

نگارش دکتر رهبر

دستیار بخش سرم‌شناسی

## الکتروفوروزو استفاده های آن در پزشکی

و یا اسیدی که دارای یون‌های مخالف محلول پروتئینی است در آن وارد کنیم بعثت خنثی شدن بارهای مخالف مولکولهای درشت پروتئین رسوب میکند. این کاری است که در آزمایشگاهها برای جدا کردن پروتئینها در محلولها و اندازه گیری آنها بکار میرود. يك پروتئین برحسب اینکه از چند آسید آمینه ترکیب شده باشد ممکن است دارای تعداد زیاد یون‌های مثبت یا منفی باشد و امروزه با اندازه گیری این بارهای الکتریکی میتوان بتعداد عوامل آسیدی و یا بازیک آن و تعداد آسیدهای آمینه پی برد .

این بار الکتریکی بچه صورتی است ؟  
يك اسید آمینه را مثال میزنیم که فرمول کلی آن  $RcoonH$  است و در محلول بصورت یون‌های  $(NH_3^+)$  و  $(Rcoo^-)$  درمیآید

ریشه آمین ریشه اسید در يك PH معنی تعداد بارهای منفی و مثبت مساوی‌اند و یکدیگر را خنثی میکنند این PH را نقطه ایزوالکتریک آن آسید آمینه میگویند که ثابت است و در نقطه ایزوالکتریک آسید آمینه کاملاً خنثی و غیر قابل حل است .

و اگر محلولی دارای چند آسید آمینه و یا پروتئین است که PH ایزوالکتریک

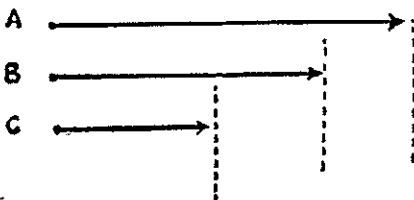
همانطور که املاح و آسیدها و بازها وقتی در آب حل میشوند عدای از مولکول های آنها بشکل یون‌های مثبت و منفی درمیآید و آسیدیته و قلیائیت واقعی آن محلول بسته بتعداد یون‌های موجود در آن است . و اگر دو قطب جریان الکتریکی مستقیم را وارد این محلول بنمائیم یون‌های دارای بار مثبت بطرف قطب منفی حرکت میکنند و بالعکس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

در محلول‌های پروتئینی ( و بطور کلی محلولهای کولوئیدی) نیز مولکولها دارای بار الکتریکی مثبت و منفی هستند و در مقابل نام الکترولیت که بمحلولهای نامبرده بالا جریان قرار گیرد در زمان معینی مولکولهای آمفولیت میگویند و فرقی که بالکترولیت ها دارند اینست که در PH معینی مثلاً قلیائی و یا اسیدی عدای از بارهای الکتریکی خنثی میشوند و محلول کولوئیدی دارای یکنوع بار الکتریکی میشود یعنی همه مولکولها یا بار مثبت دارند یا بار منفی. همین یکنوع بودن بار الکتریکی است که مولکولها همدیگر را دفع میکنند

**Force de Repulsion** و محلول بصورت کولوئیدی باقی میماند و سنگینی مولکولها باعث ته نشین شدن آنها نمیشود و اگر ما محلولهای نمکی

مولکولها و بهتر بگوئیم با وزن مولکولی آنها دارد مولکولهای سنگین تر سرعت کمتری دارند. مثلاً اگر مخلوطی که دارای سه نوع پروتئین مختلف آ. ب و ث است در مسیر جریان قرار گیرد در زمان معینی مولکولهای آ که سبکترند مقدار بیشتری حرکت میکنند و همه در یک فاصله قرار میگیرند و بعد مولکولهای ب و سوم ث که باندهای مختلف و مشخصی ایجاد میکنند از این وسیله برای جدا کردن و اندازه گیری پروتئینهای مختلف که تاکنون بوسیله دیگری قابل جدا کردن نبودند استفاده میکنیم. متد قدیمی که در مایع انجام میشد مبتکر آن **Tiselius** بود و امروز الکتروفورز روی کاغذ صافی و یا ژلوز و نشاسته انجام میشود. الکتروفورز در تحقیقات علمی و فیزیولوژی کمکهای بسیاری میکند مثل جدا کردن ترکیبات سلولی و متابولیسم داخل سلولی و به همراه با ایزوتوپهای مختلف مثل کاربن ۱۴ و غیره وسیله بسیار دقیقی در تحقیق مواد حیاتی است. اما در کلینیک بیشتر الکتروفورز سرم خون. الکتروفورز هموگلوبین. نتایج خوبی میدهد.

الکتروفورز سرم خون بیشتر روی کاغذ صافی انجام میشود تامپونی که بکار میرود **Veronal Sodique** با  $\text{PH} = 8.6$  است که در این  $\text{PH}$  پروتئینهای سرم دارای بار منفی اند و بطرف قطب



هر کدام را میدانیم میتوان با قراردادن این مخلوط در  $\text{PH}$  های ایزوالکتریک هر کدام آن آسید آمینه و یا پروتئین را رسوب داد و تا قبل از الکتروفورز اینکار یک وسیله جدا کردن پروتئین ها از هم بود.

عوامل آسیدی و بازیك فقط ریشه های کربوکسیل و آمینی که در بالا ذکر شدند مثلا در تیروزین عامل فنل و در سیستین عامل سولفیدریل در لیزین عامل آمونیوم و در آرژینین عامل گوانیدین وجود دارد و وجود یون های آسیدی و بازی در یک پروتئین است که پروتئین ها با فلزات و غیر فلزات ترکیب میشوند پروتئین زنجیره ای از اسیدهای آمینه است که در دو طرف زنجیر پولی پپتیدی و در دو انتهای آن بارهای مثبت و منفی آزاد وجود دارد و هر پروتئین دارای نقطه ایزوالکتریک مخصوصی است حالا اگر  $\text{PH}$  محلول پروتئین در طرف آسیدی نقطه ایزوالکتریک آن باشد محلول پروتئین دارای تعدادی بار منفی و اگر  $\text{PH}$  در طرف قلیائی نقطه ایزوالکتریک باشد دارای بار مثبت است و وقتی محلول پروتئینی که دارای بار الکتریکی است در جریان الکتریکی مستقیم قرار گیرد مولکول های پروتئین بطرف قطب مخالف الکتریکی حرکت میکنند این حرکت را حرکت الکتروفورتیک میگویند و واضح است که در نقطه ایزوالکتریک حرکت الکتروفورتیک وجود ندارد چون مولکول خنثی است اگر مخلوطی از چندین پروتئین مثلا سرم خون در مسیر جریان الکتریکی قرار گیرد سرعت مولکولها در زمان معین و شدت جریان ثابت بستگی معکوس با بزرگی و کوچکی

که منحنی آلبومین‌ها محدودتر شده و نسبت آلبومین‌ها از ۵۰ درصد خیلی کمتر است و یا اصلا آلبومین‌ها وجود ندارند.

## ۲- کمبود و یا فقدان بتا -

گلوبولین‌ها یا بتا گلوبولین‌ها مورد آن فقدان بتا گلوبولین یا هاپتوگلوبولین است که در اشخاص سالم یا 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.

## ۳- کمبود یا فقدان گاماگلوبولین

**Agammaglobulinemie** این بیماری که معمولا در اطفال يك خانواده دیده میشود و کودکان تا ۷ سالگی بطور متوالی دچار بیماریهای عفونی میشوند و اکثرا با تابلوی آنسفالیت فوت میکنند مواردی دیده شده است که تا ۱۵ سالگی نیز زنده مانده اند و اکسن زدن و یا ابتلای بیماری هیچ نوع مصنوعیتی در این اشخاص ایجاد نمیکند این بیماری که بنام بیماری **Bruton** است همیشه همراه با عدم رشد کامل سیستم لنفاوی است زیرا سازنده گاماگلوبولین لنفوسیت‌ها و سیستم لنفاوی است.

سه بیماری بالا که بعلت نبودن و یا ناقص بودن ژن سازنده گاماگلوبولین است بطور **Recessif** بارث میرسد.

بیماریهای عفونی و نسجی . هیپاتیت

حاد . در این بیماری آلبومین‌ها کمی کاهش یافته اند و گاماگلوبولین کمی زیاد شده است ( تا ۲۵ درصد) در سیروز کبدی آلبومین‌ها

منبت میروند بعد از قرار دادن  $\frac{1}{300}$  سانتیمتر مکعب در روی خطی که عمود بر طول کاغذ است و قرار دادن نوار در دستگاه الکتروفورز و وصل جریان مدتی طول میکشد تا پروتئین‌های سرم جدا شده و هر کدام در باند مخصوصی قرار گیرد ( اینمدت در دستگاههای مختلف متفاوت است ) و بعد از این مدت نوارها را با رنگی که همه پروتئین‌ها بطور یکسان جذب کنند مثل آمیدوشوارتر رنگ میکیم پنج باند مختلف مربوط به آلبومین، آلفایک گلوبولین آلفا دو گلوبولین و بتا گلوبولین و گاما گلوبولین در روی نوار دیده میشود که بطریقه فوتومتر مخصوصی نواحی مختلف آن اندازه گیری و روی کاغذ منحنی آن کشیده میشود و پس از اندازه گیری سطح منحنی‌ها با دستگاه پلانی متر نسبت پروتئین‌های مختلف اندازه گیری میشود از لحاظ وقت اینکار میتوان گفت که مقدار الفا يك گلوبولین که در  $\frac{1}{300}$  سانتیمتر مکعب سرم خون وجود دارد در حدود ۵ میکروگرام است که تغییرات آنرا نیز میتوان تعیین کرد . نسبت‌های طبیعی در سرم خون انسانی از این قرار است :

آلبومین‌ها ۵۰ تا ۶۵ درصد آلفایک گلوبولین ۳ تا ۶ درصد آلفا دو گلوبولین ۶ تا ۹ درصد بتا گلوبولین ۹ تا ۱۱ درصد و گاماگلوبولین ۱۱ تا ۱۸ درصد.

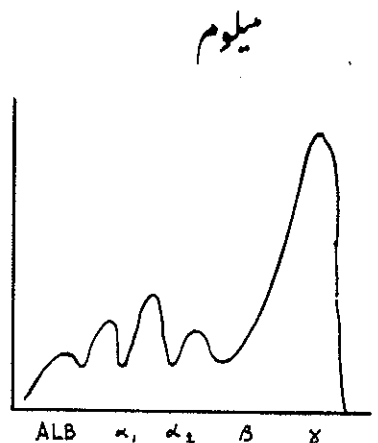
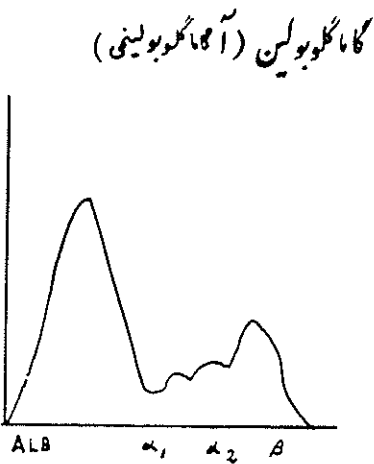
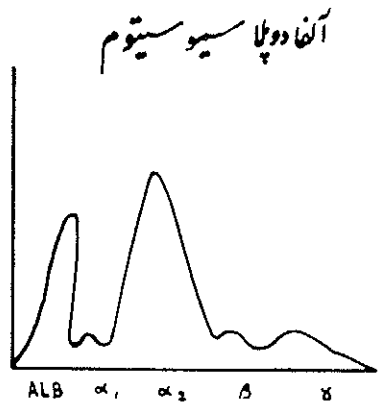
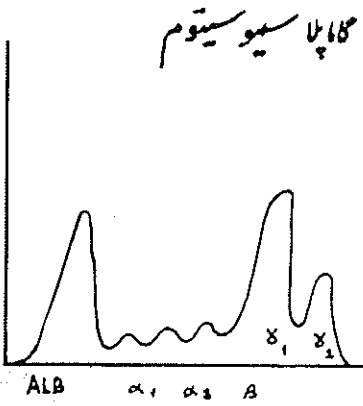
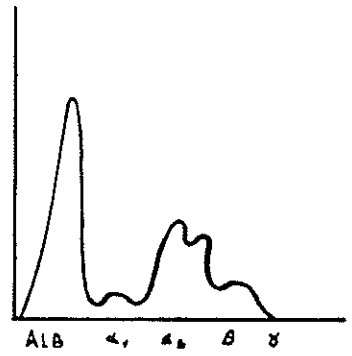
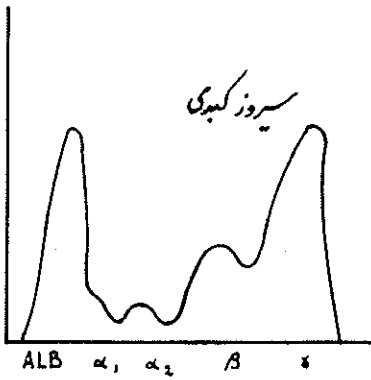
تغییرات منحنی الکتروفورز

(الکتروفوروگرام)

نقص‌های ارثی پروتئین‌های خون :

۱- فقدان یا کمبود آلبومین‌ها

**Analbuminemie**



کاهش بیشتری دارند (۰ درصد) و بنا و گاما گلوبولین‌ها زیادتر شده‌اند.

نفروزها - درنفروزها پروتئین نام تقلیل یافته است و آلبومین‌ها ممکن است تا ۲۰ درصد برسند ولی گلوبولین‌ها به نسبت کمتری بالا رفته‌اند.

**Multiple Myeloma** درمیولوم مولتی پل در تشخیص این بیماری الکتروفورز کمک بسیاری میکند همینطور در تمام انواع **Plasmocytome** ها که گاما گلوبولین تا ۵۰ درصد ممکن است برسد.

و در انواع این بیماری که علائم استخوانی وجود ندارد و علائم درخون محیطی و سلولهای آن کم است الکتروفورز به تشخیص کمک میکند در سرطان پرستان و کبد نیز منحنی الکتروفورز تغییرات مشخصی میکند.

الکتروفورز هموگلوبین

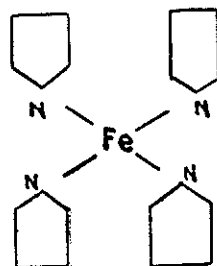
هموگلوبین ترکیبی است از یک گلوبولین و یک ریشه آهن دار بنام هم **Heme** که ریشه آمینی آن از چهار هسته **Pyrol** و یک مولکول آهن تشکیل شده است وقتی از

تالاسمی‌های مازور و مینور دیده میشود. طرز الکتروفورز هموگلوبین شباهت بدپروتئین‌های سرم دارد با فرق اینکه باید نمونه‌های هر کدام از هموگلوبین‌های ذکر شده را داشت و با مقایسه نوع هموگلوبین مورد آزمایش را تعیین کرد.

علاوه بر الکتروفورز سرم خون و هموگلوبین میتوان لپوئیدها را نیز بکار برد و لیبوگرام آنرا رسم کرد.

با علامت آ مشخص میسازند باید دانست در انواع هموگلوبین ریشه آهن دار تراپیرولیک در همه یکسان است و گلوبولین است که با یکدیگر فرق دارد و باعث تشکیل هموگلوبین های مختلف است انواع دیگر هموگلوبین که بوسیله الکتروفورز شناخته شده است عبارتست از هموگلوبین **F** یا **Foetal** یا جنینی و هموگلوبین **S** که اولی در بیماران مبتلا به انمی کولی **Cooley Anemia** و دومی در مبتلایان به **Sickle cell an.** دیده میشود انواع دیگر هموگلوبین که تاکنون بدینوسیله شناخته شده است مثل **H.G.E,D,C** که در **Q.P.O.N.M.L.K.J.**

تالاسمی‌های مازور و مینور دیده میشود. طرز الکتروفورز هموگلوبین شباهت بدپروتئین‌های سرم دارد با فرق اینکه باید نمونه‌های هر کدام از هموگلوبین‌های ذکر شده را داشت و با مقایسه نوع هموگلوبین مورد آزمایش را تعیین کرد.



#### 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