

## 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 ژلیوز انجام شد (پخش ساده در لوله - 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 برضد پروتئین های سرم انسان سا م است قرار میدهند چنانکه میدانیم آنتی کورهای ضد پروتئین های طبیعی انسان قادر است اینگونه اجزاء پروتئینی را که در حکم آنتی ژن میباشند راسب نماید. در واقع از این قدرت

\* رئیس آزمایشگاه بیمارستان روزبه .

راسب کنندگی است که برای تشخیص پروتئین استفاده مینمایند. 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 راسب 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 راسم شخص 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:

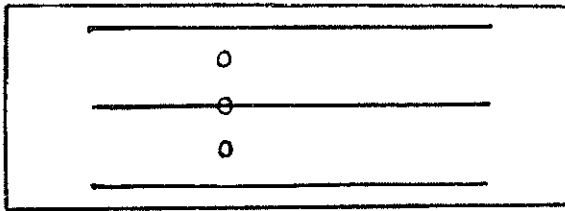
- ۱- ژلوز تامپونه ۲ درصد، ۲- تامپون با PH ۸/۲، ۳- صفحات شیشه‌ای و تراز آبی افقی (Niveau d'eau horizontal)، ۴- لامهای معمولی برای آزمایشهای میکروسکپی
- ۵- سرنگ ۲ سانتیمتر مکعبی و سوزن بدون بیزو و قطر ۱/۱۰، ۶- مدلهای ترسیم‌شده باسرب‌چین
- ۷- بن‌ماری ۶۰ تا ۷۰ درجه حرارت، ۸- بوات دوپتری، ۹- مولد جریان و الکترودهای پلاتینی و دستگاه آبپرسنج، ۱۰- فیبرهای شیشه‌ای، ۱۱- کاغذهای آرش ۳۰۲ (Arches 302)
- ۱۲- چهارطشتک 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 قبلاً 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 درین ماری 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 PH ۸/۲ از ترکیب دو محلول زیر ساخته میشود:  
 محلول A بفرمول؛ ورنال سدیک ۲۰/۶ گرم و آب دوبار تقطیر یافته . . . سانتیمتر  
 مکعب و محلول B که از ۷۷ سانتیمتر مکعب محلول A و مقدار کافی اسید کلریدریک  
 نرمال دهم برای ۱۰۰۰ سانتیمتر مکعب ساخته شده است .

ج - تهیه لامهای ژلوز : در ابتدا صفحه شیشه‌ای را بکمک تراز آبی در سطح کاملاً  
 افقی قرار میدهم ( 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 ۲ سانتیمتر  
 مکعب از ژلوز گرم (۶۰ تا ۷۰ 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 (۲) .

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

ه - دستگاه الکتروفورز : دو پشتک شیشه‌ای را که هر یک حاوی ۷۰ 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) ویا 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 ۸ 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 مجلول زیر غوطه ور میسازند، آمیدو شوارتز B ۱۰ گرم و الکل اتیلیک ۷ درصد ۱۰۰ سانتیمتر مکعب .

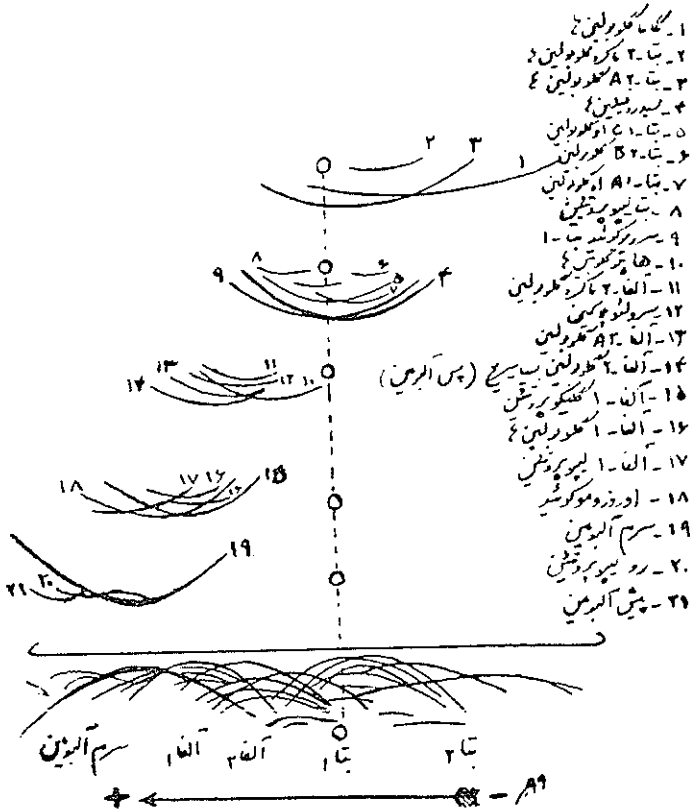
رابعاً - رنگ زدائی: برای زدودن رنگ زمینه لام، آنرا در مدت ۱ دقیقه در مخلوطی مرکب از یک حجم اسید اتیک و ۹ حجم الکل ستیلیک قرار میدهند.

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 ترسیبی توجه داشت .

- ۱- محل و موضع خط : هر اندازه که مقدار آنتی ژن زیادتر باشد خط ترسیب آن به منبع آنتی کور نزدیکتر خواهد بود .
- ۲- شدت خط : شدت خط ترسیب 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 ایمنوالکتروفورزی سرم انسان

- ۳- شعاع انحنای خط : هر اندازه که مقدار آنتی ژن زیادتر باشد انحنای خط ترسیب 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 ترسیب 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 جایجا 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 جمله میتوان بتا - S<sub>1</sub> (سیدرو-فیلین یا ترانسفرین - Siderophile ou Transferrine) سرومو کوئید بتا - ۱ (Séromucoïde β<sub>1</sub>) و ۲ او گلوبولین (Euglobuline) (بتا - A<sub>1</sub> و بتا - C<sub>1</sub> او گلوبولین) را نام برد .  
 — آلفا - ۲ - گلوبولین ها که تعداد آنها حداقل ۵ عدد است ، آلفا - ۲ ماکرو گلوبولین ، سرو لئوپلاسمین ( Céruléoplasmine ) سرومو کوئید بتا - ۱ ، هاپتو گلوبولین ها و یک جزء لیپوپروتئینی که در الکتروفورز روی کاغذ بتالیپوپروتئین هارا تشکیل میدهد ولی در روی ژلوز در حکم آلفا ۲ - گلوبولین است .

— آلفا - ۱ گلوبولین ها که ؛ 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 سرومو کوئید آسید 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 .

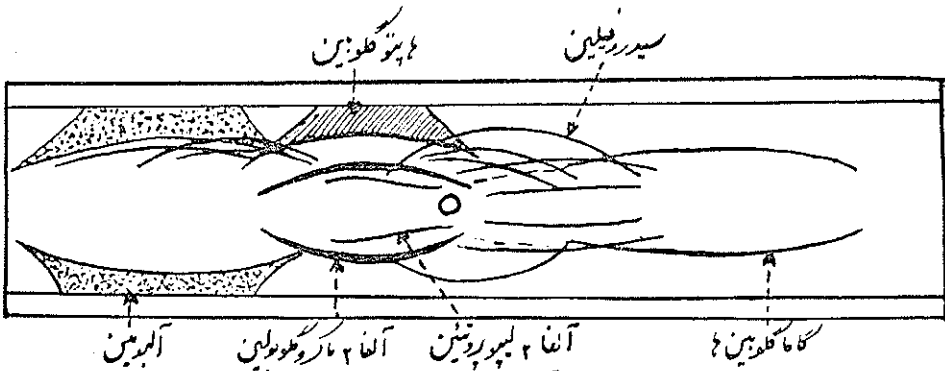
— بالاخره دو پروتئین که قابلیت جایجا شدن آنها از آلبومین سریعتر بوده و پروتئین های (ρ) نامیده میشوند اولی یک گلیکوپروتئین سرشار از تریپتوفان بوده و پیش آلبومین - (Pré-albumine) نامیده میشود و سی لیپوپروتئینی بنام رولیپوپروتئین (Rho-lipoprotéine) است (2, 3, 6, 7, 8) .

کاربردها : کاربرد های مهم ایمونو الکتروفورز عبارتند از:

الف - بیماری های کبدی: در جریان سیروز کبد و هپاتیت های ویروسی ، گاما گلوبولین ها همراه با گلوبولین های بتا - A<sub>2</sub> و بتا - M<sub>2</sub> 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 A<sub>2</sub> در ۱۸ مورد و گلوبولین بتا - M<sub>2</sub> در ۲۵ مورد افزایش یافته است . در جریان هپاتیت های 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 بانسج حاصله از واکنشهای بی ثباتی پلاسما و قی 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 ماکرومولکول نقش عمده را در مکانیسم فیزیکی شیمیایی این واکنش سرمی بازی میکند (3) بالاخره بروش ایمنوالکتروفورز دیده اند که در اشکال خطی سیر روز کبدی و یا هپاتیت های ویروسی شدید برخی از گلوبولهای 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 ایمنوالکتروفورزی نیز ثابت کرده است که این افزایش سه گلوبولین (آلفا - ۲ - لیپو پروتئین ، هابتو گلوبولین و آلفا - ۲ ماکرو گلوبولین) را شامل میشود (ش ۳) افزایش ماکرو گلوبولین بطور ثابت وجود دارد



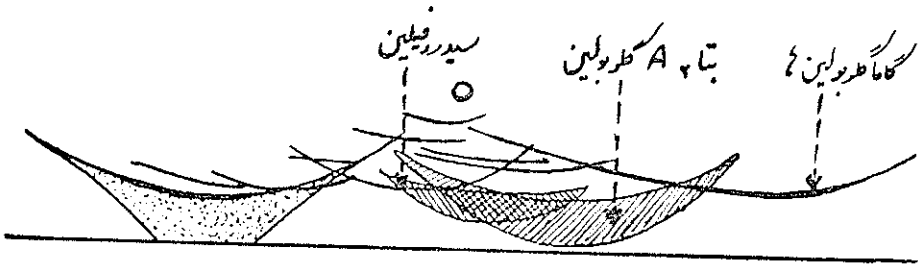
شکل ۳ - ایمنوالکترو فور گرام بیمار مبتلا به نفروز

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 اسمی (Dysglobulinémie) بیماری های کاهلر ( Kahler ) و والدنشروم ( Waldenström ) با این روش از یکدیگر شناخته میشوند (2, 3, 4, 8) .

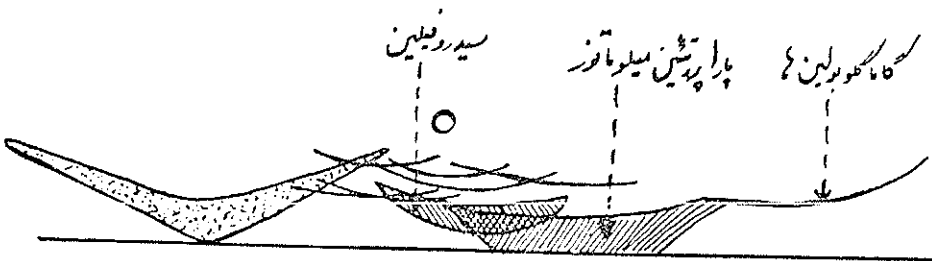
در سلوم متعدد ناهنجاری های ایمنوالکتروفورز خطوط گاما و بتا - ۲ گلوبولین هارا شامل میشود بدین قرار :

۱- وجود پروتئین میلو ماتوز 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 میلو ماتوز و گاما گلوبولین ها است.



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

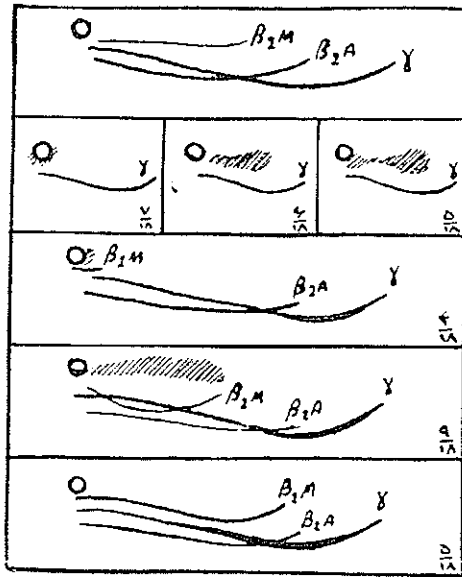


شکل ۵ - ایمونوالکتروفورگرام سرم بیمار مبتلا به میلوم متعدد (گاما میلوم)

۴- افزایش حجم خط بتا- ۲ گلوبولین همراه با خط گاما گلوبولین 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 کاهلری نماید از بین رفتن بتا-۲ گلوبولین میباشد (3) (ش- ۴ و ۵)] در جریان بیماری والدنشتروم نتایج حاصله از تجزیه ایمونوالکتروفورزی اصولاً مربوط

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

— افزایش خط بتا- ۲ ما کرو گلوبولین کاملاً واضح بوده و بهیچ وجه باخط طولی که در سرم طبیعی بزحمت 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 ویا اینکه در عقب آن باشد (حالت اخیر در وسط خط کمانی بتا- ۲ MI 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 میباشد (۵ مورد) (ش ۶) خط ترسیب بتا- ۲ ما کرو گلوبولین 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 ما کرو گلوبولین

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

با توجه برابطه ای که گلوبولین های ایمن ( گاما ، بتا - $A_{\gamma}$  و بتا - $M_{\gamma}$  گلوبولین ها ) را بهم می پیوندند مصنفان خواسته اند از تغییرات احتمالی گاما و بتا ۲ - گلوبولین ها در بیماری والدنشروم نتایجی بدست آورند ولی در عمل مشاهده شده که مطالعه بتا - $A_{\gamma}$  گلوبولین مشکل است زیرا خط آن که در اکثر موارد توسط بتا - $M_{\gamma}$  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 - $A_{\gamma}$  گلوبولین را مشاهده کرده اند (3) .

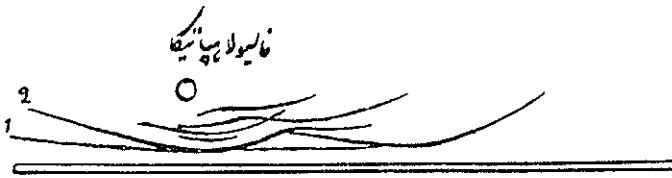
در تمام موارد مطالعه شده فوق خط گاما گلوبولین ها طبیعی بوده است .  
 تجزیه و تحلیل موارد کریوگلوبولین امی ( Cryoglobulinémie ) بروش ایمنونو-الکتروفورز نشان داده است که «پروتئین های سرمائی» (Protéines frileuses) ممکن است از دسته گاما گلوبولین و ماکرو گلوبولین ویا مجموعه این دو باشند (3) .

مطالعه حالات آگاما گلوبولین امی ( Agamma-globulinémie ) نیز نشان داده است که در واقع فقدان منفرد گاما گلوبولین ها کاملاً استثنائی بوده و کاهش گلوبولین های دیگر مانند گلوبولین های بتا - $A_{\gamma}$  و بتا - $M_{\gamma}$  همراه با نقصان گاما گلوبولین ها نمودار منشأ مشترک این پروتئین های ایمن است (3) .

ایمونوالکتروفورز هموگلوبین ها : بوسیله ایمونوالکتروفورز مواد مشکله آنتی ژنی هموگلوبین 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 هموگلوبین ایمن گشته اند معلوم دارند همچنین مشاهده کرده اند که سه عدد از این مواد مشترک بین هموگلوبین های  $C, S, A$  و  $E$  می باشد (6) .

۵- بیماری های انگلی: شیوع برخی ابتلائات انگلی مانند دیستوماتوز کبدی- (Disto- matose hépatique) در 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 باشند 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 انگلها (ترماتدها (Trématodes) نماتدها (Nématodes) و سستدها (Cestodes) اولین نتایج و فایده بکار بستن روش ایمونوالکترو-فورز با آنتی ژنهای فاسیولا هپاتیکا (Fasciola hepatica) در ۱۹۶۳ 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 کبیدی بکمک واکنش ترسیبی روی ژلوز بوسیله سرم خرگوش دارای آنتی پروتئین C (سرم خرگوش هیبر ایمونیزه بوسیله تزریق آنتی ژن ویا خوراندن متاسرکر (Métacercare) 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 خود (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 کبیدی

**نتیجه :** بطور کلی در حال حاضر اطلاعات و دانستنی های ما از این روش محدود بوده و نتایجی که تا کنون بدست آمده است مدیون کارهای گرابار و سکتب او می باشد. انجام و تفسیر ایمونوالکتروفورز هر چند که از حدود و ثنائیف آزمایشگاههای معمولی خارج و بر عهده آزمایشگاههای تخصصی است با اینحال آزمایشگاههای کاملاً مجهز که بر روش 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 میوگرم 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 بکمک ایمونوالکتروفورز است که می توان تشخیص مفروض را تأیید کرد و یا خط بطلان بر آن کشید همچنین بکمک 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 پنتایچ کمی بدست نمی دهد بنابراین بایستی آنها را 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.