

İki farklı ticari kit ile saptanan insülin düzeylerinin insülin C peptid korelasyonuna etkileri

Effects of two commercial insulin immunoassays on insulin c-peptide correlation

Mehmet Bozok¹, Mustafa Örkmez¹, Şeyda Nur Aksoy¹, Ayşe Binnur Erbağcı¹

¹Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gaziantep

Özet

Periferik venöz insülin/C peptid molar oranı, hipoglisemi nedeni olarak insülinoma veya sulfonilüre kullanımını yapay hipoglisemiden ayırmakta etkili bir göstergedir. Dolaşımdaki formların heterojenliği ve proinsülinle çapraz reaksiyon nedeniyle ticari kitlerle saptanan insülin analizlerinde farklılık eğilimi bulunabilir. Bu çalışmada bağımsız hasta gruplarında, farklı ticari kitlerle saptanmış insülin/C peptid molar oranları karşılaştırılmıştır. Gaziantep Üniversitesi Hastanesi Merkez laboratuvarına 2010-2011 yıllarında başvuran hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. İnsülin kullanımı öyküsü bilinmeyen veya insülin kullanan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma grupları hastaların insülin analiz yöntemlerine göre oluşturulmuştur; İnsülin analizi Architech i2000 ile yapılan hastalar 1. grup (n:78), Immulite 2000 (n:132) ile yapılan hastalar 2. grup olarak tanımlanmış, tümü için C peptid düzeyi Immulite2000 ile saptanmıştır. İnsülin/C peptid oranı 1. grupta 2. gruptan yüksek bulunmuştur (p>0.05). Birinci grupta İnsülin/C peptid korelasyon katsayısı ikinci gruptan daha düşüktür (r: 0,46, r: 0,65, p<0,001). Çalışmamızda her iki test farklı ticari kitlerle çalışıldığında insülin C-peptid korelasyon katsayısının düşük olduğu saptanmıştır. Her iki test de referans preparatlarla kalibre edilmiş olmasına rağmen reaktif antikorların immunkompleksler, heterofil antikorlar ile farklı immunoreaktivitesi sonuçların ayrılığına yol açabilmektedir. Çalışmamız ticari kitlerde standardizasyonun önemini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: C-peptid; immunanaliz; insülin; korelasyon

Abstract

The molar ratio of insulin to C-peptide in peripheral venous blood argues for surreptitious/inadvertent insulin administration or insulinoma/sulfonylurea ingestion as the cause of the hypoglycemia. Commercial immunoassays for insulin are prone to discrepancy because of heterogeneity in circulating forms that react with antisera and cross-reactivity with proinsulin. In this study we compared molar ratio of insulin to C-peptide analyzed by different assays in independent patient groups. In this retrospective study patients admitted to Gaziantep University Hospital Central Laboratory between 2010-2011 recruited the study group. Patients with unknown or positive history of insulin therapy were excluded. Study groups were constructed according to insulin analysis methods; 78 patients whose insulin levels have been assayed by Abbott Architech i2000 (group 1) and by Immulite2000 (n:132, group 2). C peptide levels of the both groups have been analyzed by Immulite2000. Insulin to C-peptide ratio is higher for group1 than group 2 (p>0.05). The correlation coefficient of group 1 was lower than group 2 (r: 0,46 vs. r: 0,65, p<0,001). According to our study insulin C-peptide correlation coefficient was quite low when insulin and C peptide were analyzed with different commercial assays. Although both insulin tests are calibrated against reference preparation, different immunoreactivity of the reagent antibodies to immunocomplexes, heterophile antibodies can lead to such a discrepancy. Results of the study emphasize the importance of standardization for commercial assays insulin assays.

Keywords: Correlation; c-peptide; immunoassay; insulin

Giriş

Beta hücrelerinin karbohidrat veya diğer sekretagoglar tarafından uyarılmasını takiben insülin ve C peptid portal vene eş molar oranda salınırlar. İnsülinin en az yarısı karaciğerdeki reseptörlerine bağlanarak özgül metabolik olayları başlatır ve burada yıkılır. Sistemik dolaşıma geçen insülin moleküllerinin bir kısmı periferik reseptörlerine bağlanır, geri kalanı renal yolla uzaklaştırılır. İnsülinin farklı olarak C peptidinin periferik ve hepatik yıkımı önemsiz miktardadır, başlıca böbreklerden atılımla uzaklaştırılır. Yarı ömrü 30-35 dakikadır ve insüline göre (5-10 dak) oldukça uzundur. Bu nedenle periferik venöz kanda insülin/C peptid molar oranı açlıkta ve toklukta birin altındadır (1). İnsülin düzeyini etkileyen hastalıklarda her iki analitin düzeyi birlikte artıp azalarak oranın korunduğu saptanmıştır; İnsülinoma, böbrek yetmezliği, primer obezite, Cushing intoleransı, tip 1 ve 2 Diabetes Mellitus, Cushing sendromu gibi. Eksojen insülin kullanımı hepatik klirens aşaması atlandığı ve antiinsülin antikorlarının

varlığı insüline bağlanarak yarı ömrünü uzattığı için insülin/C peptid molar oranının artışına yol açabilir. Periferik venöz insülin/C peptid molar oranı, hipoglisemi nedeni olarak insülinoma veya sulfonilüre kullanımını yapay hipoglisemi olarak tanımlanan, sağlıklı bireylerin hekimi yanılmak amaçlı insülin kullanımından ayırmakta etkili bir göstergedir (2).

Analitik olarak reaktif antikorların immunkompleksler, heterofil antikorlar, proinsülin, dolaşımda heterojen formlarda bulunabilen insülin molekülleri ile farklı immunoreaktivitesi, sonuçların benzeşmemesine yol açabilmektedir. Uluslararası Standardizasyon Komitesi İnsülin Standardizasyonu ve C peptid standardizasyonu komiteleri ikincil kalibratörler olarak referans ölçümlerle değerleri saptanmış doğal serum örneklerinin kullanımını önermiş, heterojen C peptid ve insülin formlarından kaynaklanan belirsizliği azaltmaya yönelik bir yaklaşım getirmişlerdir (3). Bu çabalara rağmen farklı ticari kitler arasında bu testlerin izlenebilirliği yeterli düzeyde olmayabilir (4). Bu çalışmada bağımsız hasta gruplarında, iki farklı ticari kit ile saptanmış insülin düzeylerinden yararlanılarak saptanan insülin/ C

İletişim/Correspondence to: Ayşe Binnur Erbağcı, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gaziantep, TÜRKİYE
Tel: + 90 342 360 6060 / 77135 aerbagci@gantep.edu.tr

Geliş Tarihi: 06.04.2012 **Kabul Tarihi:** 13.06.2012
Received: 06.04.2012 **Accepted:** 13.06.2012

DOI: 10.5455/GMJ-30-2012-94
www.gantep.edu.tr/~tipdergi
ISSN 1300-0888

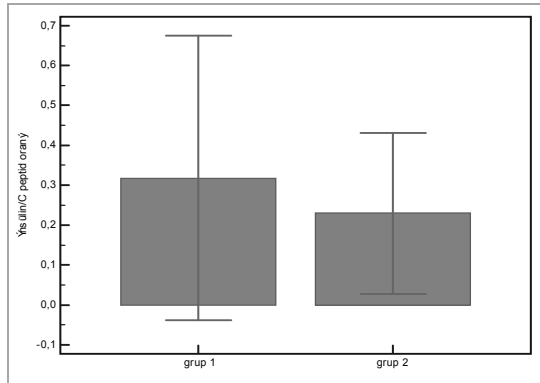
peptid molar oranları ve korelasyonları karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

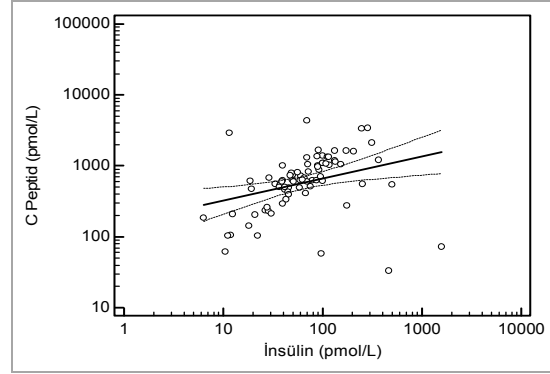
Retrospektif olarak kurgulanan bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Hastanesi Merkez laboratuvarına 2010-2011 yıllarında başvuran hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışma için Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 30.06.2011 tarih 07/2011-23 karar no ile onay alınmıştır. İnsülin kullanımı öyküsü bilinmeyen veya insülin kullanan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma grupları hastaların İnsülin analiz yöntemlerine göre oluşturulmuştur; İnsülin analizi Architech i2000 ile yapılan hastalar grup 1 (n:78, ortalama, min-mak yaş: 22.2, 1-71 yıl), Immulite2000 (n:132, ortalama, min-mak. yaş: 29.1, 1-81 yıl) ile yapılan hastalar grup 2 olarak tanımlanmış, tümü için C peptid düzeyi Immulite2000 ile saptanmıştır. Düz tüpe alınan kan örnekleri oda ısısında pıhtılaştıktan sonra +4 °C ta 1500 g de 10 dak. santrifüj edilerek serum elde edilmiş ve bekletilmeden çalışılmıştır. Immulite Insulin ve C peptid 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics, UK) ve Architech İnsülin (Abbott Laboratories Diagnostics, Almanya) kitleri kullanılmıştır. Immulite Insulin için CV %4.1-7.3, Immulite C peptid için %2.9-4.8, Architech Insulin için %1.9-5.2 olarak bildirilmiştir. Sonuçların analizinde ve grafiklerin oluşturulmasında SPSS ve Med-Calc istatistik programı, Pearson korelasyon analizi, regresyon analizi ve bağımsız gruplar arasında ortalamanın önemlilik testleri kullanılmıştır. p <0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

Sonuçlar

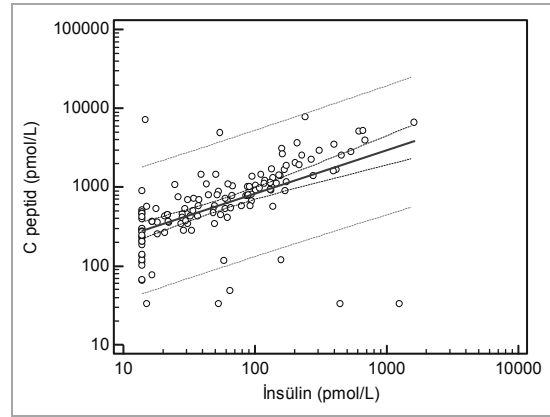
Birinci grup için insülin düzeyleri: 6.3-504.2 uIU/mL, C peptid düzeyleri 33-4356 ng/mL, 2. grup için insülin düzeyleri 13.9-1611 uIU/mL, C peptid düzeyleri 33-7689 ng/mL arasındadır. İnsülin/C peptid oranı 1. grupta 2. gruptan yüksek bulunmuştur; ortalama (%95 güvenlik aralığı) 0,32 (-0,04- 0,67) ve 0,23 (0,03- 0,43), p= 0,65 (Şekil 1). 2. grup için korelasyon katsayısı 1. gruptan daha yüksektir (r: 0,46 vs. r: 0,65, p<0.001). Grup 1 ve 2 için regresyon katsayıları da sırasıyla $y=629+2,45x$ (p:0.007) ve $y=552+4,8x$ (p:0.001) olarak saptanmıştır (Şekil 2 ve 3).



Şekil 1. Çalışma gruplarında İnsülin/C peptid oranları. Ortalamalar sütun, ortalamanın %95 güvenlik aralığı dikey çizgiler olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. Birinci grupta C peptid ve insülin düzeyleri için logaritmik regresyon grafiği. Regresyon eğrisi düz, regresyon eğrisi için %95 güvenlik aralığı kesikli çizgi ile gösterilmektedir.



Şekil 3. İkinci grupta C peptid ve insülin düzeyleri için logaritmik regresyon grafiği. Merkezden dışı doğru regresyon eğrisi, regresyon eğrisi için %95 güvenlik aralığı ve %95 kestirim aralığı gösterilmiştir.

Tartışma

Klinik biyokimya da matematiksel formüller ve oranlar yaş ve cinsiyet gibi biyolojik faktörlere bağlı etkiyi sonuca dâhil etmek ya da farklı değişkenlerin küçük değişimlerini daha belirgin hale getirmek için yaygın kullanım alanı bulmuşlardır. İnsülin/C peptid molar oranı hipoglisemi ayırıcı tanısında önemli bir laboratuvar bulgusudur. İnsülin düzeyleri de Homeostasis Model of Assessment-Insulin Resistance hesaplamasında yaygın olarak kullanılmaktadır (2).

İnsülin C peptid molar oranı hesaplanmasında kullanılan iki değişkenden biri için analiz yöntemi sabit kalıp (C peptid), diğeri (insülin) değiştiğinde saptanan oran büyüklük ve korelasyon farkı başlıca insülin analiz farklılıklarından kaynaklanacaktır. Daha önce yapılan çalışmalarda C peptid ve insülin düzeyleri arasında korelasyon katsayısı 0.67, 0.75 olarak saptanmıştır (5,6). Çalışmamızda aynı ticari kit ile yapılan ölçümlerle saptanan insülin C-peptid düzeyleri arasında saptanan korelasyon katsayısı (0.65) önceki çalışmalar ile uyumludur. Ancak farklı ticari kitlerle ölçülen C peptid ve insülin düzeyleri arasındaki korelasyon oldukça düşüktür. Regresyon analizinde de bu gruba ait eşitliğin

anamlılık (p) değeri daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlarımız insülin analizinde yöntem farklılıklarının insülin düzeyleri ve insülin C peptid oranlarında anlamlı fark oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Her iki insülin testi de referans preparatlarla kalibre edilmiş olması ve tekrarlanabilirliklerinin kabul edilebilir düzeyde olmasına rağmen sonuçlar arasında saptadığımız benzeşmezlik immunkompleksler, heterofil antikorlar, proinsülin, dolaşımda heterojen formlarda bulunabilen insülin molekülleri ile reaktif antikorların immunoreaktivite farkından kaynaklanabilir. İnsülin analizinde kabul edilebilir hata oranları Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) – 88’de belirtilmemiş, Royal College of Pathologists of Australasia’da %25’in altında ve azami 20IU/ L olarak önerilmiştir. Martindale RA ve ark. biyolojik varyasyon temel alınarak saptadıkları kabul edilebilir hata oranını insülin için %35 olarak bildirmişlerdir (7,8). Kabul edilebilir hata oranlarının yüksek olması immunanalizlerin genel özelliklerinden olduğu kadar biyolojik örneklerde bulunan insülin formlarının heterojenliğinden de kaynaklanmaktadır.

İnsülin C peptid oranının ırk ve yaşa bağlı küçük değişimlerini (9), obezite ve insülin direncinin insülin klirensini etkileyebileceğini (10) bildiren çalışmalar mevcuttur. Sonuçlarımız, bağımsız gruplarda elde edildiği için olası bireysel farklılıklardan etkilenebilir, bu yönü ile izlenebilirlik çalışması niteliğini taşımamaktadır. Ancak izlenebilirlik çalışmalarının gerekliliğine dikkat çekmekte ve farklı ticari kitlerle saptanan insülin/C peptid oranı sonuçlarının önemli

farklar gösterebileceğine dair bir ipucu niteliği taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Lebowitz MR, Blumenthal SA. The molar ratio of insulin to C-peptide. An aid to the diagnosis of hypoglycemia due to surreptitious (or inadvertent) insulin administration. Arch Intern Med 1993;153(5):650-5.
2. Cryer PE. Hipoglisemi. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser DL, Longo DL, Jameson JL, ed. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri. 1st ed. Nobel Tıp Kitapevi; 2004:2138-2143.
3. Van Uytfaenge K, Thienpont LM. Standardization of insulin and C-peptide – A status report Médecine Nucléaire 2010;34(10):566-570.
4. Cabaleiro DR, Stöckl D, Kaufman JM, Fiers T, Thienpont LM. Feasibility of Standardization of Serum C-Peptide Immunoassays with Isotope-Dilution Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Clin Chem 2006;52(6):1193-6.
5. Chen CH, Tsai ST, Chou P. Correlation of fasting serum C-peptide and insulin with markers of metabolic syndrome-X in a homogeneous Chinese population with normal glucose tolerance. Int J Cardiol 1999;68(2):179-86.
6. Horwitz DL, Starr JI, Mako ME, Blackard WG, Rubenstein AH. Proinsulin, Insulin, and C-Peptide Concentrations in Human Portal and Peripheral Blood J Clin Invest 1975;55(6):1278-83.
7. <http://www.westgard.com/rcpa.htm#endocrine> (Erişim Tarihi: 28.05.2012).
8. Martindale RA, Cembrowski GS, Journault LJ, Crawford JL, Tran C, Hofer TL, ve ark. Validating New Reagents: Roadmaps Through the Wilderness. Labmedicine 2006;37(6):347-51.
9. Palmer IM, Schutte AE, Huisman HW. Ethnic and gender differences regarding the insulin-blood pressure relationship. Diabetes Res Clin Pract 2009;85(1):102-10.
10. Turaa A, Pacini G, Kautzky-Willer A, Gastaldelli A, DeFronzo RA, Ferrannini E, ve ark. Estimation of prehepatic insulin secretion: comparison between standardized C-peptide and insulin kinetic models. Metabolism Clinical and Experimental 2012;61:434-443.