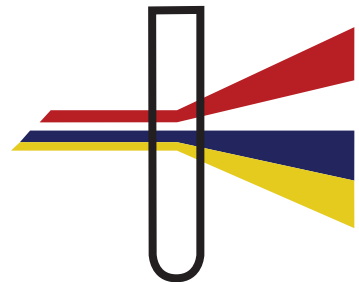


Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 1, vol. 20, 2008

Ledare	4
<i>Per Simonsson</i>	
Nytt från NFKK.	6
<i>Jarkko Ihalainen</i>	
Scientific, social and supportive Congress	8
<i>Jarkko Ihalainen and Henrik Alftan</i>	
Future and Visions within Clinical Biochemistry	10
At rejse er at leve	11
Carl-Bertil Laurells Nordic Fund for Clinical Chemistry	11
Fisk i faget	12
<i>Jørn Dyerberg</i>	
Circulating nucleic acids in blood as biomarkers.	18
<i>Reidun Øvstebø, Peter Kierulf, Kari Bente Foss Haug</i>	
Läkemedelsbiverkningar hos äldre kan minimeres med hjälp av S-Cystatin C	36
<i>Tamara Zafirova, Kjell Lindström, Carsten Frisenette-Fich</i>	
Biomedicum Helsinki	42
<i>Olli Jänne</i>	
Easily applicable Myoglobin method on the Konelab™ Analyzer	46
<i>Ilkka M. Penttilä, Kari Savolainen, Hannu Lampinen, Jouko Lukkarinen</i>	
Betydelsesfull finsk publikation	50
<i>Carl C. Gahmberg</i>	
IFCC News	52
<i>Päivi Laitinen</i>	

Forsiden: Tölöviken. Helsingfors.

Life is about making decisions ...



Why make compromises when you can have it all!

Let us help you when it comes to workstation consolidation.

You may already have one or more of Beckman Coulter's successful UniCel® instruments in your lab or on your wish list to meet your clinical chemistry or immunoassay testing needs – such as the UniCel DxC 800 Synchron® Clinical System or the UniCel DxI 800 Access® Immunoassay System.

But just plug in the radically innovative UniCel CTA* and you'll be able to link both systems – performing chemistry and immunoassay testing simultaneously from a single point of sample entry. The UniCel DxC 880i* will be the only system of its kind offering closed-tube sampling. By eliminating the de-capping and re-capping steps in the laboratory process, you will increase laboratory efficiency and enhance operator safety. Plus, the UniCel DxC 880i* has



the highest immunoassay throughput in a consolidated workstation, which accelerates results reporting to physicians. Its onboard test menu – 120 assays – is the widest in the industry, eliminating the need for frequent reagent reloading.

The design architecture of the UniCel family of systems enables existing owners of UniCel chemistry and immunoassay systems an easy upgrade to the most powerful and complete workstation with zero compromises.

Make the right decision now and immediately benefit from our unique solution !**

To learn more contact your Beckman Coulter representative or visit us at www.beckmancoulter.com/dxc880i_eu

* Under development

** UniCel DxC 800 and UniCel DxI 800 available now

Ledare



Café Demel, Wien, februari. Nej, här inne syns inga cigarrökande psykoanalytiker, inga kallakriget-spioner. Och där ute regnar det inte melankoliskt mellaneuropeiskt; borgerlighetens tinnar och torn glimmar faktiskt gyllene i vintersolen. Vad har detta med Norden att göra? Jo, här sitter redaktionen – Palle, Ingunn,

Henrik, Tor-Arne och jag - för att samla inspiration inför ännu ett år av Klinisk Biokemi i Norden. Fyra nummer skall skapas i år. Självt förbereder jag mig för att senare i år ta över rollen som huvudredaktör efter Palle Wang som personifierat KBN i många år.

Här i caféets högborgerliga värme, under de venetianska glaskandelabrarna, är det långt till våra vindpinade fjäll och slätter, våra sjukhus och vårdcentraler. Så har då Norden - som tanke, föreställning, gemenskap - ett berättigande, mitt i EU?

Skrapar man på nordismens grund så finner man lika mycket syster- och brödraskap som kolonialism och förtryck, krig och gränsstrider. Existerar över huvud taget Norden? Jag tror det. Må så vara att vi är en rätt spretig skara nationer, sammanhållna av språk, geografi, kultur och gemensamma friluftsin-tressen och alkoholvanor. Men med en identitet och en gemenskap som jag tror är värdefull. Och av en klinisk biokemi som i många år har utvecklats tillsammans. I globaliseringens kölvatten blir regionen och hembygden än viktigare. Norden är vår hembygd i det nya Europas lapptäcke av anarkistiska regioner. Regioner är varken byråkratiska monoliter som EU eller gamla relikier som nationalstater. De är vad man gör dem till. Så är också Norden. Och så vill NFKK och KBN vara.

Inom klinisk biokemi har Norden alltid funnits. Rent föreningsmässigt bildades Nordiska Föreningen för Klinisk Kemi före de nationella föreningarna, omedelbart efter andra världskriget. En anledning var att det inte fanns så många kliniska kemister 1946 - och vi är inte så värst många fler idag - men också för att det fanns en vetenskaplig och kulturell bas att ha som gemensam.

Det är den basen som NFKK och våra nordiska kongresser står på. Och som Klinisk Biokemi i Norden skapades på åttiotalet av Kristoffer Helsing får att föra vidare.

Den som tror att NFKK och KBN står för formella organisationer har helt fel. Det rör sig om kamratföreningar utan förankring i läkarsällskap eller myndigheter. Det finns faktiskt inte ens medlemmar i NFKK. Föreningen är en paraplyorganisation för de nationella föreningarna. Och finns bara så länge någon tycker att NFKK är värdefull.

Så också med KBN. Nu håller vi på att skriva tidskriftens första försök till ordningsregler, men det är mer av anteckningar om hur vi jobbar än formell stadga. Och slutar det komma spännande manus till redaktionens medlemmar så lägger vi av. Punkt slut.

Världen är full av *high impact journals* och ännu fullare av *Journals of serious boredom*. Det är som det är och det är bra med det. Men så härligt med kulturyttringar vid sidan av! Som är befriad från komplicerade författarinstruktioner och gnälliga referees. Jo, det går att bli refuserad i KBN. Det har jag blivit. Man får till exempel inte skriva ointressant, för mångordigt eller tråkigt. Det skall kunna läsas, ofta först av den nationelle redaktören som mottar de flesta manus, och sen av huvudredaktören, som också, i egenskap av ansvarig utgivare, bedömer om debattartiklar hålls på säkert avstånd från ärekränkningens gränser.

KBN är en fri tidskrift för att ge forum för nordiska röster. Och vi har ett gott inflöde av manuskript. Ibland är det notiser, ibland riktiga kraftsamlingar som det supplement om koagulationsdiagnostiken som nu lämnat pressarna. Det skall vi fortsätta med!

KBN kan inte ge meriter för en professor, eller för ett EU-anslag i miljonklass. Men KBN kan sprida erfarenheter. Och skapa kontakter och vänner. Det är inte illa. Det är faktiskt precis vad som behövs för en livfull klinisk biokemi i vårt hörn av världen.

Skriv på!

Per Simonsson



How to improve workflow efficiency?

Siemens Healthcare Diagnostics powers up your lab with a comprehensive portfolio of hemostasis products.

Our wide range of hemostasis analyzers and assays is perfectly aligned to improve operational efficiency in the laboratory. Our coagulation systems **BCS XP**, **CA-7000**, **CA-1500** and the **CA-500** series all meet the ongoing demand of everyday laboratory work and ensure the accuracy of the defined parameters with regard to the clinical significance.

www.siemens.com/diagnostics

Siemens Healthcare Diagnostics

Answers for life.

SIEMENS

Nytt från NFKK

Jarkko Ihalainen



Let's meet! In Helsinki or Finse ?

The Nordic Congress is very near but you still have the opportunity to register. The Congress is presented in this number of KBN in a independent column, so let's not go into details. It is obvious that NFKK is a faithful supporter of congresses. But what else is

going on in the Nordic arena?

We plan to award a young scientist with the Poul Astrup prize. The prize symbolises the position of Nordic clinical chemistry at the top of the world – not only geographically but also in terms of scientific achievement. After Astrup and Siggaard-Andersen, the recipients of the prize include e.g. Björn Dahlbäck and Leena Peltonen-Palotie. It will be very interesting to hear the lecturer of the coming generation.

Carl-Bertil Laurells grant (see announcement) is another instrument of NFKK for helping our successors achieve more than our generation has accomplished. Method development in clinical laboratories brings to life new leads to better diagnostics and that is something for the NFKK to support.

Att kombinera trevligt socialt samverkan med innovation och målmedvetet arbete är typiskt för NFKKs tradition. Kursen i vetenskapligt publikation som organiserades av SJCLI i Finse blev ett nytt klasker i sin serie.

De flesta nya referens till NFKK i vetenskapliga databaser anknyter sig till NORIP – vår referensintervallprojekt för några år sedan. Senare har arbetet fortsatts i syfte för att hitta lösningar till referensintervall för barn.

Tiderna har förändrats mycket sedan de decennier då NFKK föddes. Tiden för frivilligt arbete för allmänt nytta har blivit mycket knappt resurs då alla har sina budjetram att fylla. Det är i visst mån sorgligt men varje epok har sina utmaningar. På 50-talet fanns ingen Internet och resorna till grannländerna tog dagar, inte timmar.

Intresse bland kliniker till nya analyser har också blivit mindre. Jag tycker att det speglar generellt överflöde av information som har lett till mer och mer begränsad och ytligt konsumtion av kunskapskällor.

I populära affärsökonomiska böcker talas om uppmärksamhet som en av de allra knappaste resurser i vår informationsamhälle. Laboratorier har mera teknik än någonsin och kan hitta otroliga saker från människokroppen. Utmaningen till vår profession är att sätta mening till analysresultatena – att raffinera information från data eller t.o.m. kunskap från information.

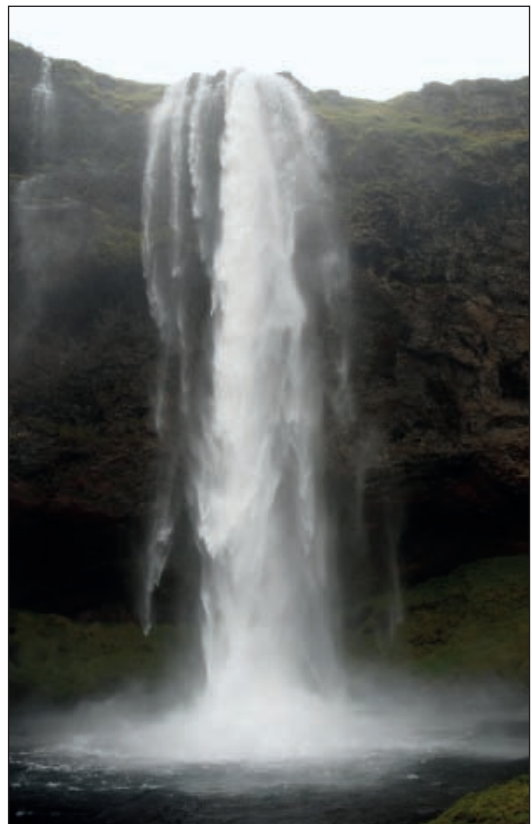


Foto: Henrik Alfthan. Seljandafoss, Island.

XE-5000

Ward in need of consultation?

Cancer patient after stem cell
transplantation.

Platelets decreased to 8,000/ μ L.

Immediate platelet transfusion or
wait until platelet count recovers?

**Helping to give the crucial clues for
particularly critical clinical conditions:
XE-5000 – the Case Manager!**



SYSMEX SVERIGE
Marios Gata 13, 43437 Kungsbacka, Sweden
Phone +46 (300) 5672 02 · Fax +46 (300) 5672 03
www.sysmex.se

SYSMEX NORGE
Hvamsvingen 24, 2013 Skjetten, Norway
Phone +47 63 84 01 60 · Fax +47 63 84 31 40
www.sysmex.no

SYSMEX DANMARK
Møsråvej 23, 6051 Almind, Denmark
Phone +45 70 20 45 01 · Fax +45 70 20 45 41
www.sysmex.dk

Sysmex

Scientific, social and supportive Congress

Jarkko Ihalainen and Henrik Alfthan

The XXXIst Nordic Congress of Clinical Chemistry opens in three months in Helsinki. After feverish months of work the programme has taken form. You can visit the final announcement at www.labmed2008.fi.

The delicious menu catered for us by the scientific committee ranges from new affinity technologies to practical management of healthcare institutions. The Astrup prize competition offers a glimpse to the future of Nordic laboratory science.

Practical aspects of clinical laboratory work are the focus of the programme. Updates are offered e.g. on HbA_{1c}, renal markers and paraprotein testing. Mass spectrometry and population screening represent new approaches to clinical laboratory work.

Effects of biobank regulations and new international laboratory organisations are explored. The experience sharing workshops offer a forum for

benchmarking of laboratory IT, logistics and processes for critical results between colleagues from neighbouring countries. The Labquality Days have been incorporated to the Congress and present the recent trends in European and worldwide EQA.

Nordic congresses are more than science. Our important collaborators from the IVD industry fill the spacious exhibition area with their newest products and at the same time You'll hear about the new organisations serving clinical laboratories.

Last but certainly not least comes the social programme. The organisers offer a framework of get-together and banquette. The industry adds their events –Monday evening is free for their imagination. Finally, you can select from a menu of pre-planned opportunities to visit the beautiful surroundings of Helsinki nature or plan your own programme in



Foto: Henrik Alfthan. Gammelstadsforsen, Helsingfors.

Finland or even visit the Baltic states or Russia which are comfortably nearby.

Kung Gustav Vasa ansåg att Sverige behövde starka stödjepunkter för sin handel i öster. År 1550 grundades en handelsplats i Forsby vid utflödet av Vanda å. Ett sekel senare flyttades stadens centrum till sin nuvarande plats. År 1812 utsåg tsar Alexander I Helsingfors till huvudstad för det nya autonoma storfurstendömet Finland. Huvudstad för det självständiga Finland blev Helsingfors 1917.

För naturälskaren erbjuder Helsingfors upplevelser både i skogen och ute på havet. Under en förfriskande promenad i Centralparken, som sträcker sig som en grön kil rakt in till centrum eller en vandring genom friluftsmuseet Fölisön stärker både kropp och själ. Med sjöbuss och färja tar man sig lätt till en av världens största sjöfästningar, Sveaborg. Garnisonsstaden, vilken anlades på 1700-talet, är i dag en livskraftig stadsdel med 850 invånare.

Flera guidade båtturer står till förfogande till den yttre skärgården. En seglats med anrika m/s J.L. Runeberg österut till Borgå är lugn avkoppling som bäst. Till Tallinn tar man sig lika behändigt med de snabbgående katamaranerna.

Stadens historiska centrum vid Senatstorget utgör en nyklassisk helhet. Härifrån är det ett stenkast till många av Helsingfors centrala sevärdheter. På promenadavstånd har vi Salutorget, Gamla Saluhallen, Esplanadparken, Uspenskijkatedralen samt shoppingstråken Alexandersgatan och Mannerheimvägen. Innanför ett relativt litet område öppnar sig museernas värld med Konstmuseet Ateneum, museet för nutidskonst Kiasma, Finlands nationalmuseum och kulturernas museum. För konstkulinaristerna är ett besök till Villa Gyllenberg att rekommendera. Alla kända äldre finländska målare finns representerade. Helene Schjerfbeck-samlingen brukar räknas till de största i privat ägo. Den "utländska samlingen" består av mästerverk från 15- och 1600-talet av bl.a. Tizian, Tintoretto, Tiarini och di Cosimo.

I Helsingfors är utbudet på musik, teater, opera och balett både rikt och högklassigt. Till läckerheter från cajun- och creoleköket kan man lyssna på jazz i Storyville, Svenska Teatern bjuder på såväl drama som musikal och på Nationaloperan visas såväl älskade klassiker som intressanta nutidsverk.

Välkommen till Helsingfors!

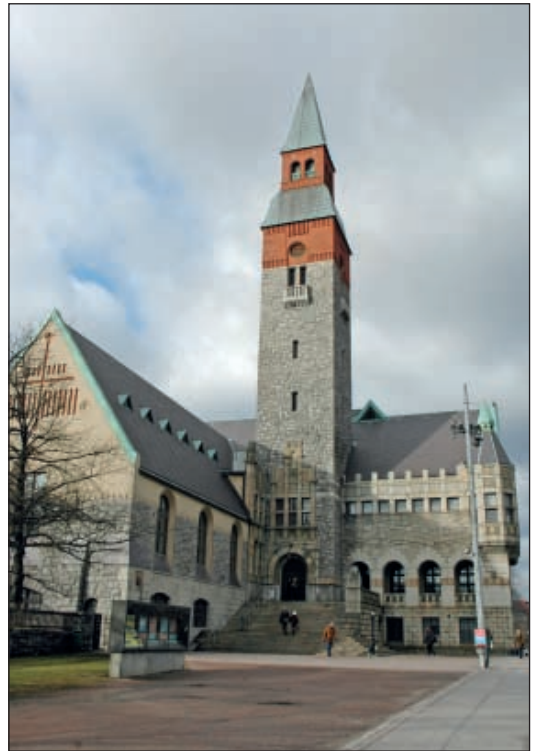


Foto: Henrik Alfthan. Nationalmuseet, Helsingfors.



Foto: Henrik Alfthan. Olympiastadions torn, Helsingfors

Nordisk Forening For Klinisk Kemi and Klinisk Biokemi i Norden arrange a specialist training course on...

Future and visions within Clinical Biochemistry

speciallägeuddannelses-kursus, erikoislääkärikoulutuskurssi, specialistutdanningskurs, ST-kurs
28-31 August 2008, T/S Helene, Ystad

The future and visions within clinical biochemistry laboratory organizations are important to discuss. Let's discuss it in a good atmosphere on a ship.

The discussion includes seminars and workshops on cooperation, communication, European perspective and personal visions.

The teachers are Per Simonsson, Elvar Theodorsson, Ingunn Thorsteinsdottir and Palle Wang.



We'll meet Thursday at noon in Ystad 28th of August and say goodbye Sunday at noon the 31st.

The course and lodgings will take place on a genuine sailing ship – T/S Helene (<http://www.ts-helene.webb.se/>). With help from the professional crew we'll visit harbours in the Baltic Sea. No previous sailing experience is required.



The course is open for Scandinavian clinical chemists and chemists in postgraduate specialist training. The maximum number of participants is 16 and the minimum is 12.

Registration date and nationality are the only selection criteria.

Equal numbers of participants from all countries is desirable. The official language is English or a language understandable for all participants.

The course will be fully financed by NFKK and KBN.

For further information and registration before 1st of May; send an email to mattias.aldrimer@ltdalarna.se

At rejse er at leve....

Klinisk Biokemi i Nordens rejsestipendium

Klinisk Biokemi i Norden oprettede sidste år et rejsestipendium på op til DKK 50.000,00 til anvendelse i 2006/2007.

Formålet er at styrke klinisk biokemisk udvikling i Norden. Beløbet skal anvendes til rejse og ophold ved et laboratorium i udlandet mhp. at:

- ♦ lære nye analytiske teknikker at kende.
- ♦ fortsætte en del af sit forskningsprojekt i en periode på et fremmed laboratorium, som har særlig ekspertise på området.
- ♦ skabe kontakt mellem sit eget laboratorium og et Center of Excellence i udlandet.

Stipendiet kan søges af alle, der arbejder inden for klinisk biokemi/kemi i de nordiske lande.

Ansøgningen skal indeholde:

- ♦ en kort beskrivelse af formålet med rejsen og opholdet.
- ♦ en bekræftelse fra lederen af laboratoriet i udlandet på, at man kan komme som gæsteforsker.
- ♦ et budget for opholdet.

Det forventes af modtageren af stipendiet, at hun/han skriver en artikel til Klinisk Biokemi i Norden om hvad der kom ud af rejsen.

I 2007 blev der uddelt tre stipendier: Søren Junge Nielsen, Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet, København til et ophold ved Cardioendocrine Research Group, Christchurch, New Zealand, Ruth Frikke-Schmidt fra samme afdeling til et ophold hos professor Charles F. Singh, Department of Human Genetics, University of Michigan, Ann Arbor, USA og Kristin Lilleholt, Enhed for medisinsk biokjemi, Sørlandets Sjukhus HF, Kristianssand, Norge til et besøg hos dr. Lothar Thomas, Krankenhaus Nordwest, Frankfurt.

Ansøgningen sendes inden d. 1. juni 2008 til:

Palle Wang
Klinisk Biokemi
Vejle Sygehus
Kabbeltoft 25
DK-7100 Vejle
E-post: palle.wang@vgs.regionsyddanmark.dk

Redaktionen af Klinisk Biokemi i Norden

Carl-Bertil Laurells Nordic Fund for Clinical Chemistry

A grant will be awarded from Carl-Bertil Laurells Fund during the XXXI Nordic Congress in Clinical Chemistry in Helsinki 2008. A maximum of 35.000 SEK will be awarded to scientists less than 40 years of age working in clinical chemistry laboratories. The money will first and foremost be used to support development of methods in clinical chemistry. Economic support can be given to travel and expenses in order to study new methods.

The application should contain a short description

(max. one page, A4, Times Roman 12 pt) of the applicant's scientific interests and ongoing work. It must be clearly stated in the application, for what purpose the funding will be used. A maximum of five published papers should accompany the application.

The application must be received at latest April 20, 2008 by chairman of the Organizing Committee:

Jarkko Ihalainen, Medix Laboratories, Nihtisillankuja 1, 02630 Espoo, Finland. E-mail: Jarkko.ihalainen@medix.fi

Fisk i faget

Ernæringsforskning med Dansk Proveniens

Jørn Dyerberg

E-post: jdcon@post4.tele.dk



Indledning

Forskning i anvendelse af langkædede omega-3 eller n-3 flerumættede fedtsyrer (PUFA) i behandling og sygdomsforebyggelse har nået et sådant omfang, at det er genstand for årlige internationale kongresser, at videnskabelige publikationer kan tælles i titusinder, at indtaget af disse fedtsyrer indgår i kostrådgivning fra ernæringsråd, hjerteforeninger og offentlige instanser verden over, samt at menigmand nu jonglerer med oplysninger om indholdet af EPA og DHA i levertran, fiskeolier og andre næringsmidler!

Alt dette skyldes en leder i Ugeskrift for Læger i maj 1969, så vidt vides skrevet af nu afdøde Bent Harvald, "Det grønlandske sygdomsspektrum" (1), og den aktivitet den fremkaldte hos overlæge HO Bang på klinisk kemisk afdeling Aalborg Sygehus Nord, og hans daværende reservelæge – undertegnede.

Ved festligholdelsen af DSKB's 50 års jubilæum oktober 2006, underholdt jeg om det privilegium der, med udspring i disse aktiviteter, har været mig forundt, nemlig at have medvirket til at indføre et nyt medicinsk forskningsområde med store profylaktiske og terapeutiske potentialer. Historien om dette fandt redaktøren åbenbart værdig til at blive gentaget her. Og det er efter min mening også en god historie!

Historien

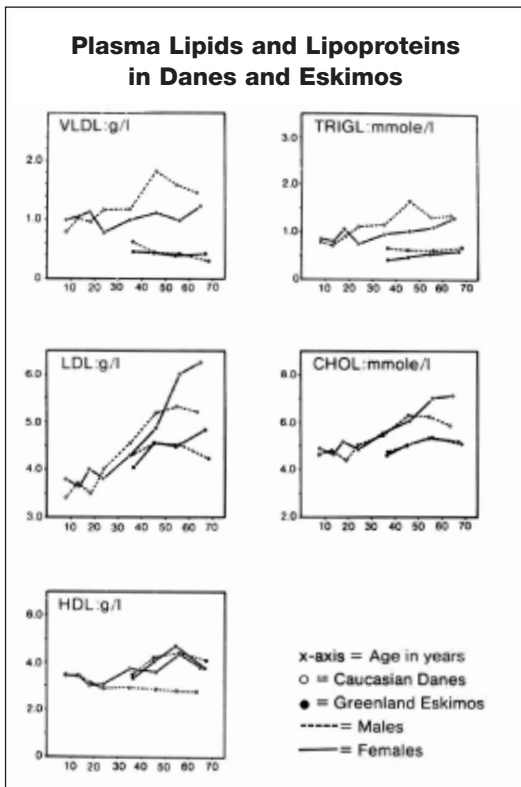
I lederen i Ugeskrift for Læger 1969 omtaltes, at den grønlandske eskimo - en betegnelse som i dag er erstattet af inuit - havde et sygdomsmønster, der afveg fra det, man fandt i selve Danmark, og "at der fremdeles er store grupper af befolkningen som lever af den gamle fangerkost, med dens procentvis langt større indhold af protein og fedt". På trods heraf synes de at have lavt serumkolesterol, med dettes kendte

relation til risikoen for arteriosklerotiske hjerte-kar sygdomme. Videre lød det: "Det synes imidlertid, som om interessen for denne type forskning her i landet har været beskednen. Det er, som om man ikke gør sig klart, at halvdelen af alle eskimoer i verden er danske statsborgere".

Dette tændte HO Bangs interesse. Han havde som ansat på Blegdamshospitalet i 1950'erne deltaget i indsatsen mod mæslingeepidemierne i Grønland, og så nu en mulighed for at genopleve det oprindelige Grønland, samt at bidrage til at belyse et af de i lederen omtalte uudforskede områder, eskimoernes fede kost og dens uventede indflydelse på blodets lipider og hjerte-kar sygdomme. Grundlaget herfor var, at jeg på dette tidspunkt var i den afsluttende fase af mit disputatsarbejde, hvortil jeg havde udviklet en metode til kvantitering af plasma lipoproteiner ved agarosegel elektroforese (2). Denne metode kunne - modsat ultracentrifugering, som dengang var den eneste kvantiteringsmetode for lipoproteiner i plasma - udføres på frisktappede prøver under de teknisk primitive forhold på Grønland. Vi havde derfor muligheden for, i detaljer at kortlægge lipid- og lipoproteinforholdene i grønlandske fangeres plasma. Det skal her indskydes, at jeg i dag helt deler i Skauby et al's synspunkter i sidste nummer af tidsskriftet om lipoproteinelektroforeses diagnostiske værdi, men dengang var det faktisk et særdeles nyttigt værktøj.

Det er sikkert let at forstå, at ikke blot de udfordrende og spændende videnskabelige opgaver, men også eventyrets mulighed lokkede en daværende godt 30-årig læge!

Vi startede med at indsamle data fra landslægens årsberetninger fra Grønland, som viste, at der var en lav sygelighed og dødelighed af hjerte-kar sygdomme i fangerbefolkningen. Vi fandt frem til, at Umanak-distriktet på Grønlands Nord-vest kyst, med et sygehus i Umanak med et lille laboratorium, samt væsentligst, med en ret stor fangerbefolkning i de



Figur 1

lokale bygder, var velegnet til vort formål. Ministeriet for Grønland samt landslægen gav tilladelse til undersøgelsen, og det lykkedes os gennem et bidrag på 20.000 kr. fra 'Foreningen til Hjertesygdommens Bekæmpelse' – som Hjerterforeningen dengang hed – og med supplement fra lokale fonde at tilvejebringe i alt 40.000 kr.(!), som muliggjorde, at vi, dvs. instruktionslaborant Aase Brøndum Nielsen, HO Bang og jeg selv, kunne drage til Umanak-området i august-september 1970. Her blev vi modtaget af distriktslæge Helge Alsbirk og hans medarbejdere, som hjalp med de mange praktiske detaljer bl.a. at hyre tolke, og som beredvilligt stillede sygehusets beskedne laboratorium samt lægebådens kapacitet på ture til bygderne til vor disposition. På disse ture til bygderne, hver med fra ca. 50 til 200 indbyggere og 5-10 gange så mange løsgående slædehunde, holdt vi den ene dag et informationsmøde med lokalbefolkningen og næste dag tog fastprøver (håndcentrifugering!) fra de der havde meldt sig til undersøgelsen. På denne måde lykkedes det os at indsamle plasma og på laborato-

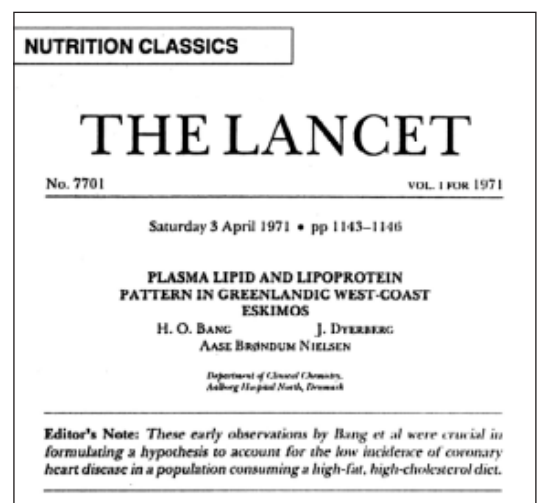
riet i Umanak at udføre lipoprotein elektroforese på prøver fra 69 kvinder og 61 mænd, som alle hovedsageligt levede af en oprindelig fangerkost bestående af sæl, fisk og fugle. Lipidanalyserne (totallipid, kolesterol, triglycerid og fosfolipid) blev siden hen udført på laboratoriet i Aalborg på de dybfrosne prøver som blev sendt hjem med skib.

Resultaterne af undersøgelsen, sammenlignet med data fra alders- og køns-sammenlignelige herboende danskere blev i 1971 offentliggjort i Lancet (Fig. 1). De viste, at de grønlandske fangere havde et moderat lavere kolesterol og LDL niveau end danskere, væsentligt lavere triglycerid og VLDL koncentration, samt hos mændene et højere HDL (3).

Fundene var på mange måder originale, primært på grund af den esoteriske population, men dernæst, fordi den for første gang viste en sammenhæng mellem en lav forekomst af hjerte-kar sygdomme og lavt plasma triglycerid/VLDL samt højt HDL, associationer der først langt senere blev dokumenteret – HDL-associationen står måske nu for fald? – tilmed hos en befolkning som levede af en fedt- og kolesterolrig kost. Artiklen opnåede, på grund af det overvældende antal gange den er blevet citeret, status som 'nutritional classic' i Current Contents (Fig. 2).

Vi mente at lipid forholdene skyldtes eskimoernes kost, der som nævnt overvejende bestod af kød fra sæl, hval, fisk og fugle, med dettes høje indhold af flerumættet fedt. Vi kendte imidlertid ikke den

(Fortsætter side 14)



Figur 2

(Fortsat fra side 13)

Death rates from heart diseases in the 1970'es in per cent of all deaths. Males aged 45-64 years.	
U.S.	40,4%
Denmark	34,7%
Greenland	5,3%

Figur 3

nøjagtige sammensætning af fangerkosten. Et andet problem var, at forskellene i plasma kolesterol mellem eskimoer og danskere ikke var store nok til at beskrive den forskel i død af iskæmisk hjerte-kar sygdom som vi havde påvist (4), (Fig. 3). Vore epidemiologiske data må tages med et gran salt, og er siden blevet betvivlet. De er dog vist i en mere detaljeret opgørelse (5), men synes i dag udviskede (6), muligvis på grund af ændrede livsvilkår. Deres daværende rigtighed synes dog at kunne fastholdes (7). Uanset disse forbehold, har den igang sættende virkning på forskningen af n-3 PUFA som disse fund afstedkom, været enorm.

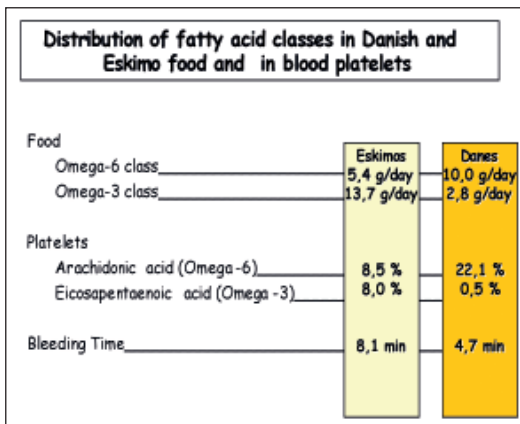
Vi manglede imidlertid en kompletterende mekanisme - ud over de gunstige plasmalipider - som kunne underbygge vor hypotese om en årsagsrelation mellem Inuit-kosten og den lave forekomst af hjerte-kar sygdomme, og igen kom tilfældet os til hjælp. Nordmanden Owren - som vel mest er kendt for 'Owrens buffer' - havde i 1960'erne publiceret et arbejde som viste at linolensyre (C18:3 n-3) havde antitrombotisk virkning og han foreslog, at linolensyre indgift kunne anvendes i forebyggelse af trombotiske lidelse som AMI (8). Han måtte dog senere forkaste denne hypotese, men Bang havde på dette grundlag anskaffet en gaskromatograf som på grund af linolensyre-hypotesens skibbrud, i flere år havde stået ubenyttet hen. Vi havde plasma fra 130 eskimoer i dybfryseren og følte os forpligtede til at udføre alle de analyser som vi formåede på dette kostbare materiale. Gaskromatografen blev derfor genstartet, og et 2-årigt arbejde med analysering af fedtsyremønstret i plasma triglycerider, kolesterolstre og fosfolipider blev påbegyndt. Det var før kapillær-søjler, temperatur-programmering og automatisk beregning af

toparealer på kromatogrammerne var tilgængelig. Alt var håndkraft, inklusive pakning af søjler til gaskromatografen, påsætning af prøvemateriale på søjlen og triangulering af toppenes arealer på kromatogrammet (evt. udklipning og vejning af flade toppe!). Vort hovedfund var en høj forekomst af de langkædede n-3 polyumættede fedtsyrer eicosapentaensyre (EPA, C20:5 n-3) og docosahexaensyre (DHA, C22:6 n-3) i eskimo plasma (9). Vi kendte ikke disse to fedtsyrer fra tidligere analyser og jeg måtte besøge Ralph Holman på Hormel Institute i Austin Minnesota for at få standarder og hjælp til deres identificering og kvantitering.

På dette tidspunkt blev der publiceret arbejder fra Sverige og England, der viste, at hidtil ukendte eicosanoider syntetiseret fra arachidonsyre (C20:4 n-6), i form af TXA2 og PGX - senere identificeret som PGI2 - kunne dannes i henholdsvis trombocytter og karvæg, samt at de påvirkede hæmostasen og dermed trombedannelsen ved dels at fremme dels at hæmme trombocyttaggregationen. Opdagelserne førte i 1982 til Nobel-prisen i medicin som deltes mellem Sune K. Bergström, Bengt I. Samuelsson, John R. Vane. For os lagde de grunden til den ide, at EPA, ved på samme måde som arachidonsyre at være substrat for dannelse af eicosanoider, men af anden kemisk konfiguration, nemlig i form af TXA3 og PGI3, kunne resultere i en anden og mindre trombosefremmende virkningsprofil end de arachidonsyre-genererede eicosanoider TXA2 og PGI2, og derved være den manglende forklaring på den lave AMI hyppighed hos Inuit. Under et studieophold på Wellcome Research laboratorierne i Beckenham hos John Vane og Salvador Moncada, blev disse hypoteser bekræftet *in vitro* og vor artikel



Figur 4



Figur 5

i Lancet blev startskuddet til den interesse som siden har været tildelt fiskeoliens langkædede n-3 flerumættede fedtsyrer (10).

Den antitrombotiske effekt af en n-3 PUFA rig kost skulle selvsagt bekræftes *in vivo*, dels ved undersøgelser af grønlandernes kost, hvor EPA og DHA gen fandtes i rigt mål (11), dels ved påvisning af et højt EPA indhold i trombocytter og en lang blødningstid hos eskimoer (12) og (Fig. 4-5). Dette afstedkom flere Grønlands-ekspeditioner, hvoraf vi i alt gennemførte seks, såvel i sommer som i vintertide, med lange kørsler på hundeslæde over havisen, indsamling af dobbeltportioner af døgnkost, samt trombocyttaggregation og blødningstid bestemmelser under forhold der var på grænsen af det mulige. Vor artikel om fedtsyresammensætningen i trombocytter og den kutane blødningstid hos fangere, blev siden også en 'nutrition classic' (Fig. 6).

Efter disse afgørende fund oplevede jeg den glæde, at vor afdeling i Aalborg blev et center for omega-3 forskning, en aktivitet som fortsatte efter jeg i 1989 forlod afdelingen, og som er blevet videreført af blandt andre Erik Berg Schmidt og Jeppe Hagstrup Christensen.

Det betagende ved denne forskning, som jeg har den glæde fortsat at deltage i, er den konstant forøgede indsigt i de langkædede n-3 flerumættede fedtsyrers betydningsfulde rolle i

en omfattende række af cellulære processer. I forhold til hjerte-kar sygdomme er ud over den antitrombotiske virkning, den triglycerid sænkende samt den antiinflammatoriske og dermed plaque-stabiliserende effekt væsentlig (13). Vi afdækkede desuden, dels en fremmede virkning på hjerterytme variabiliteten (14), dels en nedsættende effekt på hjertefrekvensen (15), forhold som er vist at være associerede til nedsat risiko for pludselig hjertedød (16,17). Nedsat forekomst af pludselig hjertedød var det væsentligste fund i det store italienske fiskeolie studie GISSI, som omfattede over 11.000 patienter fulgt i mere end tre år (18).

I de senere år er de for mig mest overraskende fund, at der synes at være en association mellem et lavt indtag af EPA og DHA og øget forekomst af alvorlige lidelser som alders-demens inkl. Alzheimer, depression, ADHD, aldersbetinget macula-degeneration, samt ikke mindst deres betydning for fosterudvikling og svangerskabsforløb. Der åbner sig så vidt jeg kan skønne nye muligheder i både forebyggelse og terapi. Disse data vil det imidlertid føre alt for vidt at belaste denne fremstilling med.

Indenfor mange af disse områder, har vi oplevet, at en anden fedtsyreinteresse, som jeg i mange år har delt med Steen Stender, nemlig de industrielt pro-

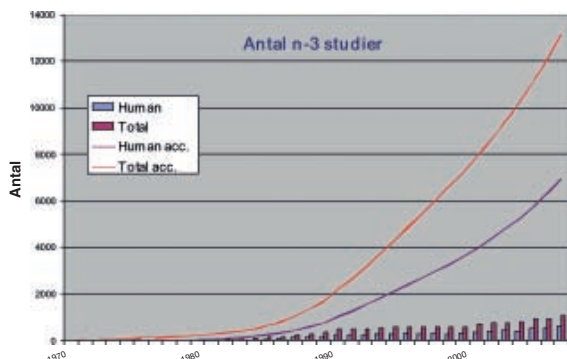
(Fortsætter side 16)



Figur 6

(Fortsat fra side 15)

ducerede trans-fedtsyrer, har vist sig på næsten alle områder, at have biologiske virkninger, og associationer til sygdomshyppigheder, der er modsat omega-3 fedtsyrernes (15,19).



Figur 7

Coda

Lad mig slutte denne nostalgiske tour de force med at vise den udvikling (Fig. 7) der er sket i publikationer om n-3 PUFA siden vi i 1971 skrev vort første arbejde om eskimoernes plasma-lipider (3). Det er en udvikling der, hvis nogen dengang havde postuleret, at noget sådant ville blive virkelighed, af os ville være blevet betragtet som vansindige!

Referencer

1. Det grønlandske sygdomsspektrum. Ugeskr Læg. 1969;131:936-7
2. Dyerberg J. Lipoproteiner i plasma. Privat forlag. København 1972.
3. Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AaB. Plasma lipids and lipoprotein pattern in Greenland West-coast Eskimos. Lancet 1971;1:1143-6
4. Bang HO, Dyerberg J. Lipid metabolism and ischemic heart disease in Greenland Eskimos. Adv Nutr Res. 1980;3:1-22
5. Bjerregaard P, Dyerberg J. Mortality from ischaemic heart disease and cerebrovascular disease in Greenland. Int J Epidemiol 1988;17:514-9

6. Bjerregaard P, Young TK, Hegele RA. Low incidence of cardiovascular disease among the Inuit - what is the evidence? Atherosclerosis. 2003;166:351-7
7. Bjerregaard P, Dyerberg J. Fish oil and ischemic heart disease in Greenland. Lancet 1988;2:514.
8. Owren PA, Hellem AJ, Odegaard A. Linoleic acid for the prevention of thrombosis and myocardial infarction. Lancet. 1964;2:975-8.
9. Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. Am J Clin Nutr. 1975;28:958-66
10. Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. Lancet 1978;2:117-9
11. Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. Am J Clin Nutr. 1980;33:2657-61
12. Dyerberg J, Bang HO. Hemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. Lancet 1979;2:433-5
13. Schmidt EB. Marine n-3 polyumættede fedtsyrer og ischæmisk hjertesygdom. Ugeskr Læger. 2005;167:1940-2
14. Christensen JH, Skou HA, Fog L, Hansen VE, Vesterlund T, Dyerberg J, Toft E, Schmidt EB. Marine n-3 fatty acids, wine intake, and heart rate variability in patients referred for coronary angiography. Circulation. 2001;103:651-7
15. Dyerberg J, Christensen JH, Eskesen D, Astrup A, Stender S. Trans, and n-3 polyunsaturated fatty acids and vascular function-A yin yang situation? Atherosclerosis. 2006;S7:33-5
16. Use Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology. Heart Rate Variability : Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Circulation. 1996;93:1043-1065
17. Dallongeville J, Yarnell J, Ducimetière P, et al. Fish Consumption Is Associated With Lower Heart Rates. Circulation. 2003;108:820-825
18. Stender S. Ikke alt fedt er lige fedt. TRANSformation af kosten: The Danish way. Klinisk Biokemi i Norden 2007;19:

✓ Bilirubin

✓ Electrolytes

✓ Metabolites

✓ Full oximetry

✓ Blood gas

✓ Creatinine

Add creatinine to your checklist. Now.

Get reliable results at the point of care

- ✓ **Fast**
Results in just 90 seconds
- ✓ **Easy**
Automated sample handling and measuring
- ✓ **Reliable**
Superior analytical performance with accurate results

ABL800 FLEX with creatinine:
Increased clinical value
at the point of care

Go to www.radiometer.com/crea for more information
or schedule a live demo today by calling your local
Radiometer representative.



RADIOMETER 
COPENHAGEN

Denmark
Radiometer Danmark
Åkandevej 21
DK-2700 Brønshøj
Tel: +45 38 27 28 29
Fax: +45 38 27 27 12
www.radiometer.dk

Norway
Bergman Diagnostika AS
P.O. Box 403
N-2001 Lillestrøm
Tel: +47 63 83 57 50
Fax: +47 63 83 57 40
www.bergmandiag.no

Sweden
TRIOLAB AB
Åbäcksgatan 6, Box 2109
SE-431 02 Mölndal
Tel: +46 31 81 72 00
Fax: +46 31 81 72 28
www.triolab.se

Finland
Triolab Oy
Lemminkäisenkatu 20
FI-20520 TURKU
Puh.: +358 201 226 600
Fax: +358 201 226 601
www.triolab.fi

Circulating nucleic acids in blood as biomarkers

Reidun Øvstebø, Peter Kierulf, Kari Bente Foss Haug.

Department of Clinical Chemistry

Ullevål University Hospital

Oslo

E-post: reidun.ovstebo@medisin.uio.no

Sammendrag

I denne korte oversiktsartikkelen redegjøres det for et biomarkørfelt som utvikler seg hurtig. Gjennom en blodprøve kan man få kjennskap til forandringer i sirkulerende leucocytter intracellulære nucleinsyrer, DNA og RNA, og til fritt DNA og RNA i plasma. Singel Nucleotide Point mutations (SNP's) har allerede bekræftet sine muligheter som biomarkører (hemokromatose, cytochrom P450, CYPs). Stadig flere slike SNPer vinner innpass i klinisk sammenheng. Siden sirkulerende hvite blodlegemer kan sies kontinuerlig å overvåke kroppens organer og vev og dette avspeiles i disse blodcellers genespresjon knyttes det i dag forventninger til sykdomsspesifikke genespresjonsprofiler. Både ved visse kreftformer, betennelsestilstander og hjertekar-sykdom synes hvite blodlegemer mer eller mindre tydelig sykdomsspesifikke genespresjonsprofiler. Denne type sykdomsspesifikke genespresjonsmarkører vil bli økende viktig fremover. Ved slike markører vil man kunne ha nytte av kvantitativ måling av enkeltmarkører, og også globale genespresjonsprofiler på mikro-array-plattformer. Sirkulerende fritt DNA og kanskje særlig RNA i plasma åpner for nye sykdomsmarkører i første rekke ved forskjellige kreftformer og ved foeto-maternelle problemstillinger. Oversikten gir også en henvisning til metodologiske referanser i disse feltene.

Abstract

This short review on a rapidly expanding domain in Biomarkers focuses on the value of markers derived from either circulating intracellular (leukocytes) DNA and RNA or from free DNA and RNA in plasma. In circulating intracellular DNA biomarkers importance

has been pointed to receive in the ever increasing number of SNPs directly related to disease such as hemochromatosis or associated with genetic make up that leads to different drug-susceptibility. Quantitative gene expression profiling, increasingly using global expression platforms, is gaining momentum in various disease state such as cancer, inflammation, cardiovascular disease and diabetes. Circulating free nucleic acids in plasma or serum gain in importance as biomarkers particularly in cancer and foeto-maternal understanding. The surprising recent findings of circulating free mRNA carries the potential of examining normal and diseased plasma for global gene expression profiling – opening avenues to new biomarkers. When appropriate this review gives reference to methodological considerations and refers the readers to important literature in the fields.

Introduction

In general, biomarkers aim at disclosing or monitoring disease. So also with nucleic acids, which comprise DNA as well as RNA. Their main working place is within the cell, whether in fixed tissues (liver, heart etc) or in circulating blood (white blood cells, reticulocytes). In the present review we shall focus on “circulating nucleic acids”, with special emphasis on blood. We shall approach this in a dual way by focusing on recent knowledge that may be extracted from circulating white blood cells as regards both DNA (mutations, hypermethylation for review (1) and RNA (gene expression). In this latter context we shall consider circulating white blood cells as “ambulatory surveyors of disease”. Our second approach will be related to circulatory extra-cellular DNA and RNA, ie. obtainable

from whole blood, either cell bound or free in plasma. In both domains, cellular as well as extra cellular, we shall emphasize pre-analytical as well as analytical challenges when appropriate. At the very end of this review we shall speculate as to how these important fields may develop.

In many ways circulating blood is unique in the human body. It “travels” several miles every day and night, and directly or indirectly perfuses every cell of the body, thus having a unique position to “understand what is going on in our bodies.” Circulating blood is a notably dynamic environment involving the turnover of approximately 1 trillion blood cells daily, including 200 billion red blood cells and 70 billion neutrophilic leukocytes (2). Nucleated leukocytes which include lymphocytes, monocytes and granulocytes are the most transcriptionally active cells in the blood and thereby targets for both DNA analysis and gene expression profiling.

The apparent ease of sampling blood makes this circulatory tissue attractive in trying to understand disease. For years clinical pathologists and clinical chemists have drawn whole blood for cell count, hemoglobin measurements and processed whole blood into plasma or serum to quantify proteins, hormones and

metabolites. Procedural care has been established in order to obtain reliable results. Examining for circulating nucleic acids may pose specific, new problems as may bio-banking of specimens. When appropriate we shall address these issues.

Cellular DNA

DNA is the biochemical substance that specifies all the different parts in living organisms and defines an individual. All inherited information is specified by a simple four-letter alphabet, the nucleotides A, G, C and T, and remarkable, it is the order of these billions of four nucleotides that constitutes the genome and encodes all of the instructions necessary to create a complete organism.

The most well known features of the genome are the genes, which encode protein products. The Human Genome Project manifested roughly 33 000 different genes, comprising only a tiny fraction (~1-3 %) of the entire human genome (3). Yet it is thought that most of the functional relevance of an organism is encoded within the genes and the various regulatory regions surrounding the genes, although information on non-coding regions is becoming increasingly interesting.

(Fortsætter side 20)



Foto: Henrik Alfthan. Island.

(Fortsat fra side 19)

DNA variations

Almost every one of the 100 trillions (10¹⁴) of cells in the body has its own copy of the genome, so also with the nucleated white blood cells in circulating blood. Each cell has two such copies, one maternal and one paternal, thus having two versions of every gene and two recipes for the same protein. Even subtle differences in this recipe may lead to alternative proteins – generating the variance responsible for making all human beings biologically unique.

Surprisingly, 99 % of the genome is stipulated to be identical among different human people, but nevertheless, the presence of only 1 % variance accounts for the huge phenotypic differences among individuals. Variations in DNA have arisen during evolution as a consequence of mutations. As dividing cells are produced, each new cell needs to replicate and make its own copy of the genome, a process that is not error free. Errors in DNA replication or other damages, although continually proofread, bring the misincorporations into existence and a mutation - or a variation - is born. Novel gene variants may not work as well as the original version and usually die out within a few generations. On the contrary, new variants may be better than or functionally equivalent to the original version. These good or neutral variants may increase in frequency in the population due to chance, or because they confer better odds for survival and successful reproduction for the ones who have them. DNA variations may have functional consequences by altering a protein or its rate of expression or may have no functional consequences at all and constitute merely as a positional marker in the genome.

DNA variations are often referred to as polymorphisms. The term polymorphism is used to indicate that a particular DNA position has more than one form (up to three) in the population, although each individual will only have one or a maximum of two forms. Classically, a distinction has been made between variations and polymorphisms. A locus is only called polymorphic if the most common variant occurs in less than 95 % of the population. Consequently all other variants will then occur with a total frequency of 5 % or more (4). It is also common to distinguish between a polymorphism and a mutation. A mutation refers to a rare variant that is the primary cause of a clinical phenotype or a disease, whereas polymorphism is used to denote a variant that is present in the population

in a relatively high frequency. Polymorphisms are by themselves more seldom sufficient to cause a disease, but may contribute to susceptibility to a disease or to variation in functional properties of a protein.

Single Nucleotide Polymorphisms, termed SNPs, are the most abundant and the simplest form of DNA variations in which a single nucleotide is replaced by another. SNPs are classified into coding and non-coding polymorphisms according to their position in or around genes. Coding SNPs are further classified into synonymous and nonsynonymous variations. Synonymous codons change into another codon coding for the same amino acid leading to no change in the structure of the protein (silent change). Non synonymous SNPs change the codon to one specifying for a different amino acid and may therefore change the protein structure. It has been estimated that the human genome contains one sequence variant in every 200 to 1000 base pairs and that each gene on average has 126 SNPs (5).

Other DNA variants include short and long insertions/deletions (“indels”), where as one, a few or many nucleotides may be added or removed in the genome. These variants may lead to amino acid addition/subtraction in the protein or to total disruption of the protein message depending on the sequence involved. Incorporation of transposable elements may as well lead to radical changes at the protein level.

Microsatellite repeats is a more complex type of DNA variation consisting of short di, tri, tetra or penta-nucleotides repeated several to hundreds of times along the DNA. Microsatellite repeats occur in all individuals, but the length of the repeat and the position of the sequence in the genome is of vital importance for the extent of damage.

DNA methylation status is another well studied gene regulation mechanism, especially in carcinogenesis. Hypermethylation of CpG-rich islands in the promoter regions of tumor suppressor genes leads to gene silencing and is one of the most common molecular transformations in a cancer cell. Hypomethylation has also been recognized as a cause of cancer(6).

In most human cells telomerases shorten during aging, suggesting that telomere length could be a biomarker of aging and age-related morbidity (7).

DNA variants as Biomarkers

The introduction of DNA variations in genetic analy-

(Fortsætter side 22)

ÖPPNA ÖGONEN FÖR EN NY VÄRLD AV MÖJLIGHETER



SafirLIS Deltrix

MÖJLIGHETERNAS LABSYSTEM

Ett ÄKTA multidisciplinärt labdatasystem!

Vill Ni veta mer, gå in på vår hemsida:

www.profdoc.se

profdoc®

Profdoc Lab AB
Borganäs v. 34
784 33 Borlänge
Telefon: +46 243 21 76 00
Fax: +46 243 21 76 01

Profdoc Norge AS
Postboks 163
1325 Lysaker
Telefon: +47 21 93 63 00
Faks: +47 21 93 63 01

Profdoc Danmark A/S
Hejrevej 43
2400 København NV
Telefon: +45 7080 8216
Faks: +45 3819 1255

(Fortsat fra side 20)

sis has already contributed in medical diagnostics, because many of these molecular markers can function as biomarkers when associated with development or predisposition to common diseases as well as individual variations in drug response. One criterion to prioritize a polymorphism for study is whether it has a functional consequence.

Among variations being analyzed, SNPs seem to be the most common type of genetic variation and about 10 millions of SNPs (5) are now documented in several dedicated databases free of charge. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=snp>, SNP Browser™ v3.1, Applied Biosystems. The scientific focus is now drifting towards how these SNPs co-occur, how they interact to alter the function of a gene, and which SNPs can eventually be used as biomarkers. However, important to notice is that many reported DNA variations have only been identified using a few individuals and have not been strictly defined as polymorphisms. Investigators may also take into consideration that the allele frequency may vary dramatic among ethnic groups.

A group of defined SNPs has already for sev-

eral years been utilized as biomarkers for diagnosis of simple, single gene defects. Detection of SNPs in for example the Coagulation Factor V (Leiden) and the Prothrombin genes have been established as routine analysis in coagulation defects (8;9), as well as documented SNPs in the candidate genes for Hypercholesterolemi, Hemochromatosis and Lactosis intolerance (10;11).

The term haplotype may be useful when several SNPs are identified surrounding the gene of interest. Haplotypes refers to a combination of polymorphisms in close proximity that are coinherited in many individuals in a population. Designing Haplotypes from a distinct region may provide a more complete description of the different SNPs involved in the disease studied, and databases for searching and generating haplotypes are established (http://www.nhgri.nih.gov/About_NHGRI/Der/haplotype/index.html). Since the number of SNPs and haplotypes reported has increased extensively the last years, the approach to seek for good SNP biomarkers has been more challenging. As complexity of the project proceeds, professional assistance from dedicated technical staff (bioinformatics) is strongly recommended.



Foto: Henrik Alfthan. Island.

Determining the genetic bases of the common “multi factorial” diseases, however, represents a major challenge. The genetics of these diseases are complicated by the interplay by many genes in combination with the environment. Because SNPs are densely distributed across the whole genome, they are ideal markers for large scale genome-wide association studies to discover common complex diseases, such as cancer, hypertension, diabetes, obesity, and psychiatric disorders.

Since cancer is a DNA disease characterized by uncontrolled cell proliferation due to accumulation of genetic alterations, genetic instability has also been recognized as a central biomarker in many forms of cancer. Most colorectal cancers are identified through chromosomal instability, either allelic losses of chromosomes or instability of microsatellites. These alterations may contribute to inactivation of tumor suppressor genes and accumulation of mutations in important genes regulating the cell cycle and apoptosis, respectively (12). Aberrant methylation can be used as a marker to detect cancer cells (13). A number of studies have provided evidence that specific methylation changes can alter the response to different therapeutic agents in cancer, and therefore be useful as biomarker (14)

The focus of SNP analysis is now changing from the identification of new SNPs to their typing in populations. For SNPs to be potentially biomarkers, the polymorphisms have to be mapped accurately, their frequency in various populations determined, and automated high-throughput assay techniques developed. One problem researchers face when designing human genetic studies with SNPs, is the difficult task of selecting the most suitable set of DNA variants for the goal at hand and in a cost-effective manner.

Pharmacogenomics

It is commonly accepted that no drug works well for all patients. Some of the differences in how patients respond to a drug are due to personal characteristics such as age, size and gender, the nature of their disease and what other drugs are being used. Despite all these factors, it is claimed that half of all variation in drug response is attributable to the genetic differences among patients.

Some of the specific genetic factors involved in drug response have been known for a long time and belong to a class of proteins called “drug metabolizing enzymes”. The Cytochrom P-450 system (CYP)

is the most important and characterized enzyme system involved in drug metabolism (15), but other classes of enzymes and several drug receptors are contributing to pharmacokinetic variations as well (16;17). Variations in the genes that encode these CYP-molecules (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4) influence how quickly these enzymes process and eliminate the drug and their metabolites from the blood. Drugs metabolized too quickly, may not reach a high enough concentration to cure the targeted disease or relieve the symptoms. Drugs metabolized too slowly, may accumulate and reach a toxic level in the body. The availability of the human DNA sequence, its variation between individuals and the functional understanding of genetic determinants between individuals may enable a safer dosage towards a more effective and personalized drugs.

The ease of using DNA from circulating white blood cells for hunting biomarkers is obvious. DNA is the ultimate stable molecule upon storage and no preanalytical precautions need to be fulfilled. A few microliter of EDTA whole blood is sufficient for up to a hundred genotypings. The challenge for tomorrow will be to exploit and quality control all the reported information from the databases.

Cellular RNA

General considerations

Understanding the function of genes and other parts of the genome is known as functional genomics. The Human Genome Project was just the first step in understanding humans at the molecular level. Though the project is complete, many questions still remain unanswered, including the function of most of the estimated 33,000 human genes. Most genes and various regulatory regions surrounding the genes, contain information for making specific proteins. mRNAs the intermediate molecules between DNA and proteins, are the target molecules for gene expression analysis, the process by which proteins are made from the instructions encoded in the DNA molecule.

Cellular RNA in disease.

Recent reports have revealed that peripheral leukocytes that communicate with every tissue and organ in the body, have the potential to be used diagnostically as surrogates for direct sampling of sites of different disease processes. Detection of disease-specific prognostic markers from blood cells in leukemia patients

(Fortsætter side 24)

(Fortsat fra side 23)

has proven its usefulness in diagnosis. Quantification of the kinetics in minimal residual disease such as chronic myeloid leukemia or acute lymphoblastic leukemia by RT-PCR has resulted in new clinical staging and response to treatment (18;19). Application of microarray methodology on to carcinoma tissues (breast, colon or prostate) has resulted in the discovery of response changes in a variety of genes. Some of these transcripts may potentially in the future serve as biomarkers to detect occult tumor cells in blood originating from solid cancers (18;20;21). Ma et al suggest that peripheral blood cells undergo profound molecular changes during atherogenesis showing 108 genes differently expressed in coronary artery disease peripheral blood cells as compared to normal (22). Microarray analysis performed on total RNA in blood cells from patients with schizophrenia or bipolar disorders have shown that each disease state exhibited a uniquely expressed genome signature as compared to normal (23). Whole blood is supposed to become the most important clinical specimen also to obtain surrogate markers for diseases that are not primarily associated with peripheral blood (24-26)

Thus, blood derived RNA appears to represent a novel alternative to tissue biopsies as a source for mRNA gene expression profiling. However, given the heterogenous blood cell population and the challenge of isolation of high-quality total-RNA there are many factors to be accounted for during sampling, analyzing and evaluation of the results.

Preanalytical precautions

Intracellular RNA will be rapidly degraded *ex vivo* by specific and nonspecific endonucleases if not stabilized immediately upon sampling. This will lead to changes in the gene expression profiles. Standardization of this preanalytical step may now more easily be done by using integrated and standardized systems for collection and stabilization of whole blood specimens such as the PAXgene (Qiagen) or the Tempus (Applied Biosystems) systems. These systems have been validated to maintain RNA in a satisfactory way both at room temperature for 5 days and when kept frozen. One technical obstacle using these systems however, is that RNA from reticulocytes will be isolated at the same time. Reticulocytes are transcriptionally inactive, but contain huge amounts of globin mRNAs. The number of reticulocytes are normally 10 fold that of leukocytes

and they will therefore contribute up to 70 % of the total RNA from blood (26). These circumstances have been shown to decrease the sensitivity of detection of other transcripts in some of the detection methods, but methods for reduction of globin mRNAs not affecting further analysis, are now available (26).

In an epidemiological setting robotized isolation of total RNA is a prerequisite. Conventional, manual isolations methods are demanding and will be cumbersome with a high number of samples. Lability of RNA molecules and the numerous possibilities to pollute samples during isolation procedures, forces the isolated total-RNA to be quality checked for the deleterious effect of RNases before subjecting the RNA to further analysis. This may now be tested for by running the samples in a dedicated electrophoretic system (27).

Quantification of specific mRNA transcripts

Most methods for quantification of specific mRNA transcripts require enzymatic steps in advance of detection, such as reverse transcription, to synthesize cDNA from mRNA or labeling of cRNA. Real time PCR or microarrays are most often used as analytical platforms for the quantification.

Gene expression profiles from blood cells can be obtained either by analyzing the global gene expression by microarray technology or by quantification sets of specific transcripts by quantitative RT-PCR.

Global gene expression profiles may give information on a large number of transcripts. Depending on array type, filtering and study design genes overexpressed or suppressed may be registered active at a given time. The level of expression of certain genes may signify a particular disease state. Genes thus consistently overexpressed or suppressed in a certain clinical context may be considered as biomarkers. Many diseases are polygenic and triggered by genetic, environmental and physiological factors. Software clusters of relevant genes may be performed to distinguish among different disease pattern.

Quantitative RT-PCR is normally used for detection on known specific transcripts. Different analytical platforms offer facilities for quantification of one to 384 transcripts at a time. This makes quantification of gene expression profiles from clusters of genes possible within a short time and the future will probably provide "cardio-card", "diabetic-card", "hypertension-card". The combination of microarray analysis, that identify panels of genes relevant for a disease state,

and real-time PCR based assays for quantification of the panels in clinical settings, may be valuable tools in the future.

As for today qRT-PCR assays are most established for detection of viral load and therapy monitoring (HIV, SARS) (28-31) and for diagnosis and detection of disease-specific prognostics markers in patients with leukaemia (32;33).

Circulating extra-cellular DNA and RNA

General considerations

The discovery of cell-free nucleic acids in plasma was first reported by Mandel and Metais in 1948 (34), but was initially not widely recognized.

By the term circulating extra-cellular nucleic acids, we imply DNA and RNA that exist in blood plasma as free nucleic acid. Thus, extra-cellular nucleic acids have escaped their natural environment and have gained access to plasma where they may exist in solution or may be particle-bound. These forms of circulating extracellular nucleic acids therefore should be considered apart from circulating cellular nucleic acids as regards biomarker functionality.

Methodological considerations

Since circulating extra-cellular nucleic acids may exist in solution in plasma in various particular forms or bound to blood cells, special analytical considerations have to be taken into considerations in order to obtain comparable results. As of today most studies have been performed on plasma processed from EDTA whole blood or serum from clotted blood (35). We have found no studies that have systematically compared the effects of various anticoagulants. A few comparative studies using both plasma and serum have been done (36), the results usually giving higher and more labile serum than plasma values (37), most likely due to the release of cellular constituents upon inclusion of blood cells into the clot. For quantitative estimates we would recommend the use of plasma obtained by centrifugation (1600xg, 10 min, 4°C, plasma pipetted off and recentrifuged 1600xg, 10 min 4°C (35;36)) of EDTA (5 mmol/L) whole blood. EDTA blood, prior to processing may be stored at +4°C for up to 24 hours prior to processing. Only a few studies on extra-cellular circulating nucleic, cell-bound (38) or filterable (39), have been reported. Since circulating nucleic acid investigations frequently implies its use in

epidemiological studies where sample number often may be quite large, automated extraction from plasma has been advocated (35).

Circulating extra-cellular DNA and RNA in disease

General comments

At present there are two major fields where research – on the brink of routine in some places – push on. The first is focused on understanding fetal genetic make up and wellbeing by examining for fetal DNA and RNA in maternal plasma. The other is directed at early or supplementary cancer diagnostics. Most studies in these fields have extracted nucleic acids from plasma (35;37)

Fetal DNA and RNA in maternal plasma

Conventional methods of obtaining fetal tissues for genetic analysis, including amniocentesis and cho-

(Fortsætter side 26)



Foto: Henrik Alfthan. Island.

(Fortsat fra side 25)

rionic villus sampling, are invasive and constitute a finite risk to the fetus. This picture changed upon the discovery by Lo et al in 1997 (40) that fetal DNA (on the Y-chromosome) was present in maternal plasma and serum.

Fetal DNA in maternal plasma has been shown to be useful for the prenatal diagnosis of certain neurological diseases, fetal chromosomal aneuploidies, sex-linked disorders and fetal rhesus D (RhD) status (35). Fetal RhD genotyping from maternal plasma has become an adopted protocol in routine prenatal diagnosis in several centers (http://www.bloodnet.nbs.uk/ibgrl/Refernce%20Services/refSer_genotyping.htm) Quantitative aberrations of fetal DNA in maternal plasma have been reported in various disease conditions, ie pre-eclampsia, fetal-maternal haemorrhage and polyhydramnion (35), primarily based on the detection of Y-chromosomal sequences in maternal plasma, thus limiting their applications to the 50% of pregnancies involving male fetuses.

Using RT-PCR fetal RNA of placental origin has recently been detected in maternal plasma (37). An important extension of this placental avenue has lately been shown by Tsui et al (41), who used systematic micro array based identification of placental mRNA in maternal plasma by subtractive gene expression analysis.

Circulating DNA and RNA in Cancer testing

Application of circulating DNA in plasma in cancer testing depends on the accumulation of genetic and epigenetic changes, such as 1) point mutations 2) chromosomal rearrangements 3) microsatellite instability and 4) hypermethylation (35). Circulating N-ras and K-ras gene mutations have been observed in circulating DNA in various cancer forms and persistence of mutated circulating K-ras sequences has been related to recurrence or progressive disease (42). Microsatellite instability, particularly loss of heterozygosity (LOS) has been observed both in the tumor itself and in the corresponding circulating DNA. Also these changes have been correlated with disease progression or recurrence. Real time methylation specific polymerase chain reaction (RT-MSP-PCR) allows quantitative estimates of promoter hypermethylated circulating DNA. Finally particular viral sequences has been reported in circulation in patients suffering from some Epstein-Barr virus (EBV) associated

cancers(nasopharyngeal carcinoma, EBV-associated Hodgkin's disease) as has circulating human papilloma virus (HPV) DNA sequences in plasma of cervical cancer patients associated with metastasis (43).

Circulating mRNA

It came as a surprise the finding of mRNA in plasma from patients with malignant melanoma (44). Apparently cell-derived circulating mRNA is protected from degradation in plasma (45), possibly because of "apoptotic packing". Telomerase mRNAs (hTERT-Telomerase Reverse Transcriptase) in plasma has been found in several cancer forms (1;46). Lung cancer disease was detected in 100% of patients using Her2/neu and hnRNP-B1 serum mRNA as markers (47). Several mRNA markers in plasma have been demonstrated in breast cancer, and of lately *erbB2* mRNA in plasma has been associated with circulating tumor cells and negative estrogen and progesterone receptor status (48).

What holds for the future?

Scientists frequently display low predictive powers in forecasting future scientific forthcoming. We shall therefore be careful in trying to outline the future developments. We feel sure, however, that the generation of databases containing large number of SNPs, the characterization of haplotypes and patterns of linkage disequilibrium throughout the genome will provide an opportunity for the better understanding of susceptibility to disease, prognosis of disease and responses to drugs. Only the careful use of these strategies and a clear understanding of their statistical limits will allow novel genetic variants for many of the common diseases to be determined as biomarkers.

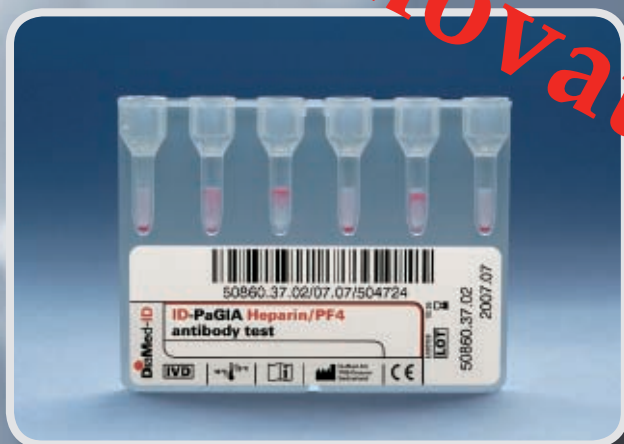
Furthermore, we would predict various types of cards to profile genes predictive of cardiovascular -, diabetic - and cancer diseases. As to what extent the public, the life insurance companies or the medical profession will advocate such use may be both an ethical and a political question. We also foresee the increasing use of extracted DNA information from non-coding sequences and from epigenetic changes for the understanding of common diseases.

The application of quantitative estimate of mRNAs, whether obtained on global expression platforms or by low density arrays, to understand disease signatures in circulating leukocytes will obviously increase

(Fortsætter side 30)

Exclude HIT in less than 20 min.

Innovative!



ID-PaGIA Heparin/PF4 antibody

Turn around time only 15-20 min

(2 pipetting steps, incubation, centrifugation. Hands on time less than 2 min.)

Excellent negative predictive value for rapid exclusion of HIT.

Automated reading and documentation for traceability possible.

Meet you at
Nord Coagmeeting 21-23 May in Göteborg!

www.labex.com

LABEX

cobas[®]

Life needs answers



The cobas[®] way

Reagent preparation: One unique way to handle more



Diagnostics

than 170 applications

cobas[®]
Life needs answers

(Fortsat fra side 26)

in years to come. Disease up- or down-regulated genes that code for proteins that potentially may be released into the blood stream, thus giving rise to potential protein biomarkers, may become in focus. As bioinformatics software tools become available and more simplified, more disease specific information will be mined. To what extent endogenous siRNAs will add to the messengers remains elusive. Obviously, the highly sophisticated and complicated, intracellular RNA languages will need the cooperativity of several professions to advance the understanding of systems biology.

As for plasma DNA and mRNA, new useful molecular markers of cancer will appear. Their value in monitoring or predicting disease, however, will depend on increased basal understanding of how these circulating nucleic acids are formed, and how they enter (and leave) the plasma and other biological compartment as well as well designed clinical studies with well delineated clinical endpoints.



Foto: Henrik Alfthan. Island.

Methods

Isolation of nucleic acids from biological fluids

DNA is a stable molecule which easily can be isolated from biological fluids such as whole blood, cerebrospinal fluid and tissues. RNA, however, may already on sampling be degraded by RNases if not immediately stabilized. With proper stabilization, DNA and RNA molecules can be isolated both manually or robotized from a cell lysate.

Available methods for isolation of nucleic acids may be based on organic extraction or adherence either to magnetic beads or columns. The method of choice should document integrity and isolated molecules should be representative for the content of DNA or RNA in the cell lysates .

Reverse Transcription

Methods used for quantification of mRNAs can not use mRNA molecules directly in their synthesis. For quantification of specific transcripts a process called reverse transcription has to synthesize cDNA molecules with mRNA molecules as templates. This provides a cDNA library synthesized from all the mRNA molecules (the transcriptome) in the lysate where furthermore PCR primers can pick the specific target in the PCR reaction (49). Global gene expression profiles on micro array platforms are dependent on mRNA molecules labeled with either fluorogenic or biotinylated molecules. This involves several steps before a sample can be hybridized to an array.

Real-time PCR

The Polymerase Chain Reaction is a laboratory technique that can amplify one molecule of cDNA or DNA and produce measurable amounts of identical cDNA/DNA amplicons by performing repetitive enzymatic cycles. PCR primers (sequence specific oligos) make it possible to pick out the specific sequence of a mRNA target. Real-time PCR enables monitoring of accumulated amplicons after each cycle due to labeling of primers, probes or amplicons with fluorogenic molecules (50;51). This approach has made it possible to quantitate specific transcripts using either calibration curve methodology (52) or relative quantification ($\Delta\Delta C_t$ -method) (53).

Real-time PCR equipment offers the opportunity to perform melting point analysis. Labelled, sequence specific probes will have melting temperatures depend-

ent on the match between the probe and the sample. This approach is utilized for genotyping of SNPs (54).

Microarrays

Different microarray platforms are available today using different types of arrays; spotted cDNA arrays or oligonucleotide arrays for gene expression analysis and (55) and mapping arrays for SNPs, linkage analysis, whole genome association, population genetics, and chromosomal copy number changes (56). However, the basic principle which relies on nucleic acid hybridization between labeled targets and large arrayed sets of gene fragments on solid support, is the same for most microarrays (57;58). One of the challenges is to decide an analytical strategy for identification of new genes or disease mechanisms. One criterion often used is a twofold difference in expression levels. Appropriate statistical analysis is needed to analyze such huge amounts of data. As all array technologies of today are expensive and the data volume enormous, the researchers approaching these technology platforms faces several challenges. Experimental design should be carefully planned and ideally biostatistics expertise included from the start. Such expertise will subsequently be needed in mining the data. Considerations in appropriate biobanking of collected specimens will be necessary. In short preanalytical, analytical and postanalytical insight into the biology involved, will be mandatory to obtain reliable results.

Reference List

1. Johnson PJ, Lo YM. Plasma nucleic acids in the diagnosis and management of malignant disease. *Clin Chem* 2002;48:1186-93.
2. Ogawa M. Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood* 1993;81:2844-53.
3. Peltonen L, McKusick VA. Genomics and medicine. Dissecting human disease in the postgenomic era. *Science* 2001;291:1224-9.
4. Chakravarti A. Population genetics--making sense out of sequence. *Nat Genet* 1999;21:56-60.
5. Crawford DC, Akey DT, Nickerson DA. The patterns of natural variation in human genes. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2005;6:287-312.
6. Esteller M. Aberrant DNA methylation as a cancer-inducing mechanism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45:629-56.
7. von Zglinicki T, Martin-Ruiz CM. Telomeres as biomarkers for ageing and age-related diseases. *Curr Mol Med* 2005;5:197-203.
8. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-7.
9. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88:3698-703.
10. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399-408.
11. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet* 2002;30:233-7.
12. Allen WL, Johnston PG. Role of genomic markers in colorectal cancer treatment. *J Clin Oncol* 2005;23:4545-52.
13. Miyamoto K, Ushijima T. Diagnostic and therapeutic applications of epigenetics. *Jpn J Clin Oncol* 2005;35:293-301.
14. Maier S, Dahlstroem C, Haefliger C, Plum A, Piepenbrock C. Identifying DNA methylation biomarkers of cancer drug response. *Am J Pharmacogenomics* 2005;5:223-32.
15. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci* 2004;25:193-200.
16. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med* 2001;250:186-200.
17. Wadelius M, Chen LY, Downes K, Ghori J, Hunt S, Eriksson N et al. Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associ-

(Fortsætter side 32)

(Fortsat fra side 31)

- ated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J* 2005;5:262-70.
18. Bustin SA, Mueller R. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clin Sci (Lond)* 2005;109:365-79.
 19. Zebisch A, Linkesch W, Sill H. Bedside RNA stabilizing kit systems for gene expression analysis of acute leukemias: influence of non-neoplastic white blood cells. *Leukemia* 2005;19:685.
 20. DePrimo SE, Wong LM, Khattry DB, Nicholas SL, Manning WC, Smolich BD et al. Expression profiling of blood samples from an SU5416 Phase III metastatic colorectal cancer clinical trial: a novel strategy for biomarker identification. *BMC Cancer* 2003;3:3.
 21. Zieglschmid V, Hollmann C, Bocher O. Detection of disseminated tumor cells in peripheral blood. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2005;42:155-96.
 22. Ma J, Liew CC. Gene profiling identifies secreted protein transcripts from peripheral blood cells in coronary artery disease. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35:993-8.
 23. Feezor RJ, Baker HV, Mindrinis M, Hayden D, Tannahill CL, Brownstein BH et al. Whole blood and leukocyte RNA isolation for gene expression analyses. *Physiol Genomics* 2004;19:247-54.
 24. Whitney AR, Diehn M, Popper SJ, Alizadeh AA, Boldrick JC, Relman DA, Brown PO. Individuality and variation in gene expression patterns in human blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:1896-901.
 25. Pahl A. Gene expression profiling using RNA extracted from whole blood: technologies and clinical applications. *Expert Rev Mol Diagn* 2005;5:43-52.
 26. Fan H, Hegde PS. The transcriptome in blood: challenges and solutions for robust expression profiling. *Curr Mol Med* 2005;5:3-10.
 27. Imbeaud S, Graudens E, Boulanger V, Barlet X, Zaborski P, Eveno E et al. Towards standardization of RNA quality assessment using user-independent classifiers of microcapillary electrophoresis traces. *Nucleic Acids Res* 2005;33:e56.
 28. Schutten M, Niesters HG. Clinical utility of viral quantification as a tool for disease monitoring. *Expert Rev Mol Diagn* 2001;1:153-62.
 29. Mulder J, McKinney N, Christopherson C, Sninsky J, Greenfield L, Kwok S. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J Clin Microbiol* 1994;32:292-300.
 30. Sun R, Ku J, Jayakar H, Kuo JC, Brambilla D, Herman S et al. Ultrasensitive reverse transcription-PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma. *J Clin Microbiol* 1998;36:2964-9.
 31. Rohde G, Borg I, Arinir U, Bufe A, Dorsten C, Schultze-Werninghaus G, Bauer TT. Evaluation of a real-time polymerase-chain reaction for severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus in patients with hospitalised exacerbation of COPD. *Eur J Med Res* 2004;9:505-9.
 32. Hochhaus A, Reiter A, Skladny H, Reichert A, Saussele S, Hehlmann R. Molecular monitoring of residual disease in chronic myelogenous leukemia patients after therapy. *Recent Results Cancer Res* 1998;144:36-45.
 33. Jones CD, Yeung C, Zehnder JL. Comprehensive validation of a real-time quantitative bcr-abl assay for clinical laboratory use. *Am J Clin Pathol* 2003;120:42-8.
 34. Mandel P and Metais, P. Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'homme. *Acad.Sci. Paris* 142, 241-243. 1948.
 35. Tong YK, Lo YM. Diagnostic developments involving cell-free (circulating) nucleic acids. *Clin Chim Acta* 2006;363:187-96.
 36. Tsui NB, Ng EK, Lo YM. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma. *Clin Chem* 2002;48:1647-53.
 37. Ng EK, Tsui NB, Lau TK, Leung TN, Chiu RW, Panesar NS et al. mRNA of placental origin is readily detectable in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:4748-53.
 38. Laktionov PP, Tamkovich SN, Rykova EY, Bryzgunova OE, Starikov AV, Kuznetsova NP,

(Fortsætter side 34)

VITROS®

Do More. For Life.



*Dear Competitors -
sorry for stealing
all the attention*

AGAIN

We know it's irritatingly visionary, but it is time to set new standards for consolidation - and that's exactly what we think we have done.

Did you miss the unveiling at the IFCC in Amsterdam?

Contact your local office, we will be more than happy to take you behind the curtain and show you the laboratory's future with our new Vitros Fusion Integrated System.

For more information kontakt:

Danmark: Bregnerødvej 133, 3460 Birkerød, tlf.: +45 4594 8219
Norge: Nesbruveien 75, N-1396 Billingstad, tlf.: +47 66 98 1030
Sverige: Staffans Väg 2, S-191 84 Sollentuna, tlf.: +46 (0)8-626 22 00



Ortho-Clinical Diagnostics

a Johnson & Johnson company

(Fortsat fra side 32)

- Vlassov VV. Cell-surface-bound nucleic acids: Free and cell-surface-bound nucleic acids in blood of healthy donors and breast cancer patients. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1022:221-7.
39. Ng EK, Tsui NB, Lam NY, Chiu RW, Yu SC, Wong SC et al. Presence of filterable and nonfilterable mRNA in the plasma of cancer patients and healthy individuals. *Clin Chem* 2002;48:1212-7.
 40. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-7.
 41. Tsui NB, Chim SS, Chiu RW, Lau TK, Ng EK, Leung TN et al. Systematic micro-array based identification of placental mRNA in maternal plasma: towards non-invasive prenatal gene expression profiling. *J Med Genet* 2004;41:461-7.
 42. Ryan BM, Lefort F, McManus R, Daly J, Keeling PW, Weir DG, Kelleher D. A prospective study of circulating mutant KRAS2 in the serum of patients with colorectal neoplasia: strong prognostic indicator in postoperative follow up. *Gut* 2003;52:101-8.
 43. Pornthanakasem W, Shotelersuk K, Termrungruanglert W, Voravud N, Niruthisard S, Mutirangura A. Human papillomavirus DNA in plasma of patients with cervical cancer. *BMC Cancer* 2001;1:2.
 44. Kopreski MS, Benko FA, Kwak LW, Gocke CD. Detection of tumor messenger RNA in the serum of patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 1999;5:1961-5.
 45. Hasselmann DO, Rapp G, Tilgen W, Reinhold U. Extracellular tyrosinase mRNA within apoptotic bodies is protected from degradation in human serum. *Clin Chem* 2001;47:1488-9.
 46. Lledo SM, Garcia-Granero E, Dasi F, Ripoli R, Garcia SA, Cervantes A, Alino SF. Real time quantification in plasma of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA in patients with colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2004;6:236-42.
 47. Goebel G, Zitt M, Zitt M, Muller HM. Circulating nucleic acids in plasma or serum (CNAPS) as prognostic and predictive markers in patients with solid neoplasias. *Dis Markers* 2005;21:105-20.
 48. Xu Y, Yao L, Li H, Ouyang T, Li J, Wang T et al. Presence of erbB2 mRNA in the plasma of breast cancer patients is associated with circulating tumor cells and negative estrogen and progesterone receptor status. *Breast Cancer Res Treat* 2005;1-7.
 49. Bustin SA, Nolan T. Pitfalls of quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *J Biomol Tech* 2004;15:155-66.
 50. Haug KBF, Ovstebo R, Kierulf P. How to monitor gene expression. *NBS-nytt* 2003;4:21-5.
 51. Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA, Rasmussen RP. Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. *Biotechniques* 1997;22:130-8.
 52. Ovstebo R, Haug KBF, Lande K, Kierulf P. PCR-based calibration curves for studies of quantitative gene expression in human monocytes: Development and evaluation. *Clinical Chemistry* 2003;49:425-32.
 53. ABI Prism 7900HT sequence Detection System and SDS Enterprise Database; User Guide. Basic Operation and Maintenance. 2002. Applied Biosystems.
 54. Ririe KM, Rasmussen RP, Wittwer CT. Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Anal Biochem* 1997;245:154-60.
 55. Watson A, Mazumder A, Stewart M, Balasubramanian S. Technology for microarray analysis of gene expression. *Curr Opin Biotechnol* 1998;9:609-14.
 56. Kennedy GC, Matsuzaki H, Dong S, Liu WM, Huang J, Liu G et al. Large-scale genotyping of complex DNA. *Nat Biotechnol* 2003;21:1233-7.
 57. Churchill GA. Fundamentals of experimental design for cDNA microarrays. *Nat Genet* 2002;32 Suppl:490-5.
 58. Hughes TR, Mao M, Jones AR, Burchard J, Marton MJ, Shannon KW et al. Expression profiling using microarrays fabricated by an ink-jet oligonucleotide synthesizer. *Nat Biotechnol* 2001;19:342-7.



EliA™ on ImmunoCAP™ 250

*Automation and quality both in allergy
and autoimmunity testing*

*State of the arts analytes
EliA™ CCP and EliA™ Celikey*

Phadia

Phadia AB
Marknadsbolag Sverige
Box 6460
SE-751 37 Uppsala

Phadia AS
Nydalsveien 33
Postboks 4814, Nydalen
NO-0422 Oslo

Phadia OY
Rajatorpantie 41 C
FIN-01640 Vantaa

Phadia Aps
Gydevang 33
DK-3450 Allerød

Läkemedelsbiverkningar hos äldre kan minimeras med hjälp av S-Cystatin C

Tamara Zafirova, överläkare, klinisk kemi, Laboratoriemedicin, 551 85 Jönköping

Tel 036-322388, E-post: tamara.zafirova@lj.se

Kjell Lindström, med dr, distriktsläkare, Primärvårdens FoU-enhet, Jönköping

Carsten Frisenette-Fich, överläkare, medicinkliniken, Länssjukhuset Ryhov, Jönköping

Bakgrund

Normalt åldrande leder till en rad fysiologiska förändringar. Njurfunktionen avtar med åldern genom minskning framförallt av den glomerulära filtrations-hastigheten (GFR), men även av den tubulära sekretionen. GFR, som är det bästa måttet för njurfunktion börjar minska redan vid 20 års ålder. Vid 50 års ålder har man cirka 75 % medan vid 75 års ålder endast cirka 50 % av GFR kvar.



Foto: Henrik Alfthan. Reykjavik.

Njurfunktionen har avgörande betydelse för farmakokinetiken av de läkemedel som utsöndras oförändrade via njurarna. Om en normal dos av dessa läkemedel ges till patienter med nedsatt njurfunktion erhålls höga plasmakoncentrationer och därmed ökar risken för biverkningar och överdoseringar. Vid nedsatt njurfunktion (GFR < 30 mL/min) är en dosjustering aktuell. Till denna grupp hör vanliga läkemedel som penicilliner, cefalosporiner, digoxin, NSAID, kaliumsparande diuretika m.fl.

I primärvården används S-Kreatinin för att bedöma njurfunktionen. Utifrån S-Kreatinin kan GFR uppskattas med hjälp av Cockcroft –Gaults formel som tar hänsyn till kön, ålder och vikt. S-Kreatinin är bra markör för friska personer med normal muskelmassa och normal nutrition. Äldre personer har minskad muskelmassa och ibland malnutrition vilket minskar kreatinin-bildningen och därför är S-Kreatinin mindre bra och kan förbli länge inom referensintervallet även om GFR kan vara kraftigt sänkt.

Under de senaste 10 åren har S-Cystatin C introducerats som en ny och bättre markör för diagnostik av nedsatt njurfunktion. Flera studier har visat en mycket bra korrelation mellan S-Cystatin C och Iohexol clearanse. Eftersom Cystatin C produktionen inte påverkas av muskelmassans storlek kan den användas med fördel hos äldre och barn. Trots sina diagnostiska fördelar har S-Cystatin C inte fått den användning som den förtjänar.

Analys av S-Cystatin C infördes på klinisk kemi i Jönköping år 1999 med en immunofelometrisk metod med antikroppar från Dako Cytomation på instrumentet Image, Beckman, USA.

2004 bytte vi till immunturbidimetrisk metod på instrumentet ADVIA 1650, Bayer, USA (med Dako Cytomation antikroppar).

Våren 2005 genomfördes en studie på ett äldre boende i Jönköping.

Syfte

Syftet med studien var att kartlägga och åskådliggöra njurfunktionen (GFR) hos boende på äldreboendet och analysera om olämplig medicinering förekommit p.g.a. att nedsatt njurfunktion kunde inte identifieras med den vanliga analysmetoden - S-Kreatinin.

Metod

Studien genomfördes under våren 2005 på ett särskilt boende för äldre (SÄBO) i Jönköpings kommun. Det har 60 platser varav 10 är kortvårdsplatser för patienter som t.ex. varit inlagda på sjukhus och inte kan flyttas direkt hem.

Blodprov togs av sjuksköterskan på boendet under april 2005 på 50 av de 51 patienter som ville delta. Proverna skickades till klinisk kemi på Länssjukhuset Ryhov i Jönköping för bestämning av serumkoncentrationerna av Kreatinin respektive Cystatin C. S-Kreatinin mättes genom användning av Jaffés metod och S-Cystatin C genom immunturbidimetrisk metod (Dako Cytomation) med analysinstrumentet ADVIA 1650 från BAYER, USA. Patienternas ålder, kön och vikt noterades. Beräkningar av GFR gjordes på laboratoriet. Kreatininclearance (GFR) beräknades med hjälp av Cockcroft-Gaults formel, $GFR = 1,23 \times (140 - \text{ålder}) \times \text{vikt i kg} / \text{S-kreatinin}$ (x 0,85 för kvinnor) och för S-cystatin C användes formeln, $GFR_{\text{Cystatin C}} (\text{ml/min}/1,73 \text{ kvm}) = 69,378 \times \text{Cystatin C} (\text{mg/L})^{-1,6605}$.

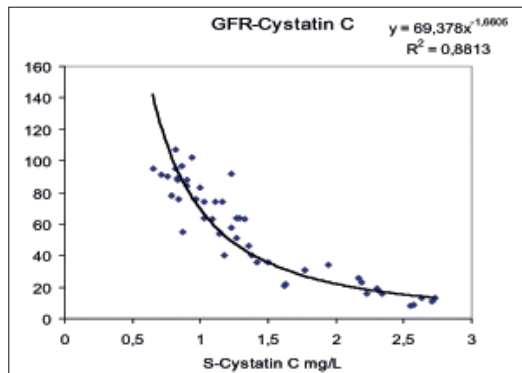
Denna formeln tags fram via analys av S-Cystatin C på 49 patientprover vid Iohexolbelastning och beräkning av korrelationen mellan S-Cystatin C och Iohexolclearance (Figur 1).

Formeln som användes vid beräkning av GFR jämfördes även med formeln från publ.10: $GFR_{\text{mL/min}/1,73 \text{ kvm kroppsyt}} = 84,62 \times \text{C-Cystatin C i mg/L} - 1,680 \times 1,384$ (barn < 14 år) (Figur 2).

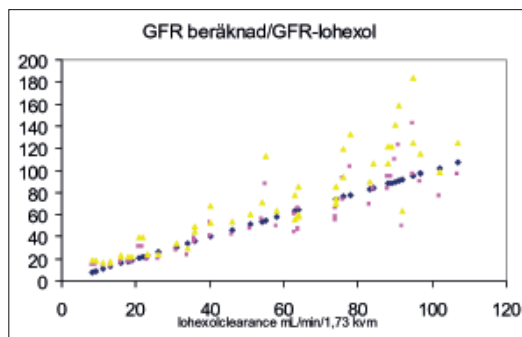
Fyrtioåtta patienters läkemedelslistor gick igenom och bedömdes av en receptariestudent utifrån ”Riktlinjer för dosering av läkemedel vid nedsatt njurfunktion” ur Läkemedelsboken 2001/2002 och FASS 2005. De framkomna teoretiskt olämpliga läkemedelsordinationerna granskades därefter av en oberoende

distriktsläkare och en njurläkare som tog ställning till vad som var praktiskt olämpliga läkemedelsordinationer. Kontakt togs också med Läkemedelsverkets experter (N. Feltelius och B. Ljungberg) för klarläggande angående Trombyl® och FASS-uppgift om kontraindikation vid $GFR < 30 \text{ ml/min}$.

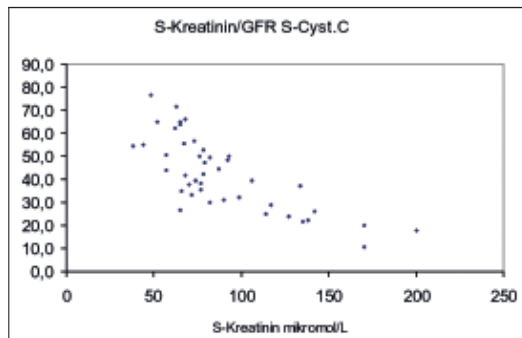
(Fortsätter side 38)



Figur 1. Korrelation mellan S-Cystatin C mg/L och Iohexolclearance mL/min/1,73 kvm kroppsyt på 49 patienter.

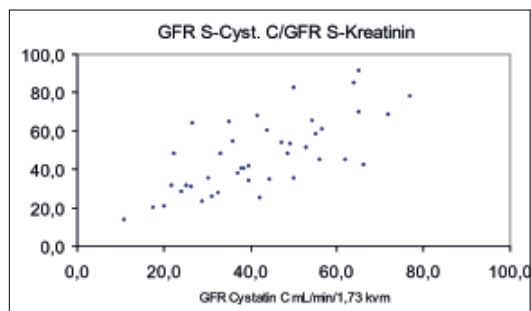


Figur 2 Jämförelse mellan GFR beräknad med 2 formler mot Iohexolclearance.



Figur 3. Samband mellan S-Kreatinin och beräknad glomerulär filtrationshastighet (GFR) från S-Cystatin C (n=50).

(Fortsat fra side 37)



Figur 4. Korrelation mellan GFRS-kreatinin beräknad med Cockcroft-Gaults ekvation och GFRS-cystatin C (n=42).

Resultat

Av 59 boende ville 51 medverka i studien. Tre patienter föll bort, två p.g.a. inaktuell läkemedelslista och en p.g.a. svårigheter att ta prov. Av de återstående 48 personerna var 31 kvinnor och 17 män. Sex av de boende gick av praktiska skäl inte att väga, på dessa gick inte GFR att räkna ut från S-kreatinin. Deskriptiva data på inkluderade patienter återfinns i Tabell 1.

Jämförelse mellan S-Kreatinin och S-Cystatin C

Njurfunktionen mätt med S-Kreatinin överensstämde dåligt med GFR uträknat från S-Cystatin C (Figur 3). En stor del av patienterna med GFR < 40 mL/min/1,73 kvm kroppsyta hade ett normalt S-Kreatinin.

Om man räknar om S-Kreatinin till GFR enl.

Cockcroft-Gaults formel blev överensstämmelsen bättre. Korrelationen mellan GFR beräknat med hjälp av S-Kreatinin och GFR från S-Cystatin C var 0,71 (Figur 4).

Läkemedelsbehandling

Ett antal teoretiskt olämpliga läkemedelsordinationer konstaterades (Tabell 2), totalt 29 olika läkemedelsordinationer till 19 patienter inom 8 läkemedelsgrupper. Av dessa hade 15 patienter läkemedel som borde undvikits och 4 hade läkemedel där dosen borde reducerats. Utöver detta fanns 14 läkemedelsordinationer inom 5 läkemedelsgrupper till ytterligare 6 patienter där nedsatt njurfunktion var ett observandum. Sammanlagt 26 patienter av 48 var alltså berörda av teoretiskt olämpliga läkemedelsordinationer.

De teoretiskt olämpliga läkemedelsordinationerna granskades av en njurläkare och en oberoende distriktsläkare. Man fann därvid att flertalet av dessa inte hade någon praktisk klinisk betydelse. Hos 8 patienter fanns olämpliga läkemedelsordinationer som bedömdes ha praktisk betydelse. Teoretiskt olämpliga men praktiskt användbara läkemedelsordinationer var t.ex. vanliga läkemedel som T. Trombyl® 75mgx1 och T. Selexid® 200mgx2.

Diskussion

I denna studie framkommer att endast 8 av 48 boende hade GFR >60 ml/min/1,73 kvm kroppsyta (normal eller lätt nedsatt njurfunktion) beräknat via S-Cystatin

Tabell 1. Data på patientpopulationen.

(Fortsätter side 40)

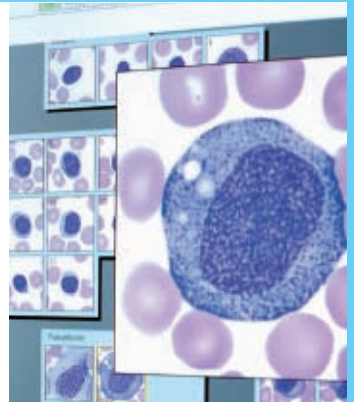
Parameter	Enhet	Män	Kvinnor	Total
N		17	31	48
Ålder	år	83,5±9	85,2±5	84,6±6
Vikt*	kg	69,8±17	60±16	63,7±17
S-kreatinin	µmol/L	93,7±40	82,2±32	86,3±35
S-cystatin C	mg/L	1,44±0,39	1,48±0,42	1,47±0,41
GFR kreat. (CG)	mL/min	59,3±45	37,4±23	45,1±33
GFR cyst. C **	mL/min/1,73 kvm	43,7±18	40,7±14	41,8±15
Regelbundet tagna läkemedel***	antal	7,8	7,2	7,4

Värdena angivna som medelvärde ± en standardavvikelse. * N=42, CG = Cockcroft-Gault, ** = GFR_{Cystatin C} = 69,378 x Cyst. C (mg/L)^{-1,6605}, ***Utvärtes läkemedel ej medräknade.

You can't do this on a microscope ...

... but you can do it on the **CellaVision® DM96**.

It automatically locates and pre-classifies blood cells in peripheral blood and body fluids—and it allows slides to be reviewed from any location on your network.



NEW

Body Fluids

Now body fluids can be analyzed on the CellaVision DM96 using a standard cytopspin preparation, simplifying one of your lab's most difficult procedures.

Peripheral Blood

Standardize blood film review and make more efficient use of experienced morphologists' time. Viewing pre-classified and sorted cells allows fast confirmation of the CBC analyzer's results.

More news

Digitize an entire slide or a desired sample area of interesting specimens within hematology, pathology and cytology. Save areas of interest, annotate and send over the network.

CELLAVISION



(Fortsat fra side 38)

Tabell 2. Läkemedelsordinationer som bedömdes vara olämpliga, 29 ordinationer till totalt 19 patienter.

Aktuella läkemedel	Antal ord	Rekommendation enligt FASS	Rekommendation enl. LB
Brufen®/Diklofenak	3	KI vid GFR<30 ml/min	*(uu)
Enalapril	3	DR och/eller FI	**
Glibenklamid	3	KI vid allvarlig njurinsuff.	uu
Kalium	2	KI vid njurinsuff.	
Normorix®/Sparkal®	3	Varning vid nedsatt njurfunk.	uu
Spironolakton	4	Varning vid nedsatt njurfunk.	**uu
Tradolan®/Tramadol	4	FI	**u
Trombyl®	7	KI vid GFR <30 ml/min	uu, plasmakonc. bör följas vid små doser under längre tid
Totalt	29		

KI = kontraindicerat, DR = dosreduktion, FI = förlängt doseringsintervall

* = dosreduktion först vid grav njurinsufficiens (kreatininclearance <10 ml/min)

** = dosreduktion vid måttlig till grav njurinsuff. (10-50 ml/min)

u = undviks vid grav njurinsuff., uu = undviks vid måttlig och grav njurinsuff.

() = motstridiga eller ofullständiga uppgifter i litteraturen.

C medan 35 av 48 hade normalt S-Kreatinin (kvinnor 50-90, män 60-100 $\mu\text{mol/L}$, enligt NORIP, 2004. Beräknat med Cockcroft-Gaults ekvation hade 70 % av patienterna måttligt till gravt nedsatt njurfunktion jämfört med 84 % beräknat med S-Cystatin C. Om man utgår från njurfunktionen enligt S-Cystatin C



Foto: Henrik Alfthan. Reykjavik.

hade hälften av patienterna minst en läkemedelsordination som var teoretiskt olämplig medan olämpliga läkemedelsordinationer av praktisk betydelse fanns hos 17% (8 personer).

Flertalet patienter på ett äldreboende har nedsatt njurfunktion. Detta åskådliggörs dåligt om man endast utgår från S-Kreatinin, som i de flesta fall är normalt eller endast lätt förhöjt. Om Cockcroft-Gaults ekvation användes rutinmässigt (inklusive vägning och mätning av patienterna) för omräkning till GFR hade flertalet patienter med nedsatt njurfunktion identifierats. Analys av S-Cystatin C anses speciellt värdefull på äldre personer eftersom S-Kreatinin då är mindre tillförlitligt, men S-Cystatin C har hittills fått begränsad spridning. Att S-Kreatinin ger ett dåligt mått på njurfunktionen jämfört med S-Cystatin C framgår också i andra studier [7,8].

Ett byte från S-Kreatinin till S-Cystatin C har diskuterats. Motståndet har främst handlat om kostnader, eftersom S-Cystatin C kostar 3 gånger mer än S-Kreatinin (12 respektive 37 kronor år 2005 i Jönköpings län). Båda metoderna har felkällor. S-Kreatinin påverkas främst av förändrad muskelmassa, normalt åldrande och malnutrition. Felkällorna vid bestämningen av njurfunktion hos äldre med

S-Cystatin C är analysberoende. Även förekomst av autoantikroppar eller heterofila antikroppar kan interferera med Cystatin C metoden och leda till falska höga eller låga analysresultat. Vid normala värden för S-Cystatin C (0,63 och 1,44 mg/L) är spridningen (+2 SD) 0,10-0,14, vilket motsvarar en felmarginal i GFR på \pm 6-8 ml.

Utifrån Cystatin C i mg/L kan en kroppsytенormaliserat (relativt) GFR i enheten ml/min/1.73 kvm kroppsytа estimeras. Vid nedsatt njurfunktion är felmarginalen betydligt mindre. Sammantaget skulle felkällorna vid bedömning av njurfunktionen minska betydligt om S-Cystatin C användes på de grupper där S-Kreatinin har klara brister, t.ex. äldre.

S-Cystatin C har utvärderats som rutin analys vid utredning av njurfunktion hos äldre i Jönköping. Sedan december 2006 levereras även beräknad, kroppsytенormaliserad GFR och vidare omräkning till absolut GFR kan utföras via Laboratoriemedicins hemsida. Användningen av S-Cystatin C har ökat även på barn och vuxna njurpatienter. Iohexolclearance och Krom- EDTA clearance minskar stadigt.

Studien på äldre boendet i Jönköping visade att nya metoder som kan förbättra diagnostiken och komplettera gamla metoder kan introduceras i kliniskt arbete. Studien visade också att klinisk kemi har en viktig roll i vårdkedjan och måste fungera i nära samarbete med vårdgivarna. En nära dialog med övriga värden hjälper till att öka förståelsen för bättre och rätt användning av både befintliga och nyutvecklade analysmetoder för patientens bästa.

Slutsats

Resultaten från denna studie talar för att S-Cystatin C bör användas som rutinmetod för att spegla njurfunktionen hos äldre personer, även om detta medför något högre analyskostnader.

Referenser

1. The Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) of the National Kidney Foundation (www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines.cfm), 2005.
2. Levey AS, Bosch JP, Breyer Lewis J et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine:

A new prediction equation. *Ann Intern Med* 1999;130(6):461-70.

3. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martínez-Brú C, Grubb A. Review. Cystatin C as a marker of GFR - history, indications, and future research. *Clin Biochem* 2005;38(1):1-8.
4. Wasén E, Isoaho R, Mattila K et al. Estimation of glomerular filtration rate in the elderly: a comparison of creatinine-based formulae with serum cystatin C. *J Intern Med*, 2004;256:70-8.
5. Larsson A, Malm J, Grubb A et al. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64:25-30.
6. Socialstyrelsen. Kvaliteten i äldres läkemedelsanvändning. En tillämpning av kvalitetsindikatorer för analys av läkemedelsanvändningen hos äldre med dosexpedition på kommunala äldreboenden i ett svenskt län. Källa-projektet, 2004.
7. Burkhardt H, Bojarsky G, Gladisch R. Diagnostic efficiency of cystatin C and serum creatinine as markers of reduced glomerular filtration rate in the elderly. *Clin Chem Lab Med* 2002;40(11):1135-8.
8. Burkhardt H, Bojarsky G, Gretz N et al. Creatinine clearance, Cockcroft-Gault formula and cystatin C: Estimators of true glomerular filtration rate in the elderly? *Gerontology* 2002;48:140-6.
9. Aurell M, Frennby B, Sterner G, Sixt R, Christensen A. Glomerulär filtration- främsta måttet på njurfunktion. *Läkartidningen* Nr 38; 2002; volym 99:3686-94
10. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G, Christensson A. Simple Cystatin C-based Prediction Equation for Glomerular Filtration Rate Compared with the Modification of Diet in Renal Disease Prediction Equation for Adults and the Schwartz and Counahan-Barratt Prediction Equations for Children. *Clinical Chemistry* 51:8 1420-1431 (2005).

Biomedicum Helsinki

Olli Jänne

E-post: olli.janne@helsinki.fi

Biomedicum Helsinki -centret, som på ett unikt sätt kombinerar universitetets medicinska grundforskning med universitetssjukhusets kliniska forskning har visat sig vara en lyckad satsning. Tack vare ett brett forskningssamarbete har man i Mejlans i Helsingfors lyckats skapa ett högklassig internationellt medicinskt campus, som kommer att kunna svara på hälsovårdens framtida utmaningar. Forsknings- och undervisningscentret satsar också på en effektivisering av interaktionen mellan universitetet och det omgivande samhället, speciellt industrin.

Tillbyggnaden av Biomedicum under åren 2005-2007 kommer att erbjuda lokaler också för företagsverksamhet. Utvidgningens mål är ett allt intensivare samarbete och interaktion mellan campusområdets forsknings- och undervisnings- samt företagsverksamheten.

I Biomedicum Helsinki arbetar över 1300 forskare, forskarstuderande, forsknings- och undervisningsassistenter. Omkring 300 heltidsstuderande tar del av Helsingfors universitets medicinska och odontologiska grundundervisning i Biomedicum.

Byggnadens undervisnings- och möteslokaler används också till kommersiell utbildning, seminarier, symposier och kongresser. Faculty Club, som med sin bastu fungerar som universitetets representationslokal, erbjuder också utmärkta möjligheter för interaktivt umgänge för de anställda samt för olika tillställningar.

Forsknings- och undervisningscentret Biomedicum Helsinki ägs av Fastighets Ab Biomedicum Helsinki, vars delägare är Helsingfors universitet, Samkommunen Helsingfors och Nylands sjukvårdsdistrikt, Senatsfastigheter, Alfred Kordelins allmänna utvecklings- och bildningsfond, Folkhälsans forskningsstiftelse – Kansanterveyden tutkimussäätiö r.s., Jenny och Antti Wihuris fond, Löntagarstiftelsen och Biomedicum Helsinki -stiftelsen. Småägare är Helsingfors stad, Esbo stad och Vanda stad, GE Healthcare, Leiras Oyj, Orion-yhtymä Oyj, Santen Oy, AstraZeneca Oy och Suomen MSD Oy.

Biomedicum Helsinki -stiftelsen koordinerar

forsknings- och undervisningscentrets funktioner. Stiftelsens ombudsman är en professor vid medicinska fakulteten som verkar som direktör för Biomedicum Helsinki.

Biomedicum Helsinki -stiftelsen upprätthåller och främjar forskningen inom klinisk medicin och andra hälsovårdsvetenskaper på universitetsnivå bl.a. genom att bevilja stipendier. Stiftelsens förvaltningsorgan är styrelsen och förvaltningsrådet. Rådets ledamöter utnämns av Helsingfors och Nylands Sjukvårdsdistrikts (HNS) styrelse, Helsingfors universitets rektor, styrelsen för Fastighets Ab Biomedicum Helsinki och Folkhälsoinstitutet. Till förvaltningsrådets viktigaste uppgifter hör att utse ett vetenskapligt råd som med bestämda mellanrum utvärderar centrets forskningsverksamhet.

Biomedicum Helsinki -stiftelsen äger Institutet för klinisk forskning HUICS Ab, som fungerar som Biomedicums serviceföretag.

Institutet för klinisk forskning HUICS Ab utvecklar och upprätthåller både de gemensamma tjänsterna vid Biomedicum och tjänsterna i anslutning till produktifieringen och kommersialiseringen av den medicinska forskningen. Företaget svarar också inom Helsingfors och Nylands sjukvårdsdistrikt för förbättringen av förutsättningarna för den kliniska läkemedelsforskningen och för förvaltningen av forskningen.

Gemensam forskningsservice

I Biomedicum Helsingfors verkar ett flertal enheter som producerar forskningsservice. Forskningsservicen är avsedd främst för forskningsgrupper som är verkamma i Mejlans men kan också användas och köpas av institutioner, forskningsgrupper och företag utanför campuset.

Där erbjuds bl.a. service i anslutning till bioinformatik, upprätthållandet av cDNA- och RNAi-bibliotek, utbildningar, cell- och proteinproduktion, finansiering samt utnyttjandet av forskningsresultat.

FORSKNINGSORGANISATIONER

Helsingfors universitet

Biomedicum Helsinki utgör en central del av Helsingfors universitets campus i Mejls, där det har skapats förutsättningar för medicinsk forskning och undervisning på toppnivå.

Samarbetet mellan grundforskarna och de kliniska forskarna upprätthålls inom ramen för olika forskningsprogram, som på basis av en utomstående bedömning väljs ut för fem år och utvärderas med bestämda mellanrum. Inom forskningsprogrammen verkar forskare från olika enheter vid Helsingfors universitet, HNS, Folkhälsoinstitutet och Folkhälsan. Dessutom verkar också flera av Finlands Akademis spetsenheter som en del av programmen vid Biomedicum. Under den första femårsperioden har programmen visat sig vara framgångsrika och forskningen inom dem representerar toppen av den finländska medicinska forskningen.

Vid Biomedicum verkar olika institutioner och andra funktioner vid Helsingfors universitets medicinska fakultet samt fristående institutioner vid universitetet.

Vid Biomedicum tillgodoses på ett utmärkt sätt medicin och odontologi studerandenas behov genom högklassiga, moderna undervisnings- och möteslokaler samt genom närheten till Centralbiblioteket för Hälsovetenskap och till Helsingforsregionens universitetscentralsjukhus

Helsingforsregionens universitetscentralsjukhus

Helsingforsregionens universitetscentralsjukhus (HUCS), som hör till Samkommunen Helsingfors och Nylands sjukvårdsdistrikt, svarar tillsammans med Helsingfors universitet för utbildningen av läkare och tandläkare i huvudstadsregionen. Den medicinska grundundervisningen vid Biomedicum har gett goda förutsättningar för genomförandet av ett studieprogram som baserar sig på en ny problembaserad inläring. Dessutom har specialläkarutbildningen och den vetenskapliga påbyggnadsutbildningen effektiviserats i och med att patientvården och den kliniska forskningen samt grundforskningen har knutits ihop.

Vid Biomedicum Helsingfors arbetar över 200 forskare vid HUCS i flera olika vetenskapliga projekt, som HNS:s forskningskommission har valt ut på basis av konkurrensutsättning. Inom projekten forskas det bl.a. i mekanismerna bakom uppkomsten av ämnesomsättningsjukdomarna, hjärnsjukdomarna, cancer- och blodomloppssjukdomarna samt utvecklas nya diagnostiska metoder.

Folkhälsans forskningscentrum

Folkhälsans forskningscentrum svarar för den forskningsverksamhet som lyder under Samfundet Folkhälsan i Svenska Finland rf. och Folkhälsans forskningsstiftelse. Centrets biomedicinska forskning är koncentrerad till Biomedicum Helsingfors, där Folkhälsans genetiska institut samt dess institut för preventiv medicin, nutrition och cancer är verk-samma. Vid den molekylärgenetiska avdelningen vid Folkhälsans genetiska institut forskas det i flera genetiska sjukdomars molekylära bakgrund och hur de uppkommer.

Folkhälsoinstitutet

Avdelningen för molekylär medicin

Avdelningen för molekylärmedicin vid Folkhälsoinstitutet utför genetisk, biokemisk och cellbiologisk forskning kring de allmänna folksjukdomarna. Forskningen har som mål att klarlägga folksjukdomarnas genetiska bakgrund och sjukdomarnas molekylärpatogenes genom att utnyttja den finländska befolkningens särdrag och av särskilda material som institutet samlat in, samt att utveckla diagnostiska och interventionsstrategier. Forskningens viktigaste

(Fortsätter side 44)



(Fortsat fra side 43)

tyngdpunktsområden är hjärt- och kärlsjukdomar, det metaboliska syndromet, neuropsykiatriska sjukdomar samt det finländska sjukdomsarvets sjukdomar.

I Biomedicum är följande enheter vid avdelningen för molekylär medicin forskningsenheten för genetisk epidemiologi, enheten för hjärt- och kärlsjukdomarnas molekylärbiologi, forskningsenheten för det finländska sjukdomsarvet, enheten för bioinformatik och enheten för bioteknologi.

Genomforskningens snabba genombrott har fört fram stora informationsmassor och massundersökningsmetoder, som baserar sig på hela genomets användning har kommit till hands för forskarna. Avdelningen satsar i synnerhet på utveckling av biokalkyler och kunnandet av analysmetoder för hela genom. Detta stimuleras av storprojektet GenomEUtwin (www.genomeutwin.org) som finansieras av EU och koordineras av Folkhälsoinstitutet. Vid avdelningen verkar också Finlands Akademis spetsenhet för sjukdomsgenforskning. Dessutom koordinerar avdelningen en Nordisk spetsenhet för forskning i sjukdomsgener. För att garantera en kompetens på toppnivå inom den genetiska, biokemiska och cellbiologiska forskningen har vi byggt upp en infrastruktur, med vars hjälp infor-

mationen av hela genomets utnyttjas för klarläggning av sjukdomsmekanismerna. Avdelningen för molekylärmedicin har systematiskt investerat i utbyggnad av forskningens stödfunktioner vid Biomedicums olika kompetenscentra.

Medicinska forskningsinstitutet Minerva

Medicinska forskningsinstitutet Minerva är ett privat forskningslaboratorium som upprätthålls av Minervastiftelsen. Vid institutet arbetar sammanlagt ca 35 forskare, disputerande och assisterande personal. Forskningen strävar efter att klarlägga hur mekanismerna bakom medicinskt betydelsefulla sjukdomar såsom hjärt- och kärlsjukdomar, diabetes och nervsystemets sjukdomar uppkommer och deras vårdmöjligheter genom att utnyttja kliniska och prekliniska forskningsmetoder.

MediCel Ab

MediCel Ab är ett innovativt företag inom systembiologin och biomedicinen. Det är grundat år 2001. Det utvecklar och utnyttjar på bred bas systembiologins in silico-metoder och våtlaboratoriets kapacitet för utveckling av biotekniska och terapeutiska molekyler.



Mobidiag Ab

Mobidiag utvecklar snabba och lätt användbara biochips för diagnostik av allmänna infektionssjukdomar och för identifiering av antibiotikaresistenta bakteriefloror. Företagets första produkter har utvecklats för diagnostik av sepsis och infektioner i andningsvägarna. Förutom identifiering av mikrober möjliggör den teknologi som Mobidiag utnyttjar DNA-replikation i biochipset.

ANDRA ORGANISATIONER

City-Lab Ab

City-Lab Ab betjänar Biomedicum och institutionerna i närområdena i frågor som gäller anskaffning av reagenser och laboratorieutrustning i samarbete med högklassiga företag inom biobranschen. De mest använda produkterna kan man få direkt från våra hyllor. City-Lab ger råd i beställningsfrågor, tar emot produkterna och förvarar dem korrekt, tills kunden avhämtar sin vara.

Ravioli

Ravioli handhar all restaurangservice vid Biomedicum Helsingfors. Restaurangen bjuder under vardagar på lunch och ordnar enligt kundernas önskemål måltider och kaffe i samband med olika tillställningar som ordnas vid Biomedicum.

Tamro MedLab Ab

Tamro MedLab -försäljningsstället fungerar som service- och avhämtningsplats för de produkter som används inom forskningsarbetet LifeScience. Kundbetjäningen och den lokala försäljaren svarar för alla ärenden i anslutning till kundkontaktarna. Avhämtningsplatsens urval utvecklas enligt kundernas önskemål.

Universitetsbokhandeln

Universitetsbokhandeln i Mejlans säljer inhemsk och utländsk medicinsk kurs- och facklitteratur, även behändigt via beställningstjänsten. Bland urvalet finns också ordböcker, fickböcker och naturligtvis pappers- och kontorstillbehör.

Universitetstryckeriet

Universitetstryckeriet erbjuder institutionerna, företagen och de studerande vid Biomedicum och närområdena kopior och färgprint, postr, kopieringskort, olika duplikat, inbindning, pärmar, utskrifter a transparanger och dekaler. De utör också andra tyckeritjänster

Mera information

Biomedicum Helsinki
www.biomedicum.fi

Institutet för klinisk forskning HUCS Ab
www.hyksinstituutti.fi

FORSKNINGSORGANISATIONER

Helsingfors universitet
www.helsinki.fi

Helsingforsregionens universitetscentralsjukhus
www.hus.fi

Folkhälsans forskningscentrum
www.folkhalsan.fi

Folkhälsoinstitutet
www.ktl.fi

Medicinska forskningsinstitutet Minerva
www.helsinki.fi/minerva

MediCel Ab
www.medicel.com

Mobidiag Ab
www.mobidiag.com

ANDRA ORGANISATIONER

City-Lab Ab
www.city-lab.fi

Ravioli
www.ravioli.fi

Tamro MedLab Ab
www.tamromedlab.com

Universitetsbokhandeln
www.yliopistokirja.fi

Universitetstryckeriet
www.yliopistopaino.fi

Easily Applicable Myoglobin Method on the Konelab™ Analyzer

Ilkka M. Penttilä¹, Kari Savolainen², Hannu Lampinen³, Jouko Lukkarinen³

¹*Kuopio Research Institute of Exercise Medicine, Kuopio, Finland*

²*Laboratory Centre, Kuopio University Hospital, Kuopio, Finland*

³*Thermo Fisher Scientific Co., Vantaa, Finland*

E-post: *ilkka.penttila@pp.inet.fi*

Abstract

The new easy particle-enhanced immunoturbidimetric method from Thermo Fisher Scientific for measuring myoglobin seems to be well suited to daily clinical use with Konelab-family automated chemistry analyzers, or with other analyzers allowing the use of user-defined applications and non-system reagents.

Introduction

Myoglobin, with a molecular weight of 17.8 kD, is an oxygen-binding protein located in skeletal and cardiac muscle tissues. Myoglobin is rapidly released into the bloodstream in various types of tissue injury, including myocardial infarction. The change in myoglobin concentration in the blood can be used as a marker for various tissue and organ injuries, and also as a rapid, non-specific cardiac marker to exclude myocardial damage, together with more specific cardiac proteins with elevated concentrations later on after the injury [1].

The purpose of this study was to evaluate the new particle-enhanced immunoturbidimetric method of myoglobin in Konelab™ analysers, and the evaluation was conducted on a Konelab™ 20XTi analyzer produced by Thermo Fisher Scientific. This instrument is widely used in small clinical laboratories. Results obtained from surplus human plasma samples were compared to another commercial electrochemiluminescence assay of myoglobin at normal and elevated concentrations of myoglobin.

The preliminary results were presented at the XXX Nordic Congress of Clinical Chemistry in Copenhagen, Denmark 14-17 June 2006.

Materials and Methods

Instruments

Konelab™ 20XTi Clinical chemistry analyzer (Thermo Fisher Scientific Oy, Vantaa, Finland [2]) and Roche Elecsys® 2010 Immunoassay analyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) [3].

Reagents

Konelab™ Myoglobin reagent (cat # 981 847)

Konelab™ Myoglobin Calibration Set (cat # 981 849).

Konelab™ Myoglobin Control Low (cat # 981 847) and High (cat # 981 847).

Roche Myoglobin STAT reagent (cat # 11820788122)

Roche Myoglobin STAT Cal Set (cat # 11820893122)

Roche PreciControl Cardiac (cat # 03530477190)

Application

The application is based on a latex particle-enhanced immunoturbidimetric measurement using polyclonal anti-myoglobin antibody. The application starts with the incubation of the reagent buffer and sample (10 µl) for 300 s, followed by a blank measurement and addition of the antiserum. The antigen-antibody reaction takes place during an incubation of 600 s, after which an end-point measurement is done at 700 nm.

Results are calculated using a calibration curve based on 0.9% NaCl and four separate product-specific calibrators between 65 and 520 µg/l with the measuring range of 40 - 520 µg/l [2]. No interference to myoglobin values with bilirubin is found

up to 1,000 µmol/l, with hemoglobin up to 1 g/l, of triglycerides up to 2.3 mmol/l and with ascorbic acid up to 1,700 µmol/l [2]. Since there are no common international reference materials for myoglobin, the calibrators are standardized against in-house and commercially available reference materials [4].

Samples

EDTA-plasma routine patient samples and Konelab™ Myoglobin Control sera Low and High were used as sample materials for the study. The surplus patient plasma samples were collected based on their CK-MBmass and troponin T values [3].

Results

The detection and determination limits of the Konelab™ myoglobin application were 6.4 µg/l and 12.8 µg/l, respectively. They were calculated from 20 replicate measurements of 0.9% NaCl (detection limit: mean+2*SD, determination limit: 2*detection limit).

The linearity of the Konelab™ myoglobin application was determined from a manual dilution series (n=6) of an EDTA-plasma sample with 0.9 % NaCl with an original myoglobin concentration of 488 µg/l, showing good linearity from 488 to 44 µg/l ($Y = 0.9888X + 0.5473$, $r = 0.999$).

The instrument was capable of diluting samples up to 2,600 µg/l and no hook effect was evident with myoglobin concentrations tested up to 10,718 µg/l (with direct measurement 9,760 µg/l). Parallel measurements using 108 plasma samples with myoglobin values up to 488 µg/l showed a mean difference of 0.03 % ($Y = 0.999 * X - 0.078$, $r = 0.999$). The results with control samples at normal and elevated concentrations showed excellent agreement with the expected mean values (values not shown).

Within-run and between-day imprecisions were calculated using NCCLS Document EP5A as a guideline, and control sera and pooled plasma as samples (Table I). Within-run variation was calculated from 24 replicate measurements of control sera and plasma. Between-day variation was calculated from 11 measurements over two weeks. The total variations of the control samples were 4.11 and 2.14 %, respectively.

The Konelab™ myoglobin application was compared to the Roche Myoglobin Elecsys® STAT-test (Figure 1). 77 samples were within acceptable measuring range (below 154 µg/l with Konelab™) and used for comparison of the methods: Elecsys® = 1.179 * Konelab™ - 1.128, $r = 0.947$.

(Fortsætter side 48)

Table I

The within series and between series variation on the new myoglobin method on a Konelab™ 20XTi analyzer. The analyses have been performed for low and high control lots and six different plasma pools.

Within series of variation (%)					
	Low control	High control	Plasma 1	Plasma 2	Plasma 3
No.	24	24	24	24	24
Mean	64,85	233,21	60,14	88,73	218,3
SD	1,66	2,34	1,97	1,8	2
CV%	2,56	1	3,28	2,03	0,92
Between series of variation (%)					
	Low control	High control	Plasma 4	Plasma 5	Plasma 6
No.	11	11	11	11	11
Mean	60,24	230,3	158,13	217,7	512,2
SD	2,16	4,35	5,36	3,2	9,27
CV%	3,21	1,89	3,39	1,47	1,81

(Fortsat fra side 47)

Discussion

According to our results, the Konelab™ method shows good linearity within the measuring range, which was stated by serially diluting a plasma sample with a myoglobin concentration of 482 µg/l. The instrument was capable of automatic dilution of samples with myoglobin concentration up to 2.600 µg/l and also no hook effect was found with a sample concentration of 10,718 µg/l. Parallel measurements using 108 plasma samples showed very small variation between samples (mean difference 0.03 µg/l). Values using 0.9% NaCl slightly deviated from the zero-point with 6.4 µg/l and the lowest measurement concentration of the method was calculated to be 12.8 µg/l.

The within and between runs of variation were acceptably low (Table I) using 24 and 11 replicate measurement analyses and runs, respectively. Also the results with control samples at normal and elevated concentrations showed excellent agreement with the expected mean values.

The comparison of the results of Konelab™ 20 XTi with the electrochemiluminescence method on a Roche Elecsys® 2010 analyzer showed good agree-

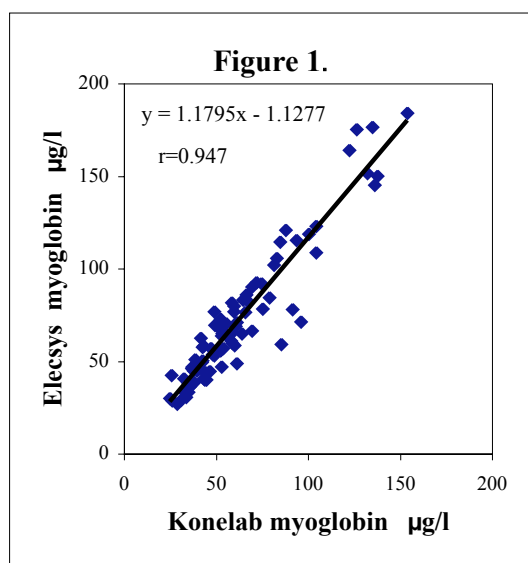


Figure 1

Comparison of the Konelab™ myoglobin method to that of Roche Elecsys® with 77 EDTA-plasma samples from 25 to 154 µg/l.

ment (Figure 1, $r = 0.947$), although there was a small difference between the methods, probably caused by different calibration materials and standardization. Thus, for more uniform results, a common control preparation should be available and used by different manufacturers [4].

Our experiences with the new particle-enhanced immunoturbidimetric method for myoglobin seems to be well suited to daily clinical use with the Konelab™ 20XTi automated chemistry analyzer, or with other analyzers allowing the use of user-defined applications and non-system reagents. However, common international reference material(s) [4] are sorely needed, as shown by many national [5] and international external quality control surveys, to produce more uniform results and to decrease inter-laboratory variation.

References

- [1] Schultz A, Larsen CE, Kristensen SD, Schmidt EB, Astrup G. Serum myoglobin measured by latex agglutination: rapid test for exclusion of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1986;112:609-10.
- [2] Konelab™ Myoglobin, ref. 981847, Thermo Fisher Scientific Corporation, Vantaa, Finland.
- [3] Penttilä K, Koukkunen H, Halinen M, Punnonen K, Pyörälä K, Rantanen T, et al. Serum and plasma samples for selection of cardiac markers in diagnostics of patients with acute chest pain. *Scand J Clin Lab Invest* 2002;62:1-9.
- [4] Panteghini M, Linsinger T, Wu AH, Dati F, Apple FS, Christenson RH, et al. Standardization of immunoassays for measurement of myoglobin in serum. Phase I: evaluation of candidate secondary reference materials. *Clin Chim Acta* 2004;341:65-72.
- [5] Zaninotto M, Sciacovelli L, Pagani F, Panteghini M, Plebani M. External quality assessment for biological markers of myocardial damage: an Italian experience. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:1434-41.



Thermo Scientific Konelab 20, 20XT, PRIME 30 and 60

Thermo Scientific series of clinical chemistry analyzers offer easily adaptable and precise analysis for small and medium sized laboratories which appreciate ease of use and cost-efficiency. The PRIME models 30 and 60 can be interfaced to a sample track system as part of a high-capacity workcell for large laboratories.

- Highly developed analyzers for routine and special chemistries
- Outstanding performance, superior cost-efficiency
- Wide variety of System Reagents
- Now HbA1c analysis from whole blood with automated sample pretreatment

To find out more, visit us at www.thermo.com/konelab



Konelab PRIME 30

Latest model of Konelab with new features

*LABMED 2008, Helsinki, 14 - 18 June,
Thermo Scientific Booth*

Betydelsefull finsk publikation:

Kai Simons, Elina Ikonen. Functional rafts in cell membranes.

Nature 1997: vol 387:569-72.

*Carl G. Gahmberg, Avdelningen för biokemi,
Biovetenskapliga fakulteten, Helsingfors universitet.*

E-post: Carl.Gahmberg@helsinki.fi



Den ovannämnda artikeln är det mest citerade arbetet inom biovetenskaper, skrivet av finländare. Kai Simons, ursprungligen från Helsingfors universitet, var år 1997 då den aktuella artikeln skrevs, i det Europeiska molekylärbiologiska laboratoriet i Heidelberg men är numera chef för Max Planck institutet i

Dresden, och Elina Ikonen är för tillfället professor vid Helsingfors universitet. Artikeln har citerats när detta skrivs (15 maj 2007) 3185 gånger och citeras fortfarande flitigt.

Cellmembraners struktur och funktioner har studerats intensivt sedan 1930-talet och relativt tidigt förstod man att de består av ett dubbelskikt lipider och associerade proteiner. Membranproteinernas läge i membranen och uppbyggnad förblev länge dock dåligt kända, framförallt p.g.a. deras strukturella egenskaper. Speciellt viktigt var utvecklandet av detergent, som kom i analytiskt bruk på 60-talet. De viktigaste detergenterna i detta sammanhang är Triton X-100, som är en relativt mild, icke joniserad detergent, och natrium dodecyl sulfat (SDS), en starkt joniserad detergent. Den förra används ofta då man önskar solubilisera membranproteiner och hålla kvar deras biologiska aktivitet, medan SDS är starkt denaturerande, men har fått stor användning i polyacrylamidylektrofores. Polypeptiders ungefärliga molekylvikt kan enkelt bestämmas med hjälp av den senare.

Singer och Nicolson publicerade 1972 en översiktsartikel i Science (1) över hur membraner är uppbyggda. I denna artikel beskrivs lipiderna vara i ett dubbelskikt och de är relativt jämnt fördelade horisontellt inom det yttre, respektive inre lipidskiktet. De kan röra sig i sitt eget lipidskikt, men sällan

från ett till ett annat. Viktigt var att författarna delade in membranproteinerna i två huvudgrupper, integrala och perifera. De integrala proteinerna går ofta genom membranen, en eller flera gånger, och har hydrofoba sekvenser, medan de perifera är bundna genom jonbindningar till fosfolipiderna eller till de integrala proteinerna. De perifera proteinerna bildar ofta stora makromolekylära komplex i synnerhet på den cytoplasmatiske sidan av membranen. Författarna poängterade också att de integrala proteinerna kan röra sig horisontellt i membranen under fysiologiska förhållanden. Bretscher (2) visade att fosfolipiderna har asymmetrisk distribution med aminofosfolipiderna koncentrerade i det inre skiktet. Sedan visade Gahmberg och Hakomori (3) att glykolipiderna är i plasmamembranens yttre lipidskikt.

Kai Simons har i nästan hela sin vetenskapliga verksamhet studerat cellmembraner, bl.a. modellsystemet Semliki Forest virus, och transporten av integrala proteiner i epitelceller. Elina Ikonen har en bakgrund i medicinsk genetik och har framförallt senare intresserat sig för cellulär kolesteroltransport. Kai Simons är flitigt citerad (> 39 000 gånger).

Forskare inom fysikalisk biokemi har sedan länge fått resultat som tyder på att membranernas lipider inte alltid är jämnt fördelade inom de yttre och inre lipidskikten. Simons och medarbetare, framförallt Gerritt van Meer visade sedan i slutet av 1980-talet att i polariserade MDCK-epitelceller så har den apikala delen en annan lipidsammansättning än den basolaterala. Sålunda är glykolipider, kolesterol och sfingomyelin koncentrerade i den apikala membrandelen.

I det aktuella arbetet som är en översiktsartikel, argumenteras för att membranlipiderna har en ojämn fördelning inom membranhalvorna. I dessa förekommer "flottar" (rafts) av lipider, som består framförallt av glykosfingolipider, kolesterol och sfingomyelin

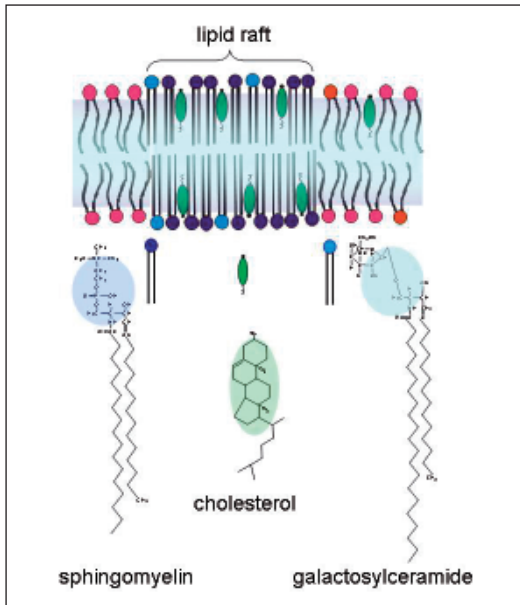


Fig. 1. Uppbyggnaden av lipidflottar (rafts). Observera att membranens tjocklek är större än i omgivande delar av membranen. De viktigaste lipiderna i flottarna i nedre delen av figuren.

(Fig.1). Sådana kan isoleras då man använder Triton X-100 vid 4°C. Då löser sig de andra lipiderna (och de flesta proteinerna) medan makromolekylära komplex av glykosfingolipider-kolesterol-sfingomyelin förblir olösliga. Man talar ofta om DIG (detergent-insoluble, glycolipid-enriched complexes). Glykolipidernas fettsyror är ofta längre än i de flesta fosfolipiderna och i sfingomyelin kan det vara på samma sätt, vilket gör att flottarna är tjockare än andra delar av membranen. Författarna för också fram hypotesen att de integrala membranproteinernas distribution åtminstone delvis beror på dessa flottar. Vissa proteiner är antingen redan i Golgi-apparaten associerade med flottarna eller också har de specifika cytoplasmatiska signalstrukturer som för dem till den basolaterala membranen. Asparaginbundna oligosackarider i de integrala proteinerna kan också ha en lokaliseringsfunktion. Resultat tyder på att flera proteiner som är viktiga för signalöverföring i cellen är koncentrerade till dessa membranflottar. Detta gäller bl.a. cytoplasmatiska tyrosinkinaser såsom lck och fyn i T lymfocyter. De är normalt lösliga proteiner men vid cellaktivering fästs två fettsyror till dessa och via dem binds de till den inre sidan av plasmamembranen.

Proteiner kan också vara bundna till plasmamembranernas yttre lipidskikt via glykosylfosfatidylinositol (GPI) strukturer. Dessa är också preferentiellt belägna i membranflottarna.

Varför har detta arbete blivit så mycket citerat? Det finns säkert flera orsaker. En orsak är naturligtvis publikationsforumet. Nature läses av de flesta forskare inom naturvetenskaper. En annan viktig orsak är att det kom vid rätt tidpunkt då "det låg i luften" att membranerna har en heterogen distribution av sina komponenter i de två skikten. Då dessutom en stor del av den biomedicinska och cellbiologiska forskningen berör membraner och deras beståndsdelar, betyder det att många forskares intressen sammanfaller med artikelns område. Artikeln är också mycket väl skriven och innehåller en imponerande mängd information.

Vi bör dock vara medvetna om att förekomsten av membranflottar i levande celler fortfarande är ett kontroversiellt område. Användningen av detergent påverkar naturligtvis membraner på många och delvis dåligt kända sätt och artefakter är säkert möjliga. Det är säkert rätt att tala om DIG-komplex och sådana förekommer, men är dessa endast något vi åstadkommit artificiellt. Lätt är det inte att påvisa membranflottar på cellulär nivå och många resultat är endast indirekta och tiden får utvisa hur det verkligen förhåller sig. Säkert är dock att denna översiktsartikel och andra senare utkomna arbeten (4,5) har stimulerat membranforskningen, vilket vi forskare får vara tacksamma för.

1. Singer SJ, Nicolson GI. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 1972, 175:720-731
2. Bretscher MS. Asymmetrical lipid bilayer structure for biological membranes. *Nature New Biol.* 1972, 236:11-12
3. Gahmberg CG, Hakomori S. External labeling of cell surface galactose and galactosamine in glycolipid and glycoprotein of human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 1973, 248:4311-4317
4. Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2000, 1:31-39
5. Simons K, Vaz WLC. Model systems, lipid rafts, and cell membranes. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 2004, 33:269-295

IFCC News

Päivi Laitinen

E-post: paivi.h.laitinen@ppshp.fi



The beginning of a new year is the time to look back of the past year; what has happened and what has been accomplished. It is the time to write the annual report of 2007. The past year was a busy year for the IFCC. The two important highlights of the year are the two congresses held during the year. 17th IFCC

- FESCC European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EuroMedlab 2007 in Amsterdam, June 1-3 was also 60th National Congress of the Netherlands Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. The second congress was 11th APCB Congress held in Beijing, Oct 14-19. I have reported of these congresses in my previous columns.

In 2007 IFCC gained one new Full member. The Montenegrin Association of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (MACC) was approved unanimously as a new Full Member by the IFCC membership via a mail ballot. MACC is now the 77th Full Member within the Federation. Palestinian Medical Technology Association was approved as a new Affiliate Member. IFCC also gained three new Corporate Members.

One of the highlights of the year was that a Scandinavian colleague received IFCC recognition for his work. The 2007 IFCC/Abbott Distinguished Award for Contributions in Molecular Diagnostics was presented to Professor Ulf Landegren, from Uppsala, Sweden, during the EuroMedlab 2007 Congress in Amsterdam.

The new HbA_{1c} standardization has been discussed widely during the year. The voting for the new term and measurement unit for HbA_{1c} took place in the beginning of the year and the majority of the IFCC membership approved the proposal of the Working Group. Only two societies of those voted

did not approve the proposal. The Working Group on Standardization of HbA_{1c} published a position paper (CCLM 2007;45(8):1077-1080) and a recommendation for term and measurement unit for HbA_{1c} (CCLM 2007;45(8):1081-1082).

The debate on this issue continued last spring. IFCC contacted the societies dealing with diabetes (American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Diabetes Federation) and invited them for a meeting to discuss this issue more thoroughly. The meeting took place in Milano in May and as a result of this meeting a consensus statement was signed and published in several journals, and it is available on the IFCC website (www.ifcc.org). The consensus statement calls for a worldwide adoption of the new standard reference method. This statement recommends reporting HbA_{1c} results in mmol/mol (SI units) and derived NGSP units (%), using the IFCC-NGSP master equation. There is also the option of reporting an "interpretation" of the HbA_{1c} result as "estimated average glucose" (eAG). These proposals will not only have a significant impact on Laboratory Medicine and Clinical Diabetology, but also on Industry. To discuss these changes with manufacturers of HbA_{1c} assays, IFCC invited companies for a meeting in December 2007. The results of this meeting will be reported later this spring in publications in several journals.

The HbA_{1c} issue has been one of the major topics of Scientific Division (SD) during the year, but standardization efforts on several analytes continue (plasma proteins, cardiac markers, thyroid tests, hCG, growth hormone, PAPP-A, CDT etc). I am very happy that Scandinavian countries are well represented in the SD Committees and Working Groups.

Education is important in our field, especially in developing countries and it is the major area of the duties of the Education and Management Division (EMD). Industry has recognized this and given several grants to IFCC to improve its educational activities.

EMD Visiting Lecturer Program is a program which allows the lecturers, invited by a National Society, to visit a country and give a lecture on a specific topic. Abbott Diagnostics has given a substantial grant to IFCC to expand the Visiting Lecturer Program to developing countries. Roche Diagnostics GmbH has also given a grant to enable persons from developing countries to attend IFCC meetings. Ortho Clinical Diagnostics Inc. (OCD) has given a generous grant to hold biannual specialized meetings at a low registration fee. The first OCD Conference will be held May 18th-19th, Birmingham, UK. The topic of the meeting is Biochemical Markers in Clinical Cardiology: Perspectives from Present to Future. You will find more information of the conference on the website www.ifcc.org.

One of the visions of the present Executive Board is to improve public relations, which is one of the most important duties of Communications and Publications Division (CPD). WHO has reported currently that more than 80% of the diagnoses are based on laboratory tests. All of us in the profession of clinical chemistry have to work with physicians to enable them to understand laboratory's role in the diagnosis and therapies of patients. To accomplish this during the year 2007 IFCC has been working to improve the visibility of laboratory among other medical specialities. For this purpose a joint IFCC-"Labs are Vital™" campaign, sponsored by Abbott Diagnostics Laboratories, was launched during EuroMedlab Congress. IFCC was invited to be a partner in this campaign. The main goal of this campaign is to promote the value of the laboratory professional in the eyes of the health care system and the general public. You will find more detailed information about "Labs are Vital™" on the website (www.labsarevital.com).

Quality of laboratory tests and accreditation are vital for the correct diagnosis and care of the patient. Laboratories have to continuously improve their performance. This can be achieved by training new professionals for the field, by continuous training of those working in the field and by accreditation of laboratories. A new ISO Standard 15189 is being implemented in several countries for the medical laboratories. EMD Committee on Clinical Laboratory Medicine has written a statement, approved by the Executive Board, on the use of the ISO 15189. It states that when accrediting medical laboratories according

to this standard, it has to be ensured that all aspects, important for the quality of service by medical laboratories, and mentioned in the policy statement, are duly covered. You can find this statement on the website (www.ifcc.org).

The past year has been active, exciting and productive. This year is also very busy with the General Conference in Antalya in April, OCD Conference in Birmingham in May and the WorldLab2008 in Fortaleza in September and many other on-going activities. I will keep you updated of these in my future columns.



Foto: Henrik Alfthan. Hallgrímskirkja och Leifur Eiríksson, Reykjavik

OLA makes your life easier

- tailored pre-analysis to fit laboratory workflow

- Intelligent sample sorting to any rack type
- De-capping for selected analysis
- Aliquoting in up to seven additional tubes
- Easy sample tracking
- Automatic archiving
- Unsurpassed speed



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: palle.wang@vgs.region
syddanmark.dk

Finland

Sjukhuskemist Henrik Alfthan
Helsingfors Universitetscentral-
sjukhus, HUSLAB
Kvinnokliniken
Haartmangsgatan 2
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
Telefax: +358 9 471 74806
E-post: henrik.alfthan@hus.fi

Finland

NFKK: Medicinsk direktør
Jarkko Ihalainen
Oy Medix Laboratorier Ab
Knäktbrogränden 1
FIN-02630 Esbo
Telefon: +358 9 5256259
Telefax: +358 9 5256255
E-post:jarkko.ihalainen@medix.fi

Norge

Overlege Tor-Arne Hagve
Avdeling for medisisk biokjemi
Rikshospitalet
N-0027 Oslo
Telefon: +47 2307 1071
Telefax: +47 2307 1080
E-post: tor-arne.hagve@rikshospitalet.no

Sverige

Professor Anders Larsson
Avdelningen för klinisk kemi
Akademiska sjukhuset
S-751 85 Uppsala
Telefon: +46 18 6114271
Telefax: +46 18 552562
E-post: anders.larsson@akademiska.se

Island

Överläkare 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

Sverige

Docent Per Simonsson
Klinisk kemi
Universitetssjukhuset MAS
5205 02 Malmö
Telefon: +46 4033 1459
E-post: per.simonsson@med.lu.se

Til manuskriptforfattere

Bidrag til Klinisk Biokemi i Norden sendes i 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/vancouv.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.

Se også KBN's hjemmeside: www.kkno.org

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 vitenskapelige 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 Linda Hilsted (København), Lennart Friis-Hansen, Päivi Laitinen (Oulu), Jarkko Ihalainen (Helsinki), Isleifur Olafsson (Reykjavik), Ingunn Thorsteinsdottir (Reykjavik), Bjørn Bolann (Bergen), Kristian Bjerve (Trondheim), Per Simonsson (Malmö), Ingvar Rydén.

Ordførende: Jarkko Ihalainen. Sekretærer: Pamela Edgren (Helsinki).

Ready for greater workflow efficiency?

Ready to improve patient care?



Ready for the future?

Siemens Healthcare Diagnostics and Dade Behring have joined together to help you take diagnostic testing to new heights.

Siemens is the industry's first fully integrated diagnostics company. By combining the strengths of Diagnostic Products Corporation, Bayer HealthCare Diagnostics and now Dade Behring, Siemens can offer you the broadest and most capable portfolio of clinical diagnostic solutions available. Today, more than ever, you can count on one partner to streamline your workflow and help you deliver enhanced patient care. It's an extraordinary opportunity, and we're ready:

www.siemens.com/diagnostics

Siemens Healthcare Diagnostics

Answers for life.

SIEMENS