

روش اندازگیری انسولین در خون

دکتر احمد رضوانی*

مجله علمی نظام پزشکی

شماره ۶، صفحه ۴۷۱-۱۳۴۹

درصد تقلیل دهد. این روش همانطور که در بالا نیز ذکر شد بیشتر برای تعیین واحد مورد استفاده قرار میگیرد و درحقیقت جنبه تجاری دارد.
ب: ایجاد تشنج درموش.

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 لازمت قبلاً غده فوق کلیوی و هیپوفیز حیوان را از بدن خارج نمایند. Bronstein و Lawrence بعدها باین نتیجه رسیده اند که انجام آزمایش بطریق ذکر شده (In-Vivo) با درنقل گرفتن کلیه جوانب امر، روش دقیقی نیست و به همین علت خود آنها روش ذیر 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 نسج چربی (محاری اپیدیمیم موش صحرائی) و یا نسج 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 نشان دار (مارکه C^{14}) انجام گردد دقیقتر است چون گلوکز پس از تجزیه به صورت CO_2 در میآید که این CO_2 نشان دار بوده و بخوبی قابل اندازه گیری است.

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

گرچه تحقیقات در زمینه پاتوژنی دیابت بایستی از جنبه های مختلف صورت گیرد، معهذا تعیین 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 اندازه گیری 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 اندازه گیری دخالت کند؟

۴- آیا روش اندازه گیری جنبه اختصاصی دارد؟
مسائل و اشکالات مذکور در فوق سبب شده است که طی بیش از ۵ سال بعد از کشف انسولین روشهای مختلفی برای تعیین مقدار آن پیشنهاد گردد که بطور کلی میتوان آنها را به دسته بیولوژیک و ایمونولوژیک تقسیم کرد.

اندازه گیری بطریق بیولوژیک

الف: ایجاد هیپو گلیسمی در خرگوش.

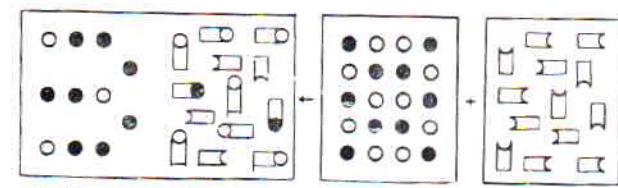
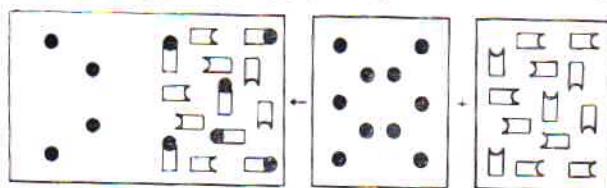
این روش در حقیقت مبنای تعیین واحد برای انسولین بوده و روش انتخابی مذکور در فارماکوپه های بین المللی است بدین معنی که از روی تقلیل مقدار قند خون خرگوش میتوان مقدار انسولین را بطریق بیولوژیک اندازه گرفت. واحد انسولین کریستال که بدین طریق بدست میآید عبارت از مقدار انسولینی است که بتواند قند خون خرگوشی بوزن ۲ کیلو گرم را که مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگهداشته شده، ظرف ۳ ساعت به ۴۵ میلی گرم

* بخش طب تجربی و فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران

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

خوب شناخته امروزه انسولین با آن قرور آن و همچنین انسولین نشان دار با I^{131} بصورت حاضر برای مصرف از طرف مؤسسات مختلف تهیه می شود و کلیه این مواد استاندارد هستند.

گرچه این آزمایش جنبه اختصاصی دارد، ولی اغلب در موقع اندازه گیری Proinsulin نیز همراه انسولین اندازه گیری می شود. در این مورد Steiner پیشنهاد می کند که با افزودن آنزیمی بنام Kunitz Pancreatic Trypsin Inhibitor (KPTI) میتوان از فعالیت Proinsulin جلو گیری کرد. با وجود این هنوز روش کاملاً دقیقی که بتواند proinsulin را کاملاً از محیط خارج نماید پیشنهاد نشده است. روش ایمونولوژیک - Radioimmunoassay در حال حاضر دقیقترین روش اندازه گیری انسولین محسوب می شود. 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 با اگر انسولین را به سرم انسان در لوله آزمایش بیافرایند دوباره میتوانند آنرا بهمان مقدار که اضافه کرده اند بدین وسیله تعیین مقدار کنند.



کمپلکس هورمون - آن قرور
کمپلکس هورمون - I^{131} - آن قرور
انسولین

کمی انسولین می شود در حالی که آزمایش تحمل گلوکز از راه خوراکی انسولین بیشتری را ترشح می کند. همین امر باعث شده است امروزه دانشمندان وجود موادی تغییر Enteroglucagon, Pancreozymin glucagon را در پاتوژنی دیابت مشخص کنند.

REFERENCES

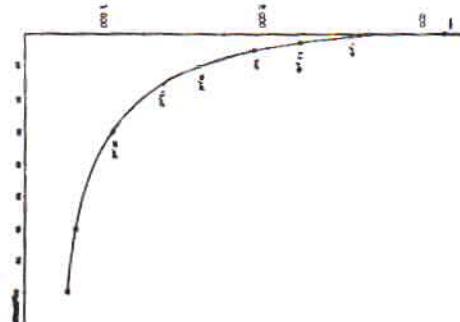
- 1- Geerling H. Angel : Über die Radio-immunologische Bestimmung von proteohormonen im Blut . Dtsch-med-Wschr 90,825 (1965).
- 2- Goetz : Concerning the validity of different methods for the assay of insulin in blood. On the nature and Treatment of diabetes, 181 (1965), Exerta medica foundation .
- 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 25.1151-1155(1968)
- 5- Yalow, R. S. and Berson S. A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man J. Clin. Invest 39, 1157, (1960) .

روش ایمونولوژیک

اساس این آزمایش بر مبنای واکنش آن قرور آن قرور در دارد و در حقیقت انسولین نشان دار با I^{131} از نظر قرور کیب با آن قرور کور، با انسولین موجود در سرم رقابت می کند. آن قرور انسولین گاو و بیا خوک است و آن قرور ماده است که پس از تزریق انسولین به خوکجه هندی از خون این حیوان استخراج می گردد. بعنوان شاهد نیز از انسولینی که با I^{131} نشان دار شده است استفاده می شود. در موقع آزمایش، بارگذاری کردن تدریجی، مقدار ایزوتاپ را اندازه گیری کرده بر مبنای آن یک منحنی رسم می شود. بدینهی است هر چه مقدار انسولین نشان دار مصرف شده بیشتر باشد مقدار دانشمند امریکائی بنامهای Yalow و Berson پیشنهاد شده و بعد از بوسیله دانشمندانی تغییر Melani در آن تغییراتی داده شده است، ولی در هر حال رعایت اصول زیر برای انجام دادن آزمایش ضرور است:

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

- امکان نشان دار کردن این انسولین بنحوی که قدرت آن قرور آن محفوظ بماند.



منحنی استاندارد اندازه گیری بارگذاری
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