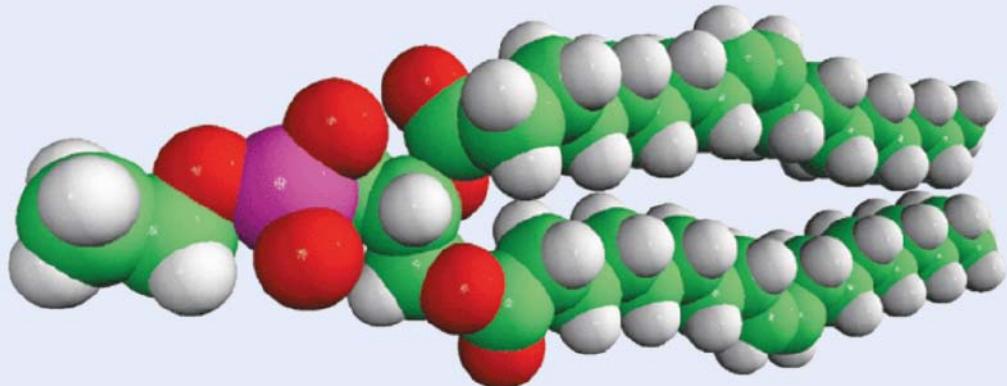


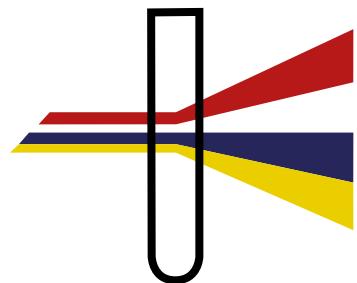
Klinisk Biokemi i Norden

Fosfatidyletanol



1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanol

Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 1, vol. 22, 2010



There's **never** been a **better time** to get into **the game**.

Join the most experienced team in lab automation.

What's true on the playing field is equally true in the field of laboratory automation: You can't win until you're in the game.

With the recent addition of the new AutoMate 1200 and 2500 sample processing systems to Beckman Coulter's winning automation lineup, the time is right to collaborate with the market leader in lab automation. Get off the sideline and score big results no matter what your level of throughput – from low volume to ultra-high.

Focusing solely on the goals of your lab, Beckman Coulter can help you develop a strategy to optimize your workflow, turnaround time and efficiency.

Don't wait to automate. Team up with your Beckman Coulter representative or visit us on the web today.

www.beckmancoulter.com

Blood Bank Testing Immunodiagnostics Centrifugation Molecular Diagnostics Hematology Hemostasis
Chemistry Disease Management Information Systems **Lab Automation** Flow Cytometry Primary Care



Power Processor



AutoMate 600



AutoMate 800



NEW!
AutoMate 1200/2500



NEW!
AutoMate 1250/2550

INDHOLD

Samarbete.....	4
<i>Henrik Alfthan</i>	
Nytt från NFKK.....	6
<i>Jarkko Ihalainen</i>	
Ny enhet för HbA1c i Norden.....	7
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Nytt om Labmed 2010 i Oslo	8
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Resestipendium från Klinisk Biokemi i Norden	9
Fosfatidyletanol – molekyl på villovägar som hittade rätt	10
<i>Christer Alling</i>	
Nye norske anbefalinger for rapportering og tolkning av troponin resultater	24
<i>Kristin M. Aakre, Sverre Landaas og Tor-Arne Hagve</i>	
ProGRP- en lovende tumormarkør for småcellet lungekreft	30
<i>Marianne S. Nordlund</i>	
Barcelona – mer enn Gaudi, tapas og salsa.....	34
<i>Eva Norström</i>	
NORIP og NOBIDA fyller ti år!	36
<i>Johan Bjerner</i>	
IFCC News.....	38
<i>Päivi Laitinen</i>	
Den vandrande vetenskapsmannen: Fadoland	40
<i>Per Simonsson</i>	

ERRATUM:

Klinisk Biokemi i Norden, Nr 4, vol 21, 2009 sid 2 och 8: Författarnamnens ordning skall vara: Trine Holm Johannsen, Jens F. Rehfeld och Lennart Friis-Hansen. Huvudredaktören beklagar korrekturfel!

Forside: Fosfatidyletanol, en molekyl som för sin syntes kräver närvävo av etanol, och som därför kan användas som en biokemisk markör för alkoholmissbruk. (Bild: Christer Alling, Henrik Alfthan)

Samarbete

Henrik Alfthan



Det är inte med stor förtjusning vi år efter år kämpar med sparåtgärder på labbet. Under årens lopp har dock många "snillrika" sätt att hålla näsan ovan vattenytan utvecklats, liksom att lämna tjänster obesatta efter pensioneringar, utlokalisera olönsamma bestämningar samt konsolidering av apparatparken, bara för att nämna några.

Då den gamla gammarräknaren i labbet senaste sommar sade upp kontraktet stod vi inför valet att införskaffa en ny för våra till antalet halva dussinet

radioimmunologiska bestämningar eller att övergå till icke-radioaktiva metoder. Valet föll på det senare alternativet.

Den problematiska analyten i sammanhanget var känsligt estradiol, det vill säga bestämning av de låga koncentrationerna som förekommer i serum hos barn och under postmenopausen. Den ersättande metoden var en fluoroimmunologisk metod men dess analytiska känslighet var inte helt tillfredsställande. Att ta i bruk en icke för ändamålet optimal metod kändes inte som den bästa lösningen. Men, våra händer var bundna. För tillfället kunde vi inte lösgöra den arbetskraft, som skulle ha behövts för att optimera metoden.

Av en tillfällighet fick vi en möjlighet att slå två flugor i en smäll. Vi blev tillfrågade från yrkeshögskolan om vi kunde erbjuda två bioanalytikerstudenter ett bra projekt för deras praktiska laboratoriearbete samt själva också få nyttan av resultaten. För Irene och Maarit gällde det i praktiken att manipulera den inte tillräckligt känsliga estradiolmetoden genom några klassiska och väl beprövade och dokumenterade tekniker: ändring av inkubationstider, ökning av provvolym samt utspädning av den specifika antikroppen.

Själva praktiska utförandet skötte immunanalysatorn galant, därefter började genomgången av resultaten. Efter idogt sökande hittade vi till all lycka gamla Schleicher & Schülls halvlogaritmpapper, annars hade det varit knepigt att göra logit-log-transformationerna av siffervärden och räkna ut detektionsgränsen. Likaså var dessa relikt till ovärderlig hjälp för beräkning av precisionsprofilen och den analytiska känsligheten.

Slutresultatet av några månaders slit med litteraturstudier och praktiskt utförande blev en djupdykning i teori och praktik för Irene och Maarit och för laboratoriet en fungerande estradiolmetod - ett samarbete som gagnade båda parter på bästa sätt.

**Do you trust your team
to keep you on top?**



Laboratory automation delivered by people with their feet on the ground - so you can make it to the top.

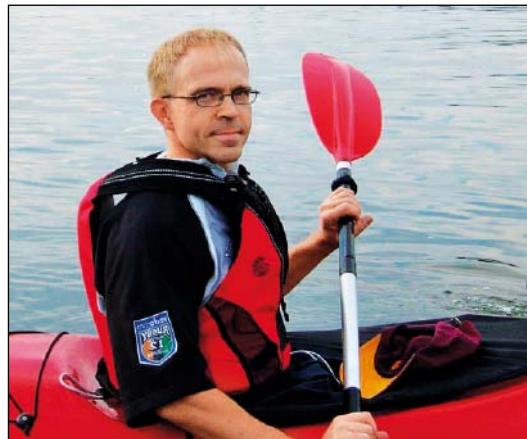
Experts in lab optimization – with over 500 automation installations worldwide, our dedicated consulting team provides fully customized solutions to meet your lab's needs, whatever its size. Contact Siemens today and enjoy the view from the top. www.siemens.com/diagnostics-automation

Answers for life.

SIEMENS

Nytt från NFKK

Jarkko Ihäläinen



Nordiska kongressen i Oslo i början av juni 2010 närmar sig. Styrelsen för NFKK fick vid sitt möte i november blicka in i det vetenskapliga programmet. Vi var imponerade. Det blir säkert en minnesvärd kongress i det nordiska samarbets historia. Vi hoppas vi möter så många kolleger som möjligt där.

Astrup- och Eldjärnpriser kommer att delas ut vid kongressen. Eldjärnpriset, till bästa artikel i SJCLI (Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation), delas ut för första gången! Det mer traditionella Astruppris utdelas till yngre forskare, nu med ny sponsor (Siemens) och förnyad beslutsfattandeprocess. De nationella föreningarna har en aktivare roll i val av priskommittén. Vi får säkert en bra överblick över den vetenskapliga sidan av nordisk klinisk kemi vid de två symposierna. NFKKs styrelsemöte äger också rum i Oslo i samband med nordiska symposier.

Antalet Nordfondansökhan för vetenskapliga projekt blev noll detta år och styrelsen fattade beslut att stödja vetenskapsinriktade sammannordiska kurser i stället. Ansökningstid till kursen för vetenskaplig skrivning är över men nordisk kurs till yngre kliniska kemister kommer att annonseras under våren 2010.

Nätverksorganisationen NFKK:s närvorå på Internet förstärks. Första steget är ny domännamn: i fort-

sättningen kan du hitta NFKK via www.nfkk.org, vid sidan av den gamla adressen.

Ekonomin för NFKK räcker till fortsatt aktivitet i de sista årens omfattning men bufferten mot ekonomiska överraskningar är relativt liten. Styrelsen diskuterade ingrepp för att stödja organisationens fortsätta ekonomisk stabilitet. Några små justeringar beslutades men de påverkar inte medlemmarna på generell nivå.

The NOBIDA biobank still exists at DEKS and is available by application for method development and other professionally valid uses. Some members of the NFKK board reported their positive personal experiences of using NOBIDA samples and background data for e.g. method development. Another heritage from the NORIP is the certified material "X" which can be used, for example to follow long term stability of methods.

The board discussed the possibility and need to evaluate the effect of the NORIP project on a general level in Nordic laboratory medicine. A process level evaluation appears to be challenging to complete but the board decided to contact relevant experts, including key persons from NORIP, and draft a project plan for the next ordinary board meeting which is to take place in Oslo.

One of the main issues at NFKK meetings is the exchange of information on current projects and issues from the national societies. The Danish society is implementing the IFCC HbA_{1c} recommendation, as well as all the others (see separate column in this journal). In addition interesting projects on short names for tests and concentration of specialized analytics to certain laboratories are topics for discussion. In Finland point-of-care recommendations are being finalized and the national society will also make publicity to laboratory work in lines of the IFCC Labs are Vital initiative. Iceland has started to prepare for the Nordic Congress in 2012. The Swedish society is renewing their website in addition to other projects. The Norwegian society focuses on the congress in Oslo.

Lägesrapport inför 2010: Ny enhet för HbA1c i Norden

De nordiska ländernas föreningar jobbar nu med att införa den nya enhet (mmol HbA1c/mol Hb) som rekommenderats internationellt av IFCC. Alla metoder vid sjukhuslaboratorierna och de flesta, men inte alla, patientnära metoder klarar av en övergång. Länderna skiljer sig delvis åt. NFKK kommer därför inte att ge några samnordiska riktlinjer.

Finland

Den nya enheten införs över hela landet 3 mars 2010. Beräknat medelglukosvärde (eAG) kommer inte att lämnas ut. Under en ännu inte beslutat period kommer även den gamla enheten att utnyttjas.

Danmark

Den danska föreningen rekommenderar övergång under slutet av 2009. Både gammal och nya enhet kommer att användas parallellt under en period. eAG kommer att införas.

Sverige

Övergången planeras till september 2010 men exakt datum är inte beslutat. Efter diskussion med kliniska kollegors organisationer kommer inte eAG att rutinmässigt rapporteras.

Norge

En arbetsgrupp bestående av kliniker och kliniska biokemister rekommenderar att fortsätta med att ge ut svaren som % (NGSP) baserat på IFCC:s omräkningsformel. Rekommendationen, som stöds av de norska sällskapen för klinisk biokemi och endokrinologi, skall revideras senast 2012 om många länder går över till nya rutiner.

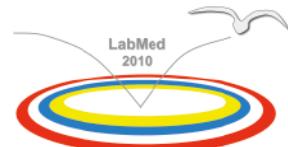
Island

Exakt datum är inte beslutat men övergången sker under 2010. eAG kommer inte att rapporteras.



Foto: Henrik Alfthan, Svalbard, Norge.

Labmed 2010 News Nr. 5



XXXII Nordic Congress in Medical Biochemistry

Facts of today - visions for tomorrow

Oslo, June 1-4 2010

General information

The planning of the scientific program, of the social activities, housing, invitation to sponsors and exhibitors are on the track according to our time schedule.

Find updated information on www.labmed2010.no



"The role of hepcidin in iron metabolism. Clinical aspects".

Dr. Tomas Ganz is professor of medicine and pathology at the UCLA School of Medicine, Los Angeles, USA. He is involved in the graduate program in Molecular and Cellular Pathology. One of his areas of interests concerns the interface between innate immunity and iron metabolism. The lab of Dr. Ganz was among the first ones to describe the acute phase peptide which is now known as hepcidin.

Hepcidin is a 25-amino acid peptide synthesized in the liver in response to excess of iron, and to various cytokines during infection or inflammation. Hepcidin has during the last few years attracted much interest as a systemic iron-regulatory hormone. Hepcidin binds to the iron-exporting protein ferroportin on the cell membrane of iron-storing cells. The ferroportin-hepcidin-complex gets internalized, which then results in less iron being exported out of these cells into the plasma. This results in less iron available for other cells, and it also results in less iron being absorbed from the gut.

It is expected that research on hepcidin will give answers to questions concerning the development

of iron overload and conditions related to iron deficiency or maldistribution.

Dr. Ganz will in his talk *"The role of hepcidin in iron homeostasis and its disorders"* focus on the new developments within this interesting field of research. The other presentations in the symposium will be Outi Itkonen (Helsinki University, Finland): *"Serum hepcidin and iron levels during bone marrow suppression"* and Albena Mihailova (Oslo University, Norway): *"Hepcidin measurements - How far have we come?"*.

Akershus festning og slott

Akershus Fortress and Castle

Akershus Fortress is one of the oldest and finest cultural heritage sites in Norway. The medieval castle was completed in the 1300s. The fortress withstood a number of sieges throughout the ages. In the 1600s the castle was rebuilt into a renaissance castle.

The area is still military and is guarded by HM The King's Guard.

The fortress is very suitable for walks and recreation and offers many points of view over the city centre and the Oslo fjord. It is also possible to visit the Castle Church, the Royal Mausoleum and the magnificent halls. The Norwegian Resistance Museum and The Norwegian Armed Forces museum are located at the fortress.

Resestipendium från Klinisk Biokemi i Norden Å reise er å leve – reis!



Porten till Akershus. (Foto: VisitOSLO / Gunnar Strøm)

Så skriver Eva Norström i sin rapport från månaderna i Barcelona, en kunskapshöjande period, delfinansierad av KBNs resestipendium. Nya diagnostiska metoder inom trombocytologin kan nu införas i Norden.

Nu är det nytt år med nya planer och redaktionen utlyser åter ett resestipendium till klinika kemister

med nyfikenheten i behåll. Stipendiet är på högst 50.000 DKK som skall användas under 2010 - 2011. Målet är att stärka den klinisk kemiska utvecklingen i Norden. Resan kan gå till ett annat land i Norden eller globalt i världen. Kravet är att sökande jobbar på lab i något av de nordiska länderna.

Stipendiet kan tilldelas en eller flera sökanden och skall användas till resa och uppehälle vid utländskt laboratorium för att:

- Lära nya tekniker
- Fortsätta forskningsprojekt vid nytt laboratorium där det finns speciellkompetens
- Skapa kontakter med *Centers of excellence* i utlandet

Ansökningen skall innehålla:

1. En kort beskrivning av målet med resan och uppehället
2. En bekräftelse från värdlaboratoriet att sökanden är välkommen som gätforskare
3. En budget för uppehället.

Det förväntas att stipendiaten skall skriva en artikel i Klinisk Biokemi i Norden om vad som uppnåddes under resan.

Ansökan skall skickas senast 1 juni 2010 till:

Per Simonsson
Klinisk kemi Skåne
Labmedicin Skåne
Universitetssjukhuset MAS
SE-205 02 Malmö
Sverige
e-post: per.simonsson@med.lu.se

*Redaktionen
för Klinisk Biokemi i Norden*

Fosfatidyletanol

– molekyl på villovägar som hittade rätt

Christer Alling, Professor emeritus

Institutionen för laboratoriemedicin, Lunds universitet, Lund

Christer.Alling@med.lu.se



Fosfatidyletanol (PEth efter engelskans phosphatidylethanol) är en fosfolipid som är abnorm i den bemärkelsen att den inte finns hos människor eller djur, förutsatt att de inte intagit etanol. Uppräckten av denna patologiska fosfolipid - dess kemiska struktur, enzymatiska bildning och förekomst hos mänskliga och djur i relation till alkoholexposition - kännetecknas av överraskning, hämförelse, besvikelse, ignorans, felprioritering, slump, otur och djärvhet. Men med envishet och tur så har denna molekyl till slut hamnat i praktisk sjukvård som markör för alkoholmiss bruk. Det är därför som jag vill berätta denna 25-åriga upptäcktsfärd.

Blodlipider och alkohol

Låt oss ta det från början. Som ung amanuens vid Institutionen för Medicinsk Kemi, Göteborgs Universitet på 1960-talet, blev jag sammanförd med en gästforskare från Prag, neurologen Juri Tichy. Han ville fördjupa sig i biologisk psykiatri, främst kolesterolts betydelse för hjärnfunktion. Jag hade börjat experimentera med de då nya lipidkromotografiska teknikerna. De som låg bakom det föreslagna samarbetet var docent Dencker på Lillhagens sjukhus och docent Svennerholm vid Institutionen för Medicinsk Kemi. Lars Svennerholm var också konsultläkare vid kliniskt kemiska laboratorierna vid Lillhagens och S:t Jörgens mentalsjukhus i utkanten av Göteborg.

Efter ett tag så hade Tichy och jag kommit på ett sätt att separera kolesterolstrar i relation till antalet dubbelbindningar i fettsyrorna. Helt överraskande fann vi att alkoholister, i motsats till andra patientkategorier, hade ett avvikande mönster. Vi skrev artikeln med den pretentiösa titeln "Serum-lipids in chronic alcoholics"

och jag skickade in den till Lancet. Döm om vår förväntning när den blev antagen för publicering utan vidare kritik! Det var min första publikation (The Lancet, 5 august, 1967) men aldrig därefter har jag fått in något i en så prestigefylld tidskrift. Nu var bollen i rullning. Fem publikationer rörande alkoholisters fettsyror kom de följande tre åren. Därutöver hade vi mängder av då opublicerade data från djärva experimentella studier på alkoholister. Men mera däröm längre fram.

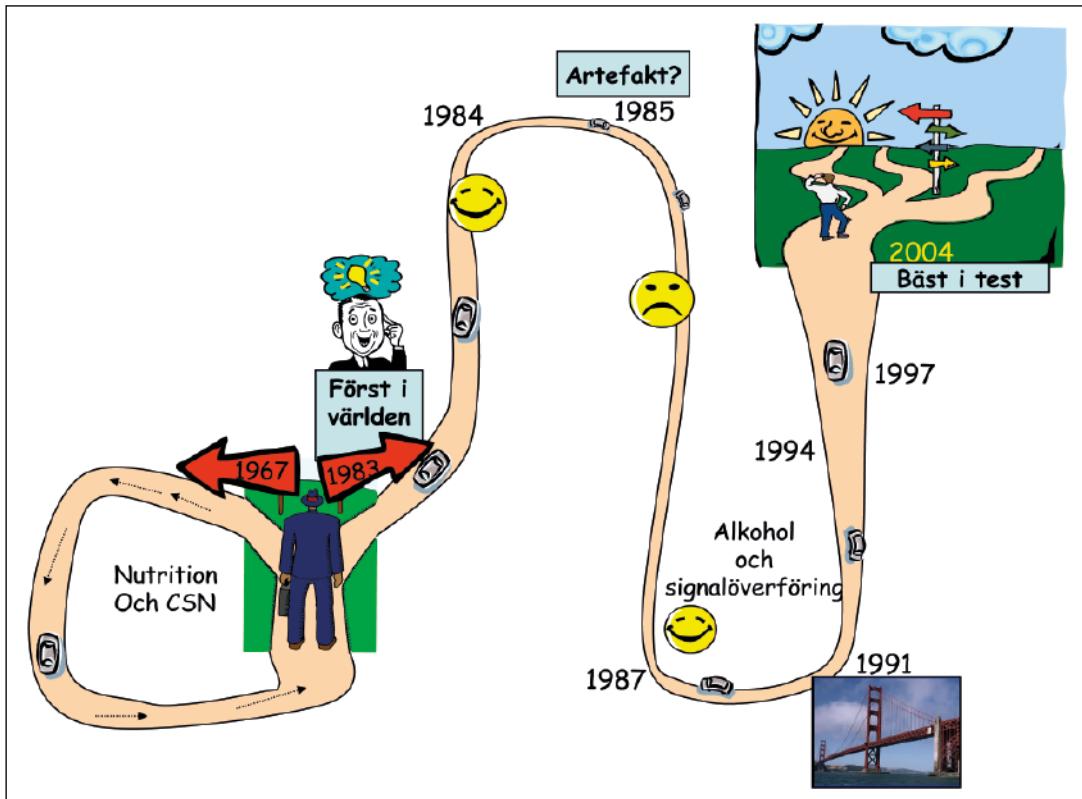
Tenacity och serendipity

För att bli amanuens på 1960-talet vid Institutionen för Medicinsk Kemi i Göteborg krävdes tre saker; att man valde att läsa den "tjocka" läroboken framför den "tunna", att man gjorde ett enskilt arbete och att man klarade tentamen för professor Olle Mellander. Många av lärarna och forskarna kom från Uppsala eller Lund. I Göteborg var byggnaderna för de prekliniska institutionerna färdiga för inflyttningskring 1960 och resurserna för instrumentering verkade gränslösa. Laborator var Stina Stenhammar och hennes make Einar Stenhammar var ett slags extra-professor i biokemi. Han krävde *tenacity* av sina medarbetare och för varje år som jag jobbat med PEth så har det blivit allt mera tydligt vad *tenacity* betyder: målmedvetenhet att hålla fast sin idé.

Vi som ville disputera sprang på alla möjliga seminarier i den långa institutionslängan. På Farmakologen fick man lära sig ett annat uttryck av Arvid Carlsson, *serendipity*, som också kännetecknat PEth forskningen: överraskande upptäckt genom att hitta en sak medan man letar efter något annat.

Forska där pengarna finns

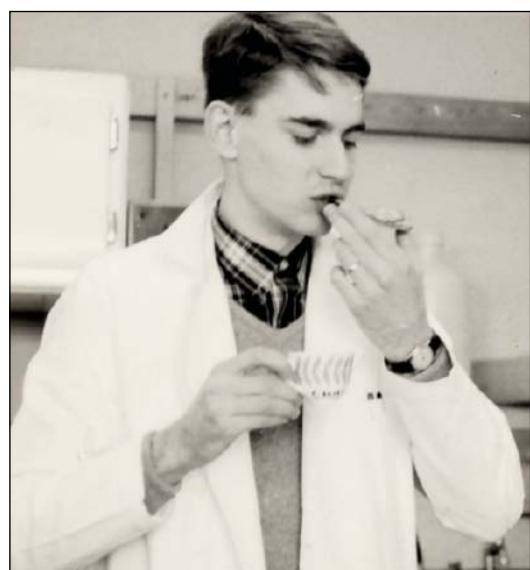
Lars Svennerholm hade många doktorander. Han var karismatisk och befann sig i neurokemins internationella forskningsfront. Han fick Anders Jahres Nordiska



PEth-projekts slingriga väg. Omväg kring undernäring och hjärnutveckling, glädjande framfart under upptäcksfärd av PEth, den smala och sorgliga utförsbacken under slutet av 80-talet, uppehåll i San Fransisco och åter ut på breda vägen mot framgång.
(Bild: Steina Aradottir)

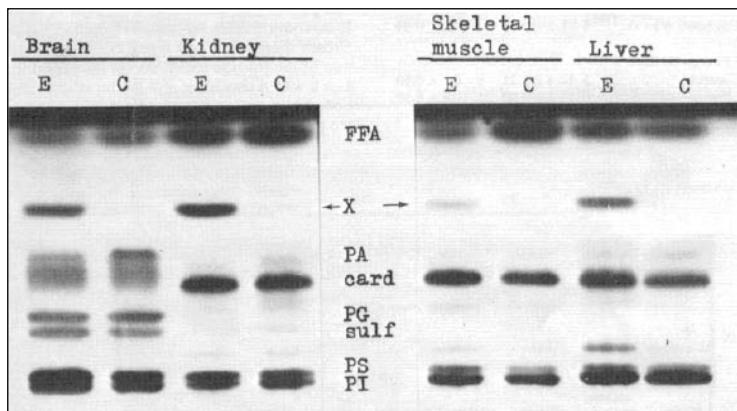
pris i medicin eller fysiologi 1987 för sina upptäckter rörande ärfliga metabola sjukdomar hos barn. Men han var lite lynnig och ibland argsint så många var lite rädda för honom. Men det gick bra för oss doktorander. De som var medicinare blev alla docenter och överläkare vid universitetskliniker och tre av oss blev professorer. Även för naturvetarna hos Svennerholm gick det bra. Civilingenjör Pam Fredman disputerade 1979, gjorde en internationell forskarkarriär och är nu rektor för Göteborgs Universitet.

En dag 1970 blev det plötsligt slut på forskningen rörande alkoholens inverkan på blodlipider. Lars Svennerholm var på en av sina långa utrikes kongressresor och i mitt brevfack kom ett litet ljusblått flygpostbrev från Svennerholm. Innehållet var kärvt. ”Sluta genast med alkoholiststudierna. Du kommer ändå aldrig att kunna tolka resultaten. Det internationella neuroke-



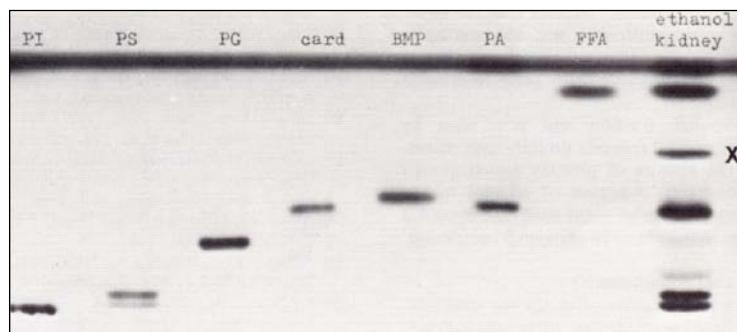
(Fortsätter side 12)

Författaren har fikapaus i laboratoriet 1970.



Första tunnsliktspollan som avslöjade den abnormala fosfolipiden, "Fläcken", hos råttor som alkoholexponerats. Från FEBS Letters 152:24, 1983.

"Vad kan det vara" Kromatografiska retentionförhållanden för fosfolipider med anioniska egenskaper och två fettsyror per fosfatgrupp jämför med den abnormala fosfolipiden (X). Från FEBS Letters 152:24, 1983.



(Fortsat fra side 11)

miska forskarsamhället är helt fokuserat på hjärnutecklingen hos barn som har näringssbrist i U-länder. Starta genast djurexperimentella studier över de essentiella fettsyrornas roll för hjärnuteckling hos råtta. Hälsningars, Lars". Det blev en bra avhandling 1974 och samma år blev jag också docent i neurokemi och specialist i klinisk kemi.

I en tid utan etisk kommitté

Men resultaten från alkoholiststudierna fem år tidigare låg opublicerade och kompletteringar behövdes. Fortsättningen blev alkoholtillförsel till alkoholister, med och utan majsolja, fettvävsbiopsier samt grovnålsbiopsi av levern. Resultaten publicerades 1982 som ett supplement (nr 631) med fyra kapitel i Acta Med Scand och jag betraktar det som min andra doktorsavhandling. Lite *tenacity* alltså.

Upptäckten av "Fläcken"

Sedan kom *serendipity*. I slutet av 1970-talet hade Erik Änggård utnämnts till professor i experimentell alkoholforskning vid Karolinska Institutet. Han kom från

Bergström och Samuelsson och var alltså prostaglandinforskare. Vi fann ganska snart att vi hade besläktade frågeställningar och kompetenser. De essentiella fettsyrorna är ju prekursorer till prostaglandinerna och Änggård och jag ville veta hur alkoholen påverkade våra favoritmolekyler.

År 1983 kom våra publikationer. Alkoholen orsakade en ökning av den renala utsöndringen av prostaglandiner och en minskning av de essentiella fettsyrorna i olika organ. Efter en tids förvaring av råttorganen i en frys på Karolinska Institutet så transporterades de till Göteborg för en mera detaljerad analys av lipidsammansättningen. Det vanliga tillvägagångssättet på den tiden var att göra extraktion av alla lipider, gruppseparera med kromatografi och inspektera de inbördes proportionerna av olika lipidklasser.

En morgon såg vi till vår överraskning och förväntning att alkoholrättarna hade en extra fraktion bland de "sura" fosfolipiderna. Vid publicering benämndes fraktionen "X" men på laboratoriet kallades den alltid "Fläcken".

(Fortsätter side 14)

IDS-iSYS - Our Fully Automated Speciality Analyzer

IDS-iSYS assay menu

Calciotropic Hormones

25-Hydroxy Vitamin D
1,25-Dihydroxy Vitamin D*
Intact PTH*
Bioactive PTH (1-84)*

Growth Disorders

hGH
IGF-I*
IGF-BP3*

Bone Turnover

Serum CrossLaps® (CTX-I)*
Intact PINP
BoneTRAP® (TRACP 5b)*
N-Mid® Osteocalcin
Ostase® BAP*

Hypertension

Renin*
Aldosteron*
* in development

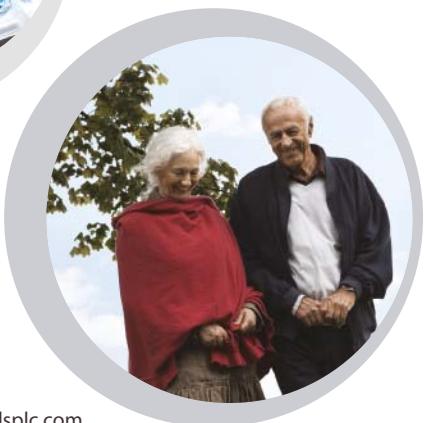
Immunoassays

Bone Markers

25-Hydroxy Vitamin D
1,25-Dihydroxy Vitamin D
Intact PTH (1-84)
OSTASE® BAP
N-MID® Osteocalcin
BoneTRAP® (TRACP 5b human)
CrossLaps® (CTX-I)

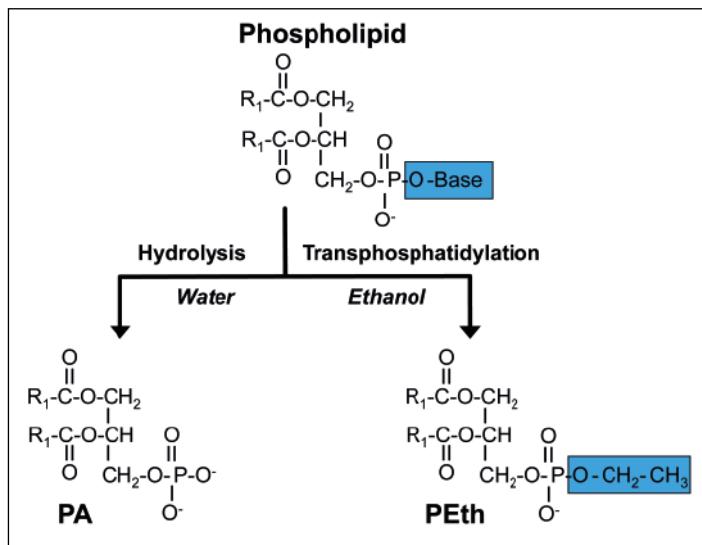
Cartilage Markers

Urine CartiLaps® (CTX-II)
Total Aggrecan



Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic)
Marielundvej 30, 2. sal, 2730 Herlev, Denmark
Tel: + 45 44 84 0091 Email: info.nordic@idsplc.com Homepage: www.idsplc.com

IDS-iSYS – Our fully Automated Speciality Analyzer



Fosfolipas D spjälkar normalt bort kolin (BASE) under bildning av fosfatidsyra (PA). I närvaro av etanol föredrar fosfolipas D etanol framför vatten och katalyserar en transfosfatidylering till fosfatidylethanol (PEth).

(Fortsat fra side 12)

Nu startade den mest spännande perioden i mitt liv som laboratorieforskare. Tillsammans med min nära medarbetare Lena Gustavsson bedrevs ett riktigt detektivarbete. Vad kunde det vara?

Först konstaterade vi att fläcken innehöll fosfor, alltså var det en fosfolipid. Vidare kunde vi konstatera att det fanns två fettsyror per fosfatgrupp. Kunde alkoholen ha orsakat peroxidation av någon vanlig fosfolipid? Var det en kondensationsprodukt? Var det någon ovanlig fosfolipid som vi inte hade gjort jämförelse med? I det sistnämnda alternativet kunde följande fosfolipider vara aktuella: fosfatidylinositol, fosfatidylserin, fosfatidylglycerol, cardiolipin, bismonoacylglycerolfosfat samt fosfatidsyra. Men inga av dessa hade samma retentionstid som fläcken.

Vi skickade in manuskriptet till FEBSLetters före jul 1982 och det publicerades i februari 1983. Sista meningen i abstract lyder ”Our currently available information on the chemical structure of the lipid is also given”. Men i Discussion bekänner vi ”There are several alternatives for the structure”. I ärlighetens namn hade vi ingen aning om vad fläcken var utom att den uppstod hos råttor som drack alkohol. Februari 1983 var f.o. en bra månad. Utöver glädjen med publicerationen av en ny och unik fosfolipid så blev jag den månaden professor i medicinsk neurokemi vid Lunds Universitet och överläkare i klinisk kemi och var 44 år. Till min stora glädje så flyttade Lena Gustavsson med till Lund.

Fläckens identitet gjordes sannolik genom massspektrometri i Änggårds grupp som via head-space teknik fann etanolmolekyler samt genom enzymatisk degradations till fosfatidsyra med fosfolipas D av Lena Gustavsson. Fläcken var fosfatidyletanol (PEth)! Aldrig tidigare hade den påvisats i djurriket.

Därefter inträffade två händelser som gjorde att PEth-forskningen tog en annan väg eller rättare sagt lades på is. Gruppen på Karolinska Institutet meddelade att fryskåpet där råttorganen hade förvarats inte hade hållit minus 20 grader utan högst minus 10 grader. Vi hade börjat att läsa in oss på fosfolipas D och lärt oss att grönsaker kunde få bildning av fosfatidyl-estrar genom fosfolipasaktivering vid minus 10 grader.

Var vårt påvisade PEth en artefakt? I en BBA publikation 1985 visade vi att PEth bildning i råttnjurar som var alkoholexponerade men förvarade vid olika temperaturer under sju dagar hade högst olika mängder PEth. Vid rumstemperatur och minus 80 grader fanns mycket låga mängder PEth men vid minus 10, minus 15 och minus 20 var halten 75 gånger högre. Alltså, i huvudsak en artefakt! Tyvärr! Trodde vi då!

Om allt detta skrev Gustavsson 1987 en bra avhandling med nio delarbeten och fortsatte med fosfolipas D forskning. Hon fick därefter det prestigefyllda ESBRA Nordman Award som Europas bäste biologiska alkoholforskare under 40 års ålder, ett pris som delas ut vartannat år.

Dektion av lipider vid kromatografi

Fosfolipider som separerats i kromatografiska system, t.ex. genom HPLC (högtrycksvätskekromatografi) är svåra att detektera med kvantitativ teknik. Det ger inte utslag t.ex. med elektrokemisk detektor eller UV-detektor. Genom olika kontaktnät i Lund lärde vi känna Göran Odham och hans grupp. Odham kom från Stenagens grupp i Göteborg och forskade på feromoner, vilka har lipidgenskaper. Odhams grupp använde en detektor som ger utslag i relation till den ljusspridning av en laserstråle som lipidpartiklar åstadkommer. Detektorn benämnes ELDS (evaporation light-scattering detector). Ett enormt arbete har lagts ner av Steina Aradottir i vår grupp för att få HPLC-ELSD tekniken optimerad för PEth. Kolonnseparationen kräver tertiar gradient, responsen är inte lineär, en internstandard behövde utvecklas och föreningar som felkällor uteslutas. År 1996 började vi använda metoden i PEth-forskningen. Den första publikationen i vilken vi använt HPLC-ELSD metoden kom 1998 och var första delarbetet i Artur Vargas avhandling.

Andra vyer

Under 1980-talet flyttades fokus i den biologiska alkoholforskningen från levern till hjärnan. Plenarföredrag och symposier på de internationella kongresserna handlade om hjärnans mekanismer vid uppkomst av beroende. Speciellt intressant var forskningen kring den ökning av tolerans för alkohol som är så karakteristisk för alkoholisten, dvs att tåla mera men också kräva mera alkohol. I olika modellsystem (djur och celldling) visades hur receptorer upp- eller nedreglerades, second messengers ökade eller minskade och den intracellulära signaltransduktionen försköts i patologisk riktning hela vägen in till genexpressionen. De flesta forskargrupper, främst i USA, satsade på jonkanalerna eller c-AMP. Vår grupp i Lund var bra på fosfolipider och fosfolipaser, viktiga för G-protein kopplad signaltransduktion. Så vi satsade alkoholforskningen på fosfolipas C och inositol-tris-fosfat och diacylglycerol, och på fosfolipas D och fosfatisyra i olika experimentella modeller. Själv åkte jag som gätforskare till UCSF i San Francisco under 12 månader 1990 -1991 och lärde mig odling av cellinjer, främst sådana som hade nervcellslika egenskaper.

Gästfrihet och ett slags social generositet kännetecknade klimatet på Gallo Clinical and Experimental

(Fortsätter side 16)



Foto: Henrik Alfthan, Svalbard, Norge.

(Fortsat fra side 15)

Research Centre. Sämre var det med givmildheten när det gällde att dela med sig av buffertar, odlingsmedier etc. Alla, inklusive jag själv, fick göra allt från grunden såsom pH-meter kalibrering och uträkningar från scintillationsmätning. Var och en hade egen hylla i kylskåpet och där stod samma beredningar på varje hylla. Så ineffektivt, men ingen skulle kunna skylla på någon annan när resultaten hade gått åt pipan. Alla hade "garden uppe" när det gällde pågående forskning.

Därför blev även jag lite misstänksam när chefen, professor Ivan Diamond började intervjuja mig om PEth som han hade läst om bl.a. i mitt CV. "Varför satsar du inte alla era resurser i Lund på PEth. Varför satsa på lipasmedierad signaltransduktion och cellers toleransökning när ni har en egen molekyl?" Vad var han ute efter? Rädd för konkurrens? Nej, det var helt enkelt ett gott råd som man borde följt från 1990. Men i så fall så var ju UCSF vistelsen bortkastad för min del och jag ville inte skicka hem ett brev till doktoranderna i Lund så som Svennerholm gjorde till mig 1970. Kanske var det fel. Det är lätt att vara efterklok.

Åter hemma i Lund startade vi celldlingar i stor skala, exponerade för alkohol och mätte signaltransduktion i form av second messengers. Det har blivit många publikationer och fem bra avhandlingar (Per Simonsson, Christer Larsson, Wei-Qun Ding, Ulrik Fried, Murielle Hellsten Caron) inom det området. Men PEth forskningen befann sig i dvala. Eller kanske i vänteläge?

Kliniska studier

Dock återuppstod forskningen om PEth i vår grupp genom ett fynd som vi publicerade 1994. Världen över använde man C-14 märkt etanol i lipidextrakt som mått på fosfolipas D aktivitet, dvs PEth bildning. Inte bara signaltransduktion i nervceller utan många andra celler reagerar på yttrre stimuli via fosfolipas D aktivitet bl.a. de neutrofila granulocyterna i samband med respiratory burst. Detta studerade Christofer Lundqvist i sitt avhandlingsarbete på alkoholister. För säkerhets skull kontrollerade han att patienterna och kontrollerna inte hade någon basal PEth före stimulering. Men det hade alkoholisterna! Fem av åtta alkoholister hade, i motsats till kontrollerna, mätbara nivåer, dock endast några pmol/miljon neutrofila celler.

Den upptäckten låg och malde i bakhuvudet på oss som var intresserade av PEth. Kunde sådana mätningar bli en ny klinisk markör för alkoholism? Nej,



En stolt handledare har just promoverat sin sista doktorand, Steina Aradottir.

det var ju helt orealistiskt att försöka utveckla en kliniskt användbar metod för rutin bruk som förutsatte att provmaterial utgjordes av neutrofila granulocyter.

Strax därefter anslöt sig docent Per Hansson, biträdande överläkare vid laboratoriet, till vår grupp. Han hade disputerat inom lipidområdet och gjort ett års post-doc i England och ville börja med något nytt. Han var en frisk fläkt och gjorde den självt kvara reflektionen att om PEth fanns i de neutrofila granulocyterna så fanns PEth förstås också i helblod.

Heparinblod erhölls från alkoholister på S:t Lars sjukhus. Blodet lipidextraherades och lipidfraktionen analyserades med hjälp av tunnslitkromatografi, färgning och densitometri. Alla hade mätbara PEth nivåer. Vi var häpna och jag kände mig förflyttad bakåt i tiden då vi analyserade råttor från Karolinska Instituts trasiga frysskåp.

Ett par alkoholister från alkoholklippen i Malmö kunde följas med upprepade mätningar under tre veckor och nivåerna sjönk successivt. Hos den ena kunde PEth påvisas även den fjärde veckan. Detta publicerades 1997 och nu blev det full fart på PEth forskningen. Det behövdes bättre analysmetoder, kunskap om dos-respons och var i blodet PEth fanns nägonstans, in vitro studier, förekomst i andra organ än blodet, provmaterialets hållbarhet, djurexperimentella studier, osv. Utöver Lena Gustavssons avhandling har det blivit tre avhandlingar om PEth (Christofer Lundqvist, Arthur Varga, Steina Aradottir).

Ånyo kläckte Per Hansson en brilljant idé. Han förslog att studentspexare skulle registrera sitt alkoholintag under tre veckor före premiär av spexföreställning. Det var allmänt känt att de studenterna drack

(Fortsætter side 18)



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
Rajatorpartie 41 C
FIN-01640 Vantaa

Phadia Aps
Gydevang 33
DK-3450 Allerød

(Fortsat fra side 16)

mer alkohol än vad som kan betraktas som hälsosamt. Etska kommittén gav sitt godkännande. Resultaten var uppmuntrande. De spexare som druckit mest alkohol hade högst nivåer PEth i blod och de fyra som druckit minst hade inte mätbara nivåer, dvs mindre än 0,8 µmol/L helblod. Nästa fråga som besvarades i publikationen 1998 var huruvida ett engångsrus på ca 1 % var tillräckligt för att ge upphov till 0,8 µmol/L PEth. Så var icke fallet.

Vid Vargas disputation gjorde en ledamot i betygsnämnden följande kommentar som etsade sig fast hos oss. ”Ja, det här är nog så bra; ny molekyl, avancerad teknologi, hög specificitet vid alkoholmissbruk, men härifrån till praktisk tillämpning och implementering i sjukvårdens målgrupper är det lång, lång väg.” Ack, hur rätt hade han icke!

Men vi var stolta över vår metod med ”lagom” sensitivitet, 100 % biologisk specificitet, troligen någon form av dos-respons, acceptabel CV% och inga uppenbara felkällor.

En period av forskning över mera grundläggande fenomen vidtog. Vi fann snart att allt PEth i helblod fanns i erytrocyterna och att det inte hade bildats i benmärgen under missbruksperioden eftersom PEth bildades *in vitro* i erytrocyter, lika mycket hos alkoholister som i erytrocyter från friska.

Normaliseringstiden hos alkoholister utredes ytterligare i större patientmaterial. Halveringstiden för PEth i blod är ca fyra dygn. Eftersom mätvärdet skall ner till detektionsgränsen så blir normaliseringstiden beroende av utgångsvärdet. Inga alkoholister som behöver sjukhusvårdas för avgiftning kommer ner till detektionsgränsen under första veckans vård.

Åter till djur och celler

Att återvända till djurförsök var oundvikligt. En stor del av Steina Aradottirs avhandling 2004 upptar djurförsök. Med den moderna lipidteknologin och kunskaper om felkällor har hon kartlagt PEth bildning i de flesta av råttans organ såväl efter engångsdos av alkohol som efter långtidsexposition i dricksvatten eller i flytande diet.

Resultaten var entydiga. Lungor och njurar får högst nivåer medan skelettmuskel och pankreas inte verkar bilda PEth. Magsäck och tarmar hade höga nivåer hos djur som fått alkohol *per os*. Märkt nog kunde PEth inte påvisas i helblod hos råttor eller andra djur. Om det bara är människan bland alla

däggdjur som bildar PEth i erytrocyter så har vi ytterligare ett *serendipity* fenomen.

En fråga som vi ofta diskuterade var huruvida PEth molekylen, ofysiologisk som den är, på något sätt kan vara skadlig för kroppens olika organ. Redan i slutet av 1980-talet hade man i en reviewartikel i New England Journal of Medicine om alkoholorsakad kardiomyopati lyft fram PEth som en bland många tänkbara kandidater till cellskada. Det finns ännu inget svar på frågan. Djuren med PEth i nästan alla organ mådde bra, betedde sig normalt och organen hade normalt utseende. *In vitro* test för celldöd eller apoptosis på odlade celler som innehöll PEth visade inget abnormt. Men det var ju cell-linjer med inneboende tumöregenskaper som därfor är livskraftiga. Humanmaterial är inte lätt tillgängligt. Det närmaste vi kom var slemhinnebiopsier på alkoholister tagna för annat ändamål, men provmängden har aldrig räckt till för analys. Men för varje PEth molekyl som bildas, förlorar cellmaskineriet en fosfatidsyra att använda i den intracellulära signaltransduktionen. Så lite fel i cellbiologin blir det nog.

Alternativ mätmetoder

HPLC-ELSD är svår och tidskrävande metodik. När det kliniska värdet av PEth bestämmning nu fått internationell spridning så har ett intensivt metodarbete kommit i gång för att göra mätningarna enklare, snabbare och känsligare.

Varga i Lund utvecklar ett system med kapillär-kromatografi som möjliggör mätning på fmol nivå och 10 ggr snabbare än HPLC-ELSD.

Helander i Stockholm och Weinman i Freiburg har publicerat metoder som bygger på LC-MS/MS med elektrosprayionisation och Stewart i Charleston, South Carolina, USA har satsat på HPLC-MS/MS.

Dessa metoder är snabba, känsliga och säkra. Troligtvis kommer de att ersätta HPLC-ELSD av tekniska skäl, men då uppstår nya problem. Eftersom de är så känsliga så blir alla, utom helnykterister ”positiva” och även ett mättligt engångsrus ger utslag.

Vidare så finns det, åtminstone teoretiskt, 36 olika molekylära species med varierande fettsyra-innehåll. Man kan förstås välja att kvantifiera och summera några av de species som har högst kon-

centration men här öppnar sig ett enormt stort fält för standardisering, nya referensvärden för normalpopulationer av olika slag, riskkonsumenter och ruskonsumenter. Vidare måste man undersöka om alkoholisternas molekylära species är av samma slag som friska personer har. Våra fynd som publicerades i supplementet till Acta Med Scand 1982 talar för motsatsen.

I Oulu, Finland har man sedan flera år satsat på en antikroppsmetod. Forskargruppen har fått ett europeiskt patent (Method and antibody for detecting alcohol consumption) Man har tagit fram cellinjer som producerar IgM antikroppar mot PEth genom att selektera bland de olika IgM som genereras från varierande regioner i mRNA för antikropparna. Bindningen till PEth mäts med fluoroscensimmunoassay och flödescytometri. Ännu har inga resultat från alkoholmissbrukande mäniskor publicerats. Patentet har emellertid hindrat andra forskargrupper och/eller bioteknikföretag att pröva denna framkomstväg.

Nuläge för tillämpning inom sjukvården

Den 15 maj 2006 informerade Laboratoriet för klinisk kemi och farmakologi vid Universitetssjukhuset i Lund sina beställare om att man erbjöd en ny analys för alkoholmissbruk. Användningsområdet är ungefärligt samma som för CDT men den kliniska informationen är säkrare. Analysen benämnes B-PEth (fosfatidyleranol i helblod).

Vårt laboratorium har under de senaste tio åren utfört 10 000 CDT-analyser årligen, så det var naturligtvis med spänning som vi avvaktade den nya analysens konkurrenskraft. I juni 2006 fick vi 140 Peth-prov. Under 2007 körde vi 9 400 CDT- och 4 700 Peth-analyser i rutinsjukvård. Under 2008 började PEth att komma upp i CDT-nivå och under första halvåret 2009 så gjordes 5 515 Peth-analyser och 5 493 CDT-analyser.

Utöver det som vi publicerat om PEths användning inom alkoholistvården så finns det i dag också publiceringar om värdet att avslöja alkoholmissbruk med hjälp av PEth inom intensivvården, vid hypertoni och leversjukdom, vid kontroll av rattnyckterhet, inom rättsmedicinen och muntliga vittnesmål om värdet inom gastroenterologi och primärvård.

Klinisk validering

Vi tog vi mod till oss och genomförde 2003-2005 en stor studie i två grupper av alkoholister, sammanlagt 144 individer. Patienternas alkoholkonsumtion under två veckor före provtagning uppskattades med s.k. *timeline follow-back* intervju. Den går till så att patienten först själv skriver ner sitt alkoholintag dag för dag så gott det går, två veckor bakåt i tiden. Därefter intervjuas patienten av en erfaren alkoholläkare för att konfirma eller korrigera uppgifterna. Detta är tidskrävande och måste ske när patienten kan och vill, dag eller natt, vardag eller söndag, inte när läkaren har tid avsatt för forskning. Detta är beundransvärd tenacity.

Vi fann att PEth korrelerade mycket bättre till alkoholintaget än CDT, GT eller MCV, eller en kombination av dessa. PEth hade 99 % diagnostisk sensitivitet, medan de andra markörernas sensitivitet varierade mellan 40 och 77%. En

(Fortsätter side 20)



Foto: Henrik Alfthan, Svalbard, Norge.

(Fortsat fra side 19)

kombination av CDT och GT kom upp till 94 % sensitivitet. I intervallet 40 - 80 gram etanol per dag så var CDT och GT sensitivitet ca 50 % och över 200 gram etanol per dag inte bättre än 85 %. Det fanns "non-responders" för såväl CDT som GT men endast en av 144 för PEth. Hälften av patienterna var inneliggande och svårt sjuka alkoholister, medan hälften gick på en öppenvårdscentral för sitt alkoholmissbruk. Resultaten var lika i båda grupperna men något tydligare i öppenvårdsgruppen.

Publikationen kom i *Alcohol and Alcoholism* den 19 april 2006 och det var nog den som gjorde att Laboratoriet för klinisk kemi och farmakologi gick ut med sin information och sitt erbjudande om PEth analyser den 15 maj 2006.

Lärdomar och visdomar

Det är lätt att vara efterklok. Borde jag ha fattat andra beslut någonstans under resans lopp? Måste det ta 25 år för att en biologisk upptäckt skall bli riktigt nyttig i sjukvården?

Min slutsats blir att i detta fall var det nödvändigt. Hela 1970-talet behövdes för teknikutvecklingen inom det lipidkromatografiska området. Under 1980-talet flyttades fokus inom den biologiska alkoholforskningen från lever till hjärnan och i början av 1990-talet rasade en revirkamp om signaltransduktionsvägarna. Hade vi envisats med att spåra små mängder PEth med dåtidens tekniker eller försökt fördjupa oss i den svåra fosfolipas D enzymologin i slutet av 1980-talet så hade min forskargrupp troligen upplösts. Dessutom fantiserade vi ju inte om PEth som en kliniskt kemisk analys för alkoholmissbruk.

Med det som jag framför allt vill framhålla är att ansökningarna till dåvarande Medicinska Forskningsrådet avgjorde inriktningen. Det gällde att kunna berätta en trovärdig historia som var sammanhållen och väl förankrad i den internationella forskningsfronten. Det var otänkbart att försöka glänsa med en kromatografisk fläck, kallad PEth. Och där har vi dagens problem i svensk medicinsk forskning. Man skall undvika "spretig forskningsstruktur". Kraftsamla i "centers of excellence"!

Men där kommer man inte att upptäcka nya patologiska molekyler, bildade i trasiga frysskåp.

Referenser

- Alling C, Gustavsson L, Änggård E. An abnormal phospholipid in rat organs after ethanol treatment. *FEBS Letters*. 152; 24-28: 1983
- Alling C, Gustavsson L, Månsson J-E, Bentin, Änggård E. Phosphatidylethanol formation in rat organs after ethanol treatment. *Biochim Biophys Acta*. 793;119-122: 1984
- Aradottir S, Lundqvist C, Alling C. Phosphatidylethanol in rat organs after ethanol exposure. *Alcohol Clin Exp Res*. 26;514-8: 2002
- Aradottir S, Asanovska G, Gjers S, Hansson P, Alling C. Phosphatidylethanol (PEth) concentrations in blood are correlated to reported alcohol intake in alcohol-dependent patients. *Alcohol Alcohol*. 41;431-7: 2006
- Gunnarsson T, Karlsson A, Hansson P, Johnson G, Alling C, Odham G. Determination of phosphatidylethanol in blood from alcoholic males using high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering or electrospray mass spectrometric detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 705;243-9: 1998
- Gustavsson L, Alling C. Formation of phosphatidylethanol in rat brain by phospholipase D. *Biochem Biophys Res Com* 142;958-963: 1987
- Hansson P, Caron M, Johnson G, Gustavsson L, Alling C. Blood phosphatidylethanol as a marker of alcohol abuse: levels in alcoholic males during withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res*. 21;108-10: 1997
- Isaksson A, Walter L, Alling C, Hansson T. Fosfatidylethanol i blod (B-PEth) – ny markör för alkoholmissbruk. *Läkartidningen* 106;1094-1098: 2009
- Lundqvist C, Alling C, Aradottir S, Gustavsson L. Agonist-stimulated and basal phosphatidylethanol formation in neutrophils from alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 18;580-6: 1994
- Varga A, Hansson P, Lundqvist C, Alling C. Phosphatidylethanol in blood as a marker of ethanol consumption in healthy volunteers: comparison with other markers. *Alcohol Clin Exp Res*. 22;1832-7: 1998
- Varga A, Hansson P, Johnson G, Alling C. Normalization rate and cellular localization of phosphatidylethanol in whole blood from chronic alcoholics. *Clin Chim Acta*. 299;141-50: 2000.

SafirLIS Deltrix - ett ÄKTA multidisciplinärt LIS

- › Ett komplett stöd från provtagning till provsvar - stöd för hela laboratorieprocessen
- › Förenklad och förbättrad driftsituation - ett system istället för flera
- › Nya medicinska möjligheter - patientdata tillgängligt över disciplingränserna i ett och samma system
- › Förenklad integration mot omgivande vårdssystem - gränssnitt mot endast ett laboratoriedatasystem
- › Förbättrad kvalitet, säkerhet och spårbarhet - data på ett ställe i ett och samma system

SafirLIS Deltrix är nästa generations laboratoriedatasystem med stöd för klinisk kemi, mikrobiologi och patologi/cytologi.



- STRAIGHT TO QUALITY CARE

profdoc®

Profdoc Låb AB
Cirkelgatan 14
SE-781 72 Borlänge
T: +46 243 21 76 00
F: +46 243 21 76 01
E: info.lab@profdoc.com

Profdoc Norge AS
Postboks 163
NO-1325 Lysaker
T: +47 815 69 069
F: +47 219 36 301
E. firma.post@profdoc.no

Profdoc Danmark A/S
Messingvej 35
DK-8940 Randers SV
T: +45 8861 2000
F: +45 6980 4600

www.profdoc.se



cobas® 8000 modular analyzer series *Intelligent LabPower*

Vår senaste analysplattform, cobas® 8000 modular analyzer series, har en unik design och flexibel konstruktion. Den levererar tillförlitliga resultat med korta svarstider, hög kapacitet och intelligent arbetsflöde – utan att begränsa dess kvalitet eller säkerhet. Vi erbjuder dessutom hög effektivitet, innovativa och skräddarsydda lösningar samt en omfattande testmeny.





”

*Krävande jobb behöver
intelligenta och kraftfulla lösningar,
idag såväl som i framtiden.*

Intelligent LabPower

Med en passion för flexibilitet

Roche Diagnostics eftersträvar att erbjuda en fullständig laboratorielösning för såväl små som stora laboratorier. Vi levererar tester som garanterar viktig klinisk information inom ett brett medicinskt område, från infektions- och hjärtsjukdomar till hjärnskador och cancer.

cobas®

Life needs answers

Nye norske anbefalinger for rapportering og tolkning av troponin resultater

Kristin M. Aakre¹, Sverre Landaa² og Tor-Arne Hagve³

¹Laboratorium for klinisk biokjemi, Haukeland universitetssykehus, Bergen, ²Avdeling for medisinsk biokjemi og klinisk farmakologi, Oslo universitetssykehus HF, Ullevål, Oslo og

³Laboratoriemedisinskt senter, Akershus universitetssykehus, Lørenskog

E-post: kristin.moberg.aakre@helse-bergen.no



Kristin M. Aakre

I de siste åtte til ti år har troponiner vært den viktigste biomarkør for påvisning av myocardskade i den vestlige verden. Det måles to typer kardiale troponiner, Troponin T (TnT) og Troponin I (TnI). Hvordan analyseresresultatene tolkes og hvilke beslutningsgrenser som finnes for diagnosen akutt hjerteinfarkt har store konsekvenser, ikke minst for prevalensen av akutt coronar sykdom i en befolkning. På tross av dette er praksis forskjellig ved ulike sykehus, både i norske laboratorier og internasjonalt (1, 2). Dette er et problem, både i den vanlige kliniske hverdag og i forskningsarbeid, fordi pasientens diagnose da ikke bare er avhengig av symptomer og funn, men av hvilket sykehus vedkommende er innlagt ved. I 2007 anbefalte Norsk Cardiologisk Selskap, med utgangspunkt i de siste internasjonale anbefalinger, at for TnT skal 0,03 µg/L brukes som beslutningsgrense for diagnosen akutt hjerteinfarkt (1). På Norsk selskap for medisinsk biokjemi (NSMB) sitt vårmøte i 2008 (der Norsk Cardiologisk Selskap var representert) diskuterte man kardiologenes anbefalinger, bl.a. på bakgrunn av at det var forventet at Roche ville lansere sin høy-sensitive TnT analyse i nær fremtid. I etterkant av møtet nedsatte NSMB en arbeidsgruppe som skulle gi anbefalinger vedrørende implementeringen av den nye analysemетодen i norske laboratorier.

Hvordan diagnostisere akutt hjerteinfakt

Det er internasjonal konsensus om diagnosekriteriene

for akutt hjerteinfarkt (3): Det skal påvises karakteristisk stigning og/eller fall i troponinverdier, i tillegg til endringer relatert til EKG, klinikks eller billeddiagnostikk. Grensen for et forhøyet troponin nivå angis som 99 percentilen i en referansepopulasjon (dvs. en gruppe hjertefriske voksne i ulike aldre) (4). Som tilleggskriterium kreves også vanligvis at total analytiske usikkerhet (inklusiv lot til lot variasjon), uttrykt som variasjonskoeffisient (CV), skal være 10 % eller lavere (4). Dersom denne er høyere ved konsentrasjonen svarende til 99 percentilen, oppjusteres vanligvis beslutningsgrensen for akutt hjerteinfarkt til en konsentrasjon hvor 10 % CV kan oppnås. Det er viktig å være klar over at selv om troponinene er hjertespesifikke markører, er det bare iskemisk myokardskade som kvalifiserer for diagnosen akutt hjerteinfarkt. Forhøyede troponinverdier kan finnes ved alle former for hjertesykdom og i relasjon til en rekke andre tilstander, blant annet nyresikt, sepsis og traumer (5).

De ulike troponin metodene

For måling av TnI finnes det i dag flere ulike metoder. Disse benytter ulike antistoffer, og målenivået og 99 percentil er derfor forskjellige for de ulike metodene. Beslutningsgrensen for akutt hjerteinfarkt vil derfor være avhengig av hvilken TnI metode som benyttes. Noen av TnI metodene har svært god sensitivitet og tilfredsstiller kravet om 10 % analytisk CV ved 99 percentilen (6-12).

Når det gjelder TnT, finnes det kun en produsent. Frem til januar 2009 ble det benyttet en TnT metode med oppgitt 99 percentil i referansepopulasjonen på 0,01 µg/L (6, 13), som også var den laveste målbare

konsentrasjon (kvantifiseringsgrensen) for analysen. Den analytisk kvalitet var imidlertid dårlig ved så lav konsentrasjon, og også ved den anbefalte beslutningsgrense for akutt hjerteinfarkt på 0,03 µg/L (1) var det vanskelig å oppnå tilfredsstillende presisjon.

Tidlig i 2009 ble det så lansert en TnT analyse-metode (hsTnT) med høyere sensitivitet og lavere deteksjonsgrense enn tidligere metoder. I foreløpige evalueringssrapporter fant man at 99 percentilen for referansepopulasjoner var 0,014 µg/L, og analysen synes å tilfredsstille kravet om 10 % analytisk CV ved denne konsentrasjonen. Høy sensitiv TnT (hsTnT) vil trolig ha erstattet den nåværende 4. generasjons TnT analysen ved norske laboratorier i løpet av 2009.

Hva gjorde arbeidsgruppen?

Arbeidsgruppen baserte sine rekommendasjoner på tilgjengelig litteratur og informasjon fra produsenter av de aktuelle troponinmetodene. Det ble også foretatt en kartlegging av rutinene ved norske sykehus ved hjelp av et spørreskjema som ble sendt til

70 norske laboratorier (inkl samtlige akuttsykehus). Dette fokuserte på type troponinanalyse og instrument, nedre grense for rapportering av analysesvar til rekvirentene og lokal beslutningsgrense for akutt hjerteinfarkt, samt rutiner for kvalitetskontroll.

Hvilke anbefalinger ble gitt?

Endring av enhet for analysen

På bakgrunn av at de fleste troponinmetoder nå har betydelig bedre sensitivitet enn da analysene ble introdusert, ble det anbefalt å skifte enhet fra µg/L til ng/L, dvs. at "gamle" verdier multipliseres med en faktor på 1000. Dette for å hindre misforståelser som lett kan oppstå ved rapportering av analysesvar med tre desimaler, særlig ved muntlig formidling i hastestituasjoner. I Norge er det enighet om denne endringen både i Norsk Selskap for Medisinsk Biokjemi og Norsk Cardiologisk Selskap, men det er ingen formell konsensus i Norden eller internasjonalt. Uformelle tilbakemeldinger fra klinikerne i etterkant tyder på at

(Fortsætter side 26)



Foto: Henrik Alfthan, Svalbard, Norge.

(Fortsat fra side 25)

de er fornøyd med endringen, selv om den i starten medførte en del unødvendige henvendelser til hjerteavdelingene, spesielt fra avdelinger som ikke vanligvis bestiller troponinanalyser.

Intern kvalitetskontroll

Det ble anbefalt at analytisk CV følges ved minst to ulike konsentrasjoner, der den laveste bør være nærmest beslutningsgrensen for akutt hjerteinfarkt. Spørreundersøkelsen viste at brukere av pasientnære instrumenter ikke utførte intern kvalitetskontroll. Dette kan skyldes at det er kostbart eller vanskelig å utføre. På grunn av troponinenes sentrale betydning i differensieringen mellom ufarlige og potensielt livstruende årsaker til brystsmerter, må adekvat analytisk kvalitet sikres. Anbefalingene presiserer at det må stilles samme krav til dokumentert analytisk kvalitet ved bruk av pasientnære instrumenter som ved bruk av store, stasjonære instrumenter. Som minimum kreves det at instrumentet gir tilstrekkelig nøyaktige analysesvar ned til den konsentrasjon som benyttes som beslutningsgrense for hjerteinfarkt. Alle som analyserer troponiner må også delta i et eksternt kvalitetskontrollprogram.

Beslutningsgrensen for akutt hjerteinfarkt:

Troponin I

Spørreundersøkelsen viste at det ble benyttet ulike beslutningsgrenser for diagnostisering av akutt hjerteinfarkt både for TnT analysen og i enda større grad for de ulike TnI analysene. For TnI analysene ble det derfor anbefalt å benytte 99 percentilen for metoden (oppgett av produsent) som beslutningsgrense for akutt hjerteinfarkt, forutsatt at man kunne oppnå 10% CV ved denne konsentrasjonen. Laboratoriet må utføre intern kvalitetskontroll ved beslutningsgrensen for å sikre at man klarer å holde tilfredsstillende analysekvalitet. Dersom man ikke klarer kravet om 10% CV bør man undersøke følgende;

1. Klarer andre laboratorier å oppnå 10% analytisk CV ved denne konsentrasjonen?
2. Finnes det dokumentasjon i uavhengige publiserte studier for at det er mulig å oppnå 10% analytisk CV ved den gitte konsentrasjon?

Dersom svaret på disse spørsmålene er nei, ble brukerne av metoden anbefalt å diskutere seg imellom,

og i samråd med klinikerne bli enige om en felles beslutningsgrense som det finnes dokumentasjon for i litteraturen, og der man har erfaring med at kravet om 10% CV kan innfries. Egen litteraturliste ble vedlagt (6-13).

Troponin T

Den nye hsTnT analysen tilfredsstilte i følge foreløpige evalueringssrapporter kravet om 10 % CV ved 99 percentilen (14 ng/L) i en referansepopulasjon, og det ville derfor være logisk å senke beslutningsgrensen for akutt hjerteinfarkt til dette nivået. Denne informasjonen var, da anbefalingene ble gitt, ikke tilstrekkelig verifisert i uavhengige studier. Det er også kjent at tidligere metoder for TnT (inkludert 4. generasjon) kan gi forhøyede verdier ved andre tilstander enn iskemisk utløst myocardskade (5). Ved å senke beslutningsgrensen er det derfor mulig å oppnå bedre sensitivitet for hjerteinfarkt, men samtidig vil spesifisiteten for denne diagnosen klart bli dårligere.

Data fra produsenten viste også at den nye metoden gav 50 til 100% høyere verdier i lavt nivå, sammenlignet med den gamle. Dersom man ønsket å beholde beslutningsgrensen uforandret i forhold til tidligere (30 ng/L), burde man for den nye metoden derfor heve beslutningsgrensen til 50-60 ng/L. Den tidligere benyttede grensen på 30 ng/L var bestemt på bakgrunn av dårlig presisjon i lavt nivå av 4. generasjons analysen, og ligger langt høyere enn 99 percentilen og det er ingen god dokumentasjon for å videreføre denne.

Til tross for konsensusen om å bruke 99 percentilen i en referansepopulasjon som beslutningsgrense for akutt hjerteinfarkt, diskuteres det internasjonalt hvor den nye grensen skal ligge, og verdier mellom 15 og 60 ng/L er altså aktuelle. Arbeidsgruppen besluttet derfor i samarbeid med Norsk Cardiologisk Selskap å videreføre 30 ng/L som beslutningsgrense for akutt hjerteinfarkt, inntil internasjonal konsensus om nye grenser foreligger. Man avventer erfaring med den nye hsTnT og en eventuell dokumentert positiv effekt av en lavere beslutningsgrense i større kliniske studier.

Nedre grense for rapportering av TnT analyseresultater

De fleste laboratorier benytter deteksjonsgrensen (lavest målbare konsentrasjon) for den aktuelle

(Fortsætter side 28)



Identical twins? Look beneath the surface.

There's always more to a picture than meets the eye. What may appear similar or even identical, isn't. Looking beneath the surface is what Ortho Clinical Diagnostics have been doing for nearly 70 years. Finding answers and providing the global healthcare community with the means to make better-informed decisions.

The **VITROS® 3600** Immunodiagnostic System combines three high-quality proprietary technologies into a single system that is self-monitoring, highly efficient, and best of all, easy to use. With minimal staff interventions and reduced error potential, you get quality results.

The **VITROS 5600®** Integrated System consolidates testing like never before with Sample Centered Processing, 5 proven VITROS® technologies, and over 100 assays onboard. So you get performance and quality that improve the lab—and results that touch lives.



Ortho Clinical Diagnostics
a **Johnson & Johnson** company

VITROS® 3600 System **VITROS® 5600 System**
Immunodiagnostic Integrated

(Fortsat fra side 26)

analysemetoden som nedre grense for rapportering av analyseresultater, selv om analytisk usikkerhet sannsynligvis er meget høy (10) og uten at laboratoriene selv har undersøkt hvilken CV man har ved disse nivåene. Den nye, høysensitive metoden får sannsynligvis en deteksjonsgrense på nærmere 2 ng/L. Ved overgang til ny metode anbefales det å bruke 10 ng/L som nedre grense og at analysesvar som er lavere enn dette rapporteres som < 10 ng/L. Bakgrunnen er at analysesvar som ligger mellom 2 og 10 ng/L har stor analytisk usikkerhet, er sårbarer for analytisk interferens (bl.a. hemolyse), og at resultater i dette området foreløpig ikke har tilstrekkelig kjent klinisk betydning. I forbindelse med forskningsprosjekter kan det imidlertid være aktuelt å utgi lavere resultater.

Oppsummering

For å sikre en enhetlig praksis er det nå utarbeidet anbefalinger for hvordan Troponin T og Troponin I bør implementeres i norske laboratorier. Analysen har skiftet enhet fra µg/L til ng/L. Beslutningsgrensen for akutt hjerteinfarkt vil være 30 ng/L for TnT, mens for TnI metodene benyttes 99 percentilen oppgitt av produsent forutsatt at laboratoriet kan oppnå 10% CV ved denne konsekvensjonen. Alle brukere av troponinanalysene må delta i ekstern kvalitetskontroll og gjøre daglig intern kvalitetskontroll ved to nivåer, der det ene bør ligge nær beslutningsgrensen for akutt hjerteinfarkt.

Referanser

1. Otterstad JE, Platou ES, Mangschau A, Endresen K. Hjerteinfarkt. Diagnostikk og behandling. Hjerteforum Suppl 1 http://www.hjerten.no/asset/39612/1/39612_1pdf 2007.
2. Pulkki K, Suvisaari J, Collinson P, Ravkilde J, Stavlenic-Rukavina A, Hammerer-Lercher A, et al. A pilot survey of the use and implementation of cardiac markers in acute coronary syndrome and heart failure across Europe. The CARDiac MArker Guideline Uptake in Europe (CARMAGUE) study. Clin Chem Lab Med 2009;47:227-34.
3. Alpert JS, Thygesen K, Jaffe A, White HD. The universal definition of myocardial infarction: a consensus document: ischaemic heart disease. Heart 2008;94:1335-41.
4. Apple FS, Jesse RL, Newby LK, Wu AH, Christenson RH. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines: Analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. Circulation 2007;115:e352-5.
5. Jaffe AS, Babuin L, Apple FS. Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. J Am Coll Cardiol 2006;48:1-11.
6. Tate JR, Ferguson W, Bais R, Kostner K, Marwick T, Carter A. The determination of the 99th centile level for troponin assays in an Australian reference population. Ann Clin Biochem 2008;45:275-88.
7. Casals G, Filella X, Bedini JL. Evaluation of a new ultrasensitive assay for cardiac troponin I. Clin Biochem 2007;40:1406-13.
8. Hubl W, Demant T, Gladrow E. Evaluation of the ARCHITECT STAT troponin-I assay. Clin Lab 2005;51:251-5.
9. Lam Q, Black M, Youdell O, Spilsbury H, Schneider HG. Performance evaluation and subsequent clinical experience with the Abbott Automated Architect STAT Troponin-I assay. Clin Chem 2006;52:298-300.
10. Panteghini M, Paganini F, Yeo KT, Apple FS, Christenson RH, Dati F, et al. Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations. Clin Chem 2004;50:327-32.
11. Prontera C, Fortunato A, Storti S, Mercuri A, Longombardo G, Zucchelli GC, et al. Evaluation of analytical performance of the Siemens ADVIA TnI ultra immunoassay. Clin Chem 2007;53:1722-3.
12. van de Kerkhof D, Peters B, Scharnhorst V. Performance of the Advia Centaur second-generation troponin assay TnI-Ultra compared with the first-generation cTnI assay. Ann Clin Biochem 2008;45:316-7.
13. Apple FS, Murakami MM. Serum 99th percentile reference cutoffs for seven cardiac troponin assays. Clin Chem 2004;50:1477-9.



Troponin I
CKMB
Myoglobin
CRP
D-dimer
βhCG
NT-proBNP
Troponin T*
hsCRP*
PT-INR*
APTT*

* in development

Result in just 18 minutes

The new AQT90 FLEX immunoassay POCT analyzer

- Cardiac, coagulation, infection and pregnancy markers from a single sample
- Superior analytical performance
- Measures on whole-blood or plasma - no sample preparation
- Automated mixing and measurement
- All tests done in parallel - up to 30 tests per hour
- No contact with blood or waste
- Full connectivity

Simpler, faster, better

RADIOMETER 

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

ProGRP- en lovende tumormarkør for småcellet lungekreft

Marianne S. Nordlund

Avdeling for medisinsk biokjemi ved Radiumhospitalet, Oslo Universitetssykehus Rikshospitalet, Oslo
marisno@ulrik.uio.no



Progastrin-releasing peptid (proGRP) er en forholdsvis ny og lovende tumormarkør for småcellet lungekreft (SCLC). Neuronspesifikk enolase (NSE) er per i dag den primære tumormarkøren for denne pasientgruppen, men kombinert analysering av de to markørene har vist å gi en klar økning i diagnostisk sensitivitet. ProGRP er også vist å være verdifull for å skille mellom begrenset og utbredt sykdom. Målet vårt har vært å utvikle en robust og automatisert immunologisk analyse basert på monoklonale antistoffer mot proGRP for bruk i kliniske rutinelaboratorier.

Biokjemi

ProGRP er forløperen til neuropeptidet gastrin-releasing peptid (GRP) som er pattedyr-analogen til bom-

besin som finnes i amfibier. Bombesin ble første gang isolert fra huden til froskearten *Bombina bombina* i 1971, og åtte år senere ble GRP isolert fra grisemage (1). GRP-genet koder for en pre-proform av peptidet som består av 148 aminosyrer og kalles for preproGRP (-23-125). Ved prosessering av aktivt GRP dannes først den inaktive formen av peptidet proGRP (1-125) ved proteolytisk kløyving av den N-terminale signalsekvensen (aminosyre -23-1) (2). Videre kløyving og amidering resulterer i aktivt amidert GRP (1-27) og det resterende C-terminale peptidet proGRP (31-125). GRP (18-27)-amid produseres også ved proteolytisk kløyving, men det er ikke kjent om denne kløyvingen skjer før eller etter amidering. I tillegg er det funnet flere kløyvingsprodukter av det C-terminale proGRP (31-125) peptidet i SCLC cellelinjer.

Amidert GRP (1-27) og GRP (18-27) er biologisk aktive peptider med tre kjente reseptorer i menneske, Neuromedin B reseptor (NMBR), GRP reseptor (GRPR) og Bombesin reseptor subtype 3 (BRS-3). GRP reseptor er en G protein syy-transmembranreseptor som finnes i sentralnervesystemet og i mage-tarmsystemet. De aktive GRP-peptidene er identifisert i mange ulike vev i kroppen, men høyest konsentrasjon finnes i neuroendokrine celler i lungene hos fostre, neuroner i sentralnervesystemet og i mage-tarmsystemet. Høy konsentrasjon av GRP i lungene hos fostre indikerer at peptidet kan ha en rolle i utviklingen av lungene. GRP-stimulert vekst av SCLC-cellelinjer både *in vitro* og *in vivo* indikerer at peptidet også har en positiv autokrin effekt (3). I tillegg viser studier at GRP har en neuroregulatorisk rolle og virker inn på hormonsekresjon ved blant annet utslipp av gastrin, derav navnet gastrin-releasing peptid.

Siden neuropeptidet GRP ofte produseres av SCLC-cellene er det en potensiell tumormarkør for pasienter med småcellet lungekreft, men peptidet har vist seg å

være svært ustabilt i blod. Propeptidet derimot er mer stabilt i serum. Den første radioimmunanalysen for proGRP ble utviklet for 10 år siden, raskt etterfulgt av en ELISA-analyse (4). Ved bruk av ELISA-analysen er det vist at proGRP er en nyttig markør for SCLC (5) og muligens også for subgrupper av pasienter med prostatakreft og medullære thyroideacarcinomer med neuroendokrin differensiering (6;7).

Produksjon og karakterisering av monoklonale antistoffer

Ved studiestart fantes det kun en kommersiell analyse for proGRP, en ELISA-analyse basert på monoklonale og polyklonale antistoffer. Normalkonsentrasjonen av proGRP hos friske individer er under 60 ng/L, mens hos kreftsyke pasienter kan konsentrasjonen komme opp i over 20 000 ng/L. Dette stiller store krav til analyseantistoffenes affinitet.

Vi har immunisert mus med rekombinant proGRP av ulike størrelser (aminosyre -23-125, 1-98 og 31-98). For å gjøre peptidene mer immunogene ble de blant annet uttrykt sammen med Fc-delen på et immunoglobulin, konjugert til tyroglobulin eller modifisert med dinitrofenol (DNP) (8). Mus som var blitt immunisert med ubehandlet proGRP viste ingen immunrespons, mens mus immunisert med bearbeidede proGRP-peptider ga gode immunsvar. Totalt syv fusjoner resulterte i 19 monoklonale antistoffer som både var reaktive mot rekombinant og naturlig proGRP.

Alle antistoffene ble grundig karakterisert for å identifisere bindings-spesifisiteten. Karakteriseringen ble utført ved bruk av fagdisplay peptidbiblioteker, kryssinhibisjonsanalyser, Biacore-studier og pepscananalyse der 10 aminosyrelange overlappende proGRP-peptider ble benyttet. De ulike karakteriseringsforsøkene stemte godt overens, og en oversikt over antistoffenes spesifisitet til proGRP er vist i figur 1. Tretten av de nitten antistoffene reagerte i pepscananalysen. De siste seks

antistoffene har derfor trolig konformasjonsavhengige epitoper, ettersom metoden kun detekterer lineære epitoper. De fleste av disse er også tatt med i figur 1, og bindingsområdet er indikert med et større felt.

Det er vanskelig å vite nøyaktig hvorfor vi har lykkes med å produsere gode antistoffer mot proGRP. Allikevel kan jeg peke ut noen faktorer som kan ha virket inn på de vellykkede resultatene. 1) Lang immuniseringstid med lave antigendoser med 1-3 måneders intervaller i opptil seks måneder og en endelig boosting med høy proGRP konsetrasjon rett før fusjon, og 2) bruk av immunogene bæreproteiner som thyroglobulin i kombinasjon med Freunds adjuvant og immunisering med ulike lengder av proGRP peptidet.

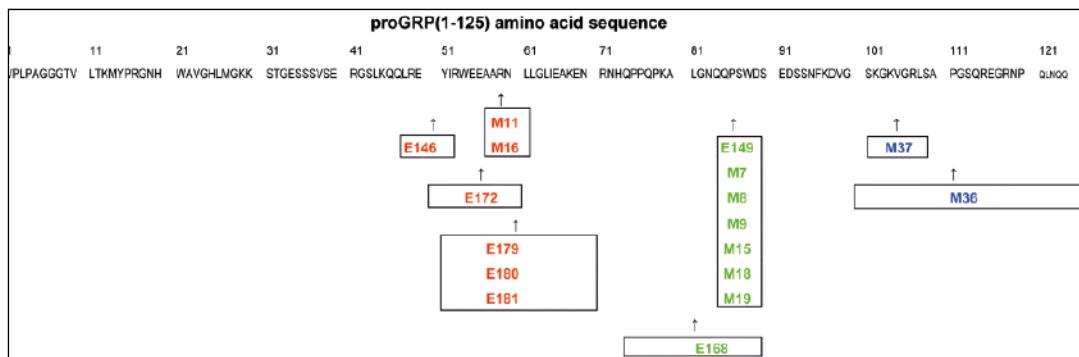
Ny immunometrisk analyse for proGRP

For å lage en immunometrisk analyse for proGRP ble ulike parkombinasjoner av de monoklonale antistoffene evaluert. MAb E146 som solidfaseantistoff sammen med mAb E149 som deteksjonsantistoff ga innledningsvis en god analyse (8). Men deteksjonsantistoffet viste seg å ha lavere affinitet for peptidet når det var immobilisert til solidfaseantistoffet sammenliknet med fritt peptid, noe som førte til ustabilitet i analysen. For å finne de beste antistoffkandidatene benyttet vi derfor i andre omgang en screening-metode som var mest mulig lik det endelige analyseformatet. Siden mAb E146 viste seg å være et meget godt solidfasean-

(Fortsætter side 32)



Författaren sökande efter proGRP på hög höjd.



Figur 1. En oversikt over bindingen av de monoklonale antistoffene til proGRP.

(Fortsat fra side 31)

tstoff med den laveste dissosiasjonskonstanten (2.63×10^{-10} mol/L) screenet vi direkte etter en passende makker. Binding av antistoffene direkte til proGRP-E146 solidfas komplekset resulterte i utvelgelse av mAb M16 som deteksjonsantistoff.

I det endelige analyseformatet immobiliseres biotynylerte F(ab')₂ fragmenter av E146 til en streptavidinplate for å fange opp proGRP i pasientprøver, som deretter måles ved binding av europiummerket M16 antistoff. Analysen har en deteksjonsgrense på 2.8 ng/L og et bredt måleområde fra 13 til 13500 ng/L med total impresjon på mindre enn 5.6 % over hele konsentrasjonsintervallet (9). Som kalibratorer benyttes rekombinant proGRP (31-98) i matrix med 6 % BSA. BSA løsningen varmebehandles ved pH 3.0 før den tilsettes kalibratorene for å redusere nedbryting av proGRP og øke stabiliteten av kalibratorene.

For å beregne en referansegrense for analysen ble serum fra 806 friske individer med jevn aldersfordeling, halvparten kvinner og menn og et tilfredsstilende antall røykkere fra den nordiske referanseintervall prosjekt-biobankdatabasen (NOBIDA) analysert. En alders- og kjønnsuavhengig 97.5 % persentil referansegrense ble beregnet til 58.9 ng/L (10). Analysen er sammenliknet med den kommersielle ELISA-analysen, og Bland-Altman differanseanalyse av serumprøver fra lungekreftpasienter ga en signifikant positiv bias mellom IFMA-analysen og ELISA-analysen i 92 % av prøvene. Årsaken til forskjellen mellom analysene er trolig ulik spesifisitet av analyseantistoffene overfor proGRP.

ProGRP struktur

Det er svært overraskende at våre to analyseanti-

stoffer har bindingssteder med bare fire aminosyrer mellom seg. Hvordan kan det være mulig for to antistoffer på 160 kDa å binde proGRP samtidig med så sammenfallende epitoper? For å forstå dette ønsket vi å se på den sekundære strukturen til proGRP. Siden lite er kjent om peptidets struktur benyttet vi ulike strukturberegningssprogrammer. Alle programmene pekte ut GRP(18-27) som et konservert område hos alle pattedyr med en ordnet α -helixstruktur, noe som understrekker den funksjonelle egenskapen ved neuropeptidet. De fleste av programmene pekte også ut et annet relativt konservert område mellom aminosyrrene 47-67 som sannsynlig også inneholder en stabil α -helix struktur, mens det resterende proGRP(31-125) peptidet derimot er totalt uordnet. Dette korte rigide området i proGRP omfatter nettopp epitopene for analyseantistoffene våre. Det betyr at den sekundære strukturen til peptidet trolig innvirker på bindingen og utvelgelsen av analyseantistoffene. Den nære bindingen av antistoffene til proGRP kan muligens også forklare hvorfor IFMA-analysen gir høyere proGRP-svar enn ELISA-analysen. Som sagt innledningsvis er det påvist flere ulike kløyvingsprodukter av proGRP i ulike cellelinjer, og det er vist at det finnes flere potensielle kutteseter i polypeptidet (11). Spesifisiteten til analyseantistoffene vil derfor være avgjørende for deteksjonen av de ulike fragmenteringsproduktene. Tettbindende antistoffer har større sjanser for å påvise kløyvingsprodukter enn antistoffer som binder langt unna hverandre, fordi det da er mindre sannsynlighet for at det finnes kutteseter mellom epitopene. De ulike analysene kan derfor bli verdifulle i fremtidige studier av sammenhengen mellom ulike former av peptidet i blod og diagnose og prognose.

Stabilitet av proGRP i serum og plasma

Selv om proformen av GRP er mer stabil enn selve neuropeptidet har både vi og andre erfart at stabiliteten av proGRP varierer i ulike blodprøver. Koncentrasjonen av proGRP synker raskere i serum enn i plasma og ustabiliteten er mer prominent ved lagring av prøver ved romtemperatur enn ved 4 °C. I serum er proGRP stabilt opptil 3 dager ved 4 °C (10). Siden analysen er automatisert er det mest praktisk å analysere serumprøver for å unngå maskinelle problemer forårsaket av fibrinklotting i plasmaprøver. Derfor anbefaler vi å måle proGRP i serum ved lagring av prøver ved 4 °C inntil 3 dager. For innsendte prøver eller prøver som skal oppbevares i mer enn 3 dager anbefales heparinplasma eller frysing av serumprøvene ved – 30 °C.

Fremtidsutsikter

Sensitiviteten for kjemoterapi og radioterapi ved SCLC indikerer at denne behandlingen kan være kurativ ved tidlig sykdomsstadium. Dessverre diagnostiseres de fleste SCLC pasienter med utbredt sykdom, og de opplever nesten alltid tilbakefall etter behandling. Pasienter med metastasert SCLC har en 5-års overlevelses rate på ca 5 %, noe som understreker det skrikende behovet for ny og bedre behandling for denne pasientgruppen. Ved utvikling og evaluering av nye behandlingsregimer kan proGRP vise seg å være spesiell verdifull pga sin sensitivitet ved tidlig sykdomsstadium sammenliknet med eksisterende markører.

I tillegg kan proGRP muligens vise seg å være nyttig for å identifisere neuroendokrine egenskaper ved ikke-småcellet lungekreft der kjemoterapi kombinert med kirurgi potensielt kan øke overlevelsen hos pasient-subgrupper. ProGRP er også en potensiell tumormarkør for pasienter med prostatakreft og medullært thyroideacarcinom med neuroendokrin differensiering.

I skrivende tidspunkt arbeides det med å gjøre proGRP IFMA-analysen til en del av rutineanalysene for pasienter med lungekreft ved Radiumhospitalet.

Referanser

1. McDonald TJ, Jornvall H, Nilsson G, Vagne M, Ghatei M, Bloom SR, Mutt V. Characterization of a gastrin releasing peptide from porcine non-antral gastric tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1979;90:227-33.
2. Ischia J, Patel O, Shulkes A, Baldwin GS. Gast-
- rin-releasing peptide: different forms, different functions. *Biofactors* 2009;35:69-75.
3. Cuttitta F, Carney DN, Mulshine J, Moody TW, Fedorko J, Fischler A, Minna JD. Bombesin-like peptides can function as autocrine growth factors in human small-cell lung cancer. *Nature* 1985;316:823-6.
4. Aoyagi K, Miyake Y, Urakami K, Kashiwakuma T, Hasegawa A, Kodama T, Yamaguchi K. Enzyme immunoassay of immunoreactive progastrin-releasing peptide(31-98) as tumor marker for small-cell lung carcinoma: development and evaluation. *Clin Chem* 1995;41:537-43.
5. Stieber P, Dienemann H, Schalhorn A, Schmitt UM, Reinmiedl J, Hofmann K, Yamaguchi K. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP)--a useful marker in small cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 1999;19:2673-8.
6. Yashi M, Terauchi F, Nukui A, Ochi M, Yuzawa M, Hara Y, Morita T. Small-cell neuroendocrine carcinoma as a variant form of prostate cancer recurrence: a case report and short literature review. *Urol Oncol* 2006;24:313-7.
7. Inaji H, Komoike Y, Motomura K, Higashiyama M, Ohtsuru M, Funai H et al. Demonstration and diagnostic significance of progastrin-releasing peptide in medullary thyroid carcinoma. *Oncology* 2000;59:122-5.
8. Nordlund MS, Fermer C, Nilsson O, Warren DJ, Paus E. Production and Characterization of Monoclonal Antibodies for Immunoassay of the Lung Cancer Marker proGRP. *Tumour Biol* 2007;28:100-10.
9. Nordlund MS, Warren DJ, Nustad K, Bjerner J, Paus E. Automated time-resolved immunofluorometric assay for progastrin-releasing Peptide. *Clin Chem* 2008;54:919-22.
10. Nordlund MS, Warren DJ, Nustad K, Bjerner J, Paus E. Progastrin-Releasing Peptide: Stability in Plasma/Serum and Upper Reference Limit. *Tumour Biol* 2008;29:204-10.
11. Reeve JR, Jr., Cuttitta F, Vigna SR, Heubner V, Lee TD, Shively JE et al. Multiple gastrin-releasing peptide gene-associated peptides are produced by a human small cell lung cancer line. *J Biol Chem* 1989;264:1928-32.

Rapport om KBNs resestipendium 2008

Barcelona – mer enn Gaudi, tapas og salsa

Eva Norström

Klinisk kemi Skåne, Malmö

Eva.norstrom@med.lu.se

Barcelona er et attraktivt turistmål med mye å tilby av både kultur, sport, shopping og god mat. Dessuten gjør klimaet det enda mer attraktivt for sånne frosne nordboer som oss. Du har kanskje selv vært der engang, og vandret opp gjennom Ramblan forbi operaen Liceu og sett på gateartister som poserer som levende statuer. Du kanskje har krysset over Plaza Catalunya, plassen der alle FC Barcelona supportere samles når fotballklubben vinner og gått opp Passeig de Gracia der to av Gaudis mest kjente hus, Caso Battlo og La Pedrera, ligger. Hvis du etter la Pedrera vender venstre på Carrer Rossello, går forbi salsaklubben "Mojito" og fortsetter til du møter en stor hvit bygning som sperrer hele gaten har du kommet til Hospital Clinic. Der har Barcelona noe annet å tilby: ekspertise i diagnostikk og forskning av trombocyetter.

Der det er hjerterom er det labbrom

Jeg hadde privilegiet, ved hjelp av KBN's resestipend, i 3 måneder å besøke Gines Escolar sitt laboratorium og lære meg metoder og diagnostikk av trombocyetter. Særlig lærte jeg meg analyse av trombocyetter ved

hjelp av flowcytometri. Laboratoriet som bare driver med diagnostikk og forskning innom den primære hemostasen har et helt klart begrenset areal men desto mer plass i hjertet. Når man kommer fra skandinaviske forhold der vi er vant med store egne lab -og dataplasser er det fascinerende å se hvor bra det kan fungere når både labbplass og pipetter deles på et delvis kaotisk sett. Og når temperaturen kryper over 25 grader og noen kommer på å sette på airconditionen samtidig som en annen starter en centrifuge kan jo godt strømmen gå et øyeblikk. En liten tur inn i sikringsskapet og så setter aggregometere, celleinkubatorer, pumper og vannbad i gang igjen og radioen fortsetter å synge ut "Colgando en tus manos" eller en annen spansk hitlåt som akkompagneres av syngende laborerende kolleger. Jeg kan trygt si jeg følte meg velkommen i denne hyggelige lab.

"Un cortado por favor"

En vanlig dag begynte med et lite stopp i min stam-cafe der jeg hurtig nöt en cafe cortado sammen med resten av morgenklientelet. Det tok ikke lang tid før man som



Resestipendiaten med kollegor ved Centro de Diagnostico Biomedico Clinic, Barcelona.

stamkunde ble møtt av et unisont ”hola” når man kom inn og en katalansk ”adeo” i det man forlot stedet. For når man er i Spania skal man leve som en spansk og morgenkaffe er hellig i Spania.

Hver mandag morgen var det klinikks møte hvor ulike pasienttilfeller diskuteres og hvor samtalen hurtig skiftet mellom ”vanlig” spansk (castellano) og katalansk. Noe forvirrende de første ukene, men som det ble bedre etter hvert som min spansk (og delvis katalan) ble bedre og mine kolleger husket at de hadde en svensk gjest tilstede og derfor holdt seg til castellano. Så begynte dagens eksperiment som vanligvis involverte rening av trombocyetter og flowcytometri. Ved ettiden ymtet som regel noen frem på at det kanskje var tid med lite lunsj og etter alt fra en halvtime til to timer etter det, gikk vi i samlet gruppe til sykehusets kantine som serverer paella hver torsdag og andre dager alt fra calemares til kanin. Når eksperimentene var ferdige for dagen ventet et som regel varmt Barcelona utenfor med solskinn og utecafeer, jazzkonserter, tapasrestauranter og en av mine favoritter; salsaclubber.

Å reise er å leve –reis!

Et stort takk til KBN som gjorde det mulig for meg være disse månedene i Barcelona. Med meg hjem i bagasjen har jeg med meg ny kunnskap i metoder og ferdigheter i handtering av trombocyetter, gode kontakter og fortsatt samarbeide med labbet i Barcelona og mange uforglemmelige minner og venner. Jeg kan virkelig anbefale flere å søke KBN’s reisestipendie.

Mål:

- Øke mine kunnskaper om diagnostikk av arvelige og ervervede defekter i den primære hemostasen
- Særlig fokus på analyser av trombocyetter med flowcytometri.

Metode:

- Auskultasjon og deltagelse i diagnostikk ved Hemoteràpia-Hemostàsia, Hospital Clinic, Barcelona
- Deltagelse i ukentlig klinikkmøte der ulike pasientfall blir diskutert.
- Deltagelse i ukentlig vitenskaplig møte der ulike forskere presenterte sine prosjekt.
- Eget prosjekt der jeg ved hjelp av ulike fluroscens merkede antistoffer mot faktor V måler uttryk-



Medicinska fakulteten, Barcelona (Foto: Eva Norström).

ket av intakt og aktivert faktor V på overflaten av trombocyetter både før og etter aktivering med ulike agens.

Resultat:

- Jeg har økt min kunnskaper og ferdigheter i håndtering av trombocyetter, f.eks. vaskning av trombocyetter, intracellulær merkning, aktivering og analyse av trombocyetter med flowcytometri.
- Jeg har et fortsatt samarbeid med labben der vi bla håper på at få publisert noe av de resultat vi fikk
- Av nye trombocytanalyser har vi nå i Malmö satt opp VASP-P test for at diagnostisere clopidogrel-resistens.
- Jeg jobber også med å forbedre analysen av unge, såkalte retikulerte, trombocyetter ved hjelp av flowcytometri, og også med å forbedre vår adhesjonstest i Malmö.

Laboratoriet (hemostasis primario) ligger under ”Centro de diagnostico Biomedico Clinic” (Biomedicinsk avdeling) og utgjør sammen med transfusjonsmedisin (blodbanken) og koagulasjonslaboratoriet området ”Hemoterapia y Hemostasia Clinica” som har felles klinikkmøte og forskningsmøter.

Ekspert-lab, mottar pasientprøver fra et stort område i Nord-Spania

Metoder inkluderer trombocyt-aggregometri, multimeranalyser, flødescytometri, perfusionskamre og PFA-100.

NORIP og NOBIDA fyller ti år!

Johan Bjerner

Styret NFKK

Nordisk referanseintervallprosjekt (NORIP) ble iverksatt i 1999-2000. Initiativtakere var opprinnelig Heidi Steensland og Petter Urdal som ved hjelp av NFKK fikk etablert en sammordisk gruppe som koordinerte studiet: Peter Felding, Leifur Franzson, Veli Kairisto, Per Hyltoft Pedersen, Pål Rustad og Per Simonsson.

Friske individer mellom 18 og 80 år ble rekruttert på i alt 80 laboratorier i de nordiske landene og det ble samlet inn serum, plasma og fullblod. Prøvetakingen var nøyaktig standardisert. Prøvene ble analysert for de vanligste komponentene i medisinsk biokjemi lokalt på de deltakende laboratoriene sammen med kontroller fra prosjektet, spesielt det som etter hvert ble kalt NFKK Reference Serum X. I tillegg ble materiale frosset ved -80° C.

I Norge ble resultatene så bearbeidet statistisk i flere arbeidsgrupper som ga sine anbefalinger om referansegrenser til prosjektgruppen i NORIP. Disse er etter hvert tatt i bruk på de fleste nordiske laboratorier.

Fra forsøkspersonene ble det samlet inn data om forhold av betydning som røyking, alkoholbruk, medikamenter, kjente sykdommer, vekt og lengde, faste før prøvetaking og fysisk aktivitet i nær tilslutning til prøvetakingstilfellet. Prøvene og analysesvarrene ble anonymisert (all informasjon om identitet til forsøkspersonene ble slettet). Dataene og prøvene ble samlet i Nordisk referansesintervalprosjekt biobank og database (NOBIDA) og oppbevares på Herlev sykehus, Danmark og forvaltes av DEKS. Det er mulig å søke NOBIDA-komiteen om prøver for referanseintervalstudier, se hjemmesidene for NORIP/NOBIDA (www.furst.no/norip/). Serum X kan kjøpes fra DEKS.

Min personlige mening er at NORIP har vært en suksess. Felles referanseområder er i bruk i Norden. Det gjør det enklere å følge opp pasienter som flytter mellom sykehus, færre misforståelser, og er ikke

minst veldig praktisk. Siden vi nå har felles referanseområder er vi også nødt til å kalibrere våre analyser mer nøyaktig enn før, fordi vi simpelthen ikke har muligheten til å justere referanseområdet. På besøk på norske laboratorier er inntrykkene tydelige, analyser som ikke var med i NORIP-prosjektet som kloridjon, har meget sprikende referanseområder og større forskjeller mellom laboratoriene enn analyser som var med i NORIP.

Det ligger dog en utfordring i NORIP-prosjektet. Vi vet at siden 1999 har befolkningen i de nordiske landene stumpet røyken, blitt adskillig fetere og drikker en pils eller to flere i TV-sofaen. I NORIP var kun 4 % av utenlandsk opprinnelse, neppe representativt for nordisk befolkning i 2010. I tillegg er analysemetodene endret, oftest til det bedre. Siden analysevariasjon øker bredden på referanseområdene må de kanskje nå snevres inn. Anders Larsson har tidligere i KBN derfor foreslått at referanseområder skal ha en siste gyldighetsdato. Vi nærmer oss for hver dag siste gyldighetsdato for NORIP, og hva etter den – en ny NORIP? Gitt prosjektets suksess ville det være fristende å inkludere flere analyser og også flere prøvematerialer. Dokumentasjonen for referanseområdene for kalium i urin kunne nok vært bedre på de fleste norske laboratorier...

NOBIDA er en mer tvilsom suksess. Det sendes regelmessig ut prøver fra biobanken, men ikke så mange som var forventet. Selv har jeg brukt NOBIDA for flere prosjekter og hatt mye glede av dette. Selvfølgelig blir det et referanseintervall, men det blir også så mye mer. Fra NOBIDA-prøvene har det kommet informasjon om hvordan mine analyser endres med pasientenes alder, og hvordan kjønn, røyking, BMI, alkohol, faste, årstid, og tidspunkt for prøvetaking påvirker analysene. Serum X finnes fortsatt i store kvantiteter. Så, siden NOBIDA-prøvene og Serum X definitivt ikke er årgangsviner som bedres ved lagring, bruk dem opp!

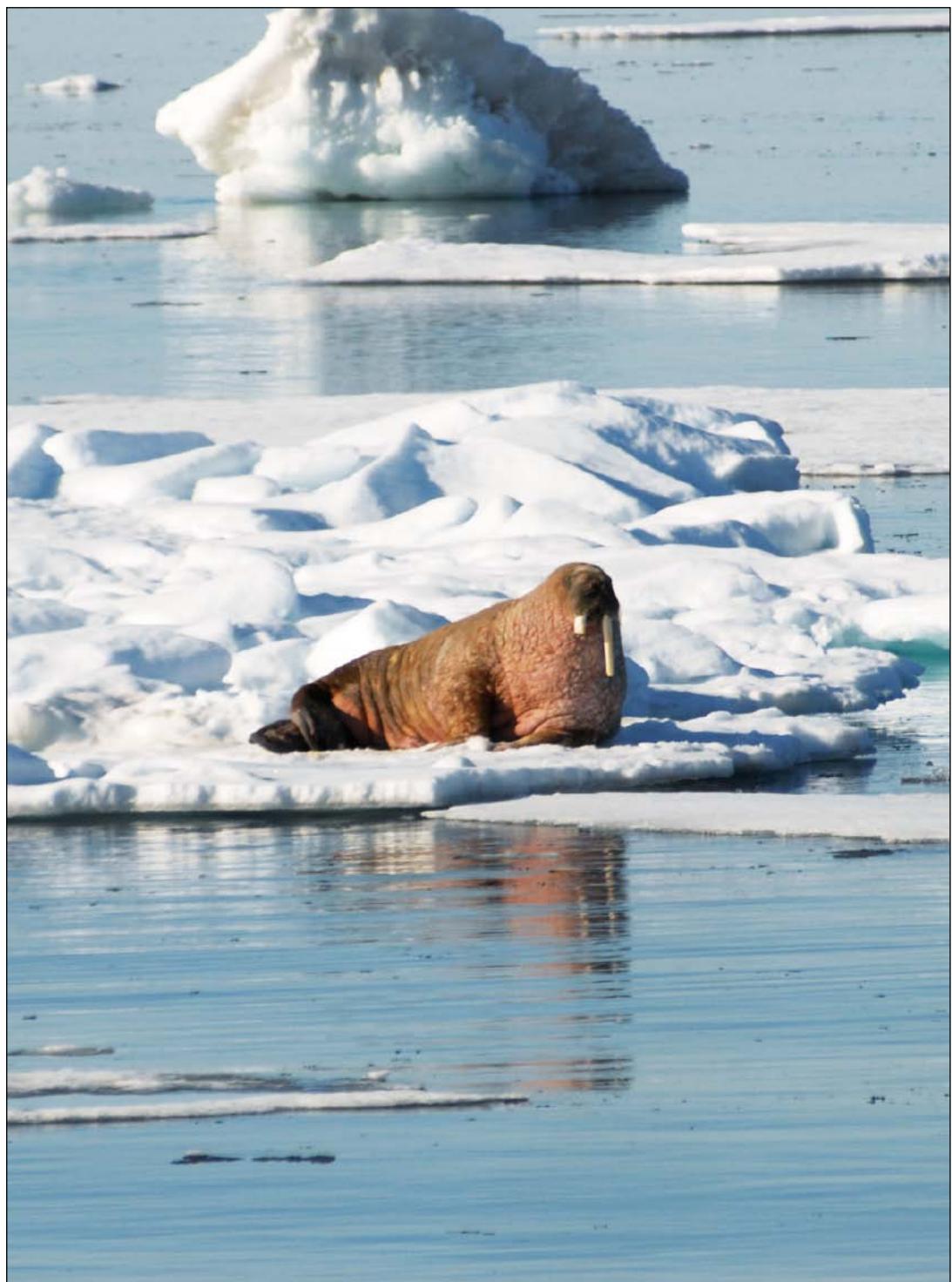


Foto: Henrik Alfthan, Svalbard, Norge.

IFCC NEWS

Päivi Laitinen
IFCC Secretary

The first year of the term of the present IFCC Executive Board is almost over. This has been the year of organizing the basic activities and updating all the documents. The IFCC Handbook is the most important published document on the IFCC functions. It is a very interesting document, which consists of a description of the organization of the IFCC and the members of the Executive Board. One chapter is an article on the role of clinical chemistry and laboratory medicine in healthcare. A brief history of the Federation, as well as information on the IFCC Full Members, the Corporate Members, the Affiliate Members and the Regional Organizations are inclu-

ded in the Handbook. IFCC co-operates with many International Organizations and all these bodies are listed in the Handbook. It has also a lot of background information on all the activities of the IFCC functional units.

The Executive Board has written a mission statement and aims of the IFCC as well as the overall strategic plan and strategic objectives for the term 2009–2011. The aims of IFCC are:

- To complement and enhance the activities of its members



Foto: Veikko Somerpuro.

- To transcend the boundaries of a single nation or a single corporation, or a geographical, cultural or linguistic group of nations in developing the field of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
- To provide a forum for standardisation, in the broadest sense, at a high level
- To disseminate information on "best practice" at various levels of technology and of economic development
- To promote a vision of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine that extends beyond traditional narrow perceptions of the field.

IFCC achieves these aims by publishing information and guidelines relating to the education of clinical chemists and laboratory physicians, by defining principles and publishing recommendations for the standardisation of analytical procedures and for the interpretation of analytical results , and by promoting meetings of clinical chemists and laboratory scientists through congresses, symposia and workshops in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and by encouraging dialogues with clinicians on matters of common interest.

The principal objectives of the strategic plan are

- To improve and maintain the multidisciplinary and international leadership of IFCC in standardisation activities.
- To ensure that its standardisation and research activities are more oriented towards the patient and towards the health of the individual.
- To ensure consistency between its activities and the stated expectations of the IFCC members, recognising the needs of both developed and developing countries.
- To develop and maintain IFCC communications, to promote publications and products from IFCC, including publications and reference materials, and to set up joint promotion activities with international organisations such as WHO, WASPaLM, IUPAC, IRMM, CLSI and others.
- To establish collaborations, joint meetings and projects with international organisations having interest in the field of Laboratory Medicine such as IUPAC, ISTH, IATDM, IRMM, CLSI.
- To promote IFCC through international and regional congresses.
- To promote Members' activities.

- To encourage professional development of individuals in National Societies and the recruitment of new members and experts to IFCC operating units.
- To develop and maintain Public Relations.

Each new IFCC Executive Board revisits and interprets these principal objectives so that they are fresh and relevant to current issues, challenges and opportunities. The present Executive Board has outlined 25 different objectives for the on-going term of office, which is a great and ambitious challenge for us, but I am sure we can accomplish all of them.

The Executive Board has had three meetings during the year the first one being on March in Windsor, and the second one was held during the EuroMedLab in Innsbruck. The last meeting was held in mid-November in Milano. The last meeting of the year is always a budget meeting where also Division Chairs are present. They give their reports of the past year's activities of their Divisions as well as the budget proposals for the next year. The Executive Board then discusses the reports and the proposals and makes the final decision. The budget discussion for the year 2010 was very challenging because of the present financial situation and the losses in IFCC investments. Year 2010 is also a year when there is no IFCC congress so no major income from congress is to be expected that year. The Executive Board approved the budget with some concern and realizing that we have to keep supporting the important work of different Committees and Working Groups. The Executive Board itself plans to cut down its expenses by having only two meetings in 2010.

The major IFCC event in 2010 is the General Conference which will be held on April 16-19, in Corfu, Greece. The information on this event which is intended for the National Representatives and the Presidents of the Full Member Societies, the representatives of the Corporate Members and the Affiliate Members is available on the IFCC website. Also most of the IFCC functional units have their meetings during the General Conference.

We also need to mark the events of the 2011 in our calenders. The next Ortho Clinical Diagnostics Conference will be held in Paris on February 26-27, 2011. The information on this conference is available on the IFCC website. And of course ICCCLM Berlin is on May 15-20, 2011. (www.ifcc.org)

Den vandrande vetenskapsmannen Fadoland

Per Simonsson

Förr eller senare måste den vandrande vetenskapsmannen angöra Lisboa. Förr eller senare måste *the Portuguese Northerlies* föra vattendrämmaren runt Cabo da Roca, uppför Rio Tejo, under hängbron – hård nordan, frisk medström – ända in i Doca de Alcantara, in i Fadoland.

*"Rädsan far bort med vinden
Rädsan du hörde i min röst"*

Måndag och onsdag afton fylls de åtta små borden på Tasca do Chia, på Rua Diário Notícias, en av gränderna i Bairro Alto. Trångt vid baren och kvällens förste sångare hyschar oss till tystnad. Två stränginstrument – spansk gitarr, portugisisk luta med tolv obönhörliga stålsträngar – och en naken röst tål inga distraktioner. Inte heller Fado - Fate - Ödet.

*"Till stadens gator sjunger jag om kärlek
med längtans röst
och en tidlös fados smärta"*

Man får röka på Tasca do Chia och den vibrerande fadostämman kräver rök och sorg och förlust. Ännu en medelålders man stiger fram och ger sin bekännelse i den obrutna raden av bekännelser, om ödet och förlusten, än en gång förlusten och befrielsen. Eller i vart fall någon sorts försoning, kollektiv i kväll i den tätta luften. Den mänskliga komedin, buren gemensamt.

Servitrisen är 140 centimeter lång, inklusive högklackade stövlar; serveringspersonal i ögonhöjd med gästerna: Vin, ost, bröd.

Henrique Gonçales - *cantador de Fado* – fyller 86 år idag, och vi sjunger för honom. Han reser sig, rättar till kepsen, gubbvibrato, narrativ, inte ett ord portugisiska förstått, inte en ton misstolkad. Minnen blir svagare, bleknar, likt rösten, men minnena är odödliga, likt rösten, likt sorgen, likt Fado.

Ett sus, svagt sus, när Mariza med chokladvän flyter likt en fallande basgång genom trängseln, in till innersta bordet som plötsligt görs ledigt. Mariza, Amália Rodrigues arvtagerska i Fadoland, blonde-rad mulatt, snaggad, mörkögd, spelande blick och lekande långa lemmar.

*"O själ! Min själ!
Säg mig vem jag är
O själ! Min själ!
Säg mig vart det bär
Lisboa, älska mig!
Det är dit det bär"*

Mariza, neofadons drottning, arenaspelning på Coliseum i förrgår, nu en ledig kväll bland oss på Tasca da Chia. Plötsligt i den packade lokalén.

El cantador de Fado och hans två musikanter svavar runt om takten, leker med dur och moll, leker mellan dur och moll, fram och tillbaka, och nu tar Mariza en kycklingbit ur lergrytan och hennes vackre älskare bara ler och ler.

Oh, kära Baronessan Blixen, kära syster, var är Ni i afton? Eller är det Ni, än en gång i förklädnad, som lägger Er hand på hans mörka arm?

Fado, här och nu, oförbränlig.

Fotnot: Citaten är fria översättningar av fados inspelade av Mariza på Terra (EMI Portugal, 2008).



Vozes do Mar

Mariza (Bild: Birgitta Alemo)

EXPERTline

... make your work flow

- Reliable & standardised laboratory workflow
- Short reaction times for requests from wards
- Cost reduction for processes
- Disease management concepts
- Innovative parameters
- Sophisticated technical validation and support



Sysmex Sverige
Marios Gata 13, 434 37 Kungsbacka
Phone 0300 56 72 02 · Fax 0300 56 72 03
info@sysmex.se · www.sysmex.se

Sysmex Norge
Hvamsvingen 24, 2013 Skjetten
Phone 63 84 01 60 · Fax 63 84 31 40
info@sysmex.no · www.sysmex.no

Sysmex Danmark
Møsvæj 23 · 6051 Almind
Phone 70 20 45 01 · Fax 70 20 45 41
info@sysmex.de · www.sysmex.dk


sysmex

Redaktionskomitéen for Klinisk Biokemi i Norden:

Hovedredaktør: Per Simonsson · Tryk: Clausen Offset

Danmark

Overlæge Linda Hilsted
Klinisk biokemisk afd. KB
Rigshospitalet
Blegdamsvej 9
DK-2100 København Ø
Telefon: +45 35 45 20 16
Telefax: +45 35 45 28 80
E-mail: linda.hilsted@rh.regionh.dk

Island

Överläkare Ingunn Þorsteinsdóttir
Department of Clinical Biochemistry
Landspítali - University
Hospital Hringbraut
IS-101 Reykjavík
Telefon: +354 543 5033
Telefax: +354 543 5539
E-mail: ingunnth@landspitali.is

Finland

Sjukhuskemist Henrik Alftan
Helsingfors Universitetscentralsjukhus
HUSLAB
Kvinnokliniken
Haartmansgatan 2
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
Telefax: +358 9 471 74806
E-mail: henrik.alftan@hus.fi

Sverige

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

NFKK

Medicinsk direktör
Jarkko Ihälainen
Oy Medix Laboratorier Ab
Knektbrogränden 1
FIN-02630 Esbo
Telefon: +358 9 5256259
Telefax: +358 9 5256255
E-mail: jarkko.ihälainen@medix.fi

Norge

Overlege Kristin Moberg Aakre
Laboratorium for klinisk biokjemi
Haukeland Universitetssykehus
N-5020 Bergen
Telefon: +47 5597 3188
Telefax: +47 5597 5976
E-mail:
kristin.moberg.aakre@helse-bergen.no

Sverige

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



Til manuskriptforfattere

Bidrag til Klinisk Biokemi i Norden sendes i elektronisk versjon 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 selvførlærende.

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 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.

Redaktion för Klinisk Biokemi i Norden 2010

Per Simonsson, Anders Larsson,
Henrik Alftan, Linda Hilsted, Palle Wang,
Ingunn Þorsteinsdóttir, (Kristin Aakre
skonas)

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

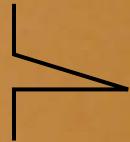
Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

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 vitenskabelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJCLI), har ansvar for utgivelse av Klinisk Biokemi i Norden, og står bak arrangering av de nordiske kongresser i klinisk kjemi.

Det nåværende styre består av Nete Hornung (Randers), Niklas Rye Jørgensen (Roskilde), Tuula Metso (Helsingfors), Harri Laitinen (Helsingfors), Elin Olafsdottir (Reykjavík), Ingunn Þorsteinsdóttir (Reykjavík), Bjørn Bolann (Bergen), Johan Bjerner (Oslo), Per Simonsson (Malmö), Per Bjellerup (Västerås).

Ordførande: Jarkko Ihälainen. Sekreterare: Pamela Edgren (Helsingfors).

Does anyone offer a custom-fit these days?



Siemens Healthcare Diagnostics offers a broad portfolio of innovative hemostasis solutions that fit like they were made just for your lab.

We understand that every hemostasis lab is different. That's why we offer the largest selection of analyzers and assays in the industry. From small labs with routine testing needs, to fully automated specialty labs—we've got you covered. With a history of innovative leadership for more than 30 years, we understand your lab's unique needs and deliver the high quality results you expect. Find out how we can help you get a custom fit: www.siemens.com/diagnostics

Answers for life.

SIEMENS