دکتر پرویز رصدی*

ایمونوالکتروفورز**

مقدمه - از مدتها پیش میدانند که واکنشهای ایمنی-شیمیایی (Immuno-chimique) بسیار حساس واختصاصی میباشد و هایدلبرگر (Heidelbereger) 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) وپس از آن اوختر لونی (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 قبلا تحت الکروفورز واقع شده بود انجام ونام ایمونوالکتروفورز بآن دادند (7, 6, 5, 4, 2).

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

تعریف واساس - 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 دومرحله است :

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

در مرحلهٔ 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 برضد پروتئین های سرم انسان سا م است قرار میدهند چنانکه میدانیم آنتی کورهای ضد پروتئین های طبیعی انسان قادراست اینگونه اجزاء پروتئینی را که درحکم آنتی ژن میباشند راسب نماید. در واقع از این قدرت

---

* رئیس آزمایشگاه بیمارستان روزبه .

** Immunoélectrophorèse.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

راسب کنندگی است که برای تشخیص پروتئین استفاده مینمایند . هنگامی که پروتئین ها بروش الکتروفورز روی ژلوز از یکدیگر جدا گشته و در مقابل منبع آنتی کور قرار گرفتند پروتئین ها و آنتی کورهای مربوطه در خلال ژلوز بسمت یکدیگر پخش و انتشار یافته و در نتیجهٔ برخورد باهم راسب شده و تشکیل خط ترسیب کمانی شکل نمایانی را میدهند بنا بر این بتعداد پروتئین های واجد خاصیت آنتی ژنی در سرم مورد مطالعه خط منحنی خواهیم داشت .

بکمک این روش بطور کاملا دقیق میتوان اجزاء گونا گون پروتئین های سرم را مشخص نمود و نیز تعداد اجزاء مشکله پروتئین هائی 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 کم خرج تر وباصرفه تراست(2) .

لوازم کار-عبارتنداز:

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 میکروسکپی ۵- سرنگ ۲ سانتیمتر مکعبی وسوزن بدون بیزو بقطر $\frac{16}{10}$ ، ۶- مدلهای ترسیم شده باسر کب چین ۷- بن ماری ۶۰ تا ۷۰ درجه حرارت ، ۸- بوات دوپتری ، ۹- مولد جریان و الکترودهای پلاتینی و دستگاه آسپرسنج ، ۱۰- فیبرهای شیشه‌ای ، ۱۱- کاغذهای آرش ۳۰۲ (Arches302) ۱۲- چهار طشتک شیشه‌ای هریک به گنجایش یک لیتر ، ۱۳- مایعات بیولوژیکی مورد مطالعه (مانند سرم ، مایع جنب و یا صفاق و غیره) که مقدار پروتئین آنها قبلا تعیین شده است ، ۱۴ - سرم ایمنی یافته اسب و یا خرگوش برضد پروتئین های طبیعی انسانی S.A.H.N (Sérum Anti Humain Normal)

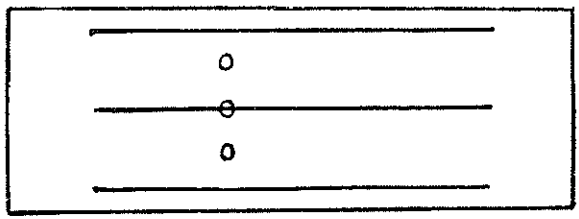
روش آزمایش :

الف - تهیه ژلوز : روشهای گونا گونی معمول است ولی روش ساده وسریع عبارت از اینست که ۲ گرم ژلوز خالص دیفکو (Difco) رادر ۵۰ سانتیمتر مکعب آب مقطر دربن ماری حل مینمایند و پس از آنکه اینکار انجام پذیرفت ۵۰ سانتیمتر مکعب تامپون گرم با PH ۸/۲ بآن می افزایند (3,2) .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

ب ـ تهیه تامپون : تامپون با PH ۸/۲ از ترکیب دو محلول زیر ساخته میشود:
محلول A بفرمول؛ ورونال سدیک ۲۰/٦ گرم و آب دوبار تقطیریافته . . . ۱ سانتیمتر مکعب و محلول B که از ۷۷۰ سانتیمترمکعب محلولA ومقدارکافی اسیدکلریدریک نرمال دهم برای ۱۰۰۰ سانتیمتر مکعب ساخته شده است .

ج ـ تهیه لامهای ژلوز : در ابتدا صفحه شیشه‌ای‌را بکمک تراز آبی درسطح کاملا افقی قرار میدهیم (این‌نکته بسیار حائزاهمیت‌است زیرا ژلوز باید بطور یکنواخت درسطح لامها گسترده گردد) سپس لامهای کاملا تمیزراکه بوسیلهٔ الکل واترعاری از چربی گردیده اند روی صفحهٔمزبور قرار داده وبکمک پی‌پت‌مخصوص(Pipette à Boule) مقدار۲سانتیمتر مکعب‌از ژلوزگرم(٦۰ تا ۷۰درجه)را طوری روی‌لام میریزندکه بنحوکاملا یکنواخت تمام سطح آنرافراگیرد .پس‌از ده دقیقه‌که ژلوز حالت جامد یافت‌لام‌راروی‌مدل(ش ۱) قرارداده‌و



شکل ۱ ـ مدل لازم جهت تعیین محل گذاردن سرم وناودان سرم ایمنی یافته

بکمک سرنگ و سوزن مربوطه حفرهٔلازم جهت گذاردن سرم مورد مطالعه‌را در ژلوز ایجاد مینمایند .نکته مهم وقابل توجه اینکه ناودان لازم جهت ریختن‌سرم ایمنی یافته را بایستی پس‌از انجام و خاتمه الکترو فورز در ژلوز ایجاد نمود زیرا در غیراینصورت ممکنست ژلوز درمحل بریدگی حالت کشیدگی پیدا نموده وجمع شود(2) .

د ـ حفاظت لامهای ژلوز : آنهارا تحت اتمسفر مرطوب در یک بوات دوپتری نگهداری می‌نمایند .

هـ ـ دستگاه الکتروفورز : دو طشتک شیشه‌ای راکه هریک حاوی ۷۵۰ سانتیمتر مکعب تامپون هستند توسط فیبرهای شیشه‌ای‌که در جهت قطب‌منفی به مثبت قراردارند بیکدیگر مربوط میسازند سپس ۵ لام ژلوزراکه بطریق پیش گفته تهیه شده است روی یک صفحه شیشه‌ای‌که بصورت پلی بین دوطشتک قرارگرفته‌است، میگذارند پس‌از آن نواری از

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

کاغذ آرش ۲ . ۳ را بصورت دولا و بطول ۱۰ و بعرض ۲/۵ سانتیمتر، درنیم‌سانتیمتری یکی‌از دو انتهای لام طوری قرار میدهند که سر دیگرآن در تامپون شناور باشد در مرحله آخر الکترودهای پلاتینی‌را که بدستگاه مولد جریان (دستگاه الکتروفورز از نوع الفور- ژوآن - (Elphor-jouan) ویا هر دستگاه مولد دیگری که بتواند جریان مداومی باولتاژهای ۱۱- ۱۵۰ - ۳۰۰ - ۴۰۰ ایجاد نماید) متصل میباشند در دوطشتک بحال غوطه‌ور قرار می‌دهند (2 , 3) .

و - پرکردن حفره‌ها : بکمک میکروپی‌پت مدرج و یا بوسیله پی‌پت پاستور دارای انتهای بسیار باریک، مقدار یک میلیمتر مکعب از مایع بیولوژیک مورد مطالعه‌را درحفره موجود در لام ژلوز وارد مینمایند .

ز- الکتروفورز : در شرایط تجربی فوق الکتروفورزرا مدت ۲ ساعت و نیم با اختلاف پتانسیلی برابر ۲ ولت بین دوکاغذ که‌روی ژلوز تکیه دارند انجام میدهند(2, 3, 4) .

ح - پخش و انتشار آنتی‌ژن و آنتی کور : پس از مدت زمان لازم برای الکترو فورز ، از روی‌مدل ناودانی بموازات مسیر کوچ کردن(Migration)برای‌ریختن سرم‌ایمنی‌یافته‌در ژلوز ایجاد می کنند وآنرا بوسیلهٔ‌مخلوطی مرکب‌ازیک قطره‌ژلوز و ۲ . تا ۳ . میلیمترمکعب سرم ایمنی یافته پر مینمایند سپس لام ژلوزرا مدت ۴۸ ساعت تحت آتسمفر مرطوب و در حرارت آزمایشگاه قرار میدهند. این مدت برای پخش و انتشار آنتی‌ژن وآنتی کور کافی‌است (باید توجه داشت که جهت پخش عمود بر مسیر کوچ کردن میباشد)-(2, 6) .

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

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

ثانیاً - شستن : لامهای ژلوزرا باآب جاری معمولی مدت۳ساعت می‌شویند.

ثالثاً - رنگ آمیزی : لامهارا مدت ۱۰ دقیقه در محلول زیر غوطه‌ور میسازند ،آمیدو شوارتز B ۱ . گرم و الکل اتیلیک ۷۰درصد ۱۰۰ سانتیمتر مکعب .

رابعاً - رنگ زدائی: برای‌زدودن رنگ زمینه‌لام ، آنرا در مدت ۱۰ دقیقه درمخلوطی مرکب‌از یک حجم اسیداتیک و۹ حجم الکل متیلیک قرار میدهند.

خامساً - خشک کردن : در هوای آزاد انجام میشود .

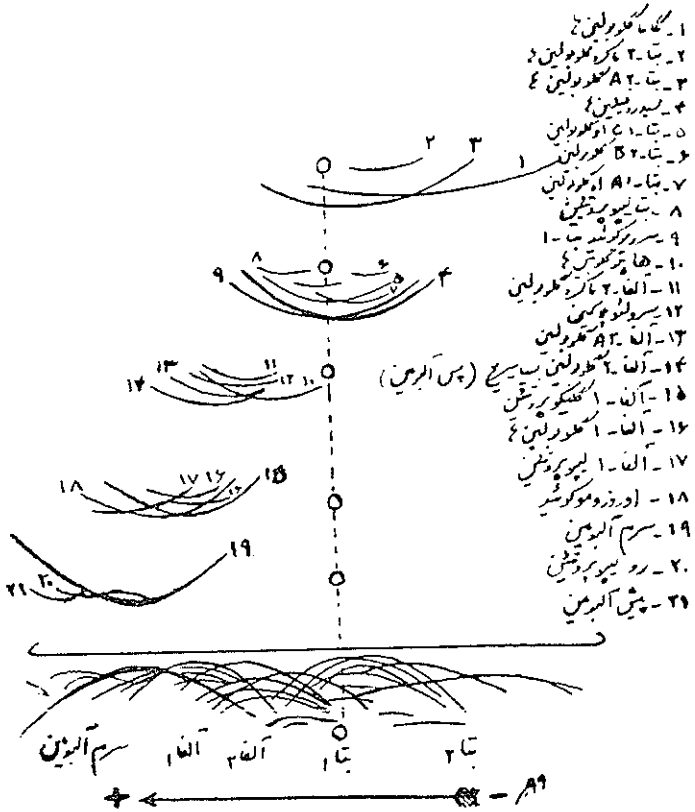
نتایج: بکمک بزرگ‌نمائی(Agrandissement) مستقیم‌لام ژلوز روی کاغذ عکاسی میتوان خطوط گوناگون ترسیب آنتی‌ژن - آنتی کور را قرائت و تفسیرنمود ولی پیش ازبحث

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

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

۱- محل‌وموضع خط : هراندازه که مقدار آنتی‌ژن زیادتر باشد خط ترسیب‌آن به منبع آنتی کور نزدیکتر خواهدبود.

۲- شدت خط : شدت خط‌ترسیب شاید نشانه زیادتربودن‌آنتی ژن باشد ولی بایدتوجه داشت در صورتیکه غلظت‌آنتی‌ژن بسیار زیاد باشد مازادآنتی‌ژن ممکنست تقریباً تمام‌رسوب تشکیل‌شده را حل نماید.



شکل ۲ - تجزیه و تحلیل دیاگرام ایمونوالکتروفورزی سرم‌انسان

۳- شعاع انحنای خط : هر اندازه که مقدار آنتی‌ژن زیادتر باشد انحنای خط ترسیب‌آن کمتراست و بالعکس . انحنای بیش ازحدخط در مواردی دیده میشود که یا مقدار آنتی - کور بسیار زیاد است و یا اینکه آنتی ژن خیلی ضعیف میباشد .

٤- وضوح خط : خط ترسیب درست مقابل‌محلی که آنتی کور بمقدار اضافی‌وجوددارد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

محو بنظر می‌رسد بنا براین برای بدست‌آوردن خطوط واضح لازم است که غلظت نسبی سرم مورد مطالعه و آنتی‌سرم با یکدیگرمطابقت‌داشته باشند (4,2) درحال حاضر بکمک‌سرمهای مصونیت‌یافته که توسط بنگاه پاستور پاریس تهیه میشود توانسته اند در حدود ۲۰ خطرا مشخص سازند(ش ۲) که این خطوط‌برحسب قابلیت جابجا شدن‌میزان آنتی‌ژنها عبارتند از:

– گاما گلوبولین ها که تشکیل خط کمانی بسیار طویلی‌را میدهند.

– بتا ـ ۲ گلوبولین ها که شامل بتا ۲ـ A وبتا ۲ـ M گلوبولین میباشند.

– بتا ـ ۱ گلوبولین ها که بتعداد ۵ عدد میباشند که ازآن‌جمله میتوان بتا ـ S_1 (سیدرو-فیلین یاترانسفرین-Sidérophiline ouTransferrine)سروموکوئیدبتا ـ ۱ (β_1 Séromucoide) و ۲ اوگلوبولین (Euglobuline) (بتا ـ A_1 و بتا ـ C_1 اوگلوبولین) را نام برد.

– آلفا ـ ۲ ـ گلوبولین ها که تعداد آنها حداقل ۵ عدداست ،آلفا ـ ۲ ماکروگلبولین، سرولئوپلاسمین (Céruléoplasmine) سروموکوئید بتا ـ ۱، هاپتوگلوبولین ها و یک‌جزء لیپوپروتئینی که در الکتروفورز روی کاغذ بتالیپوپروتئین هارا تشکیل‌میدهد ولی‌در روی‌ژلوز در حکم آلفا ۲ـ گلوبولین است.

– آلفا ـ ۱ گلوبولین ها که ۵ تا ۶ عدد میباشند بشرح زیر: آلفا ـ ۱ گلیکوپروتئین اصلی شولتز (Schultze) (دارای ضریب سدیمانتاسیون S ۳/۵) ، آلفا ـ ۱ لیپوپروتئین ، اوروزو-موکوئید(Orosomucoïde) وسروموکوئیداسیدآلفا ـ ۱ .

– سرم‌آلبومین اولین‌قسمتی‌است که‌ظاهر میشودو همواره‌بصورت هلال‌نسبةً گسترده‌ای جلب نظر میکند ولی در صورتیکه مقدار آنتی‌ژن زیاد باشد این تصویر بر اثر حل گشتن محو می‌گردد.

– بالاخره دوپروتئین که قابلیت جابجاشدن آنها ازآلبومین‌سریعتر بوده وپروتئین های رو(ρ) نامیده میشوند اولی یک گلیکوپروتئین سرشار از تریپتوفان بوده و پیش آلبومین - (Pré-albumine) نامیده‌میشودودومی‌لیپوپروتئینی‌بنام رولیپوپروتئین (Rho-lipoprotéine) است(8 ,7, 6, 3, 2) .

کاربردها : کاربردهای مهم ایمونوالکتروفورزعبارتنداز:

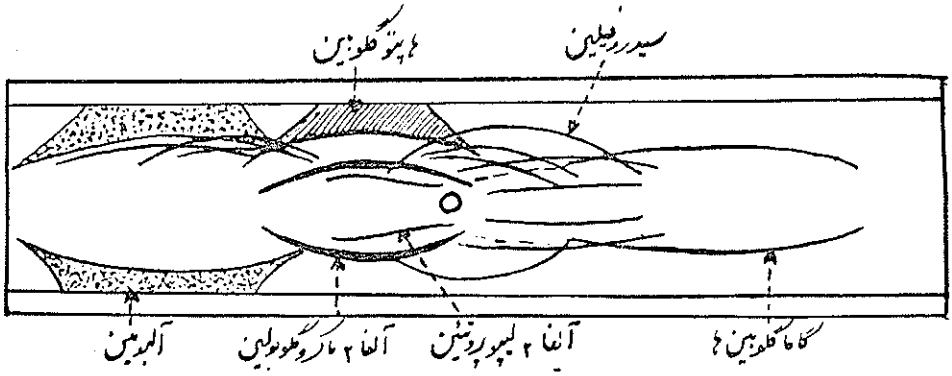
الف ـ بیماری‌های کبدی: درجریان سیروز کبد و هپاتیتهای ویروسی، گاما گلوبولین ها همراه با گلوبولین های‌بتا ـ ۲A و بتا ـ ۲M افزایش می یابند . دریک سلسله‌آزمایش که‌روی ۲۸ سرم مختلف‌از مبتلایان بسیروز الکلی کبد انجام شده‌مشاهده کرده‌اند که گاما گلبولین ها در ۲۶ مورد، گلبولین‌ـبتا ۲A در ۱۸ مورد و گلبولین‌بتا ـ ۲M در ۵ ۲مورد افزایش یافته‌است. درجریان‌هپاتیتهای ویروسی‌افزایش‌ماکروگلوبولین بتا‌ـ ۲تقریباً بطورثابت دیده میشودچنانکه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

در ۲۰ مورد از ۲۴ سرم مورد مطالعه این امر مشاهده شده است . تغییرات ماکروگلوبولین بتا-۲ تابع سیر بیماری بوده و بموازات آن تغییر مینماید وهمواره بانتایج حاصله ازواکنشهای بی‌ثباتی پلاسما وفق میدهد چنانکه رابطه آماری بین مثبت بودن واکنش تیمول (ماك‌لاگن - Mac Lagan) وافزایش ماکروگلوبولین بتا - ۲ ازیکطرف وکارهای تجربی از طرف دیگر نشان میدهد که این ماکرومولکول نقش عمده‌را درمکانیسم فیزیکی شیمیایی این واکنش سرمی بازی‌میکند(3)

بالاخره بروش ایمونوالکتروفورزدیده‌اند که دراشکال خطیرسیروز کبدی و یاهپاتیتهای ویروسی شدیدبرخی از گلبولهای آلفا -۲ و بتا- ۱ ازبین رفته‌اند .

ب - بیماریهای کلیه : ازمدتها پیش افزایش آلفا - ۲ گلبولین های سرم را بوسیله الکترو فورز روی کاغذ در مبتلایان به‌سندرم نفروزی می‌شناسند و تجزیه ایمونوالکتروفورزی نیز ثابت کرده‌است که این افزایش سه گلوبولین (آلفا -۲ - لیپو پروتئین ، هاپتوگلوبولین و آلفا - ۲ ماکروگلوبولین) را شامل میشود(ش۳) افزایش ماکروگلوبولین بطور ثابت وجوددارد



شکل ۳ - ایمونوالکترو فورگرام بیمار مبتلابه نفروز

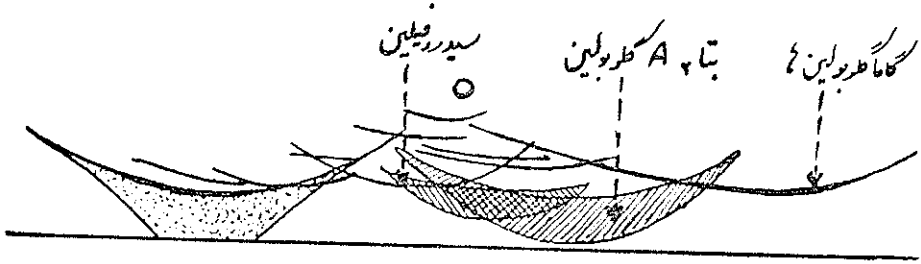
چنانکه کنترل بوسیله اولتراسانتریفوگاسیون (Ultracentrifugation) سرم این افزایش مطلق را در سرمهائیکه مقدار پروتیدشان کم است برحسب درجه سیر بیماری بنحو متغیری نشان می‌دهد (3) .

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

در میلوم متعدد ناهنجاری‌های ایمونو الکتروفورز خطوط گاما و بتا - ۲ گلوبولین هارا شامل میشود بدین‌قرار :

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

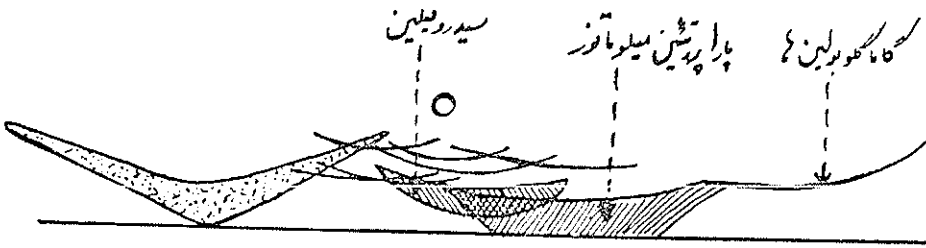
۱- وجود پروتئین میلوماتوز در سرم اشکال ایمونو الکتروفورزی گونا گونی ایجاد میکند؛ خطی که در سمت قطب مثبت ویا منفی با کمان گاما گلوبولین ها متصل میشود ویا خطی که بموازات ویا در زیر این کمان واقع شده است. نکته اساسی وجود این خط اضافی است که نمودار وجود شرکت و اتحاد آنتی ژنی مختصری بین پروتئین های میلوماتوز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



شکل ٤ - ایمونو الکترو فورگرام سرم بیمار مبتلا به میلوم متعدد (بتا ۲A میلوم)

۲- وجود ضخامت که در سمت قطب مثبت، در میان و یا در سمت قطب منفی خط گاما گلبولین ها جای داشته باشد.

۳- افزایش همه جانبه خط گاما گلوبولین ها بشرطی که این خط کوتاه بوده و در اینحالت همراه با از بین رفتن بتا-۲ گلبولین ها باشد.



شکل ٥ - ایمونو الکتروفورگرام سرم بیمار مبتلا به میلوم متعدد (گاما میلوم)

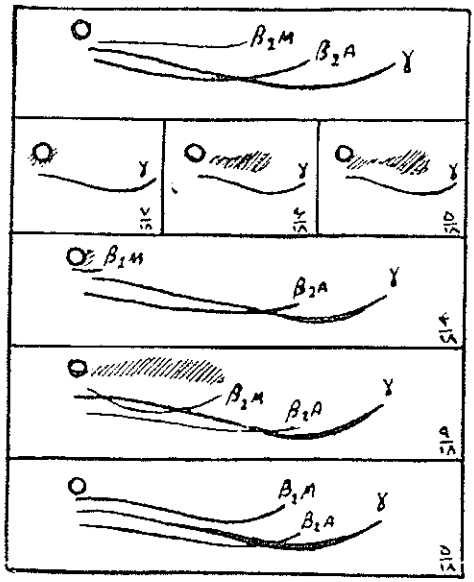
٤- افزایش حجم خط بتا- A۲ گلوبولین همراه با خط گاما گلبولین ها که طبیعی بوده و یا اکثراً کوتاه گشته است [برخی از مصنفان برعکس عقیده دارند که یک علامت ساده که حدس را متوجه تشخیص بیماری کاهلرسی نماید از بین رفتن منفرد بتا-۲ گلوبولین میباشد (3) (ش-٤ و ٥]

در جریان بیماری والدنشتروم نتایج حاصله از تجزیه ایمونوالکتروفورزی اصولا مربوط

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

بخط ترسیب آنتی‌ژن ـ آنتی‌کور ماکروسولکول بتا۲ است بطوری که نتایج زیررا می‌توان مشاهده کرد:

— افزایش خط بتا۲ ماکروگلوبولین کاملا واضح بوده و بهیچ وجه باخط طولی که درسرم طبیعی بزحمت دیده می‌شود قابل مقایسه نیست این خط شکل خاصی بخود می‌گیرد (انحنای مضاعف یا کمان با شعاع بزرگ که بسمت منبع آنتی‌کور جابجا گشته‌است) علاوه براین خط یک رسوب پروتئینی نیز دیده می‌شود که ممکنست درحفره گذاردن سرم ویااینکه در عقب آن باشد (حالت اخیر در وسط خط کمانی بتا۲M خواهد بود که شرحش قبلا گذشت) با مطالعه ۱۸ مورد بیماری والدنشتروم مشاهده کرده‌اند که در اکثر موارد رسوب مهمی دیده می‌شود که محل قرارگرفتن آن درحفره گذاردن سرم (۷ مورد) یا در عقب آن (۶ مورد)



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

ویا اینکه درحوالی وعقب این حفره میباشد (۵ مورد) (ش ۶) خط ترسیب بتا۲ ماکروگلوبولین نیز اشکال گوناگونی بخود می‌گیرد بشرح زیر:

— در ۵ مورد منحنی مضاعف بسیار نمایانی دیده می‌شود که منظرهٔ مشخص این بیماری است.

— در ۹ مورد علاوه بر رسوب در عقب حفره گذاردن سرم خط بتا۲ ماکروگلوبولین

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

که دارای انحنای عریض و تقعر بسمت بالااست خط گاما گلوبولین‌ها را قطع می‌نماید.

— در ٤ مورد دیگر برعکس خط ترسیب بتا ۲ ـ ماکروگلوبولین درجایگاه عادی خود قرار نداشته و بصورت انحنای ساده‌ای در می‌آید که حفره گذاردن‌سرم را در بر گرفته است برای تشخیص آن باید سرمهای ایمنی یافته‌ای بکاربرد که عیار آنتی کور ضد بتا ـ M_2 آن ضعیف باشد(3) .

با توجه برابطه‌ای که گلبولین‌های ایمن(گاما ، بتا ـ A_2 و بتا ـ M_2 گلبولین‌ها) را بهم می‌پیوندد مصنفان خواسته‌اند از تغییرات احتمالی گاماوبتا ـ ۲ گلبولین‌ها در بیماری والدنشتروم نتایجی بدست آورند ولی در عمل مشاهده شده که مطالعه بتا ـ A_2 گلوبولین مشکل‌است زیرا خط آن‌که دراکثر مواردتوسط بتا ـ M_2 گلبولین وگاما گلبولین‌ها پوشیده میباشد دارای منظرهٔ عادی‌است با اینحال کاهش و حتی از بین رفتن این‌ه خطرا گزارش داده‌اند و تنها در یک مورد افزایش خط بتا ـ A_2 گلبولین‌را مشاهده کرده‌اند(3) .

در تمام موارد مطالعه شده فوق خط گاما گلوبولین‌ها طبیعی بوده‌است .

تجزیه و تحلیل موارد کریوگلوبولین‌امی (Cryoglobulinémie) بروش ایمونو- الکترو فورز نشان داده است‌که «پروتئین‌های سرمائی» (Protéines frileuses) ممکن‌است از دسته گاما گلوبولین وماکرو گلوبولین ویا مجموعه‌این‌دوباشند(3) .

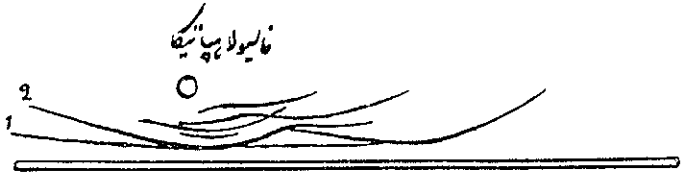
مطالعه حالات آگاما گلوبولین‌امی (Agamma_globulinémie) نیز نشان داده‌است که در واقع فقدان منفرد گاما گلوبولین‌ها کاملا استثنائی‌بوده وکاهش گلوبولین های دیگر مانند گلوبولین‌های بتا ـ A_2 و بتا ـ M_2 همراه بانقصان گاما گلبولین‌ها نمودار منشأمشترك این پروتئین های ایمن‌است(3) .

ایمونوالکتروفورز هموگلوبین‌ها : بوسیلهٔ ایمونوالکتروفورز مواد مشکله آنتی‌ژنی هموگلوبین های C,E,S,A و F رامطالعه کرده‌وتوانسته‌اند ۳ تا ٤ ماده‌رابکمک سرم‌خرگوشهائی که بوسیله محلولهای تلخیص‌یافته هموگلوبین ایمن گشته‌اند معلوم دارند همچنین مشاهده کرده‌اند که سه‌عدد از این‌مواد مشترك بین هموگلوبین های C,S,A وEمیباشد(6) .

۵ـ بیماری‌های انگلی: شیوع برخی ابتلائات انگلی‌مانند دیستوماتوزکبدی (Disto- matose hépatique) در سالیان اخیر باعث‌شده‌است که برخی‌ازمصنفان بسبب‌چندگونگی (Polymorphisme) و ناجور بودن علائم‌بیماری‌از یکطرف ولزوم تشخیص زودرس(پیش‌از دفع تخم انگل) جهت درمان بموقع روشهای ایمن‌شناسی راکه حساس و اختصاصی‌میباشند بکار بندند . هرچندکه قبلا روش‌های سرمی گوناگون (واکنشهای ثبوت مکمل ، همولیز

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

وکنگلوتیناسیون (Conglutination) وآزمایشهای داخل پوستی کمکی در این راه‌بودبا اینحال پس از مطالعه ایمنی ، شیمیایی عصاره انواع انگل‌ها (ترماتدها (Trématodes) نماتدها (Nématodes) و سستدها(Cestodes) اولین نتایج و فایده بکاربستن روش ایمونوالکترو- فورز باآنتی ژنهای فاسیولا هپاتیکا (Fasciola hepatica)در۱۹۶۲ ، بدست آمد درواقع بیگه (Biguet) وهمکارانش مشاهده کرده‌اند که در آنتی‌ژن دیستومین (Antigène distomien) ماده‌ای ازنوع C پروتئین وجود دارد .وجود این‌ماده در آنتی‌ژن مزبور مصنفان‌را برآن‌داشت که پروتئین C را در مبتلایان به‌دیستوماتوز کبدی بکمک واکنش‌ترسیبی روی‌ژلوزبوسیله سرم خرگوش دارای آنتی پروتئین C (سرم خرگوش هیپر ایمونیزه بوسیله تزریق آنتی‌ژن‌ویا خوراندن متاسرکر (Métacercaire) معلوم دارند وهر چند که این تجربیات اولین گامهای خودرا می پیمایدبا این حال دراولین نتایجی که بدست آمده است در ایمونو الکتروفورگرام (Immunoélectrophorégramme) دوخط کمانی دیده می‌شود که بخصوص کمان دوم بنظر بسیار اختصاصی می آید(۱) (ش۷) .



شکل ۷ـ دیاگرام ایمونو الکتروفورزی‌آنتی‌ژنهای فاسیولا هپاتیکا
بوسیله سرم بیمار مبتلابدیستوتازکبدی

نتیجه : بطورکلی درحال حاضر اطلاعات ودانستنی‌های ما از این روش محدودبوده ونتایجی که تاکنون بدست آمده‌است مدیون کارهای گرابار و مکتب او می‌باشد . انجام و تفسیر ایمونوالکتروفورز هرچند که ازحدود وظایف آزمایشگاههای معمولی خارج و بر عهدهٔ آزمایشگاههای‌تخصصی‌است بااینحال‌آزمایشگاههای کاملامجهز که‌بروش‌فوق‌آشنائی‌وتسلط کافی داشته باشند می‌توانند آنرا انجام دهند.

مطالعه گاماگلبولین‌ها که درحالت مرضی دستخوش تغییرات زیادی می گردند و نیز موارد گامامیاوم وماکروگلبولین امی والدنشتروم و حالات‌آگاماگلوبولین امی بااین‌روش زمینه تحقیقات و پژوهشهای جالبی‌را تشکیل میدهد زیرا در موارد پیش گفته الکتروفورز روی کاغذ نتایج کافی بدست نمی‌دهد و تنها بکمک ایمونو الکتروفورزاست که می‌توان‌تشخیص مفروض‌را تأیید کردویاخط بطلان‌برآن کشید همچنین بکمک‌این روش‌است که می‌توان سرشت

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]

آنتی‌ژنی شبیه پروتئین ها(Paraprotéine)را تعیین نمود ووجود ماکروگلوبولین بتا ـ ۲ ویا فقدان گاما گلوبولین را مدلل داشت ونیز وحدت و یگانگی ایمنی بخش برخی پروتئین هارا آشکارساخت. با اینحال نظر باینکه روش ایمونوالکتروفورز نتایج کمی(Quantitatif)بدست نمیدهد کاربردهای آن در پژوهشهای حالات مرضی محدودمیباشد(5،4،3،2) .

خلاصه:

اولاً ـ آزمایش ایمونوالکتروفورز پروتئین های سرم نتایج کمی بدست نمی‌دهد بنابراین بایستی آنرا با اندازه گیری پروتیدهای تام سرم و الکتروفورز روی کاغذ همراه نمود.

ثانیاً ـ این روش در موارد هیپرگلوبولین امی و بخصوص هیپرگاما گلوبولین امی بسیار فایده بخش است زیرا این دسته از پروتئین ها در حالات مرضی دستخوش تغییرات زیادی می‌شوند که خود موضوع جالبی برای تحقیقات و پژوهشهای علمی خواهدبود.

ثالثاً ـ بطورکلی روشی است که برای تشخیص ماهیت ایمنی برخی از پروتئین های مرضی (پارا پروتئین های میلوم و ماکروگلوبولین) 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 Sang4 , 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.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-29]