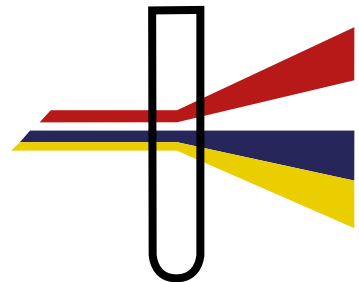


Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 2, vol. 23, 2011

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 Immunodiagnosics Centrifugation Molecular Diagnostics Hematology Hemostasis
Chemistry Disease Management Information Systems **Lab Automation** Flow Cytometry Primary Care



Power Processor



AutoMate 600



AutoMate 800



AutoMate 1200/2500



AutoMate 1250/2550

Hva står skrevet i stjernene?	4
<i>Kristin Moberg Aakre</i>	
Ordförandespalt.	8
<i>Ingunn Þorsteinsdóttir</i>	
D-vitamins betydning for sundhed og sygdom	10
<i>Lars Rejnmark, Lene Heickendorff og Leif Mosekilde</i>	
Måling og standardisering af 25-hydroxyvitamin D i serum	20
<i>Carsten S. Højskov, Lene Heickendorff og Holger Jon Møller</i>	
The Arctic Experience 2012	26
Biomarkörer för Alzheimers sjukdom: Hur kvalitetssäkra?	30
<i>Niklas Mattsson, Henrik Zetterberg och Kaj Blennow</i>	
MicroRNA: Key regulators of gene expression - analytical aspects and clinical potential	34
<i>Helge Røsjø og Kari Bente Foss Haug</i>	
Falskt for høye målinger av kalium i plasma og serum - mange årsak og ukjente konsekvenser	43
<i>Arne Åsberg og Kristin Moberg Aakre</i>	
Diabetesomsorg på apoteket – fokus på egenmåling av blodsukker	46
<i>Reidun Lisbet Skeide Kjome</i>	
Lyngbyes laboratoriemedicin.	50
<i>Anders Larsson</i>	
Vandrane vetenskapsmannen: La Tafdrup på Poesiens Hus	52

Omslagsbild: NFKKs ordförande Ingunn Þorsteinsdóttir, på toppen av Hafnarfjäll, i färd med att förbättra D-vitaminstatus efter mörk vinter (Foto: Kristján Guðlaugsson).

Ledare

Hva står skrevet i stjernene?

Kristin Moberg Aakre

Laboratorium for Klinisk Biokjemi, Haukeland Universitetssykehus

kristin.moberg.aakre@helse-bergen.no



Hvilke laboratorieanalyser vi skal tilby, på hvilken indikasjon og hvordan disse skal tolkes er noen av de mest sentrale spørsmål innenfor fagområdet medisinsk biokjemi. Ofte begrunner vi våre avgjørelser ut fra "litteraturen angir". Men hva menes med "litteraturen" og hvordan skal vi vektlegge de resultater vi finner der? De fleste vil være enig i at resultater fra en større randomisert studie teller sterkere enn for eksempel en lederartikkel i KBN der man, mer eller mindre velbegrunnet, hevder at verden henger sammen på det ene eller andre vis.

Hvordan skal jeg søke opp litteratur?

Ingen databaser inneholder all relevant litteratur og det er derfor vanligvis lurt å benytte ulike søkemotorer. Innen medisinsk litteratur er Pubmed og Embase en vanlig kombinasjon. I Pubmed kan det være nyttig å lære seg s.k. MeSH søk, der man benytter spesifikke nøkkelord for å begrense søket til det aktuelle. Sitter man med en "nøkkelartikkel" fra f. eks. år 2000 og ønsker å finne nyere sentrale arbeider innen feltet, er det relativt enkelt å gjøre situasjonssøk i "ISI web of knowledge". Da finner man alle artikler som har sitert "nøkkelartikkelen". En aktuell database for systematiske oversiktsartikler i tillegg til Cochrane Library er Health Technology Assessment. Mange bibliotek tilbyr kurs eller assistanse for å lære god søketeknikk og det finns også lærebøker som beskriver dette (1).

Hvilke publikasjoner skal jeg vektlegge?

Innen medisinsk biokjemi ønsker vi ofte kunnskap om ulike analysers diagnostiske egenskaper (for eksempel sensitivitet og spesifisitet). I slike studier er det flere

feilkilder vi bør være oppmerksomme på. For det første må de pasientene som er inkludert være representative for den populasjonen som i klinisk praksis skal undersøkes med testen som blir evaluert (indeks testen) (2). Eksempelvis vil studier angående en cancermarkør gi urealistisk gode resultater i forhold til rutinebruk dersom man inkluderer pasienter med avansert cancer (syk populasjon) og sammenligner disse mot for eksempel medisinerstudenter (frisk populasjon). Så grove feil gjøres heldigvis sjelden. Et mer finurlig eksempel er en studie der man vurderte pro-BNPs egenskaper for å diagnostisere hjertesvikt hos akutt innlagte pasienter med dyspnoe (3). Ca 900 pasienter ble inkludert og diagnosen hjertesvikt ble stilt retrospektivt av klinikere blindet for pro-BNP resultatene. Dette er et bra studiedesign. Det som imidlertid reduserte kvaliteten på denne studien er at man i tillegg har valgt å inkludere 367 pasienter fra et akutt hjertesvikt register. I denne populasjonen hadde alle pasientene akutt hjertesvikt og de utgjorde over halvparten av de pasientene som fikk diagnostisert hjertesvikt. Dette kan gi en overestimering av de diagnostiske egenskapene til pro-BNP i situasjonen "innleggelse pga akutt dyspnoe". Det er også viktig å sjekke at alle pasientene som har tatt indeks testen gjennomfører referanseundersøkelsen (gullstandard dvs. den som den aktuelle analyse skal vurderes mot). I en del tilfeller brukes indekstesten for å avgjøre om referansetesten skal utføres og dette kan gi for høyt estimat av de diagnostiske egenskaper til indeks testen (4). Det samme gjelder hvis man bruker flere referansetester eller de som utfører referansetesten kjenne til resultatet av indeks testen (2).

Det finnes redskaper som kan hjelpe oss å gjøre objektive vurderinger av kvaliteten av vitenskapelig arbeid. En mye brukt sjekkliste (CASP) foreslått brukt

(Fortsætter side 6)

Do more with less.

Let allergy testing be part of your Immunoassay main-stream testing

3gAllergy® provides laboratories with a fully automated solution for better diagnosis of allergic diseases, while improving workflow and reliability of testing. IMMULITE® allergen-specific IgE assays are based on a patented, liquid-allergen technology.

Siemens proprietary liquid allergens are the key to making IMMULITE® Immunoassay allergy tests sensitive, specific, and reliable. The soluble polymer support for the allergens increases the number of binding sites and their accessibility to allergen-specific IgE antibodies. Analytical evaluations and clinical comparison studies^{1,2} confirm the reliable performance of the assay system and the utility of 3gAllergy® for specific IgE determinations in the routine laboratory setting.

3gAllergy assays are FDA-cleared for quantitative results and calibrators are standardized against the WHO 2nd International Reference Preparation (IRP)75/502, a coded sample of human serum total IgE.

The comprehensive 3gAllergy® menu covers more than 400 allergens, 55 panels and a growing number of molecular allergens.



With the introduction of molecular allergens the laboratory can provide physicians with additional information such as risk assessment and cross-reactivity patterns and thereby improving allergy diagnosis. Information obtained from analyzing molecular allergens also aids the physician in deciding on allergen specific immunotherapy.

All allergens on the 3gAllergy® menu, including the molecular allergens, can be assayed for specific IgG or IgG4 in addition to the routine testing of specific IgE.

The quantitative measurement of specific IgG antibodies may serve as a monitoring tool for the evaluation of immunological responses during immuno-therapy³.

Allergy testing on the IMMULITE® platform provides laboratories with unparalleled flexibility in terms of work-flow capabilities. Depending on the needs of your laboratory – allergy can be run alongside your routine immunoassays either on a stand alone instrument or fully integrated on a track system (ADVIA WorkCell® or ADVIA LabCell® systems).



There are already several customers in the Nordic countries that are running allergy as part of their fully automated processes.

For further information visit us at www.siemens.com/diagnostics or contact your local Siemens representative.

1. Ollert, M, et al. Allergen-Specific IgE Measure by a Continuous Random-Access Immunoanalyzer: Interassay Comparison and Agreement with Skin Testing. *Clin Chem*, 2005; 51(7) 1241-1249
2. Guilloux, L. et al. Peanut allergy diagnosis in the context of grass pollen sensitization for 125 patients: roles of peanut and cross-reactive carbohydrate determinants specific IgE. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149:91-97
3. Müller UR. Recombinant hymenoptera venom allergens. *Allergy*. 2002;57:570-6.

ADVERTISEMENT

(Fortsat fra side 4)

ved vurdering av studier angående diagnostiske tester inneholder følgende hovedpunkter (1,5):

VALIDITET:

- Er det klart hva testen skal diagnostisere?
- Ble testen sammenlignet med en uavhengig og akseptable referanse standard?
- Var de som utførte testen og referanse testen blindet for resultatet av motsvarende test?
- Ble samme referanse standard brukt på alle pasientene?

RAPPORTERING:

- Diagnostisk sensitivitet og spesifisitet evt. "Likelihood ratio" skal presenteres på en forståelig måte og fortrinnsvis med konfidensintervall.

APPLISERBARHET:

- Er reproduserbarheten av testen og tolkningen av denne tilfredsstillende i klinisk praksis?
- Er studiesituasjonen sammenlignbar med aktuell klinisk setting?
- Vil test resultatene endre behandlingsstrategi?
- Vil pasientbehandlingen bedres som et resultat av testen?

De fleste større journaler forlanger at man har brukt en sjekklister når man vil publisere data angående diagnostiske tester. Den mest aktuelle innen klinisk kjemi (STARD) er noe mer detaljert og omfattende en det som presenteres over (6).

Laboratorietester brukes også for å monitorere pasienter. Dette er ofte kostbart og det er viktig å undersøke om pasientens situasjon faktisk bedres som en følge av en slik intervensjon. I klinisk medisin er vanligvis randomiserte studier vektet som sterkere bevis for eller mot effekt av et tiltak enn data som kommer fra observasjonsstudier (1, 7). Studien er randomisert når pasientene ved loddrekning deles i grupper og mottar ulik intervensjon på bakgrunn av det. Effekten av intervensjonen (på spesifikke endepunkter) blir så sammenlignet mot den gruppe som ble trukket ut til standard behandling.

Observasjonsstudier beskriver sammenhenger slik de foreligger og det er da ofte vanskelig å tolke hvilke eller om intervensjonen er effektiv. Et eksempel kan være spørsmålet om diabetes pasienter som ikke bruker insulin bør utføre glukose egenmåling (GEM).

Dette er et kontroversielt tema og det finns en rekke studier med sprikende resultater (8). I en observasjonsstudie vil man følge pasientene og kanskje komme til det resultat at de pasienter som bruker GEM har bedre HbA1c verdier enn de som ikke gjør det (9). Dette kan skyldes at GEM hovedsakelig er utført av pasienter med stor motivasjon for diabetes behandling og derfor har en større grad av bevissthet rundt flere glukosesenkende tiltak. Samtidig kan man i andre studier oppleve å få det motsatte resultat; pasienter som bruker GEM har dårligere HbA1c enn de som ikke gjør det (10). En årsak kan da være at GEM hovedsaklig er iverksatt hos pasientene med dårlig blodsukkerregulering. En randomisert studie vil i større grad unngå denne typen tolkningsproblemer.

Hvordan skal jeg ta en beslutning?

Det å ta beslutninger på et kunnskaps basert grunnlag kan være en meget omfattende prosess. Først skal man gå gjennom all tilgjengelig litteratur om emnet og deretter skal pasienters og klinikeres syn inkorporeres og kostnadseffektivitet vurderes (7). En fristende løsning kan derfor være å bruke klinisk praktiske retningslinjer. Det er vist i flere studier at retningslinjer har dårlig kvalitet og i økende grad er basert på forskningsdata av lav kvalitet og konsensus (11, 12). Videre tar det tid å skrive retningslinjer og de er vanligvis gjeldene noen år slik at disse ofte ikke tar hensyn til nyere forskningsdata. Dersom man vil støtte seg til retningslinjer bør man derfor bruke noen som har tydelige og velfunderte begrunnelser for sine anbefalinger (13).

Det bør være gjort grundig rede for søk og den gradering av forskningsdata som er angitt må stemme med de publikasjoner som faktisk er sitert (angir man høyeste gradering må man ha sitert randomiserte kliniske studier eller flere observasjonsstudier der "confounding" er usannsynlig). Kostnadseffektivitet og mulige bivirkninger av behandling (eller testing) bør være omtalt, aktuelle pasientgrupper og ulike medisinske spesialiteter (for eksempel medisinsk biokjemiker) bør være involvert. Hvis alle retningslinjene anbefaler det samme vet du at det er konsensus om temaet, men det trenger ikke bety at den anbefalte praksis er vitenskapelig dokumentert eller for den saks skyld riktig.

Som medisinsk biokjemisk profesjon er en av våre hovedutfordringer å kvalitetssikre analysetilbudet vårt og tolkningen av analyseresultatene. Hvor grundig dette skal gjøres i hvert enkelt tilfelle vil variere

avhengig av konsekvensene og i denne artikkelen er kun diskutert enkelte smakebiter fra fagfeltet kunnskapsbasert medisin. Som hovedregel vil jeg, basert kun på min sunne fornuft, foreslå; en større endring i prosedyrer kan iverksettes dersom den er så godt fundert at man, hvis man vil og finner det tilstrekkelig interessant, kan publisere resultatet minimum i Klinisk Biokemi i Norden.

Referanser

1. Price CP, Christenson RH. Evidence-based laboratory medicine. Principles, practice, and outcomes. Second edition. AACC Press Washington DC, USA 2007.
2. Lijmer JG, Mol BW, Heisterkamp S, Bossel GJ, Prins MH, van der Meulen JH, Bossuyt PM. Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA* 1999;282:1061-6.
3. Januzzi JL, van Kimmenade R, Lainchbury J, Bayes-Genis A, Ordonez-Llanos J, Santalobal M, et al. NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients: the International Collaborative of NT-proBNP Study. *Eur Heart J* 2006;27:330-7.
4. Mol BW, Lijmer JG, Evers JL, Bossuyt PM. Characteristics of good diagnostic studies. *Semin Reprod Med* 2003;21:17-25.
5. Critical Appraisal Skills Programme (CASP) <http://www.sphnhs.uk/what-we-do/public-health-workforce/resources/critical-appraisals-skills-programme/?searchterm=CASP> (Accessed April 2010).
6. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Ann Intern Med* 2003;138:W1-12.
7. Guyatt GH, Haynes RB, Jaeschke RZ, Cook DJ, Green L, Naylor CD, et al. Users' Guides to the Medical Literature: XXV. Evidence-based medicine: principles for applying the Users' Guides to patient care. Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA* 2000;284:1290-6.
8. McAndrew L, Schneider SH, Burns E,

Leventhal H. Does patient blood glucose monitoring improve diabetes control? A systematic review of the literature. *Diabetes Educ* 2007;33:991-1011; discussion 2-3.

9. Martin S, Schneider B, Heinemann L, Ludwig V, Kurth HJ, Kolb H, Scherbaum WA. Self-monitoring of blood glucose in type 2 diabetes and long-term outcome: an epidemiological cohort study. *Diabetologia* 2006;49:271-8.
10. Schutt M, Kern W, Krause U, Busch P, Dapp A, Grziwotz R, et al. Is the frequency of self-monitoring of blood glucose related to long-term metabolic control? Multicenter analysis including 24,500 patients from 191 centers in Germany and Austria. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006;114:384-8.
11. Nagy E, Watine J, Bunting PS, Onody R, Oosterhuis WP, Rogic D, et al. Do guidelines for the diagnosis and monitoring of diabetes mellitus fulfill the criteria of evidence-based guideline development? *Clin Chem* 2008;54:1872-82.
12. Tricoci P, Allen JM, Kramer JM, Califf RM, Smith SC, Jr. Scientific evidence underlying the ACC/AHA clinical practice guidelines. *JAMA* 2009;301:831-41.
13. Atkins D, Best D, Briss PA, Eccles M, Falck-Ytter Y, Flottorp S, et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2004;328:1490.



Foto: Henrik Alfthan

Ordförandespalt

Ingunn Þorsteinsdóttir

NFKK

Varav hjärtat är fullt talar munnen, säger ordspråket. Mitt hjärta och huvud är just nu fullt av tankar om den kommande nordiska kongressen i klinisk kemi. Förberedelserna är nu i full gång och tar ansenlig tid i anspråk hos mig och kollegorna på Island.

En av de viktigaste regelbundet återkommande händelserna i det nordiska samarbetet inom klinisk kemi är den nordiska kongressen i klinisk kemi som hålls vart annat år, där de fem nordiska länderna turas om att organisera kongressen. Nästa nordiska kongress blir på Island om ett drygt år, den 12-15 juni 2012. Vi har gjort överenskommelse med en resebyrå, beställt lokal för kongressen och kongressbanketten. Kongressen kommer att hållas på Hotel Hilton Nordica som ligger nära centrum i Reykjavik och i direkt anslutning till Reykjaviks mest populära badanläggning och fri-luftsområde, Laugardalur. Nu arbetas det för fullt med det vetenskapliga programmet i den vetenskapliga kommittén och redan nu har ett antal framstående och spännande föreläsare tackat ja till att komma till Island och hålla föredrag. Närmare information finns på kongressens hemsida: www.nfkk2012.is. Hemsidan kommer att updateras allt eftersom arbetet med kongressen framskrider. Följ gärna med på hemsidan.

De nordiska länderna är i olika stadier när det gäller övergången till den nya IFCC-enheten för HbA1c. I Finland började man använda den nya IFCC-enheten för HbA1c redan i mars 2010. Båda enheterna rap-

porteras dock fortfarande. En expertgrupp i Finland arbetar nu med riktlinjer angående när man skall sluta rapportera den gamla enheten och enbart använda den nya enheten, mmol HbA1c/mol Hb.

I Danmark rapporteras den nya enheten och på många laboratorier även den gamla enheten för

HbA1c. På många sjukhus rapporteras eAG (estimated average glucose), vilket visat sig vara till stor glädje och nytta för patienterna, även om eAG enbart skall betraktas som ett pedagogiskt redskap, enligt Nete Hornung, ordförande i Dansk Selskab for Klinisk Biokemi.

I Sverige har man övergått från att rapportera HbA1c i Mono S till den nya IFCC-enheten. Svensk Förening för Klinisk Kemi har i samarbete med Equalis, svenska endokrinologföreningen, svensk förening för diabetologi, svensk förening för sjuksköterskor i diabetesvård och svenska barnläkarföreningens sektion för endokrinologi och diabetes publicerat utmärkt informationsmaterial för patienter och sjukvårdspersonal. Detta informationsmaterial finns på hemsidan: www.hba1c.nu - som nu även innehåller information på engelska.

I Norge och på Island har man valt att avvakta med övergången till den nya IFCC enheten.

Dessa rader skrivs på vårdagsjämningen, den 20 mars. Låt oss alla njuta av att den ljusare tiden som är så viktig för oss som bor på dessa nordliga breddgrader.





Troponin I
CKMB
Myoglobin
CRP
D-dimer
BhCG
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
Åkandevvej 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

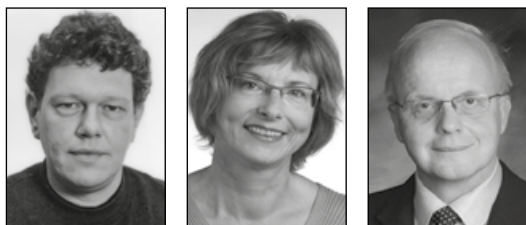
Triolab Oy
Lemminkäisenkatu 20
FI-20520 TURKU
Puh.: +358 201 226 600
Fax: +358 201 226 601
www.triolab.fi

D-vitamins betydning for sundhed og sygdom

Lars Rejnmark ¹⁾, Lene Heickendorff ²⁾ og Leif Mosekilde ¹⁾

¹⁾ Medicinsk Endokrinologisk Afdeling, Aarhus Sygehus, Aarhus Universitetshospital

²⁾ Klinisk Biokemisk Afdeling, Aarhus Sygehus, Aarhus Universitetshospital
 rejnmark@post6.tele.dk



I de seneste år er der publiceret en række artikler omhandlende mulige pleiotope effekter af D-vitamin. Hovedparten af studierne har vist positive effekter af D-vitamin, herunder at en god D-vitaminstatus muligvis kan forhindre eller lindre en række folkesygdomme som fx kræft, infektioner og hjertekarsygdom. Fundene har påkaldt sig stor opmærksomhed både i videnskabelige kredse og i pressen.

På baggrund af resultaterne har mange argumenteret for, at der bør gøres en indsats, her og nu, for at bedre D-vitaminstatus i den brede befolkning. Andre har forholdt sig mere kritisk til problematikken og fremført, at resultaterne hovedsageligt stammer fra associationsstudier, og at der fortsat mangler dokumentation for en kausal sammenhæng. I denne oversigt opsummerer vi, hvorledes mangel på D-vitamin defineres, forekomsten af D-vitaminmangel og den foreliggende evidens for mulige konsekvenser af mangel på D-vitamin. Desuden kommer vi med rekommandationer for forebyggelse og behandling af D-vitaminmangel. Nomenklaturen for de forskellige D-vitamin metabolitter er anført i faktaboks I.

Kilder til D-vitamin

Kroppens indhold af D-vitamin stammer hovedsageligt fra den endogene syntese af cholecalciferol (vitamin D₃) i huden, mens en mindre del (10-20%) tilføres med kosten, som langt overvejende indeholder vitamin D₃,

(Fortsætter side 12)

Faktaboks I. Vitamin D metabolitter og synonymymer som hyppigt anvendes

Vitamin D ₂	ergocalciferol	Vitamin D bruges som samlebetegnelse for både vitamin D ₂ og D ₃
Vitamin D ₃	cholecalciferol calciol	
25-hydroxyvitamin D ₂	25OHD ₂ 25-hydroxyergocalciferol	25OHD bruges som samlebetegnelse for både 25OHD ₂ og 25OHD ₃
25-hydroxyvitamin D ₃	25OHD ₃ 25-hydroxycholecalciferol calcidiol, calcifediol	
1,25-dihydroxyvitamin D ₂	1,25(OH) ₂ D ₂ 1,25-dihydroxyergocalciferol	1,25(OH) ₂ D, eller aktivt D-vitamin bruges som samlebetegnelse for 1,25(OH) ₂ D ₂ og 1,25(OH) ₂ D ₃
1,25-dihydroxyvitamin D ₃	1,25(OH) ₂ D ₃ 1,25-dihydroxycholecalciferol calcitriol	



CGM Analytix - ett ÄKTA multidisciplinärt LIS

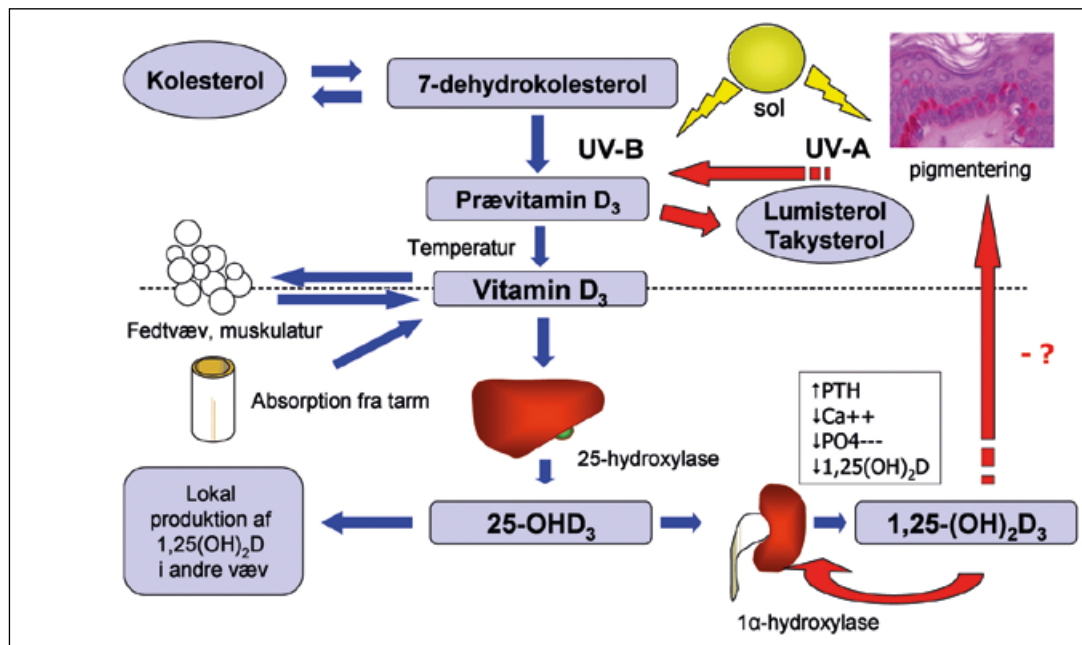
- Ett komplett stöd från provtagning till provsvar - stöd för hela laborieprocessen
- Förenklad och förbättrad driftsituation - ett system istället för flera
- Nya medicinska möjligheter - patientdata tillgängligt över disciplin-gränserna i ett och samma system
- Förenklad integration mot omgivande vårdssystem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

CGM Analytix är nästa generations laborieredatasytem med stöd för klinisk kemi, mikrobiologi och patologi/cytologi.



www.compugroupmedical.se

Figur 1. Vitamin D metabolismen.



(Fortsat fra side 10)

og kun D₂ i meget begrænset mængde. Oprindeligt blev D-vitamin anset for at være et vitamin, eftersom kosttilskud kunne helbrede rakitis og osteomalaci. I dag opfatter de fleste dog D-vitamin som et hormon af betydning for kalcium-fosfat homeostasen og knoglemetabolismen. Imidlertid må D-vitamin fortsat anses for et essentielt næringsstof i tilfælde af utilstrækkelig endogen syntese.

Endogent dannes cholecalciferol i huden ud fra 7-dehydrocholesterol (prævitamin D₃), når huden udsættes for ultraviolet B (UVB) lys i bølglængden 290-315 nm fra solen eller andre kilder (fx solarier) [1] (Fig. 1). Huden er særdeles effektiv til at danne D-vitamin. Helkropsbestråling med sollys, der fører til en ganske let rødme af huden, medfører således, at der dannes ca. 20.000 IE (500 µg) D-vitamin [2]. Raske mennesker kan dog ikke blive forgiftede med D-vitamin ved at opholde sig i solen. Ved længere tids solesponering omdannes D-vitaminet i huden til inaktive metabolitter (fx lumisterol og tachysterol) og optages således ikke i den systemiske cirkulation (Fig. 1). Tillige beskytter en tiltagende hudpigmentering som følge af solbestråling mod en for kraftig D-vitaminsyntese. Hudens syntese af D-vitamin afhænger

både af klimatiske og individuelle faktorer (Faktaboks II) [1,3]. Når solen står lavt på himlen (vinter, aften, morgen), absorberes hovedparten af UVB-strålerne i atmosfæren (specielt i ozonlaget), og når derfor ikke jordens overflade. I Sydeuropa (syd for 37°N) indeholder solens lys UVB-stråler (290-315 nm) året rundt. Jo længere nordpå man kommer, desto kortere bliver den periode i sommerhalvåret, hvor man kan danne D-vitamin. I Danmark (55°N) dannes der således kun D-vitamin i huden fra april til oktober. Luftforurening, skydække og tåge nedsætter ligeledes mængden af UVB-stråler, som når jordens overflade, og dermed syntesen af D-vitamin. De individuelle faktorer af betydning for D-vitaminsyntesen omfatter graden af hudpigmentering, solsøgende adfærd, beklædningsvaner (dækkende klæder) og høj alder. Med alderen mindskes hudens evne til at danne D-vitamin og antallet af vitamin D receptorer (VDR) i fx muskelfvæv, hvorfor et lavt D-vitaminsniveau må anses for at være særligt udslagsgivende i den ældre del af befolkningen.

Kosten er generelt fattig på D-vitamin. I Danmark er det gennemsnitlige indtag på 2-3 µg/dag. Gennem kosten tilføres D-vitamin hovedsageligt i form af cholecalciferol, da kun ganske få fødeemner (fx visse svampe) indeholder vitamin D₂. Fisk- og i særdeleshed fede fisk som laks og makrel - er rige på D-vitamin.

Faktaboks II. Årsager til D-vitaminmangel.

Nedsat kutan produktion**Klimatiske årsager**

- Lav solhøjde
 - Høje breddegrader (lav zenithhøjde)
 - Vinterhalvår (lav zenithhøjde)
 - Aften og morgen
- Skyer, tåge og dis
- Luftforurening (røg, støv, smog, haze)

Individuelle årsager

- Høj alder (> 65 år), nedsat kutan 7-dehydrokolesterol
- Pigmenteret hud (indvandrere)
- Manglende solekspostion
 - Intensiv brug af solcreme
 - Tradition, hudsygdomme, sarcoidose
 - Fotosensibiliserende medicin
 - Dækkende klæder (indvandrere)

Nedsat intestinal absorption**Lavt kost-vitamin D**

- Habituel (indvandrere)
- Vegetarer, veganere

Malabsorption

- Coeliaki, Whipple's sygdom, Crohn's sygdom
- Tyndtarmsresektion
- Pankreatitis, leversygdom, cholestase
- Kolesterol-absorptionshæmmere

Øget katabolisme**Metabolisk**

- Adipositas (deponering og degradering i fedtvæv)
- Leverinduktion (antiepileptica, rifampicin, mm)
- Primær hyperparathyreoidisme

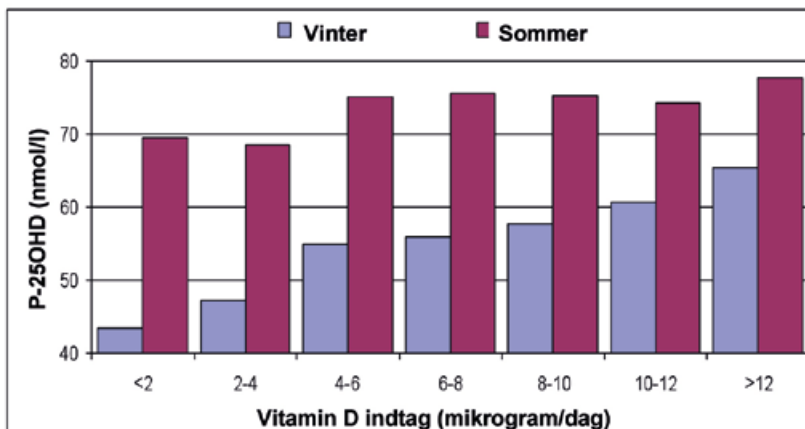
Renalt tab

- Nefrotisk syndrom

Vildlaks indeholder typisk 25 µg D₃/100 gram, hvorimod indholdet er betydeligt lavere (5-10 µg/100g), hvis laksen er opdrættet [3]. Opdrættede laks fodres typisk med vegetabiliske olier, som er fattige på D-vitamin i modsætning til havets krill og plankton. Danskernes kostindtag af fisk er begrænset, hvorfor hovedparten af D-vitaminindtaget gennem kosten stammer fra kilder, som er relativt D-vitaminfattige. Da de imidlertid indtages i store mængder, er deres bidrag til det samlede indtag af D-vitamin dog forholdsvis stort. Danskernes

D-vitaminindtag gennem kosten stammer således fra fisk (33%), kød (32%), mælk (15%), æggeblomme (11%) og andre kilder (9 %) [4]. I andre nordiske lande er indtaget af fisk større end i Danmark, og kostens bidrag af D-vitamin til den samlede D-vitaminstatus er derfor også større. I Danmark er der mulighed for frivillig berigelse af margarine efter ansøgning, mens andre fødevarer som fx mælk ikke beriges. I Sverige og Finland er der obligatorisk berigelse af mælk og

(Fortsætter side 14)



Figur 2. Betydningen af kostens indhold af D-vitamin (inkl. vitamintilskud) for D-vitaminstatus. I vinterhalvåret stiger plasma 25-hydroxyvitamin D med kostens indhold, hvorimod kostens indhold af D-vitamin ikke påvirker P-25OHD i sommerhalvåret (data fra The Danish Osteoporosis Prevention Study, DOPS).

(Fortsat fra side 13)

margarine, mens der i Norge er mulighed for frivillig berigelse. Det er hovedsageligt i vinterhalvåret, at kostens indhold af D-vitamin er af betydning for den samlede D-vitaminstatus (Fig. 2). Ca. 30 pct. af danske voksne mænd og 50 pct. af voksne kvinder tager om vinteren et multivitamintilskud, der typisk indeholder 5 µg D-vitamin. Vitamin D tilskud, herunder i form af multivitamin-tabletter eller i kombination med calcium, indeholder langt overvejende vitamin D₃. De Nordiske

Faktaboks III: Sygdomme og symptomer, der skyldes D-vitaminmangel, eller er associeret til D-vitaminmangel.

Veldokumenteret årsagssammenhæng ¹⁾

- Rakitis, osteomalaci
- Frakturer (osteoporose)
- Sekundær hyperparathyreoidisme
- Øget faldrisiko
- Proximal myopati
- Nedsat balance
- Hypertension
- Nedsat overlevelse

Association påvist ²⁾

- Muskelømhed, artralgi og knoglesmerter
- Autoimmune sygdomme (mv)
 - Type 1 diabetes
 - Dissemineret sclerose
- Rheumatoid arthritis
- Inflammatorisk tarmsygdom (Crohn's sygdom)
- Cancer
 - Brystkræft
 - Tyktarmskræft
 - Prostatakræft
- Infektionssygdomme
 - Tuberkulose
 - Øvre luftvejsinfektioner
- Psykiatriske sygdomme
 - Depression
 - Skizofreni
- Metaboliske sygdomme
 - Type 2 diabetes (insulinresistens)

1) Kausaliteten verificeret ved randomiseret klinisk undersøgelse

2) Associationen påvist i epidemiologiske undersøgelser (kohorte, case-control eller økologiske studier)

Næringsstof Rekommandationer anbefaler, at børn < 2 år får 10 µg/dag, voksne mellem 2 og 60 år 7,5 µg/dag, ældre over 60 år, gravide og ammende 10 µg/dag og særligt udsatte ældre med nedsat soleksposition 20 µg /dag [5]. Anbefalingerne kan variere lidt fra land til land, men overordnet er det kun meget få, som får de anbefalede mængder gennem kosten [5].

D-vitaminets metabolisme

Efter at være dannet i huden eller absorberet fra kosten deponeres D-vitamin i fedtvæv og muskulatur. D-vitamin aktiveres gennem 2 successive hydroxyleringsprocesser til 1,25-dihydroxyvitamin D eller (1,25(OH)₂D), som er den vitamin D-metabolit, der har den største biologiske aktivitet. Først hydroxyleres D-vitamin i leveren til 25-hydroxyvitamin D (25OHD), hvorefter 25OHD i nyrerne omdannes til 1,25(OH)₂D. Den renale 1α-hydroxylase stimuleres af calcium- og fosfatmangel og af PTH, medens selve produktet – 1,25(OH)₂D hæmmer sin egen syntese. 1,25(OH)₂D øger desuden nedbrydningen af såvel 25OHD som 1,25(OH)₂D gennem 24-hydroxylering. Herved nedsættes risikoen for D-vitaminforgiftning. Endelig hæmmes syntesen af et knoglehormon, FGF23, der dannes i osteocytterne. De seneste års forskning har vist, at en række væv selv er i stand til at aktivere 25OHD til 1,25(OH)₂D til eget brug. Dette er af betydning for en række metaboliske effekter af D-vitamin [1].

Definition af D-vitaminstatus

D-vitaminstatus bestemmes ved måling af plasma 25OHD, da 25OHD er den D-vitaminmetabolit, som har den længste plasmahalveringstid (2-3 uger) og samtidig ikke er under aktiv metabolisk regulation. Koncentrationen varierer med årstiderne, med laveste koncentrationer i vintermånederne (januar-april) og højest i juli-august [6]. D-vitaminstatus er uafhængig af kostens indhold af D-vitamin om sommeren, mens P-25OHD stiger med tiltagende kost-vitamin D om vinteren (Fig. 2).

I Europa anser man sædvanligvis en P-25OHD koncentration > 50 nmol/l for at være sufficient. Værdier mellem 50 og 25 nmol/l betegnes vitamin D-insufficiens, og værdier < 25 nmol/l betegnes vitamin D deficiens [7,8]. Ved måling af plasmakoncentrationen bestemmes den totale koncentration af vitamin 25OHD₂ og 25OHD₃. 25-hydroxyvitamin D₂ forekommer imidlertid kun sjældent i målbare mængder i den almene befolkning. I en tværsnitsundersøgelse, hvor 2316 kvinder fra Århus-

området fik målt deres D-vitaminstatus, var 25OHD₂-vitamin kun målbart hos 1,1% af kvinderne [6].

Tabel 1 viser forekomsten af D-vitamin deficiens og insufficiens i forskellige grupper af normale voksne danskere [6,8]. I USA og efterhånden også mange steder i Europa er holdningen, at P-25OHD skal være > 75- 80 nmol/l, for at man er vitamin D-sufficient [1,5]. Baggrunden for at hæve grænsen for, hvornår D-vitaminstatus kan anses for at være sufficient, er, at adskillige studier har dokumenteret, at P-25OHD værdier over 75-80 nmol/l er nødvendige for at forebygge sekundær hyperparathyroidisme, tillige med at meta-analyser af randomiserede kontrollerede studier har vist øget knoglemineraltæthed og mindsket risiko for fraktur med stigende P-25OHD koncentrationer [9].

Betydningen af D-vitamin for sundhed og sygdom

Vitamin D udøver sine effekter ved at bindes til den nukleære VDR, hvorved D-vitamin påvirker gentranskriptionen og dermed proteinsyntesen. Tillige er der påvist vitamin D-receptorer lokaliseret til cellemembraner, men den præcise betydning af disse receptorer er endnu uvis.

De klassiske effekter af D-vitamin er relateret til D-vitamins effekter på knoglevæv, muskler, tarm og nyrer. D-vitaminmangel mindsker den intestinale absorption af kalk og fosfat, mens udskillelsen i urinen øges. Dette fører til en kompensatorisk øget PTH-koncentration i plasma, der stimulerer osteoklasternes knogleresorption. Samtidig hæmmer D-vitaminmanglen

osteoplasternes funktion, hvorved mineralisationen af nydannet knoglevæv mindskes. Hos børn fører tilstanden til rakis og hos voksne til osteomalaci, hvor knoglerne er bløde pga. den manglende mineralisering af knoglevævet. Dette giver anledning til knoglesmerter og -ømhed. Hos børn opstår der deformiteter med bøjning af de vægtbelastede lange rørknogler i underekstremiteterne, bækkendeformiteter og klokkeformet brystkasse. Tillige er D-vitamin af betydning for skeletmuskulaturen [10,11]. Ved en svær mangeltilstand opstår der regelret proksimal myopati. Mindre udtalt D-vitaminmangel er dog også vist at kompromittere balance- og koordinationssevnen og øge risikoen for fald [11,12].

En række randomiserede, kontrollerede studier (RCT) har dokumenteret, at tilskud med D-vitamin mindsker risikoen hos ældre for både fald og osteoporotiske frakturer. Meta-analyser af RCT, hvor D-vitamin-tilskud er givet enten alene eller i kombination med calcium, tyder i retning af, at den bedste frakturprofylakse opnås ved samtidigt tilskud af calcium og D-vitamin [13]. Metaanalyser af RCT har tillige vist en mindsket mortalitet hos ældre (>50 år), som har været randomiseret til tilskud med D-vitamin (ofte i kombination med calcium), tydende på en overordnet gunstig effekt af tilskuddet [14].

Tillige med disse veldokumenterede effekter (Evidensniveau I) tyder en række studier på, at D-vitamin også har pleiotrope effekter med virkning på mange andre celler og væv [7,15] (Faktaboks III). Både *in vitro*-,

(Fortsætter side 16)

Tabel 1. Prævalens af D-vitaminmangel.

	N	Alder, år (range)	Plasma 25-hydroxyvitamin D (nmol/l)					
			Median, nmol/l (range)	Andel af populationen som har P-25OHD værdier:				
				<12,5 nmol/l	<25nmol/l	<50 nmol/l	<75nmol/l	
Mænd								
Yngre	40	41 (29-51)	40 (15-91)	0%	20%	68%	95%	Esbjerg
Ældre	32	72 (66-88)	36 (9-80)	9%	25%	72%	97%	Randers
Kvinder								
Voksne	42	44 (30-61)	43 (19-83)	0%	7%	62%	97%	Esbjerg
Voksne ^{a)}	2316	49 (17-87)	62 (9-175)	0,9%	6%	31%	71%	Århus
Sommer	1055	49 (17-87)	70 (9-175)	0,3%	3%	20%	60%	Århus
Vinter	1261	50 (17-86)	55 (9-174)	1,4%	8%	41%	79%	Århus
Voksne	395	64 (50-82)	53 (8-177)	1%	9%	46%	79%	Århus
Perimenopausale	2006	50 (44-59)	58 (12-226)	0%	7%	40%	72%	Århus, Odense København
Ældre	67	73 (66-88)	36 (7-88)	12%	42%	58%	96%	Randers

^{a)} Sommer: Maj - oktober; Vinter: November til april (jf reference 8)

(Fortsat fra side 15)

dyreeksperimentelle-, og epidemiologiske studier har vist effekter af D-vitamin på forekomsten af en række forskellige sygdomme [1]. D-vitamin er vist at påvirke immunsystemet og mindske risikoen for infektioner og autoimmune sygdomme, herunder rheumatoid arthritis, dissemineret sklerose og type I diabetes. Studier har tillige vist en invers sammenhæng mellem D-vitaminstatus og risikoen for at udvikle arteriel hypertension, hjerte-kar-sygdom og type 2 diabetes. D-vitamin hæmmer desuden delingen af en række celler og fremmer deres differentiering. Herved nedsættes risikoen for at udvikle en række kræftformer, som fx brystkræft, tyktarmskræft og blærehalskræft. En nylig WHO-rapport har dog problematiseret, om effekten af D-vitaminstatus på cancerrisiko er lineær. Rapporten fremhæver, at en såkaldt "U-formet" risikoprofil kan gøre sig gældende, hvor såvel høje som lave doser kan være uheldige [16]. Baggrunden herfor er, at enkelte associationsstudier har vist øget risiko for bl.a. kræft- og hjertekarsygdom ved både lave og høje P-25OHD koncentrationer. Resultaterne fra de epidemiologiske studier kan dog i stort omfang være påvirket af confounders, som det ikke fuldt ud er muligt at korrigere for i de statistiske analyser.

Indikation for måling af plasma 25OHD

Hos det enkelte individ er der kun indikation for at måle 25OHD, hvis personen har en særlig risikoprofil (indvandrere, malabsorption mv), eller hvis der er mistanke om sygdomme, som er forårsaget af D-vitaminmangel eller kan være associeret til D-vitaminmangel (Faktaboks IV). Der er ikke indikation for at måle P-25OHD hos i øvrigt raske personer, som ikke tilhører en af disse risikogrupper. Ligeledes er der heller ikke indikation for rutinemæssigt at måle 25OHD hos personer med kroniske sygdomme som fx diabetes, kræft- eller hjertekarsygdom, med mindre der forekommer risikofaktorer som anført i faktaboks IV.

Forebyggelse og behandling af D-vitaminmangel

Personer, som ønsker at sikre sig en sufficient D-vitaminstatus, kan gøre dette gennem livsstilsmodifikation og/eller ved at tage et dagligt tilskud af D-vitamin.

Effekt af livsstilsændringer

I vinterhalvåret stiger P-25OHD med ca. 25 nmol/l, hvis man spiser fed fisk 2-3 gange ugentlig (130g/uge), med 6,2 nmol/l ved daglig indtag af 300 g berigede fedtfattige mælkeprodukter, med 11 nmol/l ved regelmæssig

Faktaboks IV. Indikation for måling af plasma 25-hydroxyvitamin D.

Øget risiko for D-vitaminmangel:

- Etnisk afstamning eller mørklødet hudfarve
- Livsstil (ringe solesposition, ophold inden døre, dækkende klæder)
- D-vitamin fattig kost (veganer, vegetar)
- Sygdomme, hvor D-vitamin er af betydning for ætiologi / behandlingseffekt
 - Malabsorption
 - Leversygdom (specielt cholestatisk)
 - Nyresygdom (nefrotisk syndrom)
 - Hypo- eller hyperkalcaemi
 - Hyper-/hypoparathyreoidisme
 - Forhøjet basisk fosfatase
 - Osteoporose – lavenergifrakturer - fald

Behandling med lægemidler, som øger risikoen for D-vitaminmangel:

- Farmaka, som fører til fedtmalabsorption (orlistat og colestyramin)
- Leverinducerende / fotosensibiliserende farmaka

Mistanke om symptomgivende mangeltilstand:

- Proximal myopati
- Osteomalaci

brug af multivitamin tilskud og med 14,5 nmol/l efter en solferie sydpå [17]. I sommerhalvåret vil 10-30 minutters ophold i solen med blottede arme og ben 3 gange om ugen, hos langt de fleste føre til en P-25OHD koncentration > 50 nmol/l [18]. Hudens evne til at danne D-vitamin er størst under de første minutters ophold i solen. Solesponering bør aldrig føre til rødme af huden, da dette vil øge risikoen for hudkræft.

Tilskud med D-vitamin

D-vitamin absorberes normalt let fra tarmen, hvorfor peroral behandling foretrækkes.

Injektionspræparater med D-vitamin virker langsommere og mindre effektivt end peroral behandling og bør derfor kun anvendes ved malabsorption, hvor D-vitaminmangel ikke kan korrigeres gennem livsstilsmodifikation (solesponering). Pga. en kortere plas-mahalveringstid er ergocalciferol (vitamin D₂) mindre effektiv end cholecalciferol (vitamin D₃). Cholecalciferol

(Fortsætter side 18)



ALLERGY AS YOU'VE NEVER SEEN IT

ImmunoCAP® Molecular Allergology pinpoints disease-causing allergens, for unparalleled insight into allergy

Now you can take allergy diagnosis to a whole new level. Because Phadia, pioneers in allergy testing with nearly 40 years of expertise, are pleased to bring you **ImmunoCAP Molecular Allergology**. It's the most precise, comprehensive and advanced diagnostic technology available today.

Unlike traditional allergy testing, **ImmunoCAP Molecular Allergology** uses single allergen components to quantitatively detect IgE antibodies. It's a level of insight previously unimaginable – one that gives you the ability to accurately assess the risk of allergic reaction, identify cross-reactivity patterns, and determine a patient's suitability for specific immunotherapy. All of which means that you can help your patients put their allergy in perspective, and get back to enjoying life.

To learn more about the advancements we're making in allergy testing, contact your local Phadia representative or visit www.phadia.com.



ImmunoCAP is a registered trademark of Phadia AB.

Phadia

Setting the Standard

(Fortsat fra side 16)

foretrækkes derfor både ved behandling som administreres peroralt og som intramuskulære injektioner [19,20]. Når D-vitamin gives som vitamintilskud stiger P-25OHD gennemsnitligt med 1-2 nmol/l per 1 µg vitamin D/dag. Stigningen i P-25OHD er større hos personer med lave udgangsværdier end hos personer med en sufficient status [21]. D-vitamin virker lige godt ved daglige, ugentlige eller månedlige doseringer, så længe den kumulerede dosis er den samme [22]. Da en daglig tilførsel må anses for at være mest fysiologisk, anbefales det at administrere tilskud med D-vitamin som et dagligt tilskud. Hos personer med en svær symptomgivende mangeltilstand, kan der dog initialt gives højdosisbehandling i form af fx 2500-7500 µg D₃ som enkelt dosis eller 500 µg ugentligt i 8-12 uger. Hvis dagligt indtag er forbundet med ringe compliance kan ugentlig eller månedlig dosering ligeledes være hensigtsmæssig.

Et dagligt indtag på ca. 28 µg D₃ dagligt sikrer, at 97,5 pct. af befolkningen (unge som gamle) vedligeholder plasma 25OHD > 50 nmol/l i slutningen af vinteren, medens der under de samme betingelser kræves ca. 40 µg/dag for at sikre 25OHD > 80 nmol/l [23]. Hos personer med risikofaktorer for D-vitaminmangel, og hos patienter, hvor en sufficient vitamin D-status er af betydning (Faktaboks IV), kan det være hensigtsmæssigt at vurdere effekten af behandlingen en enkelt gang ved at bestemme plasma 25OHD i februar-marts måned, hvor det normalt er lavest. Doseringen om sommeren vil afhænge af solesponeringen og pigmentering. Tilskudsbehandling både vinter og sommer tilrådes indvandrere (fra Palæstina, Tyrkiet, Pakistan, Indien, Sri Lanka og Somalia) og osteoporosepatienter. Hos osteoporosepatienter og ved sekundær hyperparathyreoidisme er det hensigtsmæssigt at kombinere et D-vitamintilskud med kalcium, da kalcium ligesom D-vitamin medvirker til at supprimere plasma PTH. I Danmark tilråder Sundhedsstyrelsen alle (både mænd og kvinder og uanset risikofaktorer) ældre end 70 år at tage et dagligt tilskud på 10 µg D-vitamin i kombination med 800-1000 mg elementært kalcium og at D-vitamin-dosis øges til 20 µg (uanset alder) hos personer, som er i risiko for at udvikle osteoporose.

Perspektiv

Som allerede anført tyder en række studier på, at D-vitamin kan forebygge en række hyppige forekommende sygdomme, herunder kræft- og hjertekarsygdomme (Faktaboks III). Hvis dette er tilfældet, vil en

optimering af D-vitaminstatus i den brede befolkning kunne føre til en væsentlig forbedring af befolkningens almene helbredstilstand. Både i USA og i England er der aktuelt ved at blive iværksat randomiserede kontrollerede studier, som har til hensigt at undersøge betydningen af behandling med D-vitamin for multiple helbredsforstyrrelser. I studierne undersøges effekten af tilskud med D-vitamin i betydeligt højere doser (op til 50 µg/dag) end de doser, som har været anvendt i tidligere undersøgelser (se fx www.vitalstudy.org). Resultaterne fra disse studier vil angiveligt foreligge i løbet af de kommende 5-7 år. Da vi i Norden har et registersystem som på meget effektiv vis registrerer alle sundhedsydelse, ville det være ønskeligt med et tilsvarende Nordisk studium, idet vi med et sådan studium, i en intention-to-treat analyse, kunne lave et meget validt follow-up på alle randomiserede deltagere. Endvidere er der behov for at klarlægge mulige effekter af en optimeret D-vitaminstatus (evt. i form af tilskud med D-vitamin) i den yngre del af befolkningen, da der kun foreligger meget sparsomme data hvad angår mulige effekter af D-vitamin blandt yngre individer.

Referencer

1. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81.
2. Holick MF. Skin: site of the synthesis of vitamin D and a target tissue for the active form, 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Ann N Y Acad Sci* 1988;548:14-26.
3. Chen TC, Chimeh F, Lu Z, Mathieu J, Person KS, Zhang A, Kohn N, Martinello S, Berkowitz R, Holick MF. Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch Biochem Biophys* 2007;460:213-7.
4. Lyhne N, Christensen T, Groth MV, Fagt S, Bliktoft-Jensen A, Hartkopp H, Hinsch H-J, Matthiesen J, Møller A, Saxholt A, Trolle E. *Danskernes kostvaner 2000 - 2002*. Silkeborg: Danmarks Fødevarerforsknin, 2005.
5. Mosekilde L. Vitamin D requirement and setting recommendation levels: long-term perspectives. *Nutr Rev* 2008;66:S170-7.
6. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Mosekilde L. Determinants of plasma PTH and their implication for defining a reference

- interval. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;74:37-43.
7. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;62:265-81.
 8. Mosekilde L, Nielsen LR, Larsen ER, Moosgaard B, Heickendorff L. Vitamin D mangel. Definition og prævalens i Danmark. *Ugeskr Laeger* 2005;167:29-33.
 9. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Stuck AE, Staehelin HB, Orav EJ, Thoma A, Kiel DP, Henschkowski J. Prevention of non-vertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2009;169:551-61.
 10. Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Durmuller U, Staehelin HB, Dick W. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res* 2004;19:265-9.
 11. Broe KE, Chen TC, Weinberg J, Bischoff-Ferrari HA, Holick MF, Kiel DP. A higher dose of vitamin d reduces the risk of falls in nursing home residents: a randomized, multiple-dose study. *J Am Geriatr Soc* 2007;55:234-9.
 12. Ceglia L. Vitamin D and its role in skeletal muscle. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009;12:628-33.
 13. D.I.P.A.R.T group, Abrahamsen B, Masud T, Avenell A, Anderson F, Meyer HE, Cooper C, Smith H, LaCroix AZ, Torgerson D, Johansen A, Jackson R, Rejnmark L, Wactawski-Wende J, Brixen K, Mosekilde L, Robbins JA, Francis RM. Patient level pooled analysis of 68 500 patients from seven major vitamin D fracture trials in US and Europe. *BMJ* 2010;340:b5463.
 14. Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality: A meta-analysis of randomized Controlled Trials. *Arch Intern Med* 2007;167:1730-7.
 15. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006;84:18-28.
 16. IARC Working Group. Vitamin D and Cancer. Lyon:WHO, International Agency for research on Cancer, 2009.
 17. Burgaz A, Akesson A, Oster A, Michaelsson K, Wolk A. Associations of diet, supplement use, and ultraviolet B radiation exposure with vitamin D status in Swedish women during winter. *Am J Clin Nutr* 2007;86:1399-1404.
 18. Rhodes LE, Webb AR, Fraser HI, Kift R, Durkin MT, Allan D, O'Brien SJ, Vail A, Berry JL. Recommended summer sunlight exposure levels can produce sufficient (>20 ng/ml) but not the proposed optimal (>32 ng/ml) 25(OH) D levels at UK latitudes. *J Invest Dermatol* 2010;130:1411-8.
 19. Binkley N, Gemar D, Engelke J, Gangnon R, Ramamurthy R, Krueger D, Drezner MK. Evaluation of ergocalciferol or cholecalciferol dosing, 1,600 IU daily or 50,000 IU monthly in older adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;jc.
 20. Romagnoli E, Mascia ML, Cipriani C, Fassino V, Mazzei F, D'Erasmus E, Carnevale V, Scillitani A, Minisola S. Short and long-term variations in serum calcitropic hormones after a single very large dose of ergocalciferol (vitamin D₂) or Cholecalciferol (vitamin D₃) in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3015-20.
 21. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003;77:204-10.
 22. Ish-Shalom S, Segal E, Salganik T, Raz B, Bromberg IL, Vieth R. Comparison of daily, weekly, and monthly vitamin D₃ in ethanol dosing protocols for two months in elderly hip fracture patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3430-5.
 23. Cashman KD, Hill TR, Lucey AJ, Taylor N, Seamans KM, Muldowney S, FitzGerald AP, Flynn A, Barnes MS, Horigan G, Bonham MP, Duffy EM, Strain JJ, Wallace JM, Kiely M. Estimation of the dietary requirement for vitamin D in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2008;88:1535-42.

Måling og standardisering af 25-hydroxyvitamin D i serum

Carsten S. Højskov, Lene Heickendorff og Holger Jon Møller

Klinisk Biokemisk Afdeling, Århus Universitetshospital

carshoej@rm.dk



Der har de seneste år været stigende fokus på Vitamin D og dets betydning for sundhed og sygdom. Ikke blot på grund af vitaminets centrale rolle i calcium-stofskiftet, men også på grund af en stigende opmærksomhed på mulige effekter på autoimmune sygdomme og cancer (1,2). Den mest pålidelige vurdering af en persons vitamin D-sta-

tus fås ved måling af koncentrationen af 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) i serum (3,4). Dette har medført et stærkt øget antal rekvisitioner af 25(OH)D-analyser i Klinisk Biokemi og dermed et øget behov for robuste og automatiserede metoder. I denne artikel vil vi give et rids over udviklingen af metoder til 25(OH)D-måling og behandle nogle af de analytiske udfordringer, der er knyttet til 25(OH)D-måling med særlig fokus på standardisering og kalibrering.

Udviklingen i rekvirerede analyser

Antallet af udførte vitamin D-analyser er nærmest eksploderet de seneste år og på vores afdeling mere end 10-doblet fra 2001 til 2010, hvor vi udførte mere end 130.000 analyser (Fig. 1). Langt den største del rekvireres fra almen praksis. Antallet toppede i foråret 2010, hvor der fra praksissektoren alene i marts måned blev rekvireret mere end 10.000 prøver. I den måned blev 25(OH)D den 5. mest rekvirerede analyse i almen praksis efter P-Creatinin, -Natrium, -Kalium og -ALAT, og der blev rekvireret flere 25(OH)D-analyser end fx P-Cholesterol(total) og B-Leukocytter og 3 gange så mange som P-Calcium. Vi skønner, at der i 2010 blev udført op mod 1 million analyser i Danmark til en samlet pris på omkring 200 millioner DKK.

Danske rekommandationer for rekvisition af P-25-OHD

Blandt andet på baggrund af ovenstående udsendte Sundhedsstyrelsen i Danmark i maj 2010 en anbefaling vedrørende måling af Vitamin D, hvori det blev

pointeret, at der ikke er grundlag for at screene for vitamin D-mangel hos personer med almindelig sund livsstil eller for måling af vitamin D hos patienter med kendt kronisk sygdom. Måling af vitamin D bør forbeholdes personer i risiko for svær D-vitaminmangel samt patienter med øget risiko for fald og frakturer, nyresygdom, malabsorption eller leversygdom (1,5). Anbefalingen ser ud til at have haft effekt, idet der siden er set et lille fald i antal rekvisitioner (Fig. 1).

Gennemgang af tidligere måleteknikker (historisk perspektiv)

En række faktorer gør det til en stor udfordring at måle 25(OH)D. Vitaminet er i serum stærkt proteinbundet, og der ses typisk matrix-effekter ved immunometrisk måling. Ydermere eksisterer 25(OH)D i de to former 25(OH)D₂ (25-hydroxy-ergocalciferol) og 25(OH)D₃ (25-hydroxy-cholecalciferol), der begge er klinisk relevante at bestemme. Der har tillige i lang tid været uenighed om standardisering af analysen (6).

De første metoder til bestemmelse af 25(OH)D blev

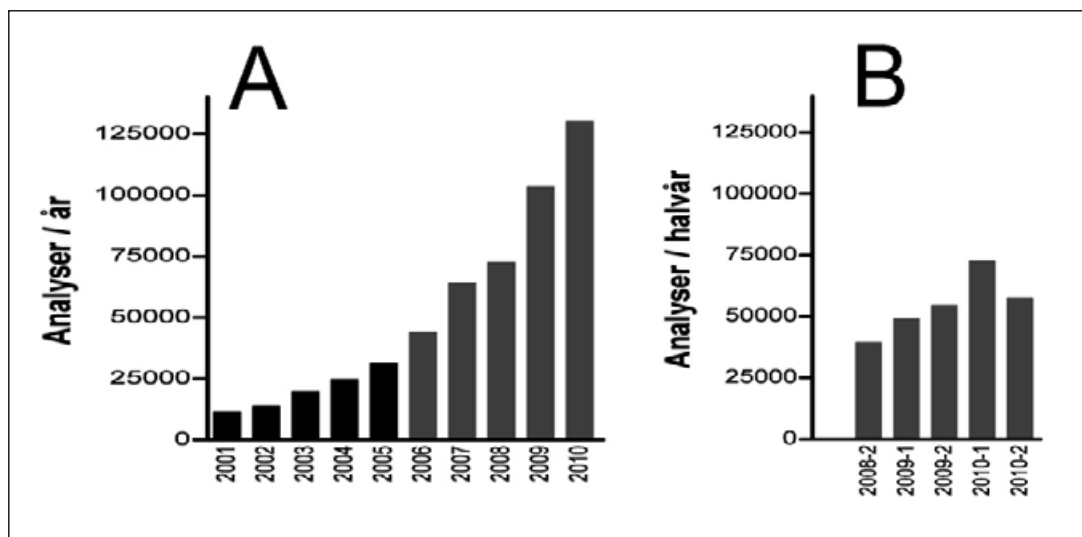


Fig. 1. A. Udvikling i antal rekvirerede 25(OH)D analyser pr. år på Århus Universitetshospital. B. Det seneste halve år ses for første gang et fald i rekviritionerne. Dette falder sammen med at Sundhedsstyrelsen i maj 2010 udsendte en anbefaling vedrørende rekvirition af 25(OH)D analysen (5).

beskrevet i begyndelsen af 1970'erne og var baseret på kompetitiv proteinbinding efter væskeekstraktion (7). I samme periode blev kromatografiske metoder som fx HPLC med UV-detektion og gas-kromatografi også tilgængelige og taget i anvendelse i forsknings-sammenhæng.

Kitbaserede kommercielle assays

De første kommercielle kit-baserede RIA-assays blev introduceret i begyndelsen af 1990'erne (Fig. 2). For at undgå håndtering af radioaktivitet og den begrænsede holdbarhed er disse assays i høj grad blevet erstattet af immunoassays, som ikke anvender radioaktive labels. I DEQAS (Vitamin D External Quality Assessment Scheme) kontrolprogrammet, der har over 800 deltagende laboratorier, var de tre mest anvendte metoder i udsendelsen fra oktober 2010 Diasorin Liaison Total (38%), IDS EIA (18%) og automatiseret IDS EIA (14%). Liaison Total er et direkte kompetitivt chemiluminiscens-immunoassay (CLIA), mens kittene fra IDS er enzym-immunoassays (EIA).

I DEQAS programmet og hos CDC (Center of Disease Control) har man observeret, at det målte niveau ikke har været stabilt for disse metoder, således at bias kan variere over tid (8). Og da hovedparten af

(Fortsætter side 22)

- Vurdering af vitamin D status kræver måling af 25(OH)D og ikke 1-25(OH)D.
- 25(OH)D omfatter de to former cholecalciferol (25(OH)D₃) og ergocalciferol (25(OH)D₂). Den samlede mængde af de to former skal måles og rapporteres.
- Kommercielt tilgængelige kit-metoder medbestemmer kun til en vis grad og i varierende omfang Vitamin D₂.
- Kommercielt tilgængelige kit-metoder har tidligere generelt ligget lavere i niveau end LC/MS/MS-metoder, men i dag er niveauerne mere sammenlignelige pga. bedre standardisering.
- Anbefalede niveauer (1,5): <12 nmol/l: Svær mangel (rachitis og osteomalaci kan forekomme), 12-25 nmol/l: Mangel, 25-50 nmol/l: Insufficiens, >50 nmol/l: Sufficent, 75-150 nmol/l: Optimalt niveau hos osteoporosepatienter og nyrepatienter, ca. 200 nmol/l: Risiko for toksicitet.
- Korrektheden af anbefalingerne til grænseværdier for serum 25OH-D baserer sig på ældre studier under anvendelse af dårligt standardiserede metoder.

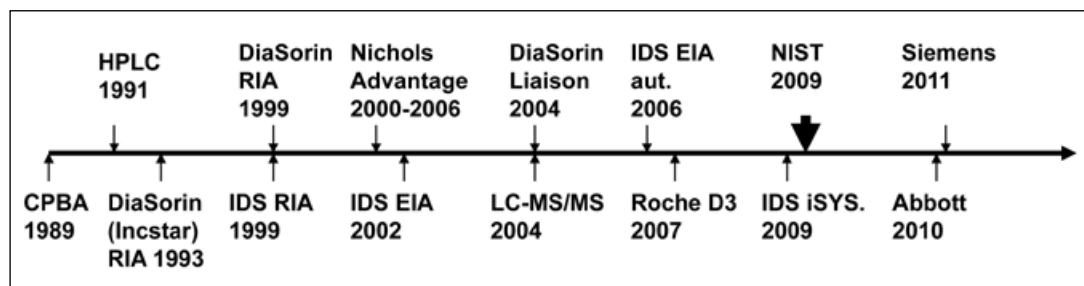


Fig. 2. Tidslinie over P-25(OH)D analyser. I figuren ses en tidslinie med angivelse af introduktionsåret for de væsentligste metoder, der har været anvendt på klinisk biokemiske laboratorier. NIST: En international standardiserings-procedure blev introduceret 2009/2010.

(Fortsat fra side 21)

de publikationer, der omhandler populationsstudier og nuværende anbefalinger vedrørende niveau for serum 25(OH)D (se faktaboks) er blevet udført med DiaSorin assays, kan det vanskeliggøre anvendelsen af de publicerede anbefalinger i dag.

Kromatografiske, herunder LC/MS/MS

HPLC med UV-detektion har haft en vis udbredelse, både i form af in-house metoder og kommercielt tilgængelige kits fra fx. Chromsystems eller Recipe. Brugen af kromatografiske metoder er dog først øget væsentligt, efter at LC/MS/MS-metoder til rutinemæssig analyse af 25(OH)D i de klinisk biokemiske laboratorier er blevet tilgængelige fra omkring 2005 (9). Disse metoder kan synes arbejdskrævende, idet de kræver præparation af prøverne inden analysering, typisk i form af proteinfældning evt. efterfulgt af en form for ekstraktion. De senere år er der dog publiceret flere halv-automatiserede metoder, der tillader et stort work-flow i klinisk biokemiske rutine-laboratorier (10,11). I begyndelsen var metoderne udviklet lokalt på de enkelte laboratorier, men i de seneste par år har fx ChromSystems og Perkin Elmer lanceret kromatografiske kits til LC/MS/MS, og metoderne udgør derfor en stigende andel i DEQAS programmet (11% i oktober 2010). LC/MS/MS-metoder gør det muligt selektivt at måle både 25(OH)D₃ og 25(OH)D₂, som begge kan kvantificeres fx ved brug af stabilt isotopmærkede interne standarder (IS) (11). Selvom LC/MS/MS-metoder er de mest præcise og anses for referencemetode, så har implementeringen af teknikkerne i de klinisk biokemiske afdelinger været hæmmet af relativt dyre startomkostninger og af, at metoderne i begyndelsen var præget af mange manuelle procedurer.

Nye automatiserede metoder

Abbott og Siemens har nyligt introduceret nye automatiserede metoder til henholdsvis Architect- og Centaur-platformene. Roche lancerede allerede i 2007 en analyse for 25(OH)D₃ og forventes snart at introducere en total 25(OH)D metode til Cobas. Der foreligger endnu ikke mange data på disse nye immunometriske metoder, men de vil uden tvivl komme til at spille en væsentlig rolle på området i de kommende år.

Skal vi måle både D₂ og D₃ ?

25(OH)D₃ stammer fra D₃ syntetiseret i huden efter soleksponering eller fra føden og er normalt den eneste form, der kan påvises i serum. På grund af tilsætning af D₂ eller behandling med D₂ kan 25(OH)D₂ dog udgøre en væsentlig del af den samlede mængde 25(OH)D. Da de to former begge har fysiologisk virkning, er det væsentligt, at metoderne medbestemmer både 25(OH)D₂ og 25(OH)D₃ uden krydsreaktion fra andre komponenter (12). I Århus har ca. 8 % af de tilsendte prøver måleligt D₂ indhold, og ca. 3 % indeholder mere end 50 nmol/L. De immunometriske målemetoder udgør et særligt problem, da disse metoder i meget varierende omfang medbestemmer 25(OH)D₂. Nichols Advantage-analysen (Fig. 2) blev fx taget af markedet på grund af overestimering af D₃ i forhold til D₂. Ifølge leverandørernes egne oplysninger for tre hyppigt anvendte immunometriske kit-metoder bestemmes 25(OH)D₂ henholdsvis svarende til 0% (Roche), 75% (IDS) og 100% (DiaSorin). Dette udgør naturligvis et potentielt klinisk problem, når analysen anvendes til monitorering af patienter, der behandles med receptpligtigt høj-dosis Vitamin D₂ (12). Der er således ikke tvivl om, at metoderne skal bestemme

total 25(OH)D, dvs. summen af 25(OH)D₂ og 25(OH)D₃, og at dette samlede tal skal rapporteres til klinikerne. Til gengæld er der mere diskussion om nødvendigheden af at rapportere 25(OH)D₂ og 25(OH)D₃ hver for sig, hvilket er muligt med de kromatografiske metoder. Aktuelt er mange receptpligtige vitamin D præparater i Danmark stadig af typen D₂, og det kan være nyttigt at kunne monitorere effekten af tilskud af vitamin D₂. På den baggrund har vi, siden vi indførte LC/MS/MS-analysering i Århus i 2006, udgivet både det samlede svar og de to komponenter hver for sig. I dag anbefaler man generelt at give tilskud i form af D₃

(1), så behovet for særskilt at kunne måle D₂ forventes at falde fremover.

Standardisering, sporbarhed og ekstern kontrol

Vitamin D-analyserne har været præget af meget stor variabilitet mellem metoder (immunologisk – HPLC – LC/MS/MS), forskelle der også kan ses mellem forskellige metoder fra samme firma. Forskellene har blandt andet skyldtes forskellig standardisering og manglende referencemateriale/referencemetode (6). Der har ikke været formel konsensus om en referen-

(Fortsætter side 24)



Foto: Henrik Alfthan

(Fortsat fra side 23)

cemetode til vitamin D, men i praksis opfattes LC/MS/MS (bl.a. af DEQAS) som kandidat-referencemetode. Indtil 2009 har der ikke eksisteret nogen internationalt standardiseret kalibrator for 25(OH)D, og før den tid har hver enkelt producent måttet lave sin egen standardisering, hvilket sandsynligvis har bidraget til den observerede variation.

NIST (National Institute of Standard & Technology) har nu udviklet et serum-baseret referencemateriale (SRM 972) bestående af 4 sera med værdier for såvel 25(OH)D₂ og 25(OH)D₃ bestemt ved LC/MS/MS (13). Med disse standarder er det nu muligt at sikre sporbarhed for analysemetoderne. Kun det ene af materialerne (level 1) er ikke-modificeret serum. De øvrige er enten fortyndet med hesteserum (level 2) eller tilsat 25(OH)D₂ (level 3) eller 3-epi-25(OH)D₃ (level 4). Og det faktum at flere af de immunometriske metoder påvirkes, hvis matrix ændres eller 25(OH)D tilsættes (14), gør at det reelt kun er level 1, der direkte kan anvendes til alle metoder.

Efter introduktionen af NIST referencematerialet har producenter af kits og kalibratører søgt at dokumentere sporbarheden af deres produkter hertil, hvilket har medført justeringer af kalibreringsniveauer. På vores laboratorium har vi fx observeret, at værdien for et nyt kalibrator-lot fra firmaet Chromsystems ændrede sig væsentligt i forbindelse med, at man indførte sporbarhed til NIST referencematerialet.

En opgørelse over resultaterne fra DEQAS afprøvningserne viste, at den inter-laboratorielle imprecision (CV%) for samtlige indleverede resultater er blevet halveret i perioden fra 1995 til 2009. Resultaterne fra de fleste metoder har også nærmet sig hinanden, selvom der stadig observeres væsentlige forskelle. Fx ligger resultaterne fra LC/MS gruppen ca. 9,5 % højere end DiaSorin Liaison Total-gruppen (8). I 2008 blev der lavet et forsøg inden for LC/MS-gruppen, hvor laboratorierne, ud over at indlevere resultaterne på sædvanlig vis, også blev bedt om at beregne prøverne ud fra en kalibrator, som var blevet leveret af DEQAS. Resultatet af forsøget blev, at den gennemsnitlige inter-laboratorielle imprecision (CV%) faldt fra 16,4 % til 10,4 % - blot ved at benytte samme kalibreringsgrundlag (14). Man kan således håbe på, at introduktionen af et referencemateriale og producenterens indsats for at dokumentere sporbarheden hertil, vil medvirke til at reducere metodeforskellene yderligere.

Referencer

1. Rejnmark L, Heickendorff L, Mosekilde L. D-vitamins betydning for sundhed og sygdom. *Klinisk Biokemi i Norden* 2011 (dette nummer).
2. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr* 2008;88:491S-9S.
3. Zerwekh JE. Blood biomarkers of vitamin D status. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1087S-91S
4. Hollis BW, Horst RL. The assessment of circulating 25(OH)D and 1,25(OH)2D: where we are and where we are going. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:473-6.
5. Sundhedsstyrelsen. Oversigt over D-vitaminbefalinger maj 2010. http://www.sst.dk/~media/Sundhed%20og%20forebyggelse/Ernaering/D_vitamin/Oversigt_D-vitamin_%20270510_2.ashx (set 10. marts 2011).
6. Roth HJ, Schmidt-Gayk H, Weber H, Niederau C. Accuracy and clinical implications of seven 25-hydroxyvitamin D methods compared with liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a reference. *Ann Clin Biochem* 2008;45:153-9.
7. Haddad JG, Chyu, KJ. Competitive protein-binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:992-5
8. DEQAS review 2010. Analytical Note for NHANES 2000-2006 and NHANES III (1988-1994) 25-Hydroxyvitamin D Analysis. http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes3/vitaminD_analyticnote.pdf (set 10. marts 2011).
9. Vogeser M, Kyriatsoulis A, Huber E, Kobold U. Candidate reference method for the quantification of circulating 25-hydroxyvitamin D₃ by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2004;50:1415-7.
10. Højskov CS, Heickendorff L, Møller HJ. High-throughput liquid-liquid extraction and LCMSMS assay for determination of circulating 25(OH) vitamin D₃ and D₂ in the routine clinical laboratory. *Clin Chim Acta* 2010;411:114-6.
11. El-Khoury JM, Reineks EZ, Wang S. Progress of liquid chromatography-mass spectrometry in measurement of vitamin D metabolites and analogues. *Clin Biochem* 2011;44:66-76

12. Glendenning P, Taranto M, Noble JM, Musk AA, Hammond C, Goldswain PR, Fraser WD, Vasikaran SD. Current assays overestimate 25-hydroxyvitamin D₃ and underestimate 25-hydroxyvitamin D₂ compared with HPLC: need for assay-specific decision limits and metabolite-specific assays. *Ann Clin Biochem* 2006;43:23-30.
13. Phinney KW. Development of a standard reference material for vitamin D in serum. *Am J Clin Nutr* 2008;88 (suppl): 511S-2S

14. Horst RL. Exogenous versus endogenous recovery of 25-hydroxyvitamins D₂ and D₃ in human samples using high-performance liquid chromatography and the DiaSorin LIAISON Total-D Assay. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;121:180-2.
15. Carter GD, Jones JC. Use of a common standard improves the performance of liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods for serum 25-hydroxyvitamin-D. *Ann Clin Biochem* 2009;46:79-81



XXXIII Nordic Congress in Clinical Chemistry, June 12th - 15th 2012
Reykjavik, Iceland - www.nfkk2012.is

”The Arctic Experience 2012”

Course in Scientific Writing and Publishing

February 14-17, 2012

Finse, Norway

The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation (SJCLI) and Nordic Society of Clinical Chemistry (NFKK) hereby invite colleagues from the Nordic countries to participate in an extensive course in scientific writing and publishing. The Editorial Board of SJCLI will be responsible for the program.

The aim of the course is to increase the awareness of the importance of scientific writing, and to train the participants in writing a scientific manuscript.

The course will be organized in both structured lectures and in groups writing a scientific manuscript based on given data and literature.

Finse is located at the southernmost part of Europe with an arctic climate at 1222 meter above sea level and only accessible by train, from either Bergen or Oslo (www.finse1222.no and www.finse.com).

This remote location has been selected in order to find the necessary calm and tranquility for maximal focus on the activities during the course as well as for team-building and network forming.

The course is open for Nordic colleagues within the field of medical biochemistry/clinical biochemistry/clinical chemistry, primarily for those in postgraduate specialist training and/or involved in research projects.

The maximum numbers of participants is 20. The official language is English or a language understandable for all participants.

Information concerning registration, participation fee, literature, travel etc. will be announced in the next issue of *Klinisk Biokemi i Norden*.

Contact: Tor-Arne Hagve

tor.arne.hagve@ahus.no

Unit of medical biochemistry, Akershus University Hospital, 1478 Lørenskog, Norge

Phone +47-90510956





Welcome to the new dawn of diagnostics

Sysmex is shaping haematology

**The future is waiting
for you at Sysmex**

IFCC WorldLab Berlin

May 15 – 19, 2011

Visit our booth #4 in hall 15

For more information on
today's laboratory and clinical
support possibilities, attend
one of our lunchtime symposia:

**Room 4/5 daily from
13:00–14:00**

Speakers are:

Prof. Samuel J. Machin

University College London Hospitals

Alexis Henley

and Christine Whittington

The Royal London Hospital

www.sysmex.dk

www.sysmex.no

www.sysmex.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

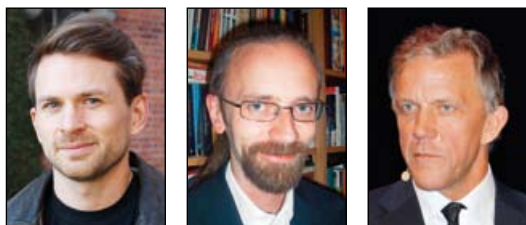
Roche Diagnostics eftersträvar att erbjuda en fullständig laboratorielösning för såväl små som stora laboratorier. Vi levererar tester som garanterar viktig klinisk information inom ett brett medicinskt område, från infektions- och hjärtsjukdomar till hjärnskador och cancer.

Biomarkörer för Alzheimers sjukdom: Hur kvalitetssäkra inför kliniskt bruk?

Niklas Mattsson, Henrik Zetterberg och Kaj Blennow

Laboratoriet för Neurokemi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset/Mölndal, Mölndal

niklas.mattsson@neuro.gu.se



Andelen äldre personer i befolkningen blir allt fler, och förekomsten av patienter med neurodegenerativa sjukdomar och demens ökar därför snabbt. Idag finns det ca 35 miljoner patienter med demenssjukdomar över hela världen och dessa beräknas öka till ca 120 miljoner år 2050, om genombrott i den forskning som pågår uteblir

(1). Situationen är alarmerande och bör tas på största allvar. De flesta demenspatienter har Alzheimers sjukdom. Nu tillgängliga läkemedel mot Alzheimers sjukdom är acetylkolinesterashämmare och partiella NMDA-receptorantagonister. Dessa kan minska symtomen men påverkar inte den underliggande sjukdomsprocessen. Det pågår därför en intensiv utveckling av sjukdomsmodifierande läkemedel. Sådana läkemedel bör sannolikt sättas in tidigt i sjukdomsförloppet för optimal effekt. Tyvärr kan man inte diagnostisera Alzheimers sjukdom i tidigt skede med klinisk undersökning. Laboratoriemedicin spelar därför en stor roll för diagnostiken och kommer troligen att bli ännu viktigare när sjukdomsmodifierande läkemedel finns tillgängliga (2).

Alzheimers sjukdom

Alzheimers sjukdom kännetecknas makroskopiskt av kortikal cerebral atrofi. Mikroskopisk undersökning av hjärnan visar extracellulära plack bestående av en aggregerad form av peptiden β -amyloid42 ($A\beta$ 42) och intraneuronala tangles bestående av fosforylerade tau-proteiner. Enligt den dominerande sjukdomshypotesen orsakas sjukdomen av en felaktig metabolism av $A\beta$, som aggregerar och bildar lösliga oligomerer och plack, vilket leder till synapsdysfunktion, förlust av synaps och nervceller, hjärnatrofi och demens (3). Dessa skadliga processer börjar troligen redan innan de första kognitiva symtomen uppträder. En person som utvecklat lätt kognitiv funktionsnedsättning men inte uppfyller kriterierna för demens kan få diagnosen MCI (mild cognitive impairment). Ungefär hälften av patienter med MCI får en demensdiagnos inom

några år, men gränserna är otydliga mellan normalt åldrande, MCI och demens. En del MCI-patienter har en stabil lätt funktionsnedsättning och ett fåtal förbättras till och med och återfår normal kognitiv funktion. Differentialdiagnostiskt kan det vara svårt att skilja demens orsakad av Alzheimers sjukdom från andra demenssjukdomar, som vaskulär demens och frontallobsdemens. Många patienter har dessutom en blandad patologi i hjärnan, med inslag av både Alzheimers sjukdom och vaskulär sjukdom. För att lösa dessa kliniska problem används nu biomarkörer i cerebrospinalvätska (CSV) som ett stöd i diagnostiken.

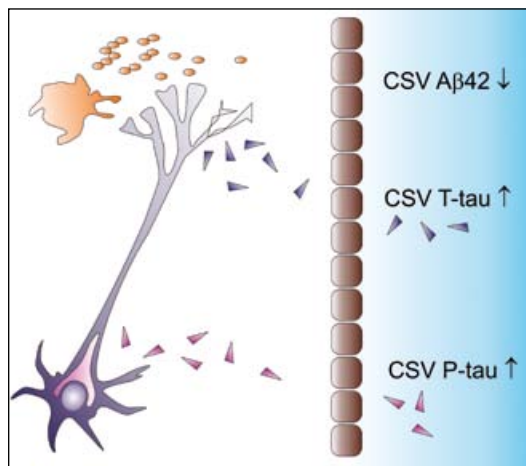
Cerebrospinalvätska och lumbalpunktion

CSV utsöndras av plexus choroideus i hjärnans ventriklar och längs med kortexyta. Vätskan cirkulerar ner längs med ryggmärgen och är åtkomlig för provtag-

ning med lumbalpunktion (LP). En korrekt utförd LP medför inga allvarliga risker. Huvudvärken som kan uppkomma efter undersökningen är oftast lätt, och alltid övergående, och kan behandlas med receptfria analgetika (4,5). Trots detta varierar användningen av LP i demensutredningar stort mellan länder. I de nordiska länderna är LP ofta en del av utredning, medan läkare i USA är mer restriktiva. Skillnaderna beror troligen på en kombination av resursfördelning, kunskap och attityd hos både läkare och patienter.

Biomarkörer i cerebrospinalvätska

När LP utförs i demensutredningar i Norden efterfrågas ofta analyser dels för att utesluta viktiga differentialdiagnoser, exempelvis neuroinflammation, och dels för att ge ökat stöd för en specifik demensdiagnos. Rutinanalyser som kan utföras vid många sjukhuslaboratorier är mätningar av albumin för att uppskatta blod-hjärnbarriärfunktionen, samt celltal, IgG och IgM för att detektera inflammation i centrala nervsystemet. Många läkare efterfrågar också specifika demens- och hjärnskademarkörer, som endast analyseras på ett fåtal specialiserade laboratorier. Sedan mitten av 1990-talet har de viktigaste CSV-markörerna för Alzheimers sjukdom varit proteinet total-tau (T-tau), där ökade nivåer avspeglar kortikalt axonalt sönderfall, fosfo-



Figur 1. Biomarkörer för Alzheimers sjukdom. De tre vanligaste CSV-markörerna för Alzheimers sjukdom är amyloid- β 1-42 (A β 42), total-tau (T-tau) och fosforylerat tau (P-tau). Nivåerna av A β 42 är låga, troligen sekundärt till ansamling i plack. Höga nivåer av T-tau avspeglar axonalt sönderfall och höga nivåer av P-tau avspeglar förekomst av neurofibrillära tangles.

rylerade isoformer av tau (P-tau), där ökade nivåer avspeglar neurofibrillära tangles, samt peptiden A β 42, där sänkta nivåer avspeglar amyloida plack (2) (Figur 1). Ofta undersöks även proteinet neurofilament light, där ökade nivåer avspeglar sönderfall av subkortikala grova myeliniserade axon, vilket kan indikera till exempel vaskulär sjukdom eller frontallobsdemens (6). Ibland analyseras också gliafibrillärt surt protein, som avspeglar astrocytaktivering och glios (7).

Biomarkörer för diagnostik av Alzheimers sjukdom

Ett stort antal studier har visat att A β 42, T-tau och P-tau har sensitivitet och specificitet kring 80-90% för Alzheimers sjukdom (8). Detta gäller både i tvärsnittsstudier med dementa patienter mot friska kontroller och i prospektiva studier där MCI-patienter följts till demensdiagnos. Bland MCI-patienter ger biomarkörerna positiva och negativa prediktiva värden kring ca 65-90% för Alzheimers sjukdom. De högsta prediktiva värdena ses vid studier på specialiserade minnesmottagningar där prevalensen av underliggande Alzheimers sjukdom är hög (ca 50% hos en MCI population). Biomarkörerna är därför kliniskt mest användbara vid specialiserade centra.

Biomarkörer i läkemedelsutveckling

Det pågår intensiv forskning om behandling av Alzheimers sjukdom och på www.clinicaltrials.org listas 636 pågående studier interventionsstudier (sökning 2011-01-06). Men trots detta saknas fortfarande stora genombrott för sjukdomsmodifierande behandling och flera lovande studier har till och med avbrutits i förtid på grund av svåra läkemedelsbiverkningar (9). Det har därför föreslagits att CSV-biomarkörer kan användas i läkemedelsstudier, för att säkerställa biokemiska effekter av läkemedel, öka sannolikheten att inkluderade patienter verkligen har Alzheimers sjukdom, och övervaka toxicitet och biverkningar.

Multi-centerstudier och variabilitet

Biomarkörernas diagnostiska säkerhet har varit lägre i multi-centerstudier än i mono-centerstudier, vilket troligen orsakas av variation mellan kliniska centra och laboratorier (10-12). Biomarkörnivåer för Alzheimerpatienter och kontroller varierar också kraftigt mellan studier, vilket försvårar jämförelser och meta-analyser (Figur 2). Vad beror dessa variationer på?

(Fortsätter side 32)

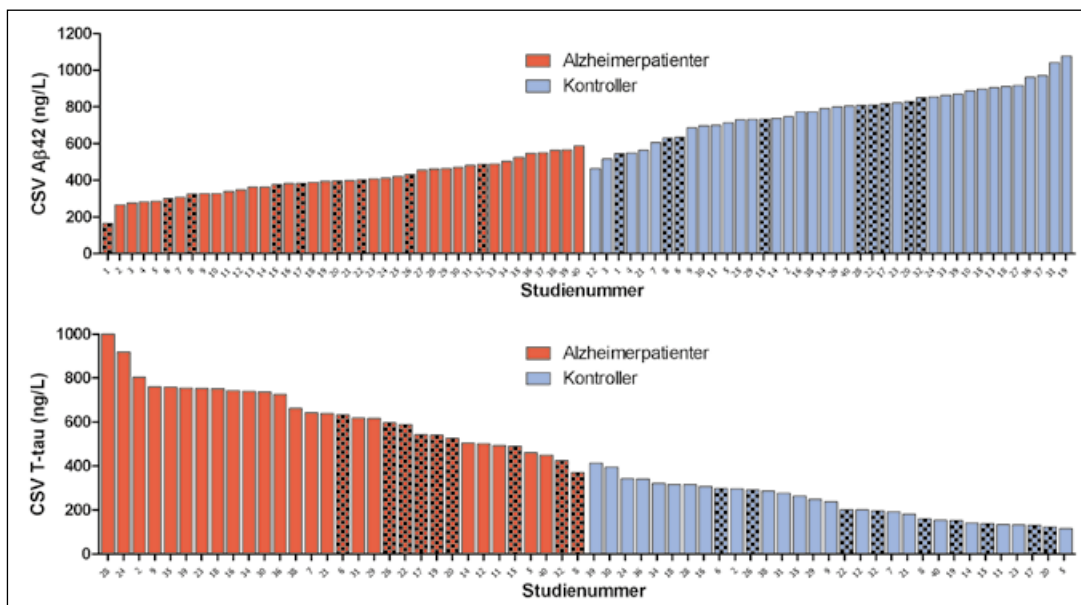
(Fortsat fra side 31)

Det finns möjliga felkällor inom både pre-analytiska, analytiska och post-analytiska faser (13). Det finns dessutom en variabilitet i prestandan av de analytiska kit som används för analyserna. Pre-analytiska felkällor inkluderar patientselektion, utförande av LP och hantering och lagring av CSV-prover. Analytiska faktorer inkluderar hantering av instrumentering och variationer i hur analyser utförs av olika lab och av olika individer. Post-analytiska faktorer inkluderar databearbetning, acceptanskriterier för mätdata och val av diagnostiska gränser.

Standardisering mellan lab - The Alzheimer's Association External Quality Control Program

Tidigare studier har visat att CV mellan lab för A β 42, T-tau och P-tau är 20-30% (14, 15). För att underlätta harmonisering och standardisering mellan lab har vi i samarbete med amerikanska Alzheimer's Association startat ett externt kontrollprogram för CSV-demensmarkörer (2). Över 60 lab över hela världen deltar i programmet som startade hösten 2009. Tre gånger per år skickas prover ut från Laboratoriet för neurokemi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset/Mölndal. Proverna analyseras av deltagarna med kommersiellt

tillgängliga metoder för A β , T-tau och P-tau. De flesta lab använder ELISA-kit, men det finns också deltagare som använder assays för Luminex(R) eller Meso Scale Discovery(R). Data rapporteras tillbaka till Mölndal, där vi beräknar variabilitet inom och mellan lab, samt variabilitet över tid. Vi återrapporterar därefter till deltagarna om hur de ligger i förhållande till övriga anonymiserade lab. Varje provomgång innehåller två unika prover och ett longitudinellt prov som återkommer i varje omgång. Proverna konstrueras från avidentifierad CSV från vår rutinverksamhet och alikvoterats till 500 uL. Resultaten från de första omgångarna kommer att publiceras under 2011. Ett mål med programmet är att identifiera orsaker till variabilitet mellan lab. Deltagarna får därför fylla i checklistor och besvara frågeformulär som förhoppningsvis ska kunna avslöja vilka felkällor som bidrar mest till variabiliteten. Ökad harmonisering mellan lab krävs för att i framtiden kunna etablera universella diagnostiska gränser och beslutsgränser. Ett syfte med projektet är även att via en internationell jämförelse av resultat kunna påvisa vilken variation själva analyskiten har i sig, framför allt avseende så kallad batch-to-batch variation, och därigenom påtvinga tillverkarna att öka kvalitetskraven vid tillverkningsprocessen. Det är möjligt att vi även kom-



Figur 2. Variation mellan studier för CSV amyloid- β och CSV total-tau. Figuren visar medelvärden från 40 studier som använt INNOTEST[®] ELISA (Innogenetics, Ghent, Belgium). Studierna inkluderar sammanlagt ca 2700 Alzheimerpatienter och 1400 kontroller. Studier som rapporterade medianvärden visas med rutmönstrade staplar. (Referenser till studierna kan fås av författarna.)

mer att behöva ta fram certifierade referensmaterial och referensmetoder.

Standardisering mellan studier – UGOT CSF 2010

Eftersom variationen är stor mellan lab är det svårt att jämföra resultat mellan olika biomarkörstudier. Vid laboratoriet i Mölndal har vi därför tagit fram prover avsedda som externa kontroller för biomarkörstudier. Proverna är alikvoter från en pool som vi kallar UGOT CSF 2010 (University of Gothenburg CSF 2010). Studier som inkluderar dessa prover kan jämföras med varandra, även om de gjorts vid olika lab. Mer kontrollprogram kan fås från koordinator Staffan Persson (neurochem@neuro.gu.se) samt på vår hemsida (http://www.neurophys.gu.se/english/departments/psychiatry_and_neurochemistry/Neurochemical_pathophysiology_and_diagnostics/TheAlzAssQCProgram/).

Sammanfattning

Alzheimers sjukdom är ett snabbt ökande problem. Det krävs intensiva insatser från myndigheter, forskare och industri för att tackla utvecklingen. Ett led i detta är förbättrad diagnostik och accelererad läkemedelsutveckling. Här spelar CSV-biomarkörer en viktig roll. Vår förhoppning är att vi med hjälp av ökat internationellt samarbete, som i kvalitetskontrollprogrammet för biomarkörer, ska få bättre verktyg för att bekämpa Alzheimers sjukdom.

Referenser

1. Alzheimer's disease International: World Alzheimer Report 2009. International Asd, editor. London 2009.
2. Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 2010;6:131-44.
3. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006;368:387-403.
4. Blennow K, Wallin A, Hager O. Low frequency of post-lumbar puncture headache in demented patients. *Acta Neurol Scand* 1993;88:221-3.
5. Zetterberg H, Tullhog K, Hansson O, Minthon L, Londos E, Blennow K. Low incidence of post-lumbar puncture headache in 1,089 consecutive memory clinic patients. *Eur Neurol* 2010;63(6):326-30.

6. Rosengren LE, Karlsson JE, Sjogren M, Blennow K, Wallin A. Neurofilament protein levels in CSF are increased in dementia. *Neurology* 1999;52:1090-3.
7. Rosengren LE, Wikkelso C, Hagberg L. A sensitive ELISA for glial fibrillary acidic protein: application in CSF of adults. *J Neurosci Methods* 1994;51:197-204.
8. Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003;2:605-13.
9. Gilman S, Koller M, Black RS, Jenkins L, Griffith SG, Fox NC, et al. Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology* 2005;64:1553-62.
10. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol* 2006;5:228-34.
11. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreassen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 2009;302:385-93.
12. Mattsson N, Zetterberg H, Blennow K. Lessons from multicenter studies on CSF biomarkers for Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis.* 2010 Jul 8;2010. pii: 610613.
13. Bjerke M, Portelius E, Minthon L, Wallin A, Anckarsater H, Anckarsater R, et al. Confounding factors influencing amyloid beta concentration in cerebrospinal fluid. *Int J Alzheimers Dis.* 2010 Jul 15;2010. pii: 986310.
14. Verwey NA, van der Flier WM, Blennow K, Clark C, Sokolow S, De Deyn PP, et al. A worldwide multicentre comparison of assays for cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease. *Ann Clin Biochem* 2009;46:235-40.
15. Lewczuk P, Beck G, Ganslandt O, Esselmann H, Deisenhammer F, Regeniter A, et al. International quality control survey of neurochemical dementia diagnostics. *Neurosci Lett* 2006;409:1-4.

MicroRNA: Key regulators of gene expression - analytical aspects and clinical potential

Helge Røsjø^{1,2,3}, Kari Bente Foss Haug⁴

¹Division of Medicine, Akershus University Hospital, Lørenskog, Norway

²Institute of Clinical Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway

³Center for Heart Failure Research, University of Oslo, Oslo, Norway

⁴Department of Medical Biochemistry, Oslo University Hospital, Ullevål, Norway

k.b.foss@medisin.uio.no



MicroRNAs (miRNAs) are a new class of small, endogenous, non-coding RNA molecules with functional properties (1). Several studies have shown miRNAs to play key regulatory roles in a variety of essential biological processes, including development, metabolism, cell-proliferation, differentiation and death, as well as in different diseases (2). The regulatory properties are exerted on their specific targets, the messenger RNAs (mRNAs), thereby controlling gene expression mainly by translational inhibition or degradation of the mRNA. miRNAs have been detected in almost all higher eukaryotes, and their evolutionary conservation across different species corroborates their functional importance.

The discovery of miRNAs as posttranscriptional regulators has added yet another layer of complexity to the mechanisms that govern basal and disease-directed gene expression. The discovery of miRNA has triggered an explosion of research activities, but has left many unanswered questions about how this regulation

functions and how it is integrated with other regulatory mechanisms. Certainly, more studies in the miRNA field are definitely necessary to establish miRNAs as reliable and useful biomarkers.

MicroRNA biogenesis

MicroRNAs (miRNAs) in their mature and active form are only 18-24 nucleotides long, single-stranded and subcellularly localized in the cytoplasm after a multi-step biogenesis (Fig.1). In line with other RNAs, miRNAs are transcribed from specific gene coding regions by RNA polymerase II as a longer primary transcript before they are modified through 5'-capping and 3'-polyadenylation (3). In contrast to what we apprehend as traditional post transcriptional proceedings, the miRNA precursor is termed pri-miRNA, includes hairpin structures and is partly double stranded. Pri-miRNA is shortly cleaved by the nuclear Drosha and Pasha enzyme complex (4), forming a double stranded pre-miRNA of approximately 60-70 basepairs, which is actively transported out to the cytoplasmic compartment by Ran-GTP and the Exportin-5 receptor (5). Before the endpoint of a short, single stranded, mature miRNA is reached, the endonuclease Dicer enzyme removes the hairpin loop followed by an RNA strand unwinding step (6).

miRNA activity

Mature, cytoplasmatic miRNAs are subsequently incorporated into an Argonout-containing RNA-induced silencing complex (RISC), which are able to search for and pair with complementary sequences among surrounding mRNAs (7). Interaction of miRNA and

complementary binding sites on target mRNAs mainly facilitates downregulation of the protein synthesis by post transcriptional inhibition through either translational repression or degradation of mRNA through destabilization. The mechanism for target regulation is yet not fully clarified, but the mode of repression may depend on the level of complementarity between miRNA and mRNA target. Perfect or close to perfect base-pairing favour mRNA degradation, whereas lower grade sequence homology promotes translational inhibition (8,9). On the contrary, recent evidence suggests that miRNA may also upregulate translation of selected targets (9).

The 5'-region of a miRNA, designated the "seed region" (nucleotide number 2-8), has shown to be crucial for binding the right mRNA, and is therefore of major importance for miRNA targeting and function (10). Binding is most often imperfect and principally located in the 3'-untranslated region (UTR) of target mRNAs, but has also been found to be situated in the 5' UTR or in coding regions (11). Because functional

miRNA activity does not require perfect sequence homology between the miRNA and the target mRNA strands, a single miRNA can regulate several different mRNA targets. Moreover, the flexibility of the base-pairing allow multiple miRNAs to regulate one mRNA (Fig. 2). In this way, miRNAs have theoretically the capacity to control the expression of a broad range of different target proteins, which again can affect a myriad of down stream cell regulatory pathways.

The functional range of the miRNAs is exerted through their regulation of specific sets of target binding. So far, target prediction has been a difficult task, but the recent development of sequence-matching algorithms, which identify putative miRNA targets, may improve model accuracy. The mechanism of miRNAs and their contribution to regulation of gene expression through sequence-specific basepairing with target mRNAs are not fully understood, but it is estimated that up to 50 % of the 30 000 human genes may be potential targets for the miRNAs (12).

(Fortsætter side 36)

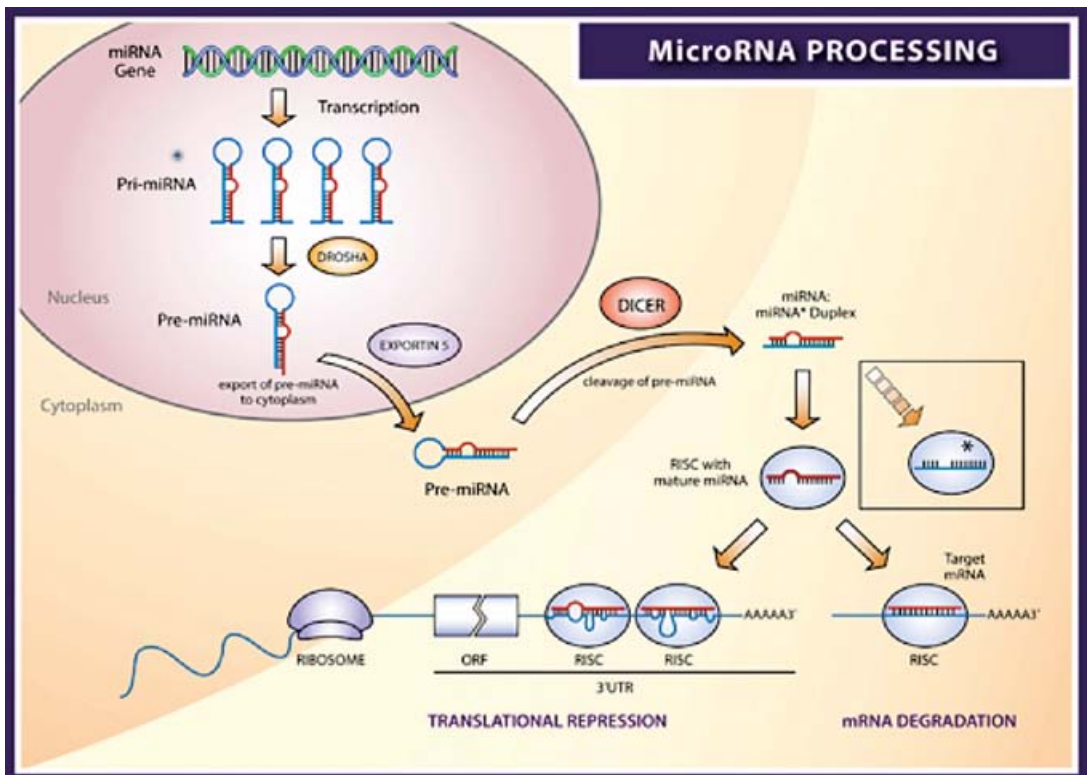


Figure 1. The multistep biogenesis of mature miRNA.

(Fortsat fra side 35)

miRNA diversity

miRNA coding genes are often localized in intergenic regions of the genome, where they are organized as separate genes, in tandem, head to tail, or in line configuration. These miRNA genes are preferentially regulated by their own independent promoters (13). Alternatively, miRNA genes can be located within other transcriptional units, usually in intronic regions but also in exons, where the miRNA expression is regulated in parallel to their host genes. Multiple gene loci may generate the same mature miRNA, but these genes are most often under different regulatory control. It is estimated that as much as 5 % of the human genome may code for different miRNAs. The presence of DNA sequence variations in the miRNA gene, like Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), small base-deletions or inserts, as well as epigenetic factors, can contribute to a switch

(1) Can we measure the marker?

- Pre-analytical stability excellent
- Time consuming extraction process that require expert knowledge
- Current analytical platforms may be suboptimal
- Lack of established criteria for normalization

Status: Several challenges remaining regarding analytical aspects

(2) Does the marker add new information?

- Independent association with diagnosis and/or prognosis in multivariate regression models
- Improves the AUC/C statistics of established risk models
- Improves fit of established risk models

Status: Currently not been examined for miRNA biomarkers

(3) Will the marker help improve patient management?

- Provide information for titration of drug doses
- Identify patients requiring urgent invasive procedures
- Help guide follow-up

Status: Information on kinetics and pathophysiology driving the candidate miR markers required

Table. Status of microRNA biomarkers according to pre-specified criteria for assessment of novel cardiac biomarkers (modified from ref. 19)

in the regulatory repertoire. Similarly, genetic variations in miRNAs may either impair or augment a miRNA-binding, thereby affect miRNA efficiency.

The Sanger miRBase (<http://www.mirbase.org>) is one of the most comprehensive miRNA databases developed, bringing together the miRNA gene nomenclature and sequences with automated pipeline for prediction of miRNA target genes in several animal genomes. As of today 1048 different human miRNAs have been identified (miRBase release 16.0). Different miRNAs are identified through sequential numerical nomenclature in the database, whereas species are assigned by a three or four letter prefix. By this nomenclature, human miRNAs (*homo sapiens*) are designated hsa-miR followed by a non-continuous numbering from 1 up to 4330, for example hsa-miR-21. Mature miRNAs are designated miRs, while precursor miRNAs are labelled mirs. miRNAs differing in only one or two sequence positions are given lettered suffixes, for example hsa-miR-30a and hsa-miR-30b. Identical, mature miRNAs with distinct hairpin loci in precursors have numbered suffixes, e.g hsa-miR-128-1 and hsa-miR-128-2.

miRNA technology and analysis

To explore the biology and function of these powerful mediators, it has been important to develop tools for miRNA isolation and amplification and to identify the expression of miRNAs in different cells and tissues (14). Although the small sized miRNAs create challenges for their detection and quantification, recent adaptations of existing technologies have emerged by the use of miRNA-specific RT-qPCR, microarrays, high throughput- and whole genome sequencing analysis.

With the short miRNA strands, a potential for cross-hybridization of miRNAs with high homology can represent a problem during microarray analysis, especially when distinguishing between miRNAs that differ by only one or two nucleotides. The use of synthetic nucleotides locked in a favourable Watson-Crick position (LNA - locked nuclear acids) is one of the miRNA techniques with improved sensitivity and specificity.

miRNA expression

Quantification of miRNAs in tissues during physiological and different pathological conditions has been an important first step to decipher the broad distribution and level of miRNAs in human subjects. Comparing matched samples from healthy individuals with dis-

eased patients may then provide baseline references of miRNA expression profiles. In general, human miRNAs are sparsely expressed compared to mRNA levels. Some miRNAs have shown to be abundant in most tissues, whereas other miRNA groups seem confined to specific tissues or organs (15). Only a minority of miRNAs are truly cell specific (brain specific miR-219), but a lot of cells show a cell-specific miRNA-profile, e.g a pattern with combinations of miRNAs. Universally expressed miRNAs have been proposed as candidates participating fundamental metabolic pathways of all normal cells. It is believed that miRNAs positioned in intron regions frequently inherit the same expression patterns to their host genes. miRNAs, which belong to the same differentially expressed group, are often located within the same genomic cluster, suggesting the presence of common regulatory mechanisms (15).

miRNA in health and disease

It is now well accepted that miRNAs act as important regulators in a vast number of essential, biological processes and that the miRNAs can alter their expression levels accordingly to meet the cellular demands (2). In addition, cell-specific miRNA-expression profiles

have been reported for several diseases, especially for cancers, thus indicating that specific miRNAs may correlate well with pathological development (16). Moreover, it has been shown that miRNAs are aberrantly expressed or mutated in different cancers, suggesting that miRNAs may represent a novel class of oncogenes or tumor suppressor genes, depending on the targets they regulate. miRNA genes have shown to be located in chromosomal regions often subject to rearrangements, deletions and amplification in malignant cells. The prognostic potential of miRNAs has been demonstrated for several diseases, but especially for different types of malignancies where miRNA expression profiles have displayed signatures related to tumor classification, diagnosis, and disease-progression (17,18). As expression patterns of miRNAs seem to correlate with tissue of origin, clinical cancer behavior and prognosis, miRNAs may prove to be valuable, new tissue-based biomarkers in oncology.

miRNA as biomarkers

Whereas cell-based miRNA expression profiles already has been identified as a promising tool for monitoring

(Fortsætter side 38)



Foto: Henrik Alfthan

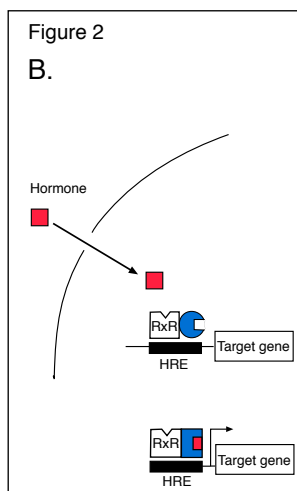
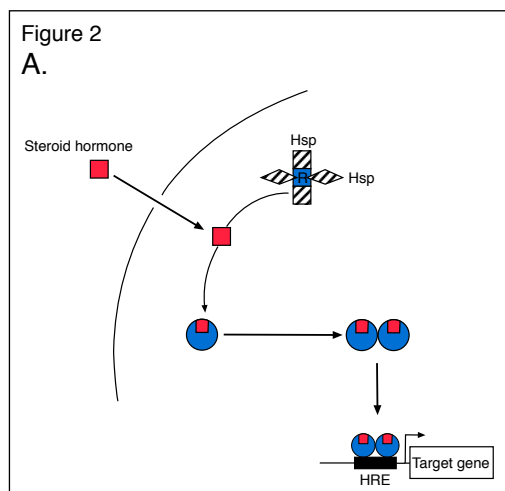


Figure 2. miRNAs: Key regulators of gene expression with great flexibility. Interaction of miRNA and complementary binding sites on target messenger RNA (mRNA) initiates post-transcriptional gene regulation and inhibition of the protein synthesis of the target mRNA. Functional miRNA activity does not require perfect sequence homology between miRNA and target mRNA, and opens for a great binding flexibility and a broad regulatory capacity.

(Fortsat fra side 38)

cancer and other disease states, miRNAs released by tumor tissue could represent an even more powerful new class of minimally invasive, blood-based biomarkers for cancer detection. Accordingly, it raises the possibility of using circulating miRNAs as novel markers of different diseases given the close association between specific miRNA profiles (quality/quantity) and several disease states (19). Recently, highly stable miRNAs were discovered in serum and plasma samples (20), partly present and protected by vesicles of endocytic origin, the exosomes (21). miRNAs may emerge as a new class of blood-based biomarkers with great potential, representing a new approach to diagnostic screening of blood.

MicroRNA in cardiac disease

Early work focused on miRNA profiles in the myocardium

The discovery of miRNA function and regulation was swiftly adopted by the cardiology community. The potential of one miRNA (miR) to regulate several mRNAs, and thereby also regulate a network of downstream protein targets, was intriguing and considered a future therapeutic target (22). The initial focus was on miRNA expression during cardiac pathophysiology, and with a special focus on the regulation of miRNA in the myocardium in heart failure (HF). This work was mainly carried out in experimental animal models, although some researchers also presented

data from human cardiac tissue. To identify miRs that were altered during cardiac disease, miRNA microarray profiles in animals with cardiac disease (coronary artery ligation, transverse aortic banding, genetically induced cardiac disease, etc) were compared to the profile of healthy (sham-operated) animals. However, as several different microarray platforms, species, time point of tissue sampling, and experimental models were used a number of different miR profiles were all proposed as the “miRNA signature of cardiac disease” (23). Some of these results are presented in Figure 3, which is a non-exclusive list of miRNAs altered with cardiac pathophysiology.

The therapeutic potential of miRNA based intervention

The advent of genetically modified animals has been important for examining effects of individual miRs. With the use of gain- and loss-of-function studies one can examine the effect on animal phenotype by an isolated miR overexpression or deletion. Growth of cardiomyocytes (hypertrophy) and remodeling of the myocardium (alterations in extracellular matrix/fibrosis) are two principal processes in HF, and the effect of manipulating miRs to alter these processes has been studied extensively. Consistent with the model that miRNA regulate several downstream targets, striking alterations in animal function and phenotype have been reported by deleting or enhancing single miRs (see ref. 24 for review). Still, recent inconsistency in the data for miR-21 (25,26) has demonstrated a need

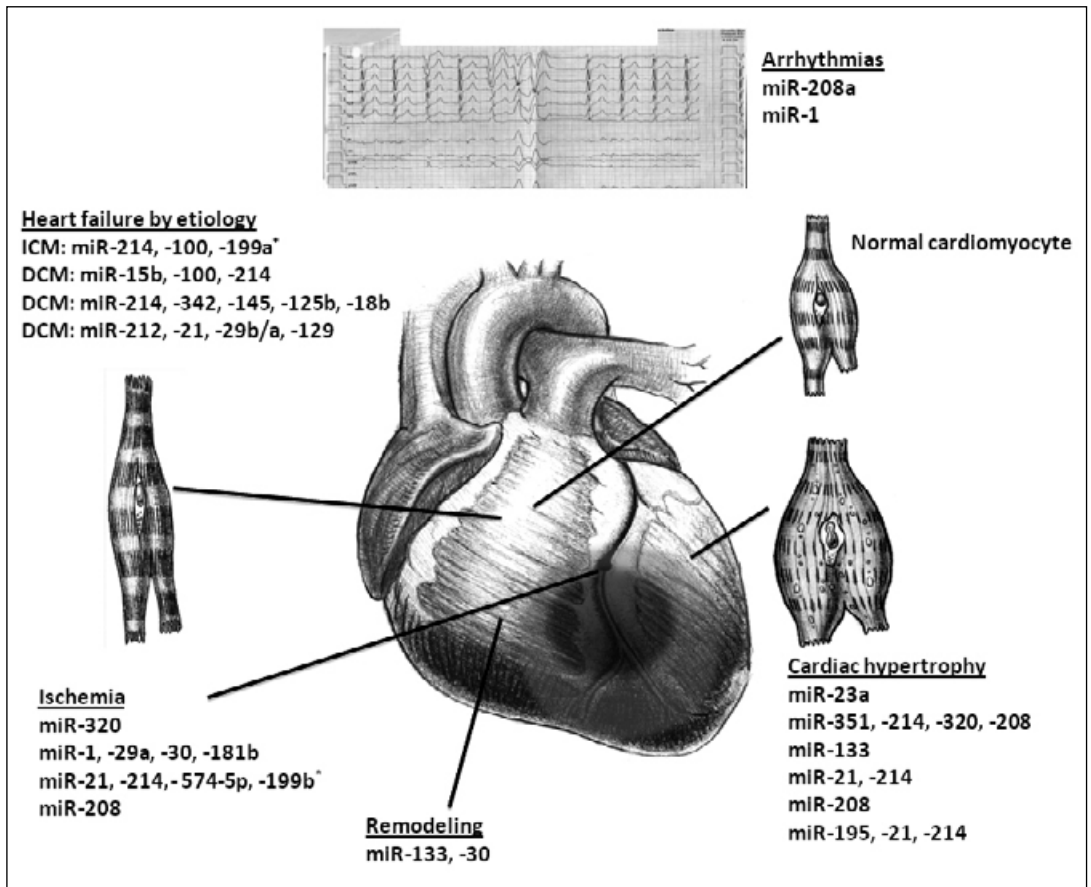


Figure 3. Non-exclusive list of miRNAs altered during cardiac pathophysiology (modified from Rosjø H. *Hjerteforum* 2009;22:30-39).

to standardize reporting for miRNA studies and to identify the optimal mechanism for miR knock down studies (27). Based on the miR-21 story, there is a risk that early miRNA work may later be revised when new and more accurate analytical methods become available. Several other aspects of miR based therapy also need to be established such as method of delivery for miR mimics (agonism) and antimiRs (inhibitors), the correct dose to use, and more information on off-target effects. Still, reportedly there are clinical trials already underway that employ miRNA based therapy (24).

The potential of miRs as future cardiac biomarkers

Diagnosing cardiac disease can be difficult as symptoms may be diffuse, clinical examination normal, and the electrocardiogram normal or show only non-specific alterations, e.g. in the situation of unstable angina pectoris. With limited access to the myocardium for biopsies,

a procedure that may also be harmful to the patient, there has since long been a search to find circulating biological markers (biomarkers) to help diagnosing and risk stratify patients with cardiac disease. The pioneer work of LaDue and coworkers was first published in *Science* in 1954, demonstrating elevated levels of the enzyme aspartate aminotransferase in patients with acute myocardial infarction (AMI) (28), and since then a vast number of circulating markers have been proposed as new cardiac biomarkers (29). Still, the only markers that have demonstrated true clinical utility are the cardiac specific troponins for AMI, and the natriuretic peptides (BNP/NT-proBNP) for diagnosing HF (29). Both the troponins and the natriuretic peptides are protein markers, similar to most other biomarkers in clinical use, but there is a potential that also substances besides proteins can provide diagnostic and prognostic

(Fortsætter side 40)

(Fortsat fra side 39)

information (30). A problem which has limited the potential of genomic and transcriptional markers is the rapid degradation of DNA and mRNA in plasma and serum. In contrast, miRNA has been found to be remarkably stable in plasma and serum, including in samples that have been stored in room temperature for hours (31). Of note, the stability of endogenous miRs is not related to the size or composition of the RNA strand as synthetic (exogenous) miRs are degraded within minutes in serum and plasma samples (31). The model for the stability of endogenous miRNA in peripheral blood is still work in progress, but the inclusion of the miRNA strand in exosomes (19), which are 40-100 nm diameter lipid complex vesicles that are released from the cell, together with miRNA-protein-interaction (32) seem to be of paramount importance. Adding excitement to this discovery, recent data from animal models have suggested that both the release from the donor cell and the endocytosis in the recipient cell are highly

specific, promoting a model of a new endocrine system that allow cell-to-cell transport of miRs (19,33). This model is supported by data showing limited correlation between the miRs expressed in a patient' blood cells and the miR profile in the serum of the same patient (20). Moreover, in an experimental model of prostate cancer, miRs associated with the malignancy were increased in the circulation after tumor growth (31), which points to a disease-associated release of miRs to the circulation. Adopting this to cardiac disease, this would suggest that myocardial cells can release miRNA to the circulation, and that this release would at least partly be regulated by exocytosis. Based on this new knowledge, and the earlier studies showing disease-associated alterations in myocardial miR profile, miRNA biomarkers could prove to be important. The first report to capitalize on this was a Japanese group that identified miR-208 as a cardiac-specific miR by microarray analysis, and then demonstrated a time-dependent rise-and-fall pattern of miR-208 in the circulation after myocardial injury

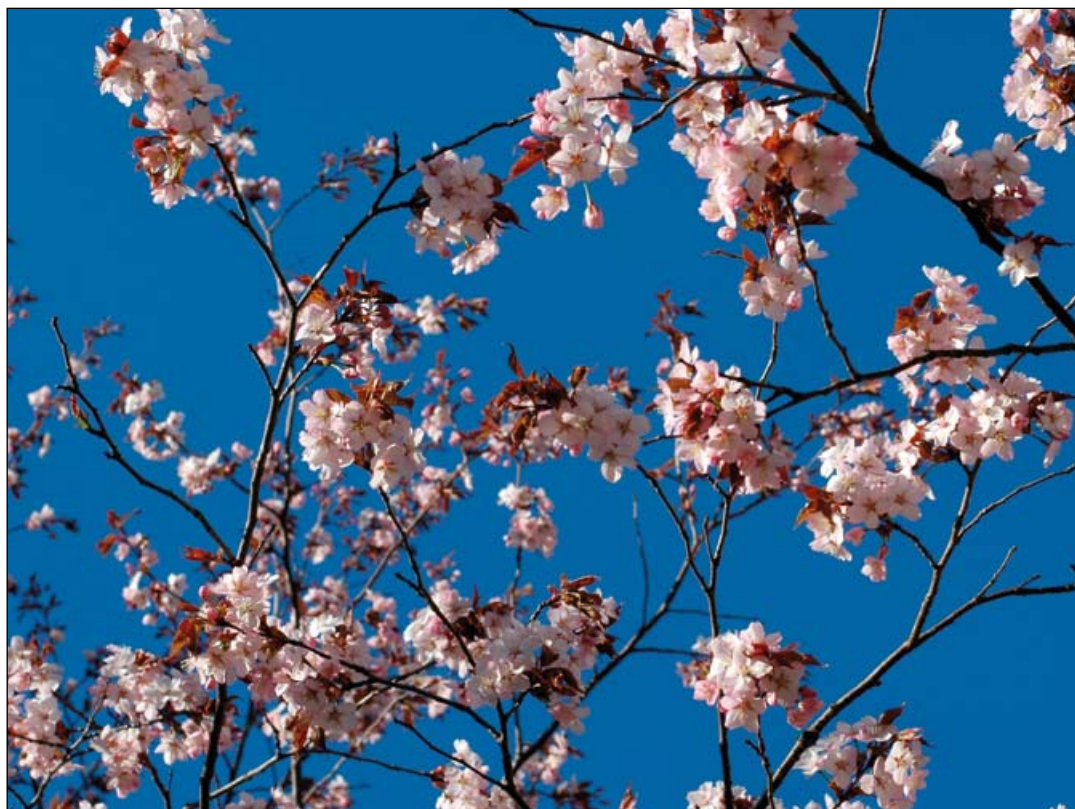


Foto: Henrik Alfthan

similar to the profile of troponin release (34). Since then miRNA cardiac biomarkers have also been identified in human subjects, including in patients with AMI (35), HF (36), and stable coronary artery disease (37), confirming the potential of miRNA as a new group of cardiac markers. Still, the clinical utility of miRNA biomarkers has not been established, and this should be examined according to predefined criteria (Table; modified from ref. 38). The analytical accuracy and stability is clearly a concern, and there is also a lack of consensus on normalization (“housekeeping miRs”). Furthermore, the extraction of RNA from serum and plasma is time consuming and may introduce pre-analytical variation if not performed correct. This, combined with the easy handling and proven accuracy of protein markers for diagnosing AMI and HF, makes the use of miRNA biomarkers in the acute setting unlikely. Still, biomarkers can also provide information on prognosis, subclassification of patients according to pathophysiology, and the selection of patients to therapy (38), areas in which novel markers could prove important. However, the clinical relevance of miRNA biomarkers over established risk models and protein markers should be examined by several statistical methods, including multivariate logistic regression models, receiver operating statistics, and by the novel statistical metrics for evaluating model fit (39). To be of real clinical utility, the new biomarker should also improve patient care, thus provide the physician with a tool for titration of drug doses, selection to invasive procedures, and to guide patient follow-up. This is currently not possible with miRNA biomarkers as there is a lack of knowledge on the kinetics of and the factors that alter miRNA biomarkers. Thus, similar to the status of miRNA based therapy, there are still several important issues that should be addressed before miRNA biomarkers can be considered for clinical use.

Conclusion

The discovery of miRNA molecules as powerful regulators of mRNA function has improved our understanding of protein synthesis control. Basic researchers have reported impressive alterations in animal function by miR gain- and loss-of-function studies, but the clinical implications of these results for therapy and diagnosis is not clear. Future miRNA research should focus on experimental models to promote our understanding of miRNA regulation and function, and on clinical studies to validate results of the experimental models in human subjects.

References

1. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75:843-54.
2. Alvarez-Garcia and Eric A. Miska. MicroRNA functions in animal development and human disease. *Development* 2005;132:4653-62.
3. Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J* 2002;21:4663-70.
4. Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004;303:95-8.
5. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Droscha initiates microRNA processing. *Nature* 2003;425:415-9.
6. Hutvagner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint E, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the *let-7* small temporal RNA. *Science* 2001;293:834-8.
7. Martinez J, Tuschl T. RISC is a 5' phosphomonoester-producing RNA endonuclease. *Genes Dev* 2004;18:975-80.
8. Seitz H, Youngson N, Lin SP, Dalbert S, Paulsen M, Bachelier JP, Ferguson-Smith AC, Cavallé J. Imprinted microRNA genes transcribed antisense to a reciprocally imprinted retrotransposon-like gene. *Nat Genet* 2003;34:261-2.
9. Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science* 2007;318:1931-4.
10. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005;120:15-20.
11. Lai EC. Micro RNAs are complementary to 3' UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation. *Nat Genet* 2002;30:363-4.
12. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009;10:126-39.
13. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread

(Fortsætter side 42)

(Fortsat fra side 41)

- regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010;11:597-610.
14. Yu SL, Chen HY, Chang GC, Chen CY, Chen HW, Singh S, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung cancer. *Cancer Cell* 2008;13:48-57.
 15. Liang Y, Ridzon D, Wong L, Chen C. Characterization of microRNA expression profiles in normal human tissues. *BMC Genomics* 2007;8:166.
 16. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. Expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005;435:834-8.
 17. Cummins JM, Velculescu VE. Implications of micro-RNA profiling for cancer diagnosis. *Oncogene* 2006;25:6220-7.
 18. Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamlieil N, Sevignani C, Ferracin M, et al. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:9740-4.
 19. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008;18:997-1006.
 20. Simpson RJ, Lim JW, Moritz RL, Mathivanan S. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev Proteomics* 2009;6:267-83.
 21. Cortez MA, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2009;9:703-11.
 22. van Rooij E, Olson EN. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest* 2007;117:2369-76.
 23. Latronico MV, Condorelli G. On the road to the definition of the cardiac miRNome in human disease states. *J Mol Cell Cardiol* 2008;45:162-4.
 24. Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 2011;469:336-42.
 25. Thum T, Gross C, Fiedler J, Fischer T, Kissler S, Bussen M, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature* 2008;456:980-4.
 26. Patrick DM, Montgomery RL, Qi X, Obad S, Kauppinen S, Hill JA, et al. Stress-dependent cardiac remodeling occurs in the absence of microRNA-21 in mice. *J Clin Invest* 2010;120:3912-6.
 27. Morrisey EE. The magic and mystery of miR-21. *J Clin Invest* 2010;120:3817-9.
 28. LaDue JS, Wroblewski F, Karmen A. Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. *Science* 1954;120:497-9.
 29. Røsjø H, Omland T. New cardiovascular risk markers: The race is on, but are there any winners? *Scand J Clin Lab Invest* 2008;68:673-7.
 30. Gerszten RE, Wang TJ. The search for new cardiovascular biomarkers. *Nature* 2008;451:949-52.
 31. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:10513-8.
 32. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DE, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*: 2011; Epub before print (doi: 10.1073/pnas.1019055108).
 33. Chitwood DH, Timmermans MC. Small RNAs are on the move. *Nature* 2010;467:415-9.
 34. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008;18:997-1006.
 35. Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem* 2009;55:1944-9.
 36. Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, De Windt LJ, van der Wal AC, Kok WE, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res* 2010;106:1035-9.
 37. Fichtlscherer S, De RS, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetau C, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ Res* 2010;107:677-84.
 38. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation* 2007;115:949-52.
 39. Røsjø H, Omland T. New statistical methods for the evaluation of cardiovascular risk markers: what the clinician should know. *Clin Sci (Lond)* 2009;117:13-5.

Falskt for høye målinger av kalium i plasma og serum - mange årsaker og ukjente konsekvenser

Arne Åsberg¹ og Kristin Moberg Aakre²

¹Avdeling for Medisinsk Biokjemi, St. Olavs Hospital, Trondheim

²Laboratorium for Klinisk Biokjemi, Haukeland Universitetssykehus, Bergen



Hyperkalemi er definert som P-kalium eller S-kalium over øvre referansegrense, henholdsvis 4,4 og 4,6 mmol/L (1). Den lille forskjellen skyldes kaliumlekkasje fra blodets cellulære elementer under framstilling av serum. Hvis S-kalium overstiger 6 mmol/L, taler vi om alvorlig hyperkalemi, fordi en slik tilstand er forbundet med økt fare for plutselig død av hjertearytmier (2, 3). Pasienter med S-kalium over 6 mmol/L må vurderes for øyeblikkelig innleggelse i sykehus for best utredning og behandling.

Før pasienten behandles for hyperkalemi må vi utelukke *pseudohyperkalemi*, dvs. at pasienten bare har en *tilsynelatende* hyperkalemi forårsaket av feil under prøvetaking, prøvehåndtering eller analyse.

Uttrykket *pseudohyperkalemi* brukes ulikt av ulike forfattere. Noen kaller det for *pseudohyperkalemi* hvis den målte P- eller S-kalium er over øvre referansegrense, samtidig som den korrekte verdien er innenfor referanseområdet. Andre bruker høyere aksjonsgrense enn øvre referansegrense, og atter andre taler om *pseudohyperkalemi* hvis S-kalium er mer enn 0,5 mmol/L større enn P-kalium.

Her vil vi belyse årsaker til falskt for høye målinger av P- og S-kalium mer generelt, for vi tror at det

kan være like uheldig når vi feilaktig rapporterer om normokalemi hos pasienter med hypokalemi, som når vi rapporterer om hyperkalemi hos pasienter med normokalemi. I det første tilfellet skjuler vi en mulig utredningstrengende eller behandlingstrengende hypokalemi. I den andre tilfellet utsetter vi pasienter for unødvendig utredning, og i verste fall for unødvendig og farlig behandling

Bortsett fra rene målfeil skyldes falskt for høye målinger av P- og S-kalium at prøvematerialet er forurenset med kalium. En sjelden gang kan prøvetaker ha kommet i skade for å bruke kaliumholdige EDTA-rør til framstilling av plasma eller tatt blod fra en arm med pågående infusjon av kaliumholdig væske, men i de fleste tilfellene har kaliumforurensningen kommet fra en eller annen intracellulærvæske, der konsentrasjonen er i størrelsesorden 150 mmol/L. Fire ulike celletyper kan bidra med kalium til prøvematerialet.

Muskelceller

Under arbeid vil muskelcellene tape noe kalium til ekstracellulærvæsken. Hvis vi ber pasientene om å knytte hånden flere ganger for bedre å se venene før prøvetaking (norsk: bruk av "muskelpumpe"; engelsk: "fist clenching") vil kaliumlekkasje fra muskelcellene øke kaliumkonsentrasjonen i blodplasma i de venene som drenerer underarmsmuskulaturen. Tar vi blodprøven fra en slik vene, blir prøvematerialet ikke særlig representativt for resten av kroppen. Bruk av "muskelpumpe" har gitt opp til 1,5 mmol/L økning av kaliumkonsentrasjonen i prøvematerialet (4, 5), med feilaktig sykehusinnleggelse som resultat (4). Konsentrasjonen av andre, vanlig målte analytter synes ikke å bli påvirket (5).

Det er vanskelig å vite hvor utbredt denne praksis er. I den norske læreboken "Blodprøvetaking i praksis"

(Fortsætter side 44)

fra 2005 er fenomenet ikke nevnt (6). En nylig japansk undersøkelse viste at "fist clenching" kunne være årsak til hyperkalemi i 6 av 23 tilfeller med S-kalium over 6,5 mmol/L, og prosedyreending for å unngå "fist clenching" syntes å hjelpe (5).

Bruk av stasebånd ("tourniquet") har alene liten innvirkning på kaliumkonsentrasjonen (4, 5).

Erytrocytter

Kaliuminnholdet i en liter erytrocytter er vel 20 ganger kaliuminnholdet i en liter plasma, så det skal ikke store lekkasjen til før vi får problemer. Hemolyse gir oss minst problemer, for S-kalium øker med bare 0,20-0,35 mmol/L for hvert g/L hemoglobinstigning i plasma eller serum (7), og 1 g/L hemoglobin gir så tydelig rødfarge av prøvematerialet at tilstanden lett kan oppdages. Verre er det å oppdage kaliumlekkasje fra erytrocytter som *ikke* er hemolyserte. Konsentrasjonsgradienten over erytrocyttmembranen opprettholdes av en energikrevende ionepumpe som hemmes ved avkjøling. Således økte P-kalium betydelig i fullblodprøver som ble inkubert ved 4°C (8). I koagulerte, usentrifugerte fullblodprøver som hadde stått i kjøleskap økte gjennomsnittlig S-kalium fra ca 4,5 mmol/L til ca 7 mmol/L etter 24 timer og til ca 11 mmol/L etter 48 timer (9). Stigning i P-kalium og S-kalium på grunn av hemmet ionepumpe skjer *uten* samtidig hemolyse. Hvis slike "gamle" prøver sentrifugeres og plasma eller serum avpipettes og sendes til analyse uten noen merknader fra avsender, er det ikke lett for mottakende laboratorium å være oppmerksom på feilkilden.

Trombocytter

Forskjellen mellom S-kalium og P-kalium tilskrives gjerne kaliumlekkasje fra trombocytter. At det virkelig kan forholde seg slik, viser en undersøkelse av Nijsten et al., der forskjellen mellom S-kalium og P-kalium hadde tydelig sammenheng med B-trombocytter, og var så stor at nesten hele kaliummengden i trombocytene måtte ha blitt frigjort under koaguleringen (10). B-trombocytter på 1000 x 10⁹/L var assosiert med omtrent 1 mmol/L høyere S-kalium enn P-kalium (10), et funn som ble bekreftet av Lutomski & Bower (11). I en undersøkelse av 90 pasienter med trombocytose var S-kalium over øvre referansegrense hos ca 70% av de pasientene der myeloproliferativ sykdom var årsak til trombocytosen og hos ca 35 % av pasientene med "reaktiv" trombocytose (12). Tre av de 90 pasientene

ble feilaktig behandlet for hyperkalemi, blant annet med infusjon av kalsium, insulin og glukose (12). Denne feilkilden vil selvsagt kunne unngås hvis vi rutinemessig måler kaliumkonsentrasjonen i plasma og ikke i serum, og mange sykehus bruker nå plasma som standard prøvemateriale, men serum er fortsatt mest brukt i primærhelsetjenesten - i hvert fall i Norge. Dersom man rutinemessig analyserer kaliumkonsentrasjonen i serum, kan det være et alternativ å be om kontrollprøve til måling av kaliumkonsentrasjonen i plasma hvis det påvises B-trombocytter over 1000 x 10⁹/L.

Leukocytter

Det samlede leukocytvolumet i blod er vanligvis svært mye mindre enn erytrocyttvolumet, så vi forventer ikke at lekkasje av kalium fra leukocytter skal ha noen betydning hos pasienter som ikke har leukocytose. Den gjennomsnittlige differensen mellom S-kalium og P-kalium hos 29 pasienter med leukocytose (median 40, range 8-400 x 10⁹/L) var ikke større enn tilsvarende differanse hos 30 kontrollpersoner (13), så det synes ikke å lekke noe vesentlig kalium ut av leukocytene ved koagulering. Andre har imidlertid funnet betydelig kaliumlekkasje fra leukocytter, for eksempel ble S-kalium målt til 7,6 mmol/L i en rørpost-sendt prøve fra en pasient med kronisk lymfatisk leukemi, mens S-kalium var 3,2 mmol/L i en samtidig tatt prøve som ble "walked" til laboratoriet (14). Lee et al. beskriver fire pasienter med kronisk lymfatisk leukemi og pseudohyperkalemi i plasma-prøver (15). Hos disse pasientene var kaliumkonsentrasjonen i serum mer pålitelig enn den i plasma. Årsaken til dette kan være at leukocytter ved malign sykdom ofte er svært fragile og i større grad lyses dersom prøven sentrifugeres før koagulering. Best er det i slike tilfeller å ta prøven med blodgas-sprøyte og måle P-kalium i fullblod ved hjelp av ioneselektiv elektrode i blodgassinstrument (15).

Konklusjon

Årsakene til falskt for høye kaliummålinger i plasma og serum er mange. Noen av disse årsakene gir mest utslag i serum, andre i plasma. Verken insidensrate eller kliniske konsekvenser av falskt for høye kaliummålinger er godt undersøkt. Det viktigste for oss som arbeider i laboratoriene er å være oppmerksom på slike feilkilder, for bedre å kunne veilede rekvirentene.

Referanser

1. Rustad P, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A, Mårtensson A, Hyltoft Petersen P, Simonsson P, Steensland H, Uldall A. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64:271-84.
2. Evans KJ, Greenberg A. Hyperkalemia: a Review. *Intensive Care Med* 2005;20:272-90.
3. Einhorn LM, Zhan M, Hsu VD, Walker LD, Moen MF, Seliger SL, Weir MR, Fink JC. The frequency of hyperkalemia and its significance in chronic kidney disease. *Arch Intern Med* 2009;169:1156-62.
4. Don BR, Sebastian A, Cheitlin M, Christiansen M, Schambelan M. Pseudohyperkalemia caused by fist clenching during phlebotomy. *N Engl J Med* 1990;322:1290-2.
5. Seimiya M, Yoshida T, Sawabe Y, Sogawa K, Umemura H, Matsushita K, Nomura F. Reducing the incidence of pseudohyperkalemia by avoiding making a fist during phlebotomy: a quality improvement report. *Am J Kidney Dis* 2010;56:686-92.
6. Husøy A-M (red.). *Blodprøvetaking i praksis*. Oslo: Akribe, 2005.
7. Hawkins R. Variability in potassium/hemoglobin ratios for hemolysis correction. *Clin Chem* 2002;48:796.
8. Sodi R, Davison AS, Holmes E, Hine TJ, Roberts NB. The phenomenon of seasonal pseudohypokalemia: effects of ambient temperature, plasma glucose and role for sodium-potassium-exchanging-ATPase. *Clin Biochem* 2009;42:813-8.
9. Ono T, Kitaguchi K, Takehara M, Shiiba M, Hayami K. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. *Clin Chem* 1981;27:35-8.
10. Nijsten MW, de Smet BJ, Dofferhoff AS. Pseudohyperkalemia and platelet counts. *N Engl J Med* 1991;325:1107.
11. Lutomski DM, Bower RH. The effect of thrombocytosis on serum potassium and phosphorus concentrations. *Am J Med Sci* 1994;307:255-8.
12. Ong YL, Deore R, El-Agnaf M. Pseudohyperkalemia is a common finding in myeloproliferative disorders that may lead to inappropriate management of patients. *Int J Lab Hematol* 2010;32:e151-7.
13. Sevastos N, Theodossiades G, Efstathiou S, Papatheodoridis GV, Manesis E, Archimandritis AJ. Pseudohyperkalemia in serum: the phenomenon and its clinical magnitude. *J Lab Clin Med* 2006;147:139-44.
14. Smalley RM, Cook S, Chan MR. Best not shaken or stirred! Chronic lymphocytic leukemia and hyperkalemia. *Kidney Int* 2010;77:167-8.
15. Lee HK, Brough TJ, Curtis MB, Polito FA, Yeo KT. Pseudohyperkalemia - is serum or whole blood a better specimen type than plasma? *Clin Chim Acta* 2008;396:95-6.



Foto: Henrik Alftan

Doktorgradsavhandling: Diabetesomsorg på apoteket – fokus på egenmåling av blodsukker

Reidun Lisbet Skeide Kjome, Institutt for Samfunnsmedisinske fag, Universitetet i Bergen
reidun.kjome@isf.uib.no



Det er veldokumentert at egenmåling av blodsukker bidrar til bedre blodsukkerkontroll hos pasienter som bruker insulin og bruker målingene til å justere dosering. Imidlertid er effekten for pasienter som ikke bruker

insulin ikke like tydelig, og det er omdiskutert om denne gruppen har nytte av å foreta målinger. Likevel anbefaler mange retningslinjer egenmåling til alle pasienter med diabetes, ofte med den noe vage formuleringen at egenmåling er "et nyttig verktøy i diabetesbehandlingen" (1).

En oversiktsundersøkelse publisert i 2010 i Health Technology Assessment (2) fant at det er mangel på forståelse og opplæring omkring egenmåling, både hos pasienter og helsepersonell, og en norsk studie fant at ca 50 % av diabetespasientene oppgav å være selv-lært i egenmåling (3). Utbyttet av blodsukkermåling avhenger av kvaliteten på blodsukkermålingsutstyret, at utstyret brukes riktig og at pasienten bruker resultatene på riktig måte. I Norge er det ingen enkelt gruppe av helsepersonell som har påtatt seg ansvaret med å gi pasienter opplæring i egenmåling, eller å kontrollere at pasientenes målinger er riktige.

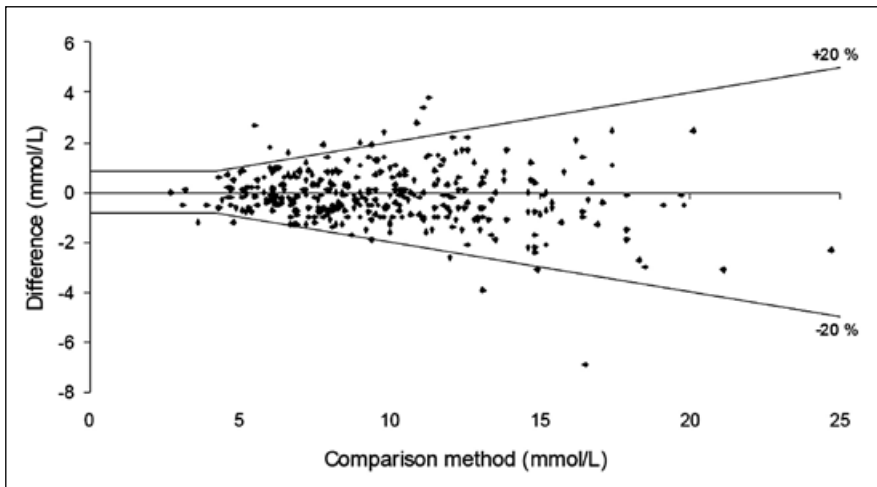
Verden over er det en trend at flere og flere apotek tilbyr tjenester utover det å ekspedere resepter. Disse tjenestene kan være for eksempel legemiddelgjennomganger, hvor en farmasøyt vurderer en pasients legemiddelliste og identifiserer mulige bivirkninger, interaksjoner, feildoseringer eller andre legemiddelrelaterte problemer. Andre tjenester kan være pasientopplæring, i for eksempel riktig bruk av astmainhalatorer, blodsukkermålingsutstyr eller insulinpennner,

eller tilbud om hjelp til røykeslutt. Det blir også mer og mer vanlig for apotek å tilby pasienter kliniske tester som blodtryksmålinger, blodsukkermålinger, kolesterolmålinger eller benteitthetsmålinger. De fleste diabetespasienter er på apoteket minst hver tredje måned for å hente reseptmedisin og egenmålingsutstyr, og der har pasienter anledning til å treffe høyt utdannet helsepersonell uten timebestilling.

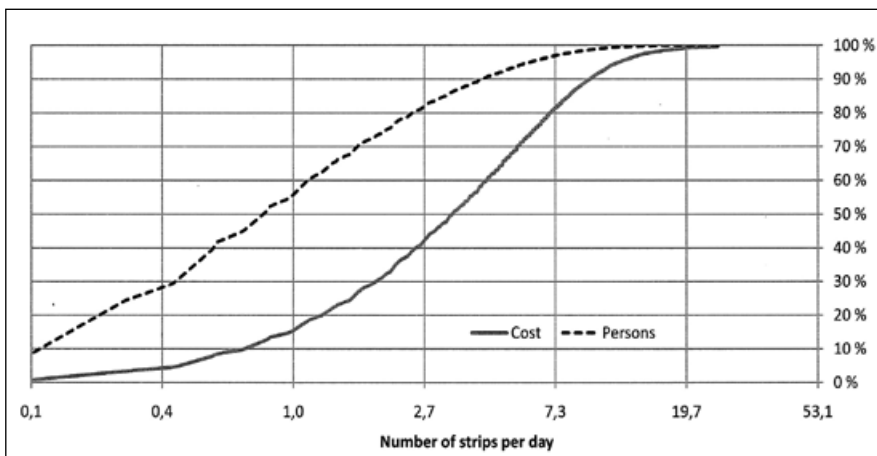
Hensikten med doktorgradsarbeidet var å undersøke hvilke diabetesrelaterte tjenester som ble tilbudt fra apotek i Norge, samt å undersøke om apotek kan bidra til å øke kvaliteten av blodsukkermålinger utført av pasienter ved å kontrollere pasientenes egenmålingsteknikk og utstyr. I tillegg ønsket vi å undersøke omfanget av blodsukkermåling i Norge.

I den første studien som inngikk i avhandlingen ble det brukt et elektronisk spørreskjema som ble sendt ut til alle landets apotek for å undersøke i hvilken grad norske apotek tilbyr tjenester rettet mot pasienter med diabetes. Det ble funnet at apotekene samlet tilbød et bredt spekter av tjenester til sine diabetespasienter, men det varierte mye fra apotek til apotek hva som ble tilbudt. Tjenester relatert til egenmåling av blodsukker utmerket seg som et område der apotekene allerede var aktive og også ønsket å tilby flere tjenester. Stort sett alle apotek tilbød hjelp til valg av riktig blodsukkermålingsapparat, og mange tilbød også opplæring i riktig bruk av apparatet. Omkring halvparten av apotekene tilbød seg å kontrollere at blodsukkerapparatene målte riktig, men de manglet skriftlige prosedyren for tjenesten, og utførte den ikke på en tilfredsstillende måte (4).

Neste studie var todelt, og i første del ble det undersøkt om man kunne innføre en glukosemetode på apoteket som apotekpersonalet kunne bruke som "fasit" for å kvalitetskontrollere diabetespasienters egenmåling av blodsukker. Seksten apotek deltok i studien, og ble innmeldt i NOKLUS. En ansatt fra hvert



Figur 1. Forskjellen mellom pasient- og apotekmålinger, plottet mot apotekmålinger. Linjene viser grensene for aksepterte målinger.⁶



Figur 2. Kumulativ andel personer (stiplet linje) og andel kostnader (heltrukket linje) i prosent, etter blodsukkerstrimmelbruk per dag.⁷

apotek fikk opplæring i bruk av HemoCue Glucose+, som var instrumentet som skulle brukes på apotekene, og i analysekvalitet, egenmåling, kvalitetskontroll og vanlige feilkilder ved blodsuktermålinger. Apotekene mottok prøver fra NOKLUS sitt eksterne kvalitetskontrollsystem og utførte også interne kvalitetskontroller på alle dager der de hadde pasientkontroller. Kvaliteten på målingene utført på apotekene ble funnet å være tilfredsstillende og apotekenes resultater på de eksterne kvalitetskontrollene var sammenlignbare med de legekantor som brukte samme metode, både med hensyn til presisjon og riktighet (5).

I andre del av studien rekrutterte de 16 apotekene til sammen 338 diabetespasienter fra sin kundekrets til å delta i studien. Pasientene ble først intervjuet av den ansatte, før de ble bedt om å utføre en blodsuk-

kermåling på sitt eget apparat som vanlig. Deretter ble pasientens blodglukose målt på apotekets HemoCue instrument. Dersom pasientmålingen avvok med mer enn 20 % fra apotekets måling (eller med mer enn 0,83 mmol/L ved målinger under 4,2 mmol/L), ble den registrert som utilfredsstillende, og man forsøkte å avdekke årsaken til feilen enten i pasientens måleteknikk, i strimlene som ble brukt eller i apparatet.

Pasientene ble bedt om å komme tilbake for en ny kontroll etter 3 måneder. Totalt 307 av pasientene gikk gjennom kontrollprosedyren igjen og ble så intervjuet med et nytt sett med spørsmål. I styrkeberegningene gjort i forkant av studien estimerte vi fra tidligere studier at ca 15 % av pasientene ville ha utilfredsstillende målinger, og vi ønsket å kunne måle en nedgang på ca

(Fortsætter side 48)

(Fortsat fra side 47)

50 % fra dette. Imidlertid var det kun 5 % av pasientene som deltok i studien som hadde utilfredsstillende resultat ved første besøk (Figur 1). Dette kan skyldes at instrumentene er blitt mer brukervennlige og mer robuste for pasientfeil som gjøres. Imidlertid er det også godt mulig at det har skjedd en seleksjonsbias, og at de pasientene som takket ja til å delta er dem som er mest interessert i egenmåling og relativt velregulerte pasienter. Det var en lav responsrate, kun 29 % av de inviterte pasientene aksepterte, og gjennomsnittlig selvrapportert HbA1c hos pasientene var 7 %, noe som støtter denne teorien. Det tyder på at det kan være utfordrende å nå de pasientene som kunne ha mest nytte av en slik tjeneste.

På grunn av det lave antallet utilfredsstillende målinger ved første besøk, var det ikke forventet å kunne måle en nedgang i dette til neste besøk, og det kunne man heller ikke. Imidlertid var antallet brukerfeil ved andre kontroll omkring halvparten av det man så ved første besøk og 51 % av pasientene oppgav at de følte seg sikrere på målingene sine etter kontrollen på apoteket. Hele 80 % av pasientene ønsket å komme til årlige kontroller av blodsuktermålingene sine, og 83 % av disse ønsket å få kontrollen utført på apoteket.⁶

Målet med den siste studien som inngikk i avhandlingen var å avdekke hvor mange personer som utfører egenmåling av blodsukker i Norge og kostnadene ved dette. Forfatterne fikk data fra HELFO, norsk helseøkonomiforvaltning, på alle kjøp av blodsukkerstrimler i apotek og hos bandasjister i 2008. Det ble funnet at 96 999 forskjellige personer kjøpte blodsukkerstimler i 2008. Dette tilsvarer ca 2 % av den norske befolkningen. Ved å sammenligne med tall fra det norske reseptregisteret på salg av insulin og tabletter til behandling av diabetes ble det estimert at omkring 70 % av diabetespasienter som blir behandlet medikamentelt for sin sykdom utfører egenmåling av blodsukker. Gjennomsnittlig kjøpte hver person nok strimler til å kunne måle 1,7 ganger per dag. Imidlertid var det stor spredning i målefrekvensen. Kun 45 % av pasientene kjøpte nok strimler til å kunne utføre daglige målinger, mens 1 % av pasientene kjøpte nok til å måle 10 ganger daglig eller mer, og denne prosenten stod for 8 % av den totale summen som ble brukt på strimler (Figur 2). Totalt ble det brukt 355 millioner kroner på blodsukkerstimler i 2008, mens man brukte 337 millioner på insulin og 119 millioner på tablettbehandling av diabetes (7).

Konklusjoner

Mange apotek tilbød spesielle tjenester til diabetespasienter. Særlig tjenester relatert til blodsuktermåling var vanlig, men kvalitetssikring manglet. Gitt riktig opplæring og oppfølging av personalet kunne apotekene tilby kontroller av egenmålingsteknikk og utstyr som minsket antall brukerfeil og øket pasientenes tiltro til egne målinger. Imidlertid kan det være vanskelig å rekruttere de pasientene som har mest bruk for en slik kontroll. I 2008 kjøpte ca 70 % av pasientene som er medikamentelt behandlet for diabetes strimler til blodsuktermåling, for en samlet sum av 355 millioner kroner.

Avhandlingen i sin helhet kan finnes på <http://hdl.handle.net/1956/4351>

Referanser

1. Diabetes. Forebygging, diagnostikk og behandling. Nasjonale faglige retningslinjer. Helsedirektoratet 2009.
2. Clar C, Barnard K, Cummins E, Royle P, Waugh N. Self-monitoring of blood glucose in type 2 diabetes: systematic review. *Health Technol Assess* 2010;14:1-140.
3. Skeie S, Thue G, Nerhus K, Sandberg S. Instruments for self-monitoring of blood glucose: Comparisons of testing quality achieved by patients and a technician. *Clin Chem* 2002;48:994-1003.
4. Kjome RL, Sandberg S, Granas AG. Diabetes care in Norwegian pharmacies: a descriptive study. *Pharm World Sci* 2008;30:191-8.
5. Kjome RLS, Nerhus K, Sandberg S. Implementation of a method for glucose measurements in community pharmacies. *Int J Pharm Practice* 2009;18:13-9.
6. Kjome RLS, Granas AG, Nerhus K, Sandberg S. Quality assessment of patients' self-monitoring of blood glucose in community pharmacies. *Pharm Practice* 2010;8:62-9.
7. Kjome RL, Granas AG, Nerhus K, Roraas TH, Sandberg S. The prevalence of self-monitoring of blood glucose and costs of glucometer strips in a nationwide cohort. *Diabetes Technol Ther* 2010;12:701-5.



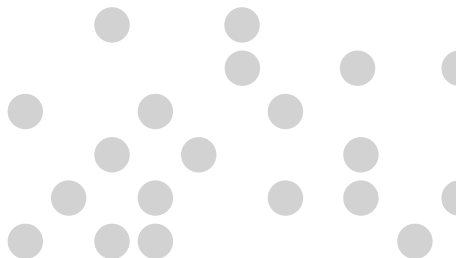
OCD Remote Monitoring Center

Our team is dedicated to your uptime.

Our Remote Monitoring Center has a support team of highly skilled service professionals who continuously track the condition of instruments, monitor performance and diagnose issues remotely. We are there when you need us. We are committed to keep your lab up and running because you are committed to your patients.

For more information on our Remote Monitoring Centres
go to: www.orthoclinical.com

Ortho Clinical Diagnostics
a *Johnson & Johnson* company



Lyngbyes Laboratoriemedicin

Anders Larsson, *Klinisk Kemi och Farmakologi, Akademiska Sjukhuset, Uppsala*

Lite funderingar efter att ha läst denna bok

Jag har suttit under de senaste veckorna och läst i Lyngbyes Laboratoriemedicin. Det har varit ett stort nöje att studera denna nyutgivna bok lite närmare. Det är en bok som man kommer att ta fram många gånger under de närmaste åren och egentligen borde man inte recensera en sådan här bok nu utan om fem år när man har sett hur många hundra gånger man plockat fram boken under åren. Jag vill dock passa på att redan nu komma med en första recension för att sprida kunskapen om boken utanför Danmarks gränser.

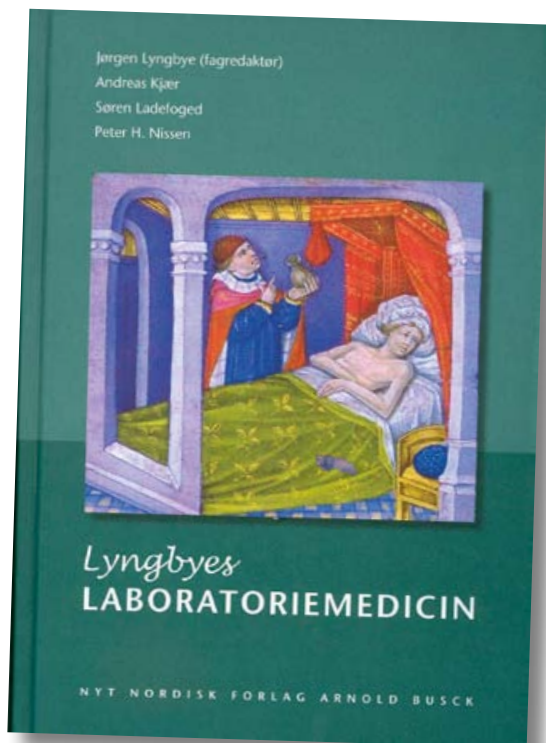
När man läser igenom Laboratoriemedicin så slås man av kunskapsbredden. Jag är övertygad om att det är ett mycket stort antal kliniska kemister utöver de fyra författarna som har deltagit i skrivandet av denna

bok, för det känns som det är omöjligt för enbart fyra personer att täcka hela detta område. Jag misstänker att hela den danska expertisen inom laboratoriemedicin har varit delaktiga i skrivandet i en eller annan form. Det är därför kanske rätt att det är en icke-dansk klinisk kemist som får första chansen att kommentera denna bok i KBN. Jag är ju som övriga svenska kliniska kemister uppfödda med den svenska klinisk kemi boken (Laurells) så det är givetvis intressant att jämföra de här två storheterna.

Titeln Laboratoriemedicin tyder på att författarna vill ta ett bredare grepp än bara klinisk kemi. Det är ingen lätt uppgift då den ökade integrationen gör det svårt att hitta tydliga gränser för den här typen av böcker/uppslagsverk och det ställer stora krav på författarnas kunskaper. Författarna har bland annat tagit med rejäla kapitel om molekyllär medicin, nuklearmedicin och tolkning och användning av laboratorieprover. Detta är helt i linje med den utveckling som pågår inom laboratoriemedicin där vi går mot en ökad integration mellan de olika laboratoriespecialiteterna. Ett exempel på detta är det gedigna kapitlet om molekyllär medicin. Det är ett område som ofta hoppas över i andra kliniskt kemiska böcker. Kapitlet täcker våra vanligaste molekyllärmedicinska metoderna som numera utförs på biokemiska laboratorier och även en del av analyserna som i Sverige utförs av kliniskt genetiska laboratorier.

Det inledande kapitlet om laboratoriemedicinens historia kanske man inte har så stor nytta av i det dagliga arbetet, men det var trevligt att läsa och kunskap är en lätt börda. Kapitel 2, om värdering och användning av laboratorieanalyser, innehåller mycket matnyttigt och ger en bra bakgrund till många av de begrepp som vi använder på laboratorier (referensintervall, spårbarhet, ackreditering, GLP osv). Jag uppskattade också avsnittet om ROC-kurvor som förklarades på ett bra och tydligt sätt.

Kapitel 3 är själva kärnan i boken och innehåller ett mycket stort antal laboratorieanalyser i alfabetisk



ordning. I sammanställningen har man även tagit med relativt nya analyser som anti-CCP, BNP, holocobolamin och osteocalcin. Provstabiliteten är i regel ganska konservativt angiven, men det är kanske klokt med tanke på om boken läses av icke laboratoriefolk. Jag tycker att det är positivt att man även tagit med GFR beräkning utifrån kreatinin och cystatin C. För kreatinin har man valt MDRD ekvationen från 2005 och Lund-Malmö ekvationen, vilka ur skandinaviskt synpunkt förefaller vara de mest relevanta. Problemet med cystatin C ekvationer är att man har tagit fram en ny internationell kalibrator vilket gör att cystatin C ekvationerna som beskrivs i boken mycket snart kommer att vara inaktuella. Det är ju tyvärr inget som författarna kan göra något åt.

Kapitlet om nuklearmedicin är intressant även om det i Sverige oftast ligger utanför vårt område. Om inte annat så var det ett nöje att titta på bilderna. Man har tagit med Schillingtestet vilket i Sverige närmast är en historisk analys och jag tror inte någon sådan analys har utförts i Sverige under de senaste 10 åren (?).

Min generella uppfattning är att boken är mycket

detaljerad och välskriven. Som svensk ställer man sig frågan om jag skall skaffa mig en svensk eller dansk bok om laboratoriemedicin. Mitt råd till övriga svenskar är att skaffa båda böckerna för de kompletterar varandra på ett förträffligt sätt.

Vad har då den här boken för svagheter? Jag har egentligen bara en liten kritik mot boken och det är framsidesbilden som visar en "Pisse profet" (på engelska *pisse prophet*) som tittar på urinen för att ställa diagnosen på patient. Thomas Brian skrev i början på 1600-talet "*It were farre better for the Physician to see his Patient once than to view the Urine twenty times*". Den mer moderna versionen skulle sannolikt bli: Det vore bättre att doktorn beställer ett laboratorieprov än skådar i urinen tjuo gånger. Innehållet i boken står så långt över Pisse profeternas nivå att kopplingen nästan känns som en förolämpning mot innehållet och författarna.

Mitt förslag är därför: Köp boken, hoppa över framsidesbilden och börja läsa boken på en gång. Jag är övertygad om att ni kommer att ha stor glädje och nytta av den här boken under de år som kommer.



Foto: Henrik Alfthan



Vandrande Vetenskapsmannen: La Tafdrup på Poesiens Hus

Per Simonsson

Med en dansk poetvän vid sin sida vandrar vetenskapsmannen från återöppnade jazzhaket Montmartre, upp längs Gothersgade. Där, i ett 1700-tals hus, med Rosenborg slott skymtande, ligger Köpenhamns senaste kulturella nytillskott: Poesiens Hus. Finns redan i Paris, i NYC, så, *why not in CPH?*

Grand opening night tonight, hela den danska poesin skall komma. Detta måste hedras, upplevas, hämningslöst, av utsänd reporter, *the gonzo of KBN*. En möjligheternas afton, känner jag. Svensk granit möter dansk lera.

Alla skall ha ett hus nuförtiden. Det är en vacker tanke. Mitt i den digitala världens transparanta trådlöshet skall alla ha ett hus. Något hem i den hemlösa cybervärlden. Labmedicin skall ha ett hus, och nu också den mest immateriella av alla konster – Poesin. Visst skall poesin få sitt hus. Poesin, det talade ordet, fritt, flygande, det skrivna ordet, ande, svävande. Men hus skall de också ha.

Det tyckte i alla fall den danska poeten Lene Henningsen när hon gjorde sin ökenvandring mellan ministerier och mecenater på jakt efter hyresbidrag. Nej, det gick inte. Men hon gav sig inte. Hyrde själv ett 1700-tals hus alldeles vid Rosenborgs slott och satte igång med hjälp av ett femtiotal entusiaster.

Det är ett vackert hus, väggarna vitkalkade, etager, trappor, halvvåningar, bokhyllor men mest vitkalkade väggar. Har varit modellagentur och cocktailbar. Inte illa. Och möbler i bleka pastellnyanser. Stilfullt snarare än bohemiskt, inga sovande poeter i hörnorna. Inga tomma vinflaskor. *No, no!*

– Skulle jag dricka din öl i stället för min dansk vand, anförtror mig senare på kvällen en äldre poet, så skulle jag vara död i morgon!

Vi kommer tidigt och min poetvän ställer sig i kön till baren. Den rör sig långsamt som naturlyrik. Själv sätter jag mig i en pastellmintgrön stol vid ett pastell-

mintgrönt bord, bland en grupp damer. De ser bleka ut, lite undernärda, som poeter kanske skall se ut, förutom kvinnan som tronar vid bordet, vid min vänstra sida. Hon är inte undernärd. Hon lyser, stort mörkt hår, gul tröja, faktiskt samma färg som min. Det får mig att känna mig poetisk, en i kretsen. Samhörighet.

Jag sträcker fram min hand och presenterar mig artigt.

– Pia Tafdrup, svarar hon, och synes bekymrad över att inte kunna placera mitt namn.

– Jag är svensk, urskuldar jag mig.

– Jaha, säger hon lika frågande.

– Jag är inte poet. Jag är prosaist. Klinisk biokemist.

Vid dessa ord slappnar Pia Tafdrup av och ler gott och välkomnande. Tydligt en bra formel bland danska poeter. Prosaist, biokemist. Får jag inte glömma. Någon som kommer långt ifrån.

Så där sitter jag – förvandlad till Den Svenske Biokemisten - vid regentens pastellmintgröna bord. Kanske är det reserverat för poeter men som Vandrande Vetenskapsman får man inte vara blyg.

Pia Tafdrup, La Tafdrup, dansk poesis drottning, Dansk Akademi, Nordiska priset och en hemsida så professionell att den kan göra vilken exhibitionist som helst blek av avund. Hon som skrev om åtrån: *”Det utal af tegn/der kan ligge på spidsen/af en erigeret bryst-vorte”*. Runt henne kronprinsessorna med Susanne Jorn och Lene Henningsen. Fint folk. Bäst att sitta tyst, bara svara på tilltal, och insupa den spirituella konversationen. Jag kan givetvis inte avslöja de förtroeligheter jag får mig till dels, mer än att det mesta rör facebook och internet. Men jag ler, salig av de inspirerades utsagor.

Min danska vän kommer tillbaka med kaffe. Hon stirrar storögt på mig. Jag visar henne en plats jag reserverat invid La Tafdrup - Vad gör inte en gentleman för en poet? – och hon slår sig ner i beundran invid idolen.

De dyker upp, en efter en, poeterna. Nån klinkar på pianot. Sånger som var populära en gång i tiden i vissa kretsar. De har varit med förr, grått hår, hjältar och revoltörer. Slitnare nu, inte längre fjuniga lyriker. Men kör för fullt.

– *Banke rätter, banke rätter!*

En poet, vuxen karl, läser sin konkretpoesi till vokalt komp.

– *Banke rätter, banke rätter!*

Min danska har luckor, klara brister. Det inser jag. Vad säger han, om och om igen, där han står och skanderar i trappan, vad kvider han ut? Skall han banka rättor? Slå dem i väggen? Vuxen karl, stor emfas. Säkert djupsinnigt.

– *Banke rätter, banke rätter!*

Andra poeter är mer lätta att förstå. Som Erik Trig-ger Olesen, från Esbjergs fiskauktioner, när han ropar ut sin långa dikt om *Masseodelæggelsevåben*, ordet om och om igen. Med olika definitioner. Skriver poeter sånt fortfarande? Tydiligen. Helt oförblommerat. Och de deklameras för fulla halsar på Poesiens hus.

– Något att dricka, frågar jag La Tafdrup.

– Kaffe, tack!

Vilket leende, en regents leende! Mitt hjärta krossas. Så ler *Dronningen af Digter*. Jag fylls av hänryckning. Byt ut Margrete II, sätt in La Tafdrup! *Dronning Pia!* Inga amatörakvarellister längre, krossa diletteriet, återinför civilisationen i Danmark, sätt riktiga konstnärer på tronen. Jag återvänder med kaffe till La Tafdrup, ingen riktigt passande dryck, måste jag erkänna,

men nu är jag undersåte, får lyda, med låg profil. Hålla min stora svenska käft. Jag kommer inte ens på ett enda citat av Tranströmer. Och kanske bäst så. *Not the right stuff tonight*. De pratar på bra själva. Hemsidor och uppläsningar och facebook. Så le bara. Du är bara en svensk biokemist. Le och håll med, som man alltid gör klokast i när man får ynnesten av att gästa ett hov.

Så reser sig La Tafdrup och ställer sig i en av trapporna. Den danska poesins residens har många trappor. Danska poeter tycker tydiligen om trappor. Det blir tyst, förväntan. Vi åhörare, ett dussin eller så, trängs nära.

Hon läser dikt om när hon lånar en arabisk kvinna sitt läppstift.

Elektricitet.

Så skriver bara en stor poet.

Så läser bara en *dronning*.



Pia Tafdrup på Poesiens Hus
(Bild: Birgitta Alemo)

IDS Nordic

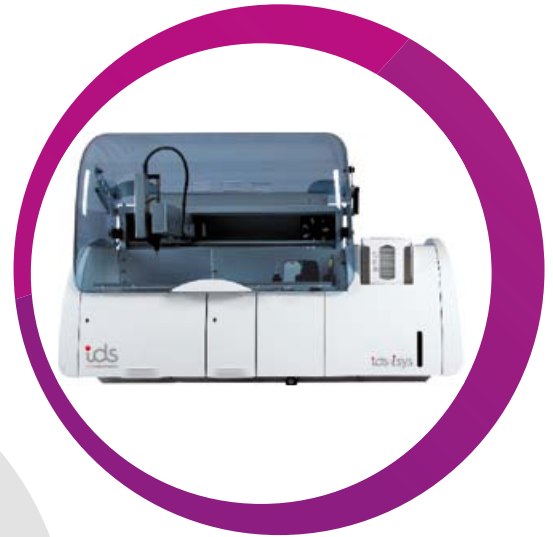
Bone, Growth and Cartilage Diagnostics



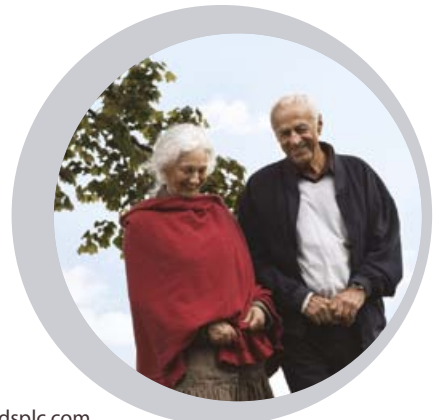
IDS-iSYS - Our Fully Automated Speciality Analyzer

IDS-iSYS Growth Disorders

- hGH
- IGF-I
- IGFBP-3



According to
the Keswick guidelines
IDS Nordic now have a
“complete growth panel”
published by
David R. Clemmons
in *Clinical Chemistry*
57:4 (2011)



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

Redaktionskomitén 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

Finland

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

Island

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

Sverige

Docent Per Simonsson
Klinisk kemi
Labmedicin Skåne
SE-205 02 Malmö
Telefon: +46 768 890504
E-mail: per.simonsson@med.lu.se

NFKK

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

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/vancouver.htm>). Meddelelser og korte innlegg skrives fortløpende, mens lengre artikler med fordel bør inndeles i avsnitt med en kort overskrift. Tabeller skrives på eget ark sammen med en tekst som gjør tabellen selvforklarende.

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

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptet 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.

Klinisk Biokemi i Nordens redaktion 2011

Linda Hilsted, Kristin Aakre, Per Simonsson,
Palle Wang, Henrik Alfthan, Ingunn
Þorsteinsdóttir, Anders Larsson.



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

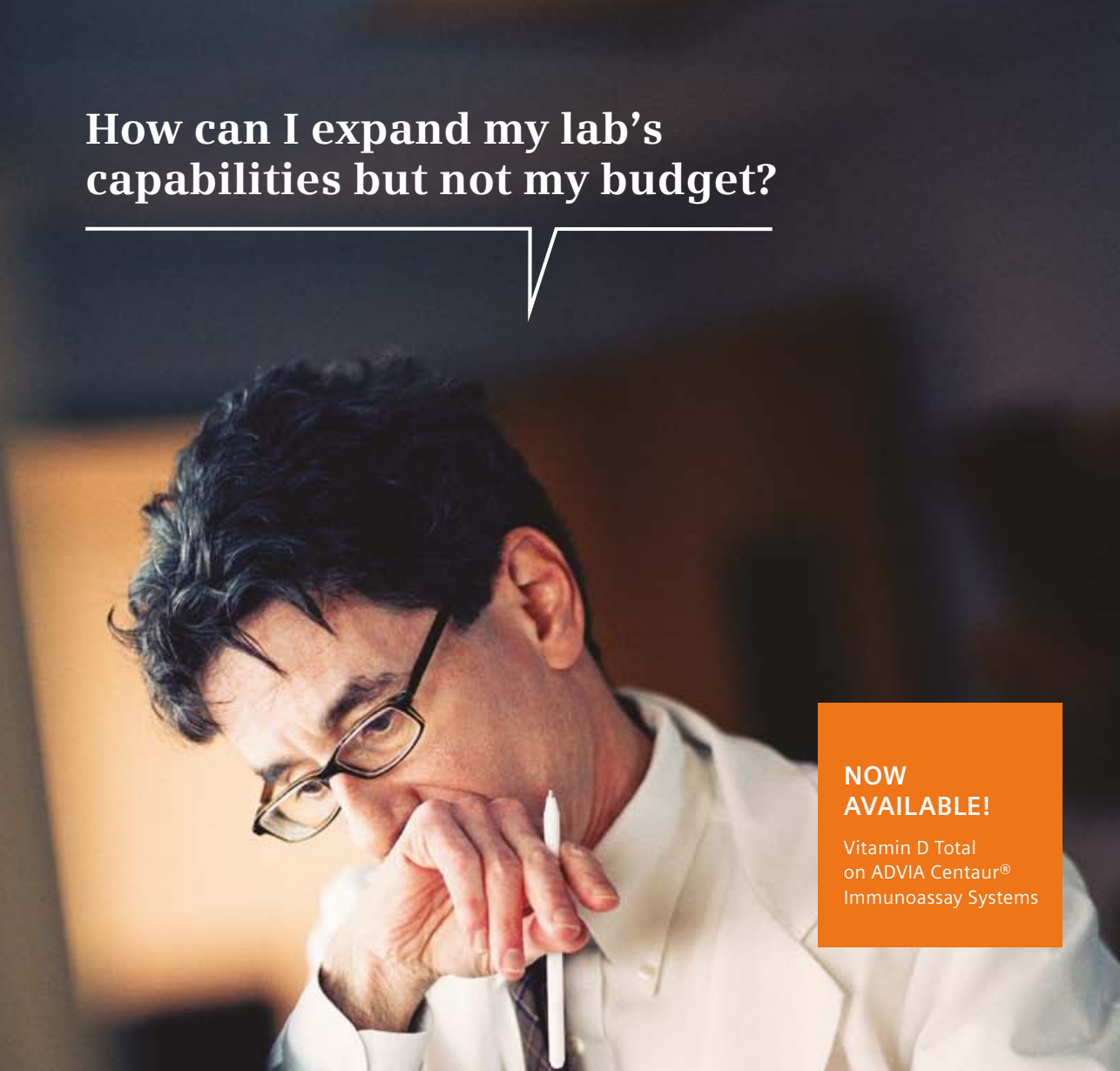
Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

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

Det nåværende styre består av Nete Hornung (Randers), Henrik Jørgensen (Bispebjerg), Tuula Metso (Helsingfors), Harri Laitinen (Helsingfors), Jón Jóhannes Jónsson (Reykjavík), Ingunn Þorsteinsdóttir (Reykjavík), Lars Eikvar (Oslo), Helge Rootwelt (Oslo), Per Simonsson (Malmö), Per Bjellerup (Västerås).

Ordförande: Ingunn Þorsteinsdóttir. Sekreterare: Vakant.

How can I expand my lab's capabilities but not my budget?



**NOW
AVAILABLE!**

Vitamin D Total
on ADVIA Centaur®
Immunoassay Systems

Siemens offers flexible systems and a versatile assay portfolio to increase capacity without straining your resources.

With our diverse range of immunoassay, clinical chemistry, and integrated platforms, you can enhance your operational efficiency while seamlessly meeting ongoing demands. And, together with our comprehensive disease-state menu, Siemens enables you to focus on what matters most—improving service to clinicians and care to patients. Find out more at www.siemens.com/diagnostics

Answers for life.

SIEMENS