

DOSAGGIO RADIOIMMUNOLOGICO DELL'INSULINA (IRI):
METODO DI CALCOLO CON ELABORATORE ELETTRONICO

ORESTE GHIDINI

RENATO BISTAFFA

ALBERTO MARABINI

ROBERTO FRANCHI

MARIO TONON

La determinazione dell'insulinemia con metodo radioimmunologico (IRI) è ormai pratica corrente. Essa permette infatti la migliore comprensione di particolari situazioni fisiopatologiche. Da qui la necessità di una metodologia che consenta una buona riproducibilità dei dati ed eviti fonti d'errore e perdite di tempo legate alla interpolazione grafica dei punti per l'approntamento degli standard e l'estrapolazione dei valori riscontrati nei singoli casi.

Il metodo da noi impiegato è quello proposto da YALOW e BERSON⁴, modificato da MEAD e KLITGAARD¹, che soddisfa in pieno l'esigenza sottolineata.

Abbiamo pertanto rivolto la nostra attenzione al problema della costruzione della curva standard ed ai tempi ad essa successivi. Per risolverlo, si è tentato di individuare una curva che potesse interpolare automaticamente i punti dello standard mediante elaboratore elettronico. Superata questa fase, le estrapolazioni dei punti sperimentali, nonché la costruzione delle curve insulinemiche dei singoli pazienti, risultavano logica conseguenza.

INSULIN RADIOIMMUNOASSAY (IRI): A COMPUTERIZED CALCULATION. The determination of the insulinemia by radioimmunoassay (IRI) is now widely used because it allows a better interpretation of particular physiopathologic situations. A methodology which permits a good reproduction of the data is needed to avoid sources of errors and losses of time due to the various graphic interpolation of the standards and the extrapolation of the values collected during each determination.

The early method developed by YALOW and BERSON⁴ and modified later by MEAD and KLITGAARD¹ has been used in our determinations.

To solve the problem of the construction of the standard curve, we tried to define a curve which could interpolate automatically the standard points by means of a computer. Passing this phase, the extrapolations of the experimental points and the construction of the insulin level curves of the individual patients are in logic consequence.

Key-words: Computer calculation; Curve in patients; Insulin; Standard curve.

Data di arrivo in Redazione 15-6-1972.

La Ricerca Clin. Lab. 2, 604, 1972.

MATERIALI E METODO

In un gruppo di 50 soggetti abbiamo determinato l'attività IRI del siero* dopo carico di glucosio per os (g 100) o per vena (g 0,33/kg di peso).

La casistica è così ripartita: normali (10 soggetti sottoposti a carico orale di glucosio e 15 soggetti sottoposti a carico venoso); diabete chimico (15 soggetti sottoposti a carico orale di glucosio e 10 soggetti sottoposti a carico venoso).

Data l'indaginità e la lunghezza dei calcoli che comporta la metodica utilizzata, per un risparmio dei tempi abbiamo pensato di trasferire l'elaborazione dei dati ad un calcolatore elettronico di piccole dimensioni.

Per costruire con i dati ottenuti la curva standard, abbiamo dapprima usato il metodo della regressione polinomiale di 4° e di 5° grado, ma i risultati non sono stati dei più soddisfacenti.

Utilizzando invece il principio dei minimi quadrati con una equazione del tipo (parabola logaritmica)²

$$\log y = a(\log x)^2 + b \log x + c \quad (1)$$

ovvero

$$y = e^{[a(\log x)^2 + b \log x + c]}$$

si sono ottenuti dei risultati praticamente sovrapponibili a quelli ricavati manualmente.

Lo studio dell'andamento di questa funzione porta alle seguenti considerazioni:

- 1) la funzione non è definita per $x \leq 0$;
- 2) per valori di $x > 0$ ha un andamento rapidamente crescente e raggiunge il massimo nel punto che soddisfa la condizione

$$\frac{df(x)}{d \log x} = 0 \text{ cioè per } x = e^{\frac{-b}{2a}}$$

- 3) per valori di $x > e^{\frac{-b}{2a}} > 0$ essa assume l'andamento della curva standard;

4) essendo l'equazione (1) di secondo grado in $(\log x)$, essa darà sempre luogo a due soluzioni che potranno essere: o reali e distinte, o reali e coincidenti, o complesse e coniugate a seconda del valore del discriminante.

Risulta quindi evidente che quando si dovranno estrapolare matematicamente i valori ottenuti dai singoli pazienti, per ottenere le curve insulinemiche bisognerà:

a) scartare il valore più piccolo nel caso di due soluzioni reali e distinte;

b) porre per x il valore corrispondente a quello per il quale la funzione assume il mas-

MATERIALS AND METHOD

In fifty patients the IRI activity of the serum* has been measured after an oral administration (g 100) or an intravenous injection of glucose (g 0.33/kg body weight).

The various treatments have been administered in the following way: normal patients (10 oral administration and 15 intravenous administration); diabetic patients (15 oral administration and 10 intravenous administration).

As the method used was very long and difficult, we thought to transfer the elaboration of the data to a small computer.

The method of the polynomial regressions of fourth and fifth degree was firstly used to plot the data of our standard curve, but without satisfactory results.

We tried then the least squares method using the logarithmic parabola equation²

with good results. We have verified experimentally the perfect correspondence of the points thus obtained with those plotted manually.

The following considerations could be drawn by the study of the function:

- 1) the function is not defined when $x \leq 0$;
- 2) a sharp increase is observed for values of $x > 0$: the maximum is reached when the equation satisfies the following condition:

$$\frac{df(x)}{d \log x} = 0 \text{ where } x = e^{\frac{-b}{2a}}$$

- 3) for values of $x > e^{\frac{-b}{2a}} > 0$ it has the same behaviour of the standard curve;

4) the quadratic equation (1) expressed in $(\log x)$ could give two solutions either real and distinct, or real and coincident, or complex and conjugated according to the discriminant value.

It is evident that, when we have to extrapolate the values by each patients in a mathematic way in order to obtain the individual insulinemic curves, the following operations will be necessary:

a) reject the smallest value when two real and distinct results are obtained;

b) substitute x with the value for which the

* Per le determinazioni, abbiamo utilizzato il Kit della Hoechst.

* For this operation we used the Hoechst's Kit.

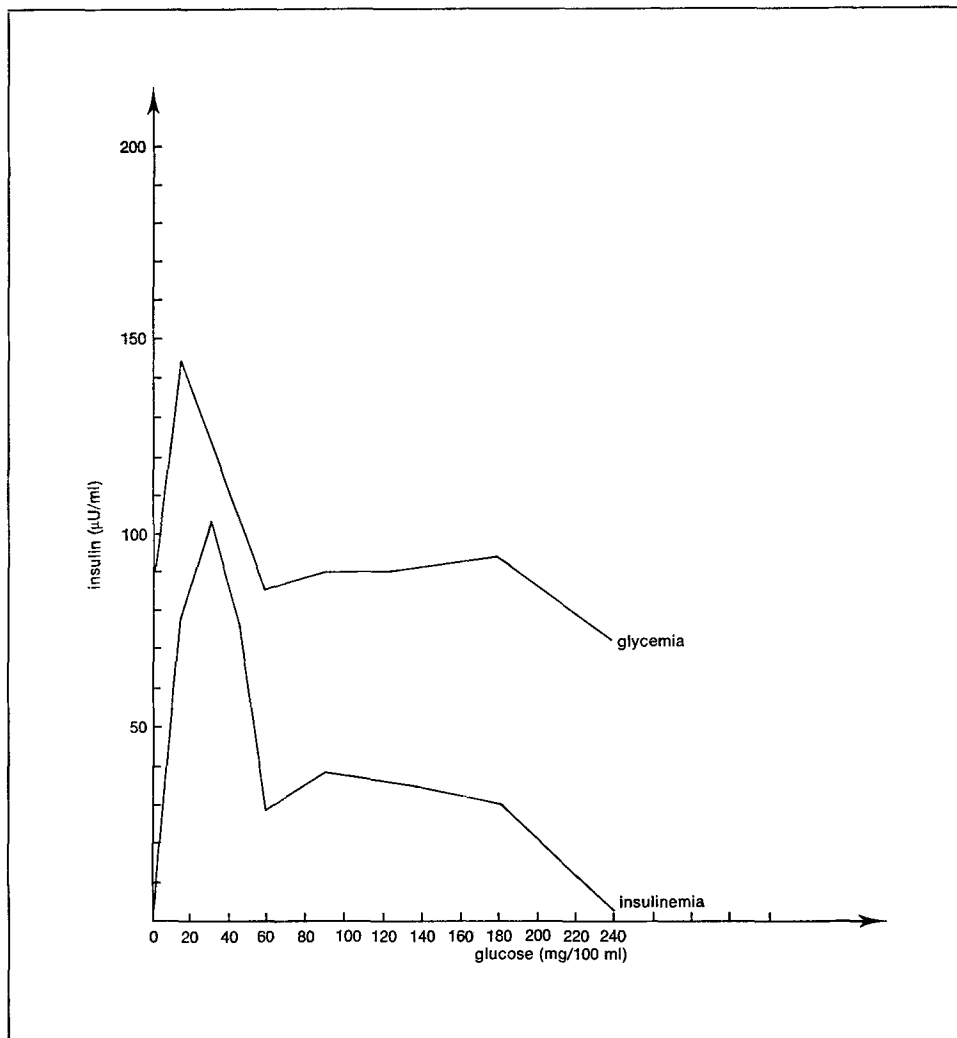


Fig. 1 - Soggetto normale (100 g di glucosio per os).

Normal subject (100 g glucose per os).

simo, cioè $e^{-\frac{b}{2a}}$, in caso di due soluzioni complesse coniugate (ciò in pratica non si è mai verificato);

c) prendere uno qualsiasi dei due valori nel caso di due soluzioni reali e coincidenti.

RISULTATI

Le curve dei singoli pazienti, ottenute con il metodo di calcolo descritto,

function takes the maximum, that is $e^{-\frac{b}{2a}}$, in the case of two complex and conjugated results (this case practically has never happened in our determinations);

c) take any of the two values in the case of two real and coincident results.

RESULTS

The curves of each subject obtained as previously described, have been

sono state tracciate con un plotter collegato al calcolatore (figg. 1, 2 e 3).

Contemporaneamente, abbiamo fornito i dati della glicemia allo stesso, che li ha trasformati in una seconda curva, disegnandola assieme a quella insulinemica. Si ottiene così una visione d'insieme dei due fenomeni.

Il programma di calcolo prevede anche la contemporanea valutazione dell'indice insulinogenico secondo SELTZER e Coll.³.

plotted by a plotter system collected to the computer (figs 1, 2 and 3).

At the same time, the data of the glycemia have been fed to the computer which represented them into a curve, tracing it together with the insulinemic curve. In that way we had a general view of the two phenomena.

Thus it was also possible to determine a contemporary evaluation of the insulinogenic index according to SELTZER et al.³.

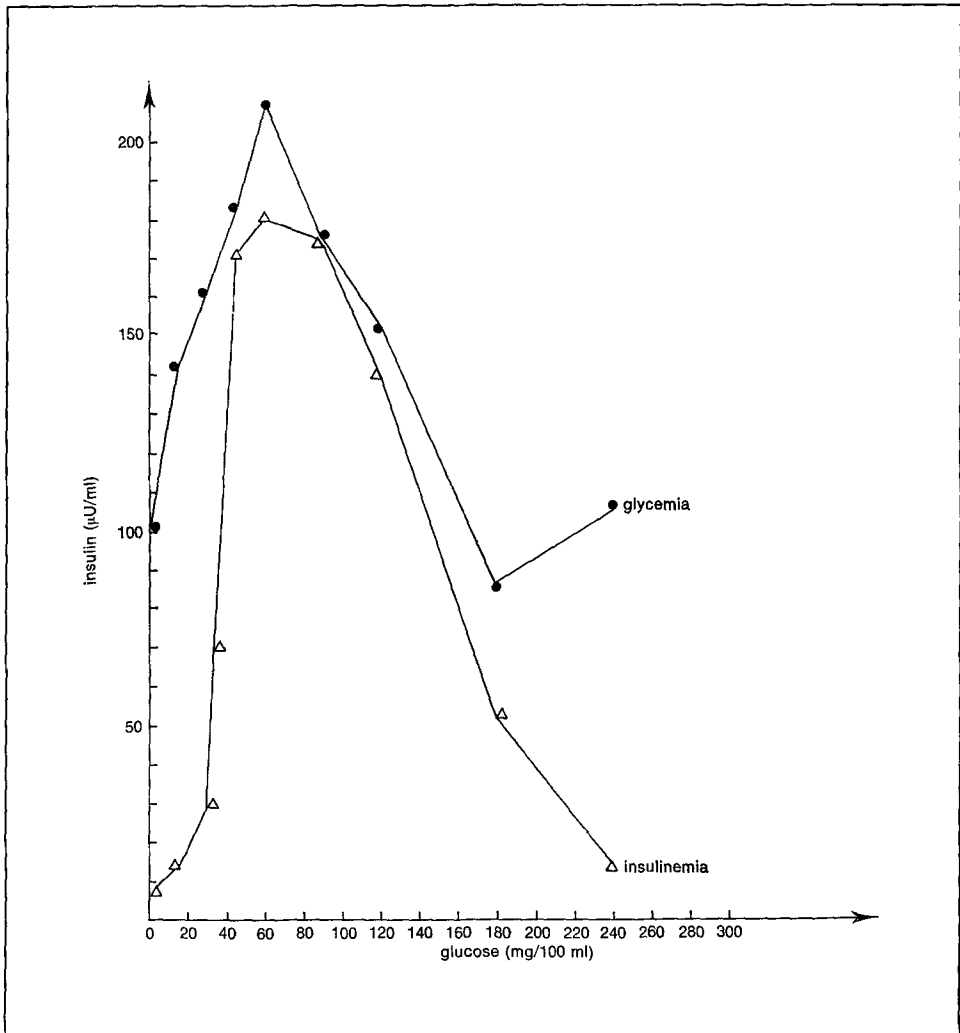


Fig. 2 - Diabete chimico (curva da carico orale).
Chemical diabetes (oral loading curve).

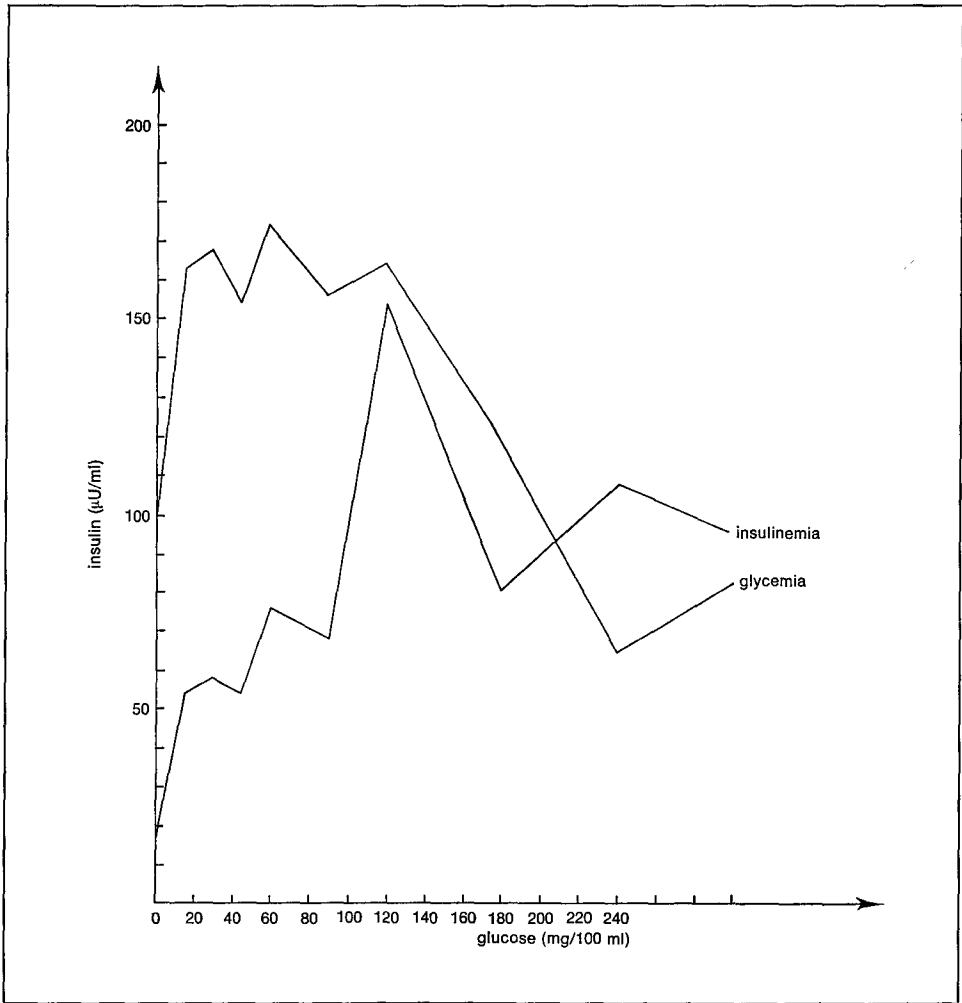


Fig. 3 - *Obesità, diabete chimico (100 g di glucosio per os).*
Obesity, chemical diabetes (100 g glucose per os).

CONCLUSIONI

Il metodo di calcolo sopra esposto, a nostro avviso, ha un duplice vantaggio:

1) *permette di ottenere risultati sovrapponibili a quelli ricavati manualmente, però molto più precisi perché l'interpolazione dei dati avviene matematicamente;*

2) *permette un risparmio notevole sui tempi di valutazione dei dati. Infatti la determinazione delle medie net-*

CONCLUSIONS

This method, in our opinion, has two advantages in respect to those reported in literature:

1) it permits to obtain the same results obtained manually much more exactly because of the mathematical interpolation of the data;

2) the evaluation times of the data have been shortened. In fact, the determinations of the mean values, the back-

te da fondo, la determinazione del quoziente B/F, la tracciatura manuale della curva standard e le successive estrapolazioni, che abitualmente comportano un impiego di tempo pari a 60 min circa per ogni paziente, vengono eseguite dall'elaboratore in 60 sec.

L'equazione che, secondo noi, descrive analiticamente l'andamento della curva standard, è la parabola logaritmica.

ground subtraction, the determination of the quotient B/F, the manual plotting of the standard curve, and the following extrapolations usually take about 60 min for each subject, against 60 sec used by the computer.

The equation that, in our opinion, described analitically the standard curve developed, is a logarithmic parabola.

RIASSUNTO

Gli AA. propongono un nuovo metodo di calcolo per l'approntamento delle curve standard e delle singole curve insulinemiche nel dosaggio radioimmunologico dell'insulina. I calcoli e la tracciatura delle curve vengono affidati ad un calcolatore elettronico.

SUMMARY

The authors propose a new method of calculation for preparing the standard curves and the individual patients insulin level curves in the insulin radioimmunoassay. The calculations and the curves are constructed by means of a small computer.

REFERENCES

- 1) MEAD R. C., KLITGAARD H. M.: A Simplified Method for Immunoassay of Human Serum Insulin - J. nucl. Med. 3, 407, 1962.
- 2) MORTON B. R.: Numerical Approximation - Walter Ledermann, London, 1966.
- 3) SELTZER H. S., ALLEN E. W., HERRON A. L. Jr., BRENNAN M. T.: Insulin Secretion in Response to Glycemic Stimulus: Relation of Delayed Initial Release to Carbohydrate Intolerance in Mild Diabetes Mellitus - J. clin. Invest. 46, 323, 1967.
- 4) YALOW R. S., BERSON S. A.: Immunoassay of Endogenous Plasma Insulin in Man - J. clin. Invest. 39, 1157, 1960.

Requests for reprints should be addressed to:

ORESTE GHIDINI
*Divisione di Gastroenterologia
e Malattie del Metabolismo,
Istituti Ospitalieri
Piazza A. Stefani
37100 Verona - Italia*

Traduzione a cura degli AA.