

## تهیه اجزاء پروتئینی پلاسما

مجله نظام پزشکی

سال پنجم، شماره ۲، صفحه ۱۰۱، ۲۵۳۵

دکتر حسن حکیمی - محسن ابوالحسنی \*

مقدمه:

واژه Fractionnement عبارت از جدا کردن پروتئینهای پلاسما بطرق مختلف میباشد.

با پیشرفت‌هایی که در تهیه اجزاء پروتئینهای پلاسما حاصل شده تا کنون تعداد زیادی از این پروتئینها بطور خالص جدا گشته و اثرات بالینی و نقش حیاتی آنها دقیقاً مورد مطالعه قرار گرفته و اهمیت هر کدام از آنها مشخص شده است.

از این نظر امروزه از تجویز پلاسما خودداری کرده اجزاء مختلف آن را بکار میبرند.

برای اولین بار در سال ۱۸۴۱، از سولفات آمونیوم برای جدا کردن گلبولین و سرم آلبومین استفاده شد. تقریباً صد سال بعد Cohn (۳) در جریان جنگ دوم جهانی از اتانول برای تهیه مقادیر زیاد آلبومین استفاده کرد.

البته نباید فراموش کرد که عمل تهیه اجزاء پروتئینی پلاسما بمقیاس وسیع را باید مدیون پیشرفتهائی که در روشهای مربوط به تولید سرما حاصل شده است، دانست. زیرا سانتریفوژ کردن و در نتیجه جدا کردن اجزاء مختلف پلاسما در سرما و لیوفیلیزه کردن فرآورده‌های حاصل باعث جلوگیری از آلودگی میکروبی و تغییر ماهیت (Dénaturation) پروتئینها میشود. در ۳۵ سال گذشته روشهای زیادی برای تهیه اجزاء پروتئین پلاسما پیشنهاد شده‌اند که مهمترین آنها عبارتند از:

۱- املاح معدنی = مانند سولفات آمونیوم، سولفات سدیم.

۲- حلالهای آلی = کلروفرم - استن - اتانول.

۳- تعویض کننده یونها = مانند مخلوطی از رزینهای تعویض-کننده آنیون، کاتیون، سلولز و سفادکس تعویض کننده یون.

۴- مواد آلی مانند ریوانل و اسید کاپر بلیک.

۵- پلیمرهای محلول: مانند پلی اتیلن گلیکول (۹) (PEG)

۶- الکتروفورز Préparative.

۷- Gel filtration با سفادکس‌های مختلف.

هدف:

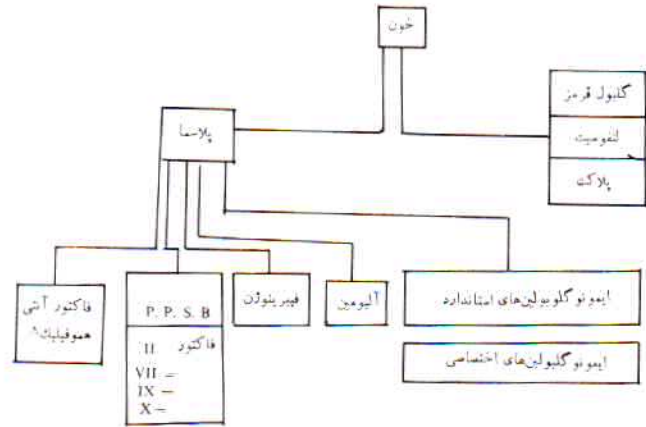
هدف تهیه اجزاء پروتئینهای پلاسما تهیه مشتقات مختلف پلاسما بطور خالص و تغلیظ آنها میباشد. مزیتی که این فرآورده‌ها نسبت به پلاسما دارند این است که با استفاده از مشتقات تهیه شده هم در تجویز مقادیر زیاد پلاسما و همچنین از تجویز پروتئینهای غیر- ضرور میتوان جلوگیری کرد و نتیجهٔ بهتری گرفت بعلاوه از یک واحد پلاسما تعداد بیشتری از بیماران استفاده خواهند نمود.

مثلاً سابقاً در مورد سوختگی برای جبران هیپوپروتئینمی، پلاسما تجویز میشد در صورتیکه بیمار فقط به آلبومین پلاسما احتیاج داشت و نیازی به دیگر پروتئینها از قبیل گاما گلبولین - فیبرینوژن - فاکتور آنتی هموفیلیک A و فاکتورهای انعقادی (P.P.S.B.) موجود در پلاسما نداشت و اکنون با جدا کردن تمام مواد نامبرده از همان یک واحد پلاسما، ۵ بیمار استفاده خواهند کرد.

علاوه بر مواد فوق سایر پروتئینهای پلاسما را از قبیل هاپتو گلوبین سر و پلاسمین، سیدروفیلین، ترانسفرین، پلاسمینوژن و  $\alpha_2$  ماکرو گلوبولین و غیره نیز میتوان جدا کرد که خواص درمانی آنها تحت مطالعه میباشد.

\* انستیتو پاستور ایران - تهران.

بغلظت آنها) پروتئینهای مختلف را میتوان رسوب داد. استفاده از سولفات آمونیم برای تهیه اجزاء پروتئینی بمقیاس زیاد توسط Behringwerke (۱۰) جهت تهیه گاماگلوبولین انجام گرفت. ایراد بزرگی که به این روش وارد است اینستکه جهت جدا کردن املاح موجود در فرآورده حاصل باید آن را بمدت زیادی دیالیز کرد و در اثر این عمل مواد تبذا (پیروژن) وارد فرآورده میشوند که فعلا از این روش بیشتر در آزمایشگاهها استفاده میشود. در نمودار شماره ۲ این روش بطور خلاصه نشان داده میشود:



نمودار ۱ - بطور کلی فرآورده های حاصل از خون و در نتیجه مشتقات پلاسما را که مصرف درمانی دارند نشان میدهد.

### موارد و روش کار:

#### الف - پلاسما:

برای تهیه گاماگلوبولین و آلبومین علاوه بر پلاسما تازه میتوان از پلاسما خونهای تاریخ گذشته و پلاسما جفت استفاده کرد. برای تهیه فاکتور آنتی هموفیلک A و فیبریژنژن منحصراً از پلاسما تازه استفاده میشود. کیفیت و نوع پلاسما در تهیه مشتقات خیلی مهم است و کنترلهائی که روی پلاسما انجام میگردد بشرح زیر میباشد:

۱- تجسس پادگن (آنتی ژن) استرالیائی: از تمام خونهایی که برای تهیه اجزاء پروتئینی استفاده میشوند تجسس پادگن استرالیائی بعمل آمده و فقط از پلاسماهای سالم استفاده میشود.

۲- شمارش ژرم - پلاسماهایی که از خون وریدی تهیه میشوند فاقد ژرم بوده و یا اینکه تعداد آنها خیلی کم است ولی تعداد ژرمهای پلاسما تهیه شده از خون جفت خیلی زیاد بوده و در بعضی موارد حتی به ۲۰۰۰۰۰ در میلی لیتر هم میرسد.

۳- اندازه گیری PH.

۴- اندازه گیری پروتئین.

۵- اندازه گیری عیار آگلوتینینهای ضد A و ضد B.

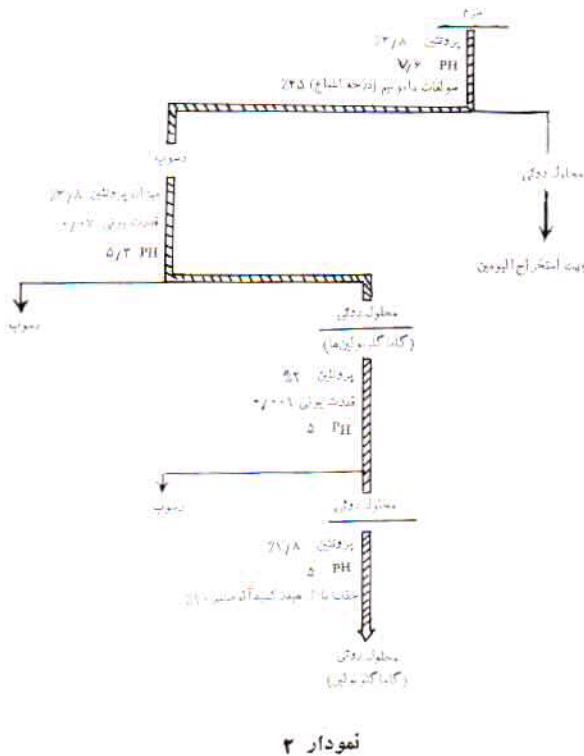
ب- اتانول: از الکل اتیلیک ۹۶ درجه سرد (۱۵ - تا ۲۰- درجه) استفاده میشود.

پ- آب مقطر: برای جلوگیری از ورود مواد تبذا (پیروژن) از آب مقطر تازه تهیه شده و سرد (۴- درجه) استفاده میشود.

روش کار- روشهای زیادی برای تهیه اجزاء پروتئینی پلاسما (۱۲) بکار میروند که بطور اختصار مهمترین آنها را شرح میدهم:

#### ۱- املاح معدنی

بوسیله املاح معدنی مانند سولفات سدیم و سولفات آمونیم (نسبت



نمودار ۲

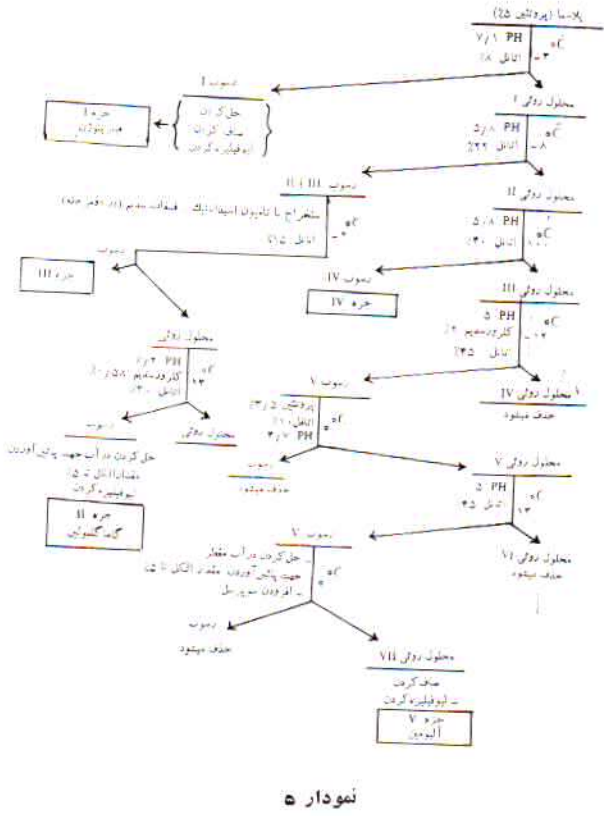
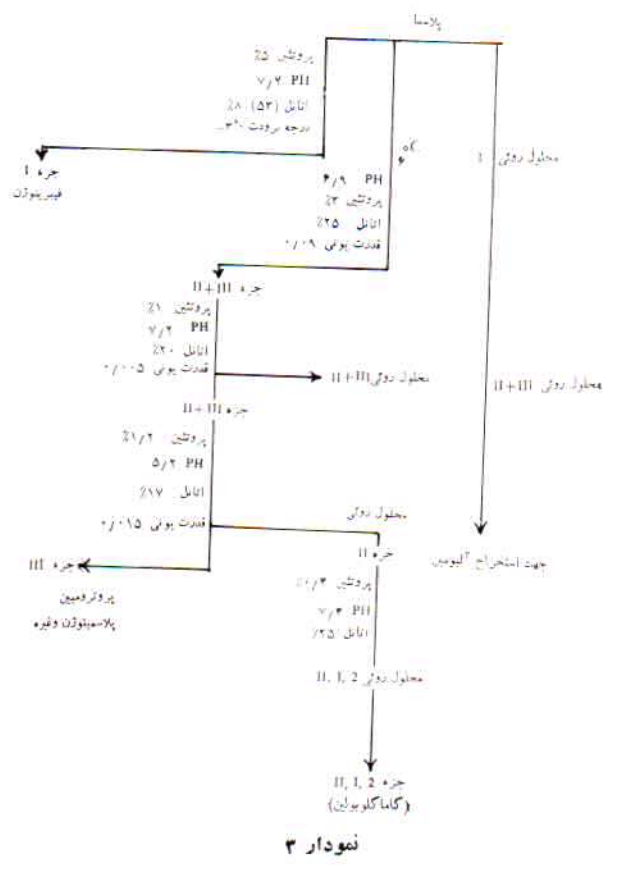
#### ۲- حلالهای آلی

روشهای مربوط به استفاده از حلالهای آلی برعکس املاح معدنی اساس تهیه مشتقات پروتئینی پلاسما بمقیاس وسیع گردیده است. این امر افتخار بزرگی برای (۳) COHN و همکاران او میباشد که بنیان گذار این روش شده اند. گاماگلوبولین حاصل از این روش دارای ناخالصی کمتری است. مزیتی که حلالهای آلی نسبت باملاح معدنی دارند اینستکه عمل تهیه اجزاء پروتئینی در درجات حرارت زیر صفر انجام میگردد و احتیاجی هم بعمل دیالیز ندارد.

روش (9+6) methude (۳) Cohn بطور خلاصه در (نمودار ۳) نشان داده شده است:

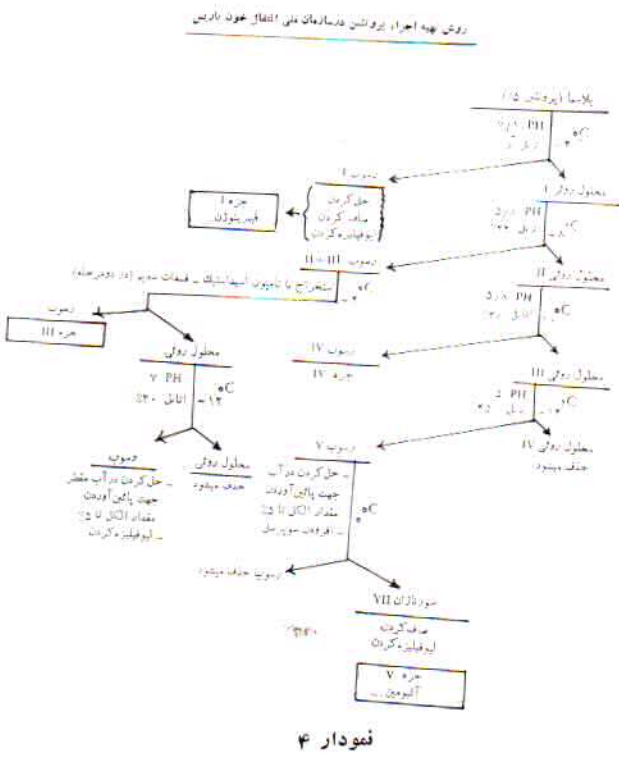
روشها روش (A) Nitschmann & Kistler است که در مرکز انتقال خون پاریس (C.N.T.S.) بامختصر تغییراتی که در این روش داده اند از آن استفاده میکنند ( نمودار ۴).

روشی که در انستیتو پاستور ایران معمول است همان روشی است که در مرکز ملی انتقال خون پاریس عمل میشود ولی چون انستیتو به پلاسما تازده دسترسی ندارد و از پلاسماهای خون جفت و خونهای تاریخ گذشته استفاده میکند و این پلاسماها به علت همولیز رنگی هستند در نتیجه برای بدست آوردن فرآورده های عاری از هموگلوبین مختصر تغییراتی در این روش داده شده است افزودن کلرورسدیم در مرحله رسوب دادن گاماگلوبولین و آلبومین به علت شکستن کمپلکس هموگلوبین با پروتئینهای مذکور می باشد و پس از جدا شدن هموگلوبین از کمپلکس در محیط بشکل محلول باقیمانده ولی آلبومین و گاماگلوبولین در آن شرایط بنقطه ایسوزوالکتریک خود رسیده و رسوب می کنند این روش در (نمودار ۵) نشان داده میشود:



۳- تعویض کننده های یون

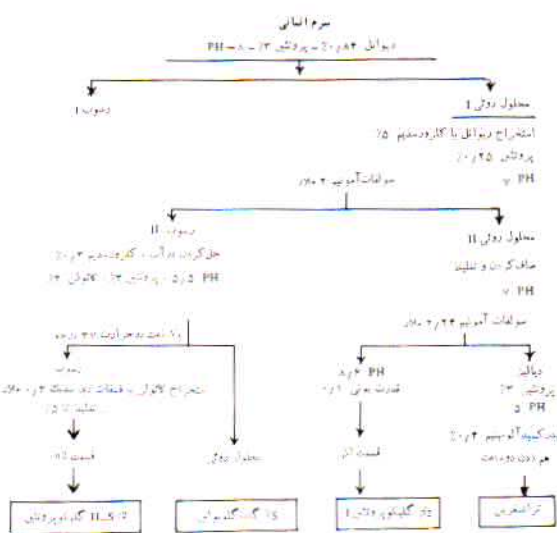
تعویض کننده های یون که جهت جدا کردن پروتئینها در کروماتوگرافی (۴) بکار میروند ممکن است مصنوعی (رزین) و یا طبیعی (سلولز) باشند. البته سلولز نسبت به رزین مصرف بیشتری دارد.



بعدها توسط خود Cohn و دیگر محققین تغییرات زیادی در این روش که بر پایه روش اصلی استوار بوده، داده شد. یکی از این

اجزاء III و IV بعنوان محصولات فرعی تهیه مشتقات پروتئینی از قبیل ترانسفرین (۱) - هاپتوگلوبین (۱۵-۱۱) - سرولوپلاسمین (۱۶) و ترومبین (۷) و  $\alpha_2$  ماکروگلوبولین (۱۴) و پلاسمینوژن میباشد. حتی با ریوانل میتوان پروتئینهای خیلی ظریف و شکننده را مانند  $\beta_2$ -c-globuline یا آنزیمها را جدا کرد.

دیگر رنگهای آکریدینی را نیز برای جدا کردن پروتئینها آزمایش کرده اند ولی ریوانل بهمه آنها برتری داشته است. بطور خلاصه روشی که بوسیله Heide & Haupt ارائه شده نشان داده میشود (نمودار ۶).



نمودار ۶

۵- پلیمرهای محلول: (۹)

پلی اتیلن گلیکول (P.E.G.):

عمل رسوب دادن در این روش بوسیله غیر محلول کردن ترکیبات پروتئینی در اثر مکانیسم جایگزینی و تغلیظ ملکولها در بین فضاهای بین ملکولی P.E.G. انجام میگردد. هیچگونه واکنش شیمیایی بین پروتئین و P.E.G. انجام نمیکرد. بعلت خاصیت کشش سطحی و جذب پروتئینها در سطح ملکولهای P.E.G. تغییر ماهیت (Dénaturation) پروتئینها بحد اقل میرسد. پروتئینهای مختلف پلاسما را میتوان با افزایش تدریجی غلظت P.E.G. و تامپونهای با PH متفاوت رسوب داد.

در PH خنثی پروتئینهای مختلف نسبت به تحرك الكتروفورزی آنها رسوب میکنند.

P.E.G. موجود در اجزاء مختلف جدا شده از پلاسما (Fraction) را میتوان با افزودن سولفات آمونیم (با غلظت ۳۳ درصد) و

قدرت جذب پروتئین بوسیله تعویض کننده یون بستگی به PH تامپون دارد و این قدرت جذب نیز مربوط به میزان بار الکتریکی ملکول پروتئین میباشد. جدا کردن پروتئینها با تغییر PH تامپون یا افزایش غلظت (ملاریته) یونهای تامپون انجام میگردد.

از تعویض کننده یونها مثل D.E.A.E. Sephadex-A50 در تهیه مشتقات پلاسما مانند P.P.S.B. (۱۸) (Prothrombine, Proconvertine, Facteur Stuart et Facteur Anti-hemophilique B)

میتوان در مقیاس وسیع نیز استفاده کرد. مزیتی که این روش در مورد تهیه P.P.S.B. نسبت به روش فسفات تری کلسیک دارد این است که از پلاسمای خون حاوی A.C.D. میتوان استفاده کرد و سبترات سدیم مانع عمل جذب این فاکتورها روی سفادکس نمیشود در صورتیکه سبترات مانع جذب این فاکتور روی فسفات تری کلسیک میشود و برای جلوگیری از این عمل خون را اجباراً باید روی رزین گرفت. در نتیجه پس از جدا کردن پلاسما گلبولها را نمیتوان مصرف کرد و باید دور ریخته شوند.

تعویض کننده آنیونها روی پروتئینهای پلاسمای انسانی اثرات متفاوتی دارند مثلاً گاما گلوبولینها که بیشتر خاصیت بازی دارند معمولاً کمتر جذب میشوند در صورتیکه Orosomucoide و آلبومین روی آنها بخوبی جذب میشوند. از این روش برای خالص کردن آنزیمها - پادتن - پادگن ها و پروتئینهای حامل و هورمونها میتوان در آزمایشگاه استفاده کرد.

۴- مواد آلی

علاوه بر حلالهای آلی از مواد آلی دیگری مثل ریوانل و اسید کاپریلیک میتوان برای جدا کردن مشتقات پروتئینی پلاسما استفاده کرد.

ریوانل (2-éthoxy 6,9-diaminoacridine lactate) بوسیله Smetana & Hrejsi (۵) مورد استفاده قرار گرفته که در آن ۳/۵ حجم از محلول ریوانل در آب مقطر (با غلظت ۰.۴ درصد) را بایک حجم از پلاسما یا سرم مخلوط کرده و رسوب را با سائتریفوژ جدا کرده، سپس ریوانل موجود در محلول را با جذب روی ذغال حیوانی جدا میکنند. ابتدا تصور میشد که این روش از نظر سرعت عمل برای تهیه گاما گلوبولین خالص روش خوبی باشد (در يك مرحله) زیرا فکر میکردند که تمام پروتئینها بجز گاما گلوبولینها در اثر ریوانل رسوب میکنند ولی بعداً معلوم شد که محلول روئی تقریباً دارای ۸۰ درصد IgG و ترانسفرین و  $\beta_2$  گلیکوپروتئین میباشد (۱).

ریوانل معرف خوبی برای جدا کردن پروتئینهای موجود در

سایتیریفورژ کردن آن جدا کرد در اثر این عمل پروتئین رسوب کرده و P.E.G. در محلول روئی میماند با استفاده از P.E.G. میتوان فاکتور آنتی هموفیلیک A را بصورت خیلی غلیظ و عاری از ناخالصی فیبرینوژن و سایر فاکتورهای انعقادی تهیه کرد.

#### ۶- الکتروفورز Préparative

در این روش از خاصیت دوقطبی بودن پروتئینهای پلاسما استفاده میکنند و آنها را تحت تأثیر میدان الکتریکی قرار میدهند و در نتیجه بار الکتریکی که دارند از هم جدا میشوند الکتروفورز Préparative روشهای متفاوتی دارد که عبارتند از:

۱- الکتروفورز روی کاغذ.

۲- روی ستون (پودرسولز)

۳- Pévicon که پلی مرکلرور استات پلی و نیل میباشد.

پس از عمل الکتروفورز قسمتهای مختلف جدا شده را بریده و پروتئین را با حلال مناسبی جدا میکنند این روش بیشتر در آزمایشگاهها بکار میرود.

#### ۷- Gel filtration باسفاذکهای مختلف

ژلها دارای خاصیتی هستند که خیلی هیدروفیل عیباشند در موقع صاف کردن سرم عمل جدا شدن پروتئینها مربوط به PH و تانمپون نبوده، بلکه بستگی بوزن ملکولی و درشتی یا کوچکی ملکول دارد در نتیجه ابتدا ملکولهای درشت تر و سپس بتدریج ملکولهای کوچک تر از ژل خارج میشوند سفاذکس دارای اشکال متفاوتی است مثلا سفاذکس آنیونی بصورت D.E.A.E - Sephadex و سفاذکس کاتیونی CMS-Sephadex میباشد. این روش نیز بیشتر در آزمایشگاهها بکار میرود.

بعنوان مثال برای تهیه IgG خالص که کاملاً عاری از ناخالصی و حتی ملکولهای IgG بهم پیوسته (Agregée) باشد از سفاذکس G-200 استفاده میشود و از این طریق حتی میتوان مقدار IgG بهم پیوسته را محاسبه نمود (۲).

#### بحث:

یکی از مشکلات عمده تهیه پلاسمای کافی برای تهیه اجزاء پروتئینی می باشد و برای این منظور باید عوامل زیر در نظر گرفته شوند:

۱- تشویق مردم به اهداء خون از طریق رادیو، تلویزیون، نشریات و نشان دادن فیلمهای مربوط، توسط گروههای سیار.

۲- ازدیاد پلاسمافرز (Plasmapherese).

۳- افزایش استفاده از گلبولهای جدا شده (Cullot globulaire) و جلوگیری از مصرف خون تام.

۴- جمع آوری هرچه بیشتر خون جفت.

در مورد تهیه گاما گلوبولین از جفت کامل مشکلاتی وجود دارند که عبارتند از:

۱- احتمال وجود مواد A و B گروههای خونی.

۲- پادکن نسجی (Antigène tissulaire)

۳- پایداری (Stabilité)

برای جلوگیری از ورود پادکن نسجی، انستیتو پاستور ایران فقط از خون جفت استفاده کرده و از بکار بردن جفت کامل خودداری میکند برای اطلاع از وجود مواد A و B در پلاسما قبل از جدا کردن اجزاء پروتئین عیار آگلوتینینهای ضد A و ضد B بعمل میآید و در صورت بالابودن عیار آنها با اختلاط مقداری پلاسمای گروه مخالف اثر آن را خنثی میکنند.

خطراتی که فرآوردههای حاصل از مشتقات پلاسما را تهدید میکنند مربوط بدو عامل زیر میباشد.

۱- داخل شدن مواد تبزا (Pyrogène)

تهیه اجزاء پروتئینی بمقیاس وسیع را نمیتوان در محیط استریل انجام داد و بهمین علت این عمل باید در درجه حرارت زیر صفر و بوسیله الکل انجام گیرد در نتیجه خطر آلودگی ضمن کار خیلی کم شده و حداقل میرسد و اگر این عمل در درجات بالای صفر انجام گیرد خطر آلودگی بسیار زیاد است.

مواد تب زا جزء دسته لیپوپلی ساکاریدها و پلی پپتیدها هستند. سموم میکروبی و مواد تبزا را در حین تهیه فرآوردهها نمیتوان جدا کرد و حتی در بعضی موارد این مواد تغلیظ شده و بعلمت تشابه و قرابت ساختمان شیمیائی آنها با پروتئینها با فرآوردههای مختلف رسوب میکنند.

۲- تغییر ماهیت (Dénaturation) پروتئینها:

ظاهر شدن کدورت در حین جدولولهای قابل تزریق آلبومین و گاما گلوبولین و یا در فیبرینوژن مربوط بطرز تهیه و تغییرات نامطلوب و شدید PH، درجه حرارت و روش لیوفیلیزاسیون بوده که باعث تشکیل ملکولهای بهم پیوسته (Agregée) و در نتیجه تغییر ساختمان شیمیائی آنها میشود این ملکولها نسبت بیروتئین اولیه کمتر محلول بوده و رسوب میکنند البته کدورت حاصله در فرآوردهها ممکن است منشاء میکروبی نیز داشته باشند و برای تشخیص این دو میتوان از نمونههای مذکور کشت داد.

فرآوردههای تهیه شده در انستیتو پاستور ایران

۱- فیبرینوژن

فیبرینوژن تهیه شده در انستیتو پاستور بصورت لیوفیلیزه بوده و هر شیشه حاوی ۲-۱/۵ گرم فیبرینوژن است. البته مقدار فیبرینوژن

بعد از اندازه گیری در روی برچسب نوشته می شود. مقدار فیبرینوژن هر شیشه تقریباً ۵-۴ بار بیشتر از پلاسما هم حجم آن می باشد فیبرینوژن با روش Perfusion تجویز میشود. طول نیمه عمر آن تقریباً ۶-۵ روز است. پس از حل کردن پودر لیوفیلیزه در حلال آب پیروژن (محلول ۳ درصد گلوکز) بلافاصله آن را باید مصرف کرد و حداکثر تا نیم ساعت بعد از حل کردن میتوان آنرا نگهداشت اگر احياناً در این مدت رسوبی (Particule) ظاهر شود بوسیله صافی گرفته خواهد شد و خطری ایجاد نخواهد کرد.

#### موارد استعمال

موارد استعمال آن در فیبرینولیز حاد و فیبرینوژنمی ارثی می باشد.

الف - فیبرینولیز حاد:

فیبرینولیز حاد در موارد زیر پیش می آید:

۱- فیبرینولیز پز شکمی: که خیلی نادر است فقط در بعضی موارد Purpura، سرطان پروستات و یا پانکراس دیده می شود.

۲- فیبرینولیز جراحی: که در جراحیهای گلو و جراحیهای زنان دیده میشود.

۳- فیبرینولیزهایی که بعد از زایمان طبیعی ایجاد می شوند. برای درمان فیبرینولیز حاد حداقل ۲ گرم فیبرینوژن لازم است گاهی تا مقدار ۸-۶ گرم نیز باید تزریق نمود.

ب- فیبرینوژنمی ارثی:

این مورد نیز خیلی نادر است و افراد مبتلا را میتوان با فیبرینوژن مداوا کرد.

کنترلهایی که روی این فرآوردهها انجام می گیرند بشرح زیر می باشند:

- کنترل میکربی

- (Toxicité)

- آزمون پیروژنی

- اندازه گیری مقدار پروتئین

- Coagulabilité

- پایداری (Stabilité)

(ایمونوگلوبولین) گاما گلوبولین:

گاما گلوبولین تهیه شده در انستیتو پاستور ایران فرآورده لیوفیلیزه ای از محلول ۵/۱۶ درصد\* گاما گلوبولین مشتق از پلاسما انسانی می باشد که دارای ۲۵/۲ درصد گلیکوکول بعنوان پایدار کننده و یک درصد تیومر سال بعنوان نگهدارنده می باشد.

گاما گلوبولینی که اکنون تهیه میشود گاما گلوبولین استاندارد بوده

ولی تهیه گاما گلوبولین اختصاصی فعلاً مقدور نیست. از نظر طرز تهیه و روش کار هیچ فرقی بین تهیه گاما گلوبولین استاندارد و گاما گلوبولین اختصاصی وجود ندارد و مشکل اصلی نبودن افراد داوطلب برای اهداء خون است که امید است با اقداماتی که انجام خواهد گرفت افراد داوطلبی پیدا شوند که با تزریق واکسن عیار پادتن آنها را بالا برده و با پلاسما فرز از آنها بتوان گاما گلوبولین اختصاصی نیز تهیه کرد. ایمونوگلوبولین تهیه شده از راه عضلانی تزریق میشود. مقدار مصرف آن ۲/۰ میلی لیتر برای هر کیلو گرم وزن بدن بعنوان پیشگیری و ۵/۰ میلی لیتر برای هر کیلو گرم وزن بعنوان معالجه می باشد در مورد اشخاص ضعیف و یا ناقهین مقدار فوق را میتوان بدو برابر افزایش داد ولی مقدار هر تزریق نباید از ۱۰ میلی لیتر تجاوز کند در هر صورت تجویز بیش از این مقدار را میتوان در ۲ یا ۳ بار بفاصله ۲۴ تا ۴۸ ساعت تزریق کرد.

#### موارد استعمال (۱۷)

در موارد زیر مصرف میشود: سرخک - سرخچه - هپاتیت عفونی - سوختگیهای وسیع - بعد از اعمال هر جراحی - عفونتهای میکربی - مخمک - زخم اثنی عشر - پیشگیری بیماریهای عفونی در نزد اشخاص ضعیف و مراکز اجتماع کودکان - سیاه سرفه - اوریون - پولیومیلیت عوارض بعد از واکسیناسیون (ضد آبله - ضد هاری) حالات آلرژیک آگاما و هیپوگاما گلوبولینی و تمام سندرمهای کمبود پادتن.

کنترلهایی که روی این فرآورده انجام می گیرند بشرح زیر می باشند:

۱- کنترل میکربی

۲- (Toxicité)

۳- اندازه گیری مقدار پروتئین

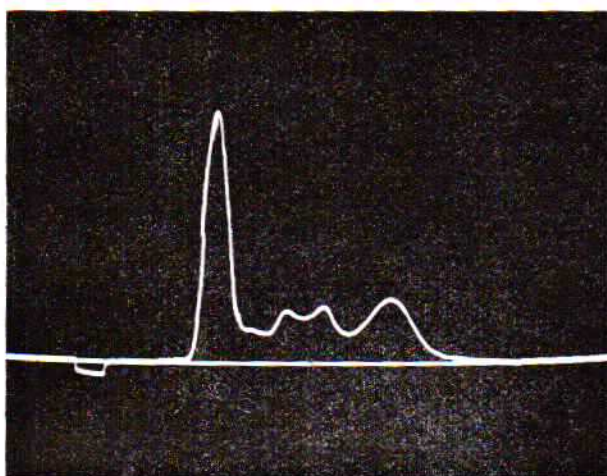
۴- پایداری

۵- الکتروفورز: برای تعیین درجه خلوص گاما گلوبولین از فرآورده حاصله، الکتروفورز بعمل می آید درجه خلوص قابل قبول فارماکوپهها ۹۰ درصد میباشد.

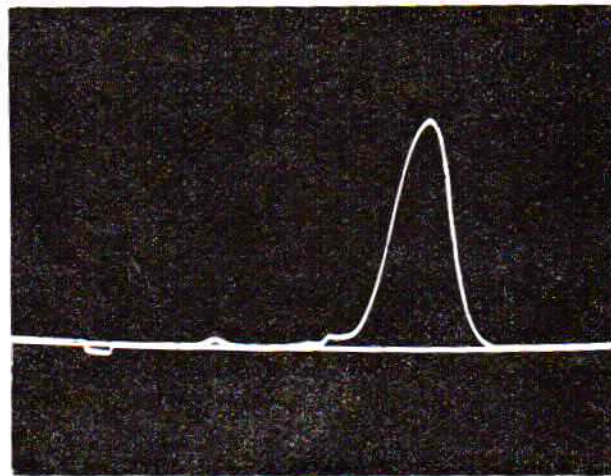
درجه خلوص گاما گلوبولین تهیه شده در انستیتو پاستور ۹۸-۹۰ درصد می باشد و حتی در بعضی موارد که از پلاسما تازه وریدی استفاده میشود میزان خلوص آن به ۹۹/۵ درصد نیز میرسد.

در شکل های زیر الکتروفورز پلاسما قبل از تهیه اجزاء پروتئینی و الکتروفورز گاما گلوبولین حاصل از این پلاسما با هم مقایسه شده اند. میزان خلوص گاما گلوبولین ۹۹/۵ درصد میباشد:

\* غلظت ۱۶/۵ درصد مناسبترین غلظتی است که توسط آمریکا و کشورهای اروپایی و همچنین سازمان بهداشت جهانی برای گاما گلوبولین انتخاب شده است.



شکل ۳ - منحنی مربوط به الکتروفورز پلاسما (قبل از جدا کردن اجزاء پروتئینی)



شکل ۴ - منحنی مربوط به الکتروفورز گاما گلوبولین (بعد از جدا کردن اجزاء پروتئینی پلاسما)

می توان تزریق کرد. آلبومین را بدو طریق زیر می توان تجویز کرد:

۱- آلبومین ۱۷/۵ درصد را بوسیله پرفوزیون با سرعت کم در حدود ۱-۲ میلی لیتر در دقیقه.

۲- این آلبومین را میتوان با ۲۵۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک یا گلوکز ایزوتونیک مخلوط کرده و تجویز کرد محلول رقیق شده را باید بلافاصله مصرف کرد.

موارد استعمال: در موارد زیر میتوان مصرف کرد:

شوکه های هموراژیک - سوختگی های وسیع - آماس مغزی - سندروم های نفروتیک - سیروزها و سایر موارد هیپوپروتئینمی - در سوختگی های وسیع مقدار آلبومین تجویز شده بر حسب درجه سوختگی متفاوت است و بطور کلی از فرمول زیر برای محاسبه مقدار لازم آلبومین میتوان استفاده کرد:

$$P \times S \times 0.2 = \text{مقدار لازم آلبومین}$$

$$P = \text{وزن بدن بر حسب کیلوگرم}$$

$$S = \text{درصد سطح سوختگی}$$

کنترل هایی که روی این فرآورده انجام میگیردند شرح زیر میباشد:

- ۱- کنترل میکروبی.
- ۲- Toxicité
- ۳- آزمون تب زائی.
- ۴- اندازه گیری مقدار پروتئین.
- ۵- الکتروفورز در صفحه مقابل الکتروفورز آلبومین حاصل از این پلاسما مقایسه شده اند. آلبومین تهیه شده کاملاً عاری از ناخالصی می باشد.

۶- تعیین عیار پادتن سیاه سرفه و سرخچه:

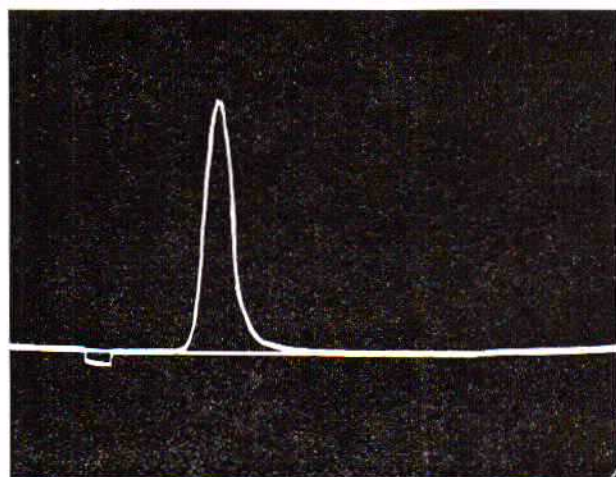
تعیین عیار از این نظر انجام میگیرد که اگر احیاناً و بر حسب اتفاق عیار پادتن یک دسته از گاما گلوبولین بالا باشد از این دسته بعنوان گاما گلوبولین اختصاصی استفاده شود. نتیجه تعیین عیار بشرح زیر میباشد:

دسته شماره	عیار پادتن سرخچه	عیار پادتن سیاه سرفه
۲۰	۱/۱۲۸۰	۱/۴۰
۲۱	۱/۵۱۲	۱/۶۰
۲۲	۱/۵۱۳	۱/۴۰
۲۳	۱/۱۲۸۰	۱/۸۰
۲۴	بین ۱/۲۵۶۰ و ۱/۱۲۸۰	۱/۸۰
۲۵	۱/۵۰۰۰	۱/۴۰
۲۶	ضعیفتر از ۱/۱۲۸۰	۱/۸۰

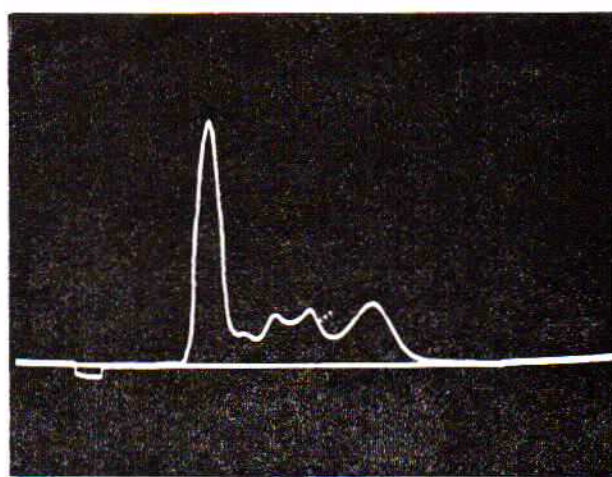
با توجه به نتایج حاصله عیار پادتن سرخچه دسته شماره ۲۵ با مقایسه با دسته های دیگر بالاتر بوده و از آن بعنوان گاما گلوبولین اختصاصی بر علیه سرخچه میتوان استفاده کرد عیار پادتن سیاه سرفه در تمام نمونه ها بسیار کم و ناچیز میباشد.

### ۳- آلبومین

آلبومین تهیه شده در انستیتو پاستور در شیشه های ۱۰۰ میلی لیتری با غلظت ۱۷/۵ درصد میباشد و حاوی ۱۷/۵ گرم آلبومین است. هر شیشه آلبومین معادل نیم لیتر پلاسما میباشد. آلبومین عاری از پادکن استرالیایی است زیرا مدت ۱۰ ساعت در حرارت ۵۶ درجه نگهداری شده است. این آلبومین را مدت ۵ سال در +۴ درجه و دو سال در حرارت ۲۱ درجه میتوان نگهداری کرد. آلبومین را بی نگرانی از گروه خونی شخص دریافت کننده



شکل ۴- منحنی مربوط به الکتروفورز آلومین حاصل بعد از جدا کردن پروتئینها



شکل ۳- منحنی مربوط به الکتروفورز پلاسما (قبل از جدا کردن اجزاء پروتئینی)

درخاتمه لازم میدانند از مؤسسات و افرادی که در پیش برد این هدف همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی نماید:

۱- مرحوم دکتر ناموری سرپرست وقت انستیتو که بنیان گذار عمل تهیه اجزاء پروتئینی پلاسما در انستیتو پاستور بوده‌اند.

۲- مرکز خون ارتش بمناسبت همکاری در اهداء پلاسما و شرکت در تهیه فرآورده‌ها.

۳- مرکز ملی انتقال خون پاریس بمناسبت کمک و راهنمایی در روشهای مربوط به تهیه اجزاء پروتئینی پلاسما و کنترل فرآورده‌ها.

۶- اندازه گیری فسفاتاز الکالن.

۷- اندازه گیری سدیم.

۸- اندازه گیری پتاسیم.

بطور کلی علاوه بر کنترل‌هایی که در انستیتو پاستور ایران روی تمام فرآورده‌ها انجام میگردد برای حصول اطمینان بیشتر نمونه‌ها نیز برای کنترل بمرکز انتقال خون پاریس (C.N.T.S.) فرستاده میشود.

## REFERENCES

1. Boettcher, E. W.; Kistler P. & Nitchmann H. Method of isolating the beta-metal combining globulin from human blood plasma. *Nature*, 181 : 490(1958).
2. Brummelhuis H. G. I., Kreeftenberg, I. G., Vogelaar E. F., and Krynen H. W. Studies on the preparation and stability of Immunoglobulin concentrates. *Bibl. haemat.* No: 38, part 2, P. 868-872 (Karger Basel 1971).
3. Cohn, E. J., Strong L. F., Hughes W. L., Mulford JR. D. J., Ashworth J. N., Melin M. and Taylor H. L. Preparation and properties of serum and plasma protein. IV, A system for the separation into fractions of the proteih and Lipoprotein component of Biological tissues and fluids. *J. Amer. Chemical Soc.* 8:459-475, 1946.
4. Cuatrecasas P. & Anfinsen C.B. Affinity chromatography. *Ann. Rev. Bioch.* 40:259-278. (1971).
5. Horejsi A., & Smetana R. The isolation of & globulin by rivanol. *Acta Medica Scand.* 155:65(1967).
6. Heide K., & Haupt H. Darstellung nach nicht thrapeutisch angewandter plasma-protein. *Behringwerk-Mitteil.* 161 (1964).
7. Miller K.D. Rivanol resin and the isolation of thrombin. *Nature* 184:450 (1959),
8. Nitschmann H., Kistler P., & Lergier W. Vereinfachtes verfahren zur gewinnung van humanen albumin und Gamma-globulin au blut-plasma mittel alkoholfailung, *Helv, Chim. Acta.* 1954, 37,867.

9. Polson A., & Ruiz - Brava C. Fractionation of plasma with polyethylen glycol Vox Sang. 23:107\_108 (1972).
10. Schultz H.E., Schonenberger M. & Matheka H. J. Zurkenntnis der Gammaglobuline und antitoxischen immunoglobuline. Behringwerk-Mitteilungen, 1952 26,21.
11. Steinbuch M. Les technique d'isolement de l'haptoglobin. Nouv. Rev. Franç. Hémat. 2:448(1962).
12. Steinbuch M. & Audran. R. Technique de purification des immuno - globulines. Transfusion 1965, 8' No: 2
13. Steinbuch M. Précipitation methodes in plasma Fractionation. Vox Sang 23:92.106 (1972).
14. Steinbuch M. & Blatrix C. Preparation de l' $\alpha$ -macroglobuline comme Sous-produit du fractinnement Rev. Franç Transfusion. 13;131 (1973).
15. Steinbuch M & Pejaudier L. The behaviour of haptoglobin during routin fractionation. Nature 184; 362(1959).
16. Steinbuch M. & Quentin M. Preparation of ceruloplasmin. Nature 183:323(1958).
17. Utilisation dese immunoglobulines humains. OMS. Ser. Rapp. Tech. NO: 327(1966).
18. Wickerhauser M. Large scale preparation of prothrombin complex for clinical use. 13th Cong, Hematology, Munich 1970.