

Insulin antibodies

ศรีสุดา สิตปรีชา*

สมพงษ์ จินายน**

พวงพยอม ปรีชาภาศ***

จากสมมติฐานที่ว่าโรคเบาหวานเป็น *autoimmune disease* โดยเกิดจาก
มี *autoantibodies* คือ *endogenous insulin* ผู้รายงานจึงได้ศึกษาหาปริมาณ
ของ *insulin antibodies* เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่าง *insulin antibodies*
และสาเหตุของโรค

ผลการศึกษาในคนปกติจำนวน 25 ราย ผู้ป่วยเบาหวานที่ยังไม่เคยได้รับการ
การรักษาจำนวน 17 ราย ผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับการรักษาด้วยยาอิน 42 ราย และ
ผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับการรักษาด้วยอินสุลิน 17 รายพบว่า *insulin antibodies*
มีค่าต่ำในคนปกติ ในผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษาอินสุลิน และในผู้ป่วย
เบาหวานที่ได้รับการรักษาด้วยยาอิน และค่าเหล่านั้นไม่มีความแตกต่างกัน แต่
insulin antibodies มีค่าสูงในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยอินสุลิน และมีความ
สัมพันธ์กับระยะเวลาที่ได้รับอินสุลิน กล่าวคือค่าจะสูงขึ้นเมื่อได้อินสุลินนานวัน

| | |
|--|--|
| เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า การใช้อินสุลิน | ที่เกิดขึ้นจะมีผลเพียงเล็กน้อยต่อการรักษาด้วย |
| จากสัตว์รักษาโรคเบาหวานนั้น ทำให้เกิด | อินสุลิน เนื่องจากอินสุลินรวมกับแอนติบอดี |
| <i>insulin-binding antibodies</i> ขึ้นในร่างกาย | ได้น้อย หรือ <i>insulin antibody complex</i> นั้น |
| ผู้ป่วย ^{3,7,20,40} โดยทั่วไป <i>insulin antibodies</i> | ยังคงออกฤทธิ์ในร่างกายได้ ²¹ แต่ในกรณีที่มี |

* แผนกอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** แผนกเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** แผนกรังสีและไอโซโทป คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การรวมตัวของอินซูลินกับแอนติบอดีอย่างมาก ฤทธิ์ของอินซูลินจะน้อยลง จึงทำให้เกิดมีความต้องการของอินซูลินที่ใช้ในการรักษาสูงขึ้น เป็นภาวะที่เรียกว่า คือต่ออินซูลิน ในภาวะเช่นนี้จะเห็นถึงความสำคัญของ insulin antibodies^{12,19} นอกจากนี้มีผู้เสนอว่า insulin antibodies นี้ อาจจะเป็นสาเหตุของพยาธิสภาพในเส้นเลือด (microangiopathy) ในผู้ป่วยเบาหวาน⁹ และจากการทดลองของ Moloney และพวก²⁴ พบว่าหนูที่ได้รับการฉีด anti-insulin serum (ได้จากหนูตะเภาที่ได้รับการฉีด bovine insulin) จะเกิดโรคเบาหวานขึ้น จึงได้มีผู้ตั้งสมมุติฐานว่า โรคเบาหวานเป็น autoimmune disease โดยเกิดจากมี autoantibodies ต่อ endogenous insulin^{9,27}

เนื่องจาก insulin antibodies มีความสำคัญดังกล่าว จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะทำการศึกษาหาปริมาณของ insulin antibodies ในผู้ป่วยเบาหวาน เพื่ออาจจะทราบถึงความสัมพันธ์ของ insulin antibodies กับสาเหตุของโรคและความสัมพันธ์กับการใช้อินซูลินและยารับประทานในการรักษาโรคเบาหวาน

วัสดุและวิธีการ

ได้ทำการศึกษาในคนปกติและผู้ป่วยเบาหวานโดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ

1. คนปกติ จำนวน 52 ราย น้ำหนักตัว 39-70 กก. อายุ 16-69 ปี
2. ผู้ป่วยเบาหวานที่ยังไม่เคยได้รับการรักษา จำนวน 17 ราย น้ำหนักตัว 35-82 กก. อายุ 17-73 ปี
3. ผู้ป่วยเบาหวานที่รักษาด้วยยาเกิน chlorpropamide ขนาด 125-500 มก. ต่อวันระยะเวลาที่ได้ยา 2 เดือน ถึง 5 ปี จำนวน 42 ราย น้ำหนักตัว 41-86 กก. อายุ 36-84 ปี
4. ผู้ป่วยเบาหวานที่รักษาด้วยอินซูลิน อินซูลินที่ใช้เป็นอินซูลินผสมที่ได้จากหมูและวัว จำนวน 17 ราย น้ำหนักตัว 40-60 กก. อายุ 17-73 ปี ชนิด, ขนาดของอินซูลินและระยะเวลาที่ได้ยานี้แสดงในตารางที่ 1

ในการตรวจ insulin antibodies นี้ ใช้ซีรัม โดยเจาะเลือด 5 มล. ในตอนเช้า (7.00-8.00 น.) หลังจากงดอาหารประมาณ 12 ชม. และในกลุ่มที่ 4 เจาะเลือดภายหลังฉีดอินซูลิน 24 ชม. เก็บซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ -20°ซ. จนถึงเวลาที่ทำการตรวจวัดค่า

การตรวจหา insulin antibodies ใช้วิธี radioimmunoassay¹ ซึ่งคัดแปลงมาจากวิธีของ Albino และ Ekins² โดยวัดเปอร์เซ็นต์ insulin binding capacity ในซีรัม

ตารางที่ 1 ผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับการรักษาด้วยอินซูลิน

| ผู้ป่วย | เพศ | อายุ (ปี) | น้ำหนัก (กก.) | ระยะเวลาที่ได้ อินซูลิน (วัน) | ชนิดของอินซูลินและ ขนาด (หน่วย/วัน) | Insulin binding capacity % |
|---------|------|--------------|------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| 1. | หญิง | 35 | 50 | 27 | NPH 80 RI 40 | 15.5 |
| 2. | หญิง | 51 | 41 | 55 | NPH 40 RI 10 | 76.5 |
| 3. | ชาย | 38 | 53 | 2 | RI 120 | 2.4 |
| 4. | ชาย | 17 | 42 | 45 | RI 110 | 62.5 |
| 5. | ชาย | 63 | 52.5 | 2 | RI 30 | 9.1 |
| 6. | หญิง | 70 | 60 | 5 | RI 22 | 8.5 |
| 7. | หญิง | 41 | 50 | 60 | NPH 90 | 74.0 |
| 8. | หญิง | 62 | 49 | 5 | RI 7 | 3.8 |
| 9. | หญิง | 58 | 48 | 30 | RI 100 | 50.2 |
| 10. | หญิง | 22 | 47 | 50 | NPH 75 | 74.1 |
| 11. | หญิง | 64 | 60 | 18 | NPH 52 | 50.8 |
| 12. | ชาย | 73 | 40 | 40 | NPH 50 | 51.1 |
| 13. | หญิง | 69 | 40 | 13 | NPH 15 | 38.5 |
| 14. | หญิง | 67 | 50 | 24 | NPH 95 RI 35 | 52.5 |
| 15. | ชาย | 67 | 53 | 20 | NPH 30 | 14.72 |
| 16. | หญิง | 61 | 59 | 12 | NPH 20 | 18.12 |
| 17. | หญิง | 51 | 56 | 28 | NPH 25 | 48.0 |

NPH = neutral protamine hegedorn (Isophane insulin) ซึ่งได้จากหมูและวัว

RI = regular insulin ซึ่งได้จากหมูและวัว

ผล

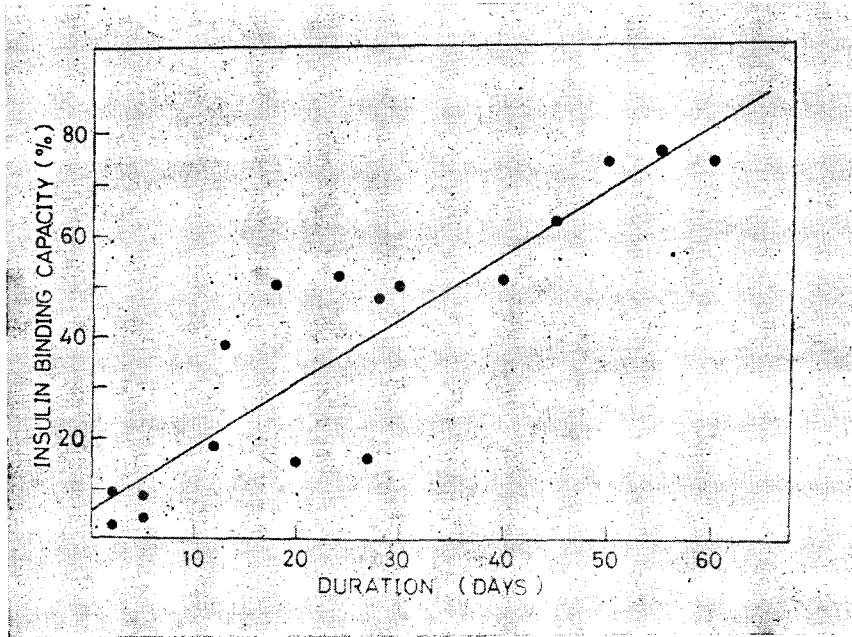
ค่าของ insulin binding capacity (insulin antibodies) ในซีรัมของกลุ่มที่ 1, 2, 3 และ 4 แสดงในตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่าค่าในคนปกติ (กลุ่มที่ 1) กับค่าในผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่เคยได้รับการรักษา (กลุ่มที่ 2) ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) และค่าในผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่เคยได้รับการรักษา (กลุ่มที่ 2) ไม่ต่างกับค่าในผู้ป่วยเบาหวานที่ได้ยารับประทาน คือ กลุ่มที่ 3 ($p > 0.05$)

ค่าของ insulin antibodies ในซีรัมของผู้ป่วยเบาหวานที่ได้อินซูลิน (กลุ่มที่ 4) จะสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่าในคนปกติ ($p < 0.001$) กับค่าในผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่เคยได้รับการรักษา ($p < 0.001$) และกับค่าในผู้ป่วยเบาหวานที่ได้ยารับประทาน ($p < 0.001$)

ค่าของ insulin antibodies ในซีรัมของผู้ป่วยเบาหวานที่ได้อินซูลิน มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาของการได้ยารับประทาน โดยมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ได้ยา correlation coefficient (r) = 0.894 $p < 0.001$ ดังแสดงในภาพที่ 1 และภาพที่ 2

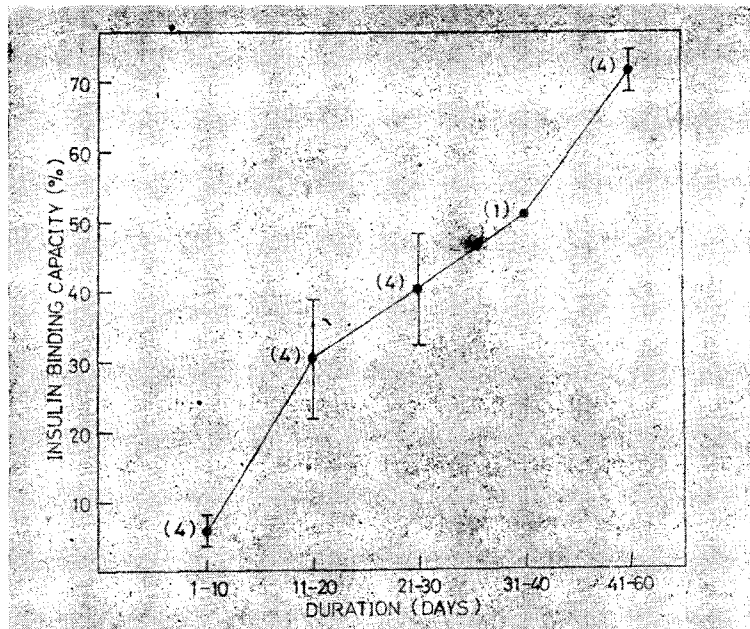
ตารางที่ 2 Insulin binding capacities ในซีรัมของคนปกติ ผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษา และผู้ป่วยเบาหวานที่รักษาด้วยยาอิน

| ผู้ที่ได้รับการตรวจ | จำนวน (ราย) | Insulin binding capacities (%) | |
|---------------------------------------|-------------|--------------------------------|-------------------|
| | | range | mean \pm SD |
| 1. คนปกติ | 52 | 0-13.4 | 3.01 \pm 3.14 |
| 2. ผู้ป่วยเบาหวาน (ไม่ได้รับการรักษา) | 17 | 0-18.12 | 5.24 \pm 5.53 |
| 3. ผู้ป่วยเบาหวาน (ได้ยาอิน) | 42 | 0-19.1 | 6.16 \pm 5.70 |
| 4. ผู้ป่วยเบาหวาน (ได้ยาอินซูลิน) | 17 | 2.4-76.5 | 38.26 \pm 26.29 |



ภาพที่ ๑ ความสัมพันธ์ระหว่าง serum insulin binding capacity และระยะเวลาที่ผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวานแต่ละรายได้รับการรักษาด้วยอินซูลิน

correlation coefficient (r) = 0.894, p < 0.001, n = 17
 regression equation y = 6.1711 ± 1.25094



ภาพที่ ๒ ระดับ serum insulin binding capacity (mean ± SEM) สูงขึ้นตามระยะเวลาที่ผู้ป่วยได้รับการฉีดอินซูลิน (จำนวนเลขในวงเล็บแสดงจำนวนของผู้ป่วย)

บทวิจารณ์

เนื่องจาก autoimmune mechanism เป็นสาเหตุหนึ่งของ hypothyroidism¹⁷ และ hypoadrenalism^{8,18} ดังนั้นจึงมีผู้คิดว่าสาเหตุของโรคเบาหวานอาจมาจาก autoimmune process ซึ่งทำให้เกิดความเสื่อมของ pancreatic islets ขึ้น ได้มีการศึกษาและทราบถึง antigenicity ของอินซูลิน ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1928³⁹ และได้พบว่ามี lymphocyte infiltration ที่ islet of Langerhans ในวัวและกระต่ายภายหลังให้อินซูลิน^{12,29,30} พร้อมกับมีอาการของโรคเบาหวานเกิดขึ้นในกระต่ายตัว จากการศึกษาพยาธิสภาพของ islet of Langerhans ในเด็กแรกเกิดจากแม่ที่เป็นเบาหวานมี eosinophil infiltration 30%³³ และในผู้ป่วยเบาหวานอายุน้อย (juvenile) จำนวนมากมี lymphocyte infiltration ที่ islet^{13,22} นอกจากนี้การตรวจพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดในอวัยวะต่าง ๆ ของผู้ป่วยเบาหวานมีลักษณะซึ่งว่ามี insulin antibody complex เกิดขึ้น^{9,10,25} และในสัตว์ทดลองจะพบพยาธิสภาพเช่นเดียวกับที่ผนังของเส้นเลือดภายหลังให้อินซูลิน^{28,31} การตรวจหา insulin antibodies ในซีรัมของผู้ป่วยเบาหวานซึ่งยังไม่ได้รับการรักษาเป็นวิธีการอีกอย่างหนึ่งที่จะศึกษาในเรื่อง autoimmune mechanism Pav ได้ตรวจ

หา insulin antibodies โดยวิธี complement consumption test พบว่า insulin antibodies ในผู้ป่วยเบาหวานที่ยังไม่ได้รับการรักษาจะมีค่าสูงกว่าในคนปกติ²⁷ แต่ผลที่ได้จากการศึกษาใหม่พบว่า insulin antibodies ในซีรัมของผู้ป่วยเบาหวานมีค่าต่ำและไม่แตกต่างกับค่าในคนปกติซึ่งตรงกับรายงานอื่น ๆ^{26,32,34,41} ในผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับการรักษาด้วยยากลุ่ม sulphonylurea นั้น ได้มีรายงานถึงยา tolbutamide ทำให้มี insulin antibodies สูงขึ้น แต่ chlorpropamide จะไม่มีผลเช่นนั้น¹⁴ จากการศึกษาผู้ป่วยซึ่งได้ยา chlorpropamide พบว่าค่า insulin antibodies ในผู้ป่วยพวกนี้ไม่แตกต่างกับค่าในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษา

จากการศึกษานี้พบว่าค่าของ insulin antibodies ในซีรัมของผู้ป่วยเบาหวานที่ได้อินซูลินจะสูงขึ้นและมีความแตกต่างกับค่าในคนไข้เบาหวานที่ไม่เคยได้รับการรักษา ซึ่งตรงกับรายงานอื่น ๆ^{3,7,20,40} เนื่องจากอินซูลินที่ใช้มีสารอื่นปนอยู่ด้วย เช่น proinsulin, arginine insulin, insulin ethyl ester เป็นต้น Steiner³⁸ ได้ทำการแยกสารเหล่านั้นตามน้ำหนักโมเลกุลด้วย sephadex และแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน คือ a, b และ c ส่วน a และส่วน b เป็นแอนติเจนที่ทำให้เกิดแอนติบอดีได้มากแต่ส่วน c นั้นมักจะไม่ทำให้เกิดแอนติ-

บอดี้อย่างอื่น นอกจากนั้นในระหว่างการเก็บอินซูลิน จะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของอินซูลิน เกิดเป็น desamido insulin และ degradation products อื่น ๆ ซึ่งทำให้เกิดแอนติบอดีได้ จำนวนน้อยในสัตว์^{35,36} แต่ในคนได้มีรายงาน ว่า desamido insulin ทำให้เกิดได้จำนวนมาก¹⁵ insulin antibodies ที่เกิดอย่างน้อยมี 2 ชนิด ชนิดหนึ่งเคลื่อนย้ายไปกับ β -globulin^{4,23} ไม่ทนความร้อน เป็นสาเหตุของการแพ้อินซูลิน โดยแสดงอาการของลมพิษ angioneurotic edema และ anaphylactic shock อีกชนิดหนึ่งเคลื่อนย้ายไปกับ α -globulin มีการรวมตัวกับอินซูลิน^{4,5} ถ้ามีจำนวนมากขึ้น อาจจะทำให้เกิดคอต้ออินซูลิน⁵

สำหรับความสัมพันธ์ของ insulin antibodies กับขนาดของอินซูลินและระยะเวลาที่ได้ อินซูลินนั้นจากรายงานนี้ พบว่า insulin antibodies ไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของอินซูลิน ซึ่งสนับสนุนผลงานของ Skom และ Hurn^{37,16} แต่ insulin antibodies มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ได้อินซูลิน โดยค่าจะสูงขึ้นเมื่อได้อินซูลินนานวัน ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Sebr- iakova³⁴ ที่พบว่าค่าของ insulin antibodies

ที่เกิดภายหลังได้อินซูลินจะสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึง เกือบที่ 6 และจากนั้นจะลดลง

การศึกษานี้เป็นเพียงขั้นแรก ควรได้มีการศึกษาต่อไปโดยการหาค่า insulin antibodies เป็นระยะๆ ผู้ป่วยเบาหวานซึ่งได้อินซูลิน จำนวนคงที่และระยะเวลานาน เพื่อจะแสดงความสัมพันธ์ของ insulin antibodies และระยะเวลาได้ชัดเจนขึ้น นอกจากนั้นการตรวจหา insulin antibodies ที่เกิดจากอินซูลินชนิดต่าง ๆ อาจจะเป็นประโยชน์ในการเลือกชนิดของอินซูลินในการนำมาใช้ในการรักษาในด้าน การป้องกันผลข้างเคียงที่เกิดจากอินซูลิน หรือ โรคแทรกซ้อนซึ่งอาจจะเกิดจาก insulin- antibodies complex และในการลดปริมาณอินซูลินที่ใช้

สรุป

ในคนปกติ ในผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยอินซูลิน และในคนไข้เบาหวาน ที่ได้ยาเกินระดับของ insulin antibodies มีค่าต่ำ และค่าเหล่านั้นไม่มีความแตกต่างกัน การให้อินซูลินในการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน ทำให้ค่า insulin antibodies สูงขึ้นซึ่งมีความแตกต่างกับค่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาและมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ได้อินซูลิน

เอกสารอ้างอิง

1. สมพงษ์ จินายน, ศรีสุดา สิตปรีชา, พวงพยอม อาริวัฒนา: Radioimmunoassay of serum insulin and its clinical application. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 17:117-129, 2515.
2. Albino J, Ekins PP: The attainment of high sensitivity and precision in radio-immunoassay techniques as exemplified in a simple assay of serum insulin. In vitro procedures with radioisotopes in medicine. Proc of IAEA symposium, 1970, pp. 491.
3. Banting FG, Franks WR, Gairns, S: Anti-insulin activity of serum of insulin treated patients, *Am J Psychiatry* 95:562-564, 38.
4. Berson SA, Bauman A, Rothschild MA, et al: Insulin¹³¹I metabolism in human subjects: demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. *J Clin Invest* 35:170-190, 56.
5. Berson SA, Yalow RS: Studies with insulin-binding antibody. *Diabetes* 6:402-407, 57.
6. Berson SA, Yalow RS: Kinetics of reaction between insulin and insulin-binding antibody. *J Clin Invest* 36:873-874, 57.
7. Berson SA, Yalow RS: Quantitative aspects of the reaction between insulin and insulin-binding antibody. *J Clin Invest* 38:1996-2016, 59.
8. Blizzard RM, Kyle M: Studies of the adrenal antigens and antibodies in Addison's disease. *J Clin Invest* 42:1653-1660, 63.
9. Blumenthal HT, Goldenberg S, Berns AW: Pathology and pathogenesis of the disseminated angiopathy of diabetes mellitus. In on the nature and treatment of diabetes, Liebel BS, Wrenshall GA, editors. Amsterdam, Excerpta Medica, 1965, pp 397-406.
10. Burkholder PM: Immunohistopathologic study of localized plasma proteins and fixation of guinea pig complement in renal lesions of diabetic glomerulosclerosis. *Diabetes* 14:755-770, 65.
11. Feldman R, Grodsky GM, Kohout FW, et al: Immunologic studies in a diabetic subject resistant to bovine insulin but sensitive to porcine insulin. *Am J Med* 35:411-417, 63.
12. Grodsky GM, Forsham PH: Insulin and the pancreas. *Ann Rev Physiol* 28:347-380, 66.
13. Gepts W: Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 14:619-633, 65.
14. Gulati OD, Patel DG: Effects of various drugs on insulin antibodies. *BR J Pharmac* 42:66-77, 71.
15. Galloway JA, Root MA, Chance RE, Jackson RL, Wentworth SM, Davidson A: New forms of insulin. In *Endocrinology and Diabetes*. Grune E Stratton, 1975, p 329.

16. Hurn BAL, Farrant PC, Youne BA et al: Insulin-binding antibody and hormone dosage in non-resistant diabetes. *Postgrad Med J* 45 : 819-24, 69.
17. Hall R: Immunologic aspects of thyroid function. *New Eng J Med* 266 : 1204-11, 62.
18. Irvine WJ, Stewart AG, Scarth L: A clinical and immunological study of adrenocortical insufficiency (Addison's disease). *Clin Exp Immunol* 2 : 31-70, 67.
19. Karam JH, Grodsky GM, Forsham PH: Insulin-resistant diabetes with autoantibodies induced by exogenous insulin. *Diabetes* 18 : 445-54, 69.
20. Lowell FC: Evidence for the existence of 2 antibodies for crystalline insulin. *Proc Soc Exper Biol + Med* 50 : 167-72, 42.
21. Lev-ran A, Ratt L, Laor J: Some characteristics of insulin antibodies in nonresistant diabetes. *Isr J Med Sci* 8 : 905-06, 72.
22. Le Compte PM: "Insulitis" in early diabetes. *Arch Path* 66 : 450-57, 58.
23. Loveless MH, Cann JR: Distribution of allergic and "blocking" activity in human serum proteins fractionated by electrophoresis convection. *Science* 117 : 105-08, 53.
24. Moloney PJ, Coval M: Antigenicity of insulin: diabetes induced by specific antibodies *Biochem. J* 59 : 179-85, 55.
25. Mancini AM, Zampa GA, Costanzi G: Immunological aspects of lesions of diabetic microangiopathy. *Proc 2nd Int Congr of Series* 83 : 893, 64.
26. Mitchell ML, Bradford AH: The Measurement of insulin binding by resin paper in vitro. *Diabetes* 12 : 257-61, 63.
27. Pav J, Jezkva Z, Skrha F: Insulin antibodies. *Lancet* 2 : 221-22, 63.
28. Prout TE: The clinical structure of insulin in relation to biological activity and to antigenicity. *Metabolism* 12 : 673-86, 63.
29. Renold AE, Soeldner JS, Steinke J: Immunological studies with homologous and heterologous pancreatic insulin in the cow. *Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology: Etiology of diabetes mellitus and its complications* 15 : 122-39, 64.
30. Renold AE, Steinke J, Soeldner JS, et al: Immunological response of heifers to the administration of porcine and bovine (homologous) insulin. *J Clin Invest* 42 : 969-70, 63.
31. Rabb GB, Getty RE, Williamson WM, et al: Spontaneous diabetes mellitus in tree shrews (*Urogale everetti*). *Diabetes* 15 : 327-30, 66.
32. Renold AC, Quoted by Cobb R, Hanley T, et al: Reports from Meetings. "Antibodies to insulin" *Diabetologia* 2 : 133, 66.
33. Silverman JL: Eosinophile infiltration in the pancreas of infants of diabetic mothers. A clinicopathologic study. *Diabetes* 12 : 528-37, 63.

34. Sebriakova M, Little JA : A method for the determination of plasma insulin antibodies and its application in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 22 : 30-40, 73.
35. Schlichtkrull J, Brange J, Christiansen AH, Hallund O, Heding LG, Jorgensen KH : Clinical aspects of insulin antigenicity. *Diabetes* 21 (Suppl 2) : 649-56, 72.
36. Schlichtkrull J, Brange J, Christainsen AH, Hallund O, Heding LG, Jorgensen KH, Rasmussen SM, Sorensen E, Volund A : Monocomponent insulin and its clinical implications. *Horm Metab Res* 5 (Suppl) : 134-143, 74.
37. Skom JH, Talmage DW : The role of nonprecipitating insulin antibodies in diabetes J. *Clin Invest* 37 : 787-93, 58.
38. Steiner DF, Oyer PE : The biosynthesis of insulin and a probable precursor of insulin by a human islet cell adenoma. *Proc Nat Acad Sci USA* 57 : 473-80, 67.
39. Tuft L : Insulin hypersensitiveness : Immunologic considerations and case reports. *Am J Med Sci* 176 : 707-20, 28.
40. Wasserman P, Broh-kahn RH, Mirsky IA : The antigenic properties of insulin. *J Immunol* 38 : 213-19, 40.
41. Welborn TA, Richards R, Fraser TR : Simple test for insulin antibodies in sera using¹³¹I-insulin and ethanol precipitation. *Br Med J* 1 : 719-22, 67.