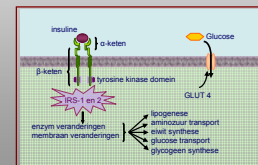


## Endogeen en/of exogeen insuline: wat meten we?

Mariëtte Ackermans  
Laboratorium voor Endocrinologie  
AMC, Amsterdam

## Insuline (1)

- polypeptide
- wordt geproduceerd in de  $\beta$ -cel van de pancreas
- belangrijkste regulator voor opslag en productie van koolhydraten



## Insuline (2)

Insuline is ontdekt in de jaren 20 vorige eeuw (Banting en Best, Nobelprijs 1923)

Insuline **tekort** leidt tot Diabetes

Absoluut tekort: Type 1

Relatief tekort: Type 2

Insuline **overmaat** leidt tot hypoglycemieën

Eerste behandeling Diabetes patiënten met insuline gezuiverd uit pancreas van koeien, paarden en varkens

Sinds ontdekking van recombinant DNA technieken: synthetische insulines:  
Lispro (Humalog), Actrapid, Aspart, Novorapid, Lantus, Levemir.

## Metten van insuline gevoeligheid

- Orale glucose tolerantie test (OGTT):  
geef glucose en kijk naar het effect op insuline
- Insuline tolerantie test (ITT):  
geef insuline en kijk naar het effect op glucose
- Hyperinsulinaemische euglycaemische clamp:  
geef continu een bekende hoeveelheid insuline en kijk naar het effect op glucose. Vaak in combinatie met isotoop dilutie methode om glucose productie snelheden te meten.

Insuline concentratie is in deze proeven een belangrijke parameter

## Analyse van insuline concentraties

Alle routine bepalingen zijn niet radioactieve immunoassays, veelal op automaten

Er zijn ook nog (handmatige) radioimmunoassays beschikbaar

Veel synthetische insulines zijn volgens fabrikanten gelijk aan humaan insuline

maar:



University of Amsterdam



amc  
Laboratory of Endocrinology

## Assay probleem synthetische insulines:



University of Amsterdam



amc  
Laboratory of Endocrinology

## Waarom exogeen insuline meten?

**Klinische diagnostiek:**

- insulinoom vs exogeen insuline bij hypoglycemieën

**Research setting:**

- insuline waarden bij hyperinsulaemische euglycaemische clamps



University of Amsterdam



amc  
Laboratory of Endocrinology

## Doel

Vergelijken van prestaties van 3 binnen ons lab gebruikte insuline assays voor de bepaling van exogeen humaan of varkens insuline na toevoeging aan humaan of ratten plasma



University of Amsterdam



amc  
Laboratory of Endocrinology

## Assays en insulines

### Assays

Chemiluminescent immunoassay Immulite 2000 (DPC)  
 Mercodia ratten insuline ELISA  
 Linco ratten insuline RIA

### Insulines

Actrapid (Novo Nordisk)  
 Varkens Insuline (Sigma)

## Pool plasma

	DPC Immulite	Mercodia ELISA	Linco RIA	
Humaan laag	20	n.a.	n.a.	pmol/L
Humaan hoog	131	155	160	pmol/L
Rat	n.a.	175	201	pmol/L

## Standaardlijnen

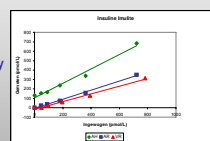
### Verdunningen:

Actrapid: 722, 361, 180, 90 en 45 pmol/L  
 Varkens insuline: 783, 392, 196, 98 en 49 pmol/L

Verdunningen zijn gemaakt in humaan pool plasma laag en hoog en in ratten plasma

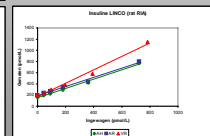
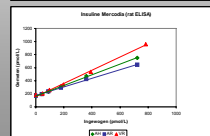
## Resultaten (1)

### Humane assay



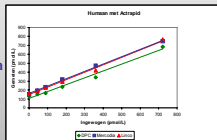
AH = Actrapid in humaan plasma  
 AR = Actrapid in ratten plasma  
 VR = Varkens insuline in ratten plasma

### Ratten assays

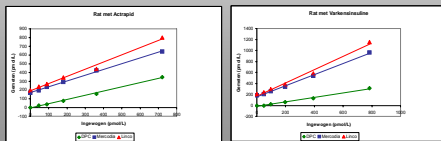


## Resultaten (2)

Humaan plasma  
hoog



Ratten plasma



University of Amsterdam

am  
Laboratory of Endocrinology

## Resultaten (3)

Gemiddelde kruisreactiviteit (%):

Insuline	Plasma	DPC Immulite	Mercodia ELISA	Linco RIA
Actrapid	Humaan	56	86	78
Actrapid	Rat	45	69	84
Varkens	Rat	25	79	92

University of Amsterdam

am  
Laboratory of Endocrinology

## Conclusies

- Afhankelijk van het soort insuline en de matrix wordt per assay een uitslag gevonden die op zich wel reproduceerbaar is.
- De kruisreactiviteit varieert afhankelijk van deze parameters tussen 56 en 86% in humaan plasma en tussen de 25 en 92% in ratten plasma
- De kruisreactiviteit van Actrapid was onafhankelijk van de endogene insuline concentratie
- Onze bevindingen zijn in lijn met wat er in de literatuur gevonden wordt

University of Amsterdam

am  
Laboratory of Endocrinology

## Implicaties

- De Actrapid concentraties die we meten tijdens onze hyperinsulinaemische clamps zijn slechts 60% van de ware waarde.
- Het antilichaam ziet blijkbaar een verschil tussen endogeen en exogeen insuline ondanks dat de fabrikant zegt dat de aminozuur volgorde hetzelfde is.
- Wat betekent dit voor de biochemische diagnose van onbegrepen hypoglycemieën?
- Wat dit betekent voor de biologische activiteit van Actrapid wordt met deze proefopzet niet beantwoord.

University of Amsterdam

am  
Laboratory of Endocrinology

## Mevr. S geb. 28-02-1973

Mevrouw met onbegrepen hypoglycemieën

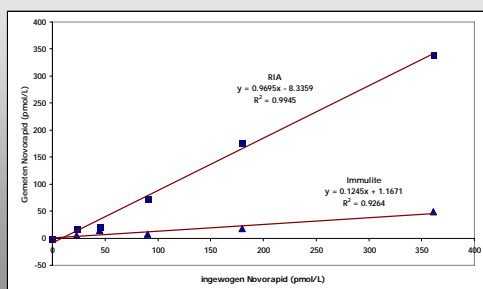
Vraagstelling: Insulinoom

Gedocumenteerd:  
glucose: 2.9 mmol/L  
insuline: 69 pmol/L  
Cpeptide: 80 pmol/L

## Mevr. S geb. 28-02-1973

Tijd	03:37	11:00	13:00	
Glucose	7.0	3.1	1.7	mmol/L
Cpeptide	530	90	50	pmol/L
Insuline Immulite	94	<15	<15	pmol/L

## Meting Novorapid



## Mevr. S geb. 28-02-1973

Tijd	03:37	11:00	13:00	
Glucose	7.0	3.1	1.7	mmol/L
Cpeptide	530	90	50	pmol/L
Insuline Immulite	94	<15	<15	pmol/L
Insuline RIA	1036	375	431	pmol/L

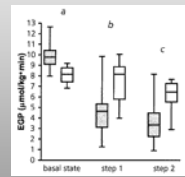
## Maat voor de biologische activiteit

We weten uit de literatuur dat:

- Insuline waarde  $\pm 2$  x basaal: Onderdrukking van de hepatische glucose productie
- Insuline waarde  $\pm 6$  x basaal: Onderdrukking van de hepatische en perifere glucose productie

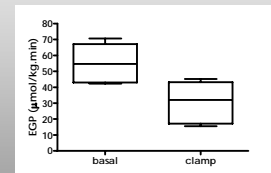
## Resultaten EGP onderdrukking

Humaan



Soeters, MR et al. Obesity (Silver Spring). 2009 Jul;17(7):1326

Rat



Met dank aan Charlene Diepenbroek

## Take home message

Ben je er van bewust dat synthetische insulines niet altijd goed gemeten worden met de commerciële insuline assays

