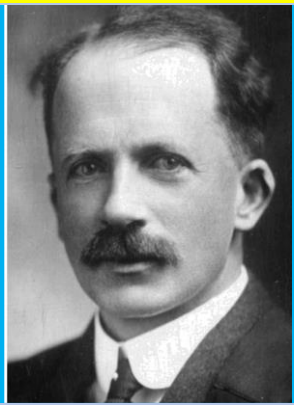
بانتینگ و بست

کوشش برای کشف انسولین

Frederick Grant Banting



John James Rickard Macleod

James Bertram Collip

Charles Herbert Best

Hospital Practice

May 15.1992

Murray saffran, PhD

استاد بخش بیوشیمی و بیولوژی مولکولی

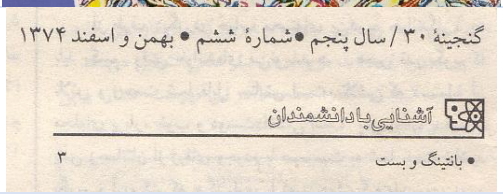
دانشگاه پزشکی اوهایو، تولدو، آمریکا

ترجمه

دکتر محمد حسن هدایتی امامی

۱۳۷٤

این مقاله با کمی تغییرات در مجله گنجینه چاپ شده‌است.



Anton Carlson	آنتون کارلسن
Aretaeus	آرتائوس
Bernard Naunyn	برنارد نونین
Charles Herbert Best	چارلز ه بست
Claude Bernard	کلود برنارد
Duboscq	دوبوسک
E L scott	ا ل اسکات
Ernest Hoppe-Seyler	ارتسن هوپ سیلر
Frederick Grant Banting	فردریک ج بانتینگ
Galen	جالینوس
Georg Joseph Beer	**جرج ژزف بیر**
Georg L Zuelzer	جورج ل زول زر
Hippocrates	بقراط
J De Meyer	ج د مایرر
James Bertram Colipp	جمیز برترام کولیپ
Johan Conrad Brunner	یوهان کنراد برونر
Johann Heinrich Lambert	**یوهان هینریش لامبرت**
Johann Schmiedeberg	یوهان شمیدبرگ
Joseph von Mering	ژزف فون مرینگ
Matthew Dobson	ماتئو دابسون
Nicholas C Paulesco	نیکولاس پولسکو
Oskar Minkowski	اسکار میکوفسکی
Paul Langerhans	پاول لانگرهانس
Samuel J meltzer	ساوئل ج ملتزر
Staneley R Benedict	استانلی و بندیکت
Thomas Willis	توماس ویلیس
Vesalius	وسالیوس

انسولین در سال ۱۹۲۲ کشف شد. دو سال بعد، در سال ۱۹۲٤، در نظر پدر و مادر هر کودک دیابتی، کشف انسولین معجزه‌ای بود که عمر فرزندشان را طولانی تر می‌کرد. بدون تزریق انسولین، کودکان دیابتی چند ماهی بیشتر زنده نمی‌ماندند.

دانشمندان طی ۲۵ سال قبل از ۱۹۲۲، حدود ٤۰۰ بار سعی کرده‌بودند، انسولین را از لوزه المعده جدا کنند، ولی همیشه ناکام مانده بودند. چه شرایطی فراهم شده‌بود که به فردیک ج بانتینگ و چارلز ه بست کمک کرد تا انسولین را کشف کنند؟

بانتیگ و بست از سه فرصت خوب استفاده کردند.: اول آن‌که زمان برای کشف انسولین مناسب شده‌بود و با پشتکار به‌کار پرداختند. دوم آن‌که مشخص شده‌بود لوزه المعده کلید حل معمای دیابت است. سوم آن‌که سه روش جدید، تقریبا همزمان با هم اخیرا اختراع شده‌بود: ۱)- روش معتبری برای اندازه‌گیری گلوکز در نمونه اندکی از خون. ۲)- روش مطمئنی برای برداشتن لوزه المعده سگ‌ها، و ۳)- پیشرفت‌هائی در جداکردن اجزاء بافت ها. در انتخاب دوز انسولین نیز که به‌سگ‌های دیابتی تزریق می-کردند، نیز شانس آوردند.

بانتینک و بست برای پی‌بردن به راز و رمز دیابت قندی، از سگ‌ها استفاده کردند. لوزه المعده آن‌ها را برداشتند. یکی از آن سگ‌ها در این عکس دیده‌می شود.

گلوکر در خون

دیابت فندی البته از قدیم وجود داشته‌است. در دستنویسی متعلق به ۱۵۰۰ سال پیش از میلاد مسیح، از آن به‌صورت بیماری "تکرر ادرار" نام برده‌شده‌است. در قرن دوم پیش از میلاد، آرتائوس (Aretaeus) که در کاپادوکیه، بخش شرقی سرزمینی که اکنون ترکیه است، می زیست، در قیاس با سیفونی که برای

برداشتن نمونه ای از شراب از خم به کار می‌رفت، آن را دیابت نامید؛ این اصطلاح از کلمه‌ای یونانی به‌معنی "جاری بودن" گرفته شده است. شراب از خم و ادرار از بیمار جاری است.

با آن‌که نشانه اصلی دیابت قندی وجود گلوکز در ادرار است، قرن ها طول کشید تا به این موضوع پی‌بردند. مثلا در قرن دوم پس از میلاد مسیح بود که پزشکان چینی پی‌بردند ادرار بیماران دیابتی شیرین است. درمان‌گران هندی هم تنها در نیمه اول هزاره اخیر بود که به‌این نکته توجه کردند. پزشکان اروپائی هم متوجه شده‌بودندکه اگر بگذارند ادرار بیماران دیابتی خشک شود، رسوب سفیدی برجای می‌ماند، ولی متوجه شیرینی ادرار دیابتی‌ها نشدند، تا آن‌که توماس ویلیس (۱۶۲۱ – ۱۶۷۵) ادرار یک بیمار دیابتی را چشید و اعلام کرد که "آن را با عسل آغشته کرده‌اند" (۱۶۷٤).

یک صد سال بعد، پزشک انگلیسی دیگری، ماتیو دابسن، سرم خون یک بیمار دیابتی را چشید و دریافت که "مزه ای شیرین دارد، ولی فکر می‌کنم به شیرینی ادرار خود بیمار نباشد." دابسن دستور داد دو لیتر ادرار بیمار دیابتی را تبخیر کنند و مشاهده کرد "باقیمانده سفیدی بر جای می‌ماند که دانه دانه است، و به‌راحتی

در بین انگشتان می‌شکند. مثل شکر قرمز، بوی شیرین دارد و حتی با چشیدن هم نمی‌توان آن را از شکر تمیز داد."

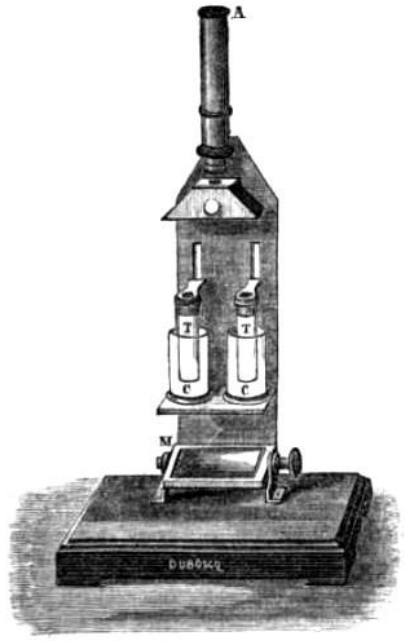
اولین پیشرفت در شناسائی ماده شیرین موجود در ادرار و خون بیماران دیابتی آن بود که کشف کردند با مخمر می‌توان آن را به کربن دیوکسید تخمیر کرد. در واقع قدیمی‌ترین اقدام برای اندازه‌گیری مقدار گلوکز خون، استفاده از مخمر بود که در جریان آن، مقدار کربن دیوکسید حاصل از تخمیر گلوکز را اندازه می‌گرفتند. بعد از آن از خاصیت محلول‌های قندی در چرخاندن سطح نور قطبی شده توسط منشور کوارتز استفاده کردند تا مقدار قند موجود در ادرار و خون را اندازه بگیرند. پس از تکمیل روش-های تجزیه شیمیائی، معلوم شد که ماده شیرین کننده ادرار و خون دیابتی‌ها، قند میوه یا همان گلوکز است که چون محلول آن نور قطبی شده را به‌راست می چرخاند، دکستروز نامیده‌شد.

هنگامی که استانلی ر بندیکت در سال ۱۹۰۷ محلولی ساخت که با آن می‌شد تخمینی نیمه کیفی از مقدار گلوکز ادرار به‌دست آورد، انقلابی در شیمی پدیدار شد. در آزمون بندیکت هرگاه محلول قلیائی آبی رنگ نمک مس را با مقدار گلوکز بیشتر و بیشتر گرم کنند، به‌ترتیب ابتداء زرد، بعد قرمز، قهوه ای و سیاه می‌شود. به‌زودی نمودار رنگ‌ها و مقادیر مربوطه گلوکز فراهم

شد، تا با مقایسه رنگ بدست‌آمده با آن بتوان مقدار گلوکز را تخمین زد. مولکول گلوکز در محلول قلیائی بندیکت، الکترون هائی به یون‌های مس (Cu^{++}) آبی رنگ می‌دهد و آن را به یون های Cu^{+}، هیدروکسید مس، و حتی به مس فلزی تبدیل می‌کند. همین پدیده‌ها اساس آزمون بندیکت است؛ تغییر رنگ به‌شدت کاهش بستگی دارد. آزمون بندیکت ، با معیارهای امروز، آزمونی ابتدائی است، ولی در زمان خود دست‌آورد بزرگی بود که به پزشکان کمک می‌کرد تا از روی مقدار گلوکز ادرار بتوانند دیابت قندی را تشخیص بدهند و شدت این بیماری را مشخص کنند.

ابتدا نتوانستند برای اندازه‌گیری گلوکز خون از آزمون بندیکت استفاده کنند، زیرا اکثر پروتئین‌های خون با مس موجود در محلول واکنش می‌کرد؛ در واقع مقدار زیادی از مس به‌صورت رسوب پروتئین – مس، از محلول خارج می‌شد. بعد متوجه شدند اگر به خون، محلول قلیائی اضافه کنند، و گرما بدهند، می‌توان بخشی از پروتئین را حذف کرد و نمونه خوبی برای انجام آزمایش بندیکت به‌دست آورد. لیکن حجم نمونه خون می‌بایست زیاد (حدود ۵ میلی‌لیتر) باشد. بعدها که توانستند روش‌های بهتری برای حذف پروتئین‌های مزاحم ابداع کنند، حجم نمونه کمتر شد، به ۰/۱ میلی‌لیتر رسید.

با ابداع رنگ‌سنج که برمبنای قوانین فیزیکی کشف‌شده توسط یوهان هانریش لامبرت و جرج ژزف بیر ساخته‌شده، هم حساسیت، هم دقت اندازه‌گیری گلوکز خون زیاد شد. طبق قانون لامبرت، شدت رنگ هر محلول رنگی متناسب با طول مسیر عبور نور از آن محلول است. طبق قانون بیر، شدت رنگ متناسب با غلظت ماده رنگین موجود در هر محلول است.



Duboscq colorimeter

یکی از این رنگ سنج‌های اولیه، ابزار دوباسک بود که شبیه **Y** وارونه است. نوری که از دو ستون مایع رنگین می‌گذرد

توسط آینه‌ای به دو نیمه میدان بینائی آزمایش‌کننده منحرف می‌شود. با پیچ‌هائی می‌توان طول مسیر عبور نور را از دو محلول رنگی تغییر داد. آزمایش‌کننده با این پیچ‌ها طول مسیر عبور نور را آن‌قدر کم و زیاد می‌کند تا شدت رنگ دو نیمه میدان بینائی وی یکسان شود. در یک شاخه **Y** وارونه محلول رنگینی وجود دارد که غلظتش معلوم است و در شاخه دیگرآن، محلول رنگی مورد آزمایش را می ریزند. هنگامی که شدت هر دو رنگ یکسان می‌شود، آزمایش‌کننده می‌تواند طول مسیر عبور نور را در هر دو شاخه بخواند و با محاسبه‌ای ساده، غلظت محلول نامعلوم را پیدا کند. گرچه مقایسه دو رنگ ذهنی است، ولی حساسیت چشم انسان آن‌قدر خوب هست که بتوان با درستی قابل ملاحظه‌ای غلظت مواد را تعیین کرد. با رنگ‌سنج دوباسک ، بانتینگ و بست توانستند با سرعت، حساسیت، و درستی کافی، تراز گلوکز خون را اندازه بگیرند و تغییرات آن را در پی تزریق عصاره لوزه المعده پی‌گیری کنند.

برداشتن لوزه‌المعده (پانکراس)

ظاهراً اولین بار بقراط (٤٦٠ –٣٧٧ پیش از میلاد) بود که کلمه پانکراس را به‌کار برد. این کلمه یونانی به‌معنی "تمام گوشت" است، زیرا عضو مورد نظر فاقد هرگونه بافت نگه‌دارنده

است. جالینوس (۱۲۹ –۲۰۰ پس از میلاد) می‌گفت که پانکراس بالشتکی است برای حفاظت اعصاب، عروق، و مجرای صفراوی. او هم‌چنین متوجه شده‌بود که لوزه‌المعده مایعی با کار نامعلوم ترشح می‌کند. وسالیوس (۱۵۱٤ – ۱۵٦٤) اولین کسی بود که لوزه‌المعده و مخصوصاً ارتباطش با دوازدهه را خوب توصیف کرد. دانشمندان دیگر، اندکی بعد گفتند که لوزه‌المعده نقشی در هضم غذاها دارد. یک راه خوب برای فهمیدن کار لوزه‌المعده، عبارت بود از برداشتن آن و توجه به آشفتگی‌های حاصله.

یوهان کنراد برونر (۱٦۵۳ – ۱۷۲۷) پزشکی سویسی بود که در استراسبورگ درس خواند. تحصیلاتش را در پاریس، لندن، اکسفورد، لیدن، و آمستردام ادامه داد. برونر علی‌رغم داشتن آن مدارج علمی، در شهرک زادگاه خود در "دیمن هوفن داخ" ایالت تورگو مقیم شد و به طبابت پرداخت. در مورد کار دستگاه گوارش کنجکاو شد، لذا کالبدشناسی و فیزیولوژی لوله گوارش را مورد بررسی قرار داد. در سال ۱٦۸۷ غددی را در دوازدهه انسان کشف کرد، که امروز به نام خود وی معروف است. ولی قبل از آن برای اولین بار لوزه‌المعده سگی را برداشت. در اواخر قرن هفدهم غیر از مشروبات الکلی، بیهوش‌کننده دیگری وجود نداشت، میکروب کش‌ها را نمی شناختند و انجمن حمایت حیوانات یا قانونی نبود

تا آزمایش روی حیوانات را منع‌کند. برونر سگی را از یک روستائی "قرض" کرد و با کمک دستیاران، سگ را به‌تخت عمل بست. موی شکم سگ را تراشید، چند سانتی‌متری آن را شکافت، لوزه‌المعده سگ نمایان شد. آن را از راه همان شکاف بیرون کشید. مواظب بود که به اعضاء دیگر آسیبی نرساند. قبل از بریدن بخش بالای لوزه المعده، اول رگ‌ها و پیوندهای بافتی و همچنین مجرای لوزه‌المعده را بست. سپس زخم را با پیه خوک داغ پرکردند و محکم دوختند.

در گزارش برونر که به زبان لاتین نوشته‌شده‌بود، به واکنش سگ در طی عمل جراحی اشاره نشده‌است. روز بعد، آن سگ بدون لوزه‌المعده، دائم در باغچه ادرار می‌کرد و مقدار زیادی شیر رقیق شده با آب می‌نوشید. زخم بار دیگر با پیه داغ پوشانده شد. برای خارج کردن چرک، بخیه ها باز شد. در روز سوم پس از عمل، حال سگ رو به بهبود بود. خیلی گرسنه بود. آنقدر دل و روده گاو خورد، آب نوشید تا سیر شد. روز بعد سگ راه می‌رفت و به صاحب خود برگردانده شد. آن سگ شش ماه دیگر هم سگ نگهبان بود و به نظر می‌رسید که خوب و سالم است. ولی برونر نمی‌توانست آزمایش خود را ناتمام بگذارد. دوباره سگ را گرفت و کالبدشکافی کرد. با آن که سگ تازه ادرار کرده‌بود، مثانه

اش پر از ادرار بود. تنها بقایائی از بخش بالائی لوزه‌المعده وجود داشت که آن هم تحلیل رفته‌بود و کانی شده‌بود. برونر اولین کسی بود که در پی برداشتن آزمایشی لوزه‌المعده، پرادراری، پرنوشی و پرخوری مربوط به دیابت را می‌دید.

تقریبا هیچکس به کار برونر توجه نکرد. پژوهشگران دیگر، از جمله کلود برنارد بزرگ، متقاعد شده‌بودند که در پی برداشتن لوزه‌المعده، ادامه زندگی غیر ممکن است. شخصیت علمی برنارد آنچنان عظیم بود که به احترام نظرش کسی دیگر به فکر پژوهش در مورد لوزه‌المعده نیفتاد.

حدود ۲۰۰ سال بعد بود که اوسکار مینکوفسکی و ژوزف فون مرینگ رویدادهای پس از برداشتن لوزه‌المعده را تائید کردند.

بیسمارک بلافاصله پس از اشغال آلزاس در جریان جنک ۱۸۷۰ – ۱۸۷۱ فرانسه پروس، دانشگاه پزشکی عظیمی در استراسبورگ ساخت و کرسی هائی تاسیس کردکه بعضی از مهم ترین دانشمندان عصر از جمله برنارد نونین در طب، ارنست هوپ سیلر در شیمی فیزیولوژی، و شمیدبرگ در فارماکولوژی را به سوی خود جلب نمود.

مینکوفسکی در روسیه به دنیا آمد. برای ادامه تحصیلات به کونسک‌برگ در پروس شرقی رفت. تبعه پروس شد و در همان جا تحصیلات پزشکی خود را تمام کرد. نونین در همان زمان در کونیسک‌برگ بود و هنگامی که به کرسی طب استراسبورگ منصوب شد، مینکوفسکی را به عنوان دستیار به آن جا آورد. مینکوفسکی جراح ماهری بود و بیمارانی را برای عمل جراحی انتخاب می‌کرد که به نظر دیگران مشکل می‌آمد.

فون‌مرینگ نیز در پروس درس خوانده بود، ولی از راه دیگری سر از استراسبورگ در آورد. او در برلین درس می‌داد، ولی به‌خاطر ایجاد مزاحمت برای پرستاران، عذرش را خواستند. پست بالینی دیگری هم وجود نداشت. بالاخره در بخش شیمی فیزیولوژی استراسبورگ پستی پیدا کرد. در آنجا بدون آن‌که فرصت چندانی برای تماس با پرستاران داشته‌باشد، در باره هضم و جذب چربی‌ها کار می‌کرد. یک سوال درباره هضم چربی‌ها بود که در سال ۱۸۸۹ فون‌مرینگ و مینکوفسکی را به‌هم نزدیک کرد.

مینکوفسکی برای مطالعه مجلات شیمی به کتابخانه بخش شیمی فیزیولوژی فون سیلر آمده‌بود که با فون‌مرینگ ملاقات می‌کند و درباره نقش لوزه‌المعده در هضم چربی‌ها با هم گفتگو می‌کنند. مینکوفسکی برای اثبات نکته‌ای به فون‌مرینگ می‌گوید که

به‌سگ بدون لوزه‌المعده می‌توان چربی خوراند. فون‌مرینگ بدون آن‌که به‌گفته کلود برنارد (که به‌گمانش بدون لوزه‌المعده ادامه زندگی غیر ممکن است) توجه‌ای بکند، همان روز سگی را تحویل مینکوفسکی داد. این دو در شرایط استریل لوزه‌المعده سگ را برداشتند. سگ عمل جراحی را خوب تحمل‌کرد. سگ را در لانه‌ای در آزمایشگاه آن‌قدر نگه‌داشتند تا زخم‌هایش خوب‌شد. این دو دانشمند قرار گذاشتند هضم چربی را در نبود لوزه‌المعده مطالعه بکنند.

فون‌مرینگ به‌خاطر بیماری یکی از افراد خانواده‌اش مجبور شد شهر را ترک بکند. آن سگ عمل‌شده، با آن‌که آموخته بود در لگن ادرار کند، سرتاسرآزمایشگاه را کثیف کرد. با آن‌که قبل از عمل سگ را وادار به ادرار کردن کرده‌بودند، باز چندین بار به‌کف آزمایشگاه ادرار کرد. مینکوفسکی به دستیار آزمایشگاه ایراد می‌گرفت که خوب مراقب سگ نیست. دستیار هم در اعتراض می‌گفت "خوب مراقبت می‌کنم، و لی این سگ حیوان عجیبی شده‌است، هنوز مثانه‌اش را خوب خالی نکرده‌است، باز هوس ادرار می‌کند."

ذهن کنجاو مینکوفسکی به‌کار افتاد. آخر او در بخش نونین کار می‌کرد. نونین درباره سوخت و ساز قندها و دیابت

صاحب نظر بود. ادرار سگ را آزمایش کردند. معلوم شد بیش ۱۰٪ گلوکز دارد. در ابتدا مینکوفسکی فکر کرد که سگ فلوریدین خورده‌است. این ماده باعث دفع قند با ادرار می‌شود و فون‌مرینگ با این ماده کار می‌کرد. لیکن بعد مینکوفسکی دریافت اثر فلوریدین کوتاه مدت است، در حالی‌که سگ همچنان با ادرار گلوکز دفع می‌کرد. مینکوفسکی با هیجان چند سگ دیگر را هم عمل کرد و متوجه شد که همه آن ها با ادرار گلوکز دفع می‌کنند.

هنگامی که فون‌مرینگ از سفر برگشت، مینکوفسکی جزئیات آزمایش ها را برای او شرح داد. هر دو تصمیم گرفتند مطالعه هضم چربی را به بعد موکول کنند، به‌جای آن در سال ۱۸۸۹ آن مقاله کلاسیک در باره کار خود را نوشتند. فون‌مرینگ اندکی بعد به‌این موضوع بی‌علاقه شد، ولی مینکوفسکی به‌کار ادامه داد و در سال ۱۸۹۳ مقاله مهم دیگری نوشت. این تجربیات ثابت کرد که لوزه المعده محل تولید ماده‌ای است که از دیابت جلوگیری می‌کند و نظریه‌های دیگر را که می‌گفتند دیابت قندی بیماری عصبی یا گوارشی است، کنار زد.

سال‌ها قبل در ۱۸۶۹، پزشک ۲۲ ساله‌ای به نام پاول لانگرهانس پایان‌نامه ۳۱ صفحه‌ای خود را درباره ساختمان میکروسکوپی لوزه‌المعده نوشته‌بود. دسته سلول‌های خاصی را

شرح داده‌بود که در دریای بافت اختصاصی لوزه‌المعده، همچون جزایری به‌نظر می‌رسیدند. پس از انتشار کار فون‌مرینگ و مینکوفسکی، گفتند که همین جزایر لانگرهانس ارتباطی با جلوگیری از پیدایش دیابت قندی دارد. در سال ۱۹۰۹ دانشمندی بلزیکی به نام ج دو مایر آن ماده فرضی پیش‌گیری کننده از دیابت قندی را Insuline نامید. در سال ۱۹۱٦ فیزیولوژیست انگلیسی سر ادوارد شارپی شافر، با املای انگلیسی آن را Insulin نوشت.

عصاره لوزه‌المعده و انسولین

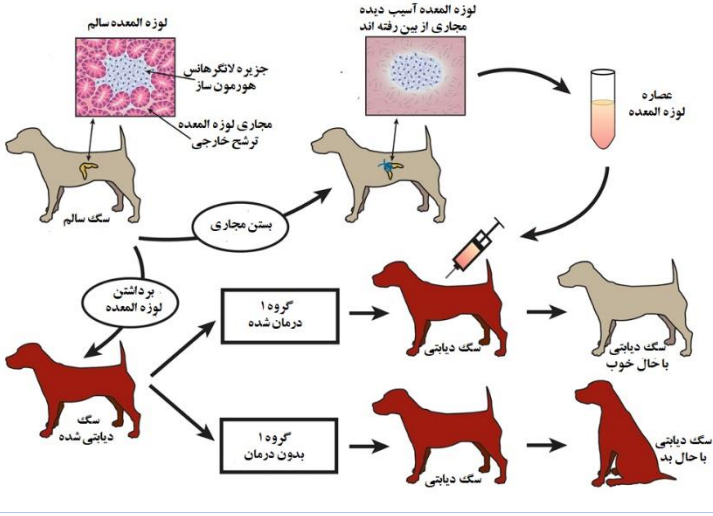
جستجو برای یافتن انسولین از قرن نوزدهم شروع شد. به عنوان نمونه A Capparelli در سال ۱۸۹۲ در مقاله‌ای در باره عصاره لوزه‌المعده نوشت که ۳٦ ساعت بعد از تزریق به‌داخل صفاق سگ بدون لوزه‌المعده، گلوکز در ادرار کم می‌شود. یک سال بعد در فرانسه Jules Comby گزارش کرد که به بیماری دیابتی "عصاره لوزه‌المعده" خوکچه هندی تزریق کرده‌است، بی آن که اثرات بدی داشته‌باشد، ولی فایده چندانی هم ندارد که تجویزش را توجیه کند. در ایتالیا F Battistini عصاره لوزه المعده را به دو بیمار دیابتی تزریق کرد. گرچه گلوکز در ادرار کاهش یافت، ولی چون بیماران دچار تب و آبسه شدند، آزمایش را ادامه نداد.

گرچه همه دانشمندان کار درون‌ریز جزایر لانگرهانس را پذیرفته بودند، باز پزشکان اصرار داشتند که شیره لوزه-المعده، یعنی همان ترشح برون‌ریز آن را تجویز کنند. نیازی به‌گفتن نیست که تمام این کوشش‌ها بی‌نتیجه بود. عصاره بافت لوزه‌المعده امیدبخش‌تر بود، ولی هنوز روش خوبی برای اندازه‌گیری گلوکز خون فراهم نبود و پژوهشگران مجبور بودند به تخمین نامطمئن و وقت‌گیر گلوکز در ادرار به عنوان تنها معیار تاثیر، متکی باشند.

در قرن نوزده، دنیا و مخصوصاً آلمان شاهد شکوفاهی شیمی بود. شیمی‌دانان به شناخت ساختمان ترکیبی مواد آلی روی آورده‌بودند و خیلی زود مولکول‌های کوچک کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، و اسیدهای‌آمینه را تخلیص و تجزیه کردند، ولی مولکول های درشت‌تر پروتئین‌ها و اسید نوکلئیک‌ها هنوز با روش‌های موجود شیمی آلی و شیمی تجزیه قابل بررسی نبودند.

در رشته جدیدی به نام زیست‌شیمی، ساختمان شیمیائی و نقش فیزیولوژیک سازه‌های مواد زنده مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در یک کتاب درسی زیست‌شیمی که در سال ۱۹۷۱ منتشر شده، پنجاه سال پس از کشف انسولین نوشته‌شده‌است که "تخلیص پروتئین‌ها بیشتر هنر است تا علم". مطمئنا این گفته در سال ۱۹۲۱ هم درست

بود. مقدار انسولن موجود در لوزه‌المعده گاو، یک قسمت در پنجاه هزار قسمت است. زمانی هم انسولین را از بافت لوزه‌المعده جداکردند که هنوز اطلاع چندانی از ترکیب یا خصوصیات شیمیائی انسولین نداشتند.



شیوه کار بانتینگ و بست

چرا دانشمندان تا آن زمان نتوانسته بودند عصاره موثری از لوزه‌المعده به‌دست بیاورند که بتواند زیادی تراز گلوکز خون دیابتی ها را پائین بیاورد؟ در جواب می‌توان گفت یا آن ماده ضد دیابت، پروتئینی است که آنزیم‌های لوزه‌المعده آن را هضم می‌کند، یا ماده‌ای است شبیه پروتئین. به‌همین دلیل بانتینگ خواست با بستن رگ‌ها، بخش سازنده آنزیم‌های گوارشی را از بین‌ببرد.، سپس از بخش باقیمانده ، جزء موثر را جداکند.

جیمز برتراند کولیپ استاد زیست‌شیمی دانشگاه آلبرتا در ادمونتون بود. او یکی از پیشگامان مطالعه مواد طبیعی بود و از پیشرفت دانشمندان در جداکردن اجزاء بافت‌ها آگاهی داشت. در سال ۱۹۲۱ کولیپ برای فرار از انزوای علمی در ادمونتون، ترتیبی داد تا مرخصی خود را در شهر بزرگ ترونتو در بخش فیزیولوژی آزمایشگاه جان ج مک لود بگذراند. کولیپ پس از آن‌که از نقشه بانتیگ در مورد جداکردن انسولین آگاهی یافت، پیشنهاد همکاری داد.

زیست شیمی‌دان‌هائی که با آنزیم‌های گوارشی کار می‌کردند، قبلا دریافته بودند که مجاورت آنزیم‌ها با الکل غلیظ، مخصوصاً در محیط اسیدی، آن‌ها را از فعالیت می‌اندازد. مخلوط الکل و اسید، آنزیم‌های پروتئین کافت لوزه‌المعده را رسوب می‌دهد و بی‌اثر می‌کند. سال‌ها قبل هم در سال ۱۹۰۸جرج ل زول زر آلمانی از این موضوع اطلاع داشت و برای جداکردن ماده ضد دیابتی آن را به‌کار برد. او پروتئین‌های بزرگ از جمله آنزیم‌های گوارشی را با اتانول رسوب داد و عصاره خالصی از لوزه‌المعده به‌دست آورد. این ماده، گلوکز در ادرار را کاهش داد، ولی باعث لرز و تب هم شد. نامحتمل نیست که بعضی از انسان ها و حیوانات مورد آزمایش زول زر دچار نشانه‌های کمبود شدید قند در خون شده باشند؛ مشکلی که هنوز برای دانشمندان ناشناخته بود.

بنگاه داروسازی هوفمن لاروش به زول زر کمک کرد تا انسولین تهیه کند و او هم مقدار زیادی عصاره خالص لوزه‌المعده تولید کرد.این عصاره باعث تشنج سگ‌ها شد. همین "مسمومیت" و اغاز جنگ جهانی اول مانع ادامه کار وی شد، زیرا به ارتش آلمان احضار شد.

معلوم است که آن عصاره حاوی انسولین بود، ولی دوزی که روی سگ‌ها آزمایش شد، بیش از اندازه بود و با کم شدن شدید قند خون، باعث تشنج شد. چون زول زر پس از تزریق انسولین به طور معمول تراز گلکوز خون را اندازه نمی‌گرفت، هیچوقت متوجه نشد که چقدر به پیروزی نزدیک بوده است.در چند موردی که گلوکز خون را اندازه گرفتند، متوجه شدند که تراز گلوکز خون تا حد خطرناکی پائین آمده‌است، ولی زول زر نتوانست پائین‌بودن تراز گلوکز را به تشنج ربط بدهد.

در سال ۱۹۱۵ در آمریکا ساموئل ز ملت زر و اسرائیل س کلین بر با عصاره لوزه‌المعده مشابه‌ای، تراز گلوکز حون سگ‌های دیابتی را پائین آوردند. در سال ۱۹۱۹ در رومانی نیکولاس س پولسکو گزارش کرد که عصاره لوزه المعده، گلوکز خون و ادرار و اجسام ستونی ادرار سگ‌های دیابتی را کاهش می‌دهد. حتی سال‌ها پیش، در ۱۰۱٤ ا ل اسکات که یکی از شاگردان فیزیولوزیست معروف آنتون کارلسون بود، عصاره الکلی از لوزه‌المعده تهیه کرد که

گلوکز خون را کم می‌کرد، ولی کارلسون به نتیجه کار او توجه‌ای نکرد و پیشنهاد کرد این رشته تحقیق را رها کند. جالب آن‌که راه تولید اقتصادی موفقیت‌آمیز اسولین، بر اساس همان روشی بود که اسکات بکار برده‌بود.

دو عامل مانع کشف زودتر انسولین شد. عامل اول همان بود که متوجه نشدند علت تشنج، زیادی دوز انسولین است. عامل دوم فقدان پشتکار بود. بانتینگ و بست در سال ۱۹۲۱ و ۱۹۲۲ در ترونتو به‌این دلیل موفق شدند که گلوکز خون را اندازه گرفتند ، تشنج را به هیپوگلیسمی مربوط دانستند، وبا پشتکار به کار ادامه دادند.

بانتیک و بست در جائی درست، در زمانی بجا به ابزاری مناسب دست یافتند و از نظرات و کمک های دو دانشمند با تجربه، مک لود و کولیپ، برخوردار شدند. موفقیت آن‌ها تا اندازه‌ای نتیجه بی‌خبری آنان از شکست‌های فراوان دانشمندان قبلی بود. مک لود برخلاف کارلسون که به کارهای اسکات نظر خوش بینانه ای نداشت، متوجه شد که راه این دو دانشمند درست است و شرایط لازم برای موفقیت آنان را فراهم کرد. با اطلاعات کولیپ در زیست‌شیمی، با همان روش‌هائی که طی ٦٠ سال بعد هم مورد استفاده قرار گرفت، به سرعت انسولین را تخلیص و استاندارد کردند.

تعیین لوزه‌المعده به‌عنوان منبع ماده ضد دیابت، یافتن جایگاه آن در جزایر لانگرهانس، ابداع رنگ‌سنج و به‌کارگیری آن در اندازه

گیری گلوکز خون، پیشرفت‌های اندک و ابتدائی در جدا کردن اجزاء بافت توسط زیست‌شیمی‌دان ها، و پشتکار فراوان بانتیگ و بست، و در ضمن توجه مک لود به اهمیت کار آنان و کمک‌های کولیپ، در سال ۱۹۲۱ و ۱۹۲۲ در شهر ترونتو منجر به‌کاربرد انسولین در درمان بیماران دیابتی شد. این موفقیت در حالی به‌دست آمد که کوشش های دانشمندان فراوانی در مراکز تحقیقاتی مجهز اروپا و آمریکا ناکام مانده بود.