

روش اندازه‌گیری انسولین در خون

دکتر احمد رضوانی*

مجله علمی نظام پزشکی

شماره ۶، صفحه ۴۷۱، ۱۳۴۹

گرچه تحقیقات در زمینه پاتوژنی دیابت بایستی از جنبه‌های مختلف صورت گیرد، معیّن مقدار دقیق انسولین در خون و آگاهی از تغییرات آن میتواند برای تشخیص این بیماری بویژه در مراحل اولیه آن راهنمایی خوبی باشد.

برای آنکه بتوان این اندازه‌گیری را بطور دقیق انجام داد باید مسائل زیر مورد توجه قرار گیرد:

۱- آیا روش انتخاب شده باندازه کافی دقیق است؟

۲- آیا این دقت برای آزمایش مورد نظر کفایت میکند؟

۳- آیا ممکن است عوامل شناخته یا ناشناخته دیگری در اندازه‌گیری دخالت کند؟

۴- آیا روش اندازه‌گیری جنبه اختصاصی دارد؟

مسائل و اشکالات مذکور در فوق سبب شده است که طی بیش از ۴۵ سال بعد از کشف انسولین روشهای مختلفی برای تعیین مقدار آن پیشنهاد گردد که بطور کلی میتوان آنها را بدو دسته بیولوژیک و ایمونولوژیک تقسیم کرد.

اندازه‌گیری بطریق بیولوژیک

الف: ایجاد هیپو گلیسمی در خرگوش.

این روش در حقیقت مبنای تعیین واحد برای انسولین بوده و روش انتخابی مذکور در فارماکوپه‌های بین‌المللی است بدین معنی که از روی تقلیل مقدار قند خون خرگوش میتوان مقدار انسولین را بطریق بیولوژیک اندازه گرفت. واحد انسولین کریستال که بدین طریق بدست می‌آید عبارت از مقدار انسولینی است که بتواند قند خون خرگوشی بوزن ۲ کیلوگرم را که مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه داشته شده، ظرف ۳ ساعت به ۴۵ میلی‌گرم

درصد تقلیل دهد. این روش همانطور که در بالا نیز ذکر شد بیشتر برای تعیین واحد مورد استفاده قرار میگیرد و در حقیقت جنبه تجارّتی دارد.

ب: ایجاد تشنج در موش.

مشاهده تشنج در موش بعد از تزریق انسولین استخراج شده از خون نمیتواند روش دقیقی برای تعیین مقدار این هورمون باشد. برای آنکه این روش دقیق باشد لازمست قبلاً غده فوق کلیوی و هیپوفیز حیوان را از بدن خارج نمایند. Bronstein و Lawrance بعدها باین نتیجه رسیده‌اند که انجام آزمایش بطریق ذکر شده (In-Vivo) با در نظر گرفتن کلیه جوانب امر، روش دقیقی نیست و به همین علت خود آنها روش زیر را که خارج از بدن (In-Vitro) انجام میگیرد پیشنهاد نمودند.

پ: روش In-Vitro

اساس این آزمایش بر مبنای مجاورت گلوکز و انسولین با انسج چربی (مجاری اپیدیدیم موش صحرائی) و یا انسج عضلانی (عضله دیافراگم موش صحرائی) و تعیین مقدار مصرف گلوکز، قرار دارد. بدین معنی که میزان مصرف گلوکز میتواند مقدار حقیقی انسولین موجود در محیط را نشان دهد. این روش در صورتی که با استفاده از گلوکز نشان‌دار (مارک) C^{14} انجام گردد دقیقتر است چون گلوکز پس از تجزیه بصورت CO_2 در می‌آید که این CO_2 نشان‌دار بوده و بخوبی قابل اندازه‌گیری است.

روش اخیر برای اندازه‌گیری بیولوژیک انسولین بویژه در کارهای فارماکولوژیک، نسبتاً حساس است ولی به این طریق انسولین تنها تعیین مقدار نمیشود بلکه در حقیقت فعالیت انسولین-ILA = Insulin like activity را اندازه میگیرند.

* بخش طب تجربی و فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران

روش ایمونولوژیک

اساس این آزمایش بر مبنای واکنش آنتی ژن-آنتی کور قرار دارد و در حقیقت انسولین نشان دار با I^{131} از نظر ترکیب با آنتی کور، با انسولین موجود در سرم رقابت میکند. آنتی ژن، انسولین گاو و یا خوک است و آنتی کور ماده ایست که پس از تزریق انسولین به خو کچه هندی از خون این حیوان استخراج میگردد. بعنوان شاهد نیز از انسولینی که با I^{131} نشاندار شده است استفاده میشود. در موقع آزمایش، با رقیق کردن تدریجی، مقدار ایزوتوپ را اندازه گیری کرده بر مبنای آن یک منحنی رسم میشود. بدیهی است هر چه مقدار انسولین نشاندار مصرف شده بیشتر باشد مقدار انسولین خون کمتر خواهد بود. این روش اولین بار توسط دو دانشمند آمریکایی بنامهای Berson و Yalow پیشنهاد شده و بعدها بوسیله دانشمندانی نظیر Melani در آن تغییراتی داده شده است و ولی در هر حال رعایت اصول زیر برای انجام دادن آزمایش ضرور است:

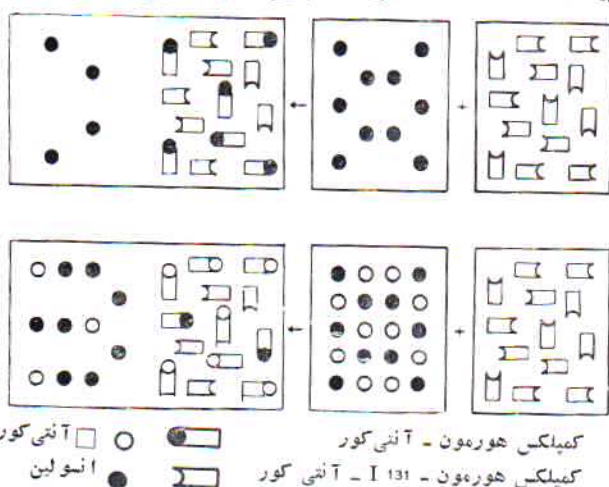
- جدا کردن و کریستالیزه نمودن انسولین و اندازه گیری دقیق قدرت آنتی ژن آن.

- امکان نشاندار کردن این انسولین بنحویکه قدرت آنتی ژن آن محفوظ بماند.

- در دست داشتن یک روش مناسب برای جدا کردن انسولین چسبیده به آنتی کور و انسولین آزاد.

خوشبختانه امروزه انسولین با آنتی کور آن و همچنین انسولین نشان دار با I^{131} بصورت حاضر برای مصرف از طرف مؤسسات مختلف تهیه میشود و کلیه این مواد استاندارد هستند.

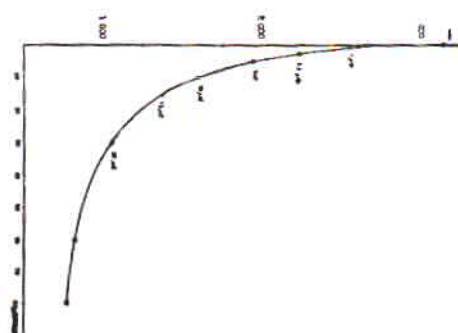
گرچه این آزمایش جنبه اختصاصی دارد، ولی اغلب در موقع اندازه گیری، Proinsulin نیز همراه انسولین اندازه گیری میشود. در این مورد Steiner پیشنهاد میکند که با افزودن آنزیمی بنام: Kunitz Pancreatic Trypsin Inhibitor (KPTI) میتوان از فعالیت Proinsulin جلوگیری کرد. با وجود این هنوز روش کاملاً دقیقی که بتواند proinsulin را کاملاً از محیط خارج نماید پیشنهاد نشده است. روش ایمونولوژیک - Radio immunoassay در حال حاضر دقیقترین روش اندازه گیری انسولین محسوب میشود. برای مثال میتوان گفت که اگر انسولین را به این طریق در خون افراد مبتلا به دیابت جوانی اندازه گیرند، اصلاً انسولینی بدست نخواهد آمد و یا اگر انسولین را به سرم انسان در لوله آزمایش بیافزایند دوباره میتوانند آنرا بهمان مقدار که اضافه کرده اند بدین وسیله تعیین مقدار کنند.

انسولین I^{131}

کمی انسولین میشود در حالی که آزمایش تحمل گلوکز از راه خوراکی انسولین بیشتری را ترشح میکند. همین امر باعث شده امروزه دانشمندان وجود موادی نظیر - Entero glucagon, Pancreozymin را در پانکراس دیابت مشخص کنند.

REFERENCES

- 1- Geerling H. Angel : Uber die Radio-immunologische Bestimmung von proteohormonen im Blut . Dtsch-med-Wschr 90,825 (1965)
- 2- Goetz : Concerning the validity of different methods for the assay of insulin in blood. On the nature and Treatment of diabetes, 181 (1965), Exerta medica foundation .
- 3- Steiner : Proinsulin and Insulin Biosynthesis (Pharmacokinetics and mode of action of oral hypoglycemic agents, III Capri Conference, 453 (1969).
- 4- Weinges: Neue Aspekte in der pathogenese des Diabetes Mellitus: Ärztliche Praxis 25.1151-1135-1158(1968)
- 5- Yalow, R. S. and Berson S. A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man J. Clin. Invest 39, 1157, (1960) .



منحنی استاندارد اندازه گیری بتاریق
Radioimmunoassay

با اندازه گیری دقیق مقدار انسولین امروزه میتوان عواملی را که در ترشح آن دخالت دارند تا اندازه ای مشخص نمود، مثلاً: انجام آزمایش تحمل گلوکز از راه وریدی باعث ترشح مقدار