" بررسی روش اولترافیلتراسیون برای انسولین آزاد سـرم "

دکتر اسماعیل علمی اخونی* ـ دکتر محمود دوستی* ـ دکتر ناصر خواجوی**

خلاصه:

از آنجائی که انسولین های مورد استفاده درکنترل قندخون (دیابت‌قندی)وابسته‌به انسولین اکثرا " ازنوع‌خوکی یا گاوی میباشندبدن بیماران در مقابل آنها به تولید آنتی‌ـ بادی پرداخته که این آنتی بادیها به انسولین متصل شده و بامانعت از عمل آن باعث کاهش مقدار انسولین فعال در بدن بیماران می‌شوند (هوع)، بنابراین اندازه گیری میزان انسولین‌آزاد و فعال ضروری بوده و چون به‌علت‌وجودآنتی‌ـ بادیها اندازه گیری انسولین تام درسرم این بیماران به‌روش رادیوایمونواسی (RIA) میزان دقیق انسولین‌فعال را مشخص نمی‌کند . بنابراین ابتداء انسولین فعال از آنتی بادیها به روش اولترافیلتراسیون جدا شده و حاصل فیلتراسیون به‌روش (RIA) اندازه گیری گردید . جهت کنترل C-Peptide نیز اندازه گیری شده ونتایج نشان داد که ملکولهای کوچک مثل C-Peptide براحتی از غشاء عبور کرده و دچارهیچ مشکلی نشدند،ولی انسولین در عبور از غشاء دچار تغییراتی شده که آنهم به علت اشکال فضائی گوناگونی است که بخود میگیردو یاعواملی مانندحرارت و کیسه دیالیزءزمان‌سانتریفوژ و ترکیبات یونی محیط ، pHمحیط و غیره،درایجاداین‌مشکل موءثر می‌باشند .تصور می‌شود با رفع اشکالات مزبور این‌روش با ارزش بوده وکمکی در حل مشکلات باشد .

مقدمه:

با ورود انسولین درسال ۱۹۲۱به کلینیک‌و استفاده وسیع جهانی از آن در درمان بیماری دیابت ،اهمیت‌حیاتی آن آشکار گردیده است . بیماری دیابت به دو نوع وابسته‌به انسولین و غیر وابسته به انسولین تقسیم می‌شود.در نوع وابسته به انسولین بیماران برای کنترل قند خون احتیاج به تزریق انسولین دارند (۹) از آنجائی که انسولین هائی که فعلا " مورد استفاده قرار میگیرد اکثرا " از نوع خوکی یاگاوی می‌باشندوبا توجه به‌اینکه در ردیف اسیدهای آمینه بـا انسولین انسانی متفاوت هستند بدن این بیماران برعلیه این انسولین ها به تولید آنتی بادی می‌پردازدکه‌این‌آنتی‌ـ بادیها اکثرا " از نوع IgA می‌باشند . این آنتی بادی هابه انسولین متصل شده و مانع از عمل آن بر روی رسپتورها می‌شود .بنابراین میزان انسولین فعال در بدن این بیماران کاسته می‌شود .البته این کاهش میزان انسولین فعال درکلیه بیماران قابل ملاحظه نیست ولی آنچه که مسلم اسـت هیپوگلیسمی مشاهده شده دراین بیماران به آزاد شـدن انسولین‌از این مخازن نسبت داده‌میشود (۱۱) .

و امادر مواردی میزان آنتی بادی در بدن بیماران افزایش یافته و در نتیجه هیپوگلیسمی دراین افراد به وجودمی‌آید (۱۱) . بنابراین نیازمند اندازه گیری میزان انسولین فعال

* ـ استادیاران گروه بیوشیمی دانشکدهٔ علوم پزشکی تهران .

** ـ فارغ التحصیل دانشکده داروسازی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

آزاد می‌باشد تا شاید بتوان از طریق تعویض نوع انسولین از بروز چنین اشکالاتی جلوگیری بعمل آورد . این آنتی بادی‌ها در اندازه گیری دقیق انسولین تام سرم بیماران مزبور بـــه روش رادیوایمونواسی (RIA) ، (۲ و ۷) ایجاد مانع می‌نماید، در نتیجه میزان انسولین که واقعا " در سرم آنها بطور فعال وجود دارد مشخص نمی‌گردد ، در سالهای اخیر روشهای متعددی برای جدا کردن آنتی بادیهای انسولین و کمپلکس آنتی بادی ــ انسولین پیشنهاد شده که عبارتند از استفاده از ستون سفادکس ــ عمل اولتراسانتریفیکاسیون و روشهای دیگر و اما روشی که دراین مقاله ارائه میشود روش اولترافیلتراسیون میباشد . این روش برای جدا کردن ملکولهای کوچـک از ماکروملکولها انجام می‌شود و همچنین روش بسیار ساده و ارزانی است و تاکنون در مورد انسولین انجام نشده است . مبنای کاربراساس عبور ملکولهای کوچک انسولین از غشاء لوله های دیالیزی (سلوفان) می‌باشد که ملکولهائـی وزن ۱۵/۰۰۰ از آن عبور می‌نماید . بنابراین ملکول انسولین با وزن ۵۷۳۴ ازآن عبور کرده و کمپلکس آنتی بادی ــ انسولین و یا آنتی بادیهای انسولینی که وزن ملکولی بالاتری رادارند از آن خارج نمی‌شوند، درنتیجه انسولینی که فیلتره خواهد شد بعنوان انسولین آزاد خواهد بود . ابتداء این روش بر روی اشخاص سالم انجام گرفت تا معلوم شودکه آیا ملکول انسولین در عبور از کیسه دیالیز دچار مشکلاتی میشود یا خیر .

روش های مورد استفاده برای اندازه گیری انسولین آزاد .

تاکنون روش های متفاوتی برای اندازه گیری انسولین آزاد ابداع شده است ، اما این روش ها بطور کامل جوابگوی نیازها نبوده و هر کدام بنوبه خود دارای معایبی می‌باشند . این روش ها عبارتند از استفاده از ستون سفادکس و رسوب دادن با پلی اتیلن گلیکول، روشی که دراین مقاله از آن مورد استفاده قرار گرفته است عبارت است از اولترافیلتراسیون که به شرح کامل آن می‌پردازیم .

اساس روش اولترافیلتراسیون :

در سالهای اخیر روشهای متعددی برای جدا کردن آنتی بادی های انسولین وآنتی بادی‌های متصل به انسولین پیشنهاد و ابداع شده است روش جدیدی که معرفی میشود براساس جداساختن ملکول انسولین ازماکروملکولها وپروتئین‌های حجیم خون بوده که این بمنظور بکارگیری اولترافیلتراسیون با کیسه دیالیز بانجام میرسد (۴) ، دراین روش از لوله سلوفان (کیسه دیالیز) استفاده شده است . کیسه سلوفان دارای منافذی است‌که می‌تواند ملکولهای با وزن کمتر از ۱۵/۰۰۰۰ را از خود عبور دهد . بنابراین ملکول انسولین باوزن ملکولی ۵۷۳۴ براحتی ازاین غشاء عبور کرده و درمایع فیلتره وارد میشود . اما کمپلکس انسولین ــ آنتی بـــادی (Ins-IgG) که وزن ملکولی بالاتری دارد از غشاء عبور نمی‌نماید . بنابراین توسط این روش انسولین فعال یا آزاد از آن جدا خواهد شد (۱۰،۱۱و۱۲) در افراد سالم چون انسولین در حالت ناشتا حدود ۱۰واحد در میلی لیتربوده و اگر دراین بررسی پس از صرف غذاانجام گیرد یقینا "میزان انسولین مستقیما " تحت تاءثیر نوع غذا تغییراتی حاصل می‌نماید، لذا آزمایش تحمل گلوکز نیز انجام میگرفت تایک نمودار برای انسولین و نمودار دیگری برای گلوکز خون تهیه گردد . به این ترتیب غلظت های متفاوتی ازانسولین حاصل میگرددکه انجام اولترافیلتراسیون را در غلظت‌های متفاوت انسولین میسر میسازد . با توجه باینکه احتمالا " انسولین در شخص سالم به شکل مونومربوده اولترافیلتراسیون انجام گرفت وسپس مقدارانسولین درسرم ومایع حاصل ازاولترافیلتراسیون به روش رادیوایمونواسی (RIA) اندازه گیری شدند بمنظور کنترل و همزمان با اندازه‌گیری انسولین مقدار C-Peptide نیز در نمونه های مذکور تعیین گردید . بطور کلی روش کار در چندین مرحله بشرح زیر انجام میگرفت :

لوله های دیالیز (۱) را که در یخچال و درحرارت ۴ و در داخل کیسه پلاستیکی نگهداری شده‌اند بطول های ۱۲ سانتی‌متری بریده و در داخل آب مقطر بمدت یک شب یا بیشتر خیسانده میشوند ، سپس فرد مورد آزمایش بمنظور انجام آزمایش تحمل گلوکز انتخاب نموده و به ازاء هرکیلوگرم وزن بدن یک گرم گلوکز خالص (۳) را وزن و آنرادر آب خنک حل کرده و درصورت امکان برای مطبوع نمودن آن چندقطره آبلیموبه آن اضافه و به بیمارخورانده میشودو برای برداشتن گلیسیرین که بعنوان مرطوب کننده در روی لوله ها قرار داده شده است لوله های دیالیز را چندین بار با آب مقطر شسته وبرای برداشتن ریشه‌های سولفور ابتداء کیسه هارا با محلول (۰/۳W/V %) بیکربنات بمدت یک دقیقه در داخل آب جوش قرارداده سپس با آب داغ بمدت دودقیقه شسته و بلافاصله

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

با محلول ۰/۲٪ اسید سولفوریک اسیدی نموده و آنگاه با آب داغ لوله ها را شستشو داده تا اسید ذایل شود .

بمنظور انتقال سرمها بداخل لوله های دیالیزابتداء لوله های دیالیز خیس شده را با دستمال کاغذی با دقت از آب عاری نموده و سپس یک انتهای آن گره زده می‌شونـد . برای جمع آوری مایع فیلتره از لوله های شیشه‌ای استوانه ای شکل به حجم ۱۲سانتی متر مکعب استفاده میگردیدنددداخل لوله های دیالیز۱/۵ تا ۲ سانتی متر مکعب از سرمهای آماده ریخته سپس لوله های دیالیز را بشکلی داخل سرم آزمایش قرار میدهیم که دو انتهای گره خورده آن در خارج لوله قرار گرفته ولوله مزبوربوسیله درپوش لاستیکی‌مسدود میگردیدند .

در آخرین لوله های حاوی کیسه دیالیز رابمدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ سانتریفوژ کرده‌و مایع فیلتره را در منهای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری میشود .

نتیجه :

همانطور که در اساس روش اولترافیلتراسیون گفته‌شد مولکول انسولین بدلیل کوچکی وکمی وزن مولکولی از غشاء سلوفان که میتواند مولکولهای باوزن ۱۰/۰۰۰ را از خود عبور دهد ، تحت فشار حاصل از سانتریفوژ با دور ۲۵۰۰ بایستی ازغشاء عبور نماید .

با انجام آزمایش تحمل گلوکز در مورد اشخاص سالم منحنی و جدول مربوطه نشان میدهد که همزمان با افزایش قند خون ، سیر صعودی برای انسولین نیز ملاحظه‌می‌شود که این افزایش نسبی انسولین طبیعی است (شکل ۱) .

با انجام اولترافیلتراسیون درموردهرکدام ازسرمهای اخذ شده در زمانهای مربوطه ، جدول حاصل (جدول شماره ۱) نشان میدهدکه مطابق باتئوری (اینکه بایستی مولکولهای باوزن ۱۰/۰۰۰ از منافذعبورنمایند) و پیش فرض اساسی این روش ، مقادیر انسولینی که فیلتره میشود متناسب با افزایش غلظت انسولین موجود در سرم نبوده‌و ناهماهنگی را نشان میدهد .

اما اینکه انتظار در مورد فیلتراسیون کامل انسولین برآورده نمیشود سئوالی را پیش می‌آورد بدین عنوان‌که آیا انسولین در سرم بشکل منومر یاپلیمراست ؟ مطابق باتئوری اساسی روش ، بایستی قسمتی از انسولین که بشکل منومـــــر می‌باشد ،از کیسه دیالیزعبور نموده و دراین صورت‌می‌بایستی یک نسبت معقول و مشخصی بین انسولین سرم و مایع فیلتره

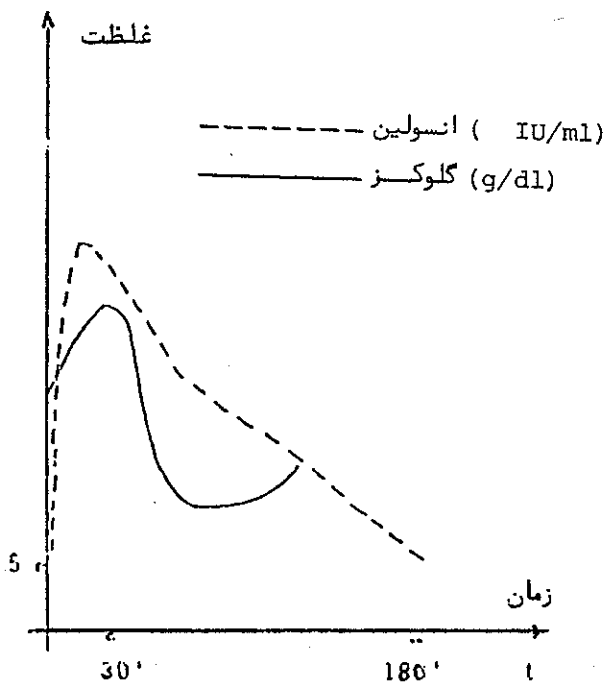
جدول شماره ۱–۱

	زمانهای نمونه گیری با مبداء صفر (ناشتا)				
	۰	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
انسولین سرم	۵/۲۸	۵۳/۶	۲۳	۱۴/۹	۶/۵۲
انسولین فیلتره سرم	—	۷/۵۰	۴/۰۶	۰/۸۳	۰
درصد فیلتراسیون	—	۱۳/۹	۱۷/۶	۵/۹	—
قند خون	۸۰	۹۳	۶۲	۶۷	۸۰

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

وجودداشته باشد .که درغیر اینصورت این عمل پلیمریزاسیون درحین انجام تکنیک ایجاد شده ،بدین معنی که تصورمیشود مولکولهای انسولین درحین انجام اولترافیلتراسیون پلیمریزه شده باشد . با توجه به نتایج بدست آمده از جدول شماره (۱) بنظر رسیدکه شاید اگر انسولین از یک صافی عبورنماید ممکن است این عبور باعث تغییر ساختمان آن گردد . که این تغییر بصورت پلیمریزاسیون در هنگام عبور ظاهر شود و اگر این تغییر بوجود نیاید بایستی صددرصد از این صافی عبور نماید . دراین صورت صافی های طبیعی بدن را در نظـــر گرفته واز مایعات بیولوژیکی نمونه تهیه می‌شود .برای ارزیابی و توجیه مطلب فوق در تست های جدید تحمل گلوکز که درباره اشخاص انجام میشود ، بزاق حاصل از غدد مترشحه خارجی که یک صافی طبیعی است ومایع فیلتره طبیعی بدن (ادرار) در نظر گرفته می‌شود .

بنابراین در نمونه گیری های بعدی ، همزمان با زمانهای نمونه گیری خون ، از بزاق و ادرار نیز نمونه‌گیری بعمل آمد .



نتایج بدست آمده نشان میدهد فیلتراسیونی که از غدد بزاقی بدست آمده میزان انسولین افزایش یافته امادر فیلتراسیونی که ازگلومرولها تهیه شده میزان انسولین کاهش یافته است که این کاهش با نظم مرتبی انجام نمی‌گیرد . و نسبت معقولی بین درصدهای فیلتره شده برای ادرار وفیلتره شده ازوراء سلوفان دیده نمیشود .بنابراین مسئله پلیمریزاسیون درحین عبورمطرح نبوده ونمی‌تواند بیانگر تغییرات نامتعادل موجود درنتایج شود .

جهت کنترل و بررسی اینکه آیا مولکولهای کوچک دیگری که از غشاء عبور نمایند تغییراتی را متحمل میشوند یا خیر؟ از C-Peptide نیز در مایع فیلتره اندازه‌گیری بعمل آمد این مولکول تغییرات متعادل خود را که متناسب با مقادیر C-Peptide موجود در سرم می‌باشد دنبال مینماید . بنابراین ، این مولکول با داشتن ۳۱ اسید آمینه در عبوراز کیسه دیالیز دچارتغییراتی نمیشود ،و لیکن میزان مقادیرفیلتره شده در حدود مقادیری است که در سرم بوده . و البته در این مورد برخلاف انتظار است چرا که با توجه به اینکه در سرم ،پروتئین های پلاسمائی حجم زیادی رااشغال می‌نمایند ،بنابراین مولکولهای کوچکی مانند C-Peptide که از غشاء سلوفان عبور نمایند منطقا" بایستی غلظت آنها در اولترافیلتره بالاتر از غلظت این مولکول هادر سرم بوده باشد .

بعبارت دیگر بایستی شاهد یک حالت تغلیظ شدن در مورد C-Peptide بوده وعلت اینکه چنین تغلیـــظ شدنی را دراین مورد مشاهده نمی‌کنیم شاید به این علت باشد که کیسه های دیالیز بخوبی خشک نشده و مقداری از آبی که به کیسه ها چسبیده است در اولترافیلتره وارد شده و موجب رقیق شدن آن شده است . بنابراین بنظر میرســـد مولکول C-Peptide در عبور از غشاء تغییراتی را متحمل نمیشود و تقریبا "به همان صورت در اولترافیلتره وارد میشود . بنابراین مولکولهائی شبیه به انسولین که وزن مولکولی کمتری را دارند درعبور از غشاء مشکلی نداشته باشند . لذا احتمال پلیمریزاسیون دراین موارد برای مولکولهای کوچک درعبور از غشاء بعید بنظر میرسد و احتمالا" مقداری از انسولیـــن بشکل پلیمر ومقداری بشکل منومر وجودداشته باشد ، که‌منومر آن بسادگی ازغدد بزاقی و گلومرولها و کیسه دیالیز عبور نموده ، برای توجیه و ارزیابی این مطلب در مورد نمونه‌های

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

بعدی ادرارو فیلتره حاصل‌از سرم را فیلتراسیون مجددانجام گرفت که انتظارمیرفت مطابق با پیش فرض‌عنوان شده‌بایستی تمام مقادیرانسولین موجود در فیلتر اول از کیسه دیالیزعبور نماید و در فیلتراسیون دوم بازیابی شود. ولی باز ملاحظه میشود که دراولترافیلتراسیون‌دوم میزان انسولین‌بازهم کاهش یافته است. بنابراین عوامل دیگری در ارتباط با تکنیک آزمایش روی انسولین اثر می‌گذارد مثلا" ممکن است حرارت حاصل از چرخش با دور زیاد،و مدت طولانی سانتریفوژ در نتیجه آزمایش موثر باشد. عامل دیگر خود کیسه دیالیز می‌تواند باشد به این ترتیب که گلیسیرینی که بعنوان مرطوب کننده در آن بکار برده شده است عاملی در ممانعت از عبور انسولین از غشاء باشد و یا اینکه ریشه های سولفوری که بر روی کیسه دیالیز قراردارد بطورکامل باجوشاندن دربیکربنات از آن جدانشده و درنتیجه با انسولین پیوند حاصل‌می‌نماید و موجب میشود که انسولین بر روی غشاء باقی مانده و قابل عبور از آن نباشد. بیماران دیابتی نیز مشاهده بشوند برای اینکه نتایج حاصل از اولترافیلتراسیون را در مورد اینکه آیا مقادیری‌ازانسولین که فیلتراسیون‌نمایند مربوط به انسولین فعال در بدن این بیماران بوده و بالنتیجه از روی درصد فیلتراسیون ارزیابی در مورد شکل مولکولی انسولین در، بیماران دیابتی و نیز شکل فعال آنرا بدست‌آورده و اینکه همچنین شرایط فیزیولوژیکی لازم که برای این بیماران حکمفرما است آیا در میزان فیلتراسیون دخالت دارد یا خیر مورد مطالعه قرار گیزد برای این‌منظور ۳ بیمار دیابتی رامورد آزمایش قرار داده شد در زمانهای صفر، نیم و یک ساعت و یک ساعت و نیم پس از ناشتا از بیماران خون وادرار گرفته شد. میزان قند خون و ادرار، گرفته شد میزان قند خون این بیماران در مقایسه با افراد طبیعی بسیار افزایش یافته‌است. و نیز با مقایسه‌مقادیر انسولین این بیماران و افراد سالم ملاحظه می‌شودکه میزان انسولین ترشح شده در زمانهای مختلف.G.T.T در بیماران مقادیر کمتری را داراهستند.

اولترافیلتراسیون درمورد سرمهای این بیماران‌نیز انجام‌گرفت و مشاهده شد که میزان فیلتراسیون در مورداین بیماران نیزتغییرات‌نامتعادل وغیرمنطقی داردوفیلتراسیون کلیوی نیز همین وضع را دارا می‌باشد. بنابراین با توجه باینکه نتایج مذکور شبیه به حالت افراد طبیعی بوده بطور کلی نتیجه‌گیری نهایی رادر موردافرادطبیعی عنوان‌می‌شود و در نهایت این نتیجه گیری را در مورد افراد دیابتی نیز می‌توان تعمیم داد.

با وجود این امید است که درآینده پژوهشگران، بیماران دیابتی‌را با توجه به شرایط فیزیولوژیکی‌آنهاوکنترل شرایط‌آزمایشگاهی مستقلا" مورد آزمایش قرار داده و حالت دینامیکی انسولین را دراین بیماران بیشتر آشکار سازند تا ازاین رهنورد کنترل قند خون این‌بیماران باشرایط سهلتری صورت گیرد.

همانطوریکه ذکر شد مسئله‌پلیمرایزاسیون در حین عبور برای مولکولهای کوچک مانند C-Peptide مطرح نیست بنابراین باتوجه به این مسئله ونیز پیش فرض اساسی روش‌اولترافیلتراسیون انتظار میرودکه غلظت‌انسولین‌درسرم درمیزان فیلتراسیون تاءثیری نگذارد. اگر مقادیر غلظتهای متفاوت انسولین‌که در زمانهای‌گوناگون‌تست G.T.T بدست می‌آید بر روی محور افقی (Xها)منتقل کنیم و در مقابل درصد فیلتراسیون را بر روی محور عمودی (Yها) انتقال دهیم، پراکندگی نقاطی به شکل ۲ ظاهر میشود. همانطورکه درشکل دیده میشودمیزان فیلتراسیون در غلظت های‌پائین انسولین از نسبت بالائی برخوردار هست (۷۸ــ ۳۵%) و با پیشرفت غلظت انسولین‌از میزان فیلتراسیون کاسته میشود (۱۰ــ ۳%) با توجه به مطالب عنوان شده در قسمتهای‌قبل تصورمیشود که در غلظتهای پائین انسولینی که ازگرانولهای آماده درجزایر بتاترشح میشودو یا مقادیری‌که پس از تجزیه بافتی انسولین در خون جهت حفظ حالت نرمال آن باقی می‌ماند بصورت منومر هست و به همین دلیل میزان بازیابی در غلظتهای پائین بیشتر است و اما با بالا رفتن غلظت انسولین در سرم احتمالا" اتفاقی که می‌افتد پلیمریزاسیون انسولین بصورت دیمر و هگزامرها با یون روی (Zn) میباشد. یعنی احتمالا" در غلظتهای بالا قسمتی ازانسولین بصورت پلیمر و قسمت دیگر بصورت منومر هست و طبق این احتمال همانگونه که ذکر شد منومرآن بایستی صددرصد از غشاءلوله دیالیزعبورکندو دراین‌صورت‌بایستی‌درفیلتراسیون مجدد بطورکامل بازیابی شود که این امر همانطوریکه نتایج نشان داد با عدم موفقیت همراه بود که بیانگرنقص تکنیکی متداولترافیلتراسیون و شرایط موءثر در آزمایش (کیسه دیالیز، حرارت، زمان، تغییرات‌و محیط یونی و. . . .)بود بنابراین احتمالا" هم عامل پلیمریزاسیون فیزیولوژیکی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

انسولین در خون و هم نقص تکنیکی متد عواملی هستند که موجب میشود میزان درصدفیلتراسیون در غلظتهای بالا کمتر شود .

امابرای ارزیابی دقیق اثر غلظت درمیزان فیلتراسیون پیشنهاد میشود که گامهای معینی با غلظتهای متفاوتی از انسولین که حاوی هیچ حامل دیگر نبوده و کاملا " آمورف میباشـــد (انسولین تهیه شود ، اولترافیلتراسیون در طی این گامهـا انجام گیرد) .

امید است پژوهش های بعد اثر عوامل تکنیکی موثر در عدم دقت روش اولترافیلتراسیون دراندازه گیری انسولین آزاد را آشکار ساخته و یا مرتفع ساختن آنها گام با ارزشی در عرضه این متد ساده و مهم به انجام رساند .

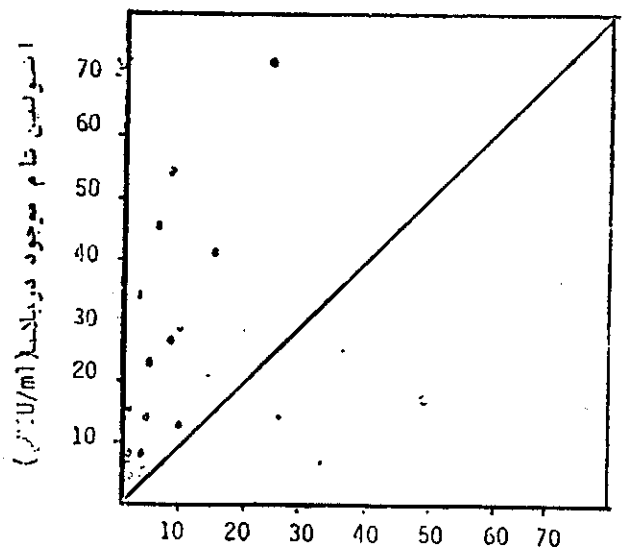
بحـــث :

بنابراین درنهایت برای ارزیابی روش ارائه شـده برای اندازه گیری انسولین آزاد موجود در سرم که تکنیـک بسیار ساده و ارزانی است اگر انسولینی که فیلتره میشود بعنوان انسولین آزادو فعال درنظرگرفته شود و مقادیرحاصل از اندازه گیری آنرا در مقابل انسولین تام موجود در سرم رسم شود .

شکـــل شماره ۲ بدست می‌آید ، تغییری که براین منحنی می‌توان گذاشت بدین ترتیب است که مقادیر موجود در فیلتره بسیارکمتراز انسولین تام بوده که می‌تواندبدلایل ذکر شده ، باشد .

به هرحال حالت ایده آل و طبیعی این خواهدبود که نقاط به سمت خطی که از مبداء می‌گذرد تمایل پیدا کنند و دراین صورت میتوان گفت که تکنیک قابل عرضه برای اندازه‌گیری انسولین آزاد درسرم اشخاص و بیماران دیابتی که ازانسولین برای درمان استفاده میکنند باشد .

همانطورکه ملاحظه میشود این روش فعلا " بـرای اندازه گیری انسولین آزاد متناسب ، نمیباشد و پیچیدگـی ملکول را از نظر ساختمانی و خصوصیاتی معلوم نمی‌کند .در صورتیکه این مولکول بصورت ساده در کتابها ملاحظه میشود ولی این مولکول تحت شرایط مختلف آزمایشی میتواند از لحاظ شکل تغییر نماید . احتمالا " باین صورت که در هنگام اولترافیلتراسیون تحت اثر فشار، حرارت ، ترکیبات یونـی محیط، pH محیط، شکـــل هـــای مختلف بخود بگیرد که با تغییرشکل فضایی سه بعدی مولکول همراه است که این تغییر شکل بصورت گسترش و انبساط مولکولی (Expeanded) همراه باشد و یا اینکه بصورت پلیمرهای گوناگون و اشکال



شکل ۲ ــ انسولین آزاد یا فیلتـــره شـــــده (IU/ml)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

پیوندی واسط و متفاوت بصورت کمپلکس با پروتئینهای داخل سرم و یا وسایل مربوطه (کیسه دیالیز و . . .) درآید .

همانطور که ملاحظه‌میشود روش عرضه شده بسیار ساده و ارزان است و برای مولکولهای کوچک مورد استفاده است . بنابراین با توجه به پیچیدگی مولکول انسولین آیا می‌توان باتغییر غلظت یونی ، یونهای موثر در پلیمریزاسیون انسولین و پارامترهای آزمایشگاهی ، بخصوص شرایط انجام یافته در مورداولترافیلتراسیون ازتغییرشکل مولکولی‌انسولین به آن صورتی که واقعا " در خون وجود دارد جلوگیری کرد ؟ لذا اگر اشکالات برطرف شده و شرایط مطلوب بدست آید کار بسیار با ارزشی خواهد بود .

نتیجتا " تحقیقات بیشتر و وسیعتری لازم هست تا قبل از اینکه روشهای مختلف‌اندازه گیری انسولین آزادابداع شود حالت دینامیکی انسولین در خون رابررسی کرده و با مطالعه بیشتر شرایط لازم برای تثبیت نمودن‌مولکول انسولین انجام پذیرد .

REFERENCES

1. Asplin CM., Goldie, D.J; Hartog, M.: The Measurement of Serum free Insulin by Steady-State gelifiltration. Clin. Chim. Acta, 1966, 75: 393-399.
2. Desbuquoio B., Aurbach G.D., Use of Polyethylene Glycol to Separate Free and antibody Bound Peptide hormones in Radio Immuno Assays. J. Clin. Endocrinol, 1961, 33: 139-8.
3. Nakagawa, S., Nakayama H.Sasaki T. et al. A simple method fot the determination of Serum free insulin levels in Insulin-Treadted Patients. Diabetes 1973; 22: 590-600.
4. Peluso, U, Dean B., Harrison LC. Separation of Free and Antibody-Bound Insulin in Plasma Using a bench Ultraventrifuge (Bekman Airfuge). Clin. Chim. Acta. 1984, 139: 317-370.
5. Luis J. Escobar, Neil H. White, Julio V. Santiago and Ronald L. Ginerich. Clinca. Chimica Acta, 1985; 152: 11-15.
6. Heding L.G. Horm. Netab. Res., 1969; 1:154-6.
7. Jonsson S., Kronwall G. Theuse of Protein A-Containg Staphylococcus aureus as a Solid phase anti-IgG regent in radio immuno assays. Eur. J. Immunol. 1974; 4: 29-33.
8. Martin FR, Russell J. A simple method for determining Plasma insulin in the presemce of endogenous insulin antiboides. Diabetologia 1974; 10: 93-96.
9. Harper's Review of Biochemistry", 1985.
10. Fanlk MR., Karam, JH, Funderberg HN. Human anti-insulin antibodies. J. Immunol 1971; 106:1112-6.
11. Harwood R. Insulin-Binding antibodies and Spanta neous hypoglcemia, N. Engl J. Med, 1960; 262: 978 978-9.
12. Walford S. Allisun Sp., Reves WG. The effect of Insulin antibodies on Insulin dose and diabetic control. Diabetologia, 1982 : 22: 106-110.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]