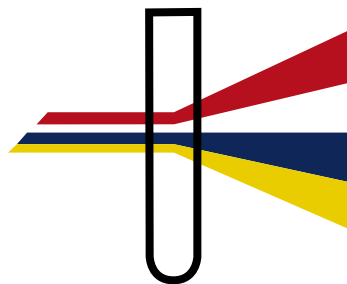


# Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 3, vol. 17, 2005

Laboratoriets viktigste ressource . . . . .	6
<i>Palle Wang</i>	
Nytt från IFCC och internationella kongressen i Orlando . . . . .	7
<i>Per Simonsson</i>	
Experiences in implementing automation i HUSLAB – Helsinki University Central Hospital Laboratory . . . . .	8
<i>Martti Syrjälä</i>	
Nye og gamle tanker om hemokromatose . . . . .	12
<i>Sonia Distant</i>	
Vil mikromatriseteknologi bli viktig i laboratoriemedisinsk rutinediagnostikk? . . . . .	18
<i>Terje Haug</i>	
Metodesammenligning . . . . .	24
<i>Ulrik Gerdes</i>	
Diagnostik finder sin plads i Cochrane Collaboration . . . . .	30
<i>Jørgen Hilden</i>	
Publiseringsmønsteret innen fagområdet medisinsk biokjemi i Norden . . .	32
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Adeninfosforibosyltransferase-mangel (APRT-mangel) – radiolucent nyrestein . . . . .	36
<i>Yngve Th. Bliksrud, Berit Woldseth, Hans-Jacob Bangstad</i>	
Bog anmeldelse: "Evidensbaseret Medicin" - en dansk lærebok under redaktion av Inger Bak Andersen och Peter Matzen . . . . .	39
<i>Elvar Theodorsson</i>	
Styret for Norsk Selskap for Klinisk Kjemi og Klinisk Fysiologi . . . . .	42

*Forsiden: S/Y Helene av Ystad ud for Kronborg*

*- fra NFKK og KBN's kursur i kommunikation for læger under uddannelse i klinisk biokemi. Foto Armin Piehler.*

Klinisk Biokemi i Norden er medlemsblad for Nordisk Forening for Klinisk Kemi

# Laboratoriets vigtigste ressource

*Palle Wang*



Bioanalytikere (bioingeniører, BMA'er) udgør den tredjestørste gruppe af medarbejdere på alle sygehuse, og der er ved at udvikle sig en alvorlig mangel på dem.

I Danmark viser den seneste statistik, at kun 0,54% af medlemmerne er arbejdsløse. Gennemsnitsalderen for bioanalytikere vokser også, og man forventer, at ca. 900 forlader arbejdsmarkedet i de kommende fem år. I samme periode bliver der kun uddannet 600 nye.

Det skyldes til dels, at amterne har reduceret antallet af uddannelsespladser kraftigt, men det er også vanskeligt at tiltrække kvalificerede ansøgere.

I Sverige er situationen omtrent som i Danmark. Oprindeligt havde sygehusene ansvaret for uddannelsen. Flere sygehuse lukkede uddannelsen, fordi de ikke mente det kunne betale sig. For nogle år siden blev det en universitetsuddannelse. Det førte til, at det teoretiske niveau blev højt, mens det kliniske aspekt af uddannelsen blev nedprioriteret. Søgningen til uddannelsen blev mindre, og den er derfor nu blevet mere klinisk orienteret med god effekt på antallet ansøgere. Desuden har man indført en 2-årig post-gymnasial uddannelse (kvalificerad yrkesutbildning), der er som skræddersyet til arbejdet på et laboratorium.

## **Hvad kan der gøres for at skaffe flere bioanalytikere og gøre uddannelsen mere attraktiv?**

*Øget uddannelseskapacitet.*

I Danmark er det bydende nødvendigt at uddannelseskapaleten øges. Vi må gøre det klart for politikerne, at laboratorierne får alvorlige problemer, hvis der ikke bliver gjort noget.

En løsning som den svenske bør absolut undersøges.

## *Kompetenceudvikling*

Der er en tradition blandt bioanalytikere, at er man uddannet, kan man klare næsten alt arbejdet i et laboratorium. Det går bare ikke i et moderne labo-

ratorium med vanskelige hæmatologiske undersøgelser, højt automatiserede biokemiske instrumenter, stadig mere forfinede immunologiske teknikker, massespektrometri, PCR, sekventering og med array-teknologi lige om hjørnet. Forsøger man at opretholde en rotation blandt disse mange specialiserede arbejdspladser, vil det uvægerligt medføre frustration hos medarbejderne, kvalitetsforringelse og nedsat produktivitet. Derimod vil en langvarig funktion på afgrænsede områder, fulgt op af kurser og arbejds-træning, alt andet lige give større arbejds glæde og bedre resultater.

## *Indflydelse på planlægningen af eget arbejde*

Japanerne blev berømte på indførelsen af selvstyren-de grupper i deres industri. Formen egner sig næppe uden ændringer til et laboratorium, der udsættes for påvirkninger udefra, som ikke altid kan forudses. Det er væsentligt, at man delegerer så mange af beslutningerne som muligt ud til dem, der udfører arbejdet.

## *Forskning og udvikling*

Der er hos mange bioanalytikere en lyst til at deltage i forskning og udvikling, der undertiden overgår den, vi finder hos vore yngre læger og kemikere. Det er et væsentligt potentiale, som bør udnyttes. Alligevel har kun SFKK valgt at lade interesserede BMA'er blive optaget som medlemmer af det videnskabelige selskab. I de øvrige nordiske lande opbygger bioanalytikere/bioingeniører parallelorganisationer til de videnskabelige selskaber. Det er ressourcospild.

## *Ensformigt gentaget arbejde og nedslidning*

På de mest effektive afdelinger i Danmark fylder blodprøvetagning og udpakning mm. af indsendte prøver op imod 60% af arbejdstiden. Selvom kontakten med patienter er en væsentlig del af arbejdet på et hospital, medfører så meget blodprøvetagning smerter i overekstremiteterne, som hos særligt disponerede medarbejdere kan blive kroniske og føre

*(Fortsætter side 17)*

# Nytt från IFCC och internationella kongressen i Orlando

Per Simonsson



IFCC och AACC organiserade gemensamt årets stora kongress i Orlando. Klinisk kemi verkar vara uppmärksammat i USA, inte minst pga. att en stor och ökande del av befolkningen har diabetes. Behovet av, och marknaden för egentestning är stor, något som märks på de många reklaminslagen om dessa små apparater. En av reklampelarna är B.B. King.

## Gratulera till priser till nordbor

Det är många priser och hedersnämmande på dessa stora kongresser. Ulf-Håkan Stenman tillhör de stora bland oss kliniska kemister i Norden. Han tilldelades också The Morton K. Schwartz Award for Significant Contributions in Cancer Research Diagnostics. Gratulerar!

Efter en nominering från SFKK tog sig Karin Strandberg, klinisk kemist från Malmö, till finalen i tävlingen om IFCC/Roche Award for Significant Advances in Critical Care Testing. Vann gjorde en iransk kollega som dock inte lyckades få inresevisum till the land of the brave and the free.

## Vad för IFCC?

IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) är en internationell organisation med det svåra uppdraget att stimulera och koordinera klinisk kemi i världen. Den har en uppsjö av kommittéer och work groups som bevakar olika frågor. Mer finns att läsa på hemsidan [www.ifcc.org](http://www.ifcc.org).

## IFCCs council

Vid den internationella kongressen som hålls vart tredje år hålls ett möte med representanter från alla medlemsstaterna. I år var det 53 länder som representerades, en brokig samling således.

## Vad gör IFCC?

Mest tid ägnades åt rapporter från olika delar av organisationen. Intressant är att allt mer dokument

och riktlinjer finns ute och de kan läsas på hemsidan. Ett exempel är att det finns en ny databas för evidensbased laboratoriemedicin. Hemsidan rymmer också audiovisuella inslag, d.v.s. upptagningar från kongresser. Ett projekt på gång är att utnyttja den nya tekniken som iPod möjliggör. Det skall läggas upp seminarier som man i framtiden kan ladda ner på sin iPOD (om man nu har nån...). Sen kan man lära sig mer på väg till jobbet. Start i höst.

## Ny ordförande

Mattias Muller har varit ordförande i sex år och avgår vid nyår. Som ny ordförande valdes Jocelyn Hicks, engelska med USA som spelplan sen många år. Hon har mest jobbar med pediatrik diagnostik. I den efterföljande lunchen pratade jag med henne om både NORIP och det nystartade projektet med pediatrika referensintervall. Hon var intresserad av att dessa satsningar breddas så att de kan komma till nytta för andra länder. Det pågår olika liknande projekt redan. Kanske kan vi exportera NORIP?

## Päivi Laitinen i IFCCs styrelse

Nya sekreterare är Päivi Laitinen som varit ordförande i den finska föreningen, aktiv i EC4 och som är medlem i NFKKs styrelse. Gratulerar! På detta sätt får vi skandinaver kanske mer inflytande och insyn.

## Nordiska aktiviteter i världen

Den globala kampanj mot diabetes som IFCC driver leds också av en nordbo, Sverre Sandberg, hemmahörande i Bergen, och en av IFCCs aktivaste deltagare.

Nya initiativ från vår hörna av världen lyftes också fram. Två nya arbetsgrupper startar med nordisk ledning och bemanning: En om Cystatin C (ledd av Anders Grubb) och en om CDT (ledd av Anders Helander). NFKK har aktivt stött Cystatin C projektet och föreslagit projektmedlemmarna. Vi hoppas fortsätta göra det i framtiden. Lycka till!

(Fortsätter side 17)

# Experiences in implementing automation in HUSLAB - Helsinki University Central Hospital Laboratory

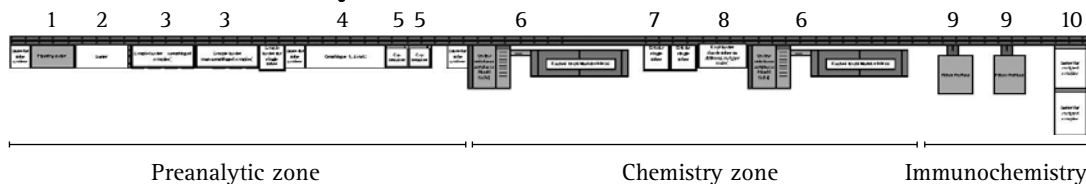
Martti Syrjälä, MD, PhD Head, HUSLAB, Division of Clinical Chemistry  
 e-mail [martti.syrjala@hus.fi](mailto:martti.syrjala@hus.fi)



HUSLAB is the laboratory organisation of Helsinki University Central Hospital. It provides clinical laboratory services at the capital area to a population of 1,4 million people serving both hospitals and primary health care. HUSLAB has approximately 1500 employees (850 at the division of clinical chemistry) at more than 45 different sites in the three biggest towns (Helsinki, Espoo and Vantaa) in the capital area. More than 10 million laboratory tests are produced annually, which is 20-25% of all clinical laboratory testing in Finland. During the last years the strategy for clinical chemistry has been to centralise and simplify the processes. Half of all testing takes place in one single core laboratory. A common laboratory information system (LIS) and high capacity laboratory automation have made this consolidation possible. Production of the core laboratory is based on preanalytical automation

connected to high capacity analysers. The pre-analytical automation system (TCAutomation from Thermo Electron) is a single tube, scalable and open system, where analysers from different vendors can be connected online. We have chosen Roche/Hitachi Modular PP800 instruments for chemistry, Abbott Architech for immunochemistry and Sysmex HST as stand-alone automation for haematology. The number of test tubes handled with preanalytical automation exceeds 5000 daily. In addition to the core laboratory, there are 9 satellite laboratories at different acute hospitals in the capital area with a 7 day/24 hour emergency room. These laboratories are equipped with harmonized instrumentation for basic chemistry, haematology and point-of-care testing. Because the laboratories share the same LIS as the core laboratory, the satellite laboratories serve as back-up capacity for the core laboratory. Effective automation has been a key element for the success of our laboratory. We are prepared that the number of tests in the core laboratory will increase with 20-25% within the next 1-2 years. This will be possible with the current analytical capacity.

## Structure of the automation system



<b>1. Aliquoting</b>	<b>6. On-line connected Roche Modular</b>
<b>2. Sorting</b>	<b>7. Exit for manual work stations</b>
<b>3. Sample loader</b>	<b>8. Automatic rack loader for off line instruments</b>
<b>4. Centrifugation</b>	<b>9. On-line connected Abbott Architech</b>
<b>5. Cap removal</b>	<b>10. Exit/storage of analysed samples</b>





The sample ID's are sent as a HL7 message to the database of the automation. Each sample has an individual route in the system, which is based on the test requests. The route is written in the microchip of the sample carrier right after the bar code of the sample is read. The system includes two automated sample loaders with a capacity of 560 tube transfers per hour each.



### Sampler loader (3.)

Tubes are harmonized to 5 ml plastic tubes. The common LIS produces uniform bar-coded labels, which are attached to the tubes at the phlebotomy sites. The samples are packed into transport boxes that fit the drawers of the sample loader.

In most cases, the phlebotomist is the first and last person who manually touches the sample. Most samples arrive to the central laboratory uncentrifugated.



### Centrifugation (4.)

The three automated centrifuges have each a capacity of ca. 400 tubes/hour.



After centrifugation the samples are directed to **cap removal (5.)**



(Fortsætter side 10)

(Fortsat fra side 9)

Two **Roche/Hitachi Modular PP800 instruments (6.)** are connected on-line with the transport system. The samples are automatically loaded to Hitachi racks and transferred inside the instrument. Analysed samples are transferred back to the track. At exit, the results of individual samples are checked with an autovalidation program. The results that meet the validation criteria (ca. 80% of all results) are released and sent to the requester, while the remaining results are transferred to manual validation. The validation process has previously been described in detail in this journal (Suvisaari et. al, 2005).

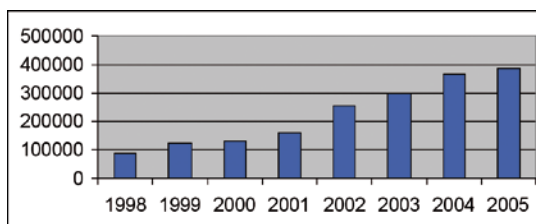


Two **Abbott Architect immuno-analysers (9.)** are connected on-line. The connection is simple, while the sample is preserved on the track and fixed to a precise position so that it can be reached by the probe of the instrument.



## Hematology

The solution for blood cell counting has been standalone automation: Sysmex HST with three XE-2100 instruments and a slide maker. Little benefit is gained by including haematology to total automation – most of the benefits are achieved with standalone solutions. Samples are easily sorted already at sampling, minimal preanalytical procedures are required and the high number of tubes (>2000 tubes daily) might risk the capacity of the automated preanalytics



## Monthly production in the central laboratory

There has been a long lasting consolidation process in the laboratories at the Helsinki region. Due to this consolidation the production of the central laboratory has increased year after year. Year 2004 the production exceeded 5 million tests. While the production has increased to 4 fold, the number of personnel has increased minimally and is today around 30.

## References:

Suvisaari J, Linko S, Helin A, Pulkki K, Syrjälä M: Modulab AV - A User-Customizable, High-Throughput Autoverification System for Clinical Laboratory Test Results. *Klinisk Biokemi i Norden* 2005, 17(2) : 26-32. ■

# Nye og gamle tanker om hemokromatose

Sonia Distante, Avd. for Medisinsk Biokjemi, Rikshospitalet, Oslo.

e-post : [distante@rikshospitalet.no](mailto:distante@rikshospitalet.no)



I jordskorpen er det rikelig med jern. Jern er det mest vanlige metallet etter aluminium, og fjerde mest vanlige grunnstoff etter hydrogen, oksygen og karbon(1). Jern har en rekke ulike funksjoner i biologiske systemer, det inngår i viktige proteiner som hemoglobin og myoglobin, er

kofaktor i mange enzymer (f. eks. i respirasjonsskjeden) men kan også være ytterst vevsskadelig pga Fenton reaksjon og frigjøring av frie radikaler. Både jernmangel og jernoverskudd er skadelig og blant de mest vanlige tilstander hos mennesker.

## Hemokromatose

Hemokromatose er en klinisk tilstand der hvor jernabsorpsjonen fra tynntarmen er betydelig økt. Jern lagres i lever, bukspyttkjertel, ledd, hjerte og kan over tid medføre en direkte toksisk skade med mulig organsvikt. Den forekommer hos ca. 1 blant 200 individer av nordeuropeisk opprinnelse.

Semantisk er ordet hemokromatose en sammenstilling av tre ord fra gammelgresk (haima= blod), (chroma=pigment), (osis= tilstand). Navnet ble laget av von Recklinghausen i 1889, i det han trodde at det jernholdige pigmentet han observerte i vevsbiopsier kom fra blod. Pigmentet ble senere identifisert som hemosiderin (denaturert ferritin).

Det klassiske kliniske bildet er en letargisk, middelaldrende mann, med en eller flere av følgende funn: bronsefarget hud, diabetes (bronse diabetes), artritt, hepatomegali, impotens. Dette ser vi i dag meget sjelden. Hemokromatose er kjent for å være underdiagnostisert eller diagnostisert for sent pga. av det uspesifikke symptombildet, men ettersom sykdommen er blitt mer kjent, oppdages nå flere tilfeller i tidlige stadier. Mange oppdages tilfeldig pga. av unormale blodprøveverdier, gjennom undersøkelse av familiemedlemmer eller gjennom screeningundersøkelser. En nylig konsensuskonferanse om hemokromatose organisert av EASL (European Association for the Study of the Liver)

presenterte følgende tall for symptomer og funn ved hemokromatose (2):

Slapphet, asteni . . . . .	60%
Økt hudpigmentering . . . . .	60%
Leddsmerter . . . . .	30-40%
Diabetes mellitus . . . . .	10-30%
Arytmi og hjertesvikt . . . . .	15-35%
Impotens . . . . .	10-40%
Levercirrhose . . . . .	13-60%
Hepatom. . . . .	5%

Sykdomsprogresjon antas å være relatert til serumferritin og alder, tidlig diagnostisering er derfor en stor fordel.

## Jernabsorpsjonsmodeller

Voksne mennesker har i gjennomsnitt 50 mg Fe/kg kroppsvekt (noe mindre hos kvinner: 40 mgFe/kg) dvs. til sammen 3,5-4,0 g. Jern finnes hovedsakelig i erytrocyttene (opp til 3 g), mellom 0,1-1 g er fordelt på lever, milt og benmarg. Ytterligere 0,4 g finner man i muskelceller i form av myoglobin. Et nyfødt barn har ca. 80 mg Fe/kg kroppsvekt, men dette omsettes raskt og forbruket er så høy i vekstfasen at barnet i 2-3 års alder har kun ca. 5 mg Fe/kg kroppsvekt.

Jerntapet hos voksne er ca. 1 mg daglig, hovedsakelig pga. celledeskvasjon i tykktarmen. Hos kvinner tapes større mengder med menstruasjon. Jerntapet er ikke en nøye regulert mekanisme i motsetning til jernabsorpsjonen.

Jernopptaket foregår i tynntarmen og er en meget innviklet prosess, som ikke er helt forstått ennå.

Selv om en del faktorer er kjent for å påvirke jernabsorpsjon (tabell 1), oppdages det stadige nye biokjemiske mekanismer for jernopptak og ulike komponenter i disse karakteriseres.

To ulike modeller er foreslått for å forklare økt jernopptak ved hemokromatose:

1) Den programmerte kryptcellen og 2) hepcidinmodellen (3). I den første modell "gjenkjenner"

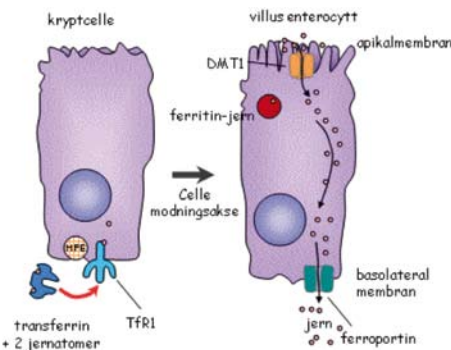


	ØKT ABSORPSJON	NEDSATT ABSORPSJON
Exogene faktorer	Hem-jern	Alkalkisk pH (sekret fra pancreas)
	Vit C	Jernchelatorer: fytater tannater (tea)
	Lav pH (HCl i magesaft)	
Endogene faktorer	Jernmangel	Jernoverskudd
	Økt erythropoese	Nedsatt erythropoese
	Defekt erythropoese	Inflammasjon
	Graviditet	
	Hypoksi	

Tabell 1. Kjente faktorer som påvirker jernabsorpsjonen

kryptcellen i tynntarmen jernnivået i blodbanen. Jernnivået blir "husket" og bestemmer omfanget av jernopptak når kryptcellen utvikles til en absorberende villuscelle (moden enterocyt), (Fig 1).

MODELL: KRYPTCELLE PROGRAMMERING



Figur 1:

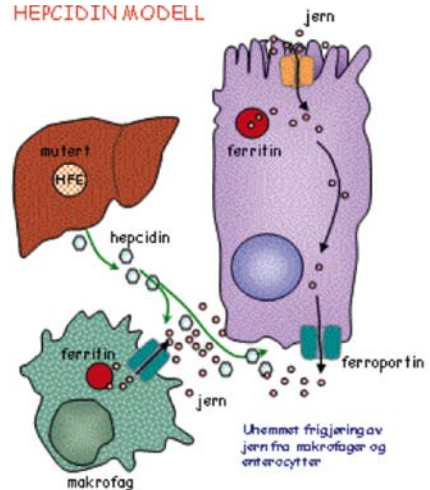
Jern fra kosten og i tarmlumen, transporteres gjennom den apikale og basolaterale membranen i enterocytten før den går over til blodbanen. Proteinet DMT1 (divalent metal transporter 1) kontrollerer jernabsorpsjonen gjennom den apikale (villus) membranen og ferroportin reguler jernfrigjøringen fra den basolateralmembranen til blodbanen.

HFE proteinet i kryptcellen er assosiert til transferrinreseptor (TfR1) i basolateralmembranen som også binder transferrin til seg. Normalt gjenkjenner HFE-TfR kompleks i kryptcellen jernbehovet, dette "memoriseres", og når cellen har modnet til villuscelle, kontrolleres jernopptaket gjennom en forut bestemt produksjon av DMT1. Hos hemokromatosepasienter med defekt HFE er denne programme-

ringsmekanismen forstyrret slik at jernabsorpsjonen skjer uhemmet. (Bildet er modifisert av L. Mørkrød etter A. Pietrangelo)(3).

I en alternativ modell antas det at hepcidin spiller en viktig rolle i jernmetabolismen. Hepcidin er et antimikrobialt peptid som produseres i lever og regulerer jernfrigjøring fra enterocytter og makrofager med å binde ferroportin (transmembran-transporter protein). Hepcidin er også involvert i den anemien vi finner ved kroniske sykdommer. Hepcidinproduksjonen øker normalt ved jernoverskudd, mens hemokromatosepasienter har lav hepcidin i blodet. Selv om forbindelse mellom HFE og hepcidin er ukjent, tror man at ved defekt HFE opphører den regulerende funksjonen hepcidin har slik at jernfrigjøring fra enterocytter og makrofager skjer uhemmet (Fig.2).

HEPCIDIN MODELL



(Fortsætter side 14)

(Fortsat fra side 13)

### Figur 2:

Normalt nedregulerer hepcidin (grønne korn i bildet) jernfrigjøring (røde korn) fra tarmceller og makrofager til blodbanen. Forbindelsen mellom hepcidin og HFE er ukjent, men man spekulerer at, når HFE proteinet er defekt pga. genmutasjon, er hepcidinproduksjonen trolig nedregulert slik at jernfrigjøringen skjer uhemmet. (Bildet er modifisert av L. Mørkrid etter A. Pietrangelo)(3).

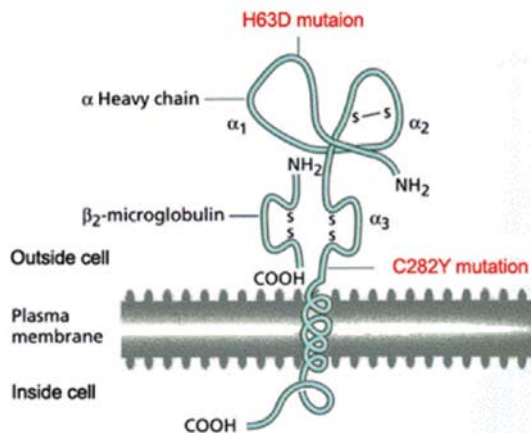
### Diagnostikk ved hemokromatose

Siden symptomer og funn kan være diffuse, man må ha tenkt tanken for å diagnostisere hemokromatose. Man kan benytte seg av 3A-regelen: asteni, artralgi og økt ALAT. Når disse tre forekommer samtidig, er det stor sjanse for hemokromatose. Førstelinje undersøkelse er transferrinmetning (Tf-metning) =  $(s\text{-Fe} / \text{total jernbindingkapasitet} \times 100)$ . Total jernbinding kapasitet =  $s\text{-transferrin} \times 25.1$ . Pasienten skal helst være fastende, og prøven bør tas til samme tid pga. stor døgnvariasjonen i s-Fe. Hvis Tf-metning er >60 % hos menn, eller >50 % hos kvinner, burde dette vekke mistanke om hemokromatose. S-ferritin (jernlager) måles ofte samtidig, hvis verdien er >300 µg/l hos menn eller >200 µg/l hos kvinner, styrker dette mistanken. Når Tf-metning og s-ferritin verdier er over de ovennevnte grenser, snakker man om økte jernparametre. Det er verdt å minne om at både s-ferritin og Tf-metning er upålitelig under en akutfase reaksjon, for eksempel hos akuttinnlagte sykehuspasienter. Tf-metning vil sannsynligvis være lavere og ferritin høyere. Når man finner økte jernparametre, bør prøvene gjentas 1-2 ganger med noen ukers mellomrom. Genmutasjonsundersøkelse kommer i andre rekke. Det er vanlig å teste samtidig mht. C282Y og H63D, men det finnes andre mindre vanlige genmutasjoner som også er assosierte til hemokromatose (se senere). Vanligvis måles disse ikke rutinemessig, men kun i forskningssammenheng. Er man homozygot for C282Y eller compound heterozygot for C282Y /H63D, er diagnosen hemokromatose bekreftet (3). Har man ikke mutasjon eller kun er bærer av de ovennevnte mutasjonene, bør man lete etter andre årsaker til jernavleiring. Årsaker til sekundær hemokromatose inkluderer thalassemi,

sideroblastanemi og gjentatte blodoverføringer. Spesielt ved forøkte transaminaser, vil leverbiopsi kunne bekrefte graden av jernavleiring ev. avsløre andre tilstander assosiert til jernoverskudd (alkoholisk leverskade, fettlever). Jernavleiring i leverbiopsi uttrykkes i form av Hepatic Iron Index (HII), dette er µmol jern per gram tørrvekt levervev / alder.  $HII > 2.0$  er forenlig med hemokromatose. Før gen-testingen kom, var leverbiopsi gullstandard i diagnostikk av hemokromatose. Den brukes mindre i dag, og da helst for å kartlegge sykdomsprogresjon, leverfibrose eller cirrhose. Når det gjelder hemokromatose har leverbiopsien mindre diagnostisk, men større prognostisk verdi i dag. Magnetisk resonans er også blitt anvendt til kartlegging av jernavleiring i hjerte og lever. Teknikken er kun semikvantitativ, men fordelene er at den er ikke-invasiv.

### Genmutasjoner assosiert til hemokromatose

Internasjonal interesse for hemokromatose økte betydelig i 1996 da man beskrev to mutasjoner assosiert til tilstanden. Mutasjonene finnes i HFE genet på den korte armen av kromosom 6. Hver mutasjon medfører et aminosyrebytte i genproduktet, derfor betegnelsen C282Y og H63D (fig 3).



### Figur 3:

Modell av HFE protein molekyl. C282Y mutasjonen forstyrrer disulfidbroen og dermed proteinfunksjonen (modifisert fra(4)).

C282Y refereres til som hovedmutasjonen, fordi dennes posisjon har størst betydning for proteinets

funksjon. Utbyggingen av cystein mot tyrosin bryter en disulfidbinding og endrer proteinets konformasjon (se fig 3). H63D mutasjonen er av mindre klinisk betydning og endrer trolig ikke proteinets konformasjon i nevneverdig grad. Prevalensstudier fra ulike deler av verden har vist at C282Y kun forekommer blant befolkning av nordeuropeisk opprinnelse. En tidligere studie i Oslo fant at ca. 15 % av den friske befolkningen bærer mutasjonen (5). Dette gir en allelfrekvens på 7.6 % og betyr at ca. 0,5 % av befolkningen er homozygot for hovedmutasjonen C282Y. Lignende høye prevalenstill har man funnet i Irland, andre steder i Skandinavia, på vestkysten av Storbritannia og i Normandie i Frankrike. Mutasjonen har trolig først oppstått i Sentral- eller Nord-Europa, enten blant kelter eller vikinger. Nyere estimater plasserer imidlertid mutasjonstidspunktet så langt bak som ca. 4000 B.C., dvs. ved den neolitiske revolusjonen (6). Det kan tenkes at evnen til økt jernabsorpsjon har vært en fordel ved overgangen fra et kosthold med jernrikt kjøtt til kornbasert diett.

Mutasjonene C282Y, H63D og S65C i HFE genet på kromosom 6p21.3 er assosiert til hemokromatose type 1 eller OMIM-type 1 klassifikasjon (Online Mendelian Inheritance in Man). Noen beskrevne tilfeller av hemokromatose skyldes andre mindre vanlige mutasjoner.

Mutasjoner i HJV genet på kromosom 1q21 koder for proteinet juvelin, hvis funksjonen er ukjent. Mutasjoner i HAMP genet på kromosom 19q13 koder for hepcidin som er tidligere omtalt. De ovennevnte mutasjoner er meget sjeldne; de arves recessivt og er assosierte til juvenil hemokromatose (OMIM-type 2). Som navnet sier, debuterer symptomer tidlig hos disse pasienter, rundt ca. 20 års, og hjertekomplikasjoner dominerer.

Mutasjoner i TfR2 (Transferrin reseptor 2) genet på kromosom 7q22 er meget sjeldne og er assosierte til en type arvelig hemokromatose (OMIM-type 3) som klinisk sett ligner på HFE- hemokromatose. TfR2 har 60 % homologi med TfR1 i ekstracellulær delen. Det antas at begge proteiner har like funksjoner.

Mutasjoner i SLC11A3 genet på kromosom 2q32 (koder for ferroportin, en transmembranal transporter for jern i enterocytter, se fig. 1) er assosiert til en form for hemokromatose (OMIM-type 4) som er forskjellig fra de andre, både fordi den arves

dominant (dvs. forekommer i alle generasjoner) og fordi jernoppbygging skjer hovedsakelig i makrofager istedenfor parenkymceller. Makrofager er det tryggeste stedet å lagre jern, derfor er tilstandens kliniske forløp relativt godartet, og transferrinmetningen er normal.

### **Forhold mellom genetikk og klinikk**

På tross av at den høye prevalensen av C282Y genmutasjonen er de alvorlige tilfeller av hemokromatose ikke så hyppige. Et stor screeningundersøkelse av mer enn 65.000 individer, basert på jernparametere i Nord-Trøndelag har vist at 0,34 % kvinner og 0,68 % menn hadde hemokromatose (7). Bare en mindre andel (kun fire menn) hadde utviklet alvorlig komplikasjoner i form av levercirrhose. Funnene er bekreftet fra andre internasjonale studier. Dette indikerer et stort spektrum i det kliniske bildet av hemokromatose og en stor variasjon når det gjelder penetrasjonen av genmutasjonen. I en studie av innlagte pasienter i et sykehus i Oslo (8) fant man 14 homozygote, hvorav 2 hadde normale jernparametre, 2 hadde cirrhose (en med leverkreft), 10 hadde forøkte jernparametre i varierende grad, men ingen av disse siste hadde symptomer eller funn forenlige med hemokromatose. Hvorfor noen homozygote får levercirrhose eller leverkreft (full klinisk penetrasjon), og andre kun får en liten økning av jernparametere i blodet (biokjemisk penetrasjon), er der umulig å si noe sikkert om. Alder, kjønn, diett, alkoholinntak, jerntap etc. kan påvirke hvor mye man klarer å lagre av jern. Sammenligninger av jernparametre hos tvillinger tyder på at jernavleiring kontrolleres av andre foreløpige ukjente genetiske faktorer i tillegg til C282Y(9). En del forskning pågår med tanke på å identifisere genetiske modifierende faktorer i sykdomspenetrasjonen, men så langt det er ikke funnet noen faktor som klart peker seg ut (10).

### **Screening**

Hemokromatose oppfyller WHO's kriterier for populasjonsscreening.

- Tilstanden er hyppig og kan medføre betydelig morbiditet blant folk av Nordeuropeisk opprinnelse.

*(Fortsætter side 16)*

(Fortsat fra side 15)

- Har en lang preklinisk fase der diagnosen kan stilles.
- Behandling, igangsatt før komplikasjoner har oppstått, er effektiv.
- En enkelt og pålitelig test finnes (Transferrinmetning).

Da C282Y først ble beskrevet, trodde man at dette var en egnet parameter for populasjonsscreening, men grunnet den store variasjonen i penetrans egner testen seg ikke.

Studier har vist at transferrinmetning har større prediktiv verdi og er en langt mer egnet screening parameter for hemokromatose. Om man skal sette i gang populasjonsscreening er imidlertid fortsatt et meget omdiskutert tema internasjonalt. Dette pga. usikkerheter i forhold til kostnad og nytte forbundet med en slik omfattende screening. Studier fra Norge har imidlertid vist at transferrinmetningbasert screening av unge menn (ved 30 års alder) er kostnadseffektiv (11). Pga funn ved andre internasjonale studier er man enig om å anbefale "cascade screening" dvs. testing av familiemedlemmer ved nylig oppdagede tilfeller. Et stort screeningprogram av befolkningen vil trolig ikke være aktuelt før man kan dokumentere at screening gir høy helsegevinst og mindre helseutgifter på sikt.

## Behandling

Paradoksalt nok for en tilstand som diagnostiseres ved hjelp av moderne genteknologi er behandlingen urgammel. Blodtapping er både enkel, billig og effektiv. Pasienter synes stort sett å tolerere den bra. Blodtapping tilbys til pasienter som har økte jernlagre (s-ferritin >500 µg/l), med samtidig økte transaminaser eller kliniske symptomer. Risiko for levercirrhose øker først når s-ferritin >1000 µg/l. Vanligvis tappes 450 ml blod en gang i uken, mer sjelden hos eldre eller hos de som synes ikke å tolerere veneseccio bra nok. Tappingen fortsetter inntil s-ferritin er helt nede på ca. 50 µg/l. Hemoglobinkonsentrasjonen måles regelmessig og en tilfredsstillende verdi er tegn på god jernomsetting. Selv om jernlagre tømmes, vil jernabsorpsjon hos disse pasientene være like effektiv, slik at vedlikeholdstappinger (ca. 4-6 gg. per år) er oftest nødvendig for å holde s-ferritin <100 µg/l.

I tillegg til å unngå jernmedikasjon er ikke andre

kostholdsråd nødvendig. Hvis komplikasjoner har oppstått, dvs. diabetes, hjertesvikt, levercirrhose, krever dette spesifikk behandling. Hos pasienter behandlet før komplikasjoner har oppstått, er leveutsiktene de samme som hos normal- befolkningen. Slapphet, impotens og høye transaminaser responderer på veneseccio, men selv om progresjon kan avta noe, er cirrhose, diabetes og uttalte artrittir irreversible forandringer på tross av blodtapping.

## Oppsummering

Hemokromatose er ikke uvanlig, og én blant 200 i Norge har genetisk anlegg for å utvikle tilstanden. Fenotypisk penetrans av genmutasjon er variabel, og det er umulig å forutse hvem som vil få komplikasjoner. Gentesten i seg selv har vist seg å ha lav prediktiv verdi. Måling av transferrinmetning og s-ferritin er fremdeles avgjørende i diagnostikken av hemokromatose. Ved å identifisere predisponerte individer kan man forebygge morbiditet ved å sette i gang behandling tidlig. De som har jobbet med jernmetabolisme i noen år er enige om at hemokromatose er et spennende felt med et stort omfang fra cellebiologi til klinikk. En del spørsmål er uavklarte og utfordringer mangler ikke:

- Hvilke modifierende faktorer av genetisk art kan påvirke hemokromatosepenetransen?
- Hva er prevalensen og den klinisk signifikansen av de mindre vanlige mutasjoner?
- Hvordan regulerer hepcidin jernabsorpsjon/metabolisme?

En bedre forståelse av jernmetabolismen vil trolig kunne lede til forebyggende eller terapeutiske muligheter innen hemokromatose og andre tilstander hvor jernoverskudd kan forekomme, f. eks. kronisk hepatitt C, alkoholisk lever sykdom, non-alkoholisk fettlever sykdom (NASH).

## Reference List

- (1) Bothwell TH, Charlton RW, Cook JD *et al.* Iron metabolism in man. Oxford: Blackwell scientific publications, 1979.
- (2) Adams P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000;33(3):485-504.
- (3) Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004;350(23):2383-97.
- (4) Feder JN, Gnirke A, Thomas W *et al.* A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13(4):399-408.
- (5) Distant S, Berg JP, Lande K *et al.* High prevalence of the hemochromatosis-associated Cys282Tyr HFE gene mutation in a healthy Norwegian population in the city of Oslo, and its phenotypic expression. *Scand J Gastroenterol* 1999;34(5):529-34.
- (6) Distant S, Robson KJ, Graham-Campbell J *et al.* The origin and spread of the HFE-C282Y haemochromatosis mutation. *Hum Genet* 2004;115(4):269-79.
- (7) Åsberg A, Hveem K, Thorstensen K *et al.* Screening for hemochromatosis: high prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scand J Gastroenterol* 2001;36(10):1108-15.
- (8) Distant S, Berg JP, Lande K *et al.* HFE gene mutation (C282Y) and phenotypic expression among a hospitalised population in a high prevalence area of haemochromatosis. *Gut* 2000;47(4):575-9.
- (9) Whitfield JB, Cullen LM, Jazwinska EC *et al.* Effects of HFE C282Y and H63D polymorphisms and polygenic background on iron stores in a large community sample of twins. *Am J Hum Genet* 2000;66(4):1246-58.
- (10) Sachot S, Moirand R, Jouanolle AM *et al.* Low penetrant hemochromatosis phenotype in eight families: no evidence of modifiers in the MHC region. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27(2):518-29.
- (11) Åsberg A, Tretli S, Hveem K *et al.* Benefit of population-based screening for phenotypic hemochromatosis in young men. *Scand J Gastroenterol* 2002;37(10):1212-9. ■

(Fortsat fra side 6)

## Laboratoriets viktigste ressource

til, at de må forlade arbejdet som bioanalytiker. Den svenske tradition, hvor blodprøvetagningen fordeles på mange hænder på de kliniske afdelinger, giver måske dårligere prøvemateriale, men forhindrer den nedslidning, man kan se på danske laboratorier.

Det lader sig næppe gøre at lade læger og sygeplejersker overtage blodprøvetagningen i Danmark, men en deling af arbejdet eller ansættelse af andre grupper af medarbejdere til blodprøvetagning kan forhindre de værste skader.

## Arbejdspladsens sociale liv

Et laboratorium er også medarbejdernes største kontaktflade til andre mennesker. Det er vigtigt at støtte tiltag, som kan fremme det sociale liv og at anerkende medarbejdere med gode sociale kompetencer på samme måde, som vi anerkender de fagligt dygtige. Det er også vigtigt at holde øje med tendenser til mobning og klikedannelser og forsøge at modarbejde dem.

Og sidst, måske lidt naivt: husk at rose dem, der gør en ekstra indsats! ■

(Fortsat fra side 7)

## Nytt från IFCC och internationella kongressen i Orlando

### Guldtavla till SFKK

SFKK uppmärksammades också i samband med 50års jubileet förra året. Vi fick en tavla med en plakett i glänsande amerikanskt kattguld med en hyllning till oss. Att svenska kliniska kemister i många år gjort stora insatser uppmärksammades också i den avgående ordförandes hyllning. Vi får se var Hans Wallinder, i egenskap av ny ordförande för SFKK, tänker hänga upp hyllningen. ■



# Vil mikromatriseteknologi bli viktig i laboratoriemedisinsk rutinediagnostikk?

Terje Haug, Senter for yrkes- og miljømedisin, Rikshospitalet-Radiumhospitalet  
Universitetssykehus, Oslo

E-post:terje.haug@rikshospitalet.no



Samspeilet mellom celler og celletyper i menneskekroppen påvirkes av en lang rekke ytre og indre faktorer. Tidligere har man studert hvordan et lite antall utvalgte prosesser inne i celler eller mellom celler endres ved sykdom. Utviklingen av mikromatriseteknologi har gjort det mulig å studere samspeilet mellom alle biologiske prosesser på et gitt tidspunkt i en celleprøve. På den måten kan man få et oversiktsbilde som representerer mer helhetlig informasjon om hvilke prosesser som er endret ved sykdom.

Mennesket har anslagsvis mellom 30 000 og 50 000 gener. Ikke alle er funksjonelt aktive (uttrykt) i alle celler. Hvilke gener som uttrykkes og i hvor stor grad dette skjer avhenger av celletype og hvilke stimuli cellen får. Genuttrykk vil således beskrive biologiske prosesser som til sammen resulterer i observerbare egenskaper (fenotype), og være et produkt av nedarvet genetisk informasjon (genotype) og påvirkninger på organismen. Selv om det humane genomet sies å være kartlagt, gjenstår det

mye arbeid før man kjenner sammenhenger mellom genvarianter og fenotypiske trekk eller mellom genuttrykk og fenotype.

Mikromatriseteknologi er et verktøy hvor et stort antall spesifikke målsøkere (prober) avsettes på en fast overflate i et nettverk (matrise). Mikromatriser kan enten brukes til å gjenkjenne en DNA sekvens (genotype) eller bestemme genuttrykk ved å analysere nivåer av genspesifikke mRNA eller proteiner. Mikromatriser med DNA prober kalles genchiper (fig. 1), men mikromatriser kan også bestå av anti-stoffer som gjenkjenner proteiner eller vevssnitt for analyse av proteiner og celle strukturer.

## DNA mikromatriser.

Det underliggende prinsippet i DNA mikromatriseteknologi er komplementære basers evne til å binde seg sammen. Dette kalles hybridisering og er mest stabilt når det dannes bindinger mellom A-T og G-C. Andre kombinasjoner er mye mindre stabile, slik at DNA prober med en gitt basesekvens kan benyttes til å gjenkjenne tilhørende komplementære basesekvenser på DNA fragmenter i en prøve. Ved å feste DNA prober på en fast overflate kan de

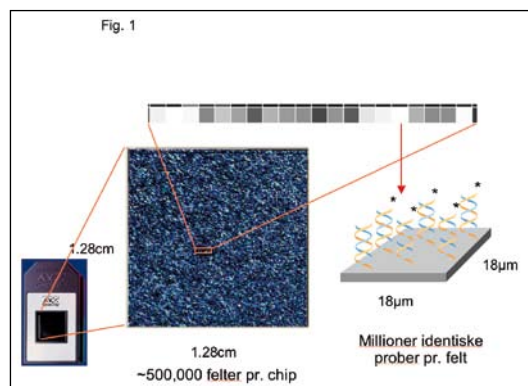


Fig. 1. En DNA mikromatrise kan ha mange tusen felter. Hvert felt har millioner identiske prober som binder fluorisensmerket RNA eller DNA.

brukes til å fiske ut spesifikke genssekvenser som er komplementære til de respektive probene. Når DNA fragmenter fra en pasientprøve merkes med en fluoriserende farge kan man ved å måle lyssignaler bestemme hvor mange DNA fragmenter som binder seg til hvert enkelt felt på genchipsen. Lyssignalene vil altså være relatert til prøvens innhold av genspesifikke mRNA eller DNA molekyler.

#### Analyse av genvarianter med DNA mikromatriser.

Bestemmelse av DNA sekvens kan gjøres ved at et DNA fragment først kopieres ved hjelp av PCR (polymerase chain reaction), merkes med en fluoriserende farge og deretter analyseres på en DNA mikromatrise hvor hvert enkelt felt representerer de fire mulige basene i hver posisjon på fragmentet som skal analyseres. Hvis det er en A i første posisjon på fragmentet vil proben som har T i denne posisjonen binde sterkest og dermed gi et sterkere lyssignal enn G, C og A. Ved å bestemme hvilken base som binder sterkest i hver posisjon på det aktuelle DNA fragmentet, kan store områder resekvenseres eller et stort antall genvarianter (SNPs-single nucleotide polymorphism) undersøkes per genchip.

Den første genchipsen som ble CE godkjent av EU for diagnostisk bruk var AmpliChip CYP450 Test fra Roche Diagnostics (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Switzerland). Testen predikere hvor raskt medikamenter metaboliseres ved at 29 kjente varianter av CYP2D6 genen og 33 varianter av CYP2C19 genen undersøkes. AmpliChip er basert på mikromatrise teknologi fra Affymetrix (Santa Clara, California, USA) hvor millioner av tilnærmet identiske prober som er 25 nukleotider lange, syntetiseres direkte på chipen. Chipen påviser også dupliseringer og delejser av alleler. Gjennom kartlegging av de respektive genvariantene til en pasient, vil en kunne forutsi om omsetningen av det aktuelle medikamentet er ultra-hurtig, rask, normal eller sakte. Hvis medikamentet er aktivt uten metabolisme vil rask metabolisme kunne føre til at pasienten ikke når ønsket terapeutisk nivå, mens lav metabolisme vil kunne medføre for høyt nivå og dermed økt risiko for bivirkninger. Hvis medikamentet er et pro-drug som krever metabolisme for aktivering, vil forholdet kunne bli motsatt. Rask metabolisme vil kunne gi høye nivåer av aktivt medikament, mens lav metabolisme vil kunne gi lave nivåer. Denne type pasientinformasjon åpner

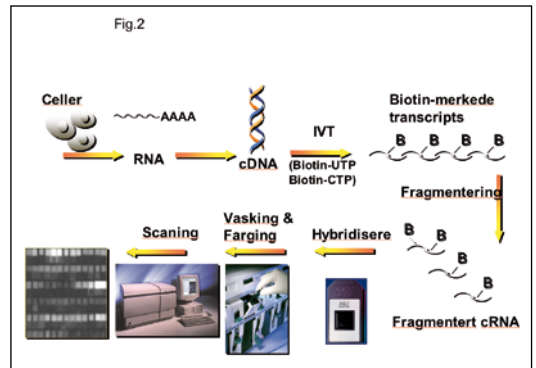


Fig. 2. Analyse av genuttrykk med DNA mikromatriser. mRNA isoleres fra celler i en pasientprøve, kopieres til cDNA, transkribes til biotinmerket cRNA som fragmenteres og hybridiseres til genchipsen. En skanner måler lyssignal fra merket cRNA som er bundet til feltene på genchipsen.

muligheten for at pasienter vil kunne få en bedre og individuelt tilpasset behandling med bedret effekt og et minimum av bivirkninger.

#### Analyse av genuttrykk med DNA mikromatriser.

Analysen av genuttrykk på mRNA nivå (fig. 2) kan gjøres ved at RNA fra en pasientprøve først kopieres (reverstranskribes) fra mRNA til cDNA (copy DNA). Mengden av cDNA er relatert til mengden mRNA i prøven. cDNAet merkes enten direkte eller brukes som templat for å danne flere kopier cRNA som deretter merkes med en fluoriserende farge. Det merkede cRNAet hybridiseres til genchipsen for at merket RNA skal bindes til tilsvarende gen-probe på chipen. Ved å måle lyssignaler fra hvert enkelt felt på mikromatrisen får man informasjon om hvor mye mRNA som ble dannet fra hvert enkelt aktivt gen i pasientprøven.

Affymetrix var først til å lansere en genchip som hadde prober for analyse av tilnærmet alle humane gener. Det har i dag kommet flere leverandører som tilbyr lignende produkter. Produktene er basert på noe forskjellig teknologi, og har både fordeler og ulemper sammenlignet med chiper fra Affymetrix.

En genchip kan altså gi en mRNA profil som inneholder informasjon om uttrykket av alle huma-

(Fortsætter side 20)

(Fortsat fra side 19)

ne gener i pasientprøven på det tidspunktet prøven ble tatt. Ved å sammenligne mRNA profiler fra pasienter med en bestemt sykdom med profiler fra friske personer kan man skille ut de gener som synes involvert i sykdomsprosessen.. De endringene i genuttrykk som avdekkes kan enten være en årsak eller en konsekvens av sykdommen, eller en kombinasjon av begge. Genchiper er derfor et godt verktøy for å identifisere gener som kan være involvert. Disse kandidatgenene kan deretter undersøkes nærmere med andre metoder.

Tester bestående av velkarakteriserte sett av markørgener vil altså kunne forbedre diagnostikk og oppfølging av behandling. For eksempel arbeides det intenst innen kreftdiagnostikk med å finne markører som kan påvise kreft, identifisere krefttypen, antyde hvilken behandling som vil være best og si noe om pasientens prognose. Tilsvarende undersøkelser gjøres i dag på de fleste sykdomstilstander.

### **Protein mikromatriser**

Antistoffers evne til å gjenkjenne og binde til spesifikke proteiner kan også benyttes innen mikromatriseteknologi. Ved å feste et stort antall forskjellige antistoffer til en hard overflate kan man lage mikromatriser som gir informasjon om proteinmengde, modifikasjoner av proteiner og interaksjoner mellom proteiner. Slike antistoff mikromatriser baserer seg på de samme prinsippene som ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), men en mikromatrise kan bygges opp til å inneholde et stort antall ELISA analyser. Man kan også feste proteiner direkte til overflaten for å bruke den evnen disse har til å binde andre proteiner. Dette gir mulighet for å analysere protein-protein interaksjoner. Det gjenstår imidlertid å løse en rekke tekniske problemer som sensitivitet og opprettholdelse av proteiners funksjonalitet ved binding til overflater.

### **Vevs mikromatriser**

Ved å samle vev fra histologiske parafinblokker på en hard overflate kan et stort antall vevssnitt analyseres samtidig. Dette gjøres ved at standard nålbiopsier støpes inn i et matrisemønster på en parafinblokk. Parafinblokken snittes og snittene farges for analyse av cellulære strukturer og molekyler.

### **Diagnostisk bruk av mikromatriseteknologi.**

Mikromatriseteknologiens styrke ligger i muligheten til å utføre et stort antall analyser i en og samme operasjon. Dermed kan man innhente mye informasjon om prosesser relatert til hver enkelt pasients sykdom. Etter hvert som medisinsk forskning øker kunnskapen om sykdomsprosesser, kan mer og mer informasjon inkorporeres i diagnostiske mikromatriser. Hvis vi tar dagens eneste CE-godkjente mikromatrise fra Roche som eksempel, estimerer denne pasientens nedarvede evne til å omsette medikamenter. Testen baserer seg på at genchiper identifiserer de aktuelle genvarianter og at man har en faktisk kunnskap om effektiviteten (spesifikk aktivitet per molekyl) til de respektive proteinene som dannes fra hver genvariant. For å kunne estimere hvor fort pasienten vil omsette medikamenter nøyaktig kreves imidlertid mye tilleggsinformasjon. Siden omsetningshastigheten vil være et produkt av hvor effektivt ett proteinmolekyl er multiplisert med antall molekyler, er det viktig også å estimere hvor mange molekyler som dannes. Man trenger altså informasjon om både kvalitet og kvantitet. Ved foreløpig å inkludere kun gener som er relativt stabilt uttrykt har Roche forsøkt å redusere behovet for kvantitativ informasjon. Generelt vil dette være en utfordring siden antallet proteinmolekyler vil kunne påvirkes av sykdomsprosesser, medikamentet selv eller andre medikamenter, livsstil eller miljøpåvirkninger. Og selv om antallet proteinmolekyler kan estimeres ganske presist, er det mulig at effektiviteten påvirkes gjennom interaksjoner, modifikasjoner og cellulær lokalisering.

Denne type kunnskap vil det ta lang tid å erverve for mange sykdomsprosesser. Men kunnskapen skapes i stadig raskere tempo og diagnostiske mikromatriser for en rekke sykdommer forventes å komme snart. Hvor gode disse vil være gjenstår å se, men etter hvert vil forbedrede versjoner inneholde markører som predikerer optimal behandling. Behandlingen vil dermed bli skreddersydd for den enkelte pasient i stedet for å følge et standardisert regime. Muligheten for å kunne forebygge eller påvise sykdom tidligere vil også øke etter hvert som kunnskapen om biologiske prosesser øker. ■

# Metodesammenligning

Ulrik Gerdes, Klinisk Biokemisk Laboratorium,  
Center for Psykiatrisk Grundforskning, Risskov  
E-post: [ulrik.gerdes@dadlnet.dk](mailto:ulrik.gerdes@dadlnet.dk)



## Baggrund

Vi bruger mange resurser indenfor klinisk biokemi på at sammenligne forskellige målemetoder og procedurer. Undersøgelserne anvendes fx hvis man overvejer at indføre en ny målemetode som erstatning for en eksisterende metode, eller overvejer at ændre en procedure for prøvebehandling.

Der findes forskellige matematisk-statistiske modeller (værktøjer), der kan bruges til dataanalyser i sådanne undersøgelser. Nogle modeller er gode, fordi de giver en tydelig karakterisering af forskellene i resultaterne, og dermed giver støtte til besvarelsen af de centrale spørgsmål: Hvor meget adskiller resultaterne fra to metoder sig fra hinanden? Er forskellene så store, at rekvirenterne vil få problemer med fortolkningen af resultaterne, hvis vi udskifter den ene metode med den anden? Er der behov for at omregne måleværdierne?

Andre modeller er mindre gode, eller ligefrem dårlige, fordi de ikke kan afsløre betydningsfulde forskelle mellem to metoder og/eller fordi resultaterne af metodesammenligningerne udtrykkes i aggregerede talstørrelser (parameterestimer), der ikke er meningsfulde eller brugbare i forhold til undersøgelsens formål. Det gælder især den alt for hyppigt anvendte lineære regression af resultater fra en metode Y mod resultaterne fra en metode X, med estimering af et intercept, en hældningskoefficient og en korrelationskoefficient.

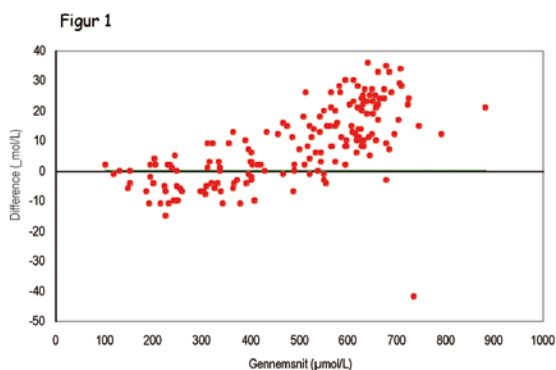
Vi vil gerne kvalitetsvurdere alt muligt indenfor klinisk biokemi, og vurderingerne burde også omfatte brugen af matematisk-statistiske modeller til metodesammenligninger. Det er vigtige undersøgelser, der ofte danner grundlag for væsentlige beslutninger i laboratoriet.

Jeg vil i denne artikel gennemgå brugen af

Altman og Blands model, som baserer sig på grafiske præsentationer og enkle matematisk-statistiske analyser af differencer og middelværdier af måleresultater fra to forskellige metoder<sup>1,2</sup>. Udover at være en god model i den ovennævnte forstand, så er den også robust og let at implementere til brug i et regneark.

## Gennemsnit og differencer for de individuelle måleværdier

Figur 1 viser resultaterne fra en sammenligning af målinger af P-Albumin på hhv. en Hitachi 917 (Roche) og en Aeroset (Abbott) autoanalysator (n=173). Jeg bruger 'A' og 'B' som henvisninger til de to metoder i det følgende, og bruger subskriptet 'i' for individuelle måleværdier.



Værdierne på abscissen (X-aksen) er gennemsnittet af de to målinger, dvs. værdierne  $gns_i = (A_i + B_i)/2$ . Man skal så godt som altid bruge gennemsnittene, også selvom den ene målemetode er en referencemetode, fordi der ellers introduceres en systematisk fejl i dataanalyserne<sup>3</sup>.

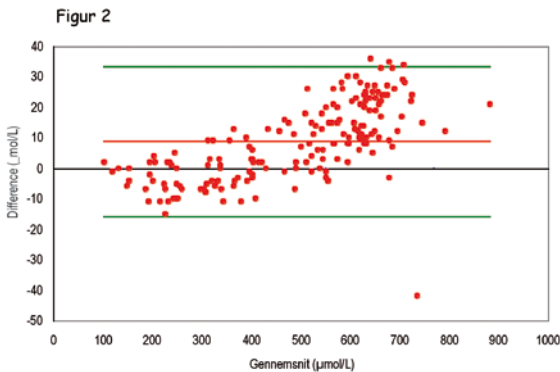
Værdierne på ordinaten (Y-aksen) er differencerne mellem de to målinger, dvs. værdierne  $d_i = (B_i$

- A<sub>i</sub>). Man kunne lige så godt bruge værdierne (A<sub>i</sub> - B<sub>i</sub>), men hvis B er den nye metode og A den gamle metode (eller eventuelt en referencemetode), så er fortolkningen af d<sub>i</sub> mere umiddelbar: Værdier over 0 betyder at den nye metode giver højere værdier end den gamle, og vice versa.

Figur 1 viser fx at Aeroset har en systematisk tendens til at give lidt højere værdier end Hitachi 917 ved P-Albumin over 500 µmol/L, mens der er en bedre overensstemmelse mellem de to metoder ved lavere koncentrationer.

### Grænserne for overensstemmelse og middelværdien af differencerne

Figur 2 er mage til Figur 1, bortset fra at der er vist 3 vandrette linier:



Den midterste røde linie viser middelværdien af differencerne, dvs.  $\text{middel}(d) = \sum d_i/n$ . Værdien er 8,6 µmol/L med et 95% konfidensinterval fra 6,7 til 10,5 µmol/L (ikke vist i figuren). Intervallet beregnes som  $\text{gennemsnittet}(d) \pm \text{SE}(d) \times t_{97,5}(n-1)$ , hvor SE(d) er standardfejlen på estimatet af  $\text{middel}(d) = \text{SD}(d)/\sqrt{n}$ , og  $t_{97,5}(n-1)$  er 97,5-percentilen i en t-fordeling med n-1 frihedsgrader<sup>4</sup>. Da konfidensintervallet ikke inkluderer 0 betyder det, at  $\text{middel}(d)$  er statistisk signifikant forskellig fra 0, hvis man som sædvanligt anvender et signifikansniveau på 5%.

De to grønne linier er 95% grænserne for overensstemmelse (*limits of agreement*) mellem metoderne, dvs. de grænser indenfor hvilke i middel 95% af værdierne af d<sub>i</sub> findes. Grænserne er estimeret som  $\text{gennemsnit}(d) \pm 1,96 \times \text{SD}(d)$ . Bemærk, at der ikke er tale om konfidensintervaller, men om grænser der minder om referenceintervaller. Man kan even-

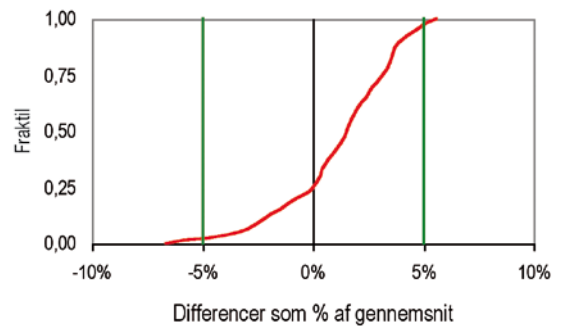
tuelt beregne konfidensintervaller for grænserne<sup>2</sup>, men dette gøres sjældent i praksis.

### Hvordan skal man nu fortolke disse resultater?

Et traditionelt udgangspunkt ville være at fokusere på det resultat, at  $\text{middel}(d)$  er statistisk signifikant større end 0 – og herudfra konkludere, at målemetode B giver højere værdier end målemetode A, dvs. at man har et problem, hvis man udskifter A med B.

Men er det en sufficient og faglig relevant fortolkning af resultaterne? Hvis man ser nærmere på værdierne af differenserne og på 95% grænserne for overensstemmelse, så er uoverensstemmelserne forholdsvis beskedne.

Figur 3



Figur 3 viser den kumulerede fordeling af differenserne i procent af de tilsvarende gennemsnit, dvs. værdierne  $100 \times d_i/\text{gns}_i$ . Fordelingen er højreforskudt i forhold til 0-linien, men ca. 95% af differenserne findes alligevel indenfor intervallet  $0 \pm 5\%$ .

Hvis dette er acceptabelt, set fra en faglig, klinisk orienteret synsvinkel, så har man ikke noget problem. Og hér er en vigtig pointe, når man sammenligner målemetoder – man kan ikke bruge p-værdier eller andre aggregerede statistiske talstørrelser til at afgøre, hvorvidt eventuelle forskelle er betydningsfulde eller ej. Vurderingen er ikke en opgave for statistiker, men for en klinisk biokemiker!

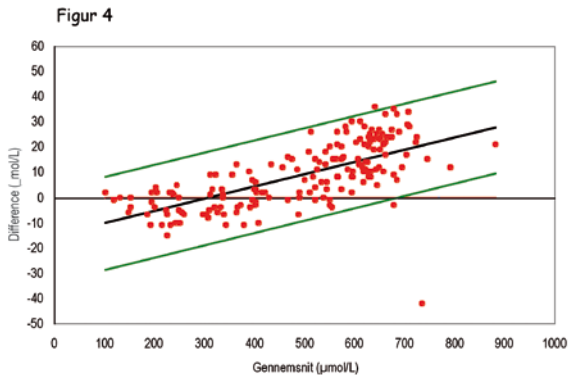
(Fortsætter side 26)



(Fortsat fra side 25)

## Analyser af 'skæve tal'

Figur 4 viser resultaterne af en anden analyse af data, som er mere korrekt i det aktuelle tilfælde, fordi der tydeligvis er en sammenhæng mellem differencerne og gennemsnittene af målværdierne for de to metoder.



Det er gjort på følgende måde<sup>2</sup>:

Jeg har først estimeret parametrene  $\beta_0$  og  $\beta_1$  for den lineære regressionsmodel:

$$\text{forventet}(d_i) = \beta_0 + \beta_1 \times \text{gns}_i$$

Resultatet svarer til den sorte linie i Figur 4. Herefter har jeg beregnet residualerne for differencerne, dvs.  $r_i = d_i - (\beta_0 + \beta_1 \times \text{gns}_i)$ , og deres standardafvigelse, SD(r).

Når man herefter beregner værdier for  $\beta_0 + \beta_1 \times \text{gns} \pm 1,96 \times \text{SD}(r)$

fås de grønne 'skrå' grænser for overensstemmelse i Figur 4.

Man kan godt teste hypotesen  $\beta_1 = 0$  som støtte for en vurdering af, om det er nødvendigt at bruge denne udvidede model, men som ovenfor er det i sidste ende den kliniske biokemikers vurdering af data der skal være afgørende.

Det er ikke helt sjældent, at differenserne spreder mere (eller mindre) ved høje målværdier end ved lave værdier. Det kaldes variansheterogenecitet og giver problemer i alle parametriske modeller, hvis det er udtalt. Man kan i mange tilfælde dog afhjælpe problemet på en simpel måde, nemlig ved at logaritmere målværdierne eller ved at bruge relative differenser, dvs.  $d_i/\text{gns}_i$ .

Hvis talværdierne er mere ureglerlige, kan man bruge non-parametriske teknikker til karakterisering af overensstemmelsen mellem metoderne<sup>2</sup>, men bør samtidig spekulere over *hvorfor* talværdierne er så ureglerlige?

## Hvor mange prøver skal man bruge til en metodesammenligning?

Der findes formler til beregning af det nødvendige antal, hvis man ønsker at kunne påvise en statistisk signifikant forskel af en given størrelse med en given statistisk styrke. Brugen forudsætter imidlertid at man har pålidelige estimater af metodernes varianser, og at fordelingen af differencerne er forholdsvis enkel<sup>5</sup>. NCCLS anbefaler mindst 40 prøver, dog uden at give nogen nærmere forklaring<sup>6</sup>.

Mit råd, baseret på simpel erfaring, er – brug *mange*, helst over 75, og sørg for at værdierne er godt spredte i hele i måleområdet. Hvis man af økonomiske eller andre grunde bruger under 25 prøver, så risikerer man at få problemer med at afdække de reelle forskelle mellem målemetoderne.

Da vi skulle sammenligne en lang række gængse biokemiske analyser på en Hitachi 917 og en Aeroset, valgte vi at køre alle analyserne på omkring 175 tilfældigt udvalgte patientprøver. Det var rationelt, både med hensyn til analysearbejdet og håndteringen af data (der kunne hentes som blokke i instrumenternes computere), og strategien viste sig at give gode spredninger på alle målinger. Risikoen ved en sådan fremgangsmåde er dog, at man kun får et øjebliksbillede af forskellene mellem instrumenterne, dvs. ikke ser forskellene efter gentagne kalibreringer etc.

## Enkeltbestemmelser, dobbeltbestemmelser eller flere?

Det anbefales at lave dobbeltbestemmelser eller flere, og at anvende den ekstra information i metodesammenligningen<sup>2</sup>. Det centrale er, at grænserne for hvor god en overensstemmelse der kan ses mellem to metoder naturligvis afhænger af metodernes "overensstemmelse med sig selv", dvs. deres præcision.

## Skal man fjerne 'outliers'?

Nej, men hvis der findes datapunkter, som tydeligt skiller sig ud fra de øvrige, bør man gentage data-

(Fortsætter side 28)

(Fortsat fra side 26)

analyserne uden disse, for at se i hvilket omfang de påvirker vurderingen af overensstemmelsen mellem målemetoderne. Og i øvrigt undersøge, om der kunne være specielle grunde til at der optræder store forskelle, fx at den ene metode er mere følsom for visse interfererende substanser end den anden.

### Hvis man vil korrigere resultaterne for en ny målemetode

Den viste sammenligning af målinger af P-Albumin på to forskellige instrumenter gav ikke anledning til seriøse overvejelser om at omregne (korrigere) resultaterne fra det nye instrument (Aeroset), for at undgå et lille spring i målniveauet.

Hvis vi ville, kunne vi have brugt formlen:

$$B_i \text{ (korrigeret)} = \alpha_0 + B_i \times \alpha_1$$

hvor  $\alpha_0$  og  $\alpha_1$  er parameterestimerne fra en lineær regressionsanalyse af  $A_i$  som funktion af  $B_i$ .

Det kan også gøres på andre måder, men uanset hvordan man gør, så vær opmærksom på at der skal indregnes nye komponenter i et eventuelt usikkerhedsbudget for den korrigerede metode, nemlig usikkerhederne på parameterestimerne. Det kan være lidt kompliceret<sup>7</sup>.

### En lille notits om 'parameter' og 'variabel'

Det er meget almindeligt, også blandt specialister i klinisk biokemi, at sige 'biokemisk parameter', fx med henvisning til P-Natrium. Jeg vil gerne benytte lejligheden til at forsøge at få udryddet denne forvirrende sproglige fejl – P-Natrium er noget man kan måle og vis værdi varierer fra individ til individ, så det er en biokemisk *variabel*. En parameter er noget helt andet, nemlig en kvantitet der karakteriserer en fordeling af måleværdierne af variable – fx en middelværdi, en standardafvigelse eller en regressionskoefficient.

Da kliniske biokemikere er berømte (eller berygtede) for at insistere på korrekte betegnelser indenfor vores eget område, så bør vi også følge andres råd:

“Misuse of medical terms is rightly deprecated. Like other language errors it leads to confusion and the loss of valuable distinction. Misuse of nonmedical terms should be viewed likewise”<sup>8</sup>

### Referencer

- (1) Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1(8476):307-310.
- (2) Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999; 8(2):135-160.
- (3) Bland JM, Altman DG. Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet* 1995; 346(8982):1085-1087.
- (4) *Statistics with confidence*. 2nd ed. London: British Medical Journal Books; 2000.
- (5) Magari RT. Evaluating agreement between two analytical methods in clinical chemistry. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38(10):1021-1025.
- (6) Krouwer JS, Tholen DW, Garber CC, Goldschmidt HMJ, Kroll MH, Linnet K et al. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline - second edition. EP9-A2[22]. 2002. NCCLS; Wayne, Pennsylvania, USA.
- (7) Borg L, Kristiansen J, Christensen JM, Jepsen KF, Poulsen LK. Evaluation of accuracy and uncertainty of ELISA assays for the determination of interleukin-4, interleukin-5, interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(5):509-519.
- (8) Altman DG, Bland JM. Statistics notes: variables and parameters. *BMJ* 1999; 318(7199):1667.

### Taksigelse

Statistiker, ph.d. Jørn Attermann, Institut for Epidemiologi og Socialmedicin, Århus Universitet, takkes mange gange for rettelser og kommentarer til manuskriptet. ■

## Diagnostik finder sin plads i Cochrane Collaboration

Jørgen Hilden\*, Biostatistisk Afdeling, Københavns Universitet

email: [jh @ biostat.ku.dk](mailto:jh@biostat.ku.dk)



*\*for Dansk Selskab for Klinisk Biokemis arbejdsgruppe til fremme af evidensbaseret anvendelse af klinisk biokemi. Gruppens øvrige medlemmer er: Per E. Jørgensen, Lone G.M. Jørgensen, Jonna Skov Madsen, Torben B. Larsen og Erik Magid.*

Siden 1993 har den internationale Cochrane Collaboration med næsten eksponentielt stigende produktivitet indsamlet kontrolleret klinisk erfaringsmateriale og sammenfattet kliniske forsøg på metaanalyse-form i Cochrane Library ([www.thecochranelibrary.com](http://www.thecochranelibrary.com)). Allerede ved det årlige Cochrane Colloquium i 1995 opstod den tanke, at diagnostiske studier burde medindtages under samarbejdet. Uden en lige så stringent indsamling, sortering og analyse af diagnostiske forskningsdata kunne Cochrane-samarbejdet siges at være halvt. En løs arbejdsgruppe dannedes under ledelse af Les Irwig (Sydney), Paul Glasziou (nu Oxford) og, i de senere år, Constantine Gatsonis (Brown University, Providence RI). Mit eget engagement udmøntedes bl.a. i et foredrag ved NFKKs kongres i Thorshavn året efter (1). I to omgange forsøgte gruppen at overtale Cochrane-styregruppen til at lukke diagnostiske studier ind, men begge gange faldt forslaget på ressourcspørgsmål. Man forudså med rette, at de nødvendige strukturer, uddannelse og ikke mindst programmell ville kræve en investering mindst to gange større hvad man hidtil havde satset på terapistudier. Faktoren "to gange større" henviser her bl.a. til, at medens terapi i princippet kan vurderes på en enkelt klinisk gevinstskala, så har diagnostisk testning altid både et sensitivitet- og et specificitetsaspekt. Ligeledes må det erkendes, at mens terapi i det kontrollerede kliniske forsøgs ramme kun er ét skridt fra patientrespons, er diagnostiske test to skridt herfra, med klinikerens valg af

behandling som et nødvendigt, men metodologisk set udfordrende mellemtrin.

Hertil kom, at modsat det terapeutiske forsøg, som jo i de sidste årtier har fundet sig en velforstået og officielt anerkendt metodologisk skabelon, har diagnostisk forskning været et underudviklet felt hvad angår metodologisk kvalitet og standarder for rapportering. Selv her i Norden, hvor vi har en tradition for rationel klinik og klinisk-kemisk systematik, har klinisk evaluering af diagnostiske test været forsømt til fordel for analytiske og organisatoriske aspekter, og på det internationale plan har kliniske evalueringer været ikke blot meget heterogene, men også ofte af dårlig kvalitet. Så enhver, der kastede sig ud i systematiske reviews og metaanalyse, ville komme til at stå med alt for mange løse ender, for ikke at sige ubrugelige oplysninger. Indirekte afspejles denne mangel på metodisk holdning også i klinisk sammenhæng, hvor eksempelvis guidelines som de danske "Klaringsrapporter" i deres omtale af klinisk-biokemiske test stort set negligerer spørgsmålet om evidens-grundlag (2).

I erkendelse heraf påtog arbejdsgruppen sig ved Cochrane-kollokviet i Cape Town (1999) at udarbejde en standard for rapportering - og dermed indirekte for udformningen - af kliniske studier af diagnostiske test. Dette såkaldte STARD-initiativ, hvis pennefører er Patrick Bossuyt (Amsterdam), udkom med sin anbefaling i januar 2003 som detaljeret omtalt i (3).

Og i april 2003 lykkedes det så omsider Jon Deeks (Oxford), der er en af samarbejdets centrale statistikere, at overtale Cochrane-styregruppen til at binde an med diagnostiske problemer. Det udløste en heftig aktivitet med sigte på at forfatte en manual på linie med den eksisterende Cochrane-manual for review og metaanalyse af terapiforsøg, samt på at forsyne Cochrane-samarbejdets programmør-team, som sidder på Nordic Cochrane Centre i København, med de nødvendige instrukser. Efter interne møder i Barcelona (oktober 2003) og Freiburg (april 2004) fik

vi ved kollokviet i Ottawa (oktober 2004) mulighed for at præsentere nogle af vore ideer for interesse-rede, ligesom det videre forløb blev planlagt.

Redaktørerne af de 11 kapitler i den kommende Diagnostic Reviewers' Handbook har ved nytår indsendt deres manuskripter til hovedredaktionsgruppen (Deeks, Bossuyt, Gatsonis). Jeg selv er medlem af redaktionsgruppen for kapitel 8 om statistiske meta-analysemetoder. I løbet af foråret 2005 er udvalgte CRGer (collaborative review groups) fra forskellige specialer blevet forsynet med en pilotversion, som de så skal forsøge at bruge til et systematisk review, fulgt, om muligt, af en metaanalyse. Deres foreløbige erfaringer vil blive indarbejdet i en Version 1.0 af Handbook i løbet af sommeren, med henblik på offentliggørelse i forbindelse med Cochrane-kollokviet i Melbourne, Oktober 2005. Her vil også blive holdt et første træningskursus for menige medlemmer af samarbejdet.

Parallelt hermed vil programmørgruppen få desin'er fra hovedredaktørerne om den overordnede struktur af de nødvendige edb-faciliteter og de konkrete statistiske (etc.) procedurer, der skal indbygges. Dermed skulle programmet også være klart til testning i efteråret 2005.

Lærebogsmateriale og kurser er også i støbeskeen. Omend Handbook nok ikke sine første versioner vil være gennemarbejdet, så at den er egnet som lærebog, har gruppen løfte fra et af de store forlag om udgivelse som bog, velsagtens tidligst i 2007. Samtidig tages der skridt til opstilling af et register over primærstudier, men dette vil ligesom de pædagogiske aktiviteter og videreudviklingen af de statistiske teknikker kræve eksterne midler, som jeg alvorligt håber også nordiske læsere vil hjælpe os i Cochrane Diagnostic and Screening Methods Group til at skaffe.

Hvad statistisk niveau angår, er de planlagte faciliteter temmelig foreløbige. Man vil kun tage hånd om data på den klassiske sort-hvide binære form (syg/rask tabelleret mod positiv/negativ), ligesom kun "velkendte" mål for diagnostisk ydeevne vil blive tilbudt. Og de få avancerede teknikker der vil være tilgængelige vil være omgivet af dybe huller. Især har jeg argumenteret forgæves for at få lov at indlægge nogle simple, mestendels grafiske, procedurer til forhåndsmønstring og præsentation af primærstudiernes 2X2-tabeller. Ved Ottawa-mødet fik jeg heldigvis støtte på det punkt, men sagen må vente til

anden udgave af Handbook. Dog skal det tilføjes, at review-forfattere altid vil have mulighed for at indføre tekst, grafer og statistiske uddata fra egne programmer. Det forudses samtidig, at en del procedurer i eksterne standardpakker vil få Cochrane-gruppens blå stempel. Ligeledes vil diagnostiske evalueringer, der har karakter af randomiserede forsøg, naturligvis kunne håndteres via Cochrane-systemets sædvanlige kanaler for randomiseringsbaseret evidens.

På længere sigt er det høje mål, at systematiske reviews skal forbedre valget af diagnostiske prøver og fortolkningen af deres resultater, og at Cochrane-systemets velsmurte elektroniske medier vil sikre udbredelse af ajourført viden og lette blotlæggelsen af lakuner i vor viden på det diagnostiske felt.

## Referencer

1. J. Systematic review of diagnostic tests, theoretical aspects. XXV Nordiske Kongres i Klinisk Kemi, Tórshavn, juni 1996.
2. Jørgensen PE, Magid E, Madsen JS, Hilden J, Jørgensen LGM, Larsen TB. Diagnostik: nye metodologiske initiativer – 2. Klinisk Biokemi i Norden 2004; 16(3), 16-20.
3. Magid E. Diagnostik: nye metodologiske initiativer. Klinisk Biokemi i Norden 2004;16(2):13-16. ■



Foto: Henrik Alfthan

# Publiseringsmønsteret innen fagområdet medisinsk biokjemi i Norden

Tor-Arne Hagve, *The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, Avdeling for Medisinsk Biokjemi, Rikshospitalet, 0027 Oslo*

E-post: [tor-arne.hagve@rikshospitalet.no](mailto:tor-arne.hagve@rikshospitalet.no)

## Publikasjonsmønster

I forrige statusrapport for SJCLI (KBN 2003;4:38-40) var hovedbudskapet av 70% av nordiske manuskripter innen fagområdet medisinsk biokjemi publiseres i SJCLI. Det er selvfølgelig en sannhet med modifikasjoner fordi utvalget tidsskrifter som ble gjennomgått var begrenset til de med hovedfokus på medisinsk biokjemi/klinisk biokjemi/klinisk kjemi; *Clinical Chemistry, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Annals of Clinical Biochemistry og Clinica Chimica Acta*. Vår hovedkonklusjon om at "SJCLI er det viktigste publiseringsmedium for fagområdet medisinsk biokjemi" er kanskje ikke riktig?

En rekke studier publiseres i tidsskrifter med hovedfokus på kliniske problemstillinger, andre laboratorieområder og biokjemi, samt i et økende antall høyspesialisert tidsskrifter. For å få et bilde av dette ville det optimale være å ha oversikt over den totale publikasjonsaktiviteten innen fagområdet medisinsk biokjemi i Norden. Det er ikke praktisk mulig. Vår tilnærming baserer seg på oversikten over publikasjoner for ulike institusjoner i Sverige for 2003 publisert i *Klinisk Kemi* nr 2 og 3/2004. Alle tidsskrifter i publikasjonslisten er klassifisert som et "klinisk tidsskrift" eller "laboratorietidsskrift" av to kolleger uavhengig av hverandre med en oppsummerende konsensus. De fem nevnte tidsskriftene samt nasjonale og nordiske tidsskrifter er ikke tatt med i oversikten.

Eksempler på laboratorietidsskrifter er *Arch Biochem Biophys, Mol Immun og Thromb Haemost*, mens *J Urology, Thorax, Neoplasia og Cardiovasc Disorders* er eksempler på kliniske tidsskrifter. Ut fra artikkelens tittel ble det også vurdert om den ville være innenfor SJCLI's interessområde (scope).

Som hovedregel regner vi med at artiklene primært utgår fra den institusjon som er angitt i førsteforfatters adresse. To kolleger, hvorav en svensk,

har gått gjennom listen og vurdert om arbeidet utgår fra en laboratorieavdeling eller et annet fagområde/medisinsk spesialitet. For en del artikler, særlig i gruppen laboratorietidsskrifter er førsteforfatters adresse bekreftet i Medline.

Det er helt klart at det ikke er mulig å trekke sikre konklusjoner om det nordiske publiseringsmønster med de til dels subjektive vurderinger som legges til grunn for de følgende innspill. De tallverdier som presenteres her er avrundet og må betraktes som unøyaktige og kun veiledende.

Det er selvfølgelig også usikkert om tallmaterialet fra Sverige også gjelder for de andre Nordiske land.

Av de 267 publikasjonene som ble inkludert ble 40% vurdert som laboratorietidsskrifter og resten som kliniske tidsskrifter. Henholdsvis 30% og 50% av artiklene ble vurdert til å være innen interesseområdet til SJCLI. For artikler innen gruppen laboratorietidsskrifter er 30% av førsteforfatterne tilknyttet en laboratorieavdeling mens 10% av førsteforfattere på artikler i kliniske tidsskrifter arbeider innen laboratoriemedisin.

Den mest troverdige konklusjon er at av alle vitenskapelige artikler innen fagområdet medisinsk biokjemi er det bare 20% av arbeidene som primært utgår fra en laboratorieavdeling. For 80% av publikasjonene er laboratorieavdelingene del-leverandører av måleresultater.

Oversikten viser altså at en stor andel av alle artikler som utgår fra laboratorieavdelingene publiseres i kliniske tidsskrifter og at artiklene i laboratorietidsskrifter i uventet stor grad utgår fra kliniske avdelinger. Innen begge tidsskriftgrupper synes en stor andel av titlene å være innen SJCLIs interesseområde. Det reflekterer det brede "scope" vi har i SJCLI.

(Fortsætter side 34)



(Fortsat fra side 32)

Hvis tallene ovenfor sammenholdes med at SJCLI har 70% av alle artikler publisert fra det nordiske miljøet i de klassiske tidsskrifter innen medisinsk biokjemi, finner man at 30% av *alle* publikasjoner som utgår fra nordiske laboratorier (hovedsakelig medisinsk biokjemi) og hvor laboratorieavdelingen står som "principal investigator" trykkes i SJCLI. Med alle forbehold blir konklusjonen at SJCLI har en viktig rolle i formidling av vår faglige aktivitet og vårt miljøes forskningsfargede ansikt utad. Men det viser også at en rekke relevante arbeider publiseres i andre tidsskrifter. Kan vi gjøre noe med det?

Det er ikke usannsynlig at det i de enkelte land finnes publiseringsoversikter som på en bedre og sikrere måte belyser denne problemstillingen. Hvis så er tilfelle vil vi gjerne at dette viderefremmes, enten gjennom KBN eller direkte til SJCLI.

### Status for SJCLI

Manuskripttilgangen til SJCLI er stabil og rimelig god, men ikke bedre enn at vi i perioder er på grensen til ikke å ha nok stoff når dead-line nærmer

seg. Vi kompenserer dette blant annet med review-artikler, editorials osv, og ikke minst spesialhefter. Vi arbeides nå med to spesialhefter; ett med fokus på diagnose og oppfølging av diabetes og ett om hemoglobinopater.

Ved årskiftet avsluttet Teddy Weber og Gunnar Skude sin siste periode som fagredaktør i SJCLI og begge takkes med dette for mange års innsats for tidsskriftet og dermed også for nordisk medisinsk biokjemi. Som arvtagere ønskes Ann-Kristin Öhlin og Aarno Palotie velkommen.

Redaksjonen i SJCLI fungerer bra. Vi har endret de redaksjonelle rutiner hvilket helt klart har medført kortere behandlingstid. Ordningen med et mer aktivt, internasjonalt Advisory Board har vært vellykket. Advisory Board viser engasjement.

Det arbeides med å få på Internett et elektronisk manuskriptbehandlingssystem. Det er innkjøpt og vi regner med å ta det i bruk tidlig på høsten. Dette vil ytterligere forenkle og effektivisere manuskriptbehandlingen i SJCLI

Vi vil gjerne ha innspill om gode review artikler og minner samtidig om at en sammenstilling av doktorgrader (Review of a Scandinavian Thesis) alltid blir godt mottatt av leserne. ■



Foto fra Island: Imgunn Torsteinsdorttir

# Adeninfosforibosyltransferase-mangel (APRT-mangel)

## - radiolucent nyrestein

Yngve Th. Bliksrud<sup>1</sup>, Berit Woldseth<sup>1</sup>, Hans-Jacob Bangstad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Avdeling for medisinsk biokjemi, Rikshospitalet, Oslo

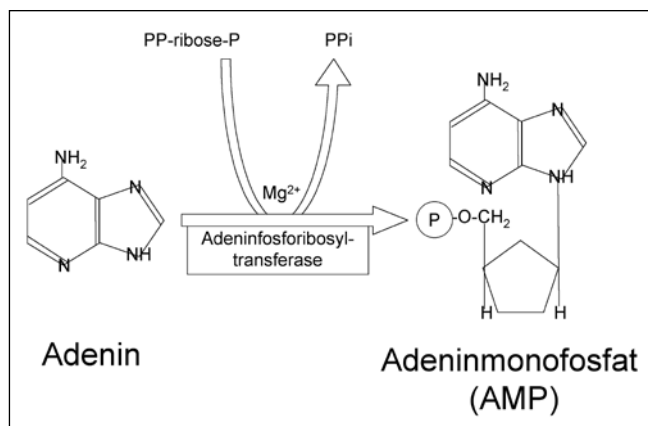
<sup>2</sup>Barnemedisinsk avdeling, Ullevål universitetssykehus, Oslo

### Kasusbeskrivelse

Seksjon for biokjemisk genetik, (Avdeling for medisinsk biokjemi, Rikshospitalet, Oslo) mottok ultimo november 2004 urin til metabolsk screening fra en 3 mnd gammel pike med nyrestein. Pasienten var første barn av ubeslektede foreldre av tyrkisk herkomst. Ingen kjent opphopning av nyresykdommer i familien. Nyrestein var påvist med ultralyd etter flere episoder med makroskopisk hematuri. Hos oss ble det påvist økt utskillelse av adenin (LC-MS-MS) og 2,8-dihydroksyadenin i urinen (HPLC). Sistnevnte metabolitt regnes nærmest som patognomonisk for APRT-mangel. For endelig verifisering av diagnosen ble prøve sendt til Purine Research Laboratory, Guy's Hospital i London til enzymaktivitetsbestemmelse i erythrocytter. Adenin fosforibosyltransferaseaktiviteten var ikke målbar. Så vidt oss bekjent er dette første gang diagnosen er stilt i Norge.

### Biokjemi

Enzymet adeninfosforibosyl-transferase katalyserer reaksjonen adenin + adeninmonofosfat (AMP).

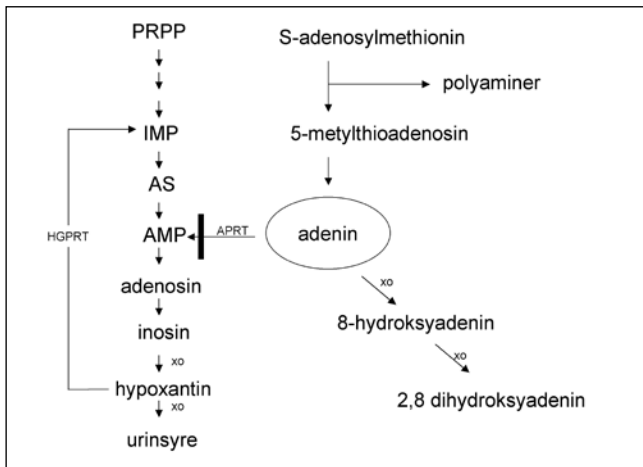


Enzymet APRT katalyserer reaksjonen fritt adenin til AMP med magnesium som kofaktor.

APRT= adeninfosforibosyltransferase. AMP= adeninmonofosfat. PP-ribose-P = ribosetri-fosfat. PPi= inorganisk difosfat.

Enzymet resirkulerer fritt adenin til det tilsvarende nukleotidet. Verken biosyntesen eller nedbrytningen av AMP produserer imidlertid fritt adenin. Fritt adenin synes i hovedsak å stamme fra polyamin-syntesen som et biprodukt. Ved nedsatt aktivitet av APRT vil adenin hope seg opp og bli omdannet av xantin oksidase til adenin til 2,8-dihydroksyadenin. Dette er meget tungt løselig, og kan danne krystaller i nyrer og urinveier.

Pasienter med manifest APRT-mangel får kun symptomer relatert til nyresteindannelsen. Dette er kanskje litt overraskende med tanke på at adenin inngår i svært sentrale molekyler i cellene som f. eks. DNA og ATP. Forklaringen henger sammen med at den viktigste resirkuleringsruten for adenin er annen, nemlig i form av hypoxantin som, ved hjelp av hypoxantin-guanin-fosforibosyltransferase (HGPRT), blir til inosinmonofosfat (IMP). IMP omdannes videre til AMP.



Fritt adenin og dannelse av 2,8 dihydroksyadenin ved APRT-mangel sett i relasjon til omsetningen AMP. Fritt adenin dannes som et biprodukt under syntesen av polyaminer og resirkuleres til AMP av enzymet APRT. Ved APRT-mangel omdannes adenin til 2,8-dihydroksyadenin av enzymet XO. Biosyntesen av AMP starter med PRPP og nedbrytningen ender i urinsyre. Hypoxantin resirkuleres til IMP ved hjelp av enzymet HGPRT.

PRPP= fosforibosylpyrofoasfat, IMP= inosinmonofosfat, AS= adenylosuksinat, AMP= adeninmonofosfat, APRT= adeninfosforibosyltransferase, HGPRT= hypoxantin-guaninfosforibosyltransferase, XO= xantinoksidase

### Klinikk

Debutalder spenner fra få måneders alder til over 70 år. Symptomene kan være dysuri, hematuri, urinveisinfeksjon og nyresteinskollik. Det har vært antatt at så mye som 50% av individer med nedsatt APRT-aktivitet kan være asymptomatiske, men akutt, anurisk nyresvikt som debuterende symptom har også forekommet.

### Diagnose

Påvisning av 2,8 DHA i urin og enzymaktivitetsbestemmelse gir diagnosen. Krystaller av 2,8 dihydroksyadenin med rødbrun farge kan sees ved mikroskopi av urin. Ultralyd kan verifisere nyrestein, men gir ingen informasjon om steintypen. Analysen har også relativ lav sensitivitet. Steinene er ikke røntgentette, og kan ikke skilles fra andre purinstener som urinsyrestein ved vanlig steinanalyse.

### Genetikk

APRT-mangel forekommer over hele verden, men hyppigst i Japan, Island og Frankrike. Island har flest tilfeller i verden sett i forhold til folketallet, men fra Skandinavia er det ikke rapportert pasienter med APRT-mangel. Sykdommen arves autosomt recessivt. Genet på 2,8kb er lokalisert på kromosom 16q24.3. 15 sykdomsfremkallende mutasjoner er registrerte. Heterozygotifrekvensen er anslått til 0,4-1,2 av 100. Tallet står ikke i samsvar med den lave insidensen av sykdommen. Årsaken til dette kan ha sammenheng med varierende klinikk og at diagnosen er vanskelig å stille.

### Behandling og prognose

Behandlingen er adeninfattig diett, mye drikke og allupurinol. Allupurinol hemmer xantin oksidase. Alkalisering av urinen er ikke indisert, da løseligheten av 2,8-dihydroksyadenin-stein ikke endres innenfor fysiologisk pH. Prognosen er avhengig av nyreaffeksjonen. Ved intakt nyrefunksjon er prognosen meget god.

### Konklusjon

Den recessivt arvelige tilstanden adeninfosforibosyltransferasemangel er en mulig årsak til radioluculent nyrestein, særlig hos barn, men i prinsippet for pasienter i alle aldre. Sykdommen er utbredt over hele verden, men det har til nå ikke vært registrert pasienter i Skandinavia. Dette kan skyldes lav frekvens av sykdomsfremkallende mutasjoner, underdiagnostisering kan også tenkes. Uansett viser dette pasientkasuset at diagnosen er aktuell også hos oss på grunn av innvandring.

### Referanser

- Sahota AS, Tischfield JA, Kamatani N, Simmonds HA. (2001) In: Scriver, C.R., Benita, Y., Sly, W. S., and Valle, D. (eds), The metabolic basis of inherited disease. McGraw-Hill, New York, pp. 2571-2584
- Arnadottir M, Laxdal T, Halldorsdottir B. 2,8-dihydroksyadeninuria: are there no cases in scandinavia? Scand J Urol Nephrol. 2005;39(1):82-6. ■

## Uppföljning av profetiorna från 1999

*Per Simonsson, Klinisk Kemi, Universitetssjukhuset MAS.*

*E-post: per.simonsson@klkemi.mas.lu.se*

Det är populärt att spå om framtiden men mindre vanligt att någon följer upp hur väl spådomarna uppfylldes. AACC har ett nyhetsbrev, Strategies, som under de senaste fem åren tagit upp nyheter och utvecklingslinjer inom laboratoriemedicin. 1999, medan vi bävade för de förändringar som millenniumskiftet skulle medföra för våra datasystem, gjorde man en undersökning om vad ledande kliniska kemister trodde om det nästföljande fem åren. Nu är det dags för uppföljning. I vissa fall har profetiorna uppfyllts, i andra fall är vi långt från dem.

### **Medelstora lab minskar**

Spådomen om sammanslagning av mindre lab och om patientnära verksamheten har delvis besannats. Vid genomgång av de i USA ackrediterade laboratorierna finner man att 5000 CLIA-certifierade laboratorier försvann i början av 2000-talet. Dock har 15.000 nya laboratorier registrerats under samma period. En närmare genomgång visar att det främst är de medelstora labben som slagits ihop med större laboratorier, ofta till nya center och nätverk. Samtidigt har de små patientnära labben ökat.

### **Långsam tillväxt av EDI och elektroniska svar**

För fem år sedan trodde man att provbeställning och svarshantering via internet skulle öka kraftigt. Så har inte blivit fallet. Enligt en artikel i Journal of the American Medical Informatics Association (2004:11:95-99) har bara ca 10 % av USAs sjukhus elektroniska beställningar. Däremot är intresset stort nu att koppla upp patientnära instrument så att resultaten snabbt och säkert når journalsystemen.

### **Molekylärbiologin har utvecklats snabbt**

Det var inte svårt att sia om att molekylärbiologiska tekniken skulle utvecklats raskt och så har också skett, inte minst när det gäller multiplexning av analyser och framtagande av mikroarraysystem.

Det finns nu över 200 företag som tar fram nya diagnostiska DNA-analyser. Inte minst inom mikrobiologin har detta fått klara applikationer. Inom klinisk biokemisk diagnostik har de nya applikationerna inte kommit med samma hastighet som man förutspådde.

### **Hjärtdiagnostiken har förändrats**

Definitionen av akuta koronarsyndrom har ändrats markant senaste åren och troponin-analys har blivit standard i USA. CKMB har i stort konkurrerats ut på den amerikanska marknaden.

### **Hotande kompetensbrist**

För fem år sedan var det en tilltagande brist på BMA vid laboratorierna i USA. Denna trend förvärrades initialt men verkar nu ha vänt. Antalet lediga tjänster har minskat i USA och är nu endast 1-4 % beroende på vilken kompetens som eftersöks. Hur framtiden blir är osäkert eftersom 40 % av registrerade BMA i USA är över 50 år. För läkar- och kemistgruppen inom AACC är 65 % nu över 50 år.

### **Vad är nästa fem åren då?**

Amerikanarna är obotliga optimister och precis som för fem år sedan kommer vi enligt dem att stiga in i "Golden age of diagnostic medicine"! Låt oss hoppas att denna profetia står sig bättre än vissa andra.



*Foto fra Island: Imgunn Torsteinsdorttir*

## Boganmeldelser

Ansvärlig: *Ingunn Torsteindottir (ingunn@rsp.is)*

### ”Evidensbaseret Medicin”

– en dansk lärobok under redaktion av *Inger Bak Andersen och Peter Matzen*, ISBN 87-12-04068-1, Gads Forlag 2005 (<http://www.gads-forlag.dk>) Pris. 308 Dkr.

*Elvar Theodorsson, IBK/Klinisk kemi, Universitetssjukhuset, SE-582 85 Linköping.*

E-post: [elvar.theodorsson@ibk.liu.se](mailto:elvar.theodorsson@ibk.liu.se)



Evidensbaserad medicin (EBM) är – med all rätt – ett ämne på modet inom medicinska verksamheter och medicinsk utbildning. Sackett och medarbetare vid McMaster universitetet i Canada har tillsammans med en växande skara likasinnade sedan början på 1990- talet lyckats skapa ett begrepp och rörelse

med viktig och bestående effekt på diagnostik och behandling samt på sjukvårdshuvudmännens strategiska överväganden.

Evidensbaserad medicin bygger i grunden på tillämpad kombination av epidemiologi, statistik och vetenskapligt förhållningssätt i vid mening. Att EBM i alla fall getts ett eget namn har varit avgörande för dess genomslagskraft, men ger samtidigt felaktigt intryck av att evidensbaserad medicin är mer nytt och unikt än vad det egentligen är. Evidensbaserad medicin lyftes initialt av sina pionjärer fram på ett engagerat/passionerat sätt som ibland gränsade till den hetta som man främst ser i politiska och religiösa sammanhang. Den utropades ibland som ett universalverktyg som den enskilde läkaren kan/borde använda i diagnostik och behandling av individuella patienter. Den var ett medel att frigöra sig från medicinska auktoriteter och invanda dogmer. Med tid och mognad har EBM som kunskapsområde kommit att skapa och formulera utomordentliga verktyg för sökning efter och bedömning av lämpliga vetenskapliga studier. Samtidigt har den bidragit starkt till skapandet av

precis det den initialt arbetade för att bekämpa – medicinska auktoriteter. Skillnaden mot tidigare är dock avsevärd att auktoriteterna numera inte representeras av enskilda personer med starkt inflytande, utan av randomiserade och kontrollerade kliniska studier och systematiska översikter av dessa.

För studenter och andra vetgiriga, finns en uppsjö av texter om EBM på ”nätet, t ex. <http://www.shef.ac.uk/scharr/ir/netting/>. Greenhalgh’s lärobok ”How to read a paper – the basics of evidence based medicine” håller sedan första upplagan 1997 ställningen som en av de bästa läroböckerna i EBM på det engelska språket. Riegelman’s bok ”Riegelman, R. K. Studying a study and testing a test. How to read the medical evidence” publicerades i sin första upplaga innan begreppet EBM lanserades, och är i min uppfattning en av de bästa texterna om vetenskapligt förhållningssätt och kärnan i EBM. ” Sacketts och medarbetares lärobok ” Evidence-based medicine. How to practice and teach EBM” från 2000 är i min uppfattning pratig och överlastad av kokbokslänkande algoritmer snarare än av djuplodande förståelse av ämnet. På svenska finns sedan 2004 ett litet, men naggande gott häfte på knappa 80 sidor ”Evidensbaserad medicin. I Sherlock Holmes Fotspår” av Jörgen Nordenström. Det ger en mycket kortfattad introduktion till EBM t ex för medicine studenter som platsar väl bland studenternas böcker om epidemiologi och statistik.

Den nyligen publicerade boken ”Evidensbaseret Medicin” under redaktion av Inger Bak Andersen

(Fortsätter side 40)



(Fortsat fra side 39)

och Peter Matzen är en synnerligen välkommen ny lärobok i EBM på ett av de skandinaviska språken. Boken är skriven av 9 författare som på ett engagerande och insiktsfullt sätt – genom boken – bidrar till att föra vidare ett sedan tidigare stark dansk kunnande och tradition och inom EBM. Författarna och redaktörerna har lyckats skriva en bok med homogen ansats och logiskt flyt i presentationen tross många inblandade. På förlagets hemsida (<http://www.gads-forlag.dk>) kompletterar de dessutom boken med en mycket värdefull hemsida med tilläggsinformation, länkar och kalkylresurser. Boken vidareutvecklar de bästa ansatserna inom EBM från den del av den engelskspråkiga litteraturen, där principer och förståelse lyfts fram, medan pratighet och kokbokskunskaper minimeras. Bokens danska språk är lättläst och borde inte representera ett hinder för läsare i övriga Skandinavien.

I bokens förord presenterar redaktörerna boken som en "oppslagsbog". Med sina 215 sidor och logiska pedagogisk byggnad är den i min uppfattning främst en mycket lämplig lärobok i EBM för medicine studerande och praktiserande inom olika områden av medicinen. För att komma till full rätt som uppslagsbok, borde den – i min uppfattning – haft ett bra register som författarna valt att utelämna eftersom innehållsförteckningen och korsreferenser i texten är omfattande.

Författarna till boken Evidensbaserat Medicin

har i min uppfattning lyckats skapa en lärobok och uppslagsbok som ger en mycket god introduktion till evidensbaserad medicin och som kan utgöra en av hörnpelarna i studiet av vetenskapligt förhållningssätt inom medicinska fakulteter i Skandinavien och hos enskilda med intresse för sjukvårdsfrågor. Den är mer omfattande än Jörgen Nordenströms bok bl a genom att innehålla delar om grundläggande statistik och om kvalitativa metoder. Evidensbaserat Medicin är i min uppfattning fullt i klass med Greenhalgh's välkända och utmärkta lärobok i EBM.

### Referenser

Greenhalgh, T. How to read a paper – the basics of evidence based medicine. BMJ Publishing Group, London 2001.

Nordenström, J. Evidensbaserad Medicin i Sherlock Holmes fotspår. Karolinska University Press 2004.

Riegelman, R. K. Studying a study and testing a test. How to read the medical evidence. Lippincott Williams & Wilkins, 2000

Sackett, D.L. Straus, S.E. Richardson, W.S. Rosenberg, W. Haynes, R.B. Evidence- based medicine. How to practice and teach EBM. Churchill Livingstone, Edinburgh 2000. ■



Foto fra Island: Imgunn Torsteinsdorttir



# Norsk Selskap for Klinisk Kjemi og Klinisk Fysiologi

## Styret for perioden 2005–2006

**Kristian S. Bjerve, leder**  
Avdeling for medisinsk biokjemi,  
St. Olavs Hospital HF,  
7006 Trondheim  
E-mail: kristian.bjerve@stolav.no  
Telefon: 73 86 74 53  
(avdelingens sentralbord)  
Telefax: 73 86 79 67

**Øyvind Skadberg, nestleder**  
Avdeling for medisinsk biokjemi,  
Sentralsjukehuset i Rogaland,  
4068 Stavanger  
E-mail: skoy@sir.no

**Kari Løhne, sekretær**  
Sentrallaboratoriet,  
Aker universitetssykehus HF,  
0514 Oslo  
E-mail: kari.lohne@akersykehus.no

**Lars Mørkrid, kasserer**  
Klinisk-kjemisk avdeling, Rikshospitalet,  
0027 Oslo  
Email: lars.morkrid@rikshospitalet.no  
Telefon: 23 07 10 75 (kontor)

**Olav Klingenberg,**  
ansvarlig for kurs og møter  
Avdeling for medisinsk biokjemi, Rikshospitalet,  
0027 Oslo  
E-mail: olav.klingenberg@Rikshospitalet.no  
Telefon: 23 07 09 26

**Morten Lindberg,**  
redaktør av nettsider  
Avdeling for medisinsk biokjemi,  
St. Olavs Hospital HF,  
7006 Trondheim  
Email: morten.lindberg@stolav.no  
Telefon: 73 86 74 53  
(avdelingens sentralbord)



Foto: Henrik Alfthan

## Redaktionskomiteen for Klinisk Biokemi i Norden:

Hovedredaktør: Palle Wang · Tryk: Clausen Offset

Danmark	Overlæge Palle Wang Klinisk Biokemisk Afdeling Vejle Sygehus DK-7100 Vejle Telefon: +45 7940 6501 Telefax: +45 7940 6871 E-post: pwang@vs.vejleamt.dk	Norge	Overlege Tor-Arne Hagve Klinisk-kjemisk afdeling Rikshospitalet N-0027 Oslo Telefon: +47 2307 1071 Telefax: +47 2307 1080 E-post: tor-arne.hagve@rikshospitalet.no	Island	Avdelingsläkare Ingunn Torsteinsdóttir Department of Clinical Biochemistry Landspítali - University Hospital Hringbraut IS-101 Reykjavik Telefon: 354 543 5033 Telefax: 354 543 5539 E-post: ingunnth@landspitali.is
Danmark	Overlæge Ulrik Gerdes Klinisk Biokemisk Afdeling Århus Sygehus Tage-Hansensgade 2 8000 Århus C Telefon: +45 8949 7307 Telefax: +45 8949 7303 E-post: gerdes@aes.auh.dk	Sverige	Överläkare Anders Larsson Avdelningen för klinisk kemi Akademiska sjukhuset S-751 85 Uppsala Telefon: +46 18 6114271 Telefax: +46 1855 2562 E-post: anders.larsson@akademiska.se	NFKK	Docent Per Simonsson Klinisk kemi Universitetssjukhuset MAS 205 02 Malmö Telefon: +46 4033 1459 E-post: per.simonsson@klkemi.mas.lu.se
Finland	Sjukhuskemist Henrik Alfthan Helsingfors Universitetscentral sjukhus HUCS Laboratoriediagnostik Kvinnokliniken Haartmangsgatan 2 FIN-00290 Helsingfors Telefon: +358-9-471 61457 Telefax: +268-9-4717 4806 E-post: henrik.alfthan@hus.fi	Se også KBN's hjemmeside: <a href="http://www.kkno.org">www.kkno.org</a>			

## Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

NFKK har som oppgave å arbeide for utviklingen av det nordisk samarbeide innen klinisk kjemi med spesiell fokus på forskning, faglig utvikling og utdanning. Den består av medlemmene i de vitenskapelige foreningene for klinisk kjemi i Danmark, Finland, Island, Norge og Sverige. Aktiviteten i NFKK foregår i like arbeidsgrupper og komiteer. Foreningen har det vitenskabelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJCLI), har ansvar for utgivelse av Klinisk Biokemi i Norden, og står bak arrangering av de nordiske kongresser i klinisk kjemi.

Det nåværende styre består av Per Simonsson (leder), Jørgen Hjelm Poulsen (Århus), Holger Jon Møller (Århus), Päivi Laitinen (Oulu), Jarkko Ihalainen (Helsinki), Leifur Franzson (Reykjavik), Ingunn Thorsteinsdóttir (Reykjavik), Bjørn Bolann (Bergen), Kristian Bjerve (Trondheim), Per Simonsson (Malmö), Kerstin G. Andersson (Malmö).

## Til manuskriptforfattere

Bidrag til Klinisk Biokemi i Norden sendes i to eksemplarer samt en elektronisk versjon (E-mail eller på diskette) til den nasjonale redaktøren som er angitt ovenfor. Formen på manuskriptet skal være som beskrevet i Vancouver-aftalen (<http://www.etikkom.no/NEM/REK/vancouver.htm>). Meddelelser og korte innlegg skrives fortløpende, mens lengre artikler med fordel bør inndeles i avsnitt med en kort overskrift. Tabeller skrives på eget ark sammen med en tekst som gjør tabellen selvforklarende.

Figurer skal være av teknisk god kvalitet med tekst og symboler store nok til at figuren tåler forminskning. Til hver figur skal det finnes en forklarende tekst. Tabeller og figurer kan også med fordel sendes i elektronisk form.

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskript-teksten og skrives som i følgende eksempel (Vancouver-stil):

Sandberg S, Christensen NB, Thue G, Lund PK. Performance of dry-chemistry instruments in primary health-care. Scand J Clin Lab Invest 1989; 49: 483-8

Det faglige innhold i de innsendte manuskripter vil ikke bli vurdert med referee-system. Redaksjonskomiteen vurderer imidlertid alle manuskripter innholdsmessig og redaksjonelt og foreslår eventuelle endringer.