نگارش دکتر رهبر
دستیار بخش سرم‌شناسی

الکتروفورز و استفاده های آن در پزشکی

همانطور که املاح وآسیدها و بازها وقتی درآب حل میشوند عده‌ای از مولکول های آنها بشکل یون‌های مثبت و منفی درمیاید و آسیدیته و قلیائیت واقعی آن محلول بسته بتعداد یون‌های موجود در آن است . و اگر دو قطب جریان الکتریکی مستقیم را وارد این محلول بنمائیم یون‌های دارای بار مثبت بطرف قطب منفی حرکت میکنند و بالعکس .

درمحلول‌های پروتئینی (و بطورکلی محلولهای کولوئیدی) نیزمولکولها دارای بار الکتریکی مثبت و منفی هستند ودرمقابل نام الکترولیت که بمحلولهای نامبرده بالا جریان قرارگیرد درزمان‌معینی‌مولکولهای‌آ آمفولیت میگویند. و فرقی که باالکترولیت ها دارند اینست که در PH معینی مثلا قلیائی ویااسیدی عده‌ای ازبارهای‌الکتریکی خنثی میشوند و محلول کولوئیدی دارای یکنوع بار الکتریکی میشود یعنی همه مولکولهایا بارمثبت دارندیابارمنفی. همین یکنوع بودن‌بار الکتریکی است‌که مولکولها همدیگر را دفع میکنند Force de Repulsion و محلول بصورت کولوئیدی باقی میماند و سنگینی مولکولها باعث‌ته‌نشین شدن آنها نمیشود و اگر ما محلولهای‌نمکی و یا اسیدی که دارای یون‌های مخالف‌محلول پروتئینی است در آن وارد کنیم بعلت خنثی شدن بارهای مخالف مولکولهای درشت پروتئین رسوب میکند و این کاری است‌که درآزمایشگاهها برای جدا کردن پروتئین‌ها در محلولها و اندازه‌گیری آنها بکارمیرود. یك پروتئین برحسب اینکه از چند آسید آمینه ترکیب شده باشد ممکن است دارای تعداد زیاد یون‌های مثبت یا منفی باشد و امروزه بااندازه گیری‌این بارهای الکتریکی میتوان بتعداد عوامل آسیدی و یا بازیك آن و تعداد آسیدهای آمینه پی برد .

این‌بار الکتریکی‌بچه صورتی است ؟ یك اسیدآمینه‌رامثال‌میزنیم که‌فرمول‌کلی‌آن R_{coonh_2} است و در محلول بصورت یون‌های (NH_3^+) و $(Rcoo^-)$درمیاید

ریشه‌آمین ریشه‌اسید

در یك PH معینی تعدادبارهای منفی ومثبت مساوی‌اند و یکدیگر را خنثی میکنند این PH را نقطه ایزوالکتریك آن آسیدآمینه میگویند که ثابت است‌ودرنقطه‌ایزوالکتریك آسید آمینه کاملا خنثی و غیرقابل حل است .

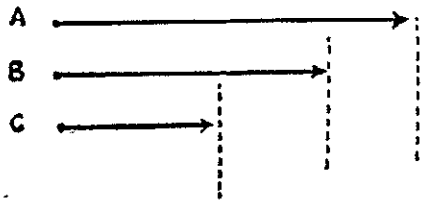
و اگر محلولی دارای چند آسیدآمینه و یا پروتئین است‌که PH ایزوالکتریك

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

هرکدام را میدانیم میتوان با قراردادن این مخلوط در PH های ایزوالکتریك هرکدام آن آسید آمینه و یا پروتئین را رسوب‌داد و تا قبل‌از الکتروفورز اینکار یك وسیله جدا کردن پروتئین ها ازهم بود .

عوامل آسیدی و بازیك فقط ریشه‌های کربوکسیل‌وآمینی که در بالا ذکرشدنیستند مثلا در تیروزین عامل فنل و در سیستین عامل سولفیدریل درلیزین عامل آمونیوم و درآرژنین عامل گوانیدین وجود دارد و وجود یون‌هـای آسیدی و بازی در یك پروتئین است کـه پروتئین‌ها با فلزات و غیرفلزات ترکیب میشوند پروتئین‌زنجیره‌ای از اسیدهای آمینه است که در دو طرف زنجیر پولی‌پپتیدی و در دو انتهای آن بارهای مثبت و منفی آزاد وجود دارد و هر پروتئین دارای نقطه ایزوالکتریـــك مخصوصی است‌حالااگر PH محلول‌پروتئین درطرف آسیدی نقطه ایزوالکتریك آن باشد محلول پروتئین دارای تعدادی بارمنفی و اگر PH درطرف قلیائی نقطه ایزوالکتریك باشد دارای بار مثبت است و وقتی محلول پروتئینی که دارای‌بار الکتریکی است در جریان الکتریکی مستقیم قرار گیردمولکول های پروتئین بطرف قطب مخالف الکتریکی حرکت میکننـد این حرکت را حرکت الکتروفورتیك میگویند و واضح است که در نقطه ایزوالکتریك‌حرکت الکتروفورتیك وجود ندارد چون مولکول خنثی‌است اگر مخلوطی از چندین پروتئین مثلا سرم خون درمسیر جریان الکتریکی قرار گیرد سرعت مولکولها در زمان معین وشدت جریان‌ثابت بستگی معکوس با بزرگی و کوچکـــی مولکولها و بهتر بگوئیم با وزن مولکولی آنها دارد مولکولهای‌سنگین‌ترسرعت‌کمتری دارند . مثلا اگر مخلوطی که دارای‌سه‌نوع پروتئین مختلف آ. ب و ث‌است در مسیر جریان‌قرارگیرددرزمان‌معینی‌مولکولهای‌آ که سبکترند مقدار بیشتری حرکت میکنند و همه در یك فاصله قرار میگیرند و بعـد مولکولهای ب و سوم ث‌که باندهای‌مختلف و مشخصی ایجاد میکنند ازاین وسیله برای جدا کردن و اندازه‌گیری پروتئین‌هـای مختلف که تاکنون بوسیله دیگری قابل‌جدا کردن نبودند استفاده میکنیم . متد قدیمی‌که درمایع انجام میشد، مبتکر آن Tiselius بودوامروز الکتروفورز روی کاغذصافی‌ویا ژلوز و نشاسته انجام میشود . الکتروفورز در تحقیقات علمی وفیزیولوژی کمکهای بسیاری میکند مثل‌جداکردن ترکیبات‌سلولی و متابولیسم داخـل سلولی و بهمراه بـا ایزوتوپهای مختلف مثل کاربن ۱۴ وغیره وسیله بسیار دقیقی درتحقیق مواد حیاتی است. اما درکلینیك بیشتر الکتروفورز سرم خون. الکتروفورزهموگلوبین . نتایج‌خوبی میدهد .

الکتروفورز سرم خون بیشتر روی کاغذ صافی انجام میشود تامپونی که بکار میـــرود Veronal Sodique با PH = ۸٫۶ است که در این PHپروتئین های سرم دارای بار منفی‌اند و بطرف قطب



[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

مثبت میروند بعد از قراردادن $\frac{1}{200}$ سانتیمتر مکعب درروی خطی که عمود بر طول کاغذ است و قرار دادن نوار دردستگاه الکتروفورز ووصل جریان مدتی طول میکشد تا پروتئین های سرم جدا شده وهرکدام دربانده مخصوصی قرار گیرد (اینمدت در دستگاههای مختلف متفاوت است) و بعداز این مدت نوارها را با رنگی که همه پروتئین‌ها بطور یکسان جذب کنند مثل آمیدوشوارتزرنگ میکنیم پنج‌باند مختلف مربوط به آلبومین، آلفا یک گلوبین آلفا دو گلوبولین و بتا گلوبولین و گاما گلوبولین در روی نوار دیده میشود که بطریقه فوتومتر مخصوصی نواحی مختلف آن اندازه‌گیری و روی کاغذ منحنی آن کشیده میشود و پس از اندازه‌گیری سطح منحنی‌ها با دستگاه پلانی‌متر نسبت پروتئین‌های مختلف اندازه‌گیری میشود از لحاظ دقت اینکار میتوان گفت که مقدار الفا یک گلوبولین که در $\frac{1}{200}$ سانتیمتر مکعب سرم خون وجود دارد در حدود ۵ میکروگرام است که تغییرات آنرا نیز میتوان تعیین کرد . نسبت های طبیعی در سرم خون انسانی ازاین قرار است :

آلبومین‌ها ۵۵ تا ۶۵ درصد آلفا یک گلوبولین ۳ تا ۶ درصد آلفا دو گلوبولین ۶ تا ۹ درصد بتا گلوبولین ۹ تا ۱۱ درصد و گاما گلوبولین ۱۱ تا ۱۸ درصد.

تغییرات منحنی الکتروفورز (الکتروفوروگرام)

نقص‌های ارثی پروتئین‌های خون :

۱ــ فقدان یا کمبود آلبومین‌ها Analbuminemie

که منحنی آلبومین‌ها محدودتر شده ونسبت آلبومین‌ها از ۵۵ درصد خیلی کمتر است و یا اصلا آلبومین‌ها وجود ندارند.

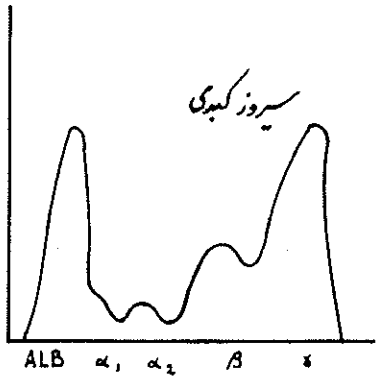
۲ ــ کمبود و یا فقدان بتا ــ گلوبولین ها یک مورد آن فقدان بتا گلوبولین یا هاپتوگلوبولین است که در اشخاص سالم با هموگلوبین ترکیب شده است و از خروج هموگلوبین در ادرار جلوگیری میکند و در اشخاصی که هموگلوبینوری حرکت دارند فقدان این‌ها پتوگلوبولین باعث میشود که هموگلوبین در ادرار خارج شود.

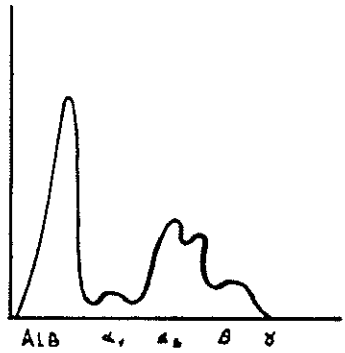
۳ــ کمبود یا فقدان گاما گلوبولین Agammaglobulinemie این بیماری که معمولا در اطفال یک خانواده دیده میشود و کودکان تا ۷ سالگی بطور متوالی دچار بیماریهای عفونی میشوند و اکثرا باتابلوی آنسفالیت فوت میکنند موارد دیده شده است که تا ۱۵ سالگی نیز زنده مانده‌اند واکسن زدن و یا ابتلای بیماری هیچ‌نوع مصونیتی دراین اشخاص ایجاد نمیکند این بیماری که بنام بیماری Bruton است همیشه همراه با عدم رشد کامل سیستم لنفاوی است زیرا سازنده گاما گلوبولین لنفوسیت ها و سیستم لنفاوی است .

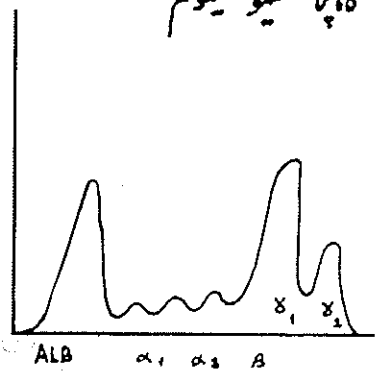
سه بیماری بالا که بعلت نبودن و یا ناقص‌بودن ژن سازنده گاما گلوبولین است بطور Recessif بارث میرسد.

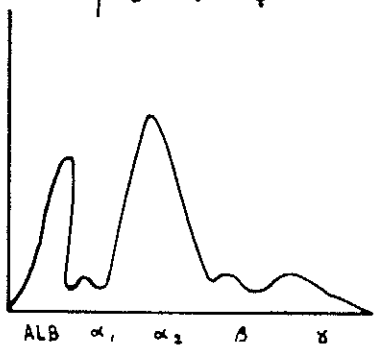
بیماریهای عفونی و نسجی . هپاتیت حاد . دراین بیماری آلبومین‌ها کمی کاهش یافته‌اند و گاما گلوبولین کمی زیاد شده است (تا ۲۵ درصد) درسیروز کبدی آلبومین‌ها

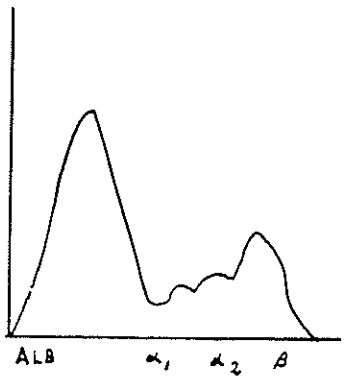
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

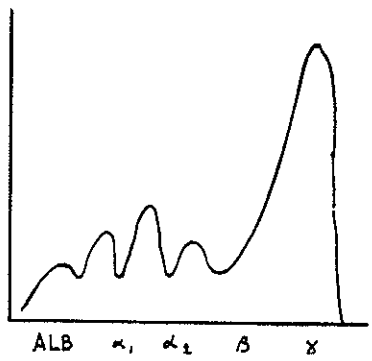












[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

کاهش بیشتری دارند(۴۰درصد) و بتا و گاما گلوبولین‌ها زیادتر شده‌اند.

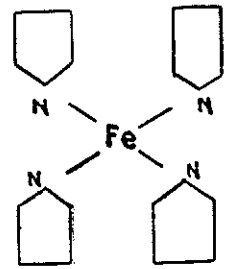
نفروزها ــ درنفروزها پروتئین تام تقلیل‌یافته است و آلبومین‌ها ممکن است تا ۲۰درصد برسند ولی گلوبولین ها بنسبت کمتری بالا رفته‌اند .

درمیلوم مولتی‌پل Multiple Myeloma درتشخیص‌این‌بیماری الکتروفورز کمك بسیاری میکند همینطور درتمام‌انواع Plasmocytome ها که گاما گلوبولین تا ۵۰ درصد ممکن است برسد .

و درانواع این بیماری که علائم استخوانی وجود ندارد و علائم درخون محیطی و سلولهای آن کم است الکتروفورز به‌تشخیص کمك میکند درسرطان پرستات و کبد نیز منحنی الکتروفورز تغییرات‌مشخصی میکند .

الکتروفورزهموگلوبین .

هموگلوبین ترکیبی است از یك گلوبولین ویك ریشه آهن‌دار بنام‌هم Heme که ریشه آمینی آن ازچهارهسته Pyrol ویك مولکول آهن تشکیل شده است وقتی از



هموگلوبین اشخاص مختلف و مبتلایان به کم‌خونی های غیر مشخص و هموگلوبین جنینی آزمایش الکتروفورز بعمل آمد ملاحظه شد که هموگلوبین انواع‌زیادی‌دارد که بعضی از آنها عامل اصلی کم‌خونی‌های مشخصی است هموگلوبین اشخاص سالم را با علامت آ مشخص میسازند باید دانست در انواع‌هموگلوبین ریشه آهن‌دارتتراپیرولیك درهمه یکسان است و گلوبولین است که با یکدیگر فرق دارد و باعث تشکیل‌هموگلوبین های مختلف است انواع دیگر هموگلوبین‌که بوسیله الکتروفورزشناخته شده‌است‌عبارتست از هموگلوبین F یا Foetal یا جنینی و هموگلوبین S که اولی دربیماران مبتلا به انمی‌کولی Cooley Anemia و دومی در مبتلایان به Sickle cell an. دیده‌میشود انواع دیگرهموگلوبین‌که تاکنون بدینوسیله شناخته شده است مثل H.G.E,D,C Q.P.O.N.M.L.K.J. که در تالاسمی‌های ماژور و مینور دیده‌میشود.

طرز الکتروفورز هموگلوبین شباهت به‌پروتئین‌های سرم دارد با فرق اینکه باید نمونه‌های‌هرکدام ازهموگلوبین‌های ذکرشده را داشت و با مقایسه نوع هموگلوبین مورد آزمایش را تعیین کرد.

علاوه‌بر الکتروفورز سرم خون و هموگلوبین میتوان لیپوئیدها را نیز بکار برد و لیپوگرام آنرا رسم‌کرد.

Reference

1 - Ciba Foundation symposium on paper electrophoresis London 1958
2 - White Handler Smith Steten (Principle of Biochemistry)
3 - Glinka (General Chemistry)
4 - Nelson (Textbook of Pediatrics) 1959
5 - Annual of Biochemistry

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]