

ایمونوالکتروفورز**

مقدمه - از مدت‌های پیش میدانند که واکنشهای ایمنی-شیمیایی (Immuno-chimique) بسیار حساس و اختصاصی میباشد و هایدلبرگر (Heidelberger) نشان داده است که واکنشهای راسب شدن اختصاصی (Précipitation Spécifique) مابین آنتی ژن و آنتی کور تابع مقادیر نسبی این دو ماده میباشد تا این که واکنش مزبور برای اولین بار توسط اودن (Oudin) روی ژلوز انجام شد (پخش ساده درلوله - Diffusion Simple en tube) و پس از آن اوخترلونی (Ouchterlony) این روش را در بوات دوپتری حاوی ژلوز بکار بست (پخش دو جانبه Double diffusion) بالاخره در ۱۹۵۳ گرابار (Grabar) و ویلیامز (Williams) واکنش راسب شدن اختصاصی را بروش فوق روی سرمی که قبلاً تحت الکتروفورز واقع شده بود انجام و نام ایمونوالکتروفورز بآن دادند (2, 4, 5, 6, 7).

ایمونوالکتروفورز طی ده سال اخیر بیش از پیش توجه زیست شناسان را بخود جلب نموده است و هرچند که در زمینه پژوهشها و کارهای تحقیقاتی روش ارزنده ایست با اینحال کاربردهای آن در بیماری شناسی محدود میباشد.

تعریف و اساس - همانگونه که از نام آن استنباط میشود روشی است که بکمک آنتی کورهای راسب کننده (Anticorps Précipitants) تعداد اجزاء مشکله یک گروه پروتئینی را که قابلیت جابجاشدن الکتروفورزی یکسانی دارند از روی خاصیت آنتی ژنی آنها معلوم مینمایند. آزمایش شامل دو مرحله است:

در مرحله اول که عبارت از الکتروفورز سرم روی ژل ژلوز است هر گروه پروتئینی مکان معینی را اشغال مینماید.

در مرحله دوم پروتئین هائی را که با این روش از یکدیگر جدا گشته اند در مقابل منبع آنتی کور که عبارت از سرم ایمنی یافته اسب و یا خرگوش بر ضد پروتئین های سرم انسان سام است قرار میدهند چنانکه میدانیم آنتی کورهای ضد پروتئین های طبیعی انسان قادر است اینگونه اجزاء پروتئینی را که در حکم آنتی ژن میباشد راسب نماید. در واقع از این قدرت

ناسب کنندگی است که برای تشخیص پروتئین استفاده مینماید. هنگامی که پروتئین‌ها بروش الکتروفورز روی ژلوز از یکدیگر جدا گشته و در مقابل منبع آنتی کور قرار گرفتند پروتئین‌ها و آنتی کورهای مربوطه در خلال ژلوز بسمت یکدیگر بخش و انتشار یافته و در نتیجه برخورد باهم مناسب شده و تشکیل خط ترسیب کمائی شکل نمایانی را میدهند بنا بر این بتعداد پروتئین‌های واجد خاصیت آنتی ژنی در سرم مورد مطالعه خط منحنی خواهیم داشت.

بکمک این روش بطور کاسلا دقیق میتوان اجزاء گوناگون پروتئین‌های سرم را مشخص نمود و نیز تعداد اجزاء مشکله پروتئین‌هایی را که روی کاغذ منحنی الکتروفورزی واحدی دارند معلوم داشت (2, 3, 6).

روش کار - در روش اصلی گرابار و ویلیامز، ایمونو الکتروفورز روی صفحات ژلوز بابعاد ۱۰ در ۲۴ و یا ۱۳ در ۱۸ انجام میشد ولی بعداً شایدگر (Scheidegger) روش میکرومتد (Micro-méthode) را روی لامهای شیشه‌ای معمولی تعمیم داد که هرچند روش اخیر بسیار دقیق می‌باشد با اینحال از روش اصلی گرابار کم‌خرج‌تر و باصرفه‌تر است (2).

لوازم کار - عبارتند از:

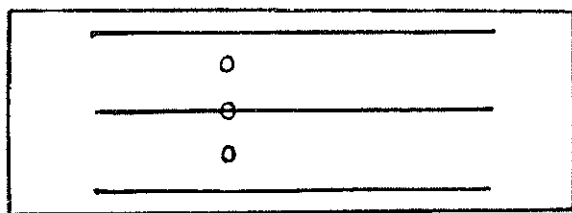
- ۱- ژلوز تامپونه ۲ درصد، ۲- تامپون با PH ۸/۲، ۳- صفحات شیشه‌ای و تراز آبی افقی (Niveau d'eau horizontal)، ۴- لامهای معمولی برای آزمایشهای میکروسکوپی
- ۵- سرنگ ۲ سانتیمتر مکعبی و سوزن بدون بیزو بقطر ۱/۶، ۶- مدلهای ترسیم‌شده با سرب‌چین
- ۷- بن‌ماری ۶۰ تا ۷۰ درجه حرارت، ۸- بوات دوپتری، ۹- مولد جریان و الکترودهای پلاتینی و دستگاه آبپرسنج، ۱۰- فیبرهای شیشه‌ای، ۱۱- کاغذهای آرش ۳۰۲ (Arches 302)
- ۱۲- چهار طشتک شیشه‌ای هر یک به گنجایش یک لیتر، ۱۳- مایعات بیولوژیکی مورد مطالعه (مانند سرم، مایع جنب و یا صفاق و غیره) که مقدار پروتئین آنها قبل تعیین شده است، ۱۴- سرم ایمنی یافته اسب و یا خرگوش بر ضد پروتئین‌های طبیعی انسانی S.A.H.N (Sérum Anti Humain Normal)

روش آزمایش:

الف - تهیه ژلوز: روشهای گوناگونی معمول است ولی روش ساده و سریع عبارت از اینست که ۲ گرم ژلوز خالص دیفکو (Difco) را در ۵۰ سانتیمتر مکعب آب مقطر در بن‌ماری حل مینمایند و پس از آنکه اینکار انجام پذیرفت ۵۰ سانتیمتر مکعب تامپون گرم با PH ۸/۲ بآن می‌افزایند (2, 3).

ب - تهیه تامپون : تامپون با $\text{PH } 8/2$ از ترکیب دو محلول زیر ساخته میشود:
محلول A بفرمول؛ ورنال سدیک $20/6$ گرم و آب دوبار تقطیر یافته . . . سانتیمتر مکعب و محلول B که از 77 سانتیمتر مکعب محلول A و مقدار کافی اسید کلریدریک نرمال دهم برای 1000 سانتیمتر مکعب ساخته شده است .

ج - تهیه لامهای ژلوز : در ابتدا صفحه شیشه‌ای را بکمک تراز آبی در سطح کاملاً افقی قرار میدهیم (این نکته بسیار حائز اهمیت است زیرا ژلوز باید بطور یکنواخت در سطح لامها گسترده گردد) سپس لامهای کاملاً تمیز را که بوسیله الکل و اتراکاری از چربی گردیده اند روی صفحه مزبور قرار داده و بکمک پی‌پت مخصوص (Pipette à Boule) مقدار 2 سانتیمتر مکعب از ژلوز گرم (60 تا 70 درجه) را طوری روی لام میریزند که بنحو کاملاً یکنواخت تمام سطح آنرا فرا گیرد. پس از ده دقیقه که ژلوز حالت جامد یافت لام را روی مدل (ش ۱) قرار داده و



شکل ۱ - مدل لازم جهت تعیین محل گذاردن سرم
و ناودان سرم ایمنی یافته

بکمک سرنگ و سوزن مربوطه حفره لازم جهت گذاردن سرم مورد مطالعه را در ژلوز ایجاد مینمایند. نکته مهم و قابل توجه اینکه ناودان لازم جهت ریختن سرم ایمنی یافته را بایستی پس از انجام و خاتمه الکترو فورز در ژلوز ایجاد نمود زیرا در غیر اینصورت ممکنست ژلوز در محل بریدگی حالت کشیدگی پیدا نموده و جمع شود (2) .

د - حفاظت لامهای ژلوز : آنها را تحت اتمسفر مرطوب در یک بوات دوپتری نگهداری می‌نمایند .

ه - دستگاه الکترو فورز : دو پشتک شیشه‌ای را که هر یک حاوی 750 سانتیمتر مکعب تامپون هستند توسط فیبرهای شیشه‌ای که در جهت قطب منفی به مثبت قرار دارند بیکدیگر مربوط می‌سازند سپس لام ژلوز را که بطریق پیش گفته تهیه شده است روی یک صفحه شیشه‌ای که بصورت پلی بین دو پشتک قرار گرفته است می‌گذارند پس از آن نواری از

کاغذ آرش ۳.۲ را بصورت دولا و بطول ۱۰ و بعرض ۲/۵ سانتیمتر، در نیم سانتیمتری یکی از دو انتهای لام طوری قرار میدهند که سر دیگر آن در تامپون شناور باشد در مرحله آخر الکترودهای پلاتینی را که بدستگاه مولد جریان (دستگاه الکتروفورز از نوع الفور- ژوان - Elphor-jouan) و یا هر دستگاه مولد دیگری که بتواند جریان مداومی با ولتاژهای ۱۱۰ - ۱۵۰ - ۳۰۰ - ۴۰۰ ایجاد نماید (متصل میباشند در دو پشتک بحال غوطه ور قرار می دهند (2, 3) .

و - پر کردن حفره ها : بکمک میکروپیپت مدرج و یا بوسیله پیپت پاستور دارای انتهای بسیار باریک، مقدار یک میلیتر مکعب از مایع بیولوژیک مورد مطالعه را در حفره موجود در لام ژلوز وارد مینمایند .

ز - الکتروفورز : در شرایط تجربی فوق الکتروفورز را مدت ۲ ساعت و نیم با اختلاف پتانسیلی برابر ۲ ولت بین دو کاغذ که روی ژلوز تکیه دارند انجام میدهند (2, 3, 4) .

ح - پخش و انتشار آنتی ژن و آنتی کور: پس از مدت زمان لازم برای الکتروفورز ، از روی مدل ناودانی بموازات مسیر کوچ کردن (Migration) برای ریختن سرم ایمنی یافته در ژلوز ایجاد می کنند و آنرا بوسیله مخلوطی مرکب از یک قطره ژلوز و ۲ تا ۳ میلیتر مکعب سرم ایمنی یافته پر مینمایند سپس لام ژلوز را مدت ۴۸ ساعت تحت آتسمفر مرطوب و در حرارت آزمایشگاه قرار میدهند. این مدت برای پخش و انتشار آنتی ژن و آنتی کور کافی است (باید توجه داشت که جهت پخش عمود بر مسیر کوچ کردن میباشد) - (2, 6) .

و - ظاهر ساختن خطوط ترسیب آنتی ژن و آنتی کور: نظر بشفافیت و سفیدی خطوط ترسیب ، لامهای ژلوز را پس از خشک کردن رنگ آمیزی می کنند .

اولاً - خشک کردن : لامهای ژلوز را در حالیکه از یک ورقه کاغذ صافی پوشانیده اند مدت ۲ ساعت در معرض جریان هوا قرار میدهند .

ثانیاً - شستن : لامهای ژلوز را با آب جاری معمولی مدت ۳ ساعت می شویند .

ثالثاً - رنگ آمیزی : لامها را مدت ۱۰ دقیقه در محلول زیر غوطه ور میسازند ، آمیدو شوارتز B ۱۰ گرم و الکل اتیلیک ۷ درصد ۱۰۰ سانتیمتر مکعب .

رابعاً - رنگ زدائی: برای زدودن رنگ زمینه لام ، آنرا در مدت ۱ دقیقه در مخلوطی مرکب از یک حجم اسید اتیک و ۹۹ حجم الکل اتیلیک قرار میدهند .

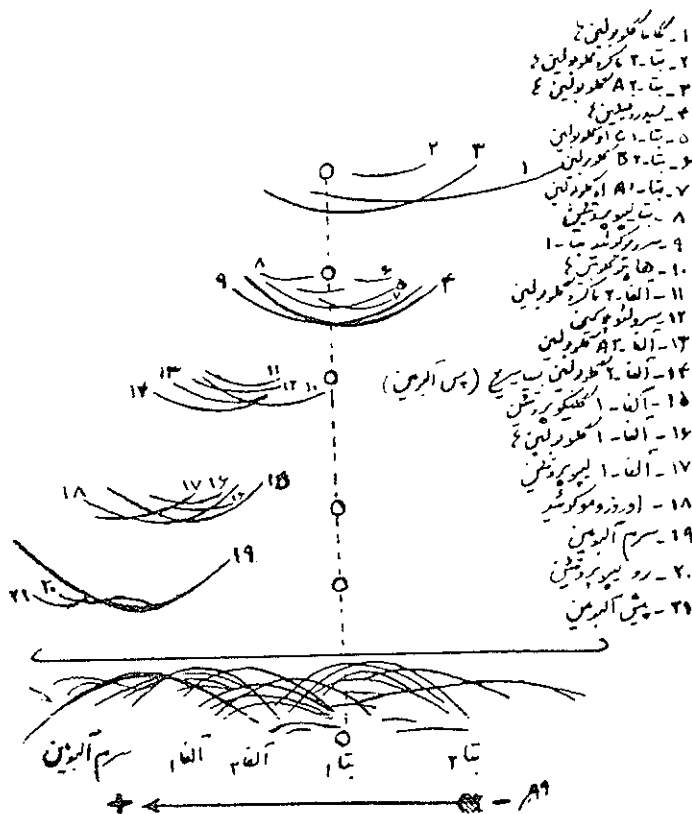
خامساً - خشک کردن : در هوای آزاد انجام میشود .

نتایج: بکمک بزرگ نمائی (Agrandissement) مستقیم لام ژلوز روی کاغذ عکاسی میتوان خطوط گوناگون ترسیب آنتی ژن - آنتی کور را قرائت و تفسیر نمود ولی پیش از بحث

در این مقوله باید بنکات زیر در مورد خطوط ترسیمی توجه داشت.

۱- محل و موضع خط : هر اندازه که مقدار آنتی ژن زیادتر باشد خط ترسیم آن به منبع آنتی کور نزدیکتر خواهد بود.

۲- شدت خط : شدت ترسیم شاید نشانه زیاد تر بودن آنتی ژن باشد ولی باید توجه داشت در صورتیکه غلظت آنتی ژن بسیار زیاد باشد مازاد آنتی ژن ممکنست تقریباً تمام رسوب تشکیل شده را حل نماید.



شکل ۲ - تجزیه و تحلیل دیاگرام ایمونوالکتروفورزی سرم انسان

۳- شعاع انحنای خط : هر اندازه که مقدار آنتی ژن زیادتر باشد انحنای خط ترسیم آن کمتر است و بالعکس. انحنای بیش از حد خط در مواردی دیده میشود که یا مقدار آنتی کور بسیار زیاد است و یا اینکه آنتی ژن خیلی ضعیف میباشد.

۴- وضوح خط : خط ترسیم درست مقابل محلی که آنتی کور بمقدار اضافی وجود دارد

محو بنظر می‌رسد بنا براین برای بدست آوردن خطوط واضح لازم است که غلظت نسبی سرم مورد مطالعه و آنتی سرم با یکدیگر مطابقت داشته باشند (4,2) در حال حاضر بکمک سرمهای مصنوعیت یافته که توسط بنگاه پاستور پاریس تهیه میشود توانسته اند در حدود ۲ خط را مشخص سازند (ش ۲) که این خطوط بر حسب قابلیت جابجا شدن میزان آنتی ژنها عبارتند از: گاما گلوبولین ها که تشکیل خط کهانی بسیار طولی را میدهند.

— بتا - ۲ گلوبولین ها که شامل بتا ۲ - A و بتا ۲ - M گلوبولین میباشند .
 — بتا - ۱ گلوبولین ها که بتعداد ۵ عدد میباشند که از آن جمئه میتوان بتا - S₁ (سیدرو-فیلین یا ترانسفرین- Siderophile ou Transferrine) سرمو کوئید بتا - ۱ (Séromucoide β₁) و ۲ او گلوبولین (Euglobuline) (بتا - A₁ و بتا - C₁ او گلوبولین) را نام برد .
 — آلفا - ۲ گلوبولین ها که تعداد آنها حداقل ۵ عدد است ، آلفا - ۲ ماکرو گلوبولین ، سرو لئوپلاسمین (Céruléoplasmine) سرمو کوئید بتا - ۱ ، هاپتو گلوبولین ها و یک جزء لیپوپروتئینی که در الکتروفورز روی کاغذ بتالیپوپروتئین ها را تشکیل میدهد ولی در روی ژلوز در حکم آلفا - ۲ گلوبولین است .

— آلفا - ۱ گلوبولین ها که ۴ تاء عدد میباشند بشرح زیر: آلفا - ۱ گلیکوپروتئین اصلی شولتز (Schultze) (دارای ضریب سدیمان تاسیون S ۳/۵) ، آلفا - ۱ لیپوپروتئین ، اوروزو - مو کوئید (Orosomucoïde) و سرمو کوئید اسید آلفا - ۱ .

— سرم آلبومین اولین قسمتی است که ظاهر میشود و همواره بصورت هلال نسبتاً گسترده ای جلب نظر میکند ولی در صورتیکه مقدار آنتی ژن زیاد باشد این تصویر بر اثر حل گشتن محومی گردد .

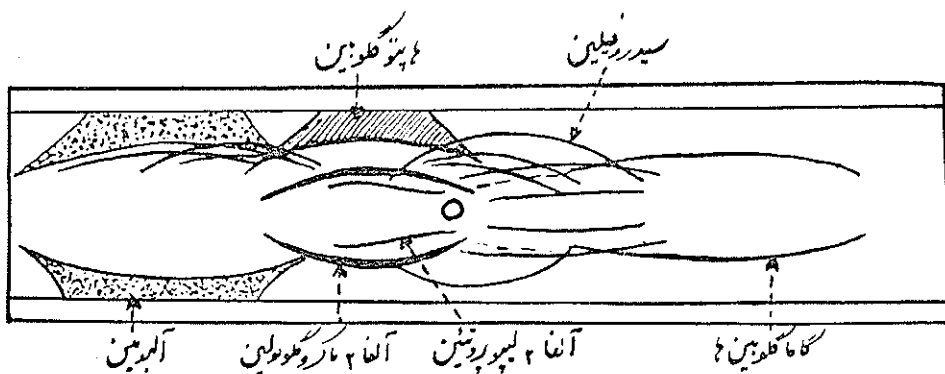
— بالاخره دو پروتئین که قابلیت جابجا شدن آنها از آلبومین سریعتر بوده و پروتئین های (ρ) نامیده میشوند اولی یک گلیکوپروتئین سرشار از تربیتوفان بوده و پیش آلبومین - (Pré-albumine) نامیده میشود و سی لیپوپروتئینی بنام رولیپوپروتئین (Rho-lipoprotéine) است (2, 3, 6, 7, 8) .

کاربردها : کاربرد های مهم ایمونو الکتروفورز عبارتند از:

الف - بیماری های کبدی: در جریان سیروز کبد و هپاتیتهای ویروسی، گاما گلوبولین ها همراه با گلوبولین های بتا ۲ - A و بتا ۲ - M افزایش می یابند . در یک سلسله آزمایش که روی ۲۸ سرم مختلف از مبتلایان به سیروز الکلی کبد انجام شده مشاهده کرده اند که گاما گلوبولین ها در ۲۶ مورد، گلوبولین - بتا ۲ - A در ۱۸ مورد و گلوبولین بتا ۲ - M در ۲۵ مورد افزایش یافته است . در جریان هپاتیتهای ویروسی افزایش ماکرو گلوبولین بتا - ۲ تقریباً بطور ثابت دیده میشود چنانکه

در ۲۰ مورد از ۲ سرم مورد مطالعه این امر مشاهده شده است. تغییرات ماکرو گلوبولین بتا-۲ تابع سیر بیماری بوده و بموازات آن تغییر مینماید و همواره بانسب حاصله از واکنشهای بی ثباتی پلاسما و فنی میدهد چنانکه رابطه آماری بین مثبت بودن واکنش تیمول (ماک لاگن - Mac Lagan) و افزایش ماکرو گلوبولین بتا-۲ از یکطرف و کارهای تجربی از طرف دیگر نشان میدهد که این ماکرو مولکول نقش عمده را در مکانیسم فیزیکی شیمیایی این واکنش سرمی بازی میکند (3) بالاخره بروش ایمونوالکتروفورز دیده اند که در اشکال خطی سیر روز کبدی و یا هپاتیت های ویروسی شدید برخی از گلبولهای آلفا-۲ و بتا-۱ از بین رفته اند.

ب- بیماریهای کلیه: از مدت ها پیش افزایش آلفا-۲ گلوبولین های سرم را بوسیله الکترو فورز روی کاغذ در مبتلایان به سندرم نفروزی می شناسند و تجزیه ایمونوالکتروفورزی نیز ثابت کرده است که این افزایش سه گلوبولین (آلفا-۲، لیپو پروتئین، هاپتو گلوبولین و آلفا-۲ ماکرو گلوبولین) را شامل میشود (ش ۳) افزایش ماکرو گلوبولین بطور ثابت وجود دارد



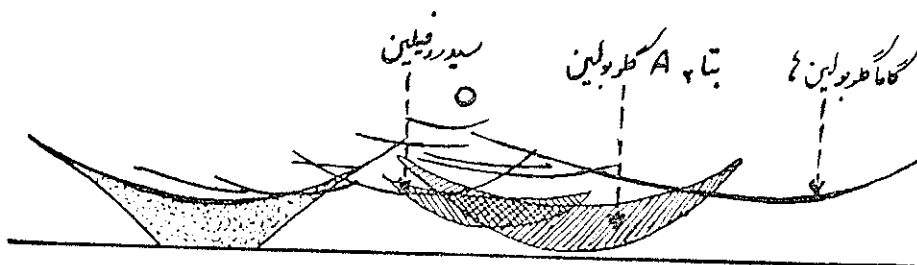
شکل ۳ - ایمونوالکترو فور گرام بیمار مبتلا به نفروز

چنانکه کنترل بوسیله اولتراسانتریفوگاسیون (Ultracentrifugation) سرم این افزایش مطلق را در سرمهاییکه مقدار پروتیدشان کم است بر حسب درجه سیر بیماری بنحو متغیری نشان می دهد (3).

ج- خون شناسی: دیس گلوبولین اسی (Dysglobulinémie) بیماری های کاهلر (Kahler) و والدنشتروم (Waldenström) با این روش از یکدیگر شناخته میشوند (2, 3, 4, 8).

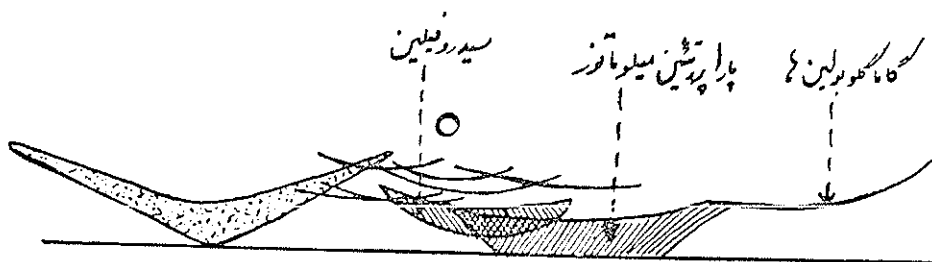
در میلوم متعدد ناهنجاری های ایمونو الکتروفورز خطوط گاما و بتا-۲ گلوبولین هارا شامل میشود بدین قرار:

۱- وجود پروتئین میلوماتوز در سرم اشکال ایمونوالکتروفورزی گوناگونی ایجاد میکند؛ خطی که در سمت قطب مثبت و یا منفی با کمان گاما گلوبولین ها متصل میشود و یا خطی که بموازات و یا در زیر این کمان واقع شده است. نکته اساسی وجود این خط اضافی است که نمودار وجود شرکت و اتحاد آنتی ژنی مختصری بین پروتئین های میلوماتوز و گاما گلوبولین ها است.



شکل ۴ - ایمونوالکتروفورگرام سرم بیمار مبتلا به میلوم متعدد (بتا ۲ A۲ میلوم)

۲- وجود ضخامت که در سمت قطب مثبت، در میان و یا در سمت قطب منفی خط گاما گلوبولین ها جای داشته باشد .
 ۳- افزایش همه جانبه خط گاما گلوبولین ها بشرطی که این خط کوتاه بوده و در این حالت همراه با از بین رفتن بتا-۲ گلوبولین ها باشد.

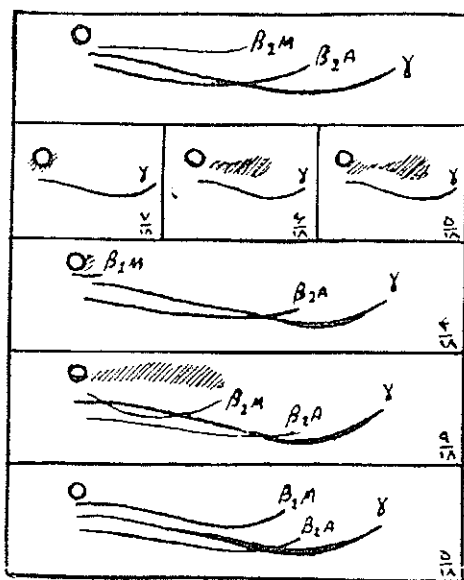


شکل ۵ - ایمونوالکتروفورگرام سرم بیمار مبتلا به میلوم متعدد (گاما میلوم)

۴- افزایش حجم خط بتا- A۲ گلوبولین همراه با خط گاما گلوبولین ها که طبیعی بوده و یا کثراً کوتاه گشته است [برخی از مصنفان برعکس عقیده دارند که یک علامت ساده که حدس را متوجه تشخیص بیماری کاهلری نماید از بین رفتن منفرد بتا-۲ گلوبولین میباشد (3) (ش-۴ و ه)] در جریان بیماری والدنشتروم نتایج حاصله از تجزیه ایمونوالکتروفورزی اصولاً مربوط

بخط ترسیب آنتی ژن - آنتی کور ماکرومولکول بتا- ۲ است بطوری که نتایج زیر را می توان مشاهده کرد:

— افزایش خط بتا-۲ ماکروگلوبولین کاملاً واضح بوده و بهیچ وجه باخط طولی که در سرم طبیعی بزرگمت دیده می شود قابل مقایسه نیست این خط شکل خاصی بخود می گیرد (انحنای مضاعف یا کمان با شعاع بزرگ که بسمت منبع آنتی کور جابجا گشته است) علاوه بر این خط یک رسوب پرتئینی نیز دیده می شود که ممکنست در حفره گذاردن سرم و یا اینکه در عقب آن باشد (حالت اخیر در وسط خط کمائی بتا- MI_2 خواهد بود که شرحش قبلاً گذشت) با مطالعه ۱۸ مورد بیماری والدنشتروم مشاهده کرده اند که در اکثر موارد رسوب مهمی دیده می شود که محل قرار گرفتن آن در حفره گذاردن سرم (۷ مورد) یا در عقب آن (۶ مورد)



شکل ۶ - ایمونو الکتروفورزی ۱۸ مورد سرم مبتلایان به بیماری والدنشتروم

و یا اینکه در حوالی و عقب این حفره می باشد (۵ مورد) (ش ۶) خط ترسیب بتا- ۲ ماکروگلوبولین نیز اشکال گونا گونی بخود می گیرد بشرح زیر:

— در ۵ مورد منحنی مضاعف بسیار نمایانی دیده می شود که منظره مشخص این بیماری است .

— در ۹ مورد علاوه بر رسوب در عقب حفره گذاردن سرم خط بتا- ۲ ماکروگلوبولین

که دارای انحنای عریض و تقعر بسمت بالا است خط گاما گلوبولین ها را قطع می نماید .
— در ۴ مورد دیگر برعکس خط ترسیم بتا ۲ - ماکرو گلوبولین در جایگاه عادی خود قرار نداشته و بصورت انحنای ساده ای در می آید که حفره گزاردن سرم را در بر گرفته است برای تشخیص آن باید سرمهای ایمنی یافته ای بکاربرد که عیار آنتی کور ضد بتا- M_2 آن ضعیف باشد (3) .

با توجه بر رابطه ای که گلوبولین های ایمن (گاما ، بتا - A_2 و بتا - M_2 گلوبولین ها) را بهم می پیوندند مصنفان خواسته اند از تغییرات احتمالی گاما و بتا ۲ - گلوبولین ها در بیماری والدنستروم نتایجی بدست آورند ولی در عمل مشاهده شده که مطالعه بتا - A_2 گلوبولین مشکل است زیرا خط آن که در اکثر موارد توسط بتا - M_2 گلوبولین و گاما گلوبولین ها پوشیده می باشد دارای منظره عادی است با اینحال کاهش و حتی از بین رفتن این ه خط را گزارش داده اند و تنها در یک مورد افزایش خط بتا - A_2 گلوبولین را مشاهده کرده اند (3) .

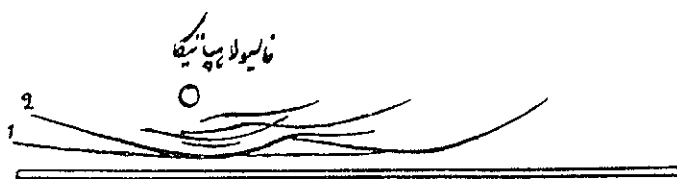
در تمام موارد مطالعه شده فوق خط گاما گلوبولین ها طبیعی بوده است .
تجزیه و تحلیل موارد کریو گلوبولین امی (Cryoglobulinémie) بروش ایمونو-الکتروفورز نشان داده است که «پروتئین های سرمائی» (Protéines frileuses) ممکن است از دسته گاما گلوبولین و ماکرو گلوبولین و یا مجموعه این دو باشند (3) .

مطالعه حالات آگاما گلوبولین امی (Agammaglobulinémie) نیز نشان داده است که در واقع فقدان منفرد گاما گلوبولین ها کاملاً استثنائی بوده و کاهش گلوبولین های دیگر مانند گلوبولین های بتا - A_2 و بتا - M_2 همراه با نقصان گاما گلوبولین ها نمودار منشأ مشترک این پروتئین های ایمن است (3) .

ایمونوالکتروفورز همو گلوبین ها : بوسیله ایمونوالکتروفورز مواد مشکله آنتی ژنی همو گلوبین های C, E, S, A و F را مطالعه کرده و توانسته اند ۳ تا ۴ ماده را بکمک سرم خرگوشهائی که بوسیله محلولهای تلخیص یافته همو گلوبین ایمن گشته اند معلوم دارند همچنین مشاهده کرده اند که سه عدد از این مواد مشترک بین همو گلوبین های C, S, A و E می باشد (6) .

۵- بیماری های انگلی: شیوع برخی ابتلائیات انگلی مانند دیستوماتوز کبدی (Distomatose hépatique) و سالیان اخیر باعث شده است که برخی از مصنفان بسبب چند گونه گی (Polymorphisme) و ناجور بودن علائم بیماری از یکطرف و لزوم تشخیص زودرس (پیش از دفع تخم انگل) جهت درمان بموقع روشهای ایمن شناسی را که حساس و اختصاصی می باشد بکار بندند . هرچند که قبلاً روش های سرمی گوناگون (واکشهای ثبوت مکمل ، همولیز

و کنگلوتیناسیون (Conglutination) و آزمایشهای داخل پوستی کمکی در این راه بود با اینحال پس از مطالعه ایمنی، شیمیایی عصاره انواع انگل ها (ترماتدها (Trématodes) نماتدها (Nématodes) و سستدها (Cestodes) اولین نتایج فایده بکار بستن روش ایمونوالکترو-فورز با آنتی ژنهای فاسیولا هپاتیکا (Fasciola hepatica) در ۱۹۶۲ بدست آمد در واقع بیگه (Biguet) و همکارانش مشاهده کرده اند که در آنتی ژن دیستومین (Antigène distomien) ماده ای از نوع C پروتئین وجود دارد. وجود این ماده در آنتی ژن مزبور مصنفان را بر آن داشت که پروتئین C را در مبتلایان به دیستوما توز کبدی با کمک واکنش ترسیبی روی ژلوزبوسیل سرم خرگوش دارای آنتی پروتئین C (سرم خرگوش هیپر ایمونیزه بوسیله تزریق آنتی ژن ویا خوراندن متاسرکر (Métacercaire) معلوم دارند و هر چند که این تجربیات اولین گامهای خود را می پیماید با این حال در اولین نتایجی که بدست آمده است در ایمونوالکتروفور گرام (Immunoélectrophorégramme) دو خط کمائی دیده می شود که بخصوص کمان دوم بنظر بسیار اختصاصی می آید (i) (ش ۷) .



شکل ۷- دیاگرام ایمونوالکتروفورزی آنتی ژنهای فاسیولا هپاتیکا
بوسیله سرم بیمار مبتلا به دیستوما توز کبدی

نتیجه : بطور کلی در حال حاضر اطلاعات و دانشنی های ما از این روش محدود بوده و نتایجی که تاکنون بدست آمده است مدیون کارهای گرابار و مکتب او می باشد . انجام و تفسیر ایمونوالکتروفورز هر چند که از حدود و ثلایف آزمایشگاههای معمولی خارج و بر عهده آزمایشگاههای تخصصی است با اینحال آزمایشگاههای کاملاً مجهز که بروش فوق آشنائی و تسلط کافی داشته باشند می توانند آنرا انجام دهند .

مطالعه گاما گلوبولین ها که در حالت مرضی دستخوش تغییرات زیادی می گردند و نیز موارد گاما میایوم و ما کرو گلوبولین امی والدنشتروم و حالات آگاما گلوبولین امی با این روش زمینه تحقیقات و پژوهشهای جالبی را تشکیل میدهد زیرا در موارد پیش گفته الکتروفورز روی کاغذ نتایج کافی بدست نمی دهد و تنها با کمک ایمونوالکتروفورز است که می توان تشخیص مفروض را تأیید کرد و یا خط بطلان بر آن کشید همچنین با کمک این روش است که می توان سرشت

آنتی ژنی شبیه پروتئین ها (Paraprotéine) را تعیین نمود و وجود ماکرو گلوبولین بتا - ۲ و یا فقدان گاما گلوبولین را مدلل داشت و نیز وحدت و یگانگی ایمنی بخش برخی پروتئین ها را آشکار ساخت. با اینحال نظر باینکه روش ایمونوالکتروفورز نتایج کمی (Quantitatif) بدست نمیدهد کاربرد های آن در پژوهشهای حالات مرضی محدود میباشد (2,3,4,5).

خلاصه:

اولا- آزمایش ایمونوالکتروفورز پروتئین های سرم، نتایج کمی بدست نمی دهد بنابراین بایستی آنرا با اندازه گیری پروتیدهای تام سرم و الکتروفورز روی کاغذ همراه نمود.

ثانیا- این روش در سوارد هیپر گلوبولین اسی و بخصوص هیپر گاما گلوبولین اسی بسیار فایده بخش است زیرا این دسته از پروتئین ها در حالات مرضی دستخوش تغییرات زیادی می شوند که خود موضوع جالبی برای تحقیقات و پژوهشهای علمی خواهد بود.

ثالثا- بطور کلی روشی است که برای تشخیص ماهیت ایمنی برخی از پروتئین های مرضی (پارا پروتئین های هیلموم و ماکرو گلوبولین) بکار میرود.

RÉFÉRENCES

- 1- Biguet J. et coll. la Presse Med, No 52, 1964 PP. 3103-3104.
- 2- Boespflug R. Medecine et Lab. tome 13 No 116, 1963 PP. 119-217
- 3- Fauvert R. et Hartmann L. Tech. Med. de Lab. 3 ème edit. 1961-62 Exp. Edit. Paris PP. 55-64
- 4- Fine J. M. Cahiers de collège de med. No 3, 1964 PP. 159-160
- 5- Fine J. M. Encycl. med. chir, 13000 R 10 Sang 4, 1962 PP. 1-8
- 6- Fine J. M. Transfusion tome I, 1958 pp. 6-12.
- 7- Polonovski M. Biochimie med. 6 ème edit. Fase. 3, 1961 pp. 743-746.
- 8- Rassadi P. Rev. de la Faculté de Med. de Teheran tom 21 No 1, 1963 pp. 39 - 55.