بما في ذلك مضاهيات النوكليوزيد والـ foscarnet تأثيرها خلال الطور الحاد من الأخماج الفيروسية وتكون دون تأثير في مرحلة الكمون.



الشكل 1-26: ملخص للتطبيقات العلاجية لعوامل مختارة مضادة للفيروسات

ج- معالجة متلازمة العوز المناعي المكتسب (الإيدز):

تتقسم الأدوية المضادة للفيروسات القهقرية إلى أربعة أصناف رئيسة اعتماداً على طريقة تثبيطها لتتسخ الفيروس. يمثل الصنف الأول مضاهيات النوكليوزيد التي تثبط DNA بوليميراز المعتمدة على RNA في فيروس HIV (المنتسخة العكسية). أما الصنف الثاني من مثبطات المنتسخة العكسية فهي المضاهيات غير-النوكليوزيدية. والصنف الثالث هو مثبطات البروتياز. والصنف الرابع هو مثبط للإلتحام يمنع HIV من الدخول إلى الخلية الثوية. إن المعالجة باستخدام هذه العوامل المضادة للفيروسات عادة ضمن تركيبة مشتركة (كوكتيل من

الأدوية يدعى معالجة مضادة للفيروسات الفعّالة ذات فعالية عالية أو HAART) قد يكون مفيداً في إطالة أمد الحياة وإنقاذ معدل حدوث وشدة الأزمات الانتهازية لدى المرضى المصابين بمرحلة متقدمة من الإصابة بـ HIV ولتأخير تطور المرض لدى المرضى اللأعرضيين المصابين بـ HIV .

د- معالجة التهاب الكبد الفيروسي:

نجحت المعالجة المديدة (عدة أشهر) بواسطة الإنترفيرون - α في انقاص أو التخلص من مشعرات تنسخ فيروس التهاب الكبد B لدى حوالي ثلث المرضى. لكن قد تحدث عودة لمشعرات الخمج بعد إيقاف المعالجة. الـ Lamivudine هو مضاهي نوكلوزيدي فموي وهو علاج فعال لدى المرضى المصابين بالتهاب كبد B مزمن غير معالج مسبقاً. لكن عدد قليل فقط من المرضى قد شفي أو بقي في حالة شفاء بعد إيقاف المعالجة بالـ lamivudine . قد يستطع إجراء معالجة محافظة لكن الاستخدام طويل الأمد للـ lamivudine يحد منه ظهور الأشكال الطافرة (الطافرات) من جين البوليميراز الفيروسي والذي يؤدي لعودة ظهور المرض. تكون المعالجة المفضلة لالتهاب الكبد C هي الإنترفيرون - α بالمشاركة مع ribavirin . ويكون المعدل الكلي للاستجابة لهذه التركيبة الدوائية أكبر بثلاث مرات من المشاهد في حالة المعالجة الأحادية باستخدام الإنترفيرون - α فقط . ويعد فقر الدم تأثير جانبي شائع الحدوث للـ ribavirin .

هـ - معالجة (النزلة الوافدة) الانفلونزا:

يتضمن الجيل الأول من العوامل المضادة للفيروسات الفعالة ضد الانفلونزا A دواين متشابهين هما الـ amantidine والـ Rimantidine . وكلاهما يوقف إزالة الغلاف الفيروسي عن طريق تثبيط البروتين الغشائي M2 للفيروس. تخفف هذه العوامل من مدة وشدة أعراض الانفلونزا ولكن فقط إذا أعطيت في وقت باكراً من الخمج. إذا تم إعطاء هذه الأدوية قبل بدء الأعراض فيمكن أيضاً لهذه الأدوية أن تمنع المرض وهي مفيدة في معالجة المجموعات ذات الخطورة العالية. يتضمن الجيل الثاني من العوامل المضادة للفيروسات الفعالة ضد الانفلونزا A و B الـ zanamivir و Oseltamivir وهي تثبط النورامينيداز الفيروسي وبذلك تمنع تحرر الفيروس من الخلايا المصابة.