جستجوی پروتئین میلومی در بیماران

وگروههای آنتی ژنی پروتئین بنس جونس

دکترشموئیل رهبر* دکتر پرویز بهادری* دکتر گیتی نوذری*

بیماری میلوم مولتیپل همراه باعلائم کلینیکی مختلفی که دارد تقریباً همیشه با ازدیاد پلاسموسیت‌ها همراه است که این پلاسموسیت‌ها از یک رده سلولی (Clone) پلاسموسیتی ریشه گرفته‌اند (منوکلونال) وازدیاد یک‌رده پلاسموسیتی همراه باازدیاد یک نوع پروتئین خاصی است بنام پروتئین میلومی که از جنس ایمونوگلوبولین‌ها میباشد و میتوان هرنوع میلوم را با گروه‌پروتئین میلومی که درسرم بیمار ازدیادمی‌یابد تقسیم بندی کرد مانندمیلوم از نوع Ig G ویا Ig A و غیره. چون‌پروتئین‌میلومی‌یک‌دست و از یکنوع و بعبارت دیگر هموژن است درتمام مطالعاتی که برای ساختمان مولکول ایمونوگلوبولین‌ها انجام شده است یکنوع ازاین پروتئین های میلومی بکار رفته است‌زیرا ایمونوگلوبولین هادرشخص طبیعی بسیار مختلف و هتروژن هستند و بیماران میلومی وپروتئین میلومی ازاین‌لحاظ بسیار مورد استفاده‌است. در ادرار پنجاه درصد از بیماران مبتلا به میلوم مولتی‌پل یک‌پروتئین‌خاصی ظاهرمیشود که بنام پروتئین بنس جونس نامیده میشود. این پروتئین دارای وزن مولکولی در حدود ۲۴۰۰۰ و از خصوصیات آن اینست که حرکت الکتروفورزی و بسیاری از خواص آن مانند گاما گلوبولین میباشد . تحقیقات اخیر نشان داده است که پروتئین بنس جونس قسمتی‌از مولکول گاما گلوبولین میباشد یعنی‌زنجیره‌های‌پولی‌پپتیدی سبک (L) Light است که بصورت‌دوتائی (دی مر) در ادرار این بیماران خارج میشود .

در بیماری که اینک شرح حال آن ذکر میشود بیماری میلوم بشکل خاصی ظاهر شده که مطالعه سرم و ادرار بیمار و جستجوی پروتئین های میلومی تشخیص بیماری و نوع آنرامشخص نموده است .

شرح حال: آقای ب . م ۴۹ ساله اهل زنجان بعلت درد مفصل شانه و اندامهای فوقانی‌مراجعه کرده است . این‌دردها ازدو ماه قبل شروع شده و اغلب به گردن انتشار می‌یابد، در ماه اخیر بیمار همیشه حال تهوع داشته است .

بیمار هیچگونه اعتیادی ندارد ولی گاهی مشروب میخورد . پنجسال قبل یک عمل جراحی روی ستون فقرات ایشان انجام‌شده است و توسربرداشته شده از یکی از مهره‌ها از لحاظ آسیب شناسی مورد آزمایش قرارگرفته است که پراز سلولهای پلاسموسیتی بوده است ولی پس از آن بیمار شکایتی نداشته است .

آزمایشات انجام شده :

گلوبولهای قرمز	۳۲۸۰۰۰۰
گلوبولهای سفید	۸۰۰۰
سدیمانتاسیون ساعت اول ۱۱۰ میلیمتر ساعت دوم ۱۲۴ میلیمتر	
قند خون	۱/۰ گرم
اوره	۱/۲۸ گرم درلیتر
اسید اوریک	۸۱ میلی گرم درلیتر
کلسترول	۱/۲۸ گرم
فسفاتاز الکالن	۸ واحد بودانسکی
الکتروفورز :	
آلبومین	۳۷٪
آلفایک گلوبولین	۲٪
آلفادوگلوبولین	۱۵٪
بتا گلوبولین	۲۹٪
گاما گلوبولین	۱۷٪

* بخش ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران

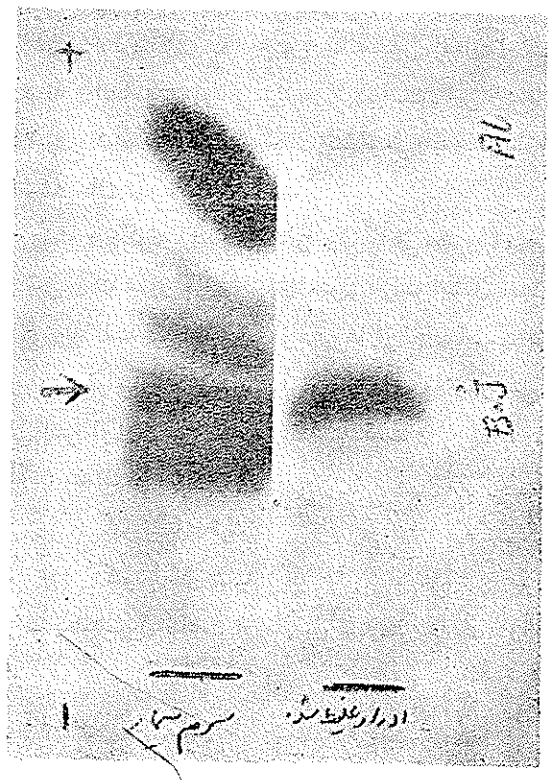
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-24]

آزمایش خون محیطی : هیپوکرومی و میکروسیتوز

آزمایش مغز استخوان : در مغز استخوان ۳ تا ٤ درصد پلاسموسیت دیده میشود و سلولهای مگاکاریوسیت اکثراً هیالینیزه شده‌اند .

جستجوی پروتئین میلومی در سرم و ادرار بیمار :

الکتروفورز سرم بیمار روی کاغذ صافی [۱] در pH=۸/٦ علاوه بره منطقه الکتروفورزی طبیعی یک باند پروتئینی اضافی خیلی نزدیک و چسبیده به بتا گلوبولین نشان میدهد که در حدود ۱۰ درصد پروتئین تام را تشکیل میدهد. ایمونوالکتروفورز سرم روی لام میکرسکپی با اگارژل تامپونه ورونال فقط کم شدن نسبی ایمونو-گلوبولین نوع Ig G و آلبومین را نشان میدهد (شکل شماره ۱)

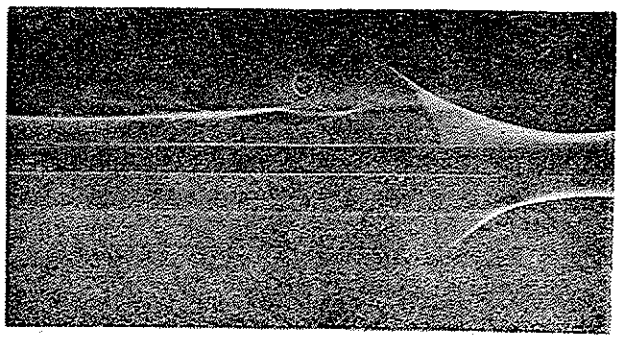


شکل ۱

آزمایش بنس جونس روی ادرار بیمار با اضافه کردن تامپون استات M۲ ،۷/٤ =pH در حرارت ٥٦ درجه رسوب سفید زیادی ایجاد میشود که این رسوب در حرارت ۱۰۰ درجه بیش از نصف آن حل میشود ودلیل براینستکه علاوه برپروتئین بنس جونس آلبومین زیادی نیز در ادرار وجود دارد.

برای الکتروفورز ادرار : ادرار بیمار باروش دیالیز در مقابل مواد جاذب آب تغلیظ گردید برای اینکار در حدود ۳۰ cc از ادرار دریک لوله آزمایش بزرگ ریخته شد و ٥ گرم پولی وینیل پیرولیدون (P.V.P) دریک کیسه دیالیز (Visking ۲۳/۳۲) قرارداده وداخل لوله ادرار گذاشته و مدت ۱۰ ساعت در یخچال معمولی گذارده شد و پس ازاین مدت حجم ادرار به تقریباً ۲ cc رسید که برای الکترو-فورز بکار رفت.

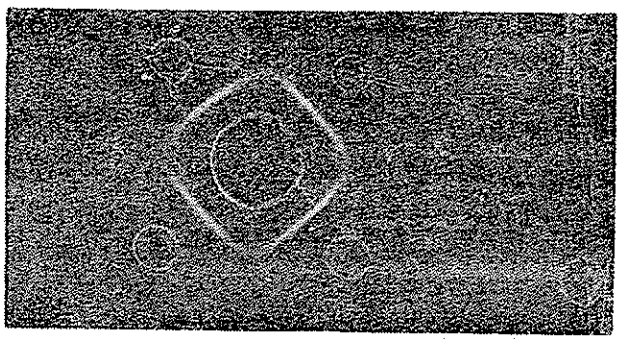
درالکتروفورز ادرار بیمار روی کاغذ صافی دومنطقه پروتئینی دیده شد یکی آلبومین ویک پروتئین دیگر در محل باند اضافی سرم بیمار که نزدیک به بتا گلوبولین میباشد (شکل ۱) ایمونوالکترو-فورز ادرار تغلیظ شده بیمار نیز همین مناطق را نشان میدهد ولی باوجود اینکه باند گاما گلوبولینی ادرار درالکتروفورز خیلی ضخیم بود در ایمونوالکترو فورز یک باند پرسی پیتاسیون ضعیف دیده میشود . علت آن این است که این پروتئین زنجیره سبک ایمونوگلوبولین یعنی پروتئین بنس جونس میباشد که با آنتی سرم ضد گاما بولین واکنش ضعیف و متقاطع (Cross Reaction) انجام میدهد. (شکل شماره ۲)



شکل ۲

پروتئین بنس جونس ادرار بیمار با اضافه کردن سولفات آمونیوم بغلظت نیمه اشباع (هم حجم ادرار از محلول اشباع اضافه شده است) رسوب داده شد و رسوب حاصله را در مقابل سرم فیزیولوژی در لوله های دیالیز ، دیالیز نموده و سپس لیوفیلیزه گردید.

برای تعیین نوع بنس جونس از لحاظ آنتی ژنی آزمایش ژل دیفوزیون انجام گردید. آنتی ژن همان بنس جونس تهیه شده از ادرار بیمار و آنتی سرم ضد بنس جونس از محصولات کارخانه بهرینگر آلمان (اهدائی نمایندگی هوخست در تهران) میباشد.



شکل ۳

بنس جونس خالص شده از ادرار بیمار فقط با آنتی سرم نوع کاپا (Kappa) پرسی پیتاسیون ایجاد کرد (شکل۳) و با نوع آنتی-لامبدا واکنش نشان نمیدهد بنابراین بنس جونس ادرار بیمار از نوع کاپا میباشد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-24]

باوجوداینکه درگاما گلوبولین طبیعی هردو زنجیره سبک λ و k به‌نسبت ۰٫۷ و ۰٫۳ وجود دارد وجود یک نوع بنس جونس در ادرار این بیماران میلومی دلیل محکمی برای مونوکلونال بودن نوع میلوم میباشد .

بحث: دربیماری میلوم مولتیپل که همراه باازدیاد پلاسموسیت‌ها در مغز استخوان و حتی خون محیطی است در حقیقت یک رده پلاسموسیتی سرطانی شده وازدیاد فوق‌العاده یافته است وچون پلاسموسیت‌ها محل ساخته شدن اکثر ایمونوگلوبولین ها میباشد با سرطانی شدن و ازدیاد این سلولها ایمونوگلوبولین خاصی که‌این پلاسموسیت‌ها میسازند درخون بیمار افزایش‌می‌یابد ومیتوان آنرا درسرم بیماران با ایمونو الکتروفورز تشخیص داد .

در ادرار نصف بیماران میلومی پروتئین بنس‌جونس وجود دارد که از لحاظ آنتی ژنی‌شباهت زیادی با پروتئین میلومی سرم بیماران دارد مگر اینکه‌وزن مولکولی پروتئین بنس جونس خیلی کمتر ودر حدود ۴۰۰۰ میباشد. ساختمان‌مولکول‌ایمونوگلوبولین عبارت از اجتماع دو زنجیره پولی‌پپتیدی سنگین ویا H و دو زنجیره پولی پپتیدی سبک یا Light Chain (L) است.

زنجیره‌های سبک از لحاظ آنتی ژنی دو نوع هستند واین شاخص آنتی ژنی مربوط به ترتیب چند اسید آمینه بخصوص در طول زنجیره پولی‌پپتیدی سبک‌میباشد و بنام‌های کاپا (Kappa) و لامبدا (Lambda) نام گزاری شده است.

درگاما گلوبولین معمولی نوع Ig G هردونوع زنجیره سبک یعنی کاپا ولامبدا به‌ترتیب به نسبت ۰٫۷ درصد و ۰٫۳ درصدوجود دارد ولی در پروتئین میلومی و پروتئین بنس جونس فقط یک‌نوع از زنجیره‌های سبک وجود دارد . و پروتئین بنس جونس همیشه دارای یک تیپ آنتی ژنی خالص کاپا ویا لامبدا میباشد.

وبا تزریق هرکدام از دو نوع پروتئین بنس جونس به خرگوش میتوان سرم آنتی بنس‌جونس کاپا ویا لامبدارا تهیه کرد و برای آزمایش ژل دیفوزیون بکار برد.

دراین بیمار نوع پروتئین بنس جونس ازنوع کاپا میباشد و در ادرار بیمار با وجود اینکه مقدار زیادی پروتئین‌بنس جونس وجود دارد در ایمونوالکتروفورز ادرار یک باند ضعیف پرسی - پیتاسیون دیده میشود (شکل شماره ۲) زیرا در ایمونو الکترو فورز آنتی سرم بکار رفته‌برضد مولکول کامل Ig G آنتی کور دارد که با زنجیره سبک فقط واکنش متقاطع وضعیفی ایجاد میکند.

وجود تیپ آنتی ژنی واحد و مشخص در پروتئین میلومی و پروتئین بنس جونس دلیل بسیار خوبی براین است که این پروتئین‌ها را یک نوع مشخص و یک‌رده واحد سلولهای‌پلاسموسیتی میسازند و از دلائل قوی بنفع فرضیه Selective theory آنتی کور سازی در بدن موجود زنده است. جستجوی پروتئین‌های‌میلومی در سرم وادرار کمک شایانی‌در تشخیص بیماری میلوم و انواع مختلف آن میکند بخصوص در مواردی که علائم ثابت بیماری در بیمار دیده نمیشود و یابعلت عوارض کلیوی‌پروتئین های دیگری درادرار بیمار وجود دارد این روش‌ها تشخیص ووضع بیمار را معلوم‌میکند.

REFERENCES

1- Edelman, G. M., Scientific American: 34, 42, 1970.

2- Cohen, S. and Milstein, C., Nature, : 214 : 449, 1967.

3- Edelman, G. M., in : «Annual Review of Biochemistry», 1969.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-24]