

**Zeitschrift:** Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

**Herausgeber:** Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

**Band:** 21 (1965)

**Artikel:** Détermination radio-immunologique de l'insuline et de l'ACTH en clinique

**Autor:** Felber, J.-P. / Moody, A.J. / Villanueva, A.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-307613>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 30.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

Clinique médicale universitaire, Lausanne, Laboratoire de Biochimie  
 Directeur: Prof. A. Vannotti

## Détermination radio-immunologique de l'insuline et de l'ACTH en clinique

Par J.-P. Felber, A. J. Moody, A. Villanueva et  
 A. Vannotti, Lausanne\*

Alors que la méthode radio-immunologique de détermination de l'insuline est une méthode établie et utilisée dans différents laboratoires dans le monde, celle de l'ACTH en est encore à son stade de développement.

L'essai radio-immunologique de détermination de l'insuline est en usage depuis plus de quatre ans, soit sous sa forme originale, développée par *Yalow* et *Berson* [1], soit sous l'une des formes qui en dérive, les tests de *Hales* et *Randle* [2], *Morgan* et *Lazarow* [3], *Goetz* et collab. [4], *Meade* et *Klitgaard* [5] ou *Grodsky* et *Forsham* [6].

Par cet essai, on peut obtenir des valeurs plasmatiques, qui peuvent être reproduites d'un laboratoire à l'autre par l'une des versions de la méthode ou par une autre. *Yalow* et *Berson*, comme *Hales* et *Randle*, et comme nous-mêmes, obtiennent des taux d'insulinémie à jeun chez les sujets normaux, dont la moyenne est d'environ  $21 \mu\text{U/ml}$ . Ce caractère, absolu dans une certaine mesure, des valeurs trouvées est très différent de ce que donnent les essais biologiques.

Les taux d'insulinémie fournis par les méthodes biologiques varient beaucoup suivant les techniques employées (tab. 1). Les valeurs ne seront pas les mêmes avec le rat ou la souris vivants, avec le tissu adipeux ou le diaphragme isolés ou suivant le paramètre mesuré: prise de glucose, production de glycogène, de  $\text{CO}_2$  et après correction pour la dilution, avec un plasma non dilué ou un plasma dilué. A ces variations dues à l'utilisation de techniques différentes, s'ajoute le manque de précision propre aux méthodes biologiques. De façon générale, les taux d'insuline

\* Ce travail a pu être réalisé grâce à l'appui du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique, demande No 3279.

circulante donnés par les méthodes biologiques sont plus élevés que ceux fournis par les tests immunologiques. L'origine de ces différences doit être recherchée en particulier dans leur manque de spécificité, car les tissus sont sensibles non seulement à l'insuline contenue dans le plasma, mais également à toutes les substances qui favorisent ou qui inhibent le paramètre mesuré. Il faut cependant mentionner que récemment, *Froesch* et collab., à Zurich [7] et *Moody* et *Felber* [8], à Lausanne, ont développé des méthodes biologiques donnant des valeurs d'insulinémie du même ordre de grandeur que celles obtenues par l'essai radio-immunologique.

Les avantages des tests radio-immunologiques sont principalement leur spécificité, leur précision et la possibilité qu'ils offrent de faire de grandes séries de déterminations.

En ce qui concerne la *spécificité*, il faut bien noter qu'elle est d'ordre immunologique et non biologique. En d'autres termes, la méthode per-

Tableau 1  
Activité insulinique plasmatique chez l'homme à jeun

| Auteurs                            | Méthode  | Activité<br>insulinique<br>plasmatique<br>$\mu\text{U/ml}$ | Commentaires  |
|------------------------------------|--|--|---|
| Vallance-Owen et<br>Harlock (1954) | Prise de glucose par<br>le diaphragme de rat   | 10– 100  | plasma non dilué  |
| Willebrands et<br>Green (1956)     | idem   | 300– 900<br>900–4600                                       | plasma dilué 1,1–2 $\times$<br>plasma dilué 5–10 $\times$   |
| Baird et Born-<br>stein (1957)     | idem   | 1000–2000  | extrait à l'acide-<br>alcool  |
| Renold et collab.<br>(1960)        | Production de $\text{C}^{14}\text{O}_2$<br>par le tissu adipeux<br>épididymaire du rat | 33– 960  | plasma non dilué  |
| Baird et Born-<br>stein (1959)     | Souris surrénalecto-<br>misées et traitées à<br>l'alloxane                             | 800–1150   | extrait à l'acide-<br>alcool  |
| Froesch et collab.<br>(1963)       | Prise de glucose par le<br>tissu adipeux<br>épididymaire du rat                        | 68– 587<br>0– 93   | activité insulinique<br>totale<br>activité insulinique<br>supprimable par les<br>anticorps anti-insu-<br>line |
| Moody et Felber<br>(1964)          | Incorporation de glu-<br>cose dans le glycogène<br>par le diaphragme de la<br>souris   | 5– 54  | plasma non dilué  |

mettra de mesurer toutes les substances qui ont les caractères immunologiques de l'insuline, que ces substances aient une activité biologique ou non.

Que mesure-t-on ? L'insuline. Mais mesure-t-on toute l'insuline ? On a beaucoup parlé d'insuline liée. La méthode radio-immunologique pourrait ne mesurer que la forme libre de l'insuline circulante, tandis que les formes liées à une protéine pourraient lui échapper. Mais, jusqu'à présent, on n'a pas démontré de façon irréfutable l'existence d'une insuline liée et ce concept est encore à l'état d'hypothèse. Le problème du transport de l'insuline, qui est une protéine, par une autre protéine (hypothétique) ne peut donc se comparer à celui des hormones lipidiques peu solubles dans le plasma. La méthode radio-immunologique mesurera une insuline qui est semblable à l'insuline utilisée dans le test de mesure, donc semblable à l'insuline extraite du pancréas. Mais l'insuline circulante est-elle semblable à l'insuline de ces extraits pancréatiques ? Les travaux de *Renold* démontrant la production chez le bœuf d'anticorps homologues anti-insuline de bœuf permettent d'en douter [9].

*Yalow* et *Berson* ont démontré, d'autre part [10], que leur méthode ne distinguait pas l'insuline naturelle d'une insuline modifiée par suppression des huit derniers acides aminés de la chaîne B d'une insuline bovine. Il est peu probable, cependant, qu'une telle forme se rencontre chez l'homme, soit à l'état physiologique, soit dans les états pathologiques.

Ainsi, ces méthodes pourraient ne pas mesurer toute l'insuline et elles pourraient mesurer des formes d'insuline sans activité biologique. Cependant, il faut bien préciser, qu'il ne s'agit là que d'hypothèses et il n'existe aucune preuve que ces méthodes ne mesurent pas toute l'insuline circulante qui est biologiquement active.

Les *avantages* des méthodes radio-immunologiques sont très grands. Outre leur spécificité et leur précision, elles offrent la possibilité de faire de grandes séries de déterminations, ce qui n'est guère le cas des méthodes biologiques. Elles ne demandent que très peu de sang : 0,1 ml de plasma par détermination. Elles ne sont pas sensibles comme les méthodes biologiques à tous les éléments du plasma qui favorisent ou inhibent la prise de glucose, tels que les hormones hypophysaires ou surrénaliennes ou le taux des acides gras circulants.

L'*utilisation en clinique* des méthodes radio-immunologiques de détermination de l'insuline est encore peu généralisée et leur indication encore mal définie. Il existe une indication essentielle de détermination du taux d'insulinémie, que ce soit par une méthode ou une autre : les cas d'hypoglycémie où l'on soupçonne une tumeur des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans.

Tableau 2  
Insulinémie à jeun (méthode de *Hales et Randle*)

|   | $\mu\text{U/ml}$<br>sérum |
|---|---------------------------|
| Sujets normaux .....  | 24 $\pm$ 22               |
| Diabétiques répondant à l'hyperglycémie par une élévation de l'insulinémie              | 57 $\pm$ 33               |
| Diabétiques ne répondant pas à l'hyperglycémie par une élévation de l'insulinémie ..... | 15 $\pm$ 10               |

Dans les cas de *tumeur sécrétant de l'insuline*, l'insulinémie peut être très élevée, bien que, de façon générale, les taux soient très variables [11]. Il faut noter que les hypoglycémies consécutives à une tumeur sécrétant de l'insuline représentent une minorité des cas d'hypoglycémie. Dans ces cas, cependant, la détermination de l'insuline est essentielle pour le diagnostic.

A part cela, la méthode occupe une place qui va grandissant en clinique dans les cas de diabète non encore traités à l'insuline.

La majorité des cas de *diabète de l'adulte*, au moment où ils sont découverts, présentent des taux d'insuline à jeun plus élevés que les sujets non diabétiques (tab. 2). Ces taux sont en moyenne, chez nous, de 57  $\mu\text{U/ml}$  de plasma. Ces valeurs ont été obtenues en utilisant la méthode de *Hales et Randle*.

Chez ces diabétiques, l'insulinémie sous surcharge de glucose, monte à des taux souvent élevés et l'ascension est progressive pendant les deux premières heures (fig. 1). Ces résultats confirment ceux obtenus par *Yalow et Berson*. Contrairement à ce qui se passe chez le sujet normal, l'insulinémie ne baisse que tardivement. En fait, la courbe de l'insulinémie, dans ces cas, suit celle de la glycémie. A une augmentation de la glycémie à jeun correspond une augmentation de l'insulinémie à jeun et à une courbe lentement ascendante de la glycémie correspond une courbe lentement ascendante de l'insulinémie. Il semble donc que dans ces cas, le pancréas réponde normalement à l'hyperglycémie par une sécrétion accrue d'insuline. La persistance d'une glycémie élevée en présence de taux aussi élevés d'insuline démontre que cette insuline n'est pas en mesure de jouer pleinement son rôle hypoglycémiant. Il est, d'autre part, intéressant de noter que c'est dans ce groupe de diabétiques que l'on trouve les valeurs d'insulinémie les plus élevées, à l'exception des cas de tumeurs des îlots de Langerhans.

Il existe un autre groupe de diabétiques, moins important en nombre, chez lequel l'insulinémie ne s'élève plus ou seulement très peu sous le

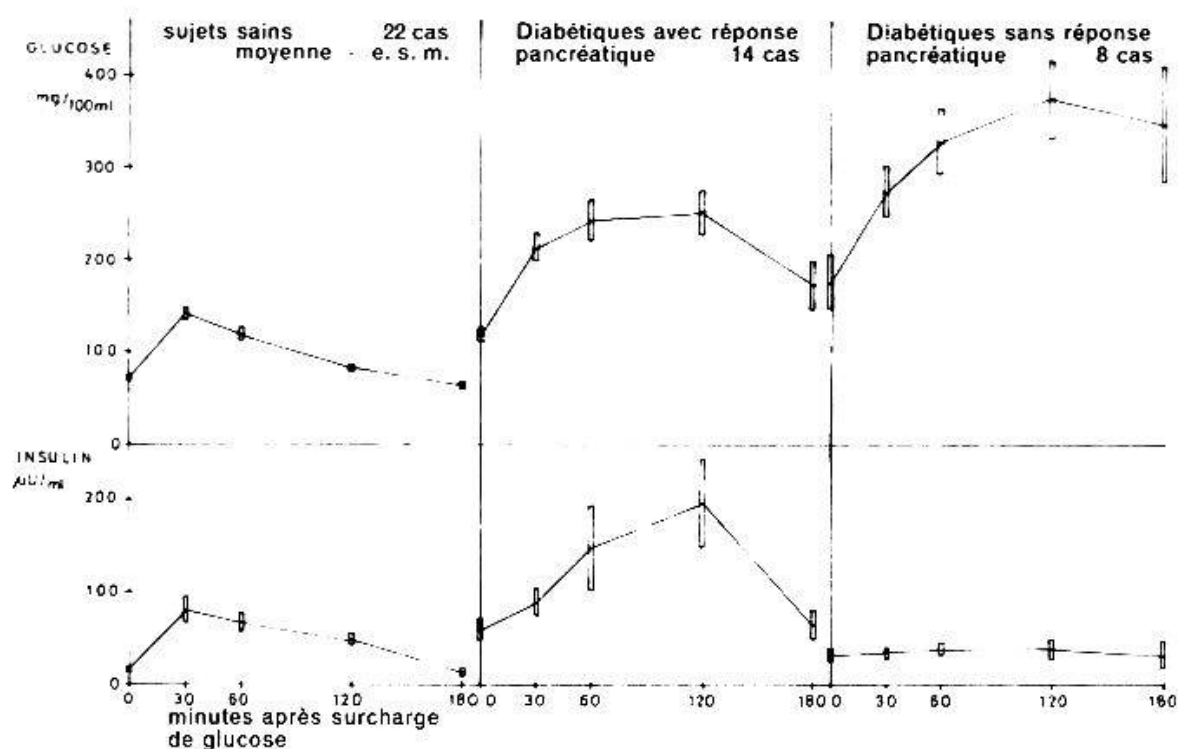


Fig. 1. Glycémie (méthode de la glucose-oxydase) et insulïnémie (méthodes de *Hales* et *Randle*) mesurées au cours de surcharges de glucose par voie orale (100 g) chez des sujets normaux et diabétiques.

stimulus de l'hyperglycémie. Il semble que chez ces malades la réponse du pancréas se fasse mal. Ces malades ont un certain taux d'insuline à jeun, mais l'élévation de la glycémie ne produit plus une élévation de l'insulïnémie comme dans les cas précédents. Ces cas correspondent à un diabète plus grave et plus labile. L'insuffisance de l'insuline circulante a comme conséquence une forte augmentation de la glycémie. La déficience du système de régulation de l'insulïnémie par la glycémie est cause de la labilité de ces diabètes. A l'extrême, on arrive au diabète pancréatoprive, où il n'y a plus de sécrétion d'insuline. Ce qui caractérise ces cas, c'est avant tout leur labilité extrême due à l'absence totale de système de régulation.

Si l'on veut résumer, dans le *premier groupe*, avec réponse insulïnique, le diabète est caractérisé par une inefficacité partielle de l'action de l'insuline. Le système physiologique de régulation de l'insulïnémie par la glycémie n'est pas touché. Le parallélisme entre les valeurs obtenues par la méthode radio-immunologique avec celles obtenues par les tests biologiques utilisant le diaphragme de souris ou le tissu adipeux du rat, permet de penser que l'insuline sécrétée dans ces cas est une insuline normale et active (au moins in vitro). La cause de la diminution de la tolérance au glucose pourrait être recherchée dans une diminution de



l'utilisation du glucose au niveau cellulaire. Cette forme de diabète qui est la plus fréquente chez l'adulte, du moins au début de la maladie, est donc celle d'un diabète «compensé» ou mieux «tamponné», puisque le système de régulation physiologique continue à fonctionner et que les variations de la glycémie sont tamponnées par celles de l'insulinémie.

Dans le *deuxième groupe*, la déficience du système de régulation s'ajoute à l'inefficacité partielle de l'action de l'insuline et l'on est en droit de parler de diabète «décompensé» ou «non tamponné», puisque l'hyperglycémie n'est plus compensée par une production accrue d'insuline.

Il est encore trop tôt pour déduire des considérations thérapeutiques de ces différences dans l'insulinémie et dans la réponse de l'insulinémie à une surcharge de glucose. Dans le premier groupe de diabètes «tamponnés», le traitement – en attendant que l'on trouve une thérapeutique causale – devra être envisagé comme un appoint, puisqu'il existe déjà de l'insuline, même en quantité augmentée. On pourra soit ajouter un supplément d'insuline, en donnant de l'insuline, soit donner des sulfamidés hypoglycémiantes qui augmentent l'insuline endogène. Il semble qu'en portant à des valeurs élevées le taux d'insuline circulante, on puisse

Tableau 3

Valeurs comparées de l'activité insulinique mesurée par le test d'incorporation de glycogène au diaphragme de souris (*Moody et Felber*) et de l'insuline mesurable immunologiquement (*Hales et Randle*) chez des sujets normaux et diabétiques, au cours d'une hyperglycémie provoquée par voie orale (100 g glucose)

| Cas No                                      | Temps (min) |    |     |     |      |     |     |     |     |     |
|---|-------------|----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|
|   | 0           |    | 30  |     | 60   |     | 120 |     | 180 |     |
| <i>Sujets normaux</i>                       |             |    |     |     |      |     |     |     |     |     |
| 197 .....                                   | 18          | 36 | 22  | 55  | 31   | 74  | —   | 53  | —   | 34  |
| 416 .....                                   | 25          | 10 | 20  | 48  | 35   | 46  | 35  | 36  | 15  | 10  |
| 477 .....                                   | 5           | 30 | 18  | 41  | 36   | 41  | 19  | 30  | 20  | 30  |
| 414 .....                                   | 10          | 11 | 17  | 54  | 10   | 65  | 15  | 54  | 15  | 25  |
| moyenne ..                                  | 15          | 22 | 19  | 49  | 38   | 56  | 23  | 43  | 17  | 25  |
| <i>Diabétiques avec réponse insulinique</i> |             |    |     |     |      |     |     |     |     |     |
| 118 .....                                   | 30          | 20 | 110 | 110 | 1850 | 200 | 450 | 400 | —   | —   |
| 136 .....                                   | 100         | 60 | 66  | 70  | 143  | 200 | 800 | 400 | —   | —   |
| 371 .....                                   | —           | 40 | 40  | 86  | 58   | 90  | 53  | 70  | 42  | 42  |
| 370 .....                                   | 5           | 76 | 10  | 64  | 15   | 77  | 205 | 57  | 20  | 34  |
| 378 .....                                   | 15          | 65 | 24  | 2   | 33   | —   | 46  | 165 | 43  | 100 |
| moyenne ..                                  | 38          | 52 | 50  | 65  | 220  | 142 | 272 | 184 | 35  | 59  |
| <i>Diabétiques sans réponse insulinique</i> |             |    |     |     |      |     |     |     |     |     |
| 417 .....                                   | 5           | 30 | 10  | 11  | 25   | 33  | —   | —   | 20  | 26  |
| 473 .....                                   | 20          | 25 | 8   | 29  | 7    | 24  | 9   | 18  | 12  | 40  |
| moyenne ..                                  | 13          | 28 | 9   | 20  | 16   | 28  | 5   | 9   | 16  | 33  |

corriger la diminution de la tolérance au glucose, donc faire pénétrer le glucose dans les tissus. De toute façon, on n'a pas à craindre les grands écarts de la glycémie observés dans le groupe des sujets non tamponnés. Dans ce deuxième groupe, la thérapeutique aura un caractère substitutif et devra tenir compte des variations de la glycémie en fonction des repas. Il faudra assurer, dans la mesure du possible, une corrélation entre l'apport d'hydrates de carbone et d'insuline et cette corrélation sera toujours difficile à cause de l'absence de système régulateur.

Les valeurs d'insulinémie démontrées par l'essai radio-immunologique peuvent être également mesurées par des méthodes biologiques. En utilisant la méthode de mesure de l'activité insulinique basée sur l'incorporation de glycogène au diaphragme de souris [8], les valeurs de l'activité insulinique sont analogues, quoique légèrement inférieures à celles de l'insuline mesurée par l'essai radio-immunologique (tab. 3). L'intérêt des méthodes biologiques n'a certainement pas disparu, puisqu'elles sont à même de fournir des indications sur l'activité biologique de l'insuline, indications que ne peuvent pas fournir les tests immunologiques.

En ce qui concerne l'ACTH, nous sommes beaucoup moins avancés que pour l'insuline. La méthode développée à Lausanne [12], la première de ce genre, est basée sur le principe de la méthode que *Hales et Randle* ont développée pour la détermination de l'insuline. Elle n'est en usage que depuis janvier 1963. Les éléments fondamentaux en sont les suivants:

Comme toutes les méthodes radio-immunologiques, elle est basée sur le principe d'une dilution isotopique en présence d'un anticorps spécifique. Lorsqu'on mélange antigène et anticorps, on obtient la formation d'un complexe antigène-anticorps (a). Si l'antigène est marqué à l'iode <sup>131</sup>, par exemple, le complexe antigène-anticorps qui se formera sera marqué à son tour (b).

L'addition d'antigène non marqué à l'antigène marqué produira une dilution isotopique de l'antigène marqué.

L'addition d'une quantité limitée d'anticorps au milieu produira un complexe antigène-anticorps qui sera moins fortement marqué que précédemment, puisqu'une partie des molécules d'antigène qui se fixeront à l'anticorps ne seront plus marquées (c). En d'autres termes, l'anticorps fixera également l'antigène marqué et l'antigène non marqué et si l'anticorps est en concentration limitée, il se produira une compétition entre les deux formes de l'antigène pour les sites de l'anticorps. Plus il y aura de molécules d'antigène non marqué, moins d'antigène marqué pourra se fixer à l'anticorps. C'est cette diminution de la radioactivité du complexe antigène-anticorps par l'addition de l'antigène non marqué



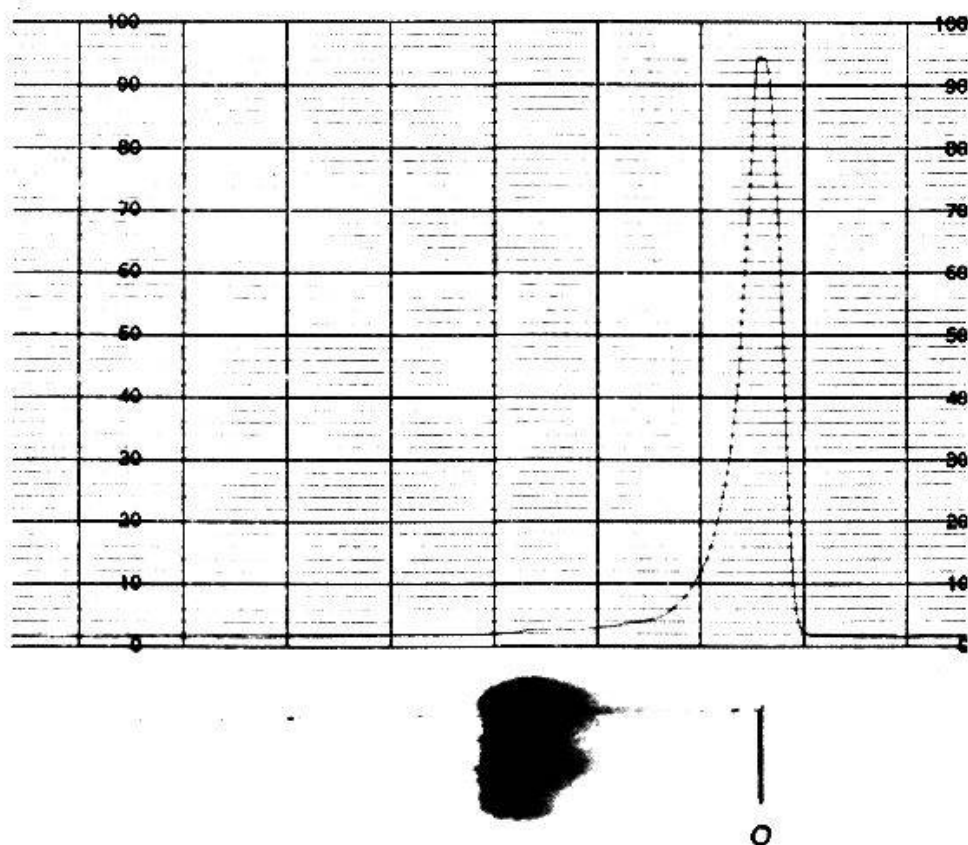
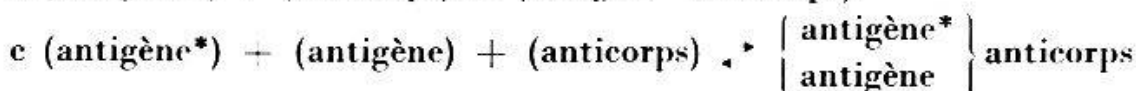
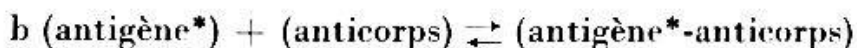
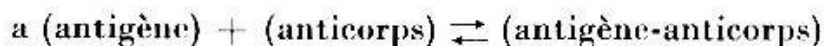


Fig. 2. Electrophorèse sur papier en tampon véronal, pH 8,6, de l'ACTH- $I^{131}$ . En bas, la bande d'électrophorèse. La tache noire représente l'albumine ajoutée à la solution d'ACTH- $I^{131}$ . En haut, radio-électrophorétogramme représentant un pic correspondant à l'ACTH- $I^{131}$  restée à l'origine.

qui est à la base de la méthode et qui est utilisée comme moyen de mesure.

Comme la méthode est dérivée de la formule: antigène marqué + antigène non marqué + anticorps donnant un complexe mixte antigène marqué-antigène non marqué — anticorps, il est nécessaire de pouvoir disposer de l'antigène non marqué, de l'antigène marqué, de l'anticorps et de pouvoir déterminer la radioactivité du complexe antigène-anticorps.



L'antigène non marqué, l'ACTH, est un polypeptide à chaîne unique de 39 acides aminés dont Schwyzer a réussi la synthèse en 1963 [13].

L'antigène marqué s'obtient par marquage de l'ACTH à l'iode 131 ou à l'iode 125. L'iode, après oxydation, se fixera principalement sur

les molécules de tyrosine de l'ACTH. La méthode utilisée est une adaptation de celle développée par *Hunter et Greenwood* pour le marquage de l'hormone de croissance. Elle utilise la chloramine T comme oxydant [14]. La purification de l'hormone marquée se fait au moyen d'une colonne de résine Amberlite IRA-400 sous forme  $\text{Cl}^-$ . Cette méthode ne produit qu'un minimum de détérioration du polypeptide au cours du marquage. Une électrophorèse en tampon véronal pH 8,6 montre un seul pic à l'origine (fig. 2).

Enfin, les *anticorps* sont produits par injection d'ACTH porcine, synthétique ou naturelle, au cobaye. L'antigène est injecté mélangé à une émulsion d'adjuvant de Freund. La figure 3 démontre le pourcent de fixation d'une dilution d'ACTH marquée (environ 2,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) par différents antisérums dilués 1/100. Cette fixation de l'ACTH marquée est déterminée après précipitation du complexe ACTH-anticorps par de l'antiglobuline. Le précipité est centrifugé et la radioactivité mesurée dans le culot de centrifugation.

La radioactivité du complexe ACTH marquée-anticorps est fonction de la concentration de l'antisérum (fig. 4). La courbe descendante repré-

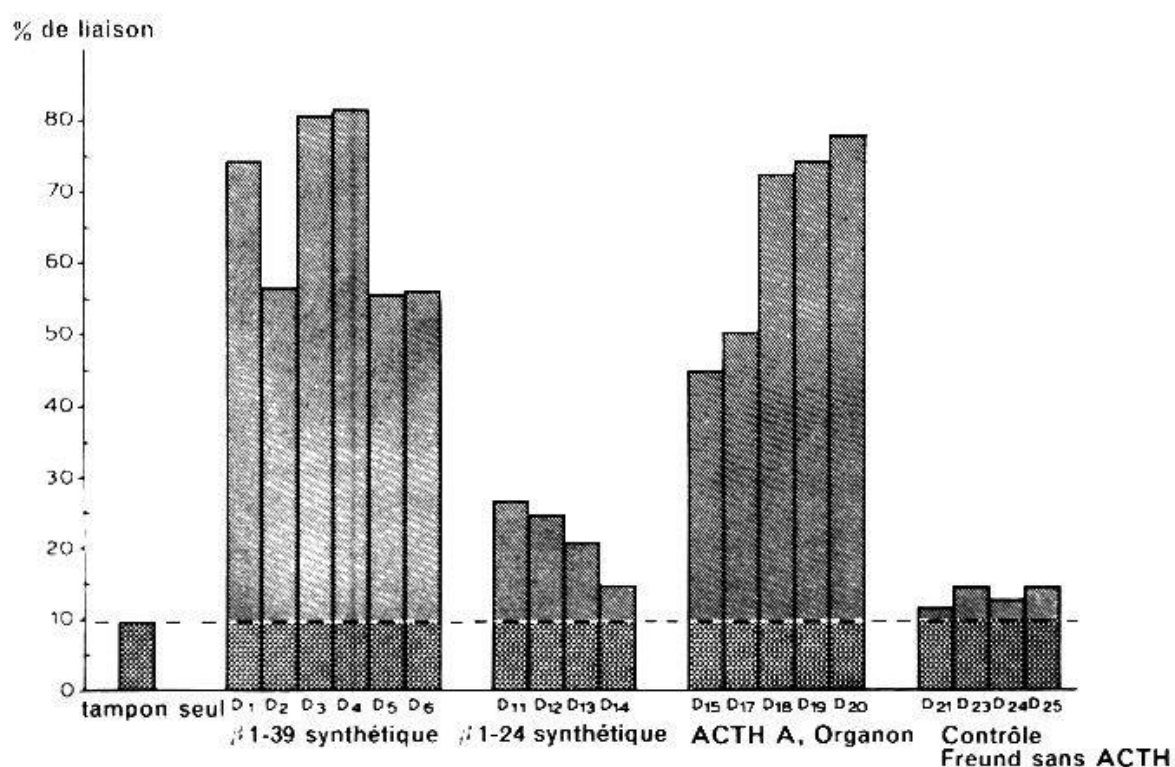


Fig. 3. Puissance des antisérums exprimée en % de la liaison de  $\beta 1-39\text{-I}^{131}$ . Liaison de l'ACTH- $\text{I}^{131}$  à différents anticorps. Antisérum de cobaye traité par (de gauche à droite): ACTH synthétique 1-39: ACTH synthétique 1-24: ACTH naturelle: adjuvant de Freund sans ACTH. Tous les antisérums ont été dilués 1/100.

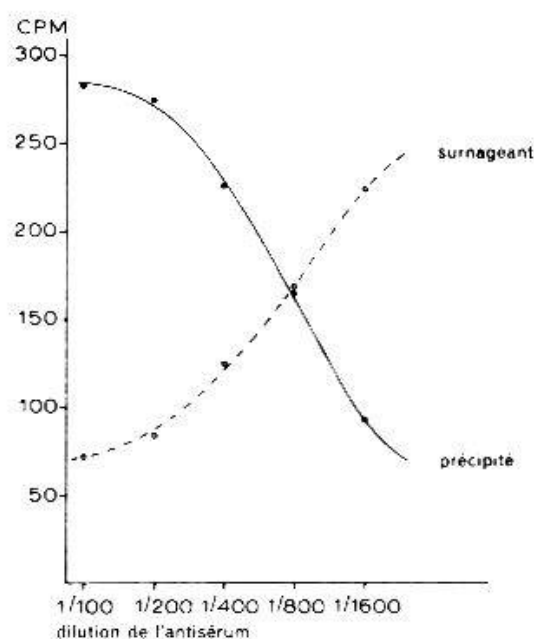


Fig. 4. Courbe de dilution de l'antisérum D. Radioactivité du précipité (trait plein) et du surnageant (trait interrompu). CPM = coups par minute.

sente la radioactivité du précipité qui contient le complexe ACTH-anticorps, alors que la courbe ascendante représente la radioactivité du surnageant, c'est-à-dire l'ACTH marquée non fixée aux anticorps.

Le trait plein (fig. 5) représente une courbe de dilution de l'antisérum semblable à la précédente. On a incubé des dilutions successives de

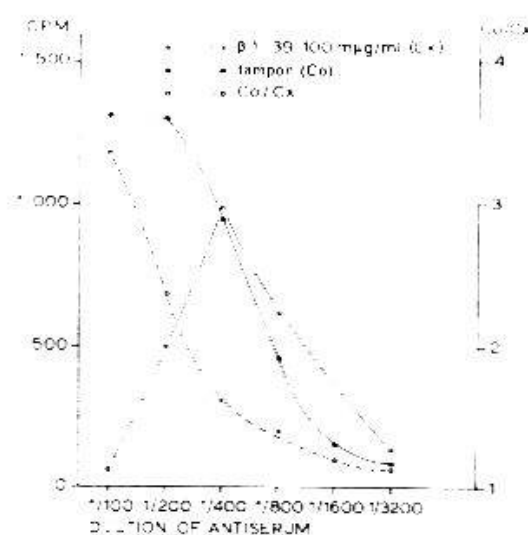


Fig. 5. Radioactivité du précipité au cours de dilutions successives d'un antisérum sans (trait plein) ou avec (trait interrompu) addition d'ACTH non marquée. La courbe trait-point-trait représente le rapport des valeurs des deux autres courbes. CPM coups par minute;  $Co/Cx$  = radioactivité sans addition de  $\beta 1-39$  (Co) sur radioactivité avec addition de  $100 \mu g/ml$   $\beta 1-39$  (Cx).

l'antisérum avec une concentration donnée et constante d'ACTH marquée (2,5 m $\mu$ g/ml). Lorsqu'on ajoute au mélange d'incubation 100 m $\mu$ g/ml d'ACTH non marquée, la radioactivité du complexe antigène-anticorps précipité est diminuée, ainsi que le montre la courbe pointillée. Le rapport des valeurs des deux courbes est donné par la troisième courbe à traits interrompus. On voit que le rapport de la radioactivité du précipité sans addition d'ACTH non marquée sur la radioactivité du précipité avec addition d'ACTH non marquée donne un pic à la dilution de l'antisérum à 1/400. C'est donc à cette dilution de l'antisérum que le déplacement de la radioactivité par addition des 100 m $\mu$ g d'ACTH non marquée est maximale, donc que les conditions de sensibilité du test sont les meilleures.

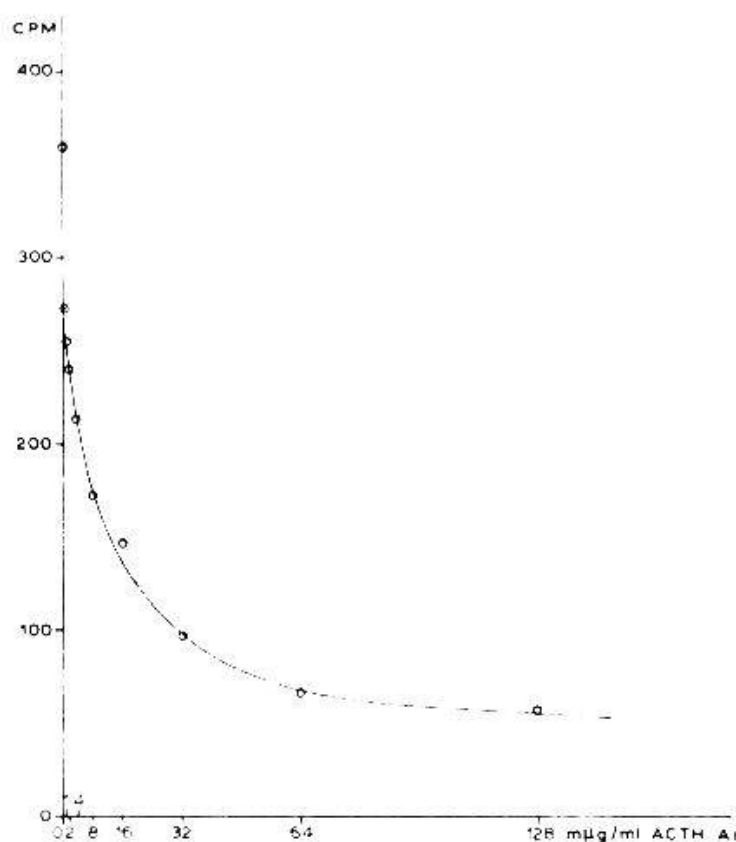


Fig. 6. Courbe standard de dilution de l'ACTH. CPM = coups par minute.

Pour le test lui-même (fig. 6), on met l'ACTH marquée et l'ACTH non marquée (ou le plasma à mesurer) simultanément en présence de l'antisérum. La concentration de l'ACTH marquée et celle de l'antisérum sont fixes. Seule varie la concentration de l'ACTH non marquée. Les deux formes de l'ACTH entreront en compétition pour se fixer à l'anticorps. Plus il y aura d'ACTH non marquée, moins les anticorps lieront d'ACTH marquée et moins grande sera la radioactivité du complexe ACTH-

anticorps que l'on mesure. La courbe de dilution de l'ACTH non marquée servira de courbe standard à laquelle on pourra comparer les valeurs obtenues pour les différents plasmas.

On sait que l'ACTH est rapidement détruite par les enzymes protéolytiques contenus dans le plasma. Cependant, dans les conditions de l'essai

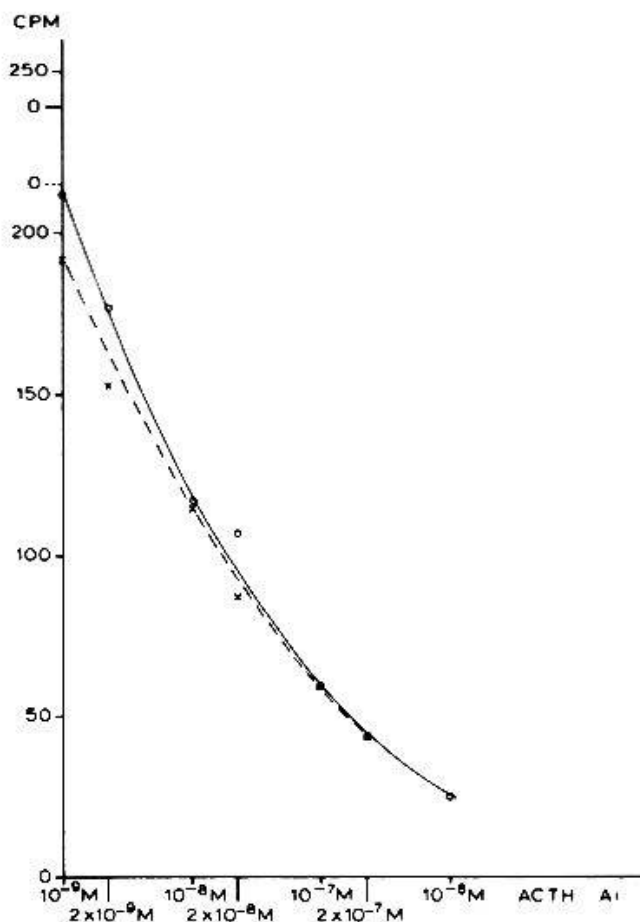


Fig. 7. Comparaison d'une courbe de dilution d'ACTH naturelle  $A_1$  dans du plasma (x) avec une courbe semblable dans du tampon phosphate (o—o).

(température de  $0^\circ$ , temps court, utilisation de produits inhibant l'activité protéolytique), la destruction de l'ACTH est réduite au minimum (fig. 7). La dilution de l'ACTH a été faite soit dans du tampon (trait plein), soit dans du plasma (pointillé). On voit que les valeurs sont à peu près les mêmes. La légère différence doit correspondre à l'ACTH endogène contenue dans le plasma qui a servi à la dilution. Ceci permet de démontrer qu'il n'y a pas de destruction évidente de l'ACTH par le plasma dans les conditions de l'essai.

Tout récemment, *Yalow, Glick, Roth et Berson* ont développé une nouvelle méthode de détermination de l'ACTH [15]. Les résultats sont différents des nôtres; bas chez Mrs. *Yalow*, élevés à Lausanne. Il n'est pas possible de savoir actuellement laquelle des deux méthodes donne



des valeurs qui sont les plus proches du taux réel, ne connaissant pas ce taux. Nos valeurs n'ont pas changé depuis près de deux ans, alors que de nombreuses modifications ont été apportées à la méthode, telles que le remplacement de l'ACTH d'origine naturelle par de l'ACTH synthétique, changement des anticorps, de leur concentration, de la méthode de séparation du précipité ou du temps d'incubation. L'avantage de cette méthode est que le temps d'incubation court diminue le risque de dénaturation de l'ACTH par les enzymes protéolytiques contenues dans le plasma.

Par la méthode décrite à Lausanne, les résultats suivants ont été obtenus:

Tableau 4  
Taux plasmatiques de l'ACTH

|   |                    |
|---|--------------------|
| Sujets normaux, 8 h . . . . .             | 20-50 m $\mu$ g/ml |
| Sujets traités avec le cortisol . . . . . | 7-17 m $\mu$ g/ml  |
| Maladie d'Addison . . . . .               | 100 m $\mu$ g/ml   |
| Test avec le Métopirone, 0 h . . . . .    | 80 m $\mu$ g/ml    |
| 8 h . . . . .                             | 160 m $\mu$ g/ml   |

Chez les sujets normaux, le matin à jeun, les valeurs varient entre 20 et 50 m $\mu$ g/ml et sont le plus souvent entre 25 et 40 m $\mu$ g/ml. Ces valeurs sont fortement diminuées au cours des traitements de cortisol ou de ses dérivés. Les valeurs sont élevées dans des cas de maladie d'Addison ou après Métopirone (tab. 4).

Tableau 5  
Epithélioma bronchique à petites cellules

|                              |                    |
|------------------------------|--------------------|
| 17-OH urinaires . . . . .    | 31,2 mg/24 h       |
| 17-CS urinaires . . . . .    | 34,8 mg/24 h       |
| K urinaire . . . . .         | 1,4 mg/24 h        |
| Glycémie à jeun . . . . .    | 315 mg/100 ml      |
| 17-OH plasmatiques . . . . . | 124 $\mu$ g/100 ml |
| ACTH plasmatique . . . . .   | 11,5 m $\mu$ g/ml  |

Une observation intéressante est celle qui a été faite par le Dr *Clément* à la Clinique médicale universitaire de Lausanne (tab. 5). Il s'agit d'un épithélioma bronchique à petites cellules, avec signes évidents d'hypercorticisme. Les valeurs des 17-hydroxycorticostéroïdes plasmatiques sont fortement élevées alors que le taux de l'ACTH, mesuré par la méthode radio-immunologique, est bas. S'agirait-il d'une substance ACTH-

like qui aurait une action sur les corticosurrénales, mais qui ne serait pas identique immunologiquement à l'ACTH d'origine hypophysaire ? Le taux bas correspondrait bien à une inhibition de la production de l'ACTH hypophysaire par suite du taux élevé des 17-OH plasmatiques. Cette observation est encore unique et mérite confirmation.

Nous sommes en train d'étudier quelles pourraient être les causes des divergences entre notre essai et celui de Mrs. *Yalow*. En attendant, tant l'un des essais que l'autre ont leur valeur en clinique, puisqu'ils sont les seuls, en dehors des essais biologiques compliqués et peu sensibles, à pouvoir fournir des indications sur le taux de l'ACTH circulante.

### *Résumé*

Le développement de méthodes radio-immunologiques pour la détermination de l'insuline et de l'ACTH a permis d'obtenir un moyen nouveau précis et spécifique pour la mesure du taux plasmatique de ces hormones.

La mesure de l'insulinémie est essentielle pour le diagnostic des tumeurs hypoglycémiantes des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans. Elle permet de classer les diabétiques en deux groupes : ceux qui répondent et ceux qui ne répondent pas, par une élévation du taux d'insuline, à une surcharge de glucose.

La méthode de la détermination de l'ACTH, plus récente, a été employée dans des cas d'Addison et de traitement prolongé avec des dérivés du cortisol.

### *Zusammenfassung*

Die Entwicklung der radio-immunologischen Methoden zur Bestimmung des Insulins und des ACTH ergab ein neues, genaues und spezifisches Mittel zur Messung des Plasmaspiegels dieser Hormone.

Die Messung der Insulinämie ist für die Diagnose von Hypoglykämie bewirkenden Tumoren der  $\beta$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln essentiell. Sie erlaubt, die Diabetiker in zwei Gruppen einzuteilen: in solche, die auf eine Glucose-Überbelastung mit einer Erhöhung des Insulinspiegels reagieren und solche, die es nicht tun.

Die neuere Methode der ACTH-Bestimmung wurde neuerdings in Fällen von Morbus Addison und bei längerer Behandlung mit Cortisolderivaten verwendet.

### *Riassunto*

Lo sviluppo dei metodi radio-immunologici per la determinazione dell'insulina e dell'ACTH ha permesso di ottenere un nuovo mezzo preciso

e specifico per la misura del tasso plasmatico di questi ormoni. La misura dell'insulinemia è essenziale per la diagnosi dei tumori ipoglicemianti delle cellule  $\beta$  delle isole di Langerhans. Essa permette di classificare i diabetici in due gruppi: quelli che reagiscono e quelli che non reagiscono con un aumento del tasso d'insulina a un sovraccarico di glucosio.

Il metodo della determinazione dell'ACTH, più recente, è stato applicato in vari casi di morbo di Addison e dopo una cura prolungata con derivati del cortisolo.

### *Summary*

The development of radio-immunological methods for the determination of insulin and ACTH has made it possible to measure the levels of these hormones in plasma with a high degree of precision and specificity.

The determination of insulin enables us to classify diabetics into two broad groups, those who respond and those who do not respond with a rise in the level of insulin after glucose load. A determination of insulin is essential for the diagnosis of insulin-secreting tumours of the cells of the islets of Langerhans.

The determination of ACTH has recently been used to examine cases of Addison's disease and to study the effects of prolonged treatment with derivatives of cortisol.

1. Yalow R. S. et Berson S. A.: J. clin. Invest. 39, 1157 (1961). – 2. Hales C. N. et Randle P. J.: Biochem. J. 88, 137 (1963). – 3. Morgan C. R. et Lazarow A.: Diabetes 12, 115 (1963). – 4. Goetz F. C., Greenberg B. Z., Ellis J. et Meinert C.: J. clin. Endocr. 23, 1237 (1963). – 5. Meade R. C. et Klitgaard H. M.: J. nucl. Med. 3, 407 (1962). – 6. Grodsky G. M. et Forsham P. H.: J. clin. Invest. 39, 1070 (1960). – 7. Froesch E. R., Bürgi H., Ramseier E. B., Bally P. et Labhart A.: J. clin. Invest. 42, 1816 (1963). – 8. Moody A. J. et Felber J. P.: Experientia (Basel) 20, 105 (1964). – 9. Renold A. E.: Ciba Found. Colloqu. Endocr. 15, 122 (1964). – 10. Yalow R. S. et Berson S. A.: Science 139, 144 (1963). – 11. Berson S. A. et Yalow R. S.: Ciba Found. Colloqu. Endocr. 14, 182 (1962). – 12. Felber J.-P.: Experientia (Basel) 19, 227 (1963). – 13. Schwyzer R. et Sieber P.: Nature (Lond.) 199, 172 (1963). – 14. Felber J.-P.: VIe Sympos. int. Les isotopes radioactifs en clinique et en recherche, Badgastein 1964. – 15. Yalow R. S., Blick S., Roth J. et Berson S. A.: The Endocrine Society, 46th Meeting, Program p. 41, 464.