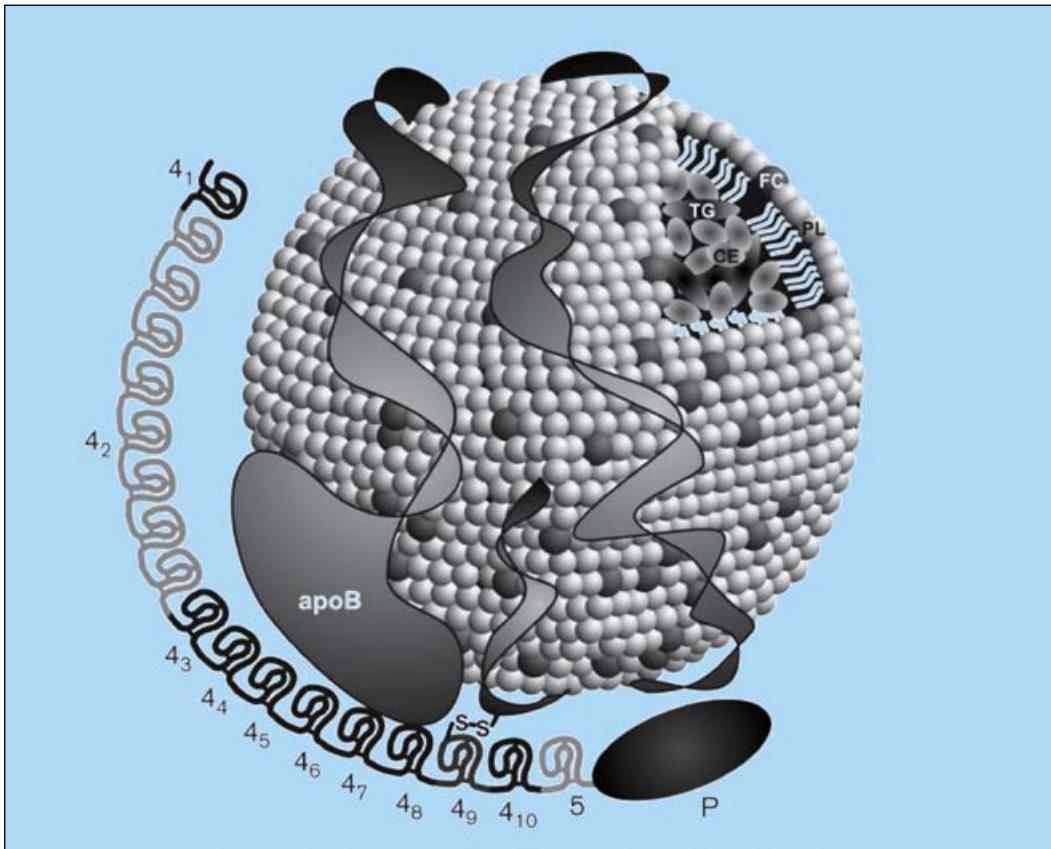
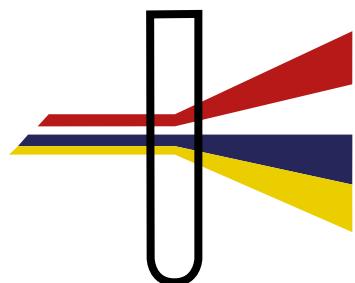


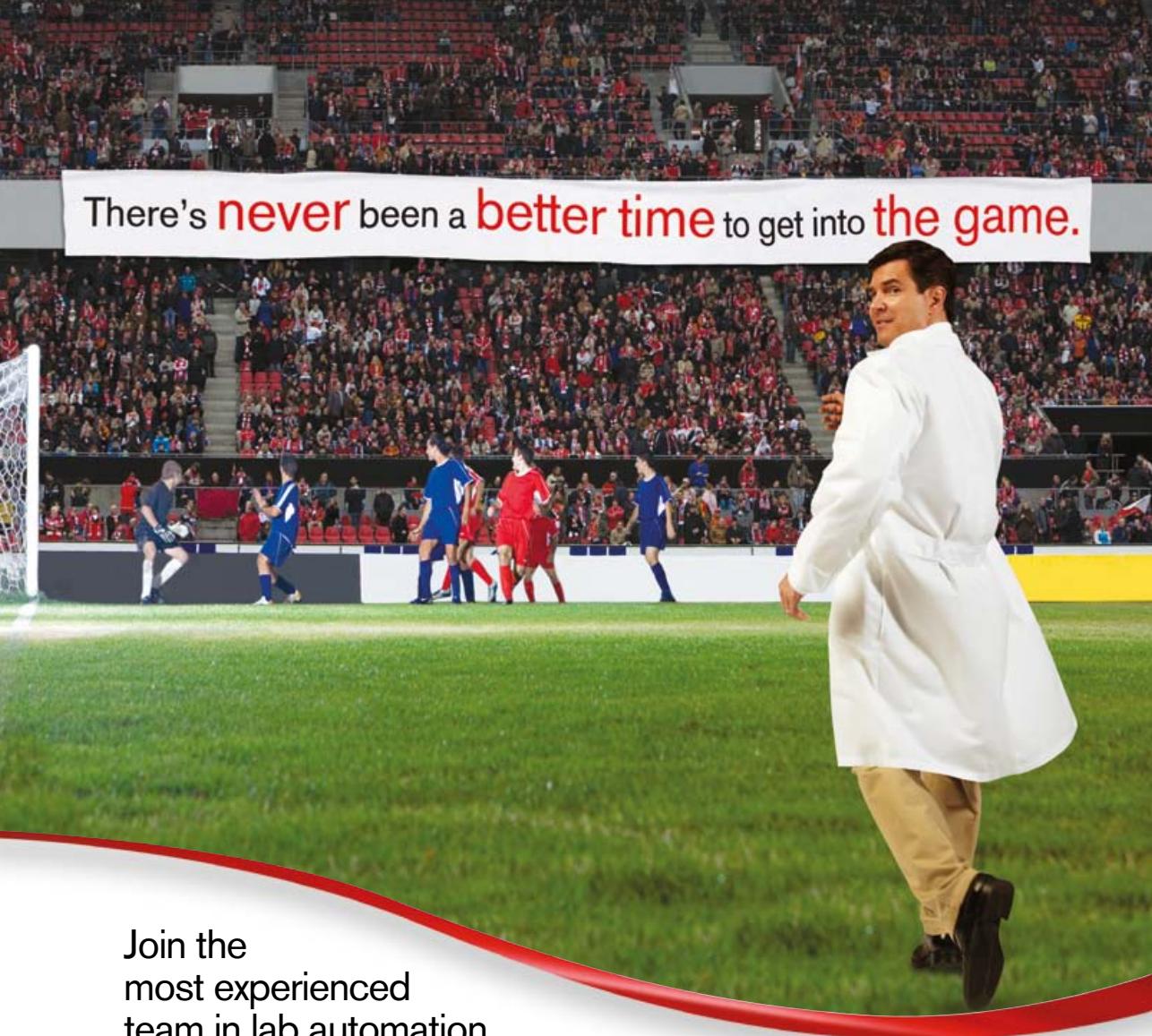
Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 1, vol. 24, 2012



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

Join the most experienced team in lab automation.

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

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

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

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

www.beckmancoulter.com

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



Power Processor



AutoMate 600



AutoMate 800



NEW!
AutoMate 1200/2500



NEW!
AutoMate 1250/2550

INDHOLD

Vad har läkaren i doktorsväskan?	4
<i>Per Simonsson</i>	
NORDFOND ansökning 2012	6
Ordförandespalt.	7
<i>Ingunn Þorsteinsdóttir</i>	
Scientific Symposia at the XXXIII Nordic Congress in Clinical Chemistry in Reykjavík, Iceland June on 12-15, 2012	8
<i>Jón Jóhannes Jónsson</i>	
Course in evidence based laboratory medicine in Iceland	10
<i>Kristin Moberg Aakre</i>	
Gentofte Hospital belønnet for hurtige laboratoriesvar	12
<i>Steen Stender og Eva Reinholdt</i>	
Copeptin: A new peptide in clinical measurement	22
<i>Ola Hammarsten og Jens P. Goetze</i>	
Resebidrag från Carl-Bertil Laurells fond 2012	31
Resestipendium från Klinisk Biokemi i Norden.....	32
Lipoprotein(a): historik, klinik, mäling.	34
<i>Pia R. Kamstrup</i>	
LCMS-analys av glykosylerat protein med CDG som frågeställning.....	38
<i>Per Bengtson</i>	
Hur fungerar NORIPs referensintervall för calcium mot våra patientresultat?.....	46
<i>Peter Ridefelt, John Axelsson, Anders Larsson</i>	
Klinisk användning av serum Anti-Müllerskt Hormon (AMH): från reproduktion till granulosacelltumörer	50
<i>Anniina Färkkilä och Mikko Anttonen</i>	

Omslagsbild: Lp(a) Modificeret fra Koschinsky og Marcovina (Curr Opin Lipidol 2004;15:167-174). Læs artikel side 34.

Vad har läkaren i doktorsväskan?

Per Simonsson



Förr hade alla läkare en väska, brunt läder, mässingsspännen, redo att rycka med sig för hembesök hos lidande patienter. Nu har de antagligen graderats upp till resväskor, eller en hel container, i var fall om man får tro Läkartidningen (2011; 108: 1478-81).

Några företrädare för olika kliniska specialiteter fick fråga ”Vilka 7 saker packar du i doktorsväskan?” Det blev intressanta inventarieförteckningar över utrustningar som inte ens den mest vältränaade läkare skulle orka lyfta från golvet: Medarbetare (Fusk! Teamsjukvård räknas inte!), syrabsapparater, MR, datortomografer, ECT-apparater

Som labmedicinare kastade jag mig över denna kravspecifikation. Vad av allt vi kan erbjuda tillhör de sju essentiella utensilierna? Och vilka specialiteter klassar in klinisk kemi bland det oundbärliga? Var är vi viktigast i nödens stund? Och vad har de glömt av alla våra fantastiska redskap?

Svaren var både förväntade och överraskande. Först och främst, konservatism råder. Ingen *fancy science*, inga LC-MSMS eller sekvenseringsplattformar. Tvärtom. Vad sägs t.ex. om en hederlig personvåg - för mätning av vikt är väl en av våra kärnkompetenser? – som både barnläkaren och psykiatern vill släpa med sig. Barnläkaren för att fånga magtarmsjukdomar och tillväxtrubbningsar, psykiatern för att upptäcka metabolt syndrom, ohälsosamt leverne och biverkningar. Hm, kanske en god idé... Det gäller att tänka nytt. Och för våra ekonomer måste detta äskande klinga ljutt som himmels harpor. Man kan få hela lastpallar vågar för priset av en MALDI-TOF.

Således, vägen vinner överlägset med två röster.

Sen kommer resten. CRP och blodgasapparat vill pediatrikern ha med sig. Verkar klokt. Och psykiatern en glukosmätare. Inte utan min hCG-mätare, säger, inte förvånande, gynekologen. Och en infektionsläkare utan ett kit för lumbalpunktion vore inte passande.

Sen kommer lite överraskningar. Två allmänläkare diskuterar utförligt men det enda från lab de vill ha med sig är ett mikroskop. Förträffligt, för bruket av dessa har jag en känsla av har fallit i glömska, i skuggan av alla urinstickeläsare som nu saluförs till undersköterskornas och

företagens glädje. Min visst är det en bra idé. Granskning av sediment och blodbild är måsten inom diagnostiken, och kan ge tillbaka allmänmedicinen en patinerad men inte utdaterad charm. För visst är en riktig läkare en vitklädd och gråhårig man försunken över ett mikroskop?

Vem är då mest laborativt beroende? Konkurrensen är hård i undersökningen. Bara sju av alla de prylar som saluförs får stoppas ner i väskan. *Survival of the fittest!* Det sägs ju att labmedicin står för 75 % av informationsflödet i dagens sjukvård. Ja, svaret är överraskande. Visserligen inte att barnläkarens prylar till 3/7 består av labutrustningar (våg, blodgas, CRP), det är förståeligt och glädjande. Men att psykiatrin är så beroende överraskar. Kanske är konkurrensen mindre. Analyssoffan är ju skrotad och kognitiv beteendeterapi kan skötas utan alltför mycket nätverksanslutna apparater med blinkande lampor.

Och minst beroende av lab? De som inte behöver ett enda laborativt hjälpmittel? Jag som levde i övertygelsen om att sådana läkare inte längre finns? Här häpnas läsaren. Vänner och bundsförvanter, i klinik och i vetenskap, tycks i nödens stund inte skänka oss en tanke. OK, kirurgen har alltid visat ett visst missstroende mot biokemi – men ändå alltid tagit massiva leverpaneler. Men anestesiologen då? Utan blodgaser? Glukos? Elektrolyter? En möjlig förklaring som jag desperat griper efter är att lab är så självklart att det inte behöver nämnas. Men är ett videolaryngoskop mer värty än en blodgasmaskin?

Men internmedicinaren? Urtypen för den laborerande doktorn, djupt rotad i ett biomedicinskt tänkande? *Nada, nada, nada....* Väskan står tom på allt vad labmedicin heter. Diagnostiken synes helt frånvarande. I stället fyller han väskan med farmakologiska preparat. Terapi utan biokemisk diagnostik! Den kliniska blicken, en uttömmande anamnesen och den minutiösa undersökningen – urglasnaglar, blek konjunktiva, dilaterade halsvener, ja ni kanske minns *the tricks of their trade* från medicinkursen – verkar kunna klara vårt jobb fint utan störande labresultat.

I nödens stund prövas vänner, heter det visst. Så ta en sväng förbi barnkliniken och den psykiatriska oppenvårdsområdet. Där har vi tydligen våra bundsförvanter.

Och glöm inte vägen.

Ready to revolutionize your lab with ultra-integration?



**Now you can, with one patient sample,
one tube, and one system.**

The Dimension Vista® Intelligent Lab System provides fast turn-around-time with the ultra-integration of 4 best-in-class technologies—Photometry, Nephelometry, V-LYTE® multisensor electrolyte detection, and LOCI® advanced chemiluminescence — for simultaneous processing capabilities.
www.siemens.com/diagnostics.

Answers for life.

SIEMENS

NORDFOND

- Medel för nordiska samarbetsprojekt 2012

Vad är fondens syfte?

Fondens syfte är att främja utveckling av klinisk kemi och andra laboratoriespecialiteter i Norden. Resultat som uppnåtts via projekt som stöds av fonden skall förmedlas till laboratorier i Norden, helst via *Klinisk Biokemi i Norden*.

Vem kan söka?

Medel kan sökas till projekt som uppfyller fondens syfte och som utförs i samarbete mellan minst två nordiska länder.

Vilka utgifter kan täckas?

NORDFOND-medel skall i första hand täcka utgifter för mötesverksamhet, men kan i viss omfattning också täcka driftsutgifter och andra utgifter.

Vad skall ansökningen innehålla?

Ansökningen skall innehålla:

- En kort resumé
- Projektbeskrivning (max 5 sidor)
- Upplysning om deltagare och deras acceptans för deltagande
- Budget med upplysning om eventuell medfinansiering från andra källor

Hur mycket kan delas ut?

Under år 2012 kan fonden dela ut totalt ca 100 000 DKK.

Vem skall ha ansökningen?

Ansökningar skickas till ordförande i NFKK:
 Ingunn Thorsteinsdóttir
 Department of Clinical Biochemistry
 Landspítali – University Hospital Hringbraut
 IS-101 Reykjavík
 E-mail: ingunnth@landspitali.is

Ansökningsfristen är 1 juni 2012

Vad lägger man vikten på vid behandling av ansökningar?

- Att det rör sig om ett projekt av god kvalitet.
- Att det är ett samarbete mellan flera nordiska länder.
- Att projektet har betydelse för klinisk kemi och/eller andra laboratorieområden.

Ansökningarna behandlas av NFKK:s styrelse och svar sänds ut före 31. december 2012.

När skall pengarna användas?

Pengarna skall användas före 1 januari 2015. Eventuella resterande medel betalas tillbaka till NORDFOND.

När skall projektet rapporteras?

Projektet skall rapporteras till NFKK senast 1 januari 2015 och omfatta avslutade räkenskaper och en kort resumé om projektet, eventuellt i form av en artikel, tryckt eller insänd till *Klinisk Biokemi i Norden*.

Var kan man få ytterligare upplysningar?

Ytterligare upplysningar kan fås av styrelsemedlemmar i NFKK. Namn och adresser finns i *Klinisk Biokemi i Norden* eller på NFKK:s websida: <http://nc.ibk.liu.se/nfkk/>

Ordförandespalt

Ingunn Þorsteinsdóttir



Styrelsen för Nordisk Förening för Klinisk Kemi (NFKK) träffades nyligen i Helsingfors. Vi diskuterade bl a utbildningen av specialistläkare inom klinisk kemi i de nordiska länderna. Lyckligtvis går det generellt bra att rekrytera yngre läkare för specialistutbildning i klinisk kemi, men tyvärr just nu inte på Island. Vi har inte haft en enda isländsk läkare som har påbörjat specialistutbildning i klinisk kemi sedan mitten av nittioålet. I de fyra största Nordiska länderna hålls regelbundet kurser för läkare under specialistutbildning. Vi är få inom specialiteten och samarbete är avgörande, speciellt inom utbildningsområdet. På mötet i Helsingfors enades vi om att bilda en samnordisk grupp under ledning av Nete Hornung, ordförande för DSKB, med uppdrag att skapa en översikt över utbudet av kurser inom klinisk kemi i Danmark, Finland, Norge och Sverige. Gruppen skall även kartlägga vilka regler gäller för utvärdering av kurser i de olika länderna och försöka att öka samordning och samarbete kring kurser

mellan de olika länderna. Förhopningsvis kan detta samarbete leda till ett utökat kursutbud för våra yngre kollegor som tar sina första steg inom klinisk kemi.

I detta nummer av KBN annonseras stipendier från NORDFOND, med sista ansökningsdag den första juni 2012. NORDFOND bildades år 1995 med medel från NORDKEM som lades ned samma år. NORDKEM var en nordisk samarbetsorganisation som stöttade många projekt inom klinisk kemi. När NORDFOND bildades bestämde NFKKs styrelse att alla studier som är viktiga för utvecklingen och användningen av klinisk kemi är behöriga att ansöka om ekonomiskt stöd från fonden. Förutsättningen är att projekten har sin utgångspunkt i klinisk kemi och engagerar verksamma inom Klinisk kemi i de nordiska länderna. Det är viktigt att projekten är av gemensamt intresse för nordisk klinisk kemi, och att de gynnar samarbetet mellan verksamma inom klinisk kemi i flera än ett nordiskt land. De projekt fonden stöder bör uppmuntra professionella och personliga kontakter över landgränserna som vanligen varar långt efter att själva projekten har fullföljts. Kort sammanfattningsvis av de projekt som får stöd från NORDFOND kommer fortlöpande att publiceras i KBN.

Carl-Bertil Laurells stipendium annonseras också i detta nummer av tidningen. En speciell fond för att hedra Carl-Bertil Laurells minne instiftades 1984 i samband med den nordiska kongressen i Malmö. Fondens syfte är att stödja yngre forskare som arbetar vid nordiska laboratorier och ge dem möjlighet att besöka andra laboratorier för att där lära sig nya metoder. Ekonominstikt stöd kan sökas för resa och uppehälle. Medel ges dock inte till kongresser. Sista ansökningsdag för Carl-Bertil Laurells stipendium är första april 2012.

Jag vill passa på och påminna om den nordiska kongressen i Klinisk Kemi som blir i Reykjavik 12 – 15 juni nästa sommar, se www.nfkk2012.is. Jón Jóhannes Jónsson fortsätter att skriva om det vetenskapliga programmet i detta nummer av KBN.

Scientific Symposia at the XXXIIIth Nordic Congress in Clinical Chemistry in Reykjavík, Iceland June 12-15th, 2012

Jón Jóhannes Jónsson

Chairman of the Scientific Committee



I will focus on symposia in this third article in *Klinisk Biokemi í Norden* (KBN) on the Nordic Congress in Clinical Chemistry in Reykjavík in 2012. Other aspects of the scientific program were described in the two last issues of KBN. The symposia are designed to cover selected topics of special interest in current clinical biochemistry and laboratory medicine. As in previous congresses we will have the Astrup and Eldjarn symposia. They witness some of the best of vibrant clinical biochemistry in the Nordic countries.

A symposium on systems biology will help us clinical biochemists become better acquainted with this emerging field. We need comprehensive models to make sense of all the data from high throughput technologies. This is where systems biology comes in play. Ines Thiele (Reykjavik) will discuss the systems biology of inborn errors of metabolism, Jens Nielssen (Gothenburg) will talk about establishment of the human metabolic atlas, and Rudi Ballin (Luxembourg) will talk on systems biology of neurodegenerative disease.

A symposium on aging will address how new insights in biology are changing diagnostics in elderly individuals. Børge Nordestgaard (Copenhagen) will discuss cardiovascular risk assessment, non-fasting remnant cholesterol and lipoprotein(a), Henrik Zetterberg (Gothenburg) will talk about the new clinical criteria that allow for biomarker-assisted diagnosis of Alzheimer disease and Gunnar Sigurdsson (Reykjavik) will discuss abnormal bone structure and metabolism in elderly persons.

Biomarkers and proteomics are part of a fast growing field. Three active researchers in this area Hans Lilja (New York), Paul Tempest (New York) and Gyorgy Marko-Varga (Lund) will describe recent deve-

lopments and how they relate to clinical biochemistry.

Peptide hormones and prohormones have many important applications as diagnostic markers. Jens Peter Goetze (Copenhagen) will cover natriuretic peptides in cardiovascular diseases, Jens-Ulrik Jensen (Copenhagen) will talk about procalcitonin use in infections in different settings and Jens Fr. Rehfeld (Copenhagen) will talk about gastrin and CCK peptides in neoplastic diseases.

Highly sensitive troponins continue to be in the limelight. Paul Collinson (London) will discuss analytical and clinical issues related to the high sensitive troponin assays, Ola Hammarsten (Gothenburg) will tell us about hTnT in early detection of acute myocardial infarction and Kristin Moberg Aakre (Bergen) will give a talk on troponins in kidney failure.

The new oral anticoagulants are exciting new pharmaceuticals with promises and caveats. Tomas L. Lindahl (Linköping) will describe the direct thrombin inhibitor dabigatran, its effects on coagulation assays and in vitro results on reversal of drug effects, Peter Svensson (Malmö) will review the new oral anticoagulants and whether the end of warfarin treatment is in sight. Andreas Hillarp (Malmö) will describe the effects of the direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on coagulation assays both clinical utility and as a source of error.

Therapeutic drug monitoring always has hot topics. Michael Oellerich (Göttingen) will describe the use of endogenous biomarkers to achieve personalized immunosuppression and Marilyn Huestis (Baltimore) will talk about the many advances in oral fluid drug testing including for the workplace, pain management, drug treatment and driving under the influence of drugs programs.

Inborn errors of metabolism are collectively more frequent than we used to think and can present in

many ways. Ulrike Steuerwald (Hannover) will review primary carnitine deficiency and other common IEMs in the Faroe Islands, both clinical relevance and pitfalls in diagnostics. Lars Mørkrid (Oslo) will describe disorders of creatine metabolism and of cobalamins. Piero Rinaldo (Rochester) will describe inborn errors of metabolism diagnosable with newborn screening.

Molecular diagnostics are in a state of rapid transition. Gregg Tsongalis (Lebanon) will tell us about miRNAs and describe how they are not part of the junk in our genome. Bjarki Gudmundsson (Reykjavik) will describe two-dimensional electrophoresis of nucleic acids to assess DNA damage and efficiency of molecular methods.

There are many topics related to cancer that are of interest to clinical biochemists. Elisabeth Paus (Oslo) will review tumor markers in clinical chemistry high-

lighting recent advances. Helgi Sigurdsson (Reykjavik) will present cancer as a cellular metabolic disease (Warburg was right after all) and George A. Bjarnason (Toronto) will discuss the implications of chronobiology in cancer medicine.

We will have a session on interactive clinical cases run by Danielle Freedman (Luton) and Mike Hallworth (Shrewsbury). The session aims to test - and improve - your clinical interpretation skills in a fun and interactive way!

In summary, we have put together a program that should be of interest to a broad range of clinical biochemists working in different settings. We hope to see in Reykjavik in 2012.

Kongressens hemsida: www.nfkk2012.is



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

Course in evidence based laboratory medicine in Iceland

Kristin Moberg Aakre

kristin.moberg.aakre@helse-bergen.no



Just prior to the XXXIII Nordic Congress in Clinical Chemistry which is to be held in Iceland next year the Nordic Society of Clinical Chemistry (NFKK) invites colleagues to a course in evidence based laboratory medicine. The course will be held from June 11-12th 2012

at Sólheimar, a small eco-village located approximately 65 kilometres east of Reykjavik. <http://solheimar.is/index.php?msl=english>.

When working in routine clinical chemistry laboratories we are often introduced to tests, technologies and recommendations. The course will give the participants some useful tools for navigating through the increasing amount of information. The main task will be to teach critical appraisal of scientific literature and guidelines by focusing on three main topics; how do I formulate the most relevant questions and what studies will best answer my questions; how do I read an article about diagnostic tests; how are guidelines developed and what can they be used for?

The course is an introduction to evidence based medicine and is a mixture of lectures and group work with discussions. To work in groups should facilitate implementation of achieved skills into later daily practice to implement achieved skill into daily practice. This course is useful for all colleagues working in routine clinical chemistry laboratories and is especially recommended for residents.

Language: English

Registration: within March 15th

Registration fee: The course is arranged with financial support from NFKK. Registration fee for members of NFKK (i.e. members of the Norwegian, Swedish, Danish, Finnish or Icelandic Societies of Clinical Chemis-

try): 200 Euros (with private bathroom) or 150 Euros (with shared bathroom).

Non members: 350 Euros (with private bathroom) or 300 Euro (with shared bathroom)

The fee includes bus transport from Keflavik airport to Solheimar and bus transport from Solheimar to Reykjavik, food and accommodation at Sólheimar bed & breakfast for 2 days.

To register please contact:

Kristin Aakre

Laboratory of Clinical Biochemistry

Haukeland University Hospital

5021 Bergen, Norway

Phone: +47 55 97 31 88

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

We warmly welcome you to Iceland!

Best regard from the course committee

Kristin Aakre, Sverre Sandberg and

Ingunn Þorsteinsdóttir



Foto: Henrik Alfthan



En **stærk** kombination til måling af akutparametre

AQT90 FLEX

- Analyse af hjerte-, koagulations-, infektions- og graviditetsmarkører fra en enkelt prøve
- Op til 30 prøver i timen
- Overlegen analytisk præcision
- Automatiseret opblanding og måling
- Ingen kontakt med blod eller affald
- Fuld dataudveksling

ABL90 FLEX

- 17 målte parametre inklusiv laktat og bilirubin
- Op til 30 prøver i timen
- Måler på kun 65 µl blod
- Prøveresultat på bare 35 sekunder
- Maksimal oppetid - altid klar
- Fuld dataudveksling
- Fuld remote support i POC

Simpler, faster, better

RADIOMETER

Denmark

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

Norway

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

Sweden

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

Finland

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

Gentofte Hospital belønnet for hurtige laboratoriesvar

Steen Stender og Eva Reinholt

Klinisk-Biokemisk Afdeling, Gentofte Hospital, Gentofte

stst@geh.regionh.dk



Den 15-8-2011 overrakte daværende indenrigs- og sundhedsminister Beret Haarder Den Gyldne Skalpel, initiativprisen fra Dagens Medicin, til Klinisk-biokemisk afdeling på Gentofte Hospital på grund af hurtige laboratoriesvar. Afdelingen var indstillet af de ledende kliniske overlæger på hospitalet og udvalgt blandt mange andre indstillede af en bedømmelseskomite på 7 fremtrædende aktører på den danske sundhedsscene. Det er første gang, at en klinisk biokemisk afdeling får denne pris. Her beskrives, hvordan afdelingen gennem de sidste 7 år har arbejdet målrettet med at nedbringe svartiderne.

Rigtige, hurtige og billige laboratoriesvar

Kernefunktionen på en klinisk biokemisk afdeling (KBA) er at leve rige, hurtige og billige analysesvar. Det er, hvad patienterne, klinikerne og sundhedsmyndighederne først og fremmest forventer af KBA. Hvad angår rigtigheden af de afgivne svar, så har faget gennem de seneste 7 år opbygget en imponerende organisation bestående af diverse kontrolsystemer. De laboratorie-specificke akkrediteringer bidrager også til kvaliteten af det analytiske arbejde. Personalet på en KBA kommer under og efter uddannelsen på kurser og møder, hvor kvalitetskontrol i praksis og teori gennemgås. Hvad angår økonomien er laboratorierne ligesom de fleste andre afdelinger på et hospital under et konstant besparelsespres, men hvad angår produktionen af hurtige svar har fokus været langt mindre. Da de fleste moderne analysemaskiner kan producere mange hundrede analysesresultater i timen, skyldes hovedparten af længevarende svartider som regel blodprøvens ventetid uden for analyseapparaturet, hvilket igen i betydeligt omfang skyldes uhensigtsmæssig logistik.

Prøveforløb

Et nøglebegreb i sundhedsvæsenet har gennem de sidste 20 år været patientforløb. Og arbejdet med at optimere patientforløbet har hovedsageligt drejet sig

om at minimere patienternes ventetid på de forskellige undersøgelser og behandlinger. På laboratoriet er det analoge begreb prøveforløb, som også har indflydelse på patientforløbet. Den klinisk biokemiske funktion udgør kun en lille del af den samlede hospitalsfunktion (budgetmæssigt nogle få %), alligevel kan ventetiden på analysesresultater være en afgørende flaskehals mange steder i patientforløbet. Men hvem på en KBA har under uddannelsen eller efteruddannelsen lært noget om optimering af produktionsprocesser i et rutinelaboratorium? Speciallægerne i klinisk biokemi har ikke. Ej heller har bioanalytikerne. Industrien har beskæftiget sig med optimering af produktionsprocesser i mange år. Og det er et fagområde på DTU, der udskrækker kandidater, som bruges i industrien, men endnu ikke på klinisk biokemiske afdelinger og vist meget sjældent på andre hospitalsafdelinger. De store internationale firmaer, der leverer analysemaskiner til laboratorierne, har som regel logistikafdelinger, der har forskellige forslag til laboratoriets arbejdsgange, meget ofte centreret omkring det pågældende firmas egne apparater. Og det er udmarket. Men det var naturligt, at i det mindste laboratoriets ledelse vidste noget om arbejdsorganisering på et lidt højere niveau end det, man ved snusfornuft kan nå frem til.

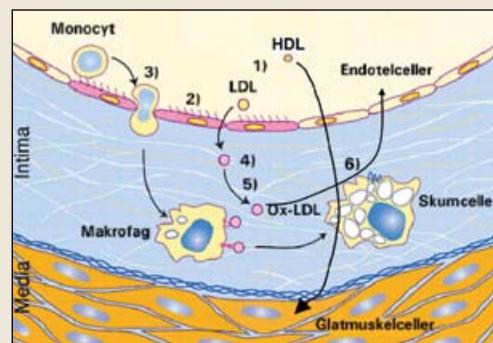
(Fortsætter side 14)

Hvordan en overlæge på en klinisk biokemisk afdeling blev interesseret i logistikken, der bestemmer svartiden (en personlig beretning af SS)

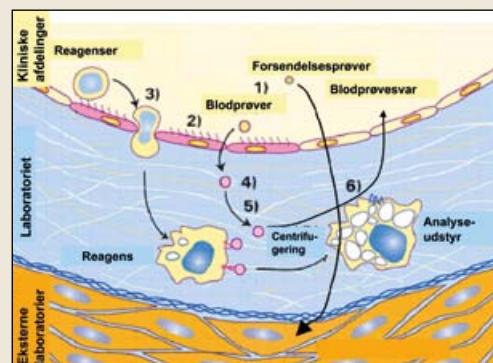
I 2004 deltog jeg i et IT-brugermøde i USA. Ved brugermødet blev der holdt et foredrag om gennemførelsen af et Lean projekt på et amerikansk hospitalslaboratorium. Jeg havde aldrig før hørt om Lean. For mig var foredraget en åbenbaring, nærmest en vækkelse. Foredragsholderen, der var læge og laboratorieleder, talte om: Hensigtsmæssig placering af analyseapparater, der minimerede gå-afstande, ventetid som spildtid, "work smarter not harder", først ind/først ud-princippet, køb ikke nyt udstyr, brug det, du har på en mere intelligent måde (hvilket betød, at man kunne komme i gang med det samme) osv. En lang række af de såkaldte Lean strategier, der nu i 2011 virker banale, forekom mig i 2004 nærmest geniale. Foredragsholderen vendte under foredraget gang på gang tilbage til begrebet scientific work management. Analysér arbejdsgangene på naturvidenskabelig vis og optimer dem i den ønskede retning, men med respekt for medarbejdernes arbejdsglæde, var budskabet. Figur 1. Under foredraget gik det pludseligt op for mig, at rutinelaboratoriet kunne betragtes som en slags organisme og blodprøvernes gang gennem laboratoriet kunne studeres med samme metode, som jeg i årtier havde anvendt for at kortlægge kolesterolpartiklernes gang ind og ud af arterievæggen med henblik på at kunne mindske udviklingen af åreforkalkning. Efter foredraget i USA følte jeg, at

det var mindst lige så videnskabeligt spændende at beskæftige sig med arbejdsgangene på rutinelaboratoriet som med kolesterolpartiklerne i arterievæggen. Og på det overordnede plan kunne jeg bruge samme metode: Den naturvidenskabelige. (Figur 2 og 3). Det faldt mig ind, at tilrettelæggelsen af logistikken på rutinelaboratoriet ligefrem kunne have glæde af den ofte lange og grundige uddannelse til videnskabelig tankegang, som er kendetegnende for de fleste speciallæger i klinisk biokemi.

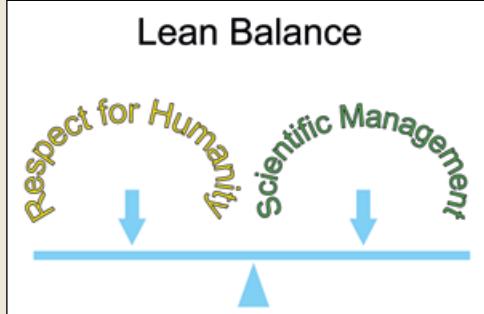
Hermed slutter den personlige beretning.



Figur 2: Model for fluxen af kolesterol ind og ud af arterievæggen.



Figur 3: En tilsvarende model for fluxen af blodprøver ind og blodprøvesvar ud af rutinelaboratoriet.



Figur 1: Lean balancen

(Fortsat fra side 12)

Hurtige analysesvar

Patienterne og klinikerne har altid ønsket hurtigere prøvesvar og allerhøjest, at højst timegamle laboratoriesvar var til stede, når lægen så patienten ved morgenstuegang eller i dagambulatoriet eller når lægen så den akut indlagte patient første gang. Efter at KBA på Gentofte Hospital blev ISO 15189 akkrediteret i 2004 besluttede afdelingsledelsen i fuld enighed - trods manglende viden om professionel tilrettelæggelse af arbejdsgangene i laboratoriet - at de kommende års udviklingsarbejde skulle fokusere på hurtigere laboratoriesvar. Vi vidste, at gode resultater med kortere svartider ikke kunne publiceres i de almindelige videnskabelige tidsskrifter med deraf følgende karrierefremmende merit, men vi vidste også, at vi kunne

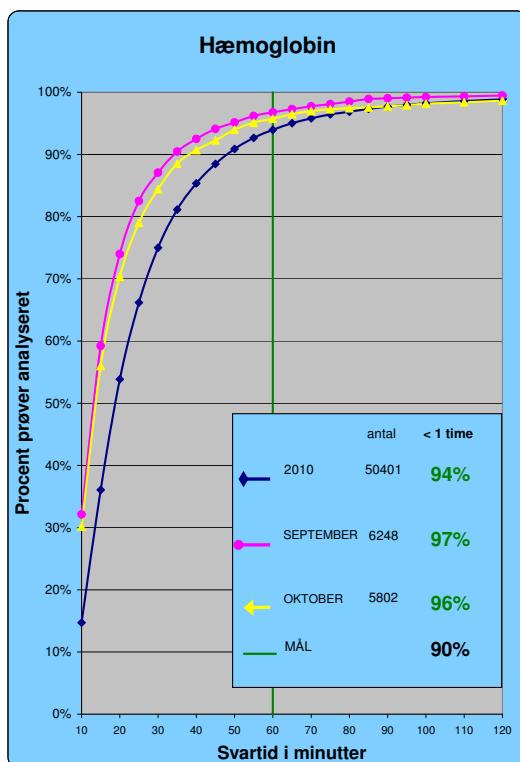
gøre vores kunder - patienterne og behandlerne på de kliniske afdelinger på Gentofte Hospital - mere tilfredse. Og det var det, vi primært var ansat til.

Svartidsmåling

Som i anden naturvidenskabelig sammenhæng kræves en god målemetode til at kvantificere det, man er interesseret i at studere og dermed påvirke. Moderne laboratorieinformationssystemer registrerer for hver enkelt blodprøve, hvornår den er blevet bestilt, hvornår den er blevet taget, hvornår den er blevet modtaget på laboratoriet og hvornår svaret er blevet afgivet. De respektive intervaller er alle af interesse, når man skal studere prøveforløbet. Vi har koncentreret os om at mindske tiden fra blodprøven bliver taget på den kliniske afdeling eller i blodprøveambulatoriet til blod-

2011(HVERDAG)

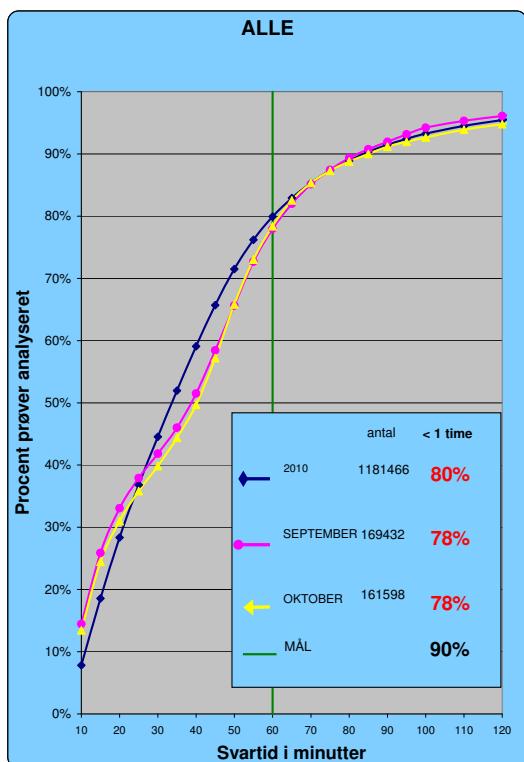
Tid fra modtagelse af prøveglas til svar foreligger
Jo længere mod venstre kurven forløber jo kortere svartid



Figur 4: Kumulerede frekvenser fanger en svartidsreduktion efter en organisatorisk ændring. Kurverne fra september og oktober 2011 ligger længere mod venstre end kurverne fra 2010.

2011(HVERDAG)

Tid fra modtagelse af prøveglas til svar foreligger
Jo længere mod venstre kurven forløber jo kortere svartid



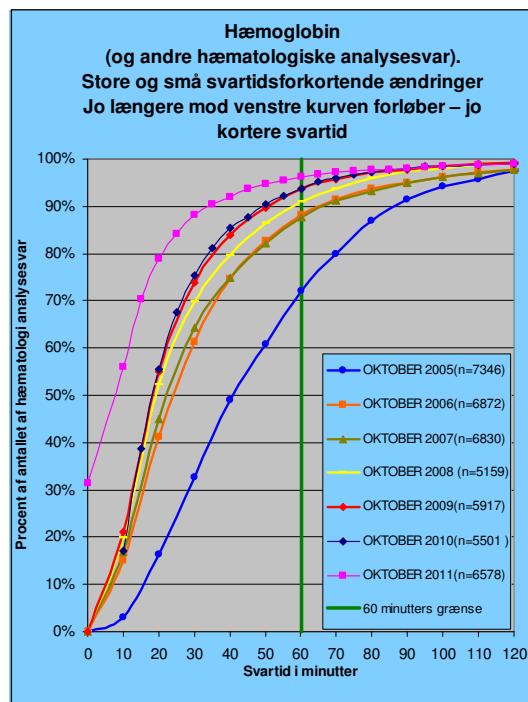
Figur 5: Den graf, der sendes til hospitalsadministrationen hver måned. Endnu har vi ikke overvundet svartidsreduktionen, som omskift fra FlexiLab til Labka har forårsaget.

prøven modtages på laboratoriet, men først og fremmest på at mindske tiden fra blodprøven modtages på laboratoriet til analyseresultaterne er tilgængelige for rekvirenterne. Sidstnævnte forløb er laboratoriet selv herre over og kan uden resursetilførsel selv gøre noget ved.

Svartidsgraffer

I et regneark kan relevante svartider for en given analyse over et givet tidsrum, for eksempel den sidste måned, angives som et frekvensdiagram, der ofte ligner profilen af en trappepyramide. Ønsker man at sammenligne udviklingen af svartider for flere måneder, er det vanskeligt at se et mønster ved på samme graf at afbilde 2 eller flere forskellige profiler. Det hjælper lidt, hvis man afbilder resultaterne for hver måned med hver sin farve og antallet af svar i et givet tidsinterval som % af det samlede antal svar. Sammenligningen bliver dog meget lettere, hvis man anvender såkaldt kumulerede frekvensdiagrammer. Frekvensdiagrammet integreres og trappepyramideprofilen bliver til en skrånende opadstigende linje. Jo længere til venstre linjen forløber, jo kortere er svartiderne. Jo støjlere linje, jo mindre variation i svartiderne. Dermed bliver det let at sammenligne forløbet af mange linjer. I Figur 4 viser de 3 linjer tiden, fra prøven er modtaget på laboratoriet, til hæmatologisvarene er tilgængelige, for hele 2010 under et og for hver af månederne september og oktober 2011. Det ses hvorledes en organisationsændring i arbejdsgangen skubber kurverne mod kortere svartider. Før den 1. juli 2011 var hæmatologien og prøvemodtagelsen to adskilte funktioner. Efter 1. juli blev funktionerne forsøgsvis sammenlagt og betjent af samme team. Det kunne lade sig gøre, fordi de 2 funktioner udføres blot nogle få meter fra hinanden. Svartidsgrafferne talte for, at denne organisationsændring skulle opretholdes. Eksemplet illustrerer, hvorledes denne afbildningsmetode fanger og tydeliggør en ændring i svartiden.

På KBA har vi gennem mange år anvendt svartidsafbildinger. Kurverne har været en fast bestanddel af de månedlige kvalitetsmøder på samme måde som resultaterne af de eksterne kontroller og opgørelsen over afdelingens samlede antal patientkontakte. Kurverne, der udarbejdes hver måned, indeholder svartiderne for en repræsentativ analyse fra hver af vores analysemaskiner. På grafen afbides svartiderne for den netop passerede måned, den foregående måned og for hele det foregående år. Disse 3 kurver er lette at overskue og



Figur 6: Svartidsgraffer for hver oktober måned i perioden fra 2005 til 2011 for hæmaglobin. Svartiden er her beregnet fra det tidspunkt prøven modtages på laboratoriet til svaret er tilgængelig for rekvirenten.

viser, hvordan svartiderne udvikler sig. Vi udtager ligeledes denne slags kurver for blodprøver, der analyseres i henholdsvis aftenvagten og nattevagten. I perioder har det endog været et ønske fra bioanalytikere, at få svartidskurver for hver dag over en periode for at se, om nogle havde arbejdsprocedurer, der resulterede i hurtigere svar end andre. Det var der, og det lærte alle af. Hver måned sender vi én og kun én graf med de oven for omtalte 3 kurver over svartider for samtlige analyseresultater til hospitalsdirektionen. Figur 5. Målet er at vi skal blive bedre. Det er sket siden 2005. Figur 6. Med svartidsgrafferne konkurrerer vi med os selv. Nogle ville måske fristes til benchmarking mellem de forskellige KBA-afdelinger i landet eller i en given region. Det kan muligvis lade sig gøre, men det kræver enighed om, hvad der medtages af analyser. Vi medtager for eks ikke POCT-svar. Svartiderne afhænger desuden af mandskabs- og apparaturmæssige resurser på den pågældende klinisk biokemi afdeling. Det

(Fortsætter side 16)

(Fortsat fra side 15)

er efter vores opfattelse langt mere givtigt og mindre problematisk at konkurrere med sig selv.

Indførelsen af et nyt IT-system /skift fra Flexilab til Labka II den 1. april 2011 havde en negativ virkning på svartiderne. De første 2 måneder blev de i gennemsnit 20 minutter længere. Det er en af omkostningerne ved at skifte system, men vi kan følge med i, hvordan vi måned for måned arbejder os tilbage. Og vi forventer, at vi ved udgangen af 2011 vil levere hurtigere svar, end vi nogensinde før har gjort.

Svartidsoptimering videnskabeligt set og hjemmeblindhed

Man analyserer detaljeret nogle udvalgte arbejdsgange, opstiller en hypotese for, hvorledes man kan mindske den tid, som blodprøverne er i venteposition, afprøver hypotesen ved at ændre arbejdsgangene, følger svartiderne i dage, uger eller måneder. Bliver svartiden kortere, fastholder man de nye arbejdsgange. Bliver svartiden ikke kortere, forkaster man hypotesen, opstiller en ny hypotese, laver en ny ændring af arbejdsgangene, registrerer svartiderne osv. Ved den nærmest videnskabelige meget objektive analyse af arbejdsgangene har man en mulighed for at frigøre sig fra hjemmeblindhed, dvs. fænomenet: Det altid sete, er det aldrig sete. Det er der meget af på et hospitalslaboratorium og formentlig mange andre steder på et hospital. Det hænger blandt andet sammen med, at teknologien naturnødvendigt kommer før ændringerne af arbejdsgangene. I begyndelsen spænder man hesten foran bilen, mentalt set. Man bruger erfaringen, selv om erfaring fra gammel teknologi ofte kan være en billet til et tog, der er kørt.



Figur 7: Den nye bygning på Gentofte Hospital. Klinisk-biokemisk afdeling flyttede ind i stueetagen i december 2009.

Laboratoriedriften på et hospital har gradvist gennem de sidste 30 år udviklet sig fra håndanalysering til automatisk maskinanalysering, men arbejdsgangene har kun delvist fuldt med. Det vanskelige er at opdage det, og ofte er det vanskeligt at gøre noget ved det, men et første skridt er at se det.

Lean på KBA Gentofte Hospital

KBA entredede med amerikanske Lean specialister i flere omgange i 2004 og 2005. En række af afdelingens medarbejdere blev Lean uddannet og afdelingen har holdt Lean kurser med interne hospitalsansatte Lean konsulenter. Og hele tiden har der fra ledelsens side været fokus på svartidsudviklingen.

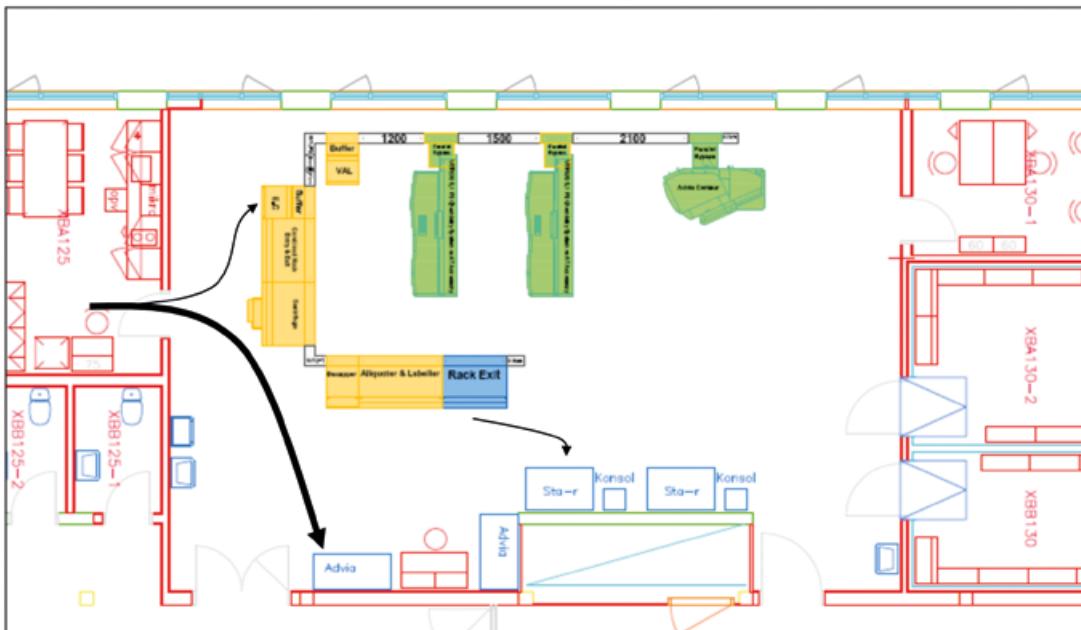
I 2006 fik vi medindflydelse på indretningen af et helt nyt laboratorium, der skulle placeres i en helt ny bygning. På baggrund af vores Lean erfaringer besluttede vi som udgangspunkt at indrette geografien til at fremme produktionen af hurtige analysesvar. På samme måde som i et velfungerende køkken anbragte vi hovedparten af vores analysemaskiner, der står for 90 % af vores analyseresultater og som afgives døgnnet igennem, tæt op af hinanden i et laboratorium, så gå-afstandene mellem dem blev minimeret og også således, at analyseapparaterne let kunne forbindes med bånd, der transporterede prøverne fra det ene apparat til det andet. Vi fik herved et særligt kompakt laboratorium. Figur 7,8 og 9.

Vi havde forberedt ingeniører og arkitekter på, at varmeudviklingen skulle bortledes med velfungerende ventilation og at lyden skulle dæmpes med diverse lydpaneler. Disse miljøforanstaltninger er trods forarbejdet ikke blevet optimale. Af vores personale oplever 70 % sig generet af støj, der dog ikke når et sundhedsskadeligt niveau, mod et gennemsnit på 57 % af personalet på Hovedstadsregionens i alt 8 klinisk biokemiske afdelinger. De tilsvarende tal for generende høj temperatur er 30 % mod et gennemsnit på 29 %. Det er tankevækkende, at der i et helt nyt hospitalsbyggeri tilsyneladende ikke kan skabes laboratorier med bedre indeklima, selvom analyseapparaternes støj og varmeudvikling er kendt på forhånd. En alternativ løsning er at lukke alle analyseapparaterne inde og fortage betjeningen fra PC-skærme i tilstødende støjsvage og velventilerede rum.

Konkrete ændringer, der forkorter svartiden

"Work smarter - not harder" har været fokus i de Lean inspirerede tilrettelæggelser af arbejdsgangene i labo-

Klinisk biokemisk afdeling Gentofte Hospital 2011



Figur 8: Grundplan for placering af analysemaskiner i det nye laboratorie. De hyppigst anvendte gangveje er angivet med sorte pile.

ratoriet, der gradvist er sat i værk gennem de sidste 7 år. Herunder angives en række mere konkrete tiltag.

1. Standardisering af arbejdsprocesserne

- Med en ISO15189-akkreditering er man hjulpet godt på vej. Men den fysiske organisering af laboratoriet helt ned i små detaljer er også af betydning. F.eks. er alle prøvetagnings-kabiner og -vogne helt ens, og de forskellige arbejdsstationer ved de enkelte analysemaskiner er ens. Det gør det let at overskue, mindsker fejl og nedsætter svartiden. Individuelle arrangementer de nævnte steder er ikke tilladt og også uønsket af personalelet.

2. Minimering af spildtid

- Fokus er her først og fremmest på unødvendig lang transporttid og unødvendig lang ventetid – tiden hvor prøven bare står på et bord og ikke er i analyseapparaturet.
- Spildtid opstår også ved at flytte prøver fra stativ til stativ for til sidst at sætte dem i apparat racket. Blodprøverne sættes i racket - hvor det er muligt - fra starten.

3. Minimering af rod

- Man skal aldrig lede efter noget, der skal bruges i arbejdsprocessen
- Ting, der skal bruges flere gange dagligt, skal stå fremme.
- Ting, der skal bruges en gang dagligt eller ugentligt, skal opbevares i skuffer/skabe, hvis låger

(Fortsætter side 18)



Figur 9: Det nye laboratorie. Bemærk ventilationsskorstenene. De lydabsorberende paneler på væggene kan ikke ses.

(Fortsat fra side 17)

- mærkes med indholdet, såfremt lågerne ikke er af glas.
- Ting, der bruges sjældnere, skal ud af laboratoriet og i depot.

4. Bedre prøveforløb.

- Blodprøverne skal, hvor det er muligt, komme i en jævn strøm og ikke i bunker. Sidstnævnte forårsager flaskehalse både ved modtagelsen, centrifugeringen og analyseringen. På Gentofte Hospital har vi ikke rørpost fra afdelingerne til laboratoriet, men betjener os af en såkaldt "runner". Det er en laboaratorieansat piccoline, der om morgenen og formiddagen henter blodprøver på diverse kliniske afdelinger. Blodprøverne er af blodprøvetagerne anbragt i en særlig kurv på den kliniske afdeling. Kurven tømmes af runneren hver halve time og de første blodprøver kommer i analysemaskinerne allerede inden kl. 8 selv om blodprøvetageren først er færdig med sin runde efter kl. 9. Runner funktionen kan med fordel erstattes af rørpost eller en lille robot.
- Vedligeholdelse og kontrolanalyseringer på analysemaskinerne foretages ikke på tidspunkter, hvor antallet af blodprøver er højt, men henlægges til vagtperioder med lavt antal prøver. Ingen ville synes om, at buschaufføren begyndte at vaske bussen i myldretiden.
- Prøvetagning og analyseringer går ikke i stå pga. diverse pauser og møder.
- Først ind, først ud dvs. prøverne analyseres i den rækkefølge, hvori de kommer til laboratoriet. Alle prøver køres som hasteprøver. Det kan man tillade



Figur 10: Synlig strukturering på et hangarskib ved hjælp af farver på de ansatte hjelme og trøjer.

sig, hvis svartiderne er korte nok. Som sidegevinst sparer man en del sortering.

- Batchning modvirkes for eks. ved at erstatte store centrifuger med flere mindre. Der skal være så få stativer som muligt, de kalder bare på prøver, som står og venter. Enten skal en prøve være i hånden på en person eller i et analyseapparat eller på vej i et rørpostsystem eller med en robot direkte ned i en centrifuge, således at den sidste, der har rørt prøven inden svaret foreligger, er den der har taget prøven på patienten. Sådan er det dog endnu ikke på Gentofte Hospital. Langt fra.
- En betydelig flowstopper i vores blodprøveambulatorie for ambulante patienter er patienter, der møder op uden blodprøverekvisitioner i IT-systemet. Det drejer sig om 5-10 % svarende hos os til op til 30 patienter om dagen. Fænomenet skyldes uhensigtsmæssige arbejdsgange på nogle af de kliniske ambulatorier, hvor patienten får at vide, at der skal tages blod, men personalet får ikke rekvireret blodprøven i IT-systemet. I sådanne tilfælde har vi tidligere taget en såkaldt regnbueprofil, dvs. et glas af hver farve, sendt patienten af sted ud fra den tankegang, at personalefejl ikke skulle gå ud over patienten. Efterfølgende har vi ringet til den kliniske afdeling for at finde ud af, hvad der burde have været rekvireret. Det har været tidskrævende for begge parter. Trods talrige forsøg gennem mange år har det ikke været muligt at mindske disse manglende rekvisitioner. Vi har nu i samråd med hver enkelt klinisk afdeling indført en "manglende rekvisitionsprofil" for den pågældende kliniske afdeling eller for et særligt klinisk afsnit. Nu rekvirerer blodprøveambulatoriet på KBA den specifikke "manglende rekvisitionsprofil", når en patient møder op og rekvisitionen ikke ligger i IT-systemet, og analyserne udføres. Herved opnås dels en automatisk registrering af de enkelt afdelingers "manglende rekvisitioner" og fejlen stopper ikke patient flowet i ambulatoriet og kræver ikke særlige foranstaltninger efterfølgende fra laboratoriets side. Den "manglende rekvisitionsprofil" anvendes også i blodprøveambulatoriet, når der er IT-nedbrud og al rekvisition foregår på nødsedler.
- Vi har indført elektronisk optagelse og lagring af EKG'er, der er tilgængeligt på nettet, så snart de er taget, på samme måde som de færdige analyseresultater.

5. Synlig strukturering ved systematisk anvendelse af farver

- Hvor fejl i mange personers hurtige samarbejde er dødsensfarligt som for eks. på et hangarskib, anvendes farvekoder på veste og hatte for at synliggøre, hvem der gør hvad. Figur 10. Knapt så dramatisk er det på et laboratorie, selv om der også der kan opstå dødsensfarlige fejl (for patienterne). Vi anvender farvekoder mange steder med henblik på, at personalet hurtigt og sikkert kan finde, hvad de søger, hvad enten det er utensilier eller informationer.
- Hver af laboratoriets 5 arbejdsstationer er ens bygget op. Hver har sit eget bord til utensilier, der er i plastikkasser af forskellig størrelse, men med samme farve, der er forskellig fra station til station. Figur 11. Reservekassen af samme farve og med samme indhold er anbragt i en såkaldt Lean reol. Figur 12. Piccolinen sørger for at samtlige Lean reolens kasser altid er fyldt op. Det er med til at minimere lagerbeholdningen på laboratoriet. Ved en stor lagerbeholdning mistes overblikket, da pladsmangel ofte er et problem og varerne til den enkelte arbejdsplads spredes.
- Over arbejdsstationens bord står de nødvendige ringbind på en hylde. Ringbindenes farve viser om indholdet omhandler reagenser, analysesemaskinforhold eller analyseinstruksen. Ringbindenes rækkefølge på hylden er organiseret med en såkaldt Lean stribe, der har samme farve som utensilieholderne og sikrer, at ringbindene altid står i den rigtige orden. Figur 11. Instruksens sider har også forskellige farver afhængig af indholdet. Figur 13. Ringbindenes farver og instrukssidernes farver er ens fra arbejdsstation til arbejdsstation.
- Forskelligt farvede plastikposer, der indeholder forskelligt prøvemateriale (urin, spinalvæske osv.) bringes fra de kliniske afdelinger til laboratoriet. De kliniske afdelinger sørger selv for sorteringen ”ved kilden” til plastikposen med den rigtige farve. Figur 14. Det gør sorteringen og den videre eksperdering i modtagelsen på KBA hurtigere og mere sikker.

Virkningen af ovennævnte Lean-tiltag resulterede gennem årene i kortere svartider i små eller store ryk. De fysiske ændringer er nemme at implementere og den skarpe strukturering og organisering falder naturligt for bioanalytikerne.

Synlig strukturering



Figur 11: Synlig strukturering ved en arbejdsstation på Klinisk biokemi afdeling, Gentofte Hospital. Utensilieholderne er alle grønne. Striben på ringbindene ligeså. Ringbindenes farve fortæller, hvad der er i ringbindene.

Farvekoder for utensilierne



Figur 12: Lean-reolen, der indeholder fyldte reservekasser for de kasser, der står på de enkelte arbejdsstationer. Reservekassene holdes altid fyldte.

Ændringer der gør ondt

Ændringer i vagtopgaver og pauser gør ondt. I mange år har bioanalytikerne haft den opfattelse, at vagt arbejde alene er akut arbejde. Det, der på nogen mulig måde kunne udføres i dagtiden, skulle udføres i dagtiden. Den teknologiske udvikling af analyseapparatur har imidlertid gjort det muligt at analysere stort set alt i døgnets 24 timer og har samtidig minimeret vedligeholdelsen og kontrolanalyseringerne. Da arbejdsbelastningen især i nattetimerne er begrænset, selv om vi kun har 1 bioanalytiker i nattevagt, har det været naturligt at overflytte opgaver, som hidtil er blevet udført i dagrutinen, til nattevagten. Det har krævet en holdningsændring hos personalet.

Der er etableret pauseafløsning, således at det sikres, at alle apparater ”fodres” konstant. Der er i den anledning etableret miniteams i laboratoriet, hvor der afløses på skift ved pauser. Det betyder, at andre end

(Fortsætter side 20)

(Fortsat fra side 19)

dagens apparatansvarlige betjener apparatet. Det har ikke været nemt. Bioanalytikeren vil gerne selv stå for apparatet og ønsker ikke indblanding. Sådan har det altid været, men det er ikke hensigtsmæssigt specielt ved en båndautomatisering. En sådan ændring kræver vedholdenhed fra ledelsens side.

Ændringer der gør godt

Det har vist sig, at de mange ændringer, der gennem årene er blevet indført i laboratoriets logistik, har gjort arbejdet lettere for de ansatte. De korte svartider kan i den sammenhæng nærmest betragtes som en heldig sidegevinst.

Den største økonomiske besparelse ved kortere

svartider ligger ikke på laboratoriet. Den ligger ved, at laboratoriesvarene bidrager til et bedre og kortere patientforløb. For hospitalet betyder det mindre genemsnitlig liggetid. For den ambulante patient kan blodprøvetagning, analysering og konsultationen på den kliniske afdeling klares i én seance, så der spares patienttransport og mindre fravær fra arbejdsplassen, såfremt patienten er i arbejde.

De ansattes holdning til hurtigere blodprøvesvar

De ”menige” bioanalytikere har deltaget i Lean projekterne lige fra begyndelsen i 2005. Derved har bioanalytikerne selv bidraget med forslag til forbedringerne og været vigtige for implementeringen. De har følt et ejerskab til projekterne. Der er også langsomt sket

Standardisering

Instrukserne udskrives på hver sin farve papir efter nedenstående tabel.

Suffiks	Hovedpunkt	Papirfarve
a	1 Fremgangsmåde	Hvid
b	2 Reagenser	Rosa
c	3 Kontroller	Syren lilla
d	4 Resultatvurdering	Turkis blå
e	5 Svarafgivelse	Polar grøn
f	6 Kalibrering	Abrikos
g	7 Vedligeholdelse	Guld gul
h	8 Bortskaffelse af affald	Appelsin gul
i	9 Fejlfinding/Analytiske fejlkilder	Raps gul

Figur 13: Instrukserne har alle en ensartet opdeling efter farvekode.

Farvekoder letter og sikrer rigtig sortering



Figur 14: ”Sortering ved kilden”. De kliniske afdelinger anbringer prøvematerialet i de rette farvede plastikposer, før plastikposerne sendes til Klinisk biokemi afdeling til videre befording.

en holdningsændring til vagt- og pausearbejdet, godt hjulpet på vej af det store arbejdspres, der er i dælden. Har det påvirket det psykiske arbejdsmiljø? Er arbejdssporet blevet mindre? Der er ikke foretaget målinger af det psykiske arbejdsmiljø inden projekterne startede, men i 2011 er der i Region Hovedstaden foretaget en trivselsmåling blandt alle ansatte via anonym besvarelse af et spørgeskema sendt ud til hver enkelt på Regionens intranet. Resultaterne på Klinisk-biokemisk afdeling Gentofte Hospital falder meget tilfredsstillende ud sammenlignet med resultaterne for øvrige ansatte på Hospitalet og vigtigst også sammenlignet med resultaterne for de øvrige klinisk-biokemiske afdelinger i Regionen.

Når vi ser tilbage på de 7 års Lean arbejde, er vi af den opfattelse, at det er de ansattes holdning, der har været den vigtigste faktor for de kortere svartider. Selvfølgelig betyder det noget, at vi har sat alle analysemaskinerne tæt op af hinanden, så bioanalytikeren ikke spilder tid med at transportere prøverne rundt i laboratoriet. Selvfølgelig betyder det noget, at

vi har indført systemer, så alt på laboratoriet har sin rette plads, og at man aldrig løber tør for ting, der er nødvendige for analysearbejdet. Selvfølgelig betyder det noget, at vedligehold af analysemaskinerne ikke foregår om formiddagen i laboratoriets myldretid. Selvfølgelig betyder det noget at vi fokuserer lige så meget på svartiderne som på resultaterne af kontrolprøverne. Men det er den enkelte bioanalytikers holdning til blodprøver, der står og venter, som er helt afgørende både med henblik på at foreslå nye arbejdsgange og også med henblik på at følge de arbejdsgange, der giver de korteste svartider.

Mange af vores tiltag er banale. En del er tyvstjålet fra andre indenlandske og udenlandske laboratorier, men som ved akkreditering gælder det også ved svartidsoptimering: "Steal with pride". Måske skulle nogle af de videnskabeligt veluddannede speciallæger på landets klinisk biokemiske afdelinger overveje at stjæle en nærmest videnskabelig interesse for svartidsoptimering fra Klinisk biokemisk afdeling på Gentofte. For patienternes skyld og for fagets skyld.

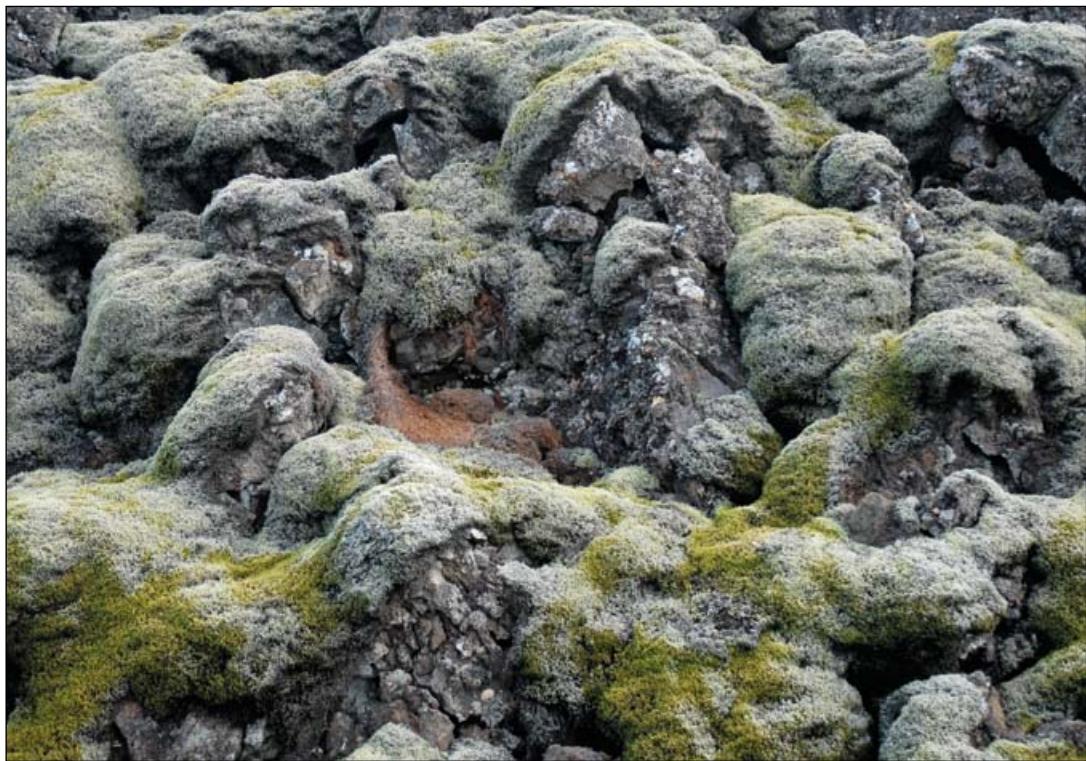


Foto: Henrik Alfthan

Copeptin: A new peptide in clinical measurement

Ola Hammarsten¹ and Jens P. Goetze²

¹Department of Clinical Biochemistry, Sahlgrenska University Hospital, Göteborg, and

²Department of Clinical Biochemistry, Rigshospitalet, University of Copenhagen.

jpg@dadlnet.dk

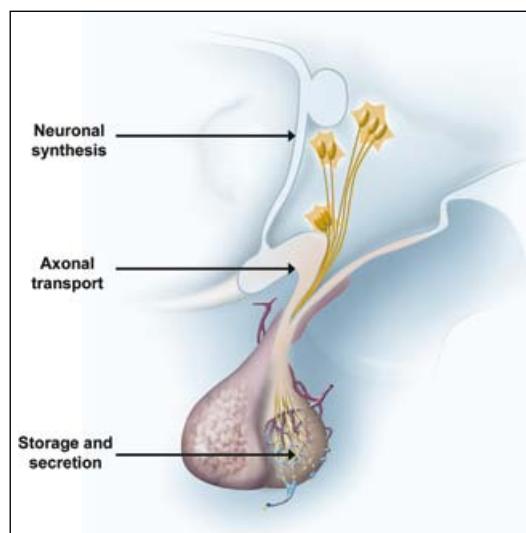


Plasma measurement of the peptide hormone vasopressin (AVP) has proven difficult in routine laboratories. Vasopressin is a nonapeptide produced in the hypothalamus and released to circulation from the pituitary gland (figure 1). In circulation, vasopressin regulates several biological functions including peripheral vasoconstriction (via V₁ receptors) and renal water retention (via V₂ receptors). Vasopressin is also a potent stimulator of endothelial von Willebrand release. For clinical use as a plasma marker, vasopressin measurement has been hampered by its marked instability in vitro, strong binding to thrombocytes and small peptide size preventing measurement by sandwich immunoassays. Plasma vasopressin measurement has consequently been used mainly for research purposes and is not on the standard analytical repertoire in most hospital laboratories.

Human vasopressin is derived from provasopressin, which is a 145 amino acid residue precursor. Besides vasopressin, the precursor structure contains two other peptide fragments: Neurophysin II and copeptin (figure 2). Copeptin is the C-terminal part of provasopressin and constitutes 39 amino acids. Copeptin is covalently modified and stored in the posterior region of the pituitary gland as a glycopeptide (1). Copeptin and vasopressin are co-secreted to the circulation upon relevant stimulus and copeptin thus represents

a surrogate marker of vasopressin release (2). A well-established analogy in routine measurement is the C-peptide, which is derived from proinsulin and used as a surrogate marker of endogenous insulin production.

Copeptin plasma measurement is a relatively new entity, which is reflected in the few research papers published so far (September 2011: n = 153 via PubMed). Basically, most papers are based on measurement in plasma samples from already collected clinical studies. Biochemical and physiological data are still needed on molecular forms in plasma and the elimination phase. Nevertheless, the published data are encouraging in especially cardiovascular disease, and the present mini-review aims at summarizing the most interesting applications in human medicine.



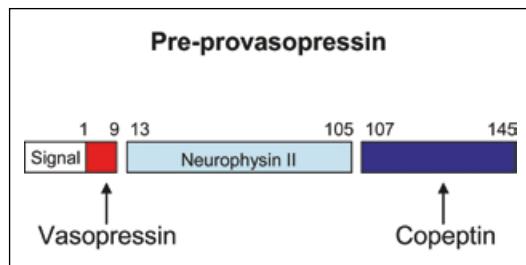
Figur 1: Copeptin production, axonal transportation and pituitary secretion (modified with permission from Nils Morgenthaler)

Copeptin measurement in plasma

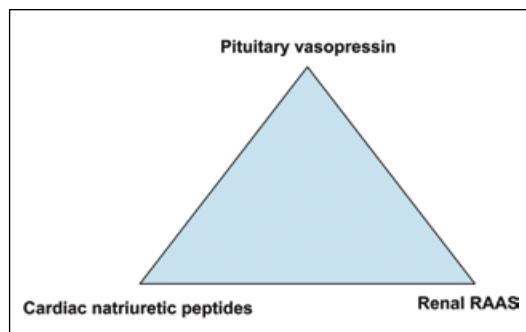
An automated platform has been introduced for routine copeptin plasma measurement. Copeptin is measured by a sandwich assay utilizing antibodies directed against distinct epitopes in the copeptin primary sequence (provasopressin 113–128 and 130–145, respectively). The method was validated and published in 2006, where the marked in vitro stability of copeptin seems to provide a promising tool for evaluating the vasopressin response in human health and disease (3). A more sensitive assay has now been launched (in 2011) that allows for copeptin measurement even in the low picomolar range (1 pmol/L). Notably, this is required for clinical measurement, where low or no vasopressin production is suspected. Copeptin measurement, however, is still largely defined by one company and their automated platform, which makes comparison to other methodologies impossible. Thus, all copeptin plasma measurements in new clinical studies refer to this specific methodology. In the following sections, we have included clinical scenarios, where copeptin measurement may provide clinically relevant information beyond existing markers.

Copeptin and diabetes insipidus

Diabetes insipidus (DI) is suspected when patients have excessive fluid intake (polydipsia) and produce large volumes of dilute urine, usually over 3 L/day. The pathogenesis behind the polydipsia-polyuria syndrome is either an insufficient vasopressin secretion (central DI), insufficient vasopressin response in the kidneys (nephrogenic DI) or excessive water intake caused by other reasons such as defects in thirst perception or psychogenic reasons (primary polydipsia). The final diagnosis relies on laborious tests where patients are admitted and asked to refrain from drinking during a day usually followed by a desmopressin challenge, while analyses for urine osmolarity, plasma osmolarity, and plasma sodium are performed. These tests, however, have limited diagnostic accuracy because the most common form of DI is due to a reduced rather than a total loss of either vasopressin production or response in the kidneys. In addition, most patients with polydipsia have primary polydipsia. To overcome this problem, it is recommended to quantitate vasopressin during the water deprivation test. Due to the methodological problems mentioned in the introduction, this has not been included as a diagnostic standard. Copeptin measurement was



Figur 2: Schematic presentation of the human vasopressin precursor. Copeptin constitutes the C-terminal fragment and vasopressin the N-terminal peptide from the prostructure.



Figur 3: Triangle of peptide hormones involved in water homeostasis. Note that all hormones are key players in cardiovascular pathophysiology and treatment.

first shown to support a DI diagnosis in patients with complete central DI following transsphenoidal surgery. Copeptin concentrations below 4.5 pmol/L after insulin-induced hypoglycemia separated all patients compared to normal controls (4). This is, however, far from the clinical reality where the majority of patients will present with incomplete forms of DI or primary polydipsia. Recently, copeptin was tested in a more everyday-like situation and the results were compared to the standard diagnostic procedure in patients with partial central DI, complete central DI, nephrogenic DI, and primary polydipsia. Copeptin measurements during the water deprivation test were shown to have superior diagnostic power compared to all other analyses including vasopressin measurements (5). Due to overlap between controls and patients with different forms of polydipsia, the actual copeptin concentrations during the water deprivation test showed limited diag-

(Fortsætter side 24)

(Fortsat fra side 23)

nostic performance. However, a ratio where the relative copeptin increase during the test was divided with the plasma sodium concentration at the end of the test was able to separate central DI from primary polydipsia with a sensitivity of 86% and specificity of 100%. Thus, these findings suggest that copeptin measurement may soon be included in the complex diagnostic algorithm for diagnosing polydipsia.

Copeptin and early rule out of myocardial infarction

According to current guidelines, diagnosis of the 60-70% of patients with acute myocardial infarction (AMI) without obvious electrocardiographic findings relies on baseline plasma concentrations and the dynamic response of the myocardial necrosis markers troponin T or troponin I. These markers have low diagnostic performance early after the onset of chest pain due to a delayed cellular release after myocardial damage. Patients presenting with chest pain must therefore be observed for 6-9 hours before a potential

AMI diagnosis can be excluded (6). Introduction of high-sensitive troponin assays and lowering of the troponin cut-off limit to the 99th percentile has further complicated the diagnostic performance of troponin measurement (7). This is partly due to a high prevalence of stable troponin elevations in older patients and in patients with chronic conditions such as heart failure or kidney failure. Consequently, there is a need for early markers that will perform independently of myocardial necrosis to increase the spatial performance of biochemical markers in patients with suspected AMI.

Vasopressin is released after AMI in both humans (8) and in animal models. Vasopressin secretion in AMI is not fully understood but may be triggered by altered cardiac dynamics and a decrease in systemic blood pressure. Also, vasopressin secretion may be stimulated as a generalized response to life-threatening disease along with ACTH and cortisone as part of the rapid stress response. Experimental induction of AMI in sheep has shown that vasopressin is released as early as 40 minutes after occlusion of coronary arteries and remains elevated for 12 hours (9).



Foto: Henrik Alfthan

The first study on copeptin measurement in AMI patients suggested that plasma copeptin concentrations peak during the first day after admission and decreases during the following days. In addition, copeptin concentrations were correlated to later death or development of heart failure (10), a conclusion that has been confirmed in later studies (11). This finding was followed by a study that examined copeptin measurement in the early diagnosis of AMI using blood samples from 487 consecutive patients admitted to the emergency room (ER) with acute chest pain (12). This study showed that copeptin concentrations in plasma peak 0-4 hours after onset of symptoms, which is within the time span where troponin concentrations are often inconclusive. In agreement with previous observations, copeptin declined in AMI patients during the first 12 hours while troponin T concentrations increased. The fact that copeptin concentrations were increased at times when troponin T remained low resulted in a negative predictive power of 99% at presentation if troponin T and copeptin measurement were used in combination. This finding has been confirmed in the APACE study of 1386 patients with suspected acute coronary syndrome. Copeptin measurement improved the diagnostic performance defined as AUC from receiver-operating curves from 0.77 for troponin T measurement alone to 0.91 with the combination of copeptin and troponin T measurements (13). Notably, these two studies employed conventional troponin assays that are unable to measure down to the 99th percentile. High-sensitive troponin assays are able to exclude AMI earlier and with higher negative predictive values compared to conventional troponin assays (7) that could potentially preclude a need for copeptin analysis. In agreement with this possibility, the added benefit of copeptin was attenuated when the APACE study were reanalyzed using a high-sensitive troponin I assay. Another problem was that these studies included AMI patients with diagnostic ECG changes (STEMI) that usually are not subject to biomarker analysis. Patients with STEMI have larger infarct volumes (14) and this could potentially overestimate the diagnostic performance of copeptin. Recently, one study showed that copeptin concentrations below 14 pmol/L, early after admission, add information to high-sensitive troponin T measurements with negative predictive values approaching 99% also when STEMI patients were excluded (15). This finding has also been confirmed in a smaller study (16). The prevalence of AMI was between 9% and 27% in these positive studies. In the

ROMICAT study, however, where the AMI prevalence was 2%, copeptin measurement did not add diagnostic power when combined with high-sensitive troponin T (17). It is possible though, that the low prevalence of AMI in this study and the fact that the first blood sample was often taken over 4 hours after admission impaired the diagnostic power of copeptin. The high negative predictive value in the four positive studies comes with a cost of impaired diagnostic accuracy with positive predictive values often below 50%. This is likely due to copeptin elevations being relatively common among chest pain patients, also in the absence of AMI. However, if the combination of negative copeptin and negative troponin concentrations can safely exclude AMI in 25-30% of the chest pain patients at admission as indicated in some studies (13,15), copeptin will add clinical value. In contrast to troponin, copeptin concentrations do not increase with age (18), which introduces the possibility that copeptin measurement may be especially helpful to exclude AMI in older patient groups. The most important question for future clinical trials is now to verify that it is safe to exclude AMI based on low copeptin concentrations in plasma.

Copeptin in heart failure

Heart failure is a common condition that affects almost 2% of the Western population. Although medical treatment of heart failure has changed dramatically over the last decades, there is still no significant improvement in long-term survival, and the 5 year mortality is still ~50%. With this in mind, there is a need for tools that can identify patients at high risk of clinical deterioration and death. Copeptin measurement in heart failure may be such a tool, where otherwise natriuretic peptide measurement has been suggested for risk estimation. In a Scandinavian study on elderly patients presenting with symptoms of heart failure, increased copeptin concentrations alone or combined with increased natriuretic peptides (NT-proBNP) were strongly associated with increase of all-cause mortality in a follow up period of 13 years (19). Notably, this study included 470 elderly people (average patient age of 73 years) in the primary setting, which is where most heart failure patients are diagnosed, treated, and followed. Other studies have shown similar prognostic power of copeptin measurement in more selected heart failure patient groups (20-22).

A particular use of copeptin measurement in heart

(Fortsætter side 26)

Condition	Copeptin levels in patients with favorable outcome (pmol/L)	Copeptin levels in patients that died or with adverse outcome (pmol/L)	AUC for predicting death or adverse outcome	Reference
Acute Heart failure - (14 days)	24 (11–49)	135 (56–272)	0.80 (0.76–0.84)	25
Chronic heart failure - (3.6 years)	16.1 (1.7–143)	28.8 (1.1–111.9)	0.72 (0.64–0.80)	26
Myocardial infarction	7.2(0.3–523)	32(2.4–330)	0.79(0.73–0.86)	27
Ischemic stroke	8.2(4.5–14–5)	19.4(9.7–36–6)	0.73(0.67–0.78)	28
Intracerebral hemorrhage	11.9(3.2–19.8)	32.4(9.5–97.8)	0.88(0.75–1.0)	29
Traumatic brain injury	N.A. ¹	N.A. ¹	0.87(0.79–0.93)	30
Chronic obstructive pulmonary disease	9.6(5–21)	23.5(10.7–44)	N.R. ²	31
Sepsis	59.1(8.45–386)	144(46.5–504)	0.75(0.61–0.86)	24
Pneumonia	12.4(4.9–22.6)	44.2(32.0–83.4)	0.86(0.83–0.89)	32
¹ Not applicable. Copeptin measured with method not comparable with standard method.	Median value. Inter quartile range in parenthesis	Median value. Inter quartile range in parenthesis	95% confidence interval in parenthesis	
² Not reported.				

Table 1. Copeptin concentrations in critical diseases.

(Fortsat fra side 25)

failure may be in connection with therapeutic vasopressin inhibition in selected heart failure patients. Selective vasopressin receptor (V_2) blockers, the so-called Vaptans, have been tested in heart failure treatment with only limited effects (23). However, copeptin measurement prior to Vaptan therapy may help identify patients where vasopressin receptor blockade will be beneficial and also patients where the therapeutic effects are contraindicated. For instance, high copeptin concentrations combined with low plasma sodium concentrations seem to be a reasonable patient group eligible for vasopressin receptor blockade, whereas patients suffering from hypovolemia and hyponatriemia should not receive such treatment. Clinical trials are currently being conducted in this important field, and copeptin measurement may turn out to be a biochemical “gate keeper” for this potent treatment regimen.

Copeptin pitfalls

A few potential pitfalls in clinical measurement seem reasonable to briefly address here. First of all, water intake acutely affects the copeptin concentration in

plasma (3). In fact, this feature is used in testing for diabetes insipidus. But for standard plasma measurement in for instance cardiac patients, there is no standardisation concerning this frequent and physiological event. While water intake may not grossly affect the results in larger clinical studies, it may still have a crucial impact on singular patients that are mistakenly identified as being at high-risk for morbidity and death, while the increased copeptin concentration only reflected water intake prior to blood sampling. In AMI, the potential impact of water intake is less severe, as it will not lead to missed diagnoses. It may though blur the clinical interpretation, and some discussion of water intake prior to blood sampling should at least be considered. Second, patients with severe bleedings may also display increased copeptin concentrations, for which the underlying mechanism has been elegantly demonstrated in monkeys (24). This association to (presumably rapid) changes in blood volume needs to be explored further in order to identify possible thresholds for copeptin secretion. Third, glucocorticoid treatment is known to attenuate the copeptin response, a fact that could be important if copeptin is implemented as a rapid rule-out test in AMI. Finally, the mechanism behind increased cope-

tin plasma concentrations in cardiac disease needs to be elucidated. While the current paradigm suggests stress as the main trigger stimulus, it is still compelling that the pituitary response is so rapid with respect to chest pain. More data on other diseases that are defined by acute chest pain urgently needs to be examined, *i.e.* aortic dissection and infectious cardiac disease. Notably, these high-risk patients may be misinterpreted as “non-cardiac” and rapidly referred to departments with little or no experience for these severe conditions. The consequences of such use could be disastrous.

Conclusion

Copeptin plasma measurement has emerged as a promising surrogate marker of pituitary vasopressin secretion. The most promising clinical application so far is in cardiovascular medicine, where copeptin measurement may be used for rapid exclusion of myocardial infarction in acute chest pain patients and predicting prognosis in patients with heart failure. As copeptin concentrations are elevated and provide prognostic information in several life threatening conditions (Table 1), we speculate that copeptin may to some extent be used as “an endocrine CRP”, that is providing useful information to the clinician when extra care is relevant. We therefore suspect that copeptin may soon be included in the analytical repertoire in Scandinavian laboratories.



Foto: Henrik Alfthan

References

1. Holwerda DA. A glycopeptide from the posterior lobe of pig pituitaries. I. Isolation and characterization. *Eur J Biochem* 1972;28:334-9.
2. Struck J, Morgenthaler NG, Bergmann A. Copeptin, a stable peptide derived from the vasopressin precursor, is elevated in serum of sepsis patients. *Peptides* 2005;26:2500-4.
3. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Clin Chem* 2006;52:112-9.
4. Katan M, Morgenthaler NG, Dixit KC, Rutishauser J, Brabant GE et al. Anterior and posterior pituitary function testing with simultaneous insulin tolerance test and a novel copeptin assay. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2640-3.
5. Fenske W, Quinkler M, Lorenz D, Zopf K, Haagen U et al. Copeptin in the differential diagnosis of the polydipsia-polyuria syndrome revisiting the direct and indirect water deprivation tests. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1506-15.
6. Thygesen K et al. Universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 2007;116:2634-53.
7. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays.
8. McAlpine HM, Morton JJ, Leckie B, Rumley A, Gillen G, Dargie HJ. Neuroendocrine activation after acute myocardial infarction. *Br Heart J* 1988;60:117-24.
9. Charles CJ, Rogers SJ, Donald RA, Ikram H, Prickett T, Richards AM. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis response to coronary artery embolization: an ovine model of acute myocardial infarction. *J Endocrinol* 1997;152:489-93.
10. Khan SQ, Dhillon OS, O'Brien RJ, Struck J, Quinn PA et al. C-terminal provasopressin (copeptin) as a novel and prognostic marker in acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide (LAMP) study. *Circulation*. 2007;115:2103-10.

(Fortsætter side 30)



Elecsys® S100

To rule out complications following m





minor traumatic brain injury

cobas[®]
Life needs answers

(Fortsat fra side 27)

11. Narayan H, Dhillon OS, Quinn PA, Struck J, Squire IB et al. C-terminal provasopressin (copeptin) as a prognostic marker after acute non-ST elevation myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide II (LAMP II) study. *Clin Sci (Lond)* 2011;121:79-89.
12. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, Laule K, Freidank H et al. Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:60-8.
13. Keller T, Tzikas S, Zeller T, Czyz E, Lillpopp L et al. Copeptin improves early diagnosis of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2096-106.
14. Steen H, Giannitsis E, Futterer S, Merten C, Juenger C, Katus HA. Cardiac troponin T at 96 hours after acute myocardial infarction correlates with infarct size and cardiac function. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2192-4.
15. Giannitsis E, Kehayova T, Vafaie M, Katus HA. Combined testing of high-sensitivity troponin T and copeptin on presentation at prespecified cutoffs improves rapid rule-out of non-ST-segment elevation myocardial infarction. *Clin Chem* 2011;57:1-4.
16. Meune C, Zuily S, Wahbi K, Claessens YE, Weber S, Chenevier-Gobeaux C. Combination of copeptin and high-sensitivity cardiac troponin T assay in unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: a pilot study. *Arch Cardiovasc Dis* 2011;104:4-10.
17. Karakas M, Januzzi JL Jr, Meyer J, Lee H, Schlett CL et al. Bamberg F, Dasdemir S, Hoffmann U, Koenig W. Copeptin does not add diagnostic information to high-sensitivity troponin T in low- to intermediate-risk patients with acute chest pain: results from the rule out myocardial infarction by computed tomography (ROMICAT) study. *Clin Chem* 2011;57:1137-45.
18. Bhandari SS, Loke I, Davies JE, Squire IB, Struck J, Ng LL. Gender and renal function influence plasma levels of copeptin in healthy individuals. *Clin Sci (Lond)* 2009;116:257-63.
19. Alehagen U, Dahlström U, Rehfeld JF, Goetze JP. Association of copeptin and N-terminal proBNP concentrations with risk of cardiovascular death in older patients with symptoms of heart failure. *JAMA* 2011;305:2088-95.
20. Voors AA, von Haehling S, Anker SD, Hillege HL, Struck J et al. OPTIMAAL Investigators. C-terminal provasopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. *Eur Heart J* 2009;30:1187-94.
21. Neuhold S, Huelsmann M, Strunk G, Struck J, Adlbrecht C, Gouya G, Elhenicky M, Pacher R. Prognostic value of emerging neurohormones in chronic heart failure during optimization of heart failure-specific therapy. *Clin Chem* 2010;56:121-6.
22. Neuhold S, Huelsmann M, Strunk G, Stoiser B, Struck J, Morgenhaler NG, Bergmann A, Moertl D, Berger R, Pacher R. Comparison of copeptin, B-type natriuretic peptide, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with chronic heart failure: prediction of death at different stages of the disease. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:266-72.
23. Ambrosy A, Goldsmith SR, Gheorghiade M. Tolvaptan for the treatment of heart failure: a review of the literature. *Expert Opin Pharmacother* 2011;12:961-76.
24. Morgenhaler NG, Müller B, Struck J, Bergmann A, Redl H, Christ-Crain M. Copeptin, a stable peptide of the arginine vasopressin precursor, is elevated in hemorrhagic and septic shock. *Shock* 2007;28:219-26.
25. Peacock WF, Nowak R, Christenson R, DiSomma S, Neath SX, Hartmann O, Mueller C, Ponikowski P, Möckel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Filippatos GS, Anand I, Ng LL, Daniels LB, Morgenhaler N, Anker SD, Maisel AS. Short-term mortality risk in emergency department acute heart failure. *Acad Emerg Med* 2011;18:947-58.
26. Tentzeris I, Jarai R, Farhan S, Perkmann T, Schwarz MA, Jakl G, Wojta J, Huber K. Complementary role of copeptin and high-sensitivity troponin in predicting outcome in patients with stable chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2011;13:726-33.

27. Narayan H, Dhillon OS, Quinn PA, Struck J, Squire IB, Davies JE, Ng LL. C-terminal provasopressin (copeptin) as a prognostic marker after acute non-ST elevation myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide II (LAMP II) study. *Clin Sci* 2011;121:79-89.
28. Katan M, Fluri F, Morgenthaler NG, Schuetz P, Zweifel C, Bingisser R, Müller K, Meckel S, Gass A, Kappos L, Steck AJ, Engelter ST, Müller B, Christ-Crain M. Copeptin: a novel, independent prognostic marker in patients with ischemic stroke. *Ann Neurol* 2009;66:799-808.
29. Zweifel C, Katan M, Schuetz P, Siegemund M, Morgenthaler NG, Merlo A, Mueller B, Christ-Crain M. Copeptin is associated with mortality and outcome in patients with acute intracerebral hemorrhage. *BMC Neurol* 2010;10:34.
30. Dong XQ, Huang M, Yang SB, Yu WH, Zhang ZY. Copeptin Is Associated With Mortality in Patients With Traumatic Brain Injury. *J Trauma* 2011;71:1194-8.
31. Stoltz D, Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Leuppi J, Miedinger D, Bingisser R, Müller C, Struck J, Müller B, Tamm M. Copeptin, C-reactive protein, and procalcitonin as prognostic biomarkers in acute exacerbation of COPD. *Chest* 2007;131:1058-67.
32. Krüger S, Papassotiriou J, Marre R, Richter K, Schumann C, von Baum H, Morgenthaler NG, Suttorp N, Welte T; CAPNETZ Study Group. Pro-atrial natriuretic peptide and pro-vasopressin to predict severity and prognosis in community-acquired pneumonia: results from the German competence network CAPNETZ. *Intensive Care Med* 2007;33:2069-78.

Dags att söka resebidrag från Carl-Bertil Laurells fond 2012

En speciell fond skapades 1984 efter den nordiska kongressen i Malmö för att hedra Carl-Bertil Laurell. Fondens avsikt är att stödja yngre forskare som arbetar vid nordiska laboratorier och ge dem möjlighet att besöka andra lab för att där lära sig nya metoder. Ekonomiskt stöd kan sökas för resa och uppehälle. Medel ges däremot inte till kongresser.

Resestipendier delas ut i samband med varje nordisk kongress och nästa tillfälle är därför vid kongressen i Reykjavik 2012.

Ansökningen skall innehålla en kort beskrivning av sökandes forskningsprojekt och vad som är målet med studieresan. Högst fem särtryck skall bifogas ansökan.

Sista ansökningsdag är 1 april 2012.

Ansökningen skall skickas till ordföranden i organisationskommittén för den nordiska kongressen:

Ingunn Þorsteinsdóttir
Department of Clinical Biochemistry,
Landsþitali
University Hospital Hringbraut
IS-101 Reykjavík
Island

Resestipendium från Klinisk Biokemi i Norden



Akutmottagningen, Hospital São José, Lissabon. (Foto: Per Simonsson)

Redaktionen utlyser åter ett resestipendium till kliniska kemister med nyfikenheten i behåll. Senaste året har stipendier givits för två studieresor till USA och stipendiaterna har redogjort för sina besök i detta och förra numret av KBN.

Stipendiet är på högst 50.000 DKK som skall användas under 2012 - 2013. Målet är

att stärka den klinisk kemiska utvecklingen i Norden. Resan kan gå till ett annat land i Norden eller globalt i världen. Kravet är att sökande jobbar på lab i något av de nordiska länderna.

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

- Lära nya tekniker
- Fortsätta forskningsprojekt vid nytt laboratorium där det finns specialkompetens
- Skapa kontakter med *Centers of excellence* i utlandet
- Resestipendier ges inte till kurser och kongresser.

Ansökningen skall innehålla:

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

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

Ansökan skall skickas senast 1 juni 2012 till:

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



Foto: Henrik Alfthan



OCD Remote Monitoring Center

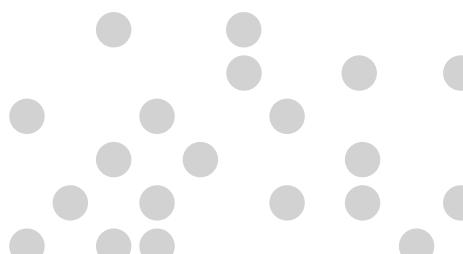
Using predictive technology to find issues before they become problems.

With our e-Connectivity system, you benefit from realtime monitoring helping ensure problems are identified before they become issues.

The Remote Monitoring Center provides unique predictive monitoring services to laboratories by continuously detecting and tracking known potential instrument problems up to 30 days in advance, before they interrupt the ability of the lab to deliver quality test results.

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

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



Lipoprotein(a): historik, klinik, måling

Pia R. Kamstrup, Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet, København.
pia.kamstrup@rh.regionh.dk



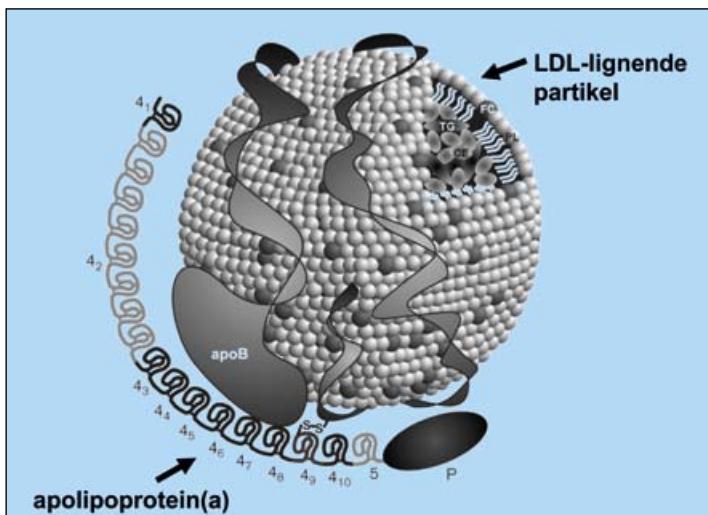
Interessen for lipoprotein(a) som risikofaktor for iskæmisk kardiovaskulær sygdom har været stigende gennem de seneste år. Lipoprotein(a) blev først beskrevet i 1963 af nordmanden Kåre Berg i publikationen "A New Serum Type in Man - The Lp System" [1], hvor

Berg i en serie elegante forsøg med kanin-deriverede antistoffer rettet mod humane "low-density lipoprotein" (LDL) kolesterolpartikler, demonstrerede at en type lipoprotein benævnt lipoprotein(a) (Lp(a)) kunne påvises hos nogle individer, men ikke hos andre, og at tilstedeværelsen af Lp(a) var arveligt betinget. Efterfølgende studier har siden redegjort for Lp(a)'s struktur, underliggende genetik og relation til iskæmisk kardiovaskulær sygdom [2,3].

Lp(a) består af en LDL-lignende kolesterolholdig partikel kovalent bundet til et enkelt glykoproteinmolekyle, apolipoprotein(a) [2]. Ved bestemmelse af LDL-kolesterol medbestemmes Lp(a)- kolesterolbidraget, der dog sædvanligvis udgør <10 % af LDL-kolesterolen [4]. Apolipoprotein(a) har stor strukturel lighed med plasminogen og indeholder således et stort og varierende antal plasminogen-lignende kringle IV-strukturer, en plasminogen-lignende kringle V-struktur og en (inaktiv) proteaseregion [2]. Hver kringle-struktur udgøres af 80 til 90 aminosyrer, hvor 3 disulfidbindinger medfører en kringleformet tertiar proteinstruktur. Apolipoprotein(a) forefindes i et stort antal isoformer med forskellig størrelse betinget af det variende antal kringle IV-strukturer, der igen er betinget af en størrelsespolymerfi i det apolipoprotein(a)-kodende *LPA* gen [2]. Plasmakoncentrationen af Lp(a) er overvejende genetisk bestemt af denne variation i *LPA* genet, da antallet af såkaldte kringle IV type 2-repeats i genet (2->40) betinger antallet af kringle IV-strukturer i apolipoprotein(a), og da størrelsen af apolipoprotein(a)-komponenten korrelerer inverset med Lp(a)-plasmakoncentrationen. Således forefindes store isoformer

sædvanligvis i lave koncentrationer, mens små isoformer forefindes i høje koncentrationer. Plasmakoncentrationen af Lp(a) er relativt stabil gennem livet hos det enkelte individ, mens den interindividuelle koncentrationsvariation er stor, med op til en 1000-fold forskel blandt raske [2]. Strukturen af Lp(a) indikerer, at Lp(a) potentielt kan fremme såvel udvikling af aterosklerose via den kolesterolholdige LDL-lignende komponent, som trombose via en antifibrinolytisk effekt af den plasminogen-lignende komponent.

Tidlige case-control studier af Lp(a) som en risikomarkør for iskæmisk kardiovaskulær sygdom påviste samstemmende en association mellem høje niveauer af Lp(a) og risiko for kardiovaskulær sygdom [2]. I starten af 1990'erne blev resultaterne fra de første større prospektive (men med retrospektive Lp(a)-målinger) studier publiceret [5,6]; her fandtes ingen association mellem høje niveauer af Lp(a) og risiko for iskæmisk kardiovaskulær sygdom. Disse initiale fund dæmpede selvsagt entusiasmen for Lp(a) som en klinisk brugbar markør og evt. kausal faktor for udvikling af kardiovaskulær sygdom. Efterfølgende har der været rejst kritik af disse studiers brug af prøver, der havde været nedfrosset i årevis forud for måling, og sået tvivl om kvaliteten af de anvendte Lp(a)-assays [2,7]. Senere prospektive studier og metaanalyser har til fulde demonstreret, at høje niveauer af Lp(a) associerer med en øget risiko for udvikling af iskæmisk kardiovaskulær sygdom [8-14]. Resultater fra Østebroudersøgelsen (Copenhagen City Heart Study) har fx vist at 10 % af den danske voksne befolkning har så høje niveauer af Lp(a) i blodet at risikoen for blodprop i hjertet, alene på denne baggrund og uafhængigt af klassiske risikofaktorer, er 2-3 fold forøget i forhold til den femtedel af befolkningen der har de laveste Lp(a) niveauer [12,13]. Senest har genetisk epidemiologiske studier af associationen mellem *LPA* gen-variation, der betinger plasmakoncentrationen af Lp(a), og risikoen for iskæmisk kardiovaskulær sygdom påvist kausalitet, dvs. påvist at Lp(a) er en direkte medvirkende årsag til udvikling af iskæmisk kardiovaskulær sygdom [13,15].



Lipoprotein(a) består af en LDL-lignende partikel bundet via en disulfid binding til et apolipoprotein(a) molekyle. Den LDL-lignende komponent udgøres af en central kerne af kolesterol (CE) og triglycerid (TG) omgivet af phospholipider (PL), frit kolesterol (FC) og et enkelt molekyle apolipoprotein B (apoB). Apolipoprotein(a) består af 10 forskellige plasminogen-lignende kringle IV repeats samt et enkelt plasminogen-lignende kringle V repeat og en (inaktiv) protease region (P). Kringle IV type 2 forekommer mellem 2 og >40 gange afhængigt af apolipoprotein(a) isoformen. Modificeret fra Koschinsky og Marcovina (Curr Opin Lipidol 2004;15:167-174).

Denne konklusion understøttes af resultater fra *in vitro*- og dyreforsøg, der har påvist såvel aterosklerose- som trombose-fremmende effekter af Lp(a)[16,17]. Fortsat mangler dog evidens for kausalitet fra randomiserede kliniske studier af effekten af selektivt at sænke Lp(a)-niveauet på forekomsten af iskæmisk kardiovaskulær sygdom.

Brug af Lp(a)-målinger i klinikken

Bestemmelse af Lp(a)-plasmakoncentrationen indgår i dag ikke i den rutinemæssige vurdering (vha. f.eks. SCORE[18] eller ATP-III[19]) af individets risiko for udvikling af fremtidig iskæmisk kardiovaskulær sygdom. En nylig konsensusrapport fra det europæiske aterosklerose-selskab (EAS) anbefaler dog - på basis af den foreliggende evidens - udbredt brug af Lp(a)-målinger hos individer med øget risiko for udvikling af iskæmisk kardiovaskulær sygdom[20]. Specifikt anbefales bestemmelse af Lp(a)-niveauet (1 måling) hos individer med øget risiko for sygdom og min. 1 af flg. fund:

- manifest præmatur kardiovaskulær sygdom
- familiær hyperkolesterolæmi
- familiær disposition til præmatur kardiovaskulær sygdom og/eller familiært forhøjet Lp(a)-niveau
- symptomgivende kardiovaskulær sygdom trods statin-behandling
- ≥3 % 10 års risiko for fatal kardiovaskulær sygdom iflg. europæiske guidelines (SCORE)[18]
- ≥10 % 10 års risiko for koronar hjertesygdom iflg. US guidelines (ATP-III)[19]

Såfremt der konstateres forhøjet Lp(a)-niveau anbefales Lp(a)-sænkende behandling primært i form af nikotinsyrepræparer, der har en gunstig effekt på hele lipidprofilen og sænker Lp(a)-niveauet med op til 30-40 %[20]. Behandlingsmålet er et Lp(a)-niveau på <80 % fraktilen af Lp(a)-koncentrationsfordelingen i befolkningen svarende til <50 mg/dl (afhængigt af anvendt Lp(a)-assay).

Måling

Korrekt bestemmelse af Lp(a)-plasmakoncentrationen ved immunkemiske metoder er notorisk vanskelig[4,21-25], og metodologiske problemer har uden tvil medvirket til den manglende implementering af Lp(a)-målinger i klinisk praksis. Bestemmelse af Lp(a)-plasmakoncentrationen vanskeliggøres af det store antal apolipoprotein(a)-isoformer, som assay's antistoffer nødvendigvis må rettes mod, såfremt almindelige LDL-kolesterolpartikler ikke skal medbestemmes. Apolipoprotein(a)-isoformerne varierer i størrelse fra ca. 300 til 800 kDa betinget af det stærkt varierende antal kringle IV-strukturer i proteinet[2]. En forudsætning for en nøjagtig immunkemisk måling er at de anvendte antistoffer har samme grad af immunreaktivitet per Lp(a)-partikel for kalibratoren som for analytten[24]. Såfremt et Lp(a)-assay's antistoffer er rettet mod den variable del af apolipoprotein(a)-proteinet er denne forudsætning ofte ikke opfyldt, og koncentrationen af store isoformer (dvs. større end kalibratoren) kan overvurderes, mens koncentrationen af små iso-

(Fortsætter side 36)

(Fortsat fra side 35)

former (dvs. mindre end kalibratoren) undervurderes[4,24]. I epidemiologiske studier kan anvendelsen af et apolipoprotein(a) isoform-afhængigt assay, i kombination med det forhold at plasmakoncentrationen af Lp(a) er omvendt korreleret med isoformstørrelsen af apolipoprotein(a), føre til en underestimering af den kardiovaskulære risiko forbundet med forhøjede Lp(a)-niveauer[3,24,25].

Der har gennem tiden været nedsat flere internationale arbejdsgrupper med det formål at løse de metodologiske problemer knyttet til bestemmelse af Lp(a)-plasmakoncentrationen [21,24]. En arbejdsgruppe under IFCC har undersøgt performance af et stort antal (hovedparten kommersielt tilgængelige) immunkemiske Lp(a)-assays (herunder ELISA-, RIA-, immunturbidimetriske- og nephelometriske-assays) og konkluderet at >50 % af de undersøgte assays manglede adækvat linearitet eller præcision, og at den manglende standardisering af disse assays derudover vanskeliggjorde sammenlignelighed af Lp(a)-målingerne[21]. Arbejdsgruppen definerede efterfølgende en reference ELISA Lp(a)-målemetode, hvor der benyttes et monoklonalt antistof rettet mod en ikke-variabel del af apolipoprotein(a)[23]. Derudover blev der produceret et primært referencemateriale samt et serum-baseret sekundært referencemateriale (SRM-2B) der har opnået WHO-godkendelse[25]. Ved opfølgende studier af 22 forskellige Lp(a)-assays standardiseret ved brug af det sekundære referencemateriale fandtes kun god korrelation mellem forventede og observerede resultater hos et enkelt immunturbidimetrisk assay, der var relativt upåvirkeligt af isoform-størrelsen af apolipoprotein(a) [23,24]. Således er det kun muligt at opnå korrekte og standardiserede Lp(a)-målinger ved brug af assays, der ikke er nævneværdigt påvirkelige af apolipoprotein(a)-størrelsesvariationen.

Generelt anbefales anvendelse af friske blodprøver ved bestemmelse af plasma Lp(a)-koncentrationen, omend kortere tids nedfrysning ikke er vist at påvirke måleresultatet. Derimod er der tidligere demonstreret en apolipoprotein(a) isoform-afhængig nedbrydning af Lp(a) ved længere tids prøveopbevaring ved -80 °C, med præferentiel nedbrydning af små isoformer[7]. Givet den inverse korrelation mellem isoformstørrelse og plasma Lp(a)-koncentrationen, kan dette igen medføre en underestimering af den kardiovaskulære risiko forbundet med forhøjede Lp(a)-niveauer i studier, der anvender prøver nedfrosset i årevis forud for måling[7].

Konklusion

Lp(a) anses i stigende grad for at være en betydnende og kausal risikofaktor for iskæmisk kardiovaskulær sygdom og dermed et mål for forebyggende behandling. En nylig konsensusrapport fra det europæiske aterosklerose-selskab anbefaler øget brug af Lp(a)-målinger i klinikken[20]. En forudsætning for anvendelse af Lp(a)-målinger i såvel klinik som forskning er brug af pålidelige assays. Klinikere og forskere, som anvender Lp(a)-målinger, bør derfor sikre sig at der benyttes velkarakteriserede Lp(a)-assays, hvor der foreligger dokumentation for, at målingerne ikke påvirkes af apolipoprotein(a)-isoformstørrelsen. Derudover bør der vælges et assay, der er kalibreret med sporbarhed til det WHO-godkendte referencemateriale SRM-2B, således at sammenlignelighed af Lp(a)-målinger fremover sikres – en forudsætning for at definere internationalt gældende (under hensyntagen til etnicitet) kliniske beslutningsgrænser.

Referencer

- Berg K. A new serum type system in man--the LP system. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1963;59:369-82.
- Utermann G. Lipoprotein(a). In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 2001 ed. McGraw-Hill, Medical Publishing Division, 2006:2753-2787.
- Kamstrup PR. Lipoprotein(a) and ischemic heart disease--a causal association? A review. *Atherosclerosis* 2010;211:15-23.
- Longenecker JC, Coresh J, Klag MJ, Powe NR, Fink NE, Marcovina SM. Lipoprotein(a) level as a predictor of cardiovascular disease and small apolipoprotein(a) isoforms in dialysis patients: assay-related differences are important. *Clin Chim Acta* 2008;397:36-41.
- Alfthan G, Pekkanen J, Jauhainen M et al. Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994;106:9-19.
- Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective study of lipoprotein(a) and the risk of myocardial infarction. *JAMA* 1993;270:2195-9.

7. Kronenberg F, Trenkwalder E, Dieplinger H, Utermann G. Lipoprotein(a) in stored plasma samples and the ravages of time: why epidemiological studies might fail. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:1568-72.
8. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease - Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000;102:1082-5.
9. Ariyo AA, Thach C, Tracy R. Lp(a) lipoprotein, vascular disease, and mortality in the elderly. *N Engl J Med* 2003;349:2108-15.
10. Rifai N, Ma J, Sacks FM et al. Apolipoprotein(a) size and lipoprotein(a) concentration and future risk of angina pectoris with evidence of severe coronary atherosclerosis in men: The Physicians' Health Study. *Clin Chem* 2004;50:1364-71.
11. Danik JS, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Lipoprotein(a), measured with an assay independent of apolipoprotein(a) isoform size, and risk of future cardiovascular events among initially healthy women. *JAMA* 2006;296:1363-70.
12. Kamstrup PR, Benn M, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG. Extreme lipoprotein(a) levels and risk of myocardial infarction in the general population: the Copenhagen City Heart Study. *Circulation* 2008;117:176-84.
13. Kamstrup PR, Tybjærg-Hansen A, Steffensen R, Nordestgaard BG. Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction. *JAMA* 2009;301:2331-9.
14. Erqou S, Kaptoge S, Perry PL et al. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA* 2009;302:412-23.
15. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med* 2009;361:2518-28.
16. Boffa MB, Marcovina SM, Koschinsky ML. Lipoprotein(a) as a risk factor for atherosclerosis and thrombosis: mechanistic insights from animal models. *Clin Biochem* 2004;37:333-43.
17. Deb A, Caplice NM. Lipoprotein(a): new insights into mechanisms of atherogenesis and thrombosis. *Clin Cardiol* 2004;27:258-64.
18. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary: Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (Constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* 2007;28:2375-414.
19. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:e149-e161.
20. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J* 2010;31:2844-53.
21. Tate JR, Rifai N, Berg K et al. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for the measurement of lipoprotein(a). Phase I. Evaluation of the analytical performance of lipoprotein(a) assay systems and commercial calibrators. *Clin Chem* 1998;44:1629-40.
22. Tate JR, Berg K, Couderc R et al. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) Standardization Project for the Measurement of Lipoprotein(a). Phase 2: selection and properties of a proposed secondary reference material for lipoprotein(a). *Clin Chem Lab Med* 1999;37:949-58.
23. Marcovina SM, Albers JJ, Scanu AM et al. Use of a reference material proposed by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine to evaluate analytical methods for the determination of plasma lipoprotein(a). *Clin Chem* 2000;46:1956-67.
24. Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease: recent advances and future directions. *Clin Chem* 2003;49:1785-96.
25. Dati F, Tate JR, Marcovina SM, Steinmetz A. First WHO/IFCC International Reference Reagent for Lipoprotein(a) for Immunoassay--Lp(a) SRM 2B. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:670-6.

KBN resestipendium 2011: LCMS-analys av glykosylerat protein med CDG som frågeställning

Per Bengtson

Labmedicin Skåne, Klinisk Kemi, Lund

per.bengtson@med.lu.se

Liquid chromatography mass spectrometry (LCMS) har på allvar etablerat sig som en viktig plattform på kliniska rutinlaboratorier. LCMS har inom klinisk kemi i Sverige traditionellt använts för analys av små endogena och exogena molekyler som hormoner, läkemedel och droger. Nästa utvecklingsfas inom klinisk kemi innehåller troligen fler LCMS-analyser av större molekyler (som proteiner). Denna artikel kommer att försöka belysa LCMS-analys av transferrin, med glykosylering som exempel på posttranskriptionell modifikation.

Mayo

I början av februari åkte jag till Mayokliniken, Rochester, MN, USA på studiebesök för att studera deras LCMS-uppställningar i allmänhet och deras transferrinanalys i synnerhet. Mayokliniken är en drygt hundra år gammal klinik med huvudsäte i Rochester.

Kliniken har specialiserat sig på svåra och sällsynta behandlingar varför majoriteten av patienterna är influgna långväga ifrån. Laboratoriet, Mayo Medical Laboratories, som ligger i anslutning till kliniken, är enormt, flera gånger Lunds huvudblock, med bara laboratorier. För er som inte har Lunds huvudblock färskt i minnet kan kanske dessa siffror ge en bättre uppfattning om storleken; antalet anställda på laboratoriet är 3600 varav ca 200 är läkare och metodutvecklande kemister. Det är referenslaboratorium åt nästan 4000 sjukhus och tar emot prover från 130 länder. Laboratoriet utför framförallt specialanalyser, varför antalet tester/år inte är häpnadsväckande (ca 20 miljoner), men väl testkatalogens diversitet (ca 3000 olika tester, varav 150 är tillagda senaste året).

Mayokliniken har en väldigt generös inställning vad det gäller utbyten och samarbeten och jag fick vid ett flertal tillfällen nämnt för mig att samarbetsvilja



En del av Mayo Medical Laboratories.

var viktigt och för patientens bästa. Som kuriosa kan jag också nämna att Mayokliniken, för åtonde året i rad, kom med på Forbes lista över USAs 100 bästa arbetsplatser.

CDG

CDG står för "congenital disorders of glycosylation" och är ett samlingsnamn för sjukdomar som beror på defekter i glykosyleringsprocessen. Under de senaste åren har en ändring av nomenklaturen för CDG skett



Artikelförfattaren framför byggnaden där de utförde CDG-analysen.

samtidigt som begreppet inte längre bara inkluderar defekter i N-glykosylering av proteiner utan även O-glykosylering, lipid-glykosylering och GPI-ankarglykosylering samt andra defekter som påverkar glykosyleringen generellt (1).

Vid N-glykosylering binder glykanen via aspargin och vid O-glykosylering binds glykanen in via serin eller treonin. För närvarande finns det 45 beskrivna CDG-subtyper att jämföras med tolv stycken för sju år sedan (2). Antalet gener som i teorin skulle kunna orsaka CDG är dock klart över hundra, varför en lavinartad ökning av antalet kända CDG-subtyper är att vänta inom de närmaste åren.

Den hittills vanligaste CDG-subtypen är PMM2-CDG (fd CDG-Ia) som beror på mutationer i genen för fosfomannomutas (PMM2). Dess prevalens är uppskattad till 1:20000 födda, men precis som för andra CDG-typer är mörkertätalet troligen stort (3,4). Fram tills för ett par år sedan var antalet kända CDG patienter mycket lågt, men med de nya analysmetoderna och ökad kunskap på klinikerna ökar nu antalet markant. Mayo-kliniken får numera in ca 300-400 prover i veckan från hela USA med CDG som frågeställning. Trots att informationen ut till klinikerna fortfarande haltar ser doktor Kimiyo Raymond, CDG-ansvarig på Mayokliniken, en stadig ökning av efterfrågan allteftersom klinikerna blir varse om både diagnosen och analysen. Bara på de två senaste åren ser det ut som om antalet kända CDG-fall i USA med defekter i N-glykosyleringen har fördubblats, detta mycket tack vare Kimiyos arbete. För kliniker är oftast CDG en svårställd diagnos eftersom symptomen för de olika CDG-typerna varierar och spänner över ett brett



Docent Erik Eklund och doktor Kimiyo Raymond.

område (5). Det är sålunda viktigt, både ur ett kliniskt perspektiv och ett forskningsperspektiv, att utveckla och implementera analyser av glykokonjugat.

Transferrin som reporter

Transferrin är för klinisk kemi ett välbekant järnbindande serumprotein, med en normalvikt av 79,6 kDa. Transferrin är oftast N-glykosylerat endast på två positioner och har därför visat sig vara en lämplig markör för defekter i N-glykosyleringen. Ett flertal isoformer kan detekteras i normalt blod där isoformen med två kompletta biantennära N-glykaner är den i klar majoritet (figur 1).

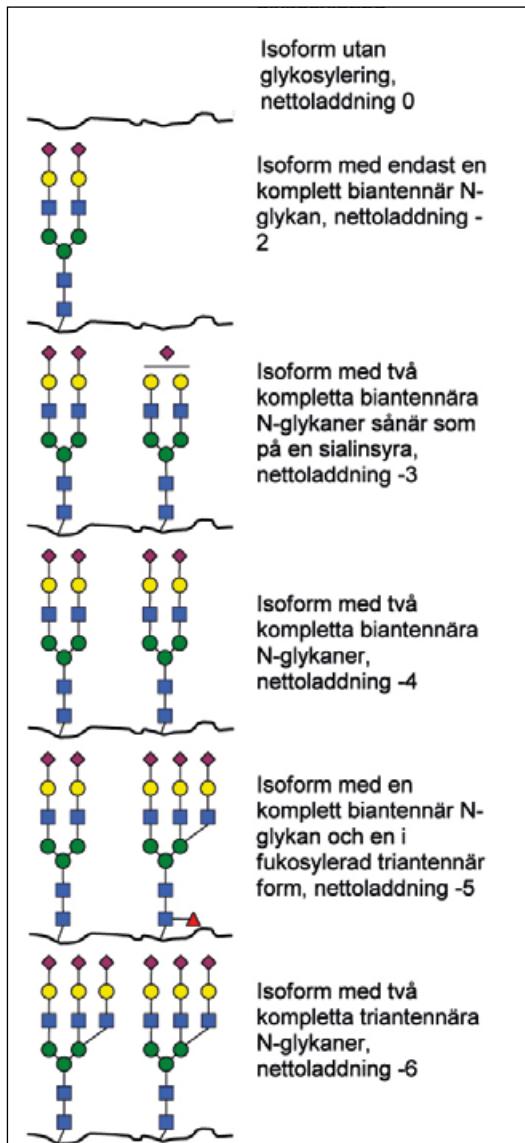
Vid högt långvarigt alkoholintag störs glykosyleringen av många serumproteiner däribland transferrin (6). Isoformerna av transferrin som saknar en eller båda N-glykanerna ökar något relativt de andra. Detta utnyttjas i CDT-analys (carbohydrate deficient transferrin) vid misstanke om alkoholism där man mäter ration mellan isoformer. I figur 2 visas ett negativt prov och ett positivt prov för CDT analyserat på LCMS. Notera hur monoglykosylerat transferrin ökar i relation till diglykosylerat.

Vad skiljer då ett positivt CDT-prov från prover från

(Fortsätter side 40)

(Fortsat fra side 39)

CDG-patienter med defekter i N-glykosyleringen? Analys av serum från PMM2-CDG-patienter resulterar i detektion av samma isoformer som vid CDT, men med mycket större ration (figur 2). Mono- och ickeglykosy-



Figur 1. Normala vanligt förekommande isoformer av transferrin. Isoformen med två kompletta biantennära N-glykaner är klart vanligast.

- Galaktos
- Mannos
- N-acetyl-glukosamin
- ◆ N-acetyl-neuraminsyra
- ▲ Fukos

lerat transferrin kan till och med vara så höga som 1:1 mot normalglykosylerat transferrin.

PMM2-CDG tillhör en grupp CDG-typer som alla har enzymdefekter tidigt i N-glykosyleringen (sk typ 1 d.v.s. processing av oligosackariden fram t.o.m. den överförs till proteinet) varför avvikelsen i glykosyleringen på transferrin blir en ”allt eller inget”-effekt, d.v.s. hela N-glykaner saknas. Fullständig frånvaro av N-glykosylering är letal, varför alla ”CDG-mutationer” av typ 1 är hypomorfa, d.v.s. ger endast partiella bortfall.

CDG-typer, där defekten ligger senare i N-glykosyleringsprocessen (sk typ 2, d.v.s. processning av den proteinbundna oligosackariden), får ett mer komplext glykosyleringsmönster av enskilda trunkeringar och variationer av N-glykanerna men sällan frånvaro av hela glykaner (figur 3).

Följaktligen blir mönstret på LCMS-resultaten från dessa patienter helt annorlunda jämfört med CDG typ 1 och CDT-positiva prover (figur 2). Det är här en av de stora fördelarna med MS framför HPLC och IEF-analys av transferrin blir extra tydlig. MS ger som bekant resultatet i form av massa, HPLC och IEF base-rar sin separation och därmed sitt resultat på laddning. Det är den negativt laddade N-acetyl-neuraminsyran (sialinsyra) som ger separation i HPLC och IEF (figur 1). Dessa två metoder ger en haltande bild av så pass komplexa glykosyleringsmönster som majoriteten av CDG-typerna ger. Eftersom MS-metoder ger information om de olika strukturerna via deras masstal ges önskvärd separation även för CDG typ 2. Jämför man strukturerna i figur 1 med de i figur 3 blir svårigheterna med laddningsbaserade separationsmetoder förhoppningsvis uppenbara. Värt att notera är dock att denna LCMS-metod fortfarande endast är till för screening av patienter med misstänkt CDG. För konfirmering krävs enzymatiska och/eller genetiska analyser.

Vid användandet av transferrin som reporterprotein för N-glykosylering kan bl.a. galaktosemi, nedärvt fruktosintolerans samt mutationer av glykosyleringspositionerna i transferringen ge falskt positiva svar (7). Å andra sidan, vid kännedom om galaktosemi och nedärvt fruktosintolerans kan analys av transferrins glykosylering användas för att monitorera behandling (8).

LCMS-analys av intakta proteiner

LCMS-analys har använts för att studera CDG av olika typer i ungefär två decennier (9). För screening av defekter i N-glykosylering har LCMS-instrument (ESI-

(Fortsätter side 43)

IDS Nordic

Bone, Growth and Cartilage Diagnostics



Now available on iSYS!

IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D

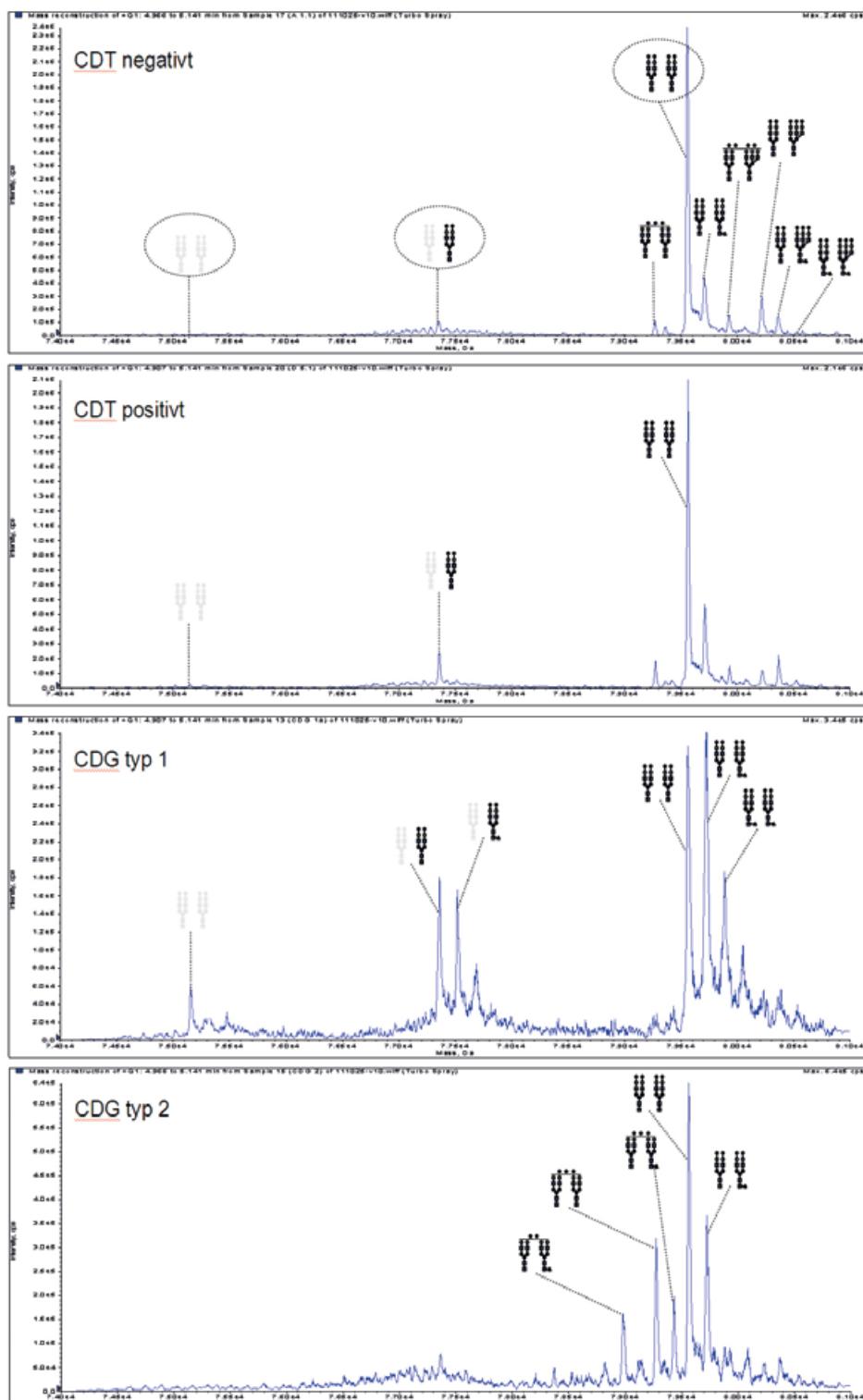


Coming soon:

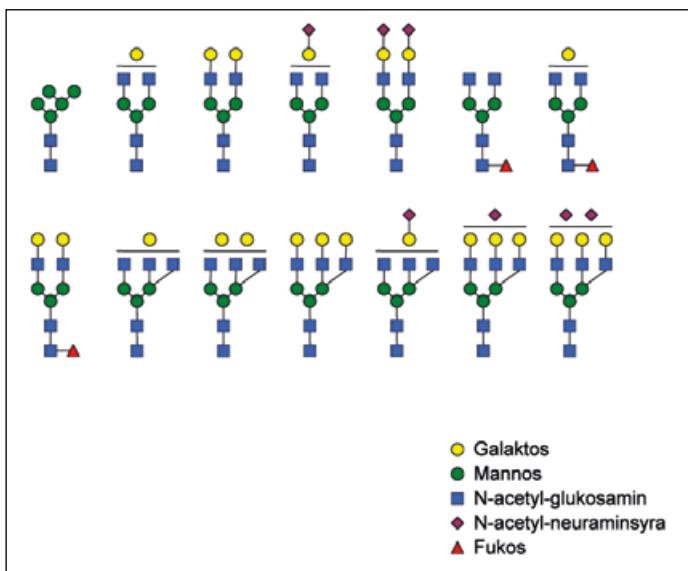
Renin and
Aldosteron

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

IDS-iSYS – Our fully Automated Speciality Analyzer



Figur 2. MS-data från negativt och positivt CDT-prov samt prover från patienter positiva för CDG. Förhållandet mellan de inringade strukturerna är det som används vid bestämning av CDT och CDG på LCMS. Notera att CDG proverna bara är exemplen. Det finns stora skillnader mellan olika CDG-typer i hur analysresultaten ser ut.



Figur 3. Exempel på N-glykaner från transferrin funna i CDG typ II patienter.

(Fortsat fra side 40)

MS etablerat sig som ett bra alternativ (10). En liten underavdelning på Mayo Medical Laboratories heter Department of Laboratory Medicine and Pathology, och har hand om CDG-analysen. De har sexton LCMS instrument för rutinanalyser och två för metodutveckling. Två av LCMS-instrumenten för rutinprover är kopplade till varsitt Cohesive HPLC-system (11), vilket fungerar som 4-8 parallella HPLC-system kopplade till en MS. Varje sådant instrument kan köra ca 300 000 prover/år. Tekniken för CDG-analys som jag fick ta del av är ny för oss på klinisk kemi i Lund, men har funnits i drift på Mayokliniken sedan början av 2000-talet. Mayokliniken använder sig av affinitetskromatografi före LCMS (12). Allt är kopplat i samma system och sker "on-line", med minimal provupparbetning och korta analystider.

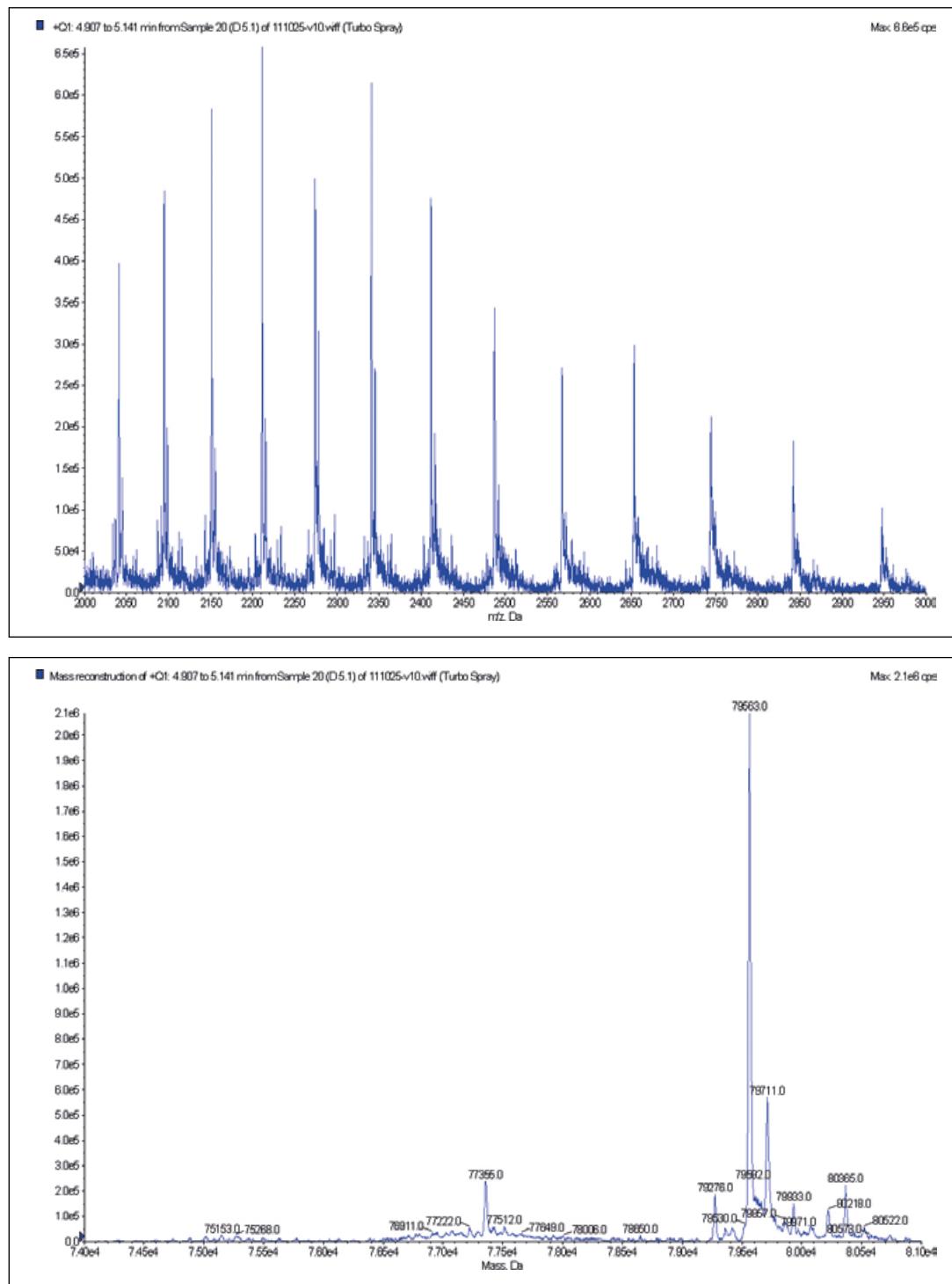
Systemet används för att semikvantitativt mäta isoformerna av transferrin. Spätt serum appliceras på affinitetskolonnen och kolonnen tvättas. Därefter elueras transferrinet från antikropparna i affinitetskolonnen med en sur buffert och koncentreras på en kort analyskolonn. Sedan följer ett tvättsteg för att avlägsna bland annat fosfater som dämpar och stör signalerna i masspektrometern. Transferrinet elueras senare ut från analyskolonnen in till masspektrometern med en enkel gradient. Metoden ger en analysid på 6,5 min från injektion av spätt serum till svar.

Hela molekylen analyseras i masspektrometern

d.v.s. introducerade molekyler fragmenteras inte. Fragmentering är mycket användbart när två molekyler med snarlik molekylvikt ska skiljas åt. Vid fragmentering fragmenteras molekyler från olika substanser oftast olika och kan på så sätt separeras. När det gäller transferrin är skillnaden mellan isoformerna i storleksordningen kDa. Dessutom är provet p.g.a. affinitetsuppreningen mycket rent. Fragmentering är således onödig.

Masspektrometern justeras att skanna lämpligt massområde, i vårt fall 2000-3000 Da. Hur går 2000-3000 ihop med transferrins massa på ca 79600 Da? Masspektrometrar fungerar enkelt beskrivet som ett eller flera massfilter framför en känslig men promiskuös detektor. Dessa massfilter baseras på både massa och laddning. Två partiklar i vakuum med samma "massa-till-laddnings"-förhållande rör sig i samma bana när de utsätts för samma elektromagnetiska fält. Masspektrometers utsignal ges alltså som massa över laddning, m/z . Oftast beror antalet laddningar i en molekyl på antalet protonerings- och deprotoneringsställen. Exempelvis ger en molekyl med laddningen plus ett, ett resultat med sin faktiska massa plus ett (protonvikten adderas). Transferrin har många fler laddningar per molekyl och dess m/z ratio blir således lägre än molekylvikten. Dessutom protoneras ett protein inte homogent, olika molekyler av samma protein protoneras olika mycket i det ordnade kaos

(Fortsætter side 45)



Figur 4. Exempel på resultat före och efter dekonvolution.

(Fortsat fra side 43)

som råder i joniseringskällan. Resultatet för proteiner blir en m/z-distribution som kan komma att behöva dekonvoleras d.v.s. signalen från ett proteins olika m/z-ratios adderas till en gemensam signal och massan kan avläsas, figur 4.

Labmedicin Skåne, klinisk kemi, Lund har satt upp ovan beskrivna analys av glykosyleringen på transferrin. Insamling av patientmaterial samt klinisk utvärdering hanteras av docent Erik Eklund på barn- och ungdomsmedicinska kliniken, Skånes universitetssjukhus. Han har forskat kring CDG sedan 2003 och driver fortsatt både klinisk och forskningsmässig verksamhet kring syndromen.

Ett stort tack till Klinisk Biokemi i Norden, Docent Erik Eklund, Doktor Kimiyo Raymond samt Coleman Turgeon.

Endnotes

- Jaeken J, Hennet T, Matthijs G, Freeze HH. CDG nomenclature: time for a change! *Biochim Biophys Acta* 2009;1792:825-6.
- Jaeken J. Congenital disorders of glycosylation (CDG): it's (nearly) all in it! *J Inherit Metab Dis* 2011;34:853-8.
- Jaeken J, Matthijs G. Congenital disorders of glycosylation. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001;2:129-51.
- Matthijs G, Schollen E, Bjursell C, Erlandson A, Freeze H et al. Mutations in PMM2 that cause congenital disorders of glycosylation, type Ia (CDG-Ia). *Hum Mutat* 2000;16:386-94.
- Eklund EA, Freeze HH. The congenital disorders of glycosylation: a multifaceted group of syndromes. *NeuroRx*. 2006;3:254-63.
- Stibler H, Allgulander C, Borg S, Kjellin KG. Abnormal microheterogeneity of transferrin in serum and cerebrospinal fluid in alcoholism. *Acta Med Scand*. 1978;204:49-56.
- Guillard M, Wada Y, Hansikova H, Yuasa I, Vesela K et al. Transferrin mutations at the glycosylation site complicate diagnosis of congenital disorders of glycosylation type I. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:901-6.
- Pronicka E, Adamowicz M, Kowalik A, Płoski R, Radomyska B et al. Elevated carbohydrate-deficient transferrin (CDT) and its normalization on dietary treatment as a useful biochemical test for hereditary fructose intolerance and galactosemia. *Pediatr Res* 2007;62:101-5.
- Wada Y, Nishikawa A, Okamoto N, Inui K, Tsukamoto H et al. Structure of serum transferrin in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189:832-6.
- Sturiale L, Barone R, Garozzo D. The impact of mass spectrometry in the diagnosis of congenital disorders of glycosylation. *J Inher Metab* 2011;34:891-9.
- Cohesive är numera uppköpt av Thermo.
- Lacey JM, Bergen R, Magera MJ, et al: Rapid determination of transferrin isoforms by immunoaffinity liquid chromatography and electrospray mass spectrometry. *Clin Chem* 2001;47:513-518.

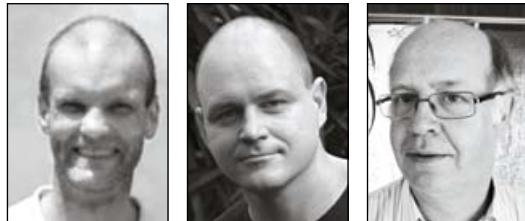


Foto: Henrik Alfthan

Hur fungerar NORIPs referensintervall för calcium mot våra patientresultat?

Peter Ridefelt, John Axelsson, Anders Larsson

Avdelningen för klinisk kemi, Akademiska sjukhuset, Uppsala



Provtagningen i samband med det nordiska referensintervallsprojektet (NORIP) var nog så optimal som man praktiskt kan göra den. Man hade välmotivrade försökspersoner som kom fastande, och man tog proverna på morgonen utan någon stas efter att försökspersonerna suttit ner och viltat före provtagningen. Den enda invändningen skulle kunna vara att provtagningen var för bra om vi jämför med den kliniska vardagen.

Många av våra patienter har värk, är oroliga eller sover dåligt. Sjukhusmiljön är ovan, och sängarna kanske inte i första hand byggda för bekvämlighet. Vi kan därför förvänta oss att en stor del av patienterna har haft störd nattsömn före provtagningstillfället. Många patienter har dessutom dåliga blodkärl, och det kan vara svårt att helt undvika stas. Patienterna kommer till mottagningar under hela dagen vilket gör att många prover inte tas som fastande morgonprov. Viloperioden före provtagning varierar i den kliniska vardagen och ofta kan den bli kortare än 15 minuter vilket medför att patienternas vätskeredistribution inte är i steady-state. Provtagningsbetingelserna för en patient med bröstmärter på akutmottagningen är vitt skilda från de betingelser som användes i NORIP. Provtagningen på vissa patienter är säkert lika bra som i NORIP men för andra patienter kan den vara betydligt sämre.

Ett exempel där provtagningsbetingelserna sanolikt har betydelse är calcium. På 1990-talet hade vi

ett referensintervall på 2,20-2,60 mmol/L i likhet med övriga laboratorier i Sverige. Det är oklart varifrån det referensintervallet kom, men det var inarbetat och fungerade som sanning i Sverige. Problemet uppstod när NORIP visade att referensintervallet var för högt. Det kalkylerade referensintervallet för calcium i NORIP blev 2,17-2,51 mmol/L (1). Dock antog de flesta svenska laboratorier det mer avrundade intervallet 2,15 – 2,50 när NORIP infördes (2). Denna nivåskillnad ledde till en hel del diskussioner, bland annat om det skulle kunna bero på en skillnad i provtagningsbetingelser. Stas ökar proteinkoncentrationen i plasma och när vi testat påverkan av kraftig stas på friska frivilliga så fick vi en ste groning som i medeltal var ca 0,2 mmol/L. Stas kan därför bidra till förhöjda calciumvärden.

En annan möjlig förklaring till nivåskillnader är provtagningstiden i de fall analyten uppväxlar en dygnsvariation. I NORIP togs 80% av proverna före kl 10:00 (3). Med tanke på provtagningstiden kan man misstänka att det var en relativt kort tid mellan uppvaknande och provtagning. Vi har nyligen studerat dygnsvariationen för calcium hos en grupp om sju friska män där man tog blodprov varje timme under ett dygn, dels i samband med normal nattsömn och dels i samband med att individerna sov under dagen för att efterlikna skiftarbete (4). Försökspersonerna fick också en kost som var standardiseras både med avseende på innehåll och tidpunkt. Blodproverna togs via ett venflon med slang och den som tog proverna befann sig i ett intilliggande rum för att inte störa försökspersonens sömn.

Resultat

En utsökning gjordes ur vårt LIS (Flexlab) efter P-calciumanalyser (Abbott Architect ci8200; Roche kresolftalein-reagens; Roche cfas kalibrator) tagna på patienter 18 år och äldre efter att NORIP infördes. Utsökningen omfattade perioden 1 nov 2005 till 22 oktober 2011, och genererade 302 478 resultat (Figur 1). Proverna

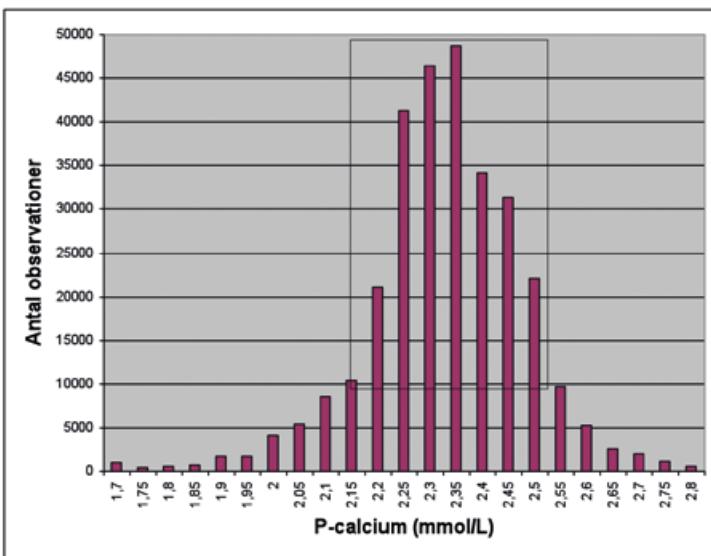


Fig 1. Fördelning av P-calciumresultat från LIS-utsökning av prover under perioden nov 2005 – okt 2011. Inlagd ruta motsvarar calciums referensintervall 2,15–2,50 mmol/L för vuxna.

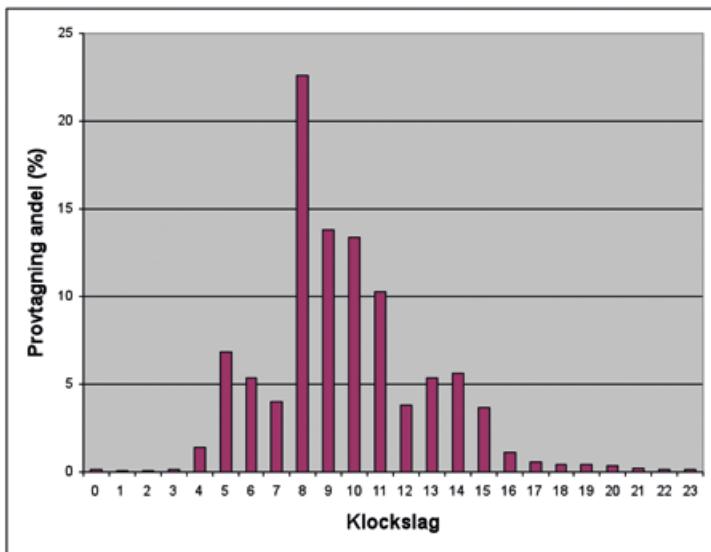


Fig 2. Fördelning av provtagningstid under dygnet för P-calcium

kommer huvudsakligen från Akademiska sjukhuset och Enköpings lasarett, samt primärvården i Uppsala län. Medianvärdet för calcium blev 2,310, och medelvärdet 2,328 mmol/L. Detta kan jämföras med mitten på NORIPs calcium-intervall; 2,325 mmol/L.

Prover för calcium tas hela dygnet, dock med en stark övervikts för morgon och förmiddag (Figur 2). Calcium uppvisar också en dygnsvariation (Figur 3). Med normal (natt) sömn fick man en dal i calciumvärdet kring 08.00 med en snabb ökning under de närmaste timmarna efteråt. Lägsta punkten var ca en

timme efter att försökspersonerna vaknat. För personer med störd nattsömn (sov på dagen) så var dalen i calciumvärdet runt uppvaknandet men den var inte lika uttalad. Ingen tydlig påverkan av mat sågs upp till fyra timmar efter födointag.

Diskussion

NORIPs referensintervall för calcium på 2,15–2,50 mmol/L har en mycket stark dokumentation bakom sig,

(Fortsätter side 48)

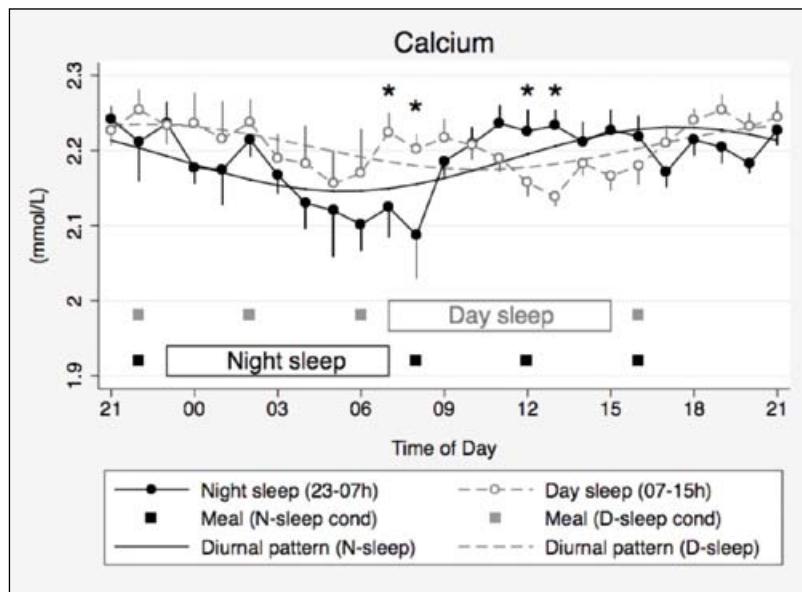


Fig 3. Calcium-värden vid provtagning under 24 h på 7 st friska försökspersoner med normal nattsömn eller sömn under dagtid.

(Fortsat från sida 47)

och förefaller fungera väl mot vår patientpopulation. Däremot kan det på patientnivå troligen finnas skäl att en del lätt förhöjda calciumvärden först föranleder fornyad provtagning innan en större utredning initieras, t ex vid misstanke om primär hyperparathyreoidism.

Stas vid provtagning kan vara en faktor som ger förhöjda calciumhalter. I vardagsjukvården tas huvuddelen av de patientprover som skickas till vårt laboratorium på morgon och förmiddag, vilket sammanfaller med tidpunkterna när de flesta av proverna på försökspersonerna i NORIP togs, vilket kan vara en delförklaring till den goda överrensstämmelsen mellan NORIP och våra patientresultat. Dock tas calciumprover även under övriga delar av dygnet. Så vitt vi känner till så är det inga laboratorier som har några tidsrestriktioner vad gäller calcium. I vår studie på friska försökspersoner fanns en dygnsvariation, och den maximala skillnaden mellan längsta och högsta calciumvärden under dygnet var ca 0,1 mmol/L. Skillnaden kl 08.00 efter nattsömn respektive dagsömn var också ca 0,1 mmol/L. Skall man tillåta provtagning under hela dygnet så bör man ta med dygnsvariationen då man tolkar provresultat eller bestämmer medicinska beslutsgränser, och acceptera högre värden under andra tider på dygnet än morgonen. Det är också möjligt att en del av våra patienter har störd nattsömn, vilket också skulle motivera en

något högre beslutsgräns. Sett till påverkan av stas, dygnsvariation och störd nattsömn kan en medicinsk beslutsgräns något högre än 2,50 mmol/L vara rimlig.

Referenser

- Rustad P, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A, Mårtensson A, et al. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. Scand J Clin Lab Invest 2004;64:271-84.
- Simonsson P, Mårtensson A, Rustad P. Nya gemensamma nordiska referensintervall inom klinisk kemi. Bättre bas för klinisk bedömning och samarbete. Läkartidningen 2004;10:901-5.
- Felding P, Rustad P, Mårtensson A, Kairisto V, Franzson L, Hyltoft Petersen P, Uldall A: Reference individuals, blood collection, treatment of samples and descriptive data from the questionnaire in the Nordic Reference Interval Project 2000. Scand J Clin Lab Invest 2004;64:327-42.
- Ridefelt P, Axelsson J, Larsson A. Diurnal variability of calcium during normal sleep and after an acute shift of sleep. Clin Chem Lab Med 2011 Sep 29. [Epub ahead of print].



Name: Paul R.

Job: Haematologist, Lab Manager

Mission: Pioneer

Name: XN-9000

Job: Efficient Analysis

Mission: Pathfinder



XN ÄR SYSTEMET FÖR DIG ...

när pålitliga hematologiresultat räknas. När ett effektivt arbetssätt är viktigt. Då förmågan att vara förberedd på framtidens behov gör ditt laboratorium framgångsrikt ... VARJE DAG

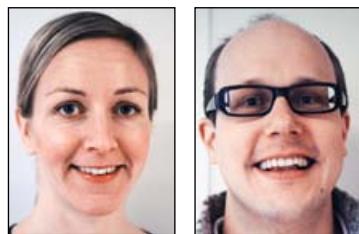
GIVING EVERYTHING. EVERY DAY.

Klinisk användning av serum Anti-Müllerskt Hormon (AMH): Från reproduktion till granulosacelltumörer

Anniina Färkkilä och Mikko Anttonen

Institutionen för Obstetrik och Gynekologi, och Barnsjukhuset

Helsingfors Universitet och Helsingfors Universitetssjukhus

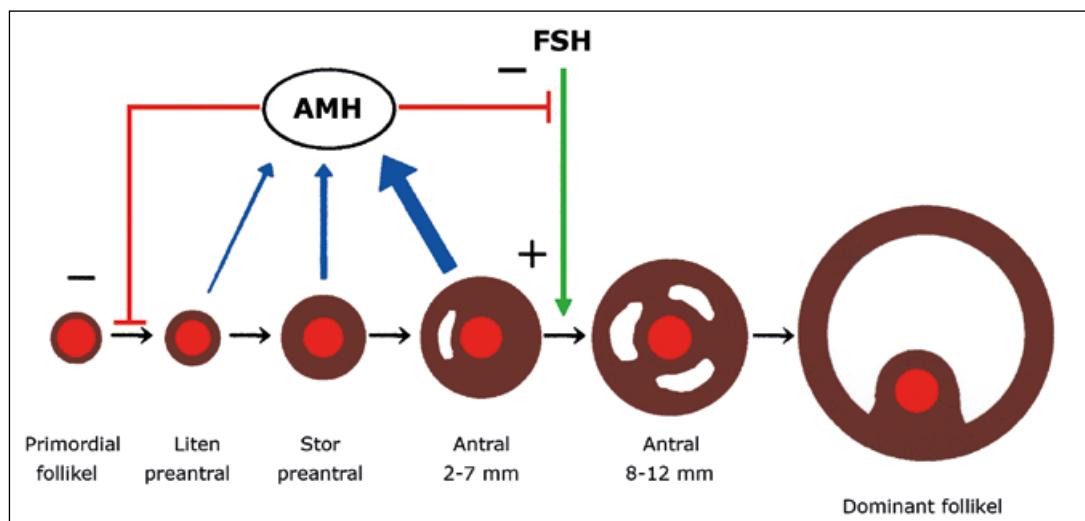


Anti-Müllerskt hormon (AMH), även känd som Müllerska hämmande substansen eller faktorn (*Müllerian Inhibiting Substance/Factor MIS/MIF*) är ett 140 kD dimert glykoprotein som tillhör den stora TGF- β tillväxtfaktorfamiljen. AMH är känd för sin roll i sexuell differentiering; hormonet föranleder embryonal regression av de Müllerska gångarna, föregångare till

livmoder, äggledare och övre vagina (1). AMH utövar sin biologiska effekt genom en transmembranös serin / treoninkinas typ II receptor som är särskilt uttryckt i könskörtlarna och i mesenkymala celler intill Müllerska gångarna. Hos de manliga producerar Sertolicellerna AMH under fosterutvecklingen och testiklarna fortsätter syntesen under hela livet vilket i sin tur reglerar Leydigcellernas steroidogenes (2).

Hos kvinnor reglerar AMH producerat av granulosacellerna follikelutveckling genom att hämma den första rekryteringen av primordiala folliklar samt de små antrala folliklarnas känslighet för FSH (3) (Figur 1). AMH:s funktion i den vuxna äggstocken är auto-

(Fortsätter side 52)



Figur 1. AMH:s roll i den postnatale äggstocken. Oocyterna visas i rött, granulosacellagen i brunt och follikelvätskan i vitt. AMH produceras främst från de små antrala folliklarna, den primära källan för AMH i serum (blå pilar). AMH hämmar (röda linjer) den inledande rekryteringen och cykliska rekryteringen (grön pil).

Modifierad från Broekmans et al. i Trends in Endocrinology and Metabolism (8)

TAKE THE NEXT STEP IN PEANUT ALLERGY MANAGEMENT



Better allergy definition for improved quality of life

With ImmunoCAP® Molecular Allergology, you can take the diagnosis and management of peanut allergy to a whole new level. Unlike traditional testing, the technology uses single allergen components to quantitatively detect IgE antibodies – a level of insight previously unimaginable. A single blood sample enables a measurement of all

available ImmunoCAP® peanut components, giving you a complete risk assessment. ImmunoCAP® Allergen Components help you differentiate between “true” allergies and symptoms due to cross-reactivity, evaluate the risk of severe reactions and define the optimal treatment. Benefits that ultimately can help improve the patient’s quality of life.

To learn more about the advancements we’re making in allergy and autoimmunity testing, contact your local Phadia (now Thermo Fisher Scientific) representative or visit www.thermoscientific.com/phadia



www.thermoscientific.com/phadia



(Fortsat fra side 50)

krin och parakrin, men frisättningen av AMH från granulosaceller leder till mätbara serumnivåer som är proportionella till antalet folliklar som mognar i äggstockarna.

I de fetala och postnataла äggstockarna är AMH-nivåerna nästan omätabla, men vid puberteten stiger AMH:s serumkoncentrationer markant och når nivåer som liknar de hos manliga. Hos kvinnan förblir AMH-nivåerna i serum stabila under menstruationscykeln (4) och även under olika influenser av exogena hormoner (preventivmedel, FSH, GnRH-a), samt

Tabell 1. Kliniska och histologiska detaljer hos 106 granulosacelltumörer av vuxentyp (modifierad från Färkkilä et al (1)).

Medelålder, år (range)		51.5 (19-97)
MP status	Pre MP	46 (43%)
	Post MP	60 (57%)
Stage	Stage I	91 (88%)
	Ia	64 (70%)
	Ib	1 (1%)
	Ic	26 (29%)
	Stage II	8 (8%)
	Stage III	4 (4%)
Tumörstorlek	<10cm	60 (58%)
	>10cm	44 (42%)
Tumör subtyp	Differentierad	69 (65%)
	Sarcomatoid	37 (35%)
Nuclear atypia	Hög	25 (24%)
	Låg	81 (76%)
Mitotiskt index	Hög	30 (28%)
	Låg	76 (72%)
Återfall	Ja	74 (70%)
	Nej	32 (30%)
Mean time to 1.st recurrence (range)		8.3 (2.6-18.3)
Mean follow up time, years (range)		13.7 (0.1-37.8)

Färkkilä A, Anttonen M, Pociuviene J et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 are highly expressed in ovarian granulosa cell tumors. *Eur J Endocrinol* 2011;164:115-122.

under graviditeten. Med åldern avtar AMH-koncentrationerna gradvis och sjunker till omätbara nivåer i klimakteriet (5).

Den senaste tidens utveckling av mycket känsliga, standardiserade ELISA-metoder för att kvantitera AMH i serum har väckt intresse för kliniska tillämpningar (4).

Serum AMH i äggstocksrubbningar

På grund av expression av AMH i de små antrala folliklarna korrelerar AMH-nivån i serum med antalet ovariefolliklar och verkar återspeglar äggstocksfolikelpoolens både antal och kvalitet (6). Serum AMH nivåerna föregår andra hormonella markörer för klimakteriet (3), och har visat sig kunna fastställa omfattningen av äggstockarnas skador orsakade av kemoterapi, kirurgi och till och med endometrios (7). Serum AMH är därför en unik markör för utvärderingen av äggstockarnas funktion, framförallt med tanke på den reproduktiva kapaciteten (översikt i (8)).

I polycystiskt ovariesyndrom (PCOS) är serum AMH 2-3 gånger förhöjd (9) och minskar under metformin-behandling (10). AMH-mätningar i serum kan därmed bistå vid primär diagnos och i uppföljningen av behandlingssvar hos PCOS kvinnor.

Vid in vitro fertilisering (IVF) har bestämning av basalt serum AMH visat sig vara den bästa enskilda markören för att förutsäga ovariernas respons på gonadotropin-stimulering (11). Låga AMH-nivåer innan stimuleringen förutspår lågt antal oocytes och förhöjt basalt AMH kan identifiera kvinnor som riskerar överstimulering (12).

Hos kvinnor är de flesta kliniska tillämpningarna av serum AMH i samband med cancer eller reproduktiva funktioner, men nyttan av serum AMH i männens reproduction har inte kunna påvisas (13). På grund av att testiklarna uttrycker AMH före puberteten kan bestämning av serum AMH-nivåerna vara till hjälp i bedömningen av kryptorkidism eller intersexuella tillstånd (14).

Serum AMH i granulosacelltumörer

Granulosacelltumörer (GCT) är en sällsynt underotyp av äggstockscancer, som utgör 3-5% av alla äggstocksmaligniteter (15). GCT förekommer mera sällsynt hos unga men oftare hos vuxna med en incidens på 0,4-1,7 fall per 100 000. Kliniska och histologiska egenskaper hos vuxna GCT-patienter är listade i Tabell 1. Nyligen har en enda punktmutation i FOXL2 trans-

kriptionsfaktorn identifierats hos de allra flesta vuxna GCT-patienter (16, 17), men mutationens funktionella roll är fortfarande okänd. GCT presenterar sig ofta i ett tidigt stadium i samband med indolent prognos med en 5 - års överlevnadsprognos på över 90%. GCT har dock en hög risk för återfall (upp till 30%), vilket föranleder hög dödlighet. Vanligtvis inträffar återfall 4-6 år efter primärtumören, men mycket sena återfall, ända upp till 40 år, är inte ovanliga. Bara det inledande skedet betraktas som en solid prognostisk faktor och förutsägelse av återfall är svår. Tidig upptäckt och fullständig resektion av tumören är helt avgörande i behandlingen av GCT-patienter med återfall.

Serum Inhibin B har traditionellt använts för uppföljning av GCT-patienterna, men den har vissa begränsningar. Inhibin B kan vara förhöjt även i andra äggstockstumörer, och Inhibin B-nivån varierar under menstruationscykeln vilket leder till falskt positiva resultat hos premenopausala kvinnor. Vidare bör beaktas att normala Inhibin B-nivåer inte utesluter malmöligitet i äggstockarna (18).

GCT uttrycker AMH och det finns en växande mängd resultat som tyder på att AMH är en pålitlig serummarkör för GCT (19, 20). Genom stabilitet under menstruationscykeln och omätbara nivåer efter klimakteriet är AMH en lovande kandidat för att användas vid uppföljning av GCT-patienter. Den kliniska användningen av AMH har hittills hämmts av att det saknas studier som beskriver AMH i ett större antal GCT-patienter med de nuvarande känsliga ELISA-metoderna, vilka numera också innehåller normala referensvärdet (21).

Slutsatser

Serum AMH har flera lovande kliniska tillämpningar, och med ökad kunskap från känsliga och tillförlitliga metoder kommer AMH troligtvis att ändra klinisk praxis för uppföljning av GCT-patienter och fokusera på individualiserad assisterad befruktning.

(Fortsätter side 54)



Foto: Henrik Alfthan

Referenser

- Lee MM, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions. *Endocr Rev* 1993;14:152-64.
- Josso N, Picard JY, Rey R, et al. Testicular anti-Mullerian hormone: history, genetics, regulation and clinical applications. *Pediatr Endocrinol Rev* 2006;3:347-58.
- Visser JA, de Jong FH, Laven JS, et al. Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006;131:1-9.
- Streuli I, Fraisse T, Chapron C, et al. Clinical uses of anti-Mullerian hormone assays: pitfalls and promises. *Fertil Steril* 2009;91:226-30.
- van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, et al. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005;83:979-87.
- Silberstein T, MacLaughlin DT, Shai I, et al. Mullerian inhibiting substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology. *Hum Reprod* 2006;21:159-63.
- Lie Fong S, Laven JS, Hakvoort-Cammel FG, et al. Assessment of ovarian reserve in adult childhood cancer survivors using anti-Mullerian hormone. *Hum Reprod* 2009;24:982-90.
- Broekmans FJ, Visser JA, Laven JS, et al. Anti-Mullerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends Endocrinol Metab* 2008;19:340-7.
- Pigny P, Merlen E, Robert Y, et al. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5957-62.
- Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005;20:1820-6.
- Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, et al. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? *BJOG* 2004;111:1248-53.
- Nakhuda GS, Chu MC, Wang JG, et al. Elevated serum mullerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2006;85:1541-3.
- Isikoglu M, Ozgur K, Oehninger S, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels do not predict the efficiency of testicular sperm retrieval in men with non-obstructive azoospermia. *Gynecol Endocrinol* 2006;22:256-60.
- Lee MM, Misra M, Donahoe PK, et al. MIS/AMH in the assessment of cryptorchidism and intersex conditions. *Mol Cell Endocrinol* 2003;211:91-8.
- Schumer ST, Cannistra SA. Granulosa cell tumor of the ovary. *J Clin Oncol* 2003;21:1180-9.
- Jamieson S, Butzow R, Andersson N, et al. The FOXL2 C134W mutation is characteristic of adult granulosa cell tumors of the ovary. *Mod Pathol* 2010.
- Shah SP, Kobel M, Senz J, et al. Mutation of FOXL2 in granulosa-cell tumors of the ovary. *N Engl J Med* 2009;360:2719-29.
- Mom CH, Engelen MJ, Willemse PH, et al. Granulosa cell tumors of the ovary: the clinical value of serum inhibin A and B levels in a large single center cohort. *Gynecol Oncol* 2007;105:365-72.
- Long WQ, Ranchin V, Pautier P, et al. Detection of minimal levels of serum anti-Mullerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:540-4.
- Rey R, Sabourin JC, Venara M, et al. Anti-Mullerian hormone is a specific marker of sertoli- and granulosa-cell origin in gonadal tumors. *Hum Pathol* 2000;31:1202-8.
- Streuli I, Fraisse T, Pillet C, et al. Serum antimullerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril* 2008;90:395-400.

Redaktionskomitéen for Klinisk Biokemi i Norden:

Hovedredaktør: Per Simonsson · Tryk: Clausen Offset

Danmark

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

Island

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

Finland

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

Sverige

Docent Per Simonsson
Klinisk kemi
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
Hospital Hringbraut
IS-101 Reykjavík
Telefon: +354 543 5033
Telefax: +354 543 5539
E-mail: ingunnth@landspitali.is

Norge

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

Sverige

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



Til manuskriptforfattere

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

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

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

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

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

Klinisk Biokemi i Nordens redaktion 2011

Linda Hilsted, Kristin Aakre, Per Simonsson,
Palle Wang, Henrik Alftan, 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 vitenskabelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJCLI), har ansvar for utgivelse av Klinisk Biokemi i Norden, og står bak arrangering av de nordiske kongresser i klinisk kjemi.

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

Ordførande: Ingunn Þorsteinsdóttir. Sekretær: Tuula Metso.

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