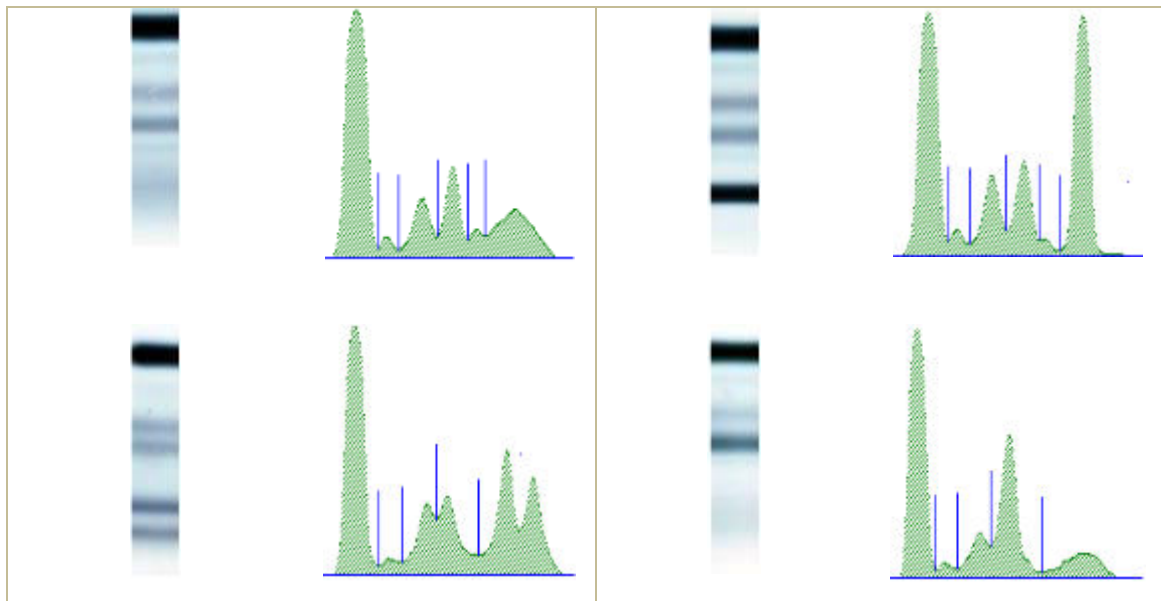


**ΘΕΩΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΑΞΗ  
ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ, ΑΝΟΣΟΚΑΘΗΛΩΣΗΣ ΚΑΙ  
ΑΝΟΣΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ**

Πρωτεϊνών ορού, ούρων, και άλλων βιολογικών υλικών



ΕΚΔΟΣΗ 2013

Δρ ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ [ τ.επικ. καθηγητής ΑΠΘ ]

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ
- 2 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ**
  - 2.1 Παράμετροι ηλεκτροφόρησης
    - 2.1.1 Ηλεκτρικό Πεδίο
    - 2.1.2 Υπόστρωμα ηλεκτροφόρησης πρωτεϊνών
    - 2.1.3 Ηλεκροενδόσμωση (ΕΕΟ) υποστρώματος ηλεκτροφόρησης
    - 2.1.4 Ρυθμιστικά διαλύματα ηλεκτροφόρησης πρωτεϊνών
    - 2.1.5 Συμπεριφορά των πρωτεϊνών κατά την ηλεκτροφόρηση
- 3 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ**
  - 3.1 ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ
    - 3.1.1 ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΟΡΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ
      - 3.1.1.1 Λήψη και συντήρηση δειγμάτων για ηλεκτροφόρηση
      - 3.1.1.2 Μεταβολές στο ηλεκτροφορόγραμμα των πρωτεϊνών
      - 3.1.1.3 Κλινικές εφαρμογές της ηλεκτροφόρησης
      - 3.1.1.4 Θέση των πρωτεϊνών στο ηλεκτροφορόγραμμα υπό φυσιολογικές συνθήκες ή και παθολογικές καταστάσεις
      - 3.1.1.5 Περιοχή της προαλβουμίνης (Prealbumin)
      - 3.1.1.6 Περιοχή της αλβουμίνης (Albumin )
      - 3.1.1.7  $\alpha_1$ -σφαιρίνες
      - 3.1.1.8 Ενδιάμεση περιοχή αλβουμίνης και των  $\alpha_1$ -σφαιρινών
      - 3.1.1.9  $\alpha_1$ -Λιποπρωτεΐνες
      - 3.1.1.10  $\alpha$ -εμβρυϊκή πρωτεΐνη
      - 3.1.1.11 Οροσομουκοειδές [όξινη  $\alpha_1$ -γλυκοπρωτεΐνη]
      - 3.1.1.12 Περιοχή των  $\alpha_1$  - σφαιρινών -  $\alpha_1$ -Αντιθρυψίνη
      - 3.1.1.13 Ενδιάμεση Περιοχή των  $\alpha_1$ - $\alpha_2$  -σφαιρινών
      - 3.1.1.14  $\alpha_1$ -αντιχυμοθρυψίνη
      - 3.1.1.15 Gc- σφαιρίνες
      - 3.1.1.16 Περιοχή των  $\alpha_2$  - σφαιρινών
      - 3.1.1.17  $\alpha_2$ - μακροσφαιρίνες
      - 3.1.1.18 Απτοσφαιρίνες
      - 3.1.1.19 Οροπλασμίνη
      - 3.1.1.20 Ενδιάμεση περιοχή μεταξύ των  $\alpha_2$  - και  $\beta$  - σφαιρινών
      - 3.1.1.21 Περιοχή των  $\beta$  - σφαιρινών
      - 3.1.1.22 Ενδιάμεση περιοχή των  $\beta_1$ -  $\beta_2$  - σφαιρινών
      - 3.1.1.23  $\beta$ -Περιοχή
      - 3.1.1.24 Ενδιάμεση περιοχή των  $\beta_2$ - $\gamma$ -σφαιρινών
      - 3.1.1.25 Σημείο εναπόθεσης δειγμάτων
      - 3.1.1.26 Περιοχή των  $\gamma$ - σφαιρινών
      - 3.1.1.27 Μουραμινιδάση
      - 3.1.1.28 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
      - 3.1.1.29 Πρωτεΐνες αντίδρασης οξείας φάσης
      - 3.1.1.30 Άλλες ανωμαλίες στο ηλεκτροφορόγραμμα
      - 3.1.1.31 Ποσοστιαία σχέση των ελαφρών αλύσεων

- 3.1.1.32 Προβλήματα κατά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της ηλεκτροφόρησης των πρωτεϊνών
- 3.1.1.33 Σειρά εργασίας για την ανίχνευση των μονοκλωνικών γαμμασφαιρινοπαθειών και την ταυτοποίηση των μονοκλωνικών ανοσοσφαιρινών.
- 3.1.1.34 Τεχνική της Ηλεκτροφόρησης βήμα προς βήμα

## **3.2 Παραπρωτεΐνες - Παραπρωτεΐναιμίες**

- 3.2.1 Υπερ-, Υπο-, Α-γαμμασφαιριναιμία
  - 3.2.2. Ολιγοκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία
  - 3.2.3 Μονοκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία - γαμμασφαιρινοπάθεια
  - 3.2.4 Συχνότητα των μονοκλωνικών παραπρωτεϊνών
  - 3.2.5 Ανίχνευση και ταυτοποίηση των μονοκλωνικών παραπρωτεϊνών
  - 3.2.6 Κλινική σημασία των μονοκλωνικών γαμμασφαιρινοπαθειών
  - 3.2.7 Παράμετροι διάγνωσης των μονοκλωνικών γαμμασφαιρινοπαθειών
  - 3.2.8 Γενικές αρχές και προβλήματα αξιολόγησης των αποτελεσμάτων της ανοσοκαθήλωσης- ανοσοηλεκτροφόρησης
- Εικόνες 26-31

## **3.3 ΠΡΩΤΕΪΝΟΥΡΙΑ -ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΟΥΡΟΥ**

- 3.3.1 Πρωτεϊνουρία
- 3.3.2 Πρωτεϊνουρία ελαφρών, ελεύθερων μονοκλωνικών αλύσεων (Bence Jones πρωτεϊνούρια)
- 3.3.3 Ηλεκτροφόρηση, Ανοσοκαθήλωση ή και Ανοσοηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών στο ούρο

## **3.4 ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟΥ ΥΓΡΟΥ (ΕΝΥ)**

- 3.4.2 Εργαστηριακή εξέταση του ΕΝΥ

## **3.5 ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΑΛΛΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ, ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ**

- 3.5.1 ΣΙΕΛΟΣ
- 3.5.2 ΑΡΘΡΙΚΟ ΥΓΡΟ
- 3.5.3 ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑ

## **3.6 ΘΕΡΜΟΕΥΑΙΣΘΗΤΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ**

- 3.6.1 Πυροσφαιρίνες
- 3.6.2 Κρυσσφαιρίνες
- 3.6.3 Ψυχροσυγκολλητίνες

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μετά από περίοδο εξελίξεων πολλών δεκαετιών, η ηλεκτροφόρηση αποτελεί σήμερα μία από τις κυριότερες τεχνικές επιλογής για την ανάλυση των πρωτεϊνών στον ορό αίματος [ ανίνευση παραπρωτεϊνών, αυξομείωση πρωτεϊνών] ή και σε άλλα βιολογικά υγρά, και αποτελεί πλέον μία βασική τεχνική για ερευνητικούς και διαγνωστικούς σκοπούς.

Εδώ και πολλές πενταετίες, η τεχνική της ηλεκτροφόρησης των πρωτεϊνών, μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές, και κυρίως με αυτήν της ανοσοκαθήλωσης, παρέχει σαφείς πληροφορίες για ποσοτικές και ποιοτικές μεταβολές των επιμέρους πρωτεϊνών, και συμβάλλει στην άμεση και έμμεση διάγνωση νοσολογικών καταστάσεων, όπως είναι το πολλαπλό μύελωμα, παθήσεις του ήπατος, το νεφρωσικό σύνδρομο, αντιδράσεις οξείας φάσης, η χυμική ανοσοανεπάρκεια, το AIDS, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, αγγειοκαρδιακά νοσήματα, λιποπρωτεϊναιμίες, παρουσία κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων, γενετική παραλλαγή της  $\alpha_1$ -αντιθρυψίνης, ανωμαλίες πρωτεϊνών, καθώς και νοσήματα, που προξενούν απομυελίνωση στο κεντρικό νευρικό σύστημα <sup>(1-21)</sup>

Γενικά, η τεχνική της ηλεκτροφόρησης είναι απλή, πρακτική, έχει χαμηλό κόστος και τα αποτελέσματά της είναι αξιόπιστα. Σε ό,τι αφορά στον ποσοτικό προσδιορισμό, οι τιμές των πρωτεϊνών, που προκύπτουν από την φωτομετρική (με πυκνόμετρο) αξιολόγηση του ηλεκτροφορογράμματος, είναι σε χαμηλότερα επίπεδα από τις απόλυτες τιμές άλλων τεχνικών, όπως της νεφελομετρίας, και γι αυτό οι τιμές αυτών των τεχνικών δεν είναι μεταξύ τους συγκρίσιμες <sup>(5, 13, 22)</sup>.

Στις περιπτώσεις των γαμμασφαιρινοπαθειών (gammopathy) η τεχνική της ηλεκτροφόρησης είναι η μόνη που μπορεί να διαφοροποιήσει τις μονοκλωνικές ανοσοσφαιρίνες και η συνδυασμένη χρήση αυτής με την ανοσοκαθήλωση διασφαλίζει κατά 99% τη διάγνωση των μονοκλωνικών γαμμασφαιρινοπαθειών <sup>(3, 5)</sup>

.

Αν και οι ραγδαίες εξελίξεις, σχετικά με την ηλεκτροφόρηση, έχουν υπερκαλύψει τις γνώσεις των προγενέστερων δεκαετιών, συνεχίζει να βρίσκεται η τεχνική της ηλεκτροφόρησης σε διαρκή εξέλιξη, και όπως φαίνεται από τη διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχουν ακόμη απεριόριστες δυνατότητες περαιτέρω εξελίξεων <sup>(23)</sup>.

Στο εγχειρίδιο αυτό γίνεται μια προσπάθεια μιας διευρυμένης ανασκόπησης της βασικής και πρόσφατης βιβλιογραφίας, σε ό,τι αφορά στις τεχνικές της ηλεκτροφόρησης, ανοσοκαθήλωσης και ανοσοηλεκτροφόρησης σε φιλμ αγαρόζης, και δίδεται ιδιαίτερη έμφαση στα προβλήματα που προκύπτουν κατά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Ιδιαίτερη μνεία γίνεται στη διάγνωση των μονοκλωνικών γαμμασφαιρινοπαθειών, με την παράθεση σχετικών διευκρινιστικών εικόνων.