حسین رفیعی (کارشناسی ارشد بیوشیمی)

بررسی الکتروفورز و اولیگوکلونال باند

(Investigation Electrophoresis and OCB)

(Electrophoresis) از دو کلمه(Electro الکتریکی) و Phoresis به معنی حرکت و انتقال ذره تشکیل شده است ودر کل به معنی حرکت ذرات دریک مایع تحت میدان الکتریکی است(1).

اختلالات هموگلوبینی یکی از شایع ترین اختلالات ارثی در جهان هستند که حدود 7% از جمعیت دنیا و 6-5% از جمعیت ایران، حامل ژن های آن ها هستند(2). به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می رسند و در مناطق مدیترانه ای و بخش بزرگی از آسیا و آفریقا بسیار شایع است. به منظور کنترل اختلالات ارثی هموگلوبینی و پیشگیری از انتقال آن ها به فرزندان می توان از مشاوره ژنتیکی و غربالگری جمعیتی با روش های پیشرفته تر و دقیق تر استفاده نمود. هدف از این مطالعه بیان ویژگی های انواع اختلالات هموگلوبینی شایع در ایران، بیان روش های قابل دسترسی جهت غربالگری آن ها و معرفی بهتر روش کاپیلاری الکتروفورز به عنوان روشی سریع و دقیق، است(3). اختلالات هموگلوبینی شامل دو گروه تالاسمی ها و واریانت های هموگلوبینی هستند که در اثر اختلال در تولید یا ساختار زنجیره های مختلف گلوبین ایجاد می شوند. هیچ یک از روش های آزمایشگاهی به تنهایی نمی تواند به عنوان یک روش قطعی جهت غربالگری معرفی شوند. برای شناسایی بهتر بایستی داده های کافی فراهم شده و از روش های مختلف مانند ژل الکتروفورز، کروماتوگرافی، ایزوالکتریک فوکوسینگ، کاپیلاری الکتروفورز، یا روش های مولکولی به صورت مکمل استفاده شود. روش کاپیلاری الکتروفورز یک روش دقیق و سریع برای غربالگری است و از طرفی به دلیل عدم توانایی در تفکیک تمامی اختلالات هموگلوبینی، بایستی جهت تایید از روش های بیوشیمیایی، بیوفیزیکی یا مولکولی استفاده شود(4). بهره گرفتن از روش های غربالگری کاپیلاری الکتروفورز و کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا به عنوان دو روش مکمل، داشتن اطلاعات کافی از انواع اختلالات هموگلوبینی، شرح حال بیمار و شاخص های هماتولوژیکی در شناسایی و تشخیص اختلالات هموگلوبینی بسیار موثر است.

فیزیولوژی

در آزمایش های بالینی معمول تشخیص آنزیم های مهم موجود در سرم خون از جمله فاکتورهایی است که اغلب مورد توجه قرار می گیرد. الکتروفورز تحت شرایط خاصی قادر است این آنزیم ها را به صورت کسرهایی نشان دهد که مقادیر این کسرها بیانگر احتمال وجود صدمات مغزی، انفارکتوس میوکارد، انفارکتوس ریوی، دیستروفی ماهیچه ای یا بیماری های کبدی هستند(5).

چگونه کار می کند؟

الکتروفورز روشی است که در آن نمونه هایی که بار الکتریکی دارند، تحت تأثیر یک میدان الکتریکی از میان شبکه ای متخلخل حرکت می کنند. سرعت حرکت مولکول ها در این شرایط نه تنها تحت تاثیر بار الکتریکی است بلکه عواملی دیگری نظیر اندازه و شکل مولکول نیز در این امر دخیل هستند. به همین دلیل الکتروفورز روشی مناسب و کارآمد در جداسازی مولکول مورد استفاده قرار می گیرد. به طور معمول برای الکتروفورز یک مخلوط مولکولی، لایه نازکی از آن، بر روی شبکه ای متخلخل که محلولی را درون خود محبوس کرده است، قرار داده می شود. پس از برقراری میدان الکتریکی با اعمال اختلاف پتانسیل در دو سوی این شبکه، مولکول های موجود در نمونه با سرعت های متفاوتی درون شبکه متخلخل شروع به حرکت می کنند. این اختلاف سرعت مبنای جداسازی در الکتروفورز است. در پایان، مولکول های پروتئینی مختلف به صورت باندهایی مجزا در قسمت های مختلف شبکه آشکار می شوند(6).

مزایای الکتروفورز

- امکان جداسازی و تعیین پروتئین ها
- قابلیت تفکیک زمانی و مکانی مراحل آنالیز
- سهولت و ارزانی نسبی

تئوری الکتروفورز

الکتروفورز تحت عنوان مهاجرت یونها تحت تاثیر میدان الکتریکی اعمال شده تعریف می شود (7). الکتروفورز از این جهت به ته نشین سازی شبیه است که در هر دو تکنیک، مولکول های حل شونده تحت تاثیر یک میدان خارجی حرکت می کنند ولی الکتروفورز اساسا به بار مولکول و نه به جرم مولکولی آن بستگی دارد. الکتروفورز تکنیک مناسبی برای جدا کردن پروتئین ها و ماکرومولکول های دیگر در یک مخلوط به شمار می رود (8). در میدان الکتریکی E، نیروی وارده بر مولکول های حل شونده باردار برابر است با ezE که در آن e بار الکتریکی و z تعداد بارهای روی مولکول است. شبیه به ته نشین سازی، بلافاصله پس از اعمال میدان خارجی، یون های حل شونده برای مدت زمان کوتاهی شتاب میگیرند ولی پس از اینکه نیروی الکترواستاتیک به وسیله نیروی اصطکاک اعمال شده توسط حلال به توازن رسید، حالت پایا به وجود می آید و در این حالت یون ها با سرعت ثابت v در میدان الکتریکی به حرکت خود ادامه می دهند.

ژل الکتروفورز

در چنین سیستمی حرکت مولکول به وسیله تحرک الکتروفورتیکش در ژل و در برخی موارد به وسیله جذبش به ساختار ژل تعیین می شود ولی فاکتور اصلی توانایی مولکول در عبور از منافذ ژل بودن ژل دارد 7 و یا ناپیوسته یا ذرهای 6 است(9). تاثیر اندازه منافذ بر تحرک مولکول بستگی به پیوسته (جداسازی مولکول های بزرگ (دایره های توخالی) از مولکول های کوچک (دایره های توپر) در سیستم های ژل پیوسته و ناپیوسته. در ژل ناپیوسته فرض بر این است که فضای بین ذرات ژل معمولا به اندازه کافی بزرگ است که به تمام مولکول ها اجازه عبور دهد ولی مولکول های کوچکتر اغلب وارد منافذ ذرات شده و موقتا حبس می شوند. از این رو، به طور میانگین این مولکول ها کندتر از مولکول های بزرگ در ژل حرکت می کنند. در ژل پیوسته، مولکول های کوچک تر مسیرهای عبور باریک زیادی را نسبت به مولکول های بزرگتر در اختیار دارند و در نتیجه مولکول های کوچکتر، سریع تر در ژل حرکت می کنند. در ژل ناپیوسته اصل بر این است که همیشه مولکول های کوچکتر بهتر از مولکول های بزرگتر قادر به رخنه در منافذ ژل است. در سیستمی که از ذرات ژل تشکیل شده است، مولکول ها، هم می توانند وارد ذرات ژل شده و هم از بین ذرات ژل عبور کنند. احتمال ورود به درون ذرات ژل برای مولکول های بزرگتر کمتر از مولکول های کوچکتر است. وقتی که یک مولکول وارد ذرات ژل می شود، نمی تواند به سمت جلو حرکت کند مگر اینکه دوباره از آن خارج شود. از این رو، مولکول های کوچکتر نسبت به مولکول های بزرگتر در حرکت در درون ژل ناپیوسته با مقاومت ذرات ژل روبرو می شوند و جداسازی در ژل های نشاسته و دکستران بر همین اساس صورت می گیرد. توجه نمایید که پروتئین ها بسته به بار الکتریکیشان در دو جهت مخالف مهاجرت نموده اند. در یک ژل پیوسته (مثل آگارز) یک مولکول بایستی از درون یک شبکه پیوسته عبور کند. در چنین ژلی، مولکول های بزرگتر بیشتر از مولکول های کوچکتر با مقاومت ژل مواجه می شوند زیرا مولکول های بزرگتر بیشتر با ساختار ژل برخورد می کنند و همچنین در حین برخورد با ساختار ژل و عبور از آن مجبور به چرخش و جهت یابی فضایی مناسب برای عبور هستند. این روش به طور معمول برای جداسازی مولکول های DNA براساس جرم مولکولیشان بکار می رود. درتکنیک ایزوالکتریک فوکوسینگ در ابتدا یک شیبpH بین دو الکترود به وجود می آید به طوری که پروتئین های مختلف بندهای ثابتی را در امتداد شیبpH، در نقاطی که در آنها pH معادل با نقاط ایزو الکتریکشان است، تشکیل می دهند. طرز تهیه شیبpH به صورت زیر است: ابتدا پلی آمفولیتهای با جرم مولکولی پایین را (که محدوده وسیعی از نقاط ایزوالکتریک را می پوشانند) در آب حل می کنند. قبل از اعمال میدان الکتریکی، pH محلول در تمام محیط یکسان است. (pH محلول، میانگینpH تمام پلی آمفولیت های موجود در محلول است). پس از اعمال میدان الکتریکی، پلی آمفولیت ها به سمت الکترودها مهاجرت می کنند. به واسطه ظرفیت بافری پلی آمفولیت ها، به تدریج یک شیبpH بین الکترودها بوجود می آید و نهایتا هر یک از انواع آمفولیت ها بسته به pH ایزو الکتریکشان در یکpH خاص مستقر خواهند شد. اگر مخلوطی از پروتئین ها به این محیط اضافه شود، هر نوع پروتئین به موقعیتی کهpH آن برابر با pH ایزوالکتریکش است مهاجرت خواهد نمود و در نتیجه تعدادی بند تشکیل خواهد شد که می توان آنها را برای شناسایی جدا کرد(10).

الکتروفورز هموگلوبین

آزمایش الکتروفورز هموگلوبین یک آزمایش خون ویژه است که برای تشخیص و اندازه گیری انواع مختلف هموگلوبین موجود در خون به کار می رود. هموگلوبین یک نوع پروتئین است که داخل گلبول های قرمز خون قرار دارد. وظیفه هموگلوبین انتقال اکسیژن به بافت ها و اندام های بدن است(11). معمولا جهش های ژنتیکی منجر به این می شود که بدن هموگلوبین های نامطلوبی تولید کند. هموگلوبین نامطلوب (ناقص، غیرعادی) منجر به این می‌شود که اکسیژن قابل انتقال به بافت ها و اندام ها به شدت کاهش یابد(12).

هموگلوبین به صدها نوع مختلف تقسیم می شود. انواع مختلف هموگلوبین عبارتند از:

هموگلوبین F

با اسم هموگلوبین جنینی هم از آن یاد می شود. این نوع هموگلوبین، در جنین های در حال رشد و نوزادان یافت می شود. این نوع هموگلوبین، بلافاصله پس از تولد با هموگلوبین A جایگزین می شود.

هموگلوبین A

با عنوان هموگلوبین فرد بالغ هم از آن یاد می شود. این نوع هموگلوبین، متداول ترین نوع هموگلوبین است. این نوع هموگلوبین در کودکان و افراد بالغ سالم یافت می شود.

هموگلوبین C,D,E,M,S

گونه های نادری از هموگلوبین های غیرعادی هستند که به دلیل جهش های ژنتیکی پدید می آیند.

سطوح نرمال انواع هموگلوبین در آزمایش الکتروفورز هموگلوبین

آزمایش الکتروفورز هموگلوبین راجع به میزان هموگلوبین موجود در خون اطلاع رسانی نمی کند. چنین داده هایی از طریق آزمایش شمارش کامل خون (CBC)بدست می آیند. مقادیر ثبت شده در آزمایش الکتروفورز هموگلوبین نشان دهنده درصدهای مختلف از انواع هموگلوبین موجود در خون هستند(13). مقادیر به دست آمده در کودکان و افراد بالغ با همدیگر تفاوت دارند. در ادامه این مقادیر نرمال را با هم می‌بینیم.

۱-سطح نرمال هموگلوبین درکودکان

اکثر هموگلوبین موجود در خون نوزادان، از نوع هموگلوبین F است که در جنین یافت می شود. هموگلوبین F کماکان بخش عمده ای از هموگلوبین موجود در خون نوزادان را به خود اختصاص می دهد. هنگامی که سن نوزاد به یک سال می رسد، میزان هموگلوبین F سریعا کاهش می یابد.

سن	درصد هموگلوبین F
نوزادان	۶۰-۸۰ %
بیشتر از ۱ سال	۱-۲ %

۲- سطح نرمال هموگلوبین در افراد بالغ

سطوح نرمال (عادی) انواع مختلف از هموگلوبین در خون بزرگسالان به شرح جدول ۲ هستند:

نوع هموگلوبین	درصد
هموگلوبین A	۹۵-۹۸ %
هموگلوبین A2	۲-۳ %
هموگلوبین F	۱-۲ %
هموگلوبین S	۰ %
هموگلوبین C	۰ %

جدول ۲

علت انجام آزمایش الکتروفورز هموگلوبین چیست؟

جهش های ژنی روی ژن های مسئول تولید هموگلوبین به ارث برده می شوند. به این ترتیب انواع مختلفی از هموگلوبین های غیرعادی در خون افراد ایجاد می شوند.با انجام آزمایش الکتروفورز هموگلوبین هرگونه ناهنجاری منتهی به تشکیل هموگلوبین های غیرعادی شناسایی می شود(14). دلایل انجام آزمایش الکتروفورز هموگلوبین به شرح زیر هستند:

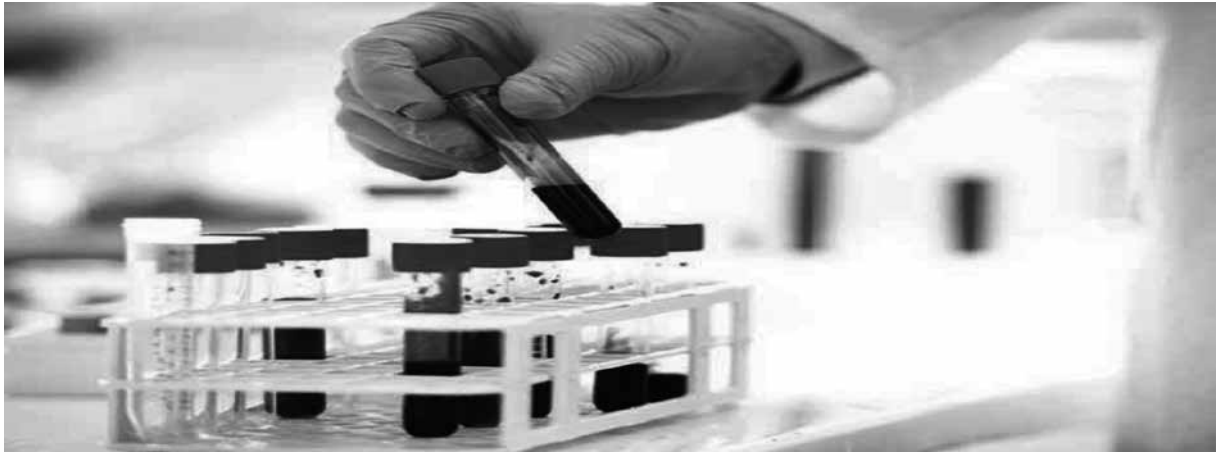
به عنوان بخشی ازسلامت سنجی عمومی(چکاپ کردن)- به منظور تشخیص بیماری های خونی در صورتی که نشانه هایی از کم خونی وجود داشته باشد این آزمایش کمک می کند، تا هرگونه هموگلوبین غیرعادی موجود در خون را شناسایی نماید. هموگلوبین غیرعادی می تواندنشانه ای ازوجود بیماری های زیر باشد :

- کم خونی داسی شکل
- تالاسمی
- پلی سیتمی ورا

جهت نظارت بر روند درمان

اگر در حال درمان بیماری خاصی منجر به تولید هموگلوبین های غیرعادی شده است، آزمایش الکتروفورز هموگلوبین بر میزان انواع مختلف از هموگلوبین موجود در خون را بررسی می کند(15).

جهت غربالگری و تشخیص بیماری های ژنتیکی آن دسته از افرادی که دارای سابقه خانوادگی کم خونی ارثی و بیماری هایی همچون کم خونی داسی شکل یا تالاسمی هستند، قادر خواهند بود قبل از بچه دار شدن، از مخاطرات این ناهنجاری های ژنتیکی آگاه شوند.آزمایش الکتروفورز هموگلوبین، منجر به تشخیص هرگونه هموگلوبین غیرعادی، نشات گرفته از اختلالات ژنتیکی می شود(16). علاوه بر این، نوزادان نیز به صورت پیوسته از نظر وجود اختلالات ژنتیکی- هموگلوبینی تحت غربالگری و نظارت قرار می گیرند.



آزمایش الکتروفورز هموگلوبین چگونه انجام می شود؟

کسب آمادگی برای انجام آزمایش الکتروفورز هموگلوبین، نیازمند هیچ گونه اقدام خاصی نیست. کاری که باید انجام داد، مراجعه به یک آزمایشگاه، به منظور تهیه نمونه خون است(17).

برای این کار نیز طبق معمول ابتدا با پنبه آغشته به الکل، محل خون گرفتن تمیز می شود. سپس سوزن کوچکی وارد پوست می شود. یک مخزن (لوله) به سوزن متصل است که وظیفه ذخیره کردن خون را بر عهده دارد(18). هنگامی که خون کافی دریافت شد، سوزن برداشته می شود و محل تزریق با یک گاز ضدعفونی شده پوشانده می شود. در نهایت نمونه ها جهت انجام تحلیل های تکمیلی به آزمایشگاه فرستاده می شوند.

در آزمایشگاه، فرایند الکتروفورز به اجرا گذشته می شود. اساس اجرای این تست به این شکل است که جریان الکتریکی، از هموگلوبین موجود در نمونه خون عبور داده می شود. بدین ترتیب انواع مختلف از هموگلوبین، از یکدیگر تفکیک شده و در باندهای مختلف قرار می گیرند. در ادامه این آزمایش، نمونه خون فرد تحت آزمایش، با نمونه خون یک فرد سالم مقایسه می شود. بدین ترتیب انواع هموگلوبین موجود در خون وی شناسایی می شوند(19).

خطرات آزمایش الکتروفورز هموگلوبین

همانند هر آزمایش خون دیگری، الکتروفورز هموگلوبین نیز با یک سری مخاطرات حداقلی روبرو است. این خطرات عبارتند از:

کوفتگی، خونریزی و عفونت در محل تزریق. در مواردی نادر رگ پس از خون گرفتن، دچار التهاب و ورم می شود. درمان این عارضه که با اسم فلبیت از آن یاد می شود(20)، به کمک کمپرس گرم صورت می گیرد.

نتایج آزمایش الکتروفروز هموگلوبین

در صورتی که نتایج نشان دهنده مقادیر غیرعادی از هموگلوبین باشند، دلایل زیر برای چنین نتایجی قابل ذکر هستند:

بیماری هموگلوبین C

یک اختلال ژنتیکی که کم خونی شدید را در پی دارد(21).

هموگلوبینوپاتی نادر

یک دسته از ناهنجاری های ژنتیکی که منجر به تولید گلبول های قرمز غیرعادی یا شکل گیری ساختارهای غیرطبیعی می شوند(22).

- کم خونی سلول داسی شکل
- تالاسمی

در صورتی که آزمایش الکتروفورز هموگلوبین نشان دهنده وجود انواع غیرعادی از هموگلوبین باشند، آنگاه باید انجام آزمایش‌های تکمیلی انجام شود.

الکتروفورز پروتئین

آزمایش الکتروفورز پروتئین (SPEP) چیست؟

الکتروفورز پروتئین خون (تست SPEP) یک روش آزمایشگاهی است که از آن برای تعیین میزان نوعی پروتئین در خون استفاده می‌شود. برای تشخیص و کنترل انواع مختلف بیماری‌ها یا اختلالات که باعث تغییر غیرعادی میزان پروتئین می‌شوند از تست SPEP استفاده می‌شود. معمولا از الکتروفورز پروتئین به تنهایی برای تشخیص بیماری استفاده نمی‌شود. درعوض، همراه با دیگر آزمایشات می‌توان اطلاعات بیشتر برای تشخیص دقیق را به دست آورد (23).

الکتروفورز پروتئین یکی از بهترین روش‌ها برای درک بهتر تست SPEP بررسی هر کلمه به صورت جداگانه است:

خونابه به قسمت مایع خون خونابه (سرم) می‌گویند. اگر با چشم غیر مسلح به خون نگاه بیندازیم، فقط یک ماده به نظر می‌رسد. درحالی که خون از مولفه‌های مختلف تشکیل شده است. هردو گلبول خون (قرمز و سفید) و پلاکت‌ها جامد هستند. با حذف این موارد، مایع باقی می‌ماند که خونابه نام دارد(24).

پروتئین

پروتئین ماده‌ای است که از مواد شیمیایی کوچک به نام اسید آمینه تشکیل شده است(25). پروتئین وظایف متعددی بر عهده دارد:

- تشکیل ساختار بدن
- کمک به حمل مواد مغذی
- کمک به بدن برای مقابله با بیماری

افزایش یا کاهش پروتئین مشکل‌ساز خواهد بود. در تست SPEP معمولا به پنج گروه پروتئین توجه می‌شود:

آلبومین: این پروتئین مواد مورد نیاز را حمل می‌کند و در رشد و ترمیم بافت نقش دارد.

آلفا-۱ گلوبولین: آلفا-۱ گلوبولین اصلی آلفا-۱ آنتی تریپسین نام دارد که توسط ریه و کبد تولید می‌شود و با بیماری التهابی افزایش می‌یابد.

آلفا-۲ گلوبولین: این دسته از پروتئین وظایف زیادی در بدن برعهده دارد و با التهاب در ارتباط است.

بتا گلوبولین: این پروتئین مواد را حمل می‌کند، از سیستم ایمنی حمایت می‌کند و در مولتیپل میلوما و وضعیت‌هایی نظیر کلسترول بالا و اترواسکلروز افزایش می‌یابد.

گاما گلوبولین: این پروتئین وظیفه‌ی تقویت سیستم ایمنی را برعهده دارد و در مولتیپل میلوما و بعضی بیماری‌های خودایمنی مانند رماتیسم مفاصل و لوپوس اریتماتوی سیستمیک افزایش می‌یابد(26).

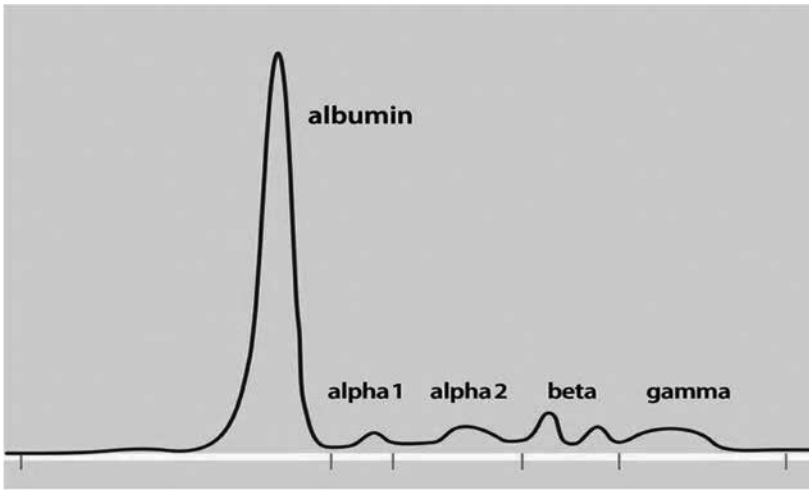
الکتروفورز

الکتروفورز پروتئین، برای جداسازی پروتئین در سرم استفاده می شود. بدین ترتیب می‌توان هر پروتئین را به صورت جداگانه مورد ارزیابی قرار داد. در این روش، پروتئین‌های سرم با تحرک الکتروفورتیک و جریان الکترواسموتیک در ولتاژ بالا در یک بافر قلیایی و انواع مختلف پروتئین جدا و دسته‌بندی می‌شوند. پروتئین‌ها به طور مستقیم توسط جذب UV مورد بررسی قرار می‌گیرد(27).

کاربرد تست SPEP

علائم شایعی که روی پروتئین موجود در خون اثر می‌گذارد، تست SPEP تجویز می‌شود. این علائم شامل موارد زیر است(28):

- کاهش وزن بی رویه
- درد استخوان یا شکستگی متناوب
- خستگی مفرط
- ضعف
- حالت تهوع
- یبوست
- استسقاء
- کمردرد



ازجمله بیماری‌ها و مشکلاتی که باعث بروز این علائم می‌شود می‌توان موارد زیر را نام برد(29.30):

سرطان- مشکل تیروئید- دیابت-کم خونی- بیماری کبد- سوءتغذیه-بعضی بیماری‌های خودایمنی-اسکلروز چندگانه

تست الکتروفورز پروتیئن

این آزمایش به هیچ گونه آمادگی قبلی احتیاج ندارد. پرستار با استفاده از سوزن خون می‌گیرد. بعضی از افراد هنگام ورود سوزن به پوست دچار احساس درد خفیف می‌شوند. ممکن است جای زخم بعد از انجام آزمایش کمی کبود شود.

نتیجه آزمایش SPEP

جدول زیر نتیجه نرمال تست SPEP در اکثر آزمایشگاه‌ها را نشان می‌دهد. این اعداد از موسسه‌ای به موسسه‌ای دیگر کمی فرق می‌کند.

نوع پروتئین	میزان پروتئین (گرم/دسی لیتر)
آلبومین	۵.۰-۳.۸
آلفا-۱ گلوبولین	۰.۳-۰.۱
آلفا-۲ گلوبولین	۱.۰-۰.۶
بتا گلوبولین	۱.۴-۰.۷
گاما گلوبولین	۱.۶-۰.۷

نتیجه غیرطبیعی تست SPEP

انواع پروتئین وظایف مختلفی در بدن بر عهده دارند. یعنی افزایش یا کاهش میزان هریک از این پنج پروتئین به منزله‌ی بروز بیماری‌های مختلف است(31).

۱-آلبومین

بیماری احتمالی	نتیجه آزمایش
از دست رفتن آب بدن	بیشتر از میزان طبیعی
بیماری کبد یا کلیه، وضعیت شامل التهاب، سوء تغذیه	کمتر از میزان طبیعی

۲-آلفا-۱ گلوبولین

بیماری احتمالی	نتیجه آزمایش
بیماری که منجر به التهاب می‌شود (ممکن است مزمن یا حاد باشد)	بیشتر از میزان طبیعی
بیماری کبد، آمفیزم مادرزادی (نادر است)	کمتر از میزان طبیعی

۳-آلفا-۲ گلوبولین

بیماری احتمالی	نتیجه آزمایش
بیماری کلیوی، بیماری که منجر به التهاب می‌شود (ممکن است مزمن یا حاد باشد)	بیشتر از میزان طبیعی
بیماری کبد، سوء تغذیه، از بین رفتن گلبول‌های قرمز	کمتر از میزان طبیعی

۴-بتا گلوبولین

بیماری احتمالی	نتیجه آزمایش
کم‌خونی، مولتیپل میلوما، کلسترول بالا	بیشتر از میزان طبیعی
سوء تغذیه، سیروز کبد	کمتر از میزان طبیعی

۵-گاما گلوبولین

بیماری احتمالی	نتیجه آزمایش
رماتیسم مفاصل، عفونت، سیروز کبد، بیماری التهابی، مولتیپل میلوما، لنفوم	بیشتر از میزان طبیعی
نقص و نارسایی خودایمنی	کمتر از میزان طبیعی

چطور می‌توان از نتیجه‌ی آزمایش برای مراقبت‌های بعدی استفاده کرد؟

معنای دقیق افزایش یا کاهش میزان پروتئین خون همیشه مشخص نیست. می توان از نتیجه‌ی آزمایش برای تشخیص یا تصمیم‌گیری درمورد برنامه‌ی درمان استفاده کرد(32).

همچنین ممکن است آزمایشات بیشتری تجویز شود یا همین آزمایش در زمان دیگر تکرار شود. بدین ترتیب می‌توان از میزان تاثیر دارو و روش درمان اطمینان حاصل کرد.

اولیگوکلونال باند(OCB)

در CSF مقدار کمتری از پروتئین های با وزن مولکولی بالا مانند IgA ,IgG ، IgM وجود دارد. افزایش مقدار IgG در CSF می تواند ناشی از انتشار IgG پلاسما از سد خونی– مغزی آسیب دیده و یا سنتز intrathecal باشد. در بیماران مبتلا به MS و سایر اختلالات دمیلینه کننده، افزایش غلظت IgG ناشی از سنتز intrathecal دیده می شود. یکی از بهترین روش های سنجش IgG، بررسی CSF از نظر وجود باندهای الیگوکلونال (OCB) پس از جداسازی پروتئین ها از طریق الکتروفورز است(33).

مایع مغزی نخاعی (CSF) مایعی است که از مغز و نخاع محافظت و بالشتک می کند. باند الیگوکلونال پروتئینی به نام ایمونوگلوبولین است. باندهای oligoclonal CSF به دنبال این باندها در CSF است. وجود آنها التهاب سیستم عصبی مرکزی را به دلیل عفونت یا بیماری دیگر نشان می دهد. اگر باندهای مشابهی در خون وجود نداشته باشد، ممکن است بیماری مولتیپل اسکلروزیس (ام اس) باشد(34).

CSF تغلیظ نشده باید به صورت مستقیم و همزمان در کنار نمونه سرم روی یک ژل بررسی شود. سرم باید رقیق شود تا غلظت IgG در آن به اندازه CSF باشد(35).این آزمایش همچنین به عنوان باندهای oligoclonal CSF یا ایمونوفیکساسیون CSF شناخته می شود.

می توان از الکتروفورز مایع نخاع و دیدن دو یا بیشتر از دو باند برای کمک به تشخیص MS استفاده کرد.

در دو مورد زیر OCB مثبت در نظر گرفته می شود(37):

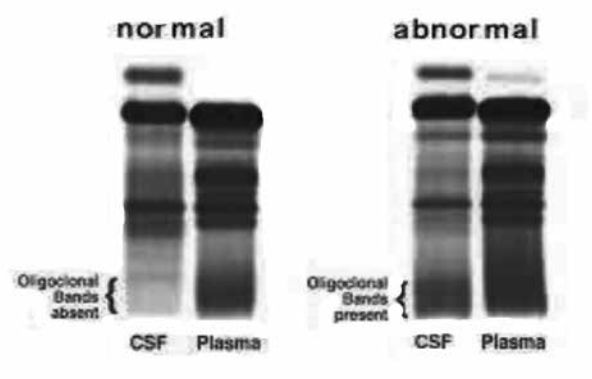
۱- در مواردی که OCB هم در سرم و هم در CSF وجود دارد و در CSF حداقل دو باند بیشتر از سرم دیده می شود.

۲- در صورتی که بیش از دو OCB در CSF و الگوی پلی کلونال در سرم وجود دارد.وجود باند مونوکلونال تکی در CSF شایع نیست. تقریبا در 50% موارد باند مونوکلونال CSF، باند مربوط به سرم وجود ندارد. 2/3 بیماران که در آنها باند تکی CSF وجود دارد، با گذشت زمان به الگوی پلی کلونال طبیعی برمی گردند یا این باند تکی بدون اینکه شواهدی از بیماری وجود داشته باشد، باقی می ماند. در 1/3 باقیمانده به تدریج بیماری MS یا سایر بیماری های دمیلینه کننده ایجاد می شود.

خطرات چیست؟

از پونکسیون کمر به طور گسترده ای استفاده می شود و ایمن در نظر گرفته می شود. با این حال ، خطرات پزشکی وجود دارد(38) ، از جمله:

- خونریزی در ستون فقرات
- یک واکنش آلرژیک به ماده بیهوشی
- یک عفونت



- در صورت حرکت آسیب نخاع
- در صورت وجود توده مغز ، فتق مغز

وجود هیچ باند اولیگوکلونال یا یک باند طبیعی است(39). وجود بیش از یک باند شاخص بیماری است. در این حالت آزمایشات بعدی برای تعیین علت هر بیماری لازم است.

منابع:

1.P. Schmitt-Kopplin Capillary Electrophoresis: Methods and Protocols Humana Press, New York (2016)

2. O. Vesterberg History of electrophoretic methods J. Chromatogr., 480 (1989), pp. 3-3.A. Tiselius A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures

Trans. Faraday Soc., 33 (1937), pp. 0524-0530

4. A.J.P. Martin, 1942, (Unpublished results).

5. S. Hjertén Free zone electrophoresis Chromatogr. Rev., 9 (1967), pp. 122-219

6. F.M. Everaerts, J.L. Beckers, T.P.E.M. Verheggen, J.L. Beckers Isotachophoresis: Theory, Instrumentation and Applications

Elsevier, Amsterdam (1976)

7. J.W. Jorgenson, K.D. Lukacs Zone electrophoresis in open-tubular glass-capillaries Anal. Chem., 53 (1981), pp. 1298-1302

8. G.J. de Jong Capillary Electrophoresis - Mass Spectrometry (CE-MS): Principles and Applications Wiley-VCH, Weinheim (2016)

9. P. Rezanka, K. Navratilova, M. Rezanka, V. Kral, D. Sykora Application of cyclodextrins in chiral capillary electrophoresis Electrophoresis, 35 (2014), pp. 2701-2721

10. J.M. Saz, M.L. Marina Recent advances on the use of cyclodextrins in the chiral analysis of drugs by capillary electrophoresis J. Chromatogr. A, 1467 (2016), pp. 79-94

11. Jacoby RF, Cole CE. Molecular diagnostic methods in cancer genetics. In: Abeloff MD, et al., eds. Clinical oncology. 2d ed. New York: Churchill Livingstone, 2000:119–21.

12. Hoffman R, et al., eds. Hematology: basic principles and practice. 3d ed. New York: Churchill Livingstone, 2000:369–70,1403,2505–9.

13. Ravel R. Clinical laboratory medicine: clinical application of laboratory data. 6th ed. St. Louis: Mosby, 1995:343–6,350.

14. R. Haselberg, C.K. Ratnayake, G.J. de Jong, G.W. Somsen Performance of a sheathless porous tip sprayer for capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry of intact proteinsJ. Chromatogr. A, 1217 (2010), pp. 7605-7611

15. Kyle RA. The monoclonal gammopathies. Clin Chem. 1994;40(11 pt 2):2154–61.

16. M.C. Ruizmartinez,J. Berka,A. Belenkii, F.Foret, A.W. Miller, B.L. Karger DNA sequencing by capillary electrophoresis with replaceable linear polyacrilamide and laser-induced fluorescence detection Anal. Chem., 65 (1993), pp. 2851-2858

17. George ED, Sadovsky R. Multiple myeloma: recognition and management. Am Fam Physician. 1999;59:1885–94.

18. Dispenzieri A, Gertz MA, Therneau TM, Kyle RA. Retrospective cohort study of 148 patients with polyclonal gammopathy. Mayo Clin Proc. 2001;76:476–87.

19. H. Swerdlow, S. Wu, H. Harke, N.J. Dovichi Capillary gel-electrophoresis for DNA sequencing - laser-induced fluorescence detection with the sheath flow cuvetteJ. Chromatogr., 1990) 516), pp. 67-61

20. Alexanian R, Weber D, Liu F. Differential diagnosis of monoclonal gammopathies. Arch Pathol Lab Med. 1999;123:108–13.

21. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. Mayo Clinic Proc. 2003;78:21–33.

22. Boccadoro M, Pileri A. Diagnosis, prognosis, and standard treatment of multiple myeloma. Hematol Oncol Clin North Am. 1997;11:111–31.

13. Shapiro AL, Vinuela E, Maizel JV. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1967;28:815–820.

24. F. KilarRecent applications of capillary isoelectric focusing Electrophoresis, 24 (2003), pp. 3908-3916

25. Guttman A, Nolan J. Anal. Biochem. 1994;221:285–289.

26. Shieh PCH, Hoang D, Guttman A, Cooke N, J Chromatogr A. 1994;676:219–226.

27. Guttman A. TrAC Trends Anal. Chem. 1996;15:194–198.

28. Jo Schmerr M, Jenny A, Cutlip RC, B JChromatogr. 1997;697:223–229.

29. Manabe T. Electrophoresis. 1999;20:3116–3121.

30. Hu S, Jiang J, Cook LM, Richards DP, Horlick L, Wong B, Dovichi NJ. Electrophoresis. 2002;23:3136–3142.

31. Hjerten S. J. Chromatogr. 1983;270:1–6.

32. Cohen AS, Karger BL. J. Chromatogr. 1987;397:409–417.

33. Amato M.P., Ponziani G., Bartolozzi M.L., Siracusa G.: A prospective study on the natural history of multiple sclerosis: clues to the conduct and interpretation of clinical trials. J. Neu

34. Andersson M., Alvarez-Cermeño J., Bernardi G., Cogato I., Fredman P., Fredriksen J., Fredrikson S., Gallo P., Grimaldi L.M., Grønning M.: Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry., 1994; 57: 897-902

35. Ascherio A., Munger K.L.: Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: The role of infection. Ann. Neurol., 2007; 61: 288-299

36. Bailey P.: Incidence of multiple sclerosis in United States troops. Arch. Neurol. Psychiatry, 1922; 7: 582- 583

37. Barkhof F., Filippi M., Miller DH., Scheltens P., Campi A., Polman C.H., Comi G., Adèr H.J., Losseff N., Valk J.: Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. Brain., 1997; 120: 20592069

38. Berger T., Rubner P., Schautzer F., Egg R., Ulmer H, Mayringer I., Dilitz E., Deisenhammer F., Reindl M.: Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. N. Engl. J. Med., 2003; 349: 139145