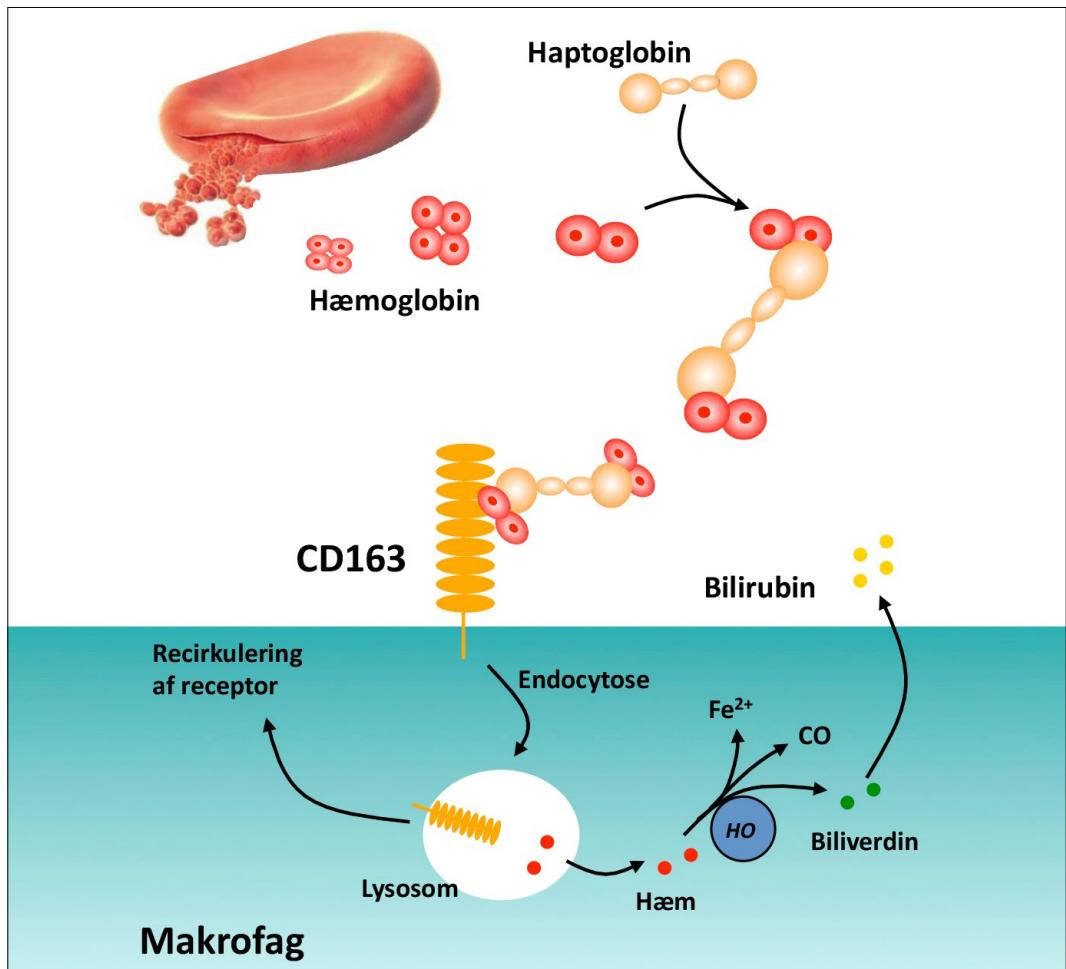


Klinisk Biokemi i Norden

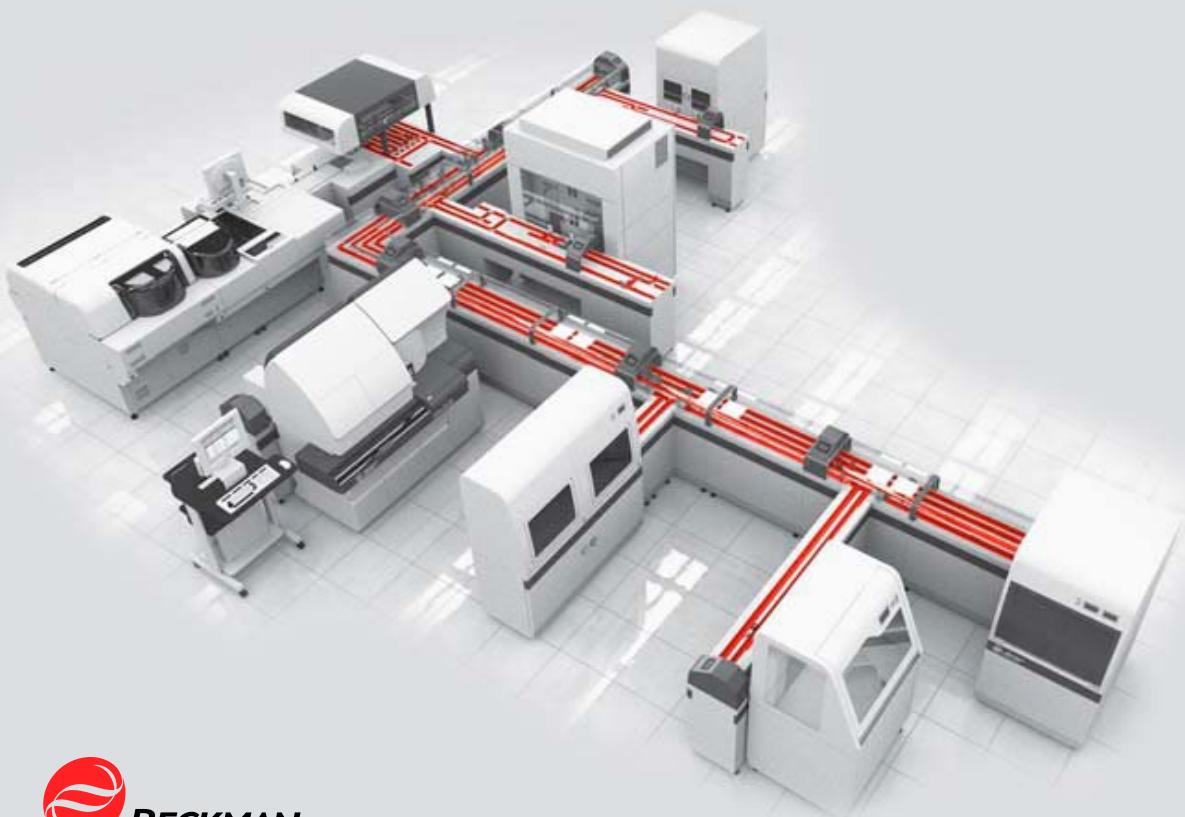


POWER EXPRESS

INTELLIGENT* LAB AUTOMATION
THE WAY IT'S SUPPOSED TO BE

LAB FORWARD ➤

- Open automation; third-party connection capabilities
- Balanced throughput up to 1200 tubes/hour, no bottlenecks
- FDA approved



* Optimal TAT is always achieved through realtime communication of instrument status and sample load between all connected instruments and the automation.

Power Express, intelligent total lab automation for high-speed routing of primary tubes to connected analyzers, sample preparation, creation of secondary tubes, recapping and compact tube storage (stockyard). It is a modular and scalable solution suitable for all types of laboratories. Carefully read the user manual for further information and instructions. Manufacturer: Beckman Coulter. Accordance with Directive 97/79 / EC – 08-2013 – notified body NSAI Ref: 052015-03

INDHOLD

Ordförandespalt	4
<i>Yngve Thomas Bliksrud</i>	
The first Nordic Course in Specialist training	6
<i>Nete Hornung</i>	
"The Arctic Experience 2016" Course in Scientific Writing and Publishing	9
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
XXXV Nordic Congress in Clinical Chemistry, June 14-17th 2016, Odense, Denmark	10
<i>Ivan Brandslund</i>	
New Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild and moderate head injuries in adults – implications for clinical laboratories	12
<i>Knut Wester, Kristin Lilleholt, Linda Hilsted, Anders Larsson, Johan Undén.</i>	
Makrofagens hæmoglobin-receptor (CD163) - en åben dør for diagnostik og behandling	16
<i>Holger Jon Møller</i>	
Eldjarn-prisen 2014	22
<i>Jens Petter Berg</i>	
ASTRUP-pris konkurrencen 2014	24
<i>Lars Melholt Rasmussen</i>	
Preeklampsi – ett komplext sjukdomspanorama	26
<i>Katja Murtoniemi, Pia M Villa, Hannele Laivuori</i>	
Alderskontinuerlige referansegrenser	32
<i>Yngve Th. Bliksrud, Lars Mørkrid</i>	
Vitamin K-beroende Protein C – ännu något konstigt	34
<i>Johan Stenflo</i>	
Avhandling: Improving venous blood sampling practices	42
<i>Karin Bölenius</i>	
Disputats – Apolipoprotein M: impact on lipoprotein metabolism and vascular function.....	48
<i>Christina Christoferssen</i>	
Tor-Arne Hagve och Jens Petter Berg (red.) Klinisk Biokemi og Fysiologi, 5. Utgave, Gyldendal Akademisk, 2015	50
<i>Elvar Theodórsson</i>	
Jørgen Lyngbye. Student og ung læge i efterkrigstid. Barn med en psykopat	54
<i>Ebba Nexo</i>	
Den vandrande vetenskapsmannen: Vi talar alla euroengelska	55
<i>Per Simonsson</i>	
Asparges!	56
<i>Palle Wang</i>	
Litteraturhänvisningar	58
Info om NFKK och redaktion	59

Omslagsbild: Figuren viser hvordan Makrofag-receptoren CD163 binder og endocytterer haptoglobin-hæmoglobin komplexer. Hæm nedbrydes af Hæm-oxygenase (HO), hvorefter bilirubin friges til plasma. Derfor falder koncentrationen af haptoglobin (og bilirubin stiger) under hæmolyse, såfremt CD163 funktionen er intakt. Se Holger Jon Möllers artikel s. 16.

Ordförandespalt

Yngve Thomas Bliksrud



Vårt forrige styremøte i NFKK fant sted i Uppsala. Det er en vakker by og inspirerende med sin meget stolte akademiske tradisjon. Alle vet at Carl von Linné (1707 - 1778) virket der. Han var både lege, zoolog og botaniker, og er som vitenskapsmann blant Nordens aller største gjennom tidene. I følge Store norske leksikon hadde han størst betydning som systematiker. "Han klargjorde artsbegreper og ryddet opp i tidligere varieteter og former", kan man lese der. Systematikk og klarhet er et mål for en hver forsker, og det er en absolutt nødvendighet i vårt daglige strev i gjennomkrediterte sykehuslaboratorier. Opprydning i varieteter kan alle trenge iblant. En annen meget stor sønn av Uppsala er Anders Celsius (1701 - 1744), mannen som etablerte en hundredelt temperaturskala mellom vannets fryse- og kokepunkt. Vi forholder oss til ham hver eneste dag; er det noe vi må ha kontroll over i laboratoriet, så er det temperaturen.

Så passet det også bra at et sentralt punkt på møteagendaen handlet om en defekt fryser. En fraksjon av et viktig referanse materiale (serum-x) som DEKS disponerer og bruker i ekstern kvalitetskontroll, trenger sårt en ny fryser som må holde imponerende -150° C. Styret løste saken elegant i Celsius' egen by. Felles referansegrenser i Norden NORIP er jo for øvrig et godt eksempel på et tidligere meget vellykket nordisk samarbeid. Kanskje kan samarbeidet om referansegrenser fornyes? Se en bitteliten tekst i dette nummer av KBN om kontinuerlige referansegrenser.

Et annet viktig vedtak fra møtet i Uppsala var nok en gang å støtte det vitenskapelige skrivekurset i regi av professor Tor-Arne Hagve og SJCLI: "the Arctic Experience 2016." Course in Scientific Writing and Publishing". Det neste kurset finner sted 26. - 29. januar 2016 og er som vanlig høyt til fjells, nærmere bestemt Finse i Norge. Tidligere kurs har fått meget god kritikk. I samme åndedrag må jeg også denne gang minne om "The Nordic Course in Specialist Training", 1. - 3. september, 2015 i Charlottenlund i Danmark. Med dette har NFKK nådd to viktige mål:

felles nordiske kurs for de unge og lovende blant oss som kvalifiserer til henholdsvis graden philosophiae doctor og spesialiteten klinisk kjemi/medisinsk biokjemi. Faglig utbytte er garantert! Angående det sosiale tror jeg vi kan "sitere" dagens tredje store svenske fra 1700-tallet Carl Michael Bellman (1740 - 1795): "korken ur butelen! - Kliniske kemister (i likhet med Movitz) kastar hatten och perukanen i böljorna (det vil si Skagerrak eller Finsevatnet), og dricker hela världens (kanskje særlig Nordens) skål!"

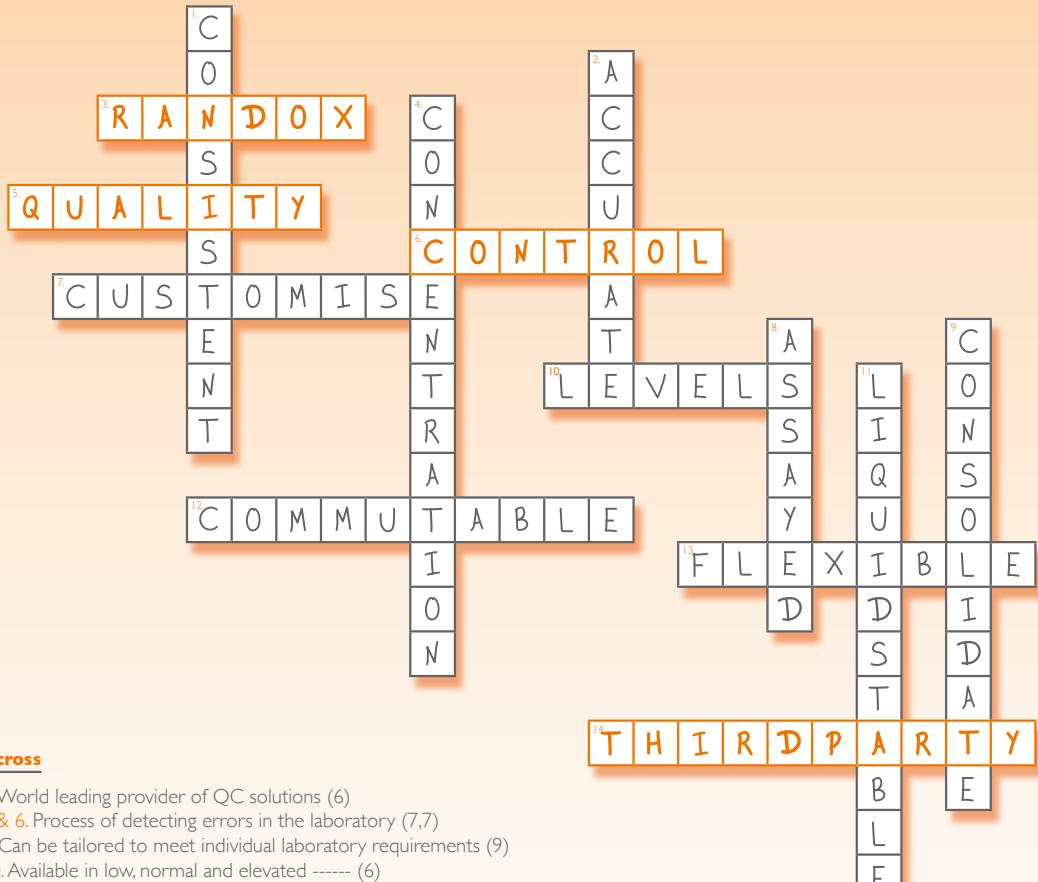


Larv till större snabelsvärmare (*Deilephila elpenor*) på mjölkört (*Epilobium angustifolium*). Foto: Henrik Alftan.

RANDOX

QUALITY CONTROL

Complete **QC** solutions for results you can **trust**



Across

3. World leading provider of QC solutions (6)
- 5 & 6. Process of detecting errors in the laboratory (7,7)
7. Can be tailored to meet individual laboratory requirements (9)
10. Available in low, normal and elevated ----- (6)
12. Reacts in the same manner as a patient sample, recommended by ISO 15189 (10)
13. Choice of liquid, lyophilised, assayed and unassayed controls designed to suit all lab sizes (8)
14. Designed to provide an independent, unbiased assessment of performance (10)

Down

1. Stability claims and analyte levels will not differ from lot to lot (10)
2. Target values based on results from thousands of independent laboratories (8)
4. Analytes present at clinically significant levels ensuring accuracy across the complete ----- range (13)
9. Reduce the need for multiple controls with our unique combination of analytes (11)
8. Designed to measure accuracy and reproducibility (7)
11. Ready to use samples requiring no preparation (6,6)

ACUSERA

Randox Laboratories Limited

+44 (0) 28 9442 2413 +44 (0) 28 9445 2912

marketing@randox.com www.randoxqc.com

find out more



The 1st Nordic Course in specialist training 2015 arranged by NFKK:

The Professional Role of a Clinical Biochemist/ Laboratory Doctor

September 1st - 3rd, 2015, Charlottenlund, Denmark



Nete Hornung

Programme

September 1st, 8.00 am

Hematology

Arranged by Kristin Lilleholt, Norway

8.00 – 9.40 Break included	Routine hematology instruments The interpretation and usefulness of “flags”	Tor-Arne Hagve, MD, PhD, Akershus University Hospital, Norway
9.50 – 10.35	Laboratory hematology in relationship to clinical hematology The role of the clinical biochemist	Helle Borgstrøm Hager, MD Central laboratory, Vestfold Hospital, Norway
10.50 - 12.30 Break included	Leukemia research	Satu Mustjoki, MD, PhD, Hematology Research Unit Dept. of Medicine, University of Helsinki and Helsinki University Central Hospital, Finland
12.30 – 13.15	Lunch	
13.15 – 14.00	Research parameters in red blood cells and thrombocytes – potential diagnostic usefulness	Anne Mette Hvas, MD, PhD, Centre for Haemophilia and Thrombosis Aarhus University Hospital, Denmark

Goldmining in Clinical Biochemistry

Arranged by Holger Jon Møller, Denmark

14.15 – 15.00	Goldmining the basics: Reference ranges, pre-analytical factors	Mads Nybo, MD, Ph.D Dept. of Clinical Biochemistry and Pharmacology, Odense Univ. Hospital, Denmark
15.00 – 15.30	Coffee	
15.30 – 16.15	Goldmining the quality	Gunnar Nordin, MD, Equalis, Uppsala, Sweden
16.30 – 17.15	Goldmining the laboratory informatic systems	Johan Frederik Berg Arendt, PhD student Dept. of Clinical Biochemistry, Aarhus Univ. Hospital, Denmark

September 2nd, 8.00 am

Goldmining in Clinical Biochemistry - continued

8.00 – 8.45	Goldmining a new biomarker	Holger Jon Møller, MD, PhD, DMSc Dept. of Clinical Biochemistry, Aarhus Univ. Hospital, Denmark
8.55 – 9.40	Goldmining biobanks – The Copenhagen General Population Study and the Copenhagen City Heart Study	Ruth Frikke-Schmidt, MD, PhD, DMSc Dept. of Clinical Biochemistry Rigshospitalet, Denmark
9.50 – 10.35	Goldmining the “omics” for biomarker discovery	Niels H. H. Heegaard, MD, DMSc Dept. of Autoimmunology and Biomarkers, Statens Serum Institut, Denmark

P4 molecular medicine, genomics / metabolomics approaching the clinical laboratory

Arranged by Kristina Hotakainen, Finland

10.50 – 12.30 Break included	Personalized and precision health care: impact on laboratory medicine	Olli Kallioniemi, MD, PhD, Institute for Molecular Medicine Finland FIMM, University of Helsinki, Finland
12.30 – 13.15	Lunch	
13.15 – 14.55 Break included	Next-gen sequencing for genomics, transcriptomics and epigenomics: future technology trends with impact on diagnostics	Janna Saarela, MD, PhD, Institute for Molecular Medicine Finland FIMM, University of Helsinki, Finland
14.55 – 15.20	Coffee	
15.20 – 17.00 Break included	Precision Medicine based on genomic insight, examples from cancer, cardiology and endocrinology	Torben Falck Ørntoft, MD, DMSc MOMA - Dept. of Molecular Medicine, Aarhus University Hospital, Denmark

September 3rd, 8.00 am

Communication, dialogue, teaching, leadership

Arranged by Mattias Aldrimer, Sweden

8.00 – 8.45	Communication for Clinical Biochemists	Per Simonsson, MD, PhD Siemens Healthcare Diagnostics AB, Sweden
9.00 – 10.40 Break included	Leadership and communication in a dynamic organization	Anna-Marie Münster, MD, PhD Dept. of Clinical Biochemistry, Hospitalsenheden Vest, Denmark
10.55 – 12.30 Break included	The leadership in a Laboratory Centre	Ivan Brænslund, MD, DMSc Laboratory Centre University of Southern Denmark & Lillebaelt Hospital, Vejle, Denmark



12.30 – 13.00	Lunch	
13.00 – 13.45 Group-work	The role of the physician in laboratory medicine: a European perspective (Misbah SA, et al. J Clin Pathol 2013;66:432–437)	Moderator: Per Simonsson, Mattias Aldrimer, Sweden and Nete Hornung, Denmark
13.45 – 15.00	Why did I choose clinical biochemistry and where am I in 5 years?	All participants (2 - 3 minutes each)

The course is chaired by

Nete Hornung, MD, PhD (Denmark)
Mattias Aldrimer, MD (Sweden)

Practical information

Dates

September 1st - 3rd, 2015

The Vilvorde Kursuscenter is booked from August 31rst.

Signing up

Send your name, address, your current occupation and affiliation by mail to Anne Sofie Laulund, assistant secretary in Danish Society for Clinical Biochemistry dskbiokemi@gmail.com

Deadline for registration is June 1st, 2015

Location

Vilvorde Kursuscenter
Vilvordevej 70
2920 Charlottenlund
Denmark



Costs

Dkr 6.000,- including three nights at Vilvorde Kursuscenter, breakfast and lunch (3000 Dkr course fee and 3000 Dkr for accommodation). Travel-expenses and evening meals are **not** included.

When you sign up - please indicate if you do not need accommodation for all 3 nights

Contact information

General questions regarding the course:
Nete Hornung, netehorn@rm.dk

Practical matters

Anne Sofie Laulund,
dskbiokemi@gmail.com

Regarding the sessions

Kristin Lilleholt,
e-mail: kristin.lilleholt@sshf.no

Holger Jon Møller,
e-mail: holgmoel@rm.dk

Kristina Hotakainen,
e-mail: kristina.hotakainen@helsinki.fi

Mattias Aldrimer,
e-mail: mattias.aldrimer@ltdalarna.se



"The Arctic Experience 2016"

Course in Scientific Writing and Publishing

Tor-Arne Hagve

January 26-29th, 2016

Finse, Norway



Preliminary Announcement

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

The aim of the course is to increase the awareness of the importance of scientific writing, and to train the participants in writing a scientific manuscript. The course will be organized in both structured lectures and in groups writing a scientific manuscript based on given data and literature.

Finse is located at the southernmost part of Europe with an arctic climate at 1222 meter above sea level and only accessible by train, from either Bergen or Oslo (www.finse1222.no and www.finse.com). This remote location has been selected in order to find the

necessary calm and tranquility for maximal focus on the activities during the course as well as for team-building and network forming.

The course is open for Nordic colleagues within the field of medical biochemistry/clinical biochemistry/ clinical chemistry, primarily for those in postgraduate specialist training and/or involved in research projects. The maximum numbers of participants is 20. The official language is English or a language understandable for all participants.

The previous courses have been described in Klinisk Biokemi i Norden (www.nfkk.org) issues 2/2008, 2/2010/ 2/2012 and 3/2013.

Information concerning registration, participation fee, literature, travel etc. will be announced in the next issue (3/2015) of Klinisk Biokemi i Norden.

Contact: Tor-Arne Hagve, tor.arne.hagve@ahus.no (Unit of Medical Biochemistry, Akershus University Hospital, 1478 Lørenskog). Phone +47-90510956.



Foto: Ingrid Marie Hardang

XXXV Nordic Congress in Clinical Chemistry

June 14-17th 2016, Odense, Region of Southern Denmark

Ivan Brandslund

ivan.brandslund@rsyd.dk



Rammerne for mødet er ved at være på plads, ligesom de enkelte sessioners emner foreligger i udkast.

Denne opfordring er således sidste chance for at melde forslag ind om emner og foredragsholdere til kongressen.

Eventuelle forslag og input, også til andre aspekter end de videnskabelige foredrag, kan sendes til *ivan.brandslund@rsyd.dk* og *lars.melholt.rasmussen@rsyd.dk*.

Vi skal også gøre opmærksom på, at der afholdes Dansk Kongres i Klinisk Biokemi i 2015 i Munke-

bjerg, Vejle, fra den 27.-29. maj. Program kan ses på www.dskbkongres2015.dk.

Ved denne kongres prøvekøres en mulighed for firmaerne for på deres stande første aften at holde en serie foredrag à cirka 20 minutter for alle deltagerne. Hvis det bliver en succes, vil vi gerne gentage dette ved den nordiske kongres.

Firmaer, der ønsker at udstille eller sponsorere, kan allerede nu henvende sig med ønsker eller forslag. Ved en senere lejlighed arrangeres et informationsmøde med redegørelse for faciliteter og muligheder på Hotel H.C. Andersen, hvor den nordiske kongres vil finde sted.



Odense Åfart.

Specialty Automated Menu

Autoimmune

ANA Screen
ENA Screen
dsDNA IgG
SS-A/Ro
SS-B/La
Sm
U1-snRNP
Scl-70
Jo-1
Cenromere B
CCP
Deamidated Gliadin IgA
Deamidated Gliadin IgG
t-TG IgA
t-TG IgG
Cardiolipin IgG
Cardiolipin IgM
 β 2-Glycoprotein I IgG
 β 2-Glycoprotein I IgM
MPO
PR3
GBM

Hypertension

Aldosterone

Renin

Immunodiagnostic Systems Nordi a/s (IDS Nordic)
International House, Center Boulevard 5, 2300 København S, DK
Tel: + 45 44 84 0091 Email: info.nordic@idsplc.com
Homepage: www.idsplc.com

* Under Development.

* Ostase is a registered trademark of Hybritech Incorporated, a subsidiary of Beckman Coulter. Inc.

Calciotropic Hormones

25-Hydroxy Vitamin D
1,25-Dihydroxy Vitamin D
Intact PTH
Bioactive PTH (1-34)

Bone Turnover

Intact PINP
N-MID® Osteocalcin
Ostase®+ BAP
CTX-I (CrossLaps®)
TRAcP 5b*(BoneTRAP®)

Growth Disorders

hGH
IGF-I
IGFBP-3



New Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild and moderate head injuries in adults – implications for clinical laboratories

Knut Wester¹, Kristin Lilleholt², Linda Hilsted³, Anders Larsson⁴, Johan Undén⁵

¹Department of Clinical Medicine, University of Bergen and Department of Neurosurgery, Haukeland University Hospital Bergen, Norway. ²Department of Medical Biochemistry, Sørlandet Hospital Kristiansand, Kristiansand, Norway. ³Department of Clinical Biochemistry, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark. ⁴Department of Medical Sciences, Clinical Chemistry, Uppsala University Hospital, Sweden. ⁵Department of Intensive Care and Perioperative Medicine, Institute for Clinical Sciences, Malmö, Sweden.

On behalf of the Scandinavian Neurotrauma Committee (SNC)

E-mail: kgwe@helse-bergen.no

Introduction

In 2000, the Scandinavian Neurotrauma Committee (SNC) presented evidence-based guidelines for the initial management of minimal, mild and moderate head injuries, which constitute the great majority of such head traumas (1). These guidelines have since represented the standard for managing patients with such head traumas in the Nordic countries.

Only a small fraction of head trauma patients will turn out to have intracranial pathology and an even smaller proportion will need neurosurgical intervention. The aim of such guidelines is therefore to identify patients at risk of developing dangerous intracranial conditions, e.g. haematomas or brain contusion. For this purpose, the SNC 2000 guidelines recommended routine use of CT scanning for patients with mild and moderate head injuries.

This routine has however been questioned following recent reports of increased cancer risks from CT scans, estimated at 1 in 5,000 - 10,000 for a single head CT scan in young adults (2). As young adults and children constitute a large proportion of head injury patients, SNC have now revised their guidelines with the aim of reducing the routine use of CT scanning and thereby hopefully the related cancer risk (3). National versions of the guidelines have also been published in the Danish, Norwegian, and Swedish medical journals (4-6).

In the new guidelines the biomarker S100B may be used to identify patients with a very low risk of intracranial complication, hence not needing a routine CT scan. S100B is a calcium binding protein that is released from astrocytes into the blood and cerebrospinal fluid (CSF) after a trauma to the central nervous system (CNS). Studies on this biomarker have consistently demonstrated a very high sensitivity to complications after mild head trauma. As these complications are relatively rare, this results in a near 100% negative predictive value (7). S100B can be analysed at most Scandinavian laboratories using pre-existing apparatus and the analysis time is less than 30 minutes.

As the revised guidelines will involve the cooperation of clinical laboratories, the aim of the present article is therefore to inform the Nordic clinical laboratories about the guidelines, with emphasis on practical matters, limitations, and pitfalls.

Methods

The new guidelines were developed by a working team from the Scandinavian Neurotrauma Committee after an extensive process, for details see (3).

As mentioned above, the guidelines aim to detect patients with serious intracranial complications while minimizing unnecessary CT scans of head injury patients. The evidence for using serum levels of the

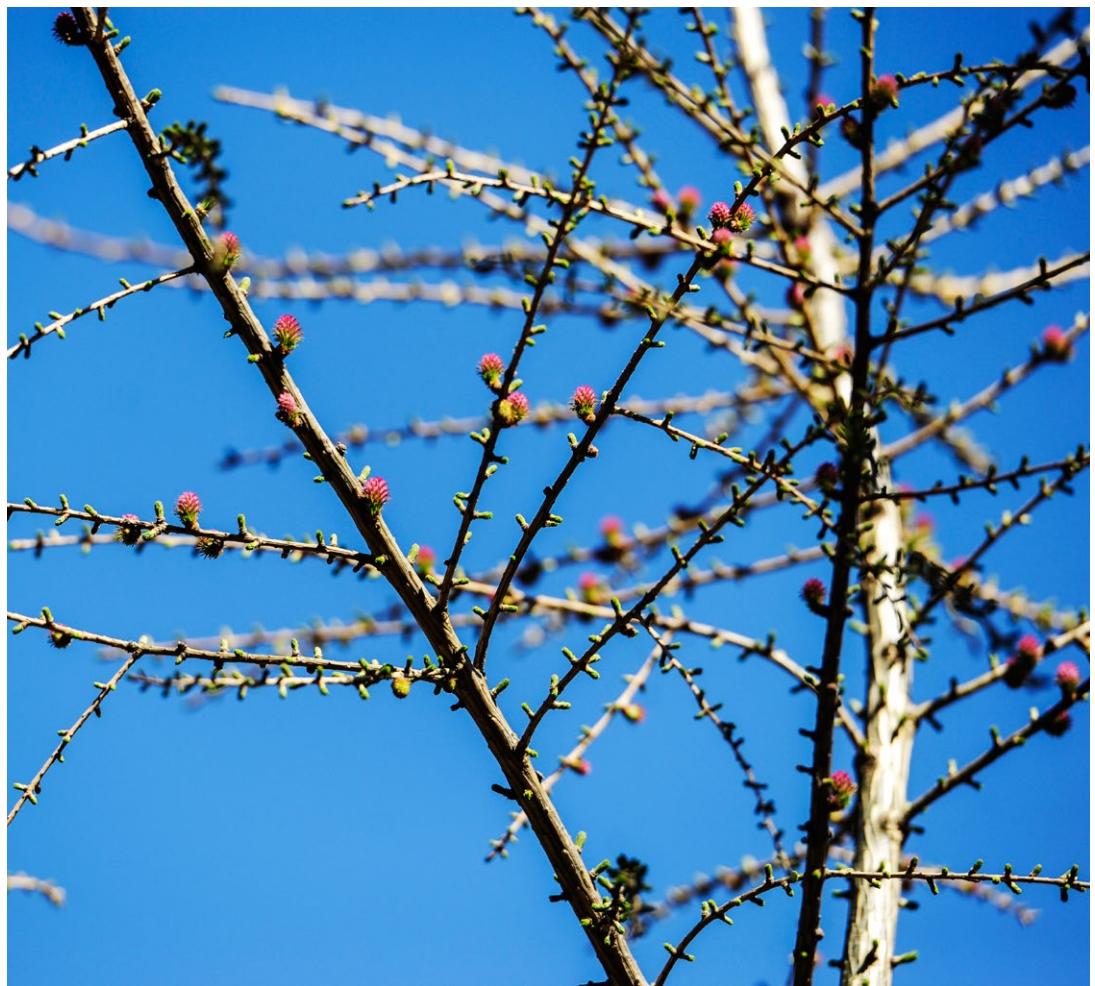
biomarker S100B was found strong, and this protein has therefore been added as a primary screening tool to aid the decision on whether to perform a CT scan or not.

Summary of the guidelines – what is new?

As will be apparent from the flow chart in Fig. 1, the management according to the guidelines is based on an initial classification of the patient as having sustained a “minor”, “mild”, or “moderate” head injury. This classification is based on the initial clinical examination of the patient and information from the trauma scene, including loss of consciousness etc. The 2000 SNC guidelines were also based on such a

severity classification, and recommended CT scan as the screening method for all patients with a mild head injury instead of in-hospital observation for 12 or 24 hours, as often had been the practice before.

As there are additional risk factors, the risk throughout the mild injury group is not uniform. Several factors add to the risk, such as high age, medications, and intra- and extracranial medical conditions. In the new, revised guidelines, *the group with “mild” injury now is further divided into subgroups according to additional risk factors: “mild injury high-risk”, “mild injury medium-risk”, and “mild injury low-risk”*, for risk factors, see Fig. 1.



Blommende lärkträd (*Larix decidua*). Foto: Henrik Alfthan

In which patients and when should the S100B analyses be performed?

It is important to note that the use of blood samples for S100B as primary screening instead of CT is recommended only for the group “*mild injury low-risk*”. The aim of this strategy is to sort out patients within this group with high S100B levels indicating a possible intracranial injury. Only these patients should undergo the secondary screening: a CT scanning. There is every reason to assume that patients in this group of “*mild injury low-risk*” constitute the majority of patients with mild head injury, and we estimate that the use of CT scanning can be reduced by 30 % by replacing CT as the primary screening procedure with the S100B test.

Only when the S100B analysis reveals a blood concentration $\geq 10 \mu\text{g/L}$ should a CT scan be performed. If the S100B concentration is below that value, the risk of missing an intracranial condition that needs surgical treatment is very low.

Positive S100B results

The release of S100B into the blood is not confined to “pure” head injuries; substantial extra-cranial tissue damage, e. g. soft tissue contusions, may also give increased blood values of S100B. We therefore recommend that S 100B analyses is *not* used as screening procedure in the “*mild injury low-risk*” patients with overt substantial extra-cranial tissue damage, as *many of these patients will have increased S100B results*. In such patients, a CT scan should be performed. It is important to remember that S100B should only be used as a rule *out* test for patients with head injuries (not as a rule *in* test).

False negative S100B results

Because S100B has a relatively short half-life in the blood, we recommend that *only blood samples drawn within the first 6 hours after the accident should be analysed*. Samples drawn after that point may give false negative results. If it proves impossible to obtain

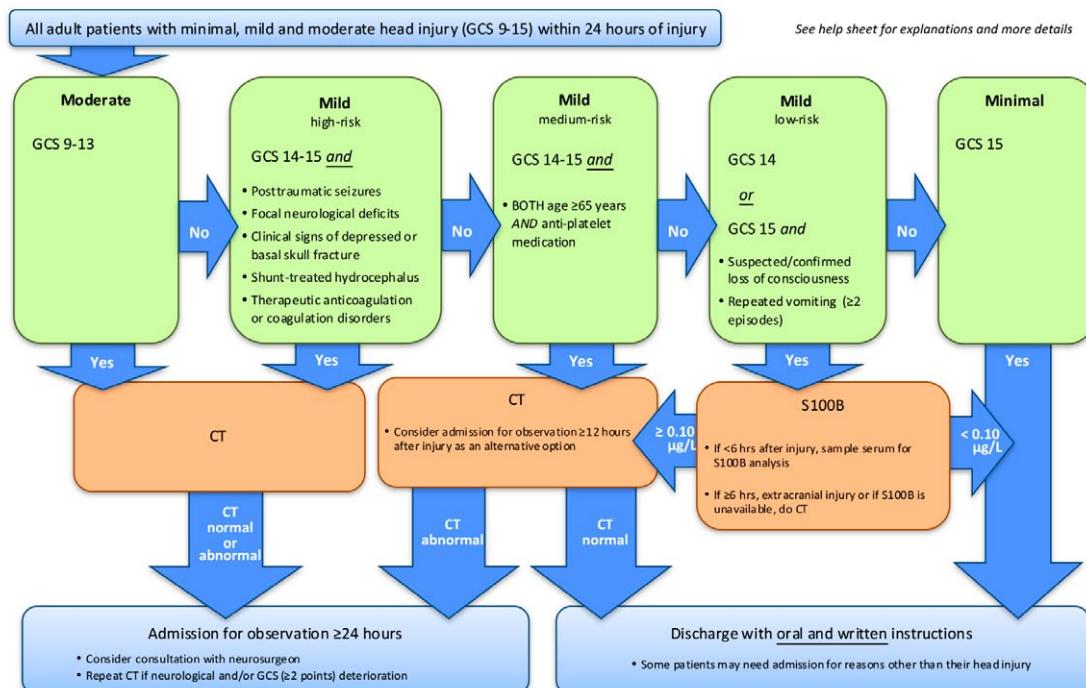


Figure 1. Flow chart from the SNC guidelines for management of adult (≥ 18 years) patients with minimal, mild and moderate head injuries.

a blood sample within the first 6 hours, a CT scan should be performed as the primary screening procedure instead.

Experience so far with the new guidelines

The new guidelines have now been used for some months and some experience has been gathered, a few examples are given below.

Some hospitals have performed S100B analyses also in patients where the guidelines do *not* recommend it, with the justification “we want to get some experience with the method”. The reports we have received from these hospitals so far indicate that this approach turns out to be more confusing than clarifying for the involved health personnel, as they get too many false positive results, with no findings on the subsequent CT scan. We therefore strongly recommend that the hospitals stick to the recommendations given in the guidelines: S100B analyses should replace CT scanning *only for patients in the “mild injury low-risk” group and only when they have no overt extra-cranial tissue damage*.

Another experience, especially from large hospitals with long distances from the emergency room to the laboratory, is that it takes too long time to get the result of the analysis, mainly because of prolonged transportation time. This logistical problem quite often then causes the doctor in charge, who doesn't have time to wait for the result, to have a CT scan of the patient performed instead. It is therefore important that in-hospital routines allow a quick and efficient response time.

In a few large university hospitals, the new guidelines have seemed to function very well. Analysis of the S100B patients has shown a CT reduction of approximately 40% without missing any clinical complications.

In conclusion we recommend that S100B is used for patients with *mild injury/low-risk head injury* as a rule out test to reduce the number of CTs. Many head injuries occur during weekends or evenings/nights. It is thus important that the tests are available around the clock with short test turnaround time. We encourage the Scandinavian emergency units and hospital laboratories to work together to find solutions that allow S100B testing with short test turnaround times as part of the head trauma patients care.

References

1. Ingebrigtsen T, Romner B, Kock-Jensen C. Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild, and moderate head injuries. The Scandinavian Neurotrauma Committee. J Trauma 2000;48:760-766.
2. Smith-Bindman R, Lipson J, Marcus R, Kim KP, Mahesh M, Gould R, Berrington de Gonzalez A, Miglioretti DL. Radiation dose associated with common computed tomography examinations and the associated lifetime attributable risk of cancer. Arch Intern Med 2009;169:2078-2086.
3. Undén J, Ingebrigtsen T, Romner B for the Scandinavian Neurotrauma Committee (SNC). Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild and moderate head injuries in adults: an evidence and consensus-based update. BMC Medicine 2013;11:50 <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/11/50>.
4. Eskesen V, Springborg JB, Undén J, Romner B. Guidelines for the initial management of adult patients with minimal to moderate head injury. Ugeskr Læger 2014;176:V09130559.
5. Sundstrom T, Wester K, Enger M et al. Scandinavian guidelines for the acute management of adult patients with minimal, mild, or moderate head injuries. Tidsskr Nor Laegeforen 2013;133:E1-E6.
6. Undén J, Bellander B-M, Romner B. Updated management of adults with head injuries. Scandinavian Neurotrauma Committee's new guidelines provide guidance at minimal, mild and moderate injuries. Läkartidningen 2013;110:1868-9.
7. Undén J, Romner B. Can low serum levels of S100B predict normal CT findings after minor head injury in adults?: an evidence-based review and meta-analysis. J Head Trauma Rehabil 2010;25:228-40.



Holger Jon Møller der fik den store Eldjarn-pris ved den nordiske kongres 2014, tiltrådte stillingen som lærestolsprofessor i klinisk biokemi ved Aarhus Universitet d. 1. juli 2014.

Han har en phd-grad fra 1997 og forsvarerede i 2013 sin doktordisputats ved Aarhus universitet, hvor han siden 2001 har været overlæge ved Klinisk Biokemisk Afdeling. Desuden har han været medlem af DSKBs bestyrelse og Styrelsen af NFKK, redaktør af SJCLI og haft en række andre tillidsposter.

Hans forskning har fokuseret på inflammation og makrofag biologi samt undersøgelse af biomarkører.

I det følgende beretter han om sin tidligere og nuværende forskning.

Makrofagens hæmoglobin-receptor (CD163) - en åben dør for diagnostik og behandling

Holger Jon Møller

Klinisk Biokemisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital, Danmark

holgmoel@rm.dk

Introduktion

Makrofager er plastiske celler, der udover en række vigtige funktioner under normal udvikling/homeostase og ved sygdom. De fjerner og reparerer beskadiget væv, og de reagerer på indtrængende mikroorganismér, stimulerer immunforsvaret og producerer inflammatoriske cytokiner. Ved mange patologiske tilstande ses aktivering af pro- og anti-inflammatoriske makrofag-funktioner med stor betydning for sygdomsforløbet. Regulerede makrofag-specifikke proteiner, som eksempelvis hæmoglobinreceptoren CD163, kan derfor anvendes som biomarkører ved en række tilstande. Makrofager udgør ligeledes etoplagt mål for targeteret behandling ved inflammatoriske sygdomme og cancer.

CD163 funktioner - fjernelse af hæmoglobin og en åben dør for mikroorganismér?

Hos en patient med hæmolyse ser vi de velkendte biokemiske forandringer i blodet med faldende kon-

centrationer af haptoglobin og stigende bilirubin og efterhånden en fjernelse af det frie hæmoglobin fra plasma. Denne mekanisme er medieret af CD163-receptoren på makrofager, som binder og endocyterer haptoglobin-hæmoglobin komplekser, sådan at hæm kan nedbrydes intracellulært af hæm-oxygenase til biliverdin, jern og kulmonoxid (CO) (1) (figur 1A). Denne nedbrydning af hæmoglobin har stor betydning, ikke bare i jernomsætningen, men også som en mekanisme til at dæmpe inflammation. Frit hæmoglobin er proinflammatorisk og giver anledning til oxidativt stress, mens bilirubin og CO har antiinflammatoriske effekter (2).

Vi så på et tidspunkt en patient med tegn på hæmolyse, svære almensymptomer og et usædvanligt biokemisk billede, hvor frit hæmoglobin var stærkt forhøjet, men uden fald i haptoglobin og stigning i bilirubin. Det viste sig, at patienten havde fået Gemtuzumab-Ozogamicin, et toxin rettet mod CD33 på myeloblaster, i forbindelse med behandling af AML.

Vi kunne se, at patientens CD163+ monocyter var fuldstændigt depleterede, og viste, at CD33 og CD163 er koudtrykt på modne makrofager, som derfor sandsynligvis var depleteret af toxinet med følgende tab af CD163-medieret hæmoglobinoptag (3). Et sådant "Macrophage Depletion Syndrome (MaDS)" giver under hæmolyse anledning til svære almensymtomer, smerter, blodtryksstigning og evt. nyrepåvirkning.

Sandsynligvis har CD163 andre fysiologiske ligander end haptoglobin/hæmoglobin-komplekser (4), og endvidere er det nærliggende at antage, at flere mikroorganismer anvender receptoren som indgangsport til moncyt-makrofag-systemet. Fx er infektion med *Simian hemorrhagic fever virus (SHFV)*, der medfører en dødelig Ebola-lignende sygdom i macaque-aber, afhængig af CD163 (5).

CD163 - en åben dør for targeteret behandling af inflammation?

Makrofager spiller som bekendt en vigtig rolle i inflammationssygdomme, bl.a. med produktion af proinflammatoriske cytokiner som fx TNF- α og IL1. Inflammationen kan dæmpes med biologiske lægemidler rettet mod cytokinerne, men siden 1950'erne har vi vidst, at den mest effektive inflammationsdæmpning fås med anvendelse af glukokortikoider. Desværre er brugen af disse begrænset på grund af alvorlige bivirkninger. Vi forsøger derfor at målrette glukokortikoid (i form af det potente dexamethason) direkte til makrofagerne ved at pakke det i CD163-antistof-coatede liposomer eller koble glukokortikoid direkte til et CD163-antistof (figur 1B). Dermed håber vi at kunne opnå en kraftig inflammationsdæmpning uden at påvirke granulocyt/lymfocyt funktion (dvs. begrænse infektionsrisiko) og uden at påvirke endokrine funktioner (dvs. uden øget risiko for diabetes, osteoporose etc.).

Det ser ud til at virke. In vitro optages antistofet specifikt i makrofager (6), og i dyremodeller for akut sepsis (endotoxinæmi) kan vi opnå den samme inflammationshæmning med 50 gange lavere dosis af dexamethason, end når det gives systemisk, og uden at påvirke den endogene cortisolproduktion (7). Det åbner perspektiver for bivirkningsfri behandling af de inflammationssygdomme, der i overvejende grad er drevet af makrofag-aktivering. En afgørende faktor for effekt vil være antistoffets/liposomets evne til at opnå adgang til makrofager i værene. Fx er leverens Kupffer-cellér lokaliseret i blodbanen (sinusoiderne),

hvilket øger sandsynligheden for god effekt på inflammatoriske leversygdomme som fx alkoholisk hepatitis (8).

Tumor-associerede makrofager

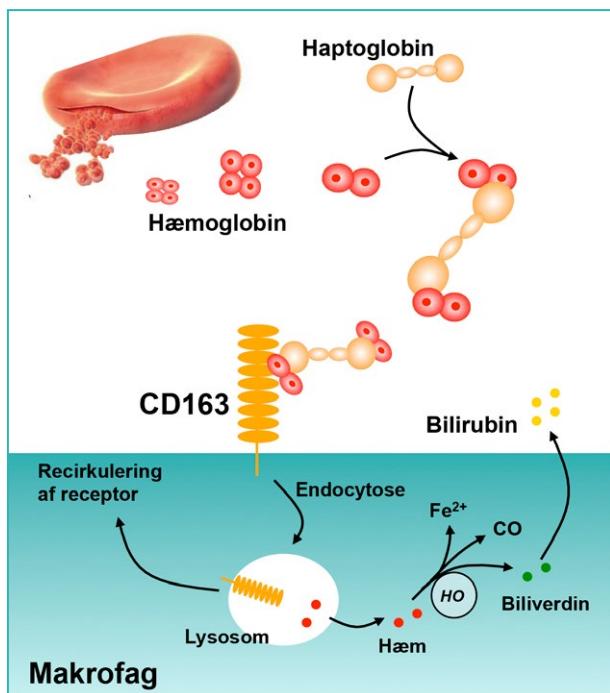
Grundet sin makrofag-specificitet har CD163 etableret sig som en god immun-histokemisk markør til rutinemæssig og forskningsmæssig diagnostik i patologien som supplement til CD68. CD163 opfattes i den sammenhæng som en såkaldt "M2-markør" for alternativt aktiverede (anti-inflammatoriske) makrofager. Dette skal dog tages med et betydeligt forbehold, da også mange proinflammatoriske "M1" makrofager udtrykker CD163, og da ekspressionen af forskellige overflade-markører varierer ved forskellige patologiske tilstande. Der er dog enighed om, at den særlige M2-lignende fænotype, der karakteriserer tumor-associerede makrofager, kraftigt udtrykker CD163.

Tumor-associerede makrofager er vigtige for tumorcellers vækst og spredning. De hæmmer antitumor immunitet, stimulerer angiogenese, remodelerer den ekstracellulære matrix, leverer vækstfaktorer og øger tumorcellers resistens mod kemoterapi. I overensstemmelse hermed er et højt antal CD163+ makrofager et dårligt prognostisk tegn i de fleste cancersygdomme (9).

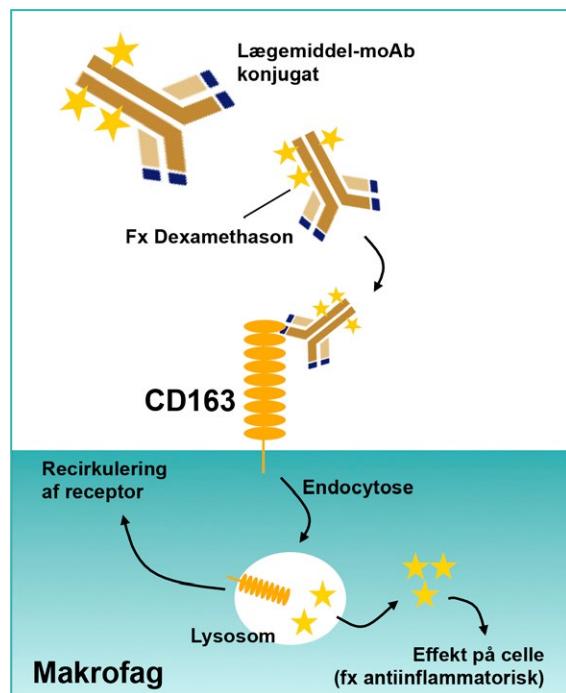
Tumorcellers makrofag-afhængighed har genereret stor interesse for at målrette lægemidler til de tumor-associerede makrofager som en ny behandlingsmodalitet, alene eller i kombination med traditionel kemoterapi. Det kan ske enten ved direkte celledrab med toksiner optaget via receptoren eller ved at stimulere makrofagerne med immunmodulatoriske stoffer, der kan reprogrammere makrofagerne fra en pro-tumor (M2-lignende) fænotype til en anti-tumor (M1-lignende) fænotype (6). Den høje ekspression på tumorcellerne, makrofag-specificiteten og den endocytiske egenskaber gør CD163 til et oplagt mål for targeteret behandling.

Enzymatisk kløvning af CD163 og frigivelse (shedding) til plasma af solubel CD163 (sCD163)

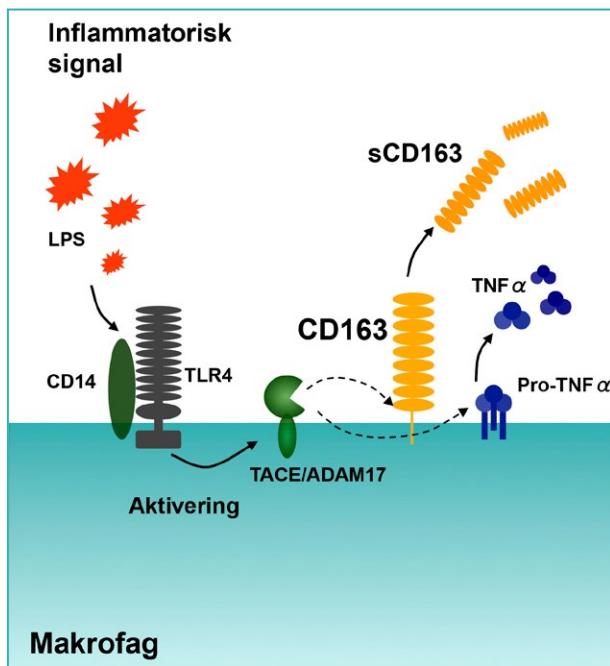
Vi viste i 2002, at CD163 findes frit i plasma i store koncentrationer (10). Proteinet friges konstitutivt fra makrofager og monocyter, men koncentrationen stiger ved aktivering af cellerne, og solubel CD163 (sCD163) kan derfor anvendes som biomarkør ved en række tilstande hvor makrofager spiller en central rolle (se nedenfor).



Figur 1A.



Figur 1B.



Figur 1C.

Figur 1A. Makrofag-receptoren CD163 binder og endocyterer haptoglobin-hæmoglobin komplekser som vist af Søren Moestrups gruppe i Aarhus (1). Hæm nedbrydes af Hæm-oxygenase (HO), hvorefter bilirubin friges til plasma. Derfor falder koncentrationen af haptoglobin (og bilirubin stiger) under hæmolyse, såfremt CD163 funktionen er intakt.

Figur 1B. Brug af CD163-antistof med konjugeret lægemiddel til målrettet behandling af inflammation eller cancer. Det konjugerede antistof binder CD163-receptoren på makrofager (fx Kupffer-cellér eller tumor-associerede makrofager) og endocyteres. Lægemidlet friges i lysosomet og udøver sin virkning i cellen.

Figur 1C. Inflammatoriske signaler kan inducere shedding af solubel CD163. For eksempel medfører binding af LPS til Toll-like receptor-4 (TLR-4) en aktivering af enzymet TACE/ADAM-17, som kløver CD163 nær makrofagens cellemembran. ADAM-17 kløver også proTNF- α .

Kløvningen af CD163 kan medieres af metalloproteasen TACE/ADAM-17, der bl.a. kan aktiveres af lipopolysakkarid (LPS) (via Toll-like receptor-4). ADAM17 medierer også kløvning af det membranbundne proTNF- α med frigivelse TNF- α til blodbanen. Der er derfor etableret en direkte sammenhæng mellem frigivelse af de to molekyler fra makrofagen (Figur 1C). sCD163 har dog en betydelig længere halveringstid i plasma end TNF- α og er mere makrofag-specifik, hvilket gør den til en bedre biomarkør (11). En række andre stimuli, som fx oxidativt stress, trombin, og stafylokokker, har også vist sig at mediere shedding af sCD163, uden at mekanismerne er kendt i detaljer (4).

Det cirkulerende sCD163 udgør næsten hele den ekstracellulære del af CD163-molekylet, men det har næsten fuldstændigt mistet evnen til binding af haptoglobin/hæmoglobin-komplekser. Det store aviditetstab skyldes sandsynligvis at haptoglobin/hæmoglobin-komplekser har muligheder for multivalent binding til flere CD163-molekyler på makrofag-overfladen (12). Til gengæld ser det ud til, at sCD163 kan have en vigtig funktion i forbindelse med bakterielle infektioner, hvor det fx er vist, at sCD163 via fibronektin kan binde stafylokokkus aureus og dermed mediere en hurtigere clearance af bakterien fra blodbanen (13).

sCD163 som biomarkør

Det er let at måle sCD163 med ELISA-teknik. En række antistoffer og kommersielle kits er tilgængelige, og herudover er proteinet stabilt og holdbart ved frysning. Desværre er de forskellige kommersielle assays på markedet endnu ikke CE-mærkede og ikke standardiserede. Det betyder selvfølgelig, at det er vanskeligt at sammenligne niveauer i patientgrupper målt med forskellige kits. Vi anvender stadig i Aarhus vores inhouse assay udviklet i 2002 (14), hvor det, ved hjælp af nedfrosne kalibratorer og kontrolsera, er lykkedes at opretholde et stabilt niveau gennem årene med måling af >60.000 prøver.

Middelkoncentrationen hos raske individer ligger mellem 1,5-1,7 mg/L med let stigende koncentration med alderen (generelt 95 % referenceområde 0,7-3,8 mg/L) målt i vores assay (4). Niveauet målt med kommersielle kits ligger typisk på 40-50 % af disse niveauer, men store variationer ses. Her er brug for en gedigen klinisk biokemisk standardiseringindsats. På trods af den relativt store variation mellem raske

individer er variationen relativt lille intra-individuelt (15), og mange har overraskende stabile niveauer over årene.

Der er tiltagende erkendelse af makrofagers betydnende rolle i mange forskellige sygdomstilstande, og det har betydet en stærkt stigende anvendelse af sCD163 i kliniske studier. Der publiceres nu >50 artikler om året, hvor sCD163 anvendes som biomarkør ved et bredt udsnit af inflammatoriske tilstande som fx RA, HIV, kronisk leversygdom og sepsis.

Solubel CD163 – en dør på klem til klinikken

Meget høje koncentrationer af sCD163 ses ved det sjældne **Hæmofagocytose syndrom** (hos børn makrofag-aktiveringssyndrom MAS), hvor koncentrationen kan nå over 100 mg/L (typisk >20 mg/L), og niveauet falder parallelt med bedring i tilstanden (16). Middelhøje værdier (5-10 mg/L) ses ved svær **sepsis**, som ofte er præget af varierende grader af hæmofagocytose (17). Flere uafhængige studier bekræfter, at sCD163 har større prognostisk betydning end CRP, og at sepsis-patienter med koncentrationer over 10 mg/L har 10 gange øget mortalitetsrisiko. Tilsvarende høje niveauer som ved hæmofagocytosesyndrom ses kun ved svær **akut leversygdom** (leversvigt, svær hepatitis), hvor vedvarende niveauer > 20 mg/L er et stærkt indicium på, at patienten ikke vil overleve uden transplantation (9,18).

Den største del af kroppens makrofager er lokaliseret i leveren (Kupffer-celler), og det er sandsynligvis årsagen til de relativt høje niveauer af sCD163, der ses ved mere stabile kroniske leversygdomme som fx levercirrhose. Kupffer-celle aktivering menes i dag at spille en afgørende rolle for forløbet af flere almindelige kroniske leversygdomme som kronisk hepatitis B og C, non-alkoholisk steatohepatitis (NASH) og levercirrhose. Helt nye resultater bekræfter, at sCD163 markøren er særligt anvendelig ved levercirrhose. Fx er der en klar sammenhæng mellem koncentrationen af sCD163 og fibrosedannelse i leveren med udvikling af portal hypertension (19). Portal hypertension indebærer en stor risiko for fatale komplikationer (som fx variceblødning), men portal hypertension kan være svær at erkende hos en patient med stabil levercirrhose. Nylige resultater har vist, at forhøjet sCD163 hos disse patienter kan anvendes som proxy til forudsigelse af sygdomsforløb og komplikationer (20).

Low grade inflammation og makrofag-aktivering

Vi observerede tidligt, at en del tilsyneladende raske personer har marginalt forhøjede sCD163 koncentrationer i plasma (3-5 mg/L), og det har vist sig, at disse ofte er præget af overvægt og begyndende *livsstilssygdom*. Ved disse tilstænde ses øget infiltration og aktivering af makrofager i visceralt fedtvæv og lever, som sandsynligvis bidrager til de øgede sCD163 niveauer (21). sCD163 hos disse personer korrelerer således stærkt til komponenter i *det metaboliske syndrom* såsom antropometriske mål for fedme, triglycerider, ALAT, adiponektiner og ikke mindst graden af insulin-resistens (22). Diabetikere har signifikant forhøjede niveauer, og faktisk ser det ud til, at sCD163 begynder at stige flere år før sygdommen bryder ud (23).

Den gode nyhed er, at livsstilsintervention i form af fx diæt eller fedmeoperation fuldstændigt kan normalisere sCD163 niveauerne i løbet af 2-3 måneder (24). Også metformin og GLP-1-analoger sænker signifikant koncentrationen af sCD163.

Konklusion

Siden funktionen af CD163 blev beskrevet i 2001, er receptoren blevet etableret som biomarkør i patologien og i klinisk biokemi via dens soluble variant sCD163. sCD163 er særlig velegnet til diagnostik og monitorering af inflammatoriske leversygdomme på grund af det store antal aktiverede Kupffer-cellér ved disse sygdomme.

Grundet dens makrofag-specificitet er CD163 etoplagt mål for targeteret behandling af inflammation og cancer, og *proof of concept* for bivirkningfri behandling med targeteret dexamethason er opnået i dyremodeller for sepsis.

Referencer

1. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SK, Moestrup SK. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature* 2001;409:198-201.
2. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005;293:1653-1662.
3. Maniecki MB, Hasle H, Friis-Hansen L, Lauzen B, Nielsen OJ, Bendix K, Moestrup SK, Møller HJ. Impaired CD163-mediated hemoglobin-scavenging and severe toxic symptoms in patients treated with gemtuzumab ozogamicin. *Blood* 2008;112:1510-4.
4. Møller HJ. Soluble CD163. *Scand J Clin Lab Invest* 2012;72:1-13.
5. Caì Y, Postnikova EN, Bernbaum JG, Yú SQ, Mazur S, Deiuliis NM, et al. Simian hemorrhagic fever virus cell entry is dependent on CD163 and uses a clathrin-mediated endocytosis-like pathway. *J Virol* 2015;89:844-56.
6. Etzerodt A, Maniecki MB, Graversen JH, Møller HJ, Torchilin VP, Moestrup SK. Efficient intracellular drug-targeting of macrophages using stealth liposomes directed to the hemoglobin scavenger receptor CD163. *J Control Release* 2012;160:72-80.
7. Granfeldt A, Hvas CL, Graversen JH, Christensen PA, Petersen MD, Anton G, Svendsen P, et al. Targeting dexamethasone to macrophages in a porcine endotoxemic model. *Crit Care Med* 2013;41:e309-18.
8. Sandahl TD, Grønbæk H, Møller HJ, Støy S, Thomsen KL, Dige AK, et al. Hepatic macrophage activation and the LPS pathway in patients with alcoholic hepatitis: a prospective cohort study. *Am J Gastroenterol* 2014;109:1749-56.
9. Komohara Y, Jinushi M, Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. *Cancer Sci* 2014;105:1-8.
10. Møller HJ, Peterslund NA, Graversen JH, Moestrup SK. Identification of the hemoglobin scavenger receptor/CD163 as a natural soluble protein in plasma. *Blood* 2002;99:378-80.
11. Etzerodt A, Maniecki MB, Møller K, Møller HJ, Moestrup SK. Tumor necrosis factor α -converting enzyme (TACE/ADAM17) mediates ectodomain shedding of the scavenger receptor CD163. *J Leukoc Biol* 2010;88:1201-5.
12. Møller HJ, Nielsen MJ, Maniecki MB, Madsen M, Moestrup SK. Soluble macrophage-derived

- CD163: a homogenous ectodomain protein with a dissociable haptoglobin-hemoglobin binding. *Immunobiology* 2010;215:406-12.
13. Kneidl J, Löffler B, Erat MC, Kalinka J, Peters G, Roth J, Barczyk K. Soluble CD163 promotes recognition, phagocytosis and killing of *Staphylococcus aureus* via binding of specific fibronectin peptides. *Cell Microbiol* 2012;14:914-36
 14. Møller HJ, Hald K, Moestrup SK. Characterization of an enzyme-linked immunosorbent assay for soluble CD163. *Scand J Clin Lab Invest* 2002;62:293-9.
 15. Møller HJ, Petersen PH, Rejnmark L, Moestrup SK. Biological variation of soluble CD163. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63:15-21.
 16. Schaefer DJ, Schleiffenbaum B, Kurrer M, Imhof A, Bächli E, Fehr J, et al. Soluble hemoglobin-haptoglobin scavenger receptor CD163 as a lineage-specific marker in the reactive hemophagocytic syndrome. *Eur J Haematol* 2005;74:6-10.
 17. Møller HJ, Moestrup SK, Weis N, Wejse C, Nielsen H, Pedersen SS, et al. Macrophage serum markers in pneumococcal bacteremia: Prediction of survival by soluble CD163. *Crit Care Med* 2006;34:2561-6.
 18. Møller HJ, Grønbæk H, Schiødt FV, Holland-Fischer P, Schilsky M, Munoz S, et al; U.S. Acute Liver Failure Study Group. Soluble CD163 from activated macrophages predicts mortality in acute liver failure. *J Hepatol* 2007;47:671-6.
 19. Kazankov K, Barrera F, Møller HJ, Bibby BM, Vilstrup H, George J, et al. Soluble CD163, a macrophage activation marker, is independently associated with fibrosis in patients with chronic viral hepatitis B and C. *Hepatology* 2014;60:521-30.
 20. Rode A, Nicoll A, Møller HJ, Lim L, Angus PW, Kronborg I, et al. Hepatic macrophage activation predicts clinical decompensation in chronic liver disease. *Gut* 2013;62:1231-2.
 21. Fjeldborg K, Pedersen SB, Møller HJ, Christiansen T, Bennetzen M, Richelsen B. Human adipose tissue macrophages are enhanced but changed to an anti-inflammatory profile in obesity. *J Immunol Res* 2014;2014:309548.
 22. Parkner T, Sørensen LP, Nielsen AR, Fischer CP, Bibby BM, Nielsen S, et al. Soluble CD163: a biomarker linking macrophages and insulin resistance. *Diabetologia*. 2012;55:1856-62.
 23. Møller HJ, Frikke-Schmidt R, Moestrup SK, Nordestgaard BG, Tybjørg-Hansen A. Serum soluble CD163 predicts risk of type 2 diabetes in the general population. *Clin Chem* 2011;57:291-7.
 24. Fjeldborg K, Pedersen SB, Møller HJ, Rask P, Danielsen AV, Stødkilde-Jørgensen H, Richelsen B. Intrahepatic fat content correlates with soluble CD163 in relation to weight loss induced by Roux-en-Y gastric bypass. *Obesity (Silver Spring)* 2015;23:154-61.



Hästhov (*Tussilago farfara*). Foto: Henrik Alfthan.

Eldjarn-prisen 2014

Jens Petter Berg

Avdelingen for Medisinsk Biokjemi, Oslo Universitetssykehus

j.p.berg@medisin.uio.no



Lorentz Eldjarn-priskonkurransen ble arrangert for tredje gang i forbindelse med den 34. Nordiske kongress i klinisk kjemi den 18. september 2014 i Göteborg. Prisen finansieres av Lorentz Eldjarnfondet som er basert på en generøs donasjon fra Professor Lorentz Eldjarn og hans kone Torunn i 2009. Formålet med prisen er å stimulere til nordiske publikasjoner i Scand J Clin Lab Invest (SJCLI) hvor Eldjarn var sjefredaktør i 16 år. Prisen deles ut annet hvert år under Nordisk kongress. Det arrangeres en priskonkurranse hvor en komite bestående av SJCLI-redaktører velger tre artikler blant de 20 mest siterte fra de fem foregående årene for kongressen. Minst én av forfatterne av artikkelen må ha hatt forskning relatert til en institusjon i et nordisk land for at artikkelen skal kunne nomineres.

Blant de 20 mest siterte artiklene i perioden 2009-2013 valgte priskomiteen bestående av Ulf-Håkan Stenman, Elvar Theodorsson, Axel Brock, Sverre Sandberg og Jens Petter Berg følgende tre artikler til priskonkurransen:

Christensen MHE, Lien EA, Hustad S, Almås B. Seasonal and age-related differences in serum 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone in patients from Western Norway. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010;70(4):281-6

Niemelä O, Alatalo P. Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010; 70(5):305-12

Møller HJ. Soluble CD163. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012;72(1):1-13

Konkurransen om første, andre og tredje pris på henholdsvis DKK 100.000, DKK 50.000 og DKK 30.000, ble arrangert som et seminar under kongressen i Göteborg hvor førsteforfatterne fikk 25 minutter til å presentere artikkelen for priskomiteen og andre deltagere ved kongressen. Det var tre svært gode foredrag av høy vitenskapelig kvalitet som komiteen

rangerte i følgende rekkefølge: 1) Holger Jon Møller, 2) Onni Niemelä og 3) Monika Christensen. Møller, hans artikkel og forskning blir presentert i en egen artikkel i KBN. Nedenfor følger en kort omtale av de to andre prisvinnerne.



Onni Niemelä er professor i laboratoriemedisin ved Universitetet i Tammerfors, Finland, og overlege ved det kliniske laboratoriet og forskningsenheten ved Seinäjoki sykehus. Han har sin MD og PhD fra Universitetet i Uleåborg og har utenlandsopphold ved Universitetet i Toronto. Niemeläs forskning har dreid seg om molekylære mekanismer ved leversykdom med fokus på de alkoholrelaterte skadene. Han har undersøkt biomarkører som kan brukes til å forbedre tidlig diagnose og monitorering av behandlingen av alkoholisk leversykdom og leverfibrose. I tillegg har han undersøkt interaksjoner mellom alkoholintak, kosthold, overvekt, røyking og andre livsstilsrelaterte tilstander. Til sammen har Niemelä publisert mer enn 150 originalartikler og oversiktartikler i internasjonale tidsskrifter, er redaktør i flere tidsskrifter og er hyppig benyttet som foredragsholder.

Professor Niemelä er en habil maratonløper med personlig rekord 2.48.06 og er også en aktiv skiløper.

Niemelä O, Alatalo P. *Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease.* *Scand J Clin Lab Invest.* 2010; 70(5):305-12.

I denne oversiktartikkelen av Niemelä og Alatalo omtales betydningen av å supplere målinger av enzymaktiviteter som GGT, ALT og AST med andre og mer spesifikke biomarkører ved utredning av alkoholisk leverskade. Blant annet anbefales direkte måling av etanol i blodet sammen med spesifikke metabolitter som etylglukuronid, fosfatidyletanol samt protein-acetaldehydforbindelser sammen med assosierede autoimmune reponser. Forfatterne understrekker betydningen av overvekt både som en vanlig

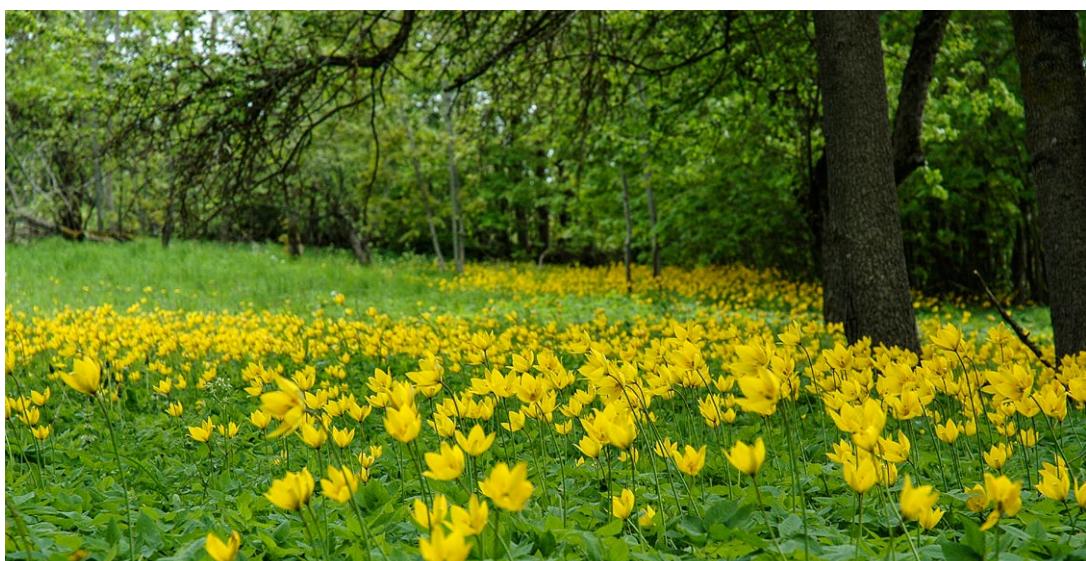
årsak til unormale leverenzymer i seg selv og som en forsterker av de negative effektene av etanol på leverfunksjonen. ALT- og GGT-økning kan også skyldes andre forhold som insulinresistens, metabolsk syndrom og er forbundet med økt mortalitet. Niemelä og Alatalo tar i artikkelen til orde for at øvre referansegrense for leverenzymene bør defineres med utgangspunkt normalvektige avholdsmennesker for å fange opp flere med reelt forhøyede verdier i forbindelse med screening og oppfølging av personer med mistanke om leversykdom.



Monika Christensen er lege i utdanningsstilling ved Medisinsk avdeling, Haukeland Universitetssykehus, Bergen, Norge. Hun studerte medisin i Berlin og Würzburg, Tyskland og disputerte for graden PhD i 2012 basert på studier av primær hyperparathyreoidisme og dens effekter på benmarkører og inflamasjon. I 2013 var hun gjesteforsker ved Avdeling for epidemiologi ved Universitetet i Auckland, New Zealand. Christensens forskning omhandler hovedsakelig vitamin D og effekter på skjelettet ved sykdom og blant friske. I tillegg har hun studert risiko for kardiovaskulære sykdommer blant pasienter med primær hyperparathyreoidisme.

Christensen MHE, Lien EA, Hustad S, Almås B. Seasonal and age-related differences in serum 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone in patients from Western Norway. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010;70(4):281-6

I denne originalartikkelen undersøker Christensen og medarbeidere årstids- og aldersrelaterte endringer i serum-konsentrasjonene av 25-hydroksyvitamin D, 1,25-dihydroksyvitamin D og PTH blant resultatene fra analyser rekvirert ved Hormonlaboratoriet, Haukeland Universitetssykehus. De høyeste konsentrasjonene av 25-hydroksyvitamin D og 1,25-dihydroksyvitamin D ble observert i månedene juli-september. De laveste verdiene for 25-hydroksyvitamin D ble påvist i april hvor 43 % hadde serumkonsentrasjoner under 50 nmol/L. Forfatterne fant en positiv korrelasjon mellom 25-hydroksyvitamin D og 1,25-dihydroksyvitamin D, mens det var en negativ korrelasjon mellom 25-hydroksyvitamin D og PTH. I de eldste aldersgruppene var det høyere konsentrasjoner av 25-hydroksyvitamin D og lavere konsentrasjoner av 1,25-dihydroksyvitamin D, mens PTH-konsentrasjonen økte jevnt med økende alder. Christensen og medarbeidere konkluderer med at de generelt høye konsentrasjonene av PTH om vinteren og blant eldre kan ha betydning for deres kalsiumstoffslike og benhelse.



Vildtulpan (*Tulipa sylvestris*) på Ösel. Foto: Henrik Alfthan.

ASTRUP priskonkurrencen 2014

Lars Melholt Rasmussen

Afdeling for Klinisk Biokemi og Farmakologi, Odense Universitetshospital

lars.melholt.rasmussen@rsyd.dk



Den XXXIV Nordiske Kongres i Klinisk Biokemi blev i september 2014 gennemført i Göteborg og endnu engang var vores fælles nordiske kongres rammen om afholdelsen af Astrup konkurrencen. Konkurrencen er en kappestrid blandt yngre forskere, som forsøger at vinde den prestigefyldte pris. Astrup prisen gives for udførelse og formidling af moderne kvalitetsforskning indenfor det klinisk biokemiske område.

Astrup prisen blev uddelt første gang i 1979, dengang som en hæderspris til professor Poul Astrup og anden gang i 1981 ligeledes som en hæderspris til professor Ole Siggaard-Andersen. Herefter er prisen blevet uddelt, efter en konkurrence, til yngre klinisk biokemiske forskere i et af de nordiske lande. Prisen blev i de første mange år finansieret af Radiometer, men ved de sidste par uddelinger har Siemens været sponsor.

I 2014 havde 8 yngre forskere indsendt abstracts i god tid inden kongressen og efter evaluering af bedømmelseskomitéen blev tre abstracts udvalgt til



Prisvindere: Daniel Elenius Madsen, Sidsel Rødgård-Hansen og Niklas Mattson.

mundtlig præsentation ved kongressen. Bedømmelseskomitéen består af en professor i klinisk biokemi fra hvert af de fem nordiske lande: Terho Lehtimaki, Finland, Isleifur Olafsson, Island, Per Venge, Sverige, Kristian S Bjerve, Norge og Lars Melholt Rasmussen, Danmark (formand).

Til en godt besøgt Astrup-session ved kongressen i Göteborg måtte de tre udvalgte forsøge at overbevise bedømmelseskomitéen om at netop de skulle tildeles 1. prisen – og det blev en spændende kamp med tre meget interessante foredrag. Niklas Mattson fra Göteborg Universitet fremlagde resultater vedrørende anvendelse af biokemiske og billeddannende teknikker ved diagnostik af Alzheimers sygdom, mens Sidsel Rødgård-Hansen, Klinisk Biokemisk Afdeling, Aarhus University Hospital viste data om en ny biokemisk markør - den soluble mannose receptor og Daniel Elenius Madsen fra Klinisk Biokemisk Afdeling i Esbjerg berettede om resultater vedrørende mulige nye mekanismer bag udvikling af hereditært angioødem.

Spændingen om hvem der vandt, blev udløst til kongressens "Glimmer and Glamour" fest og det blev Daniel Elenius Madsen, som med sit abstract "Detection of polymerized C1-inh in plasma of HAE patients – possible role in contact activation", som blev nummer 18 i rækken af vindere af Astrup-1. prisen, mens Sidsel Rødgård-Hansen og Niklas Mattson fik 2., og 3. prisen.

Det er vigtigt for vores fags fremtid, at vi fortsat har mulighed for at uddele Astrup prisen til yngre kliniske biokemikere og vi glæder os allerede til den næste konkurrence. Så en opfordring til alle yngre forskere i klinisk biokemi i alle nordiske lande: Hold øje med annonceringen af næste Astrup pris konkurrence! Annonceringen kommer i løbet af sommeren/efteråret 2015 og vil have deadline for indsendelse af abstracts omkring årsskiftet 2015/2016. Konkurrencen vil blive afholdt ved den XXXV Nordiske Kongres i Klinisk Biokemi i Odense i juni 2016. Vi håber på mange spændende abstracts.



Name: Svetlana R.

Job: Medical Lab Technician

Mission: Guardian Angel

Name: XN-9000

Job: Efficient Analysis

Mission: Pathfinder



XN-SERIEN 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.

Preeklampsi – ett komplext sjukdomspanorama

Katja Murtoniemi, ML¹, Pia M Villa, ML², Hannele Laivuori, MKD, doc.³

¹Åbolands sjukhus, Kvinnosjukdomar, Egentliga Finlands sjukvårdsdistrikt (EFSVD), Åbo universitet. ²Hyvinge sjukhus, Helsingfors och Nylands sjukvårdsdistrikt (HNS) Kvinnokliniken, Helsingfors universitets centralsjukhus och Helsingfors universitet. ³Haartman-institutet, avdelningen för medicinsk genetik och Institutet för molekylärmedicin i Finland (FIMM), Helsingfors universitet Kvinnokliniken, Helsingfors universitets centralsjukhus och Helsingfors universitet.



Preeklampsi är en av de vanligaste graviditetsstörningarna och drabbar 3 % av gravida kvinnor. Sjukdomen medför avsevärda risker för svåra komplikationer. Akuta komplikationer av preeklampsi är eklampsi, dvs. krampfall, hjärninfarkt, placentaavlossning, disseminerad intravaskulär koagulopati (DIC), HELLP (eng. hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets), leverblödning eller -ruptur, lungkongestion, ARDS (eng. adult respiratory distress syndrome), akut njursvikt och till och med döden (1). Man bedömer att omkring 14 % av all mödradöd beror på hypertensiva tillstånd under graviditeten (2). Mer än 50 000 kvinnor dör årligen av preeklampsi i utvecklingsländerna (3). I industriländerna orsakar det avsevärd mödra- och fostermorbiditet, kräver stora hälsovårdsresurser och är den främsta orsaken till intensivvård av gravida (4). Preeklampsi är också kopplad till en avsevärd risk för perinatalkomplikationer, som intrauterin fosterdöd, prematuritet och hämmad fostertillväxt samt ökad risk för mordbiditet i vuxen ålder (5). Preeklampsi ökar risken för modern att senare insjukna i blodtryckssjukdom, typ 2-diabetes och kranskärlssjukdom (6). Insjuknande i preeklampsi ökar också risken för senare neurologiska komplikationer (7) och till och med för tidig död (1). Preeklampsi kan ännu inte förutses tillräck-

ligt noggrant, och den enda kända behandlingen är förlossning. Låga doser av acetylsalicylsyra som inleds i graviditetsvecka 12–16 tycks kunna gynna förhindrandet av preeklampsi hos en del av kvinnorna i högriskgruppen (8).

Även om man har lyckats klargöra de patofisiologiska mekanismerna bakom preeklampsi känner man inte till etiologin helt. Därmed baseras sjukdomsdiagnosen på kliniska observationer: den gravida kvinnan konstateras ha förhöjt blodtryck ($\geq 140/90$ mmHg) och äggvita i urinen ($\geq 0,3$ g per dygn eller $\geq U\text{-prot} +$ i provtagning med stix) efter graviditetsvecka 20 (9). Detta är ett syndrom som påverkar flera livssystem och som är kopplat till ökad inflammatorisk aktivering (10), funktionsstörning i endotelet (11), obalans mellan blodkärlens tillväxtfaktorer och deras antagonister (12) och betydande metabola förändringar (13, 14). Ingen enskild faktor förklrar hela sjukdomspanoramaten (15).

Patofisiologin bakom preeklampsi består av två skeden. Till det första skedet hör avvikande placentautveckling redan i början av graviditeten. I det andra skedet insjuknar modern i en kliniskt konstaterbar sjukdom. Den viktigaste frågan för att förstå patofisiologin bakom preeklampsi är för närvarande vad som händer mellan dessa skeden (16).

Placentans blodcirculation på moderns sida sker via ca 30–60 uteroplacentala spiralarterier. I det tidiga skedet av graviditeten, när placentabädden bildas, vandrar dess mononukleära cytotrofoblastceller till decidua och till spiralarterna i myometriums innersta tredjedel. Dessa endovaskulära cytotrofoblastceller gör att den släta muskelyvävnaden försvinner från blodkärlens väggar, deras spiralformiga struktur rätas ut och lumen växer i diameter. Det leder till att

livmoder-placentakomplexets blodcirkulation sjunker i hastighet, tryck och pulsatilitet och att blodets flödesvolym ökar (17). Vid preeklampsi kan形成en av placentans spiralarter bli ofullständig; deras spiralformiga struktur bevaras åtminstone delvis, väggarna förblir tjocka och deras lumen utökas inte. Följden är tidvis hypoperfusion, vilket orsakar oxidativ stress. Ofullständig utveckling av spiralarternas terminala segment leder till att blodets flödeshastighet blir högre än normalt i placentans laguner, varför fler delar eller produkter av trofoblastcellerna än vanligt frigörs i blodcirkulationen (18). Sådana produkter är bl.a. antiangiogena proteiner, som vaskulär endotelial tillväxtfaktorreceptor 1 (eng. vascular endothelial growth factor, VEGF, receptor

1 or soluble fms-like tyrosine kinase-1 sFLT1) och lösligt endoglin (eng. soluble endoglin, sENG) samt angiogen placental tillväxtfaktor (eng. PIgf). Vid preeklampsi är sFLT1- och sENG-nivåerna förhöjda jämfört med en normal graviditet och PIgf-nivåerna lägre än normalt åtminstone hos en del av preeklampsipatienterna (12). Obalansen mellan dessa faktorer, som reglerar blodkärlens tillväxt, misstänks bidra till att det utvecklas ett inflammatoriskt tillstånd i moderns blodkärl. Inflammationen är en reaktion som påverkar kroppens regleringssystem på många olika sätt. Om den manifesteras i blodcirkulationen aktiveras inflammatoriska leukocyter, endotelceller och blodplättar och orsakar förändringar i proteinerna som reglerar blodets koagulering, blodets



Blåbärsbuske i blom (*Vaccinium myrtillus*). Foto: Henrik Alfthan.

komplement och blodcirculationens proinflammatoriska cytokiner (10). Den oxidativa stress som den försämrade placentaperfusionen orsakar har från början kunnat öka den inflammatoriska reaktionen. Å andra sidan ökar den inflammatoriska responsen den oxidativa stressen (19). Den systemiska inflammationen orsakar andra metabola förändringar, som insulinresistens (20). Följden kan vara en generaliserad funktionsstörning i endotelet (11), som leder till preeklampsisymtom.

Placentainsufficiens är ofta kopplad till preeklampsi som börjar tidigt i graviditeten eller svår preeklampsi, medan det inte alltid går att påvisa några avvikelser i placentan vid en lindrigare form av sjukdomen som börjar senare. Även en normal placenta kan orsaka ett inflammatoriskt tillstånd hos modern, vilket förvärras i takt med att graviditeten fortskrider och placentan växer. Om kvinnan redan har en funktionsstörning i endotelet till att börja med, till exempel på grund av metabolt syndrom, orsakar endotelets responser på en normal inflammatorisk reaktion under graviditeten kliniskt konstaterbar preeklampsi (21).

Genom att undersöka patofysiologin bakom sjukdomen har man försökt hitta en riskprofil eller en markör som kan identifieras i ett blodprov och som skulle kunna förutse sjukdomsutbrottet redan tidigt i graviditeten. Hittills är ingen riskprofil eller diagnostisk undersökning tillräckligt exakt för att användas i kliniskt arbete (22). Då man fått mer forskningsdata om patogenesen bakom preeklampsi har man börjat dela in sjukdomen i olika undergrupper. Problemet med forskningen kring preeklampsi har varit att man inte har delat upp sjukdomens olika undergrupper och granskat resultaten för de olika grupperna, eller så har definitionerna av undergrupper varit brokiga. Baserat på den kliniska bilden har man delat in preeklampsi i tidig (förhöjt blodtryck och proteinuri före graviditetsvecka 34) ja och sen sjukdomsform (förhöjt blodtryck och proteinuri efter graviditetsvecka 34) (23) samt svår och icke-svår preeklampsi. Definitionen klassisk preeklampsi täcker inte alla former av sjukdomen, eftersom preeklampsi kan utvecklas utan förhöjt blodtryck samtidigt som man kan påvisa en utvecklingsstörning i placentan, vilket är typiskt för klassisk preeklampsi. Eklampsi och HELLP kan utvecklas utan någon föregående förhöjning av blodtrycket och proteinuri (21). Å andra sidan förekommer också hämmad fostertillväxt, som

är kopplad till samma slags utvecklingsstörning i placentan som vid preeklampsi, men där modern inte får några preeklampsisymtom.

Att identifiera undertyperna av denna komplexa sjukdom skulle förbättra möjligheterna att hitta sätt att förutse och förhindra den. Som exempel kunde kvinnor som insjuknat i preeklampsi delas in i två grupper baserat bland annat på PIGF-koncentrationen. Vid en granskning av PIGF-koncentrationerna under graviditetens fortskridande konstateras att PIGF-koncentrationen hos en del av kvinnorna med preeklampsi knappt skiljer sig från det normala och att en del har klart lägre koncentrationer genom graviditeten. Den kliniska sjukdomsbilden skiljer sig också mellan dessa grupper. Låga PIGF-värden är kopplade till tidig förhöjning av blodtrycket (före graviditetsvecka 20) samt ofta även hämmad fostertillväxt (24). I framtiden kommer man kanske att dela in preeklampsi efter patofysiologisk mekanism i till exempel inflammatorisk, antiangiogen sjukdom samt sjukdom orsakad av oxidativ eller endoplasmisk stress, vilka fastställs av olika markörer (15).

Försöken att likrikta preeklampsikriterierna är viktiga för att forskningscentralernas jämförelse av material ska lyckas och för att sammanslagningen av resultaten från olika kohorter ska underlättas (15). Definitionen preeklampsi bör uppdateras för att motsvara dagens kunskaper om sjukdomens patofysiologi. På så sätt skulle möjligheterna att reda ut hur man kan förutse, förhindra och behandla preeklampsi förbättras.

Källförteckning

1. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol* 2012;36:56-9.
2. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller AB, Daniels J, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob Health* 2014;2:e323-33.
3. Duley L. Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:547-53.
4. Tang LC, Kwok AC, Wong AY, Lee YY, Sun KO, So AP. Critical care in obstetrical patients:

- an eight-year review. *Chin Med J (Engl)* 1997;110:936-41.
5. Backes CH, Markham K, Moorehead P, Cordero L, Nankervis CA, Giannone PJ. Maternal preeclampsia and neonatal outcomes. *J Pregnancy* 2011;2011:214365.
 6. Carty DM, Delles C, Dominiczak AF. Preeclampsia and future maternal health. *J Hypertens* 2010;28:1349-55.
 7. Kajantie E, Eriksson JG, Osmond C, Thornburg K, Barker DJ. Pre-eclampsia is associated with increased risk of stroke in the adult offspring: the Helsinki birth cohort study. *Stroke* 2009;40:1176-80.
 8. Roberge S, Villa P, Nicolaides K, Giguère Y, Vainio M, Bakthi A, et al. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Fetal Diagn Ther* 2012;31:141-6.
 9. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:s1-s22.
 10. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:499-506.
 11. Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol* 1998;16(1):5-15.
 12. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-83.
 13. Hubel CA, McLaughlin MK, Evans RW, Hauth BA, Sims CJ, Roberts JM. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours post partum. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:975-82.
 14. Kaaja R, Laivuori H, Laakso M, Tikkanen MJ, Ylikorkala O. Evidence of a state of increased insulin resistance in preeclampsia. *Metabolism* 1999;48:892-6.
 15. Myatt L, Redman CW, Staff AC, Hansson S, Wilson ML, Laivuori H, et al. Strategy for standardization of preeclampsia research study design. *Hypertension* 2014;63:1293-301.
 16. Roberts JM, Bell MJ. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? *J Reprod Immunol* 2013;99:1-9.
 17. Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JC. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta* 2009;30:473-82.
 18. Redman CW, Tannetta DS, Dragovic RA, Gardiner C, Southcombe JH, Collett GP, et al. Review: Does size matter? Placental debris and the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta* 2012;33 Suppl:S48-54.
 19. Rajmakers MT, Dechend R, Poston L. Oxidative stress and preeclampsia: rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension* 2004;44:374-80.
 20. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006;116:1793-801.
 21. Staff AC, Benton SJ, von Dadelszen P, Roberts JM, Taylor RN, Powers RW, et al. Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension* 2013;61:932-42.
 22. Cnossen JS, ter Riet G, Mol BW, van der Post JA, Leeflang MM, Meads CA, et al. Are tests for predicting pre-eclampsia good enough to make screening viable? A review of reviews and critical appraisal. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009;88:758-65.
 23. von Dadelszen P, Magee LA, Roberts JM. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2003;22:143-8.
 24. Powers RW, Roberts JM, Plymire DA, Pucci D, Datwyler SA, Laird DM, et al. Low placental growth factor across pregnancy identifies a subset of women with preterm preeclampsia: type 1 versus type 2 preeclampsia? *Hypertension* 2012;60:239-46.



New, fully automated Elecsys® AMH immunoassay

Highly precise assay providing clinical confidence

Quantitative determination of anti-Müllerian hormone (AMH) provides a reliable assessment of ovarian reserve along with age-specific reference ranges. Available on over 30 000 Roche immunoassays worldwide.

Caring for Maternal Health





nunoassay

ce in reliable assessment of ovarian reserve

ent of ovarian reserve supported by technical and clinical evidence
platforms worldwide.

al Health

cobas®

Life needs answers

Alderskontinuerlige referansegrens

Yngve Thomas Bliksrud, Lars Mørkrid,

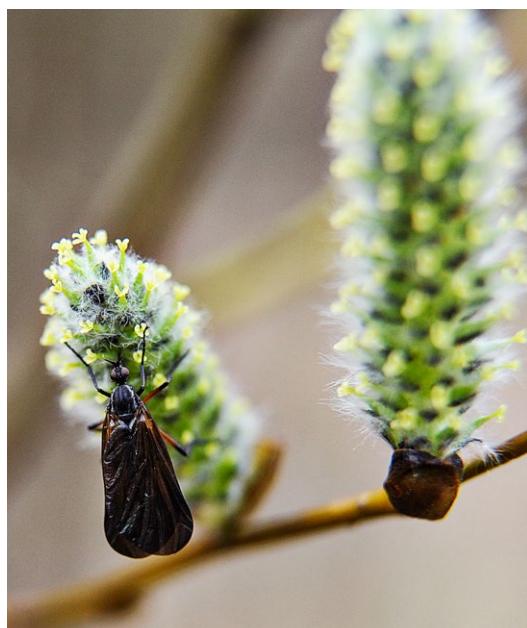
Avdeling for Medisinsk Biokjemi, Oslo Universitetssykehus

yngve.thomas.bliksrud@ous-hf.no, lamo2@ous-hf.no



Bakgrunn

Biokjemiske parametere kan endre seg med alder, særlig i barneårene, men referansegrensene er likevel ofte angitt i brede aldersintervaller. Den diagnostiske betydningen av en parameter kan derfor potensielt endre seg over natten når pasienten fyller år. Hvis man derimot bruker alderskontinuerlige referansegrens, unngår man dette problemet. Men å etablere kontinuerlige grenser krever en meget stor referansepopu-



Blommande grönvide (*Salix phylicifolia*). Foto: Henrik Alfthan.

lasjon, og det er ikke så lett å rekruttere friske individer til dette, særlig når det medfører invasive prosedyrer på barn. Bestemmelse av barns høyde- og vektutvikling er eksempel på målinger hvor alderskontinuerlige persentiler er helt nødvendig og vel innarbeidet. Det er tenkelig at også resultater fra flere biokjemiske parametere med fordel kunne angis i relasjon til persentiler, men det har det foreløpig ikke vært vanlig å gjøre.

Referansepopulasjoner fra sykehusproduksjonen

Ved Rikshospitalet, OUS, har vi i den senere tid forsøkt å etablere kontinuerlige referansegrens for ulike markører basert på referansepopulasjoner hentet ut fra sykehusproduksjonen. Det kan virke paradoxalt å bruke laboratoriedata til dette formålet. Slike data er jo fra en gruppe individer som nettopp er selektert grunnet mistanke om sykdom. Men hvis prevalensen av de aktuelle sykdommene som parameteren er en markør for, er relativt liten, vil den sentrale andelen av måle verdier kunne være representativt også for friske individer. En forutsetning blir da at den sentrale delen lar seg definere på en fornuftig måte. Tallmaterialet må altså ”renses” eksempelvis for ekstreme verdier og dessuten for repeterete prøver fra samme pasient. Fordelen med denne metoden er at meget stort antall prøver blir tilgjengelige for alle aldersgrupper.

U-kreatinin som eksempel

I det følgende vil vi vise et eksempel med utgangspunkt i U-kreatinin. Kreatinin i urin har sin viktigste funksjon som konsentrationsmål, andre substanser i urin angis gjerne som molar ratio til kreatinin. Vi har hentet ut samtlige målinger av U-Kreatinin fra rutineproduksjonen ved Rikshospitalet, OUS fra 2008 til 2013. Om prøvetakingen står det at volumet skal være samlet i minimum 6 timer (helst 24 timer). Svaret rapporteres i mmol/L. Opprinnelig ca 16000 prøvesvar ble redusert til 5454 kvinner og 6606 menn etter at prosjektpørøver og repeterete prøver ble eliminert. Prøvesvar fra kvinner og menn er behandlet separat, sortert etter alder og delt i undergrupper på 120 indi-

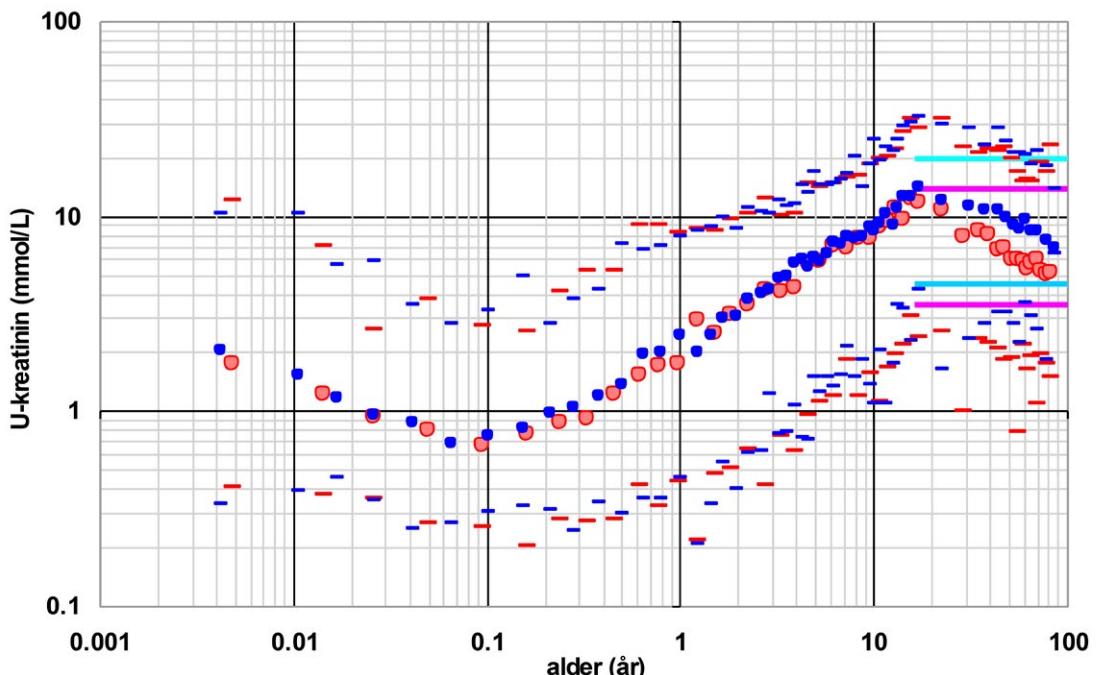
vider. Figuren fremstiller medianen fra alle undergruppene med respektive 2,5 og 97,5 persentiler beregnet nonparametrisk. U-Kreatinin er målt på laboratoriets hovedinstrument Roche Modular P800.

For å lette den visuelle tolkningen er det brukt logaritmisk skala både langs x- og y-aksen. X-aksen angir alder, den logaritmiske skalaen gjør kanskje kronologien mindre intuitiv, men yter de biologiske forandringer større rettferdighet. Intervallet fra 0,001 til 0,1 utgjør omtrent barnets første levemåned. Vi ser at kreatininverdien synker jevnt. Dette reflekterer mest sannsynlig eliminasjonen av kreatinin som har passert placenta. Fra 0,1 til 10 år stiger U-kreatinin jevnt med barnets vekst helt til voksen alder. Det er ikke åpenbar forskjell på kjønnene før puberteten. Fra 20 år er det en fallende tendens hele voksenlivet, og kvinner har signifikant lavere verdier. De vannrette linjene som er ført inn i siste del av diagrammet tilsvarer referanseintervallene for U-kreatinin for kvinner (rosa) og menn (lyseblå) som er i bruk ved Rikshospitalet i Oslo. Vi ser at de ikke tar hensyn til det naturlige fallet i U-kreatinin hos voksne. Flate referan-

segrenser gir risiko for både falske positive og negative når nivåene varierer så mye som i dette eksempelet. Angivelsene av 2,5 og 97,5-persentilene danner ikke like jevne linjer som medianen. Dette skyldes dels det faktum at upresisjonen alltid er større i perifere persentiler enn i medianen, men også tilstedevarerelsen av "slengere", fordi de ekstreme verdiene i dette materialet ikke er luket ut.

Konklusjon

Brede aldersintervaller for angivelse av referansgrenser for biokjemiske markører er vanlig, men ikke alltid heldig. Vi har med eksemplet U-kreatinin vist hvordan sykehussproduksjoner som gir store data mengder kan brukes til å beskrive aldersvariasjon for en biokjemisk markør, og dataene kan være utgangspunkt for å beregne kontinuerlige referansegrenser fra vugge til grav, basert på antagelsen om at den sentrale delen av tallmaterialet er representativ også for en frisk befolkning. Måleverdier for flere biokjemiske markører kan med fordel angis relatert til alderskontinuerlige persentiler.



Figur. Figuren viser utskillelsen av kreatinin i urin gjennom hele livet for begge kjønn. Kvinner og menn er angitt med henholdsvis røde og blå symboler. Hver sirkel representerer medianen i grupper av 120, og 2,5- og 97,5 persentilene er angitt med korte streker. Se ytterligere forklaring i artikkelen.

Vitamin K-beroende Protein C – ännu något konstigt

Johan Stenflo

Institutionen för Laboratoriemedicin Malmö, Universitetssjukhuset MAS. Lunds Universitet.
johan.stenflo@med.lu.se



Protein C – vad är det?

År 1974 hittade jag av en händelse ett plasmaprotein som, liksom de K-vitaminberoende koagulationsfaktorerna VII, IX, X och protrombin, binder kalciumjoner. När vi bestämde proteinets N-terminala aminosyrasekvens fann vi den K-vitaminberoende aminosyran gamma-karboxyglutaminsyra (Gla) – men sekvensen skiljde sig från de övriga proteinerna (Fig. 1). Den enda rimliga förklaringen var att vi hade hittat ett tidigare okänt K-vitaminberoende protein. Då jag inte visste något om proteinets funktion var det svårt att ge det ett namn. Till slut döpte jag det till Protein C eftersom det vid reningen hade eluerats i topp C vid den sista kromatografin (1,2).

Året därpå tillbringade jag, tillsammans med familjen, vid University of Wisconsin i Madison, som är beläget ett par timmars bilresa nordväst om Chicago.

I Madison hade jag förmånen att kunna ägna en stor del av min tid åt Protein C. Vid hemkomsten visste jag att Protein C, liksom t.ex. koagulationsfaktorerna protrombin och VII, IX och X, är ett proenzym till ett serinproteas (3). Plasmakoncentrationen av Protein C är ungefär 4 mg per liter medan koncentrationen av den aktiva formen (APC) bara är knappt 1 mikrogram per liter. Nu vet vi att vi utan detta mikrogram APC drabbas av dödliga venösa tromboser inom loppet av en halvtimme (4).

Jag ville veta mer om Protein C och bestämde mig för att bestämma dess aminosyrasekvens, vilket på den tiden var ett projekt på ett par år. För att kunna Rena fram tillräckligt med Protein C för sekvensningen skulle vi behöva uppemot hundra liter plasma. Det var alltså otänkbart att använda human plasma, varför vi fick hålla oss till den bovina formen.

cDNA sekvensning var inte aktuellt då den ännu inte var etablerad vid Malmöläboratoriet. Det fanns dessutom goda skäl som talade för proteinsekve-

Gla Domains of Human Vitamin K-dependent Proteins

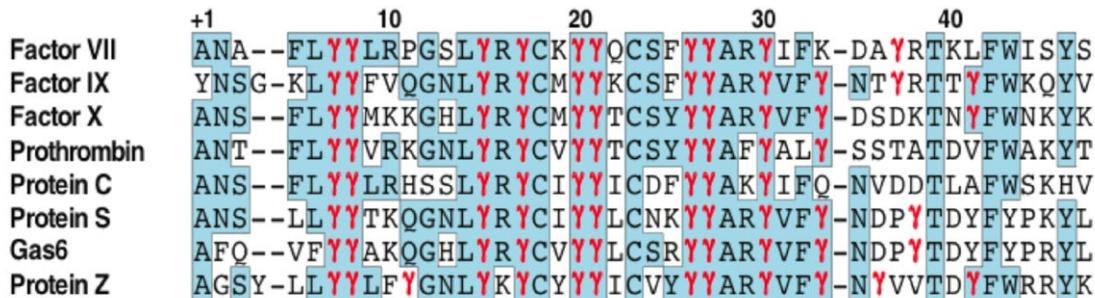


Fig. 1. Figuren visar sekvensen hos de K vitaminberoende koagulationsfaktorernas drygt 40 N-terminala aminosyror. Som framgår av figuren är sekvenslikheten påfallande. De röda Y står för Gla. Det framgår också att alla nio till elva N-terminala Glu är karboxylerade till Gla och att det inte finns någon konserverad sekvens runt de Glu som blir karboxylerade (till skillnad från t.ex. de prolin som hydroxyleras i collagen). Det förklaras av att det N-terminalt om Gla peptiden finns en så kallad propeptid (ej med på bilden), som binds till enzymet varefter alla närliggande Glu karboxyleras. Omedelbart innan sekretionen från hepatocyten klyvs propeptiden bort.

nering. Den behövdes t.ex. för att fastlägga var Gla fanns i sekvensen, var kolhydratsidokedjorna fanns, liksom för att ta reda på hur disulfidbryggorna var arrangerade. Dessutom var det nödvändigt för att få veta om det, förutom Gla, fanns andra posttranslatoriskt modifierade aminosyror i Protein C, vilket det skulle visa sig göra.

När jag lyckades intressera min kollega Per Fernlund att vara med såg det bra ut. Att ha någon att utbyta synpunkter med var ovärderligt. Dessutom hade vi två mycket skickliga biomedicinska analytiker till vår hjälp.

Protein C består av två peptidkedjor som binds samman av en disulfidbrygga. Genom att reducera disulfidbryggorna kunde vi separera de två kedjorna från varandra. I den något kortare, så kallade lätta kedjan, fann vi nio Gla medan den längre kedjan innehöll serinproteasdelen. Vi digererade den lätta kedjan med trypsin och isolerade de peptider som bildats. Vid sekvensningen av en peptid som visade sig innehålla aminosyrorna från position 69 till 75 fick vi problem. Aminosyran i position 71 kunde vi inte identifiera. Det var absolut ingen av de tjugo vanliga. Än en gång fick vi vända oss till experter på NMR och masspektrometri för att få hjälp.

Det visade sig att aminosyran i position 71 var en aminosyra som aldrig tidigare hade hittats i ett protein, nämligen *erytro*- β -hydroxyasparaginsyra, som vi förkortade till Hya (Fig. 2; 5,6). Till β -kolet var fyra olika grupper bundna, en -OH, en -COO⁻ en H och en -CH, vilket innebar att kolet var assymetriskt. Vid bestämning av Hya efter sur hydrolysis av Protein C kunde vi också notera att hydrolysen ledde till att en del av *erytro* formen omvandlades till *treo*, vilket var lätt att visa då de två formerna separerade från varandra vid kromatografi på en anjonbytare.

Fig. 2. *Erytro*- β -hydroxyasparaginsyra (Hya) och *erytro*- β -hydroxyasparagin (Hyn).

Snart fann vi Hya också i den lätta kedjan från FIX och FX (2). Men vad har Hya och de C-terminala två tredjedelarna av kedjan för funktion? Vi visste att där finns tolv cysteinrester, som med stor sannolikhet var förenade genom disulfidbryggor. Vad var det för typ av proteindomäner? För att sätta vårt problem i perspektiv kan vi titta lite bakåt i tiden.

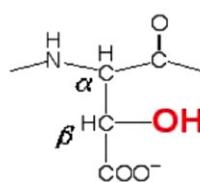
Hya finns i proteindomäner som liknar den epidermala tillväxtfaktorn, EGF

I början av sextiolet isolerade man en intressant peptid från den submaxillära körteln hos möss. Den visade sig vara ett kraftigt mitogen, som stimulerar tillväxt av olika epiteliala och epidermala celler. Den humana motsvarigheten, den epidermala tillväxtfaktorn (EGF), har 53 aminosyror, varav sex är cystein (Cys), som är förenade av disulfidbryggor.

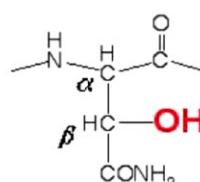
Mindre än ett år efter att vi hittat Hya i Protein C publicerade Ross Doolittle, och hans medarbetare vid University of Southern California, ett arbete som handlade om hur de hade klonat cDNA till EGF prekursorn och visat att den är ett membranprotein med nio EGF-lika domäner och drygt 1000 aminosyror (7). Den N-terminala domänen är den, som efter proteolys av prekursorn, blir EGF. Flera av de EGF-lika domänerna i prekursorn har en påtaglig sekvenslikhet med den lätta kedjan i faktorerna VII, IX, X och Protein C (7). I var och en av de fyra koagulationsfaktorerna visade det sig snart finnas två EGF lika domäner, som är belägna C terminalt om Gla domänen. Hya finns alltid i den N terminala delen av dem (8).

När vi isolerat den aminoterminala, Hya-innehållande, EGF-lika domänen såg vi snart att dess anodala elektroforetiska mobilitet var lägre i en buffer som innehöll kalciumjoner än i en som saknade

Hya, Hyn



erythro- β -hydroxyaspartate



erythro- β -hydroxyasparagine

Factor IX, EGF 1

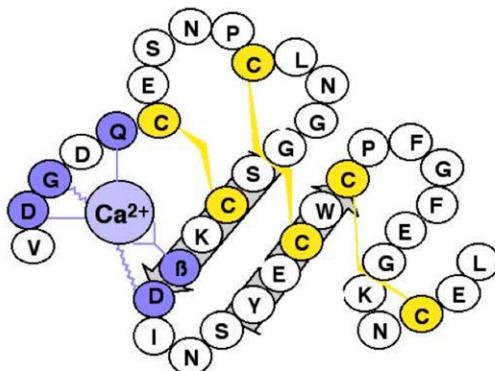


Fig. 3. Figuren visar en schematisk struktur av EGF1 i faktor IX. Alla Cys® är gula medan de aminosyror som är ligander till kalciumjonen är blå. Som framgår av bilden är det åtta aminosyror mellan Cys 3 och Cys 4, som bildar en så kallad β -pleated sheet. Hya (β i figuren) och den efterföljande Asp (D) är båda ligander till kalciumjonen. Övriga ligander är D, G och Q, N-terminalt om den första C. Intill Hya, fem steg mot C-terminalen, ligger den konserverade Tyr (Y). Motsvarande domäner i faktorerna VII, X och Protein C har en påfallande sekvenslikhet.

kalcium (8-10). Orsaken var förstås att den binder kalcium. Det var första gången det visades att en EGF-lik domän kan binda en kalciumjon. Nu vet vi att det finns massor av extracellulära proteiner och membranproteiner som har Hya och/eller *erytro*- β -hydroxyasparagin (Hyn) och binder kalcium. Uppskattningsvis en tredjedel av alla EGF lika domäner har en Hya eller en Hyn och binder en kalciumjon. Membranproteinet NOTCH, som är en regulator av celldifferentiering, är ett bra exempel. Det har 36 EGF-lik domäner och finns såväl hos mänskliga som hos *Drosophila*. Av de 36 domänerna tycks 21 ha en Hya/Hyn och binda kalcium. Fibrillin, ett viktigt protein i det extracellulära matrix, har 43 Hya- innehållande och kalciumbindande EGF-lik domäner. Mutationer i de EGF domänerna i fibrillin kan leda till olika bindvässjukdomar, t.ex. Marfans syndrom (11).

Var i domänen det kalciumbindande sitet finns visste vi inte då dess tredimensionella struktur ännu var okänd. Men genom att göra en jämförelse av EGF-lik domäner, som innehöll Hya med sådana som saknade Hya, med avseende på kalciumbindande förmåga, kunde vi ta några steg i rätt riktning. Det visade sig

att det är de Hya/Hyn innehållande domänerna som binder kalcium medan de andra inte gör det.

Det var också klara strukturrestriktioner på de Hya-innehållande, kalciumbindande domänerna (Fig. 2). För att den aktuella Asp ska hydroxyleras till Hya måste det vara åtta aminosyror mellan Cys tre och fyra och dessutom måste den Asp (D) eller Asn (N) som hydroxyleras till Hya eller Hyn finnas två steg C-terminalt om Cys tre medan det ytterligare fem steg mot C-terminalen alltid finns en hydrofob aminosyra, Tyr (Y), Phe (F), Ile (I), Leu (L) (12-14). Längre än så kom vi inte.

Man hade länge, men utan framgång, försökt att kristallisera EGF för att bestämma dess tredimensionella strukturen med röntgenkristallografi. Det fick Ian Campbell och medarbetare vid universitetet i Oxford att försöka bestämma strukturen med kärnresonansspektrometri (NMR). Det var en i sammanhanget ny metod och den var bara användbar på små proteiner eller proteindomäner. Campbell och medarbetar var bland pionjärerna. De kunde 1987 publicera strukturen hos EGF (15). Baserat på strukturen och med hänvisning till att vi visat att vissa EGF-lik domänerna binder kalcium, kunde de visa var i domänen det kalciumbindande sitet är beläget. Det blev då uppenbart hur Hya/Hyn (β i Fig. 3) är involverade i kalciumbindningen. För oss var det ett viktigt arbete som rätade ut flera frågetecken.

NMR studierna visade också att Hya och en av de hydrofoba aminosyror, som våra sekvensjämförelser visat vara konserverad (Tyr, Phe, Ile, Leu), alltid finns intill varandra i en β -pleated sheet (Fig. 3). NMR strukturen gav oss en viktig pusselbit till. Den visade att i de EGF-lik domäner som har Hya så finns det alltid två negativt laddade aminosyror (Asp och/eller Glu, D och G i Fig. 3) N-terminalt om den första Cys resten (C i Fig. 3). Karboxylgrupperna i de N-terminala Asp/Glu är dessutom ligander till kalciumjonen, liksom β -karboxylen i Hya. Slutligen bör det framhållas att det inte finns någon Hya i pro-trombin, som saknar EGF-lik domäner.

Den EGF-lik domänens affinitet för kalciumjoner är tillräckligt hög ($K_d \approx 100 \mu\text{M}$) för att sitet skall vara mättat vid den fysiologiska koncentrationen av fria kalciumjoner. Genom att vi funnit ett sätt att kontrollera degradera FX med trypsin kunde vi rena stora mängder av ett proteolytiskt fragment, som innehöll Gla domänen och den N-terminala, Hya-innehållande, EGF lika domänen (16). Det skulle hjälpa oss

att förklara kalciumbindningens fysiologiska betydelse. Än en gång skulle NMR vara avgörande.

Vad gör då kalciumbindningen? En Gla domän och en EGF-lik domän, eller för den delen två EGF-lik domäner, har i främst av kalcium stor rörlighet i förhållande till varandra (Fig. 4). Men om nummer två har en Hya och således har en kalciumjon bunden fixeras domänerna i förhållande till varandra. Så gör t.ex. bindningen av kalciumjonen till den N-terminala EGF-lik domänen i aktiv Faktor IX att Gla domänen blir orienterad på ett sätt, som är optimalt för interaktionen med t.ex. Faktor VIII (17). Det förklarar varför patienter med Hya muterad i Faktor IX får hemofili B (18). I Fig. 5 visas en schematisk bild av Protein C.

Om man tittar på membranproteinet NOTCH, som har 36 EGF-lik domäner så är effekten av kalciumbindningen uppenbar (19). Vid elektronmikroskopi, i främst av kalcium, ser molekylen ut som en slingrig orm. I närvaro av kalcium är det dock tydligt att vissa delar, de som består av kalciumbindande EGF-lik domäner, är raka som en pinne. Nu vet vi att Hya, kalciumbindningen och den därav betingade nedsatta rörligheten i vissa delar av molekylen är funktionellt viktiga för celldifferentieringen (11, 19).

Asp-β-hydroxylaset leder till samarbete med den moderna peptidsyntesens fader

Efter en tid började jag undra vad det är för ett enzym som hydroxylerar Asp/Asn till Hya respektive Hyn i koagulationsfaktorerna. Kunde det vara relaterat till prolinhydroxylas, som hydroxylerar prolin till hydroxyprolin i prokollagen? Som bekant får vi skörbjugg vid askorbatbrist (vitamin C) på grund av bristfällig prolinhydroxylering. I biokemiböckerna kan vi lära oss att prolinhydroxylas är ett så kallat dioxygenas, som har en Fe^{2+} ion i aktiva siten, som behövs för att aktivera O_2 (Fig. 7). Dessutom behövs ett kosubstrat, α -ketoglutarat. En O från O_2 bildar $-\text{OH}$ i prolinet medan O nummer två går in i α -ketoglutaratet, som därvid klyvs till succinat och CO_2 . Därav namnet, dioxygenas. Som en följd av reaktionen oxideras Fe^{2+} , i enzymets aktiva site, till Fe^{3+} . Askorbinsyran behövs som kofaktor till enzymet för att reducera Fe^{3+} till Fe^{2+} och därigenom reaktivera enzymet. Genom att ha den kolatom i α -ketoglutaratet, som klyvs bort som CO_2 , märkt med ^{14}C blir det lätt att bestämma den enzymatiska aktiviteten.

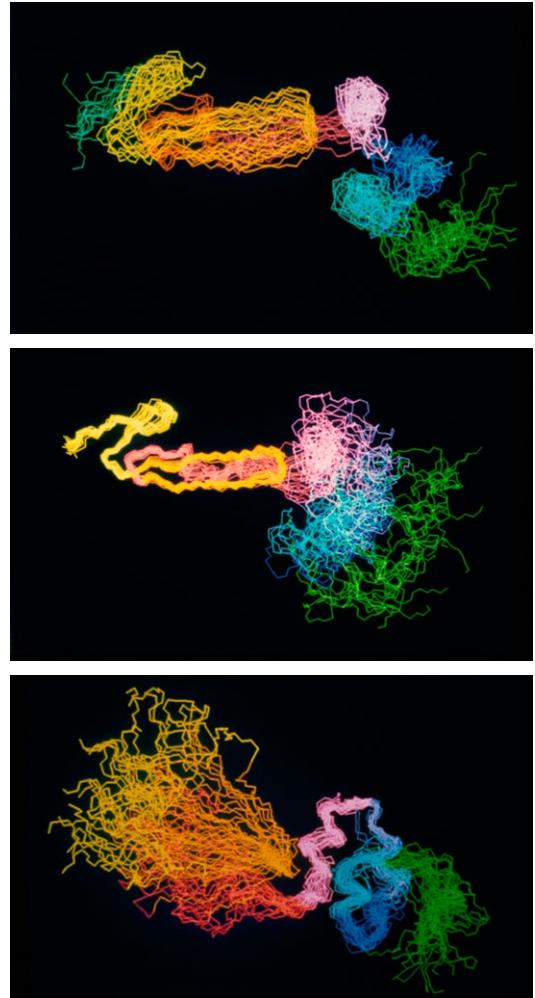


Fig. 4. De tre bilderna visar strukturen för Gla och den amioterminala EGF-lik domänen (utan aminosyrornas sidokedjor) i främst av kalcium. Ett flertal strukturer, bestämda med NMR, har lagts på varandra. Överst har man då tagit hänsyn till alla aminosyrorna, i bilden under bara till aminosyrorna i EGF domänen och nederst endast till aminosyrorna i Gla domänen. Överst ser man att strukturerna inte passar så bra med varandra. I bilden under är EGF domänerna välordnade medan Gla domänen är än mer spridd. Underst ser man att den C-terminala delen av Gla domänen är välordnad medan EGF domänen är utspridd. Den, gröna delen av Gla domänen är alltid ordnat i främst av kalcium. Slutligen blir att Gla och EGF domänerna rör sig i förhållande till varandra i främst av kalcium. När en kalciumjon är bunden till sitet N-terminal i EGF domänen läses Gla och EGF domänerna i förhållande till varandra. Om en av liganderna muteras i t.ex. FIX rör sig domänerna i förhållande till varandra och den biologiska aktiviteten hos FIX sjunker och patienten får hemofili B.

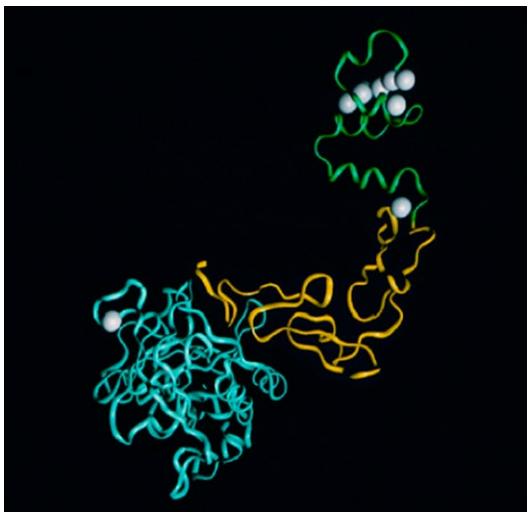


Fig. 5. Figuren visar en schematisk bild av Protein C molekylen. Längst ner är Gla domänen (grön) med sex bundna kalciumjoner (vita klot). Övanför är de två EGF-lika domänerna (gula). Mellan Gla och den aminoterminala EGF-lika domänen syns ännu en kalciumjon, den som fixerar Gla domänen och den aminoterminala EGF-lika domänen i förhållande till varandra (jämför med Fig. 5). Överst, till vänster, syns serinproteasdomänen (blå). Även den har en bunden kalciumjon.

Kanske är askorbat kofaktor också vid hydroxyleringen av asparaginsyra och asparagin? Vid sidan av människan är marsvinet den enda vertebrat som drabbas av skörbjugg/skorbut vid C-vitaminbrist. Övriga vertebrater tillverkar C-vitamin själva. Vi skaffade oss marsvin och satte dom på en diet som relativt snabbt gjorde dem scorbutiska. Men icke – trots att de fick skorbut så gick inte halten av Hya ned i de K-vitaminberoende proteinerna (20). I själva verket finns det rader av dioxygenaser, som hindrar oxidering av Fe^{2+} till Fe^{3+} i enzymets aktiva site utan att behöva askorbat som kofaktor.

Dioxygenaser är komplicerade enzymer. Jag behövde hjälp. I Sverige fanns vid denna tid två experter på dioxygenaser: Sven Lindstedt, professor i klinisk kemi vid Sahlgrenska Sjukhuset i Göteborg och hans medarbetare och kollega, Elisabeth Holme. Jag frågade dem om de var intresserade av att samarbeta för att ta reda på mer om Asp hydroxylaset. Och visst var de det. Första frågan var förstås vad vi skulle försöka med som substrat till enzymet. Våra studier hade ju redan visat att Hya satt två aminosyror från Cys tre och att det var en isoleucin/valin intill

den i en β -pleated sheet (Fig. 3). Det sannolika var att en intakt EGF-lik domän behövdes som substrat för hydroxylaset. Fast, kanske fungerade vilken liten Asp innehållande peptid som helst. Vi prövade och det fungerade förstås inte (20).

Allt talade alltså för att substratet måste bestå av en intakt EGF-lik domän med tre disulfidbryggor och med de strukturkrav som jag redan beskrivit. Så stora peptider hade vi inte syntetiserat och än mindre hade vi någon erfarenhet av peptider med Cys rester som skulle bilda disulfidbryggor.

Ett par år tidigare hade den moderna peptidsynthesens fader, professor Bruce Merrifield, vid Rockefelleruniversitetet i New York syntetiserat EGF och fått den rätt veckad med sina tre disulfidbryggor (21,22). Det var ett stort genombrott i peptidsyntesen. Merrifield hade modifierat de gängse metoderna för peptidsyntes på ett genialt sätt. Han fäste den första, N-terminala, aminosyran på små kulor, och byggde sedan på aminosyrorna en och en. Genom att ha peptiden fäst på kulorna var det lätt att efter varje steg tvätta bort alla reagens och börja om från början med nästa aminosyra. Det underlättade syntesen enormt. Merrifields banbrytande utveckling av peptidsyntesen gjorde att han belönades med Nobelpriset i kemi 1984.

Jag tänkte att det kunde väl aldrig vara fel att skriva och fråga om Merrifield kunde tänka sig att hjälpa oss med syntesen av en EGF-lik domän, som borde fungera som substrat till hydroxylaset. Jag fick ett positivt respons och reste genast till New York för att besöka honom på Rockefelleruniversitetet. Där fanns också en annan av mina idoler, professor Stanford Moore, som med rätta betraktas som aminosyraanalysatorns fader. Honom fick jag också besöka och kunde bese hans första hemgjorda aminosyraanalysator.

Vi ville ha den N-terminala EGF-lika domänen i faktor IX som substrat för hydroxylaset, fast med Asp i position 64 i stället för Hya. Det dröjde inte länge förrän en av Merrifields många medarbetare hade syntetiserat domänen och skickat den till oss. Vi testade genast om den skulle fungera som substrat och – det gjorde den (23). Det här Asp β -hydroxylaset är således ett enzym med mycket höga krav på substratet; endast Asp i rätt position i en EGF-lik domän hydroxyleras. För vår del var det över här. Vi visste att hydroxylaset är ett dioxygenas, men ett som inte behöver askorbat, och att endast Asp i rätt position i en EGF-lik domän hydroxyleras. Det var nog för oss.

Epilog

År 1981 disputerade min förste doktorand, Björn Dahlbäck. Han är nu professor i koagulationsforskning vid Lunds Universitet och verksam i Malmö vid Laboratoriemedicin Skåne. Björn tog sig an Protein C. Hans upptäckt av den så kallade APC resistensen gjorde att Protein C hamnade i centrum för intresset hos alla dem, som arbetar med blodkoagulationen och försöker hitta metoder för att förebygga venös trombos (24-26). Kanske vill han berätta om det i ”Klinisk Biokemi i Norden”.

Gla och Protein C kom att ändra hela min verklighet på arbetet. Tre amerikaner kom som gästforskare, av vilka en blev en god vän. Dessutom kom flera postdoctoral fellows under årens lopp. Två kom från Japan, en från Kanada, en från Nya Zeeland och en från Australien. Den senare var en intressant person, som förklarade att han haft svårt att bestämma sig för om han skulle ägna sig åt forskning eller bli golfproffs.

Den som i unga år bestämmer sig för en framtid inom laboratoriemedicinen måste förr eller senare ta ställning till om hon/han ska lägga ner tid på forskning för att efter några år doktorera. Än svårare är

kanske att avgöra om man ska fortsätta att satsa på forskning efter att man doktorerat. Kan man t.ex. ägna sig åt forskning utan att familjen får betala ett högt pris för att mamma/pappa kommer hem för sent eller är borta för mycket? Jag tror dock att dagens unga forskare hanterar frågan mycket bättre än min generation gjorde. Om forskningen inte går ut över familjen och om man trivs med den och har en bra handledare så ska man förstås prova, och om det går bra – och viktigast – om man tycker det är roligt, då ska man satsa.

Referenser

1. Stenflo J. A new vitamin K-dependent protein. Purification from bovine plasma and preliminary characterization. *J Biol Chem* 1976;251:355-363.
2. Stenflo J. En resa med Protein C – ett nytt K-vitaminbroende protein. *Klinisk biokemi i Norden*. 2012;25:32-40.
3. Esmon CT, Stenflo J, Suttie JW, Jackson CM. A new vitamin K-dependent protein. A phospholipid-binding zymogen of a serine esterase. *J Biol Chem* 1976;251:3052-3056.
4. Seligsohn U, Berger A, Abend A, Rubin L, Attias D, Zivelin A, Rappaport S. Homozygous Protein C deficiency manifested by massive thrombosis in the newborn. *N Engl J Med* 1984;310:559-562.
5. Drakenberg T, Fernlund P, Roepstorff P, Stenflo J. β -Hydroxyaspartic acid in vitamin K-dependent Protein C. *Proc Natl Acad Sci* 1983;80:1802-1806.
6. Fernlund P, Stenflo J. β -Hydroxyaspartic acid in vitamin K-dependent proteins. *J Biol Chem* 1983;258:12509-12512.
7. Doolittle RF, Feng DF, Johnson MS. Computer-based characterization of epidermal growth factor precursor. *Nature* 1984;307:558-560.
8. Öhlin, A-K, Linse S, Stenflo J. Calcium binding to the epidermal growth factor homology region of bovine Protein C. *J Biol Chem* 1989;263:7411-7417.

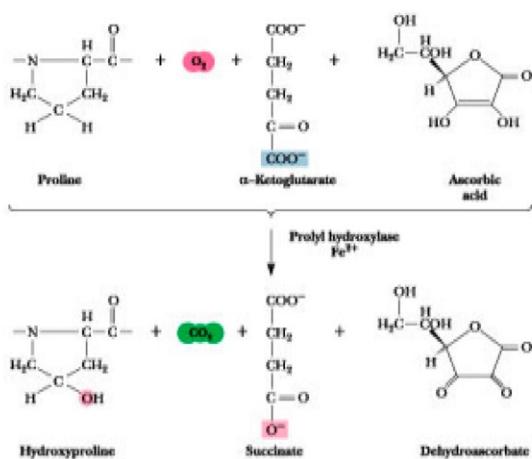


Fig. 6. Figuren visar hur dioxygenaser fungera. Bilden visar det kanske bäst kända dioxygenaset, nämligen prolylhdroxylas. Askorbaten behövs för att förhindra att Fe^{2+} i enzymets aktiva site oxideras. Av de två syrena i O_2 bildar det ena $-OH$ gruppen i prolinet medan det andra går till α -ketoglutaratet som klyvs så att CO_2 och succinat bildas. Genom att ha den ena karboxylgruppen i α -ketoglutaratet (den som är blåfärgad i figuren) märkt med ^{14}C kan enzymets aktivitet lätt bestämmas. CO_2 som bildas samlas upp i en alkalis lösning varefter radioaktiviteten bestäms.

9. Persson E, Selander M, Linse S, Drakenberg T, Öhlin S, Stenflo J. Calcium binding to the isolated β -hydroxyaspartic acid-containing epidermal growth factor-like domain of bovine factor X. *J Biol Chem* 1989;264:16897-16904.
10. Asterman J, Björk I, Öhlin A-K, Stenflo J. Structural requirements for Ca^{2+} binding to the γ -carboxyglutamic acid epidermal growth factor-like regions of Factor IX. *J Biol Chem* 1991;266:2430-2437.
11. Downing AK, Knott V, Werer JM, Cardy CM, Handford PA. Solution structure of a pair of calcium-binding epidermal growth factor-like domains: implications for the Marfan Syndrome and other genetic disorders. *Cell* 1996;85:597-605.
12. Rand MD, Lindblom A, Carlson J, Villoutreix BO, Stenflo J. Calcium binding to tandem repeats of EGF-like modules. Expression and characterization of the EGF-like modules of human Notch-1 implicated in receptor-ligand interactions. *Protein Science* 1997;6:2059-2071.
13. Handford PA, Downing AK, Reinhardt DP, Dakai LY. Fibrillin: from domain structure to supermolecular assembly. *Matrix Biology* 2000;19:457-470.
14. Öhlin A-K, Stenflo J. Calcium-dependent interaction between the epidermal growth factor precursor-like region of human Protein C and a monoclonal antibody. *J Biol Chem* 1987;262:13798-13804.
15. Cooke RM, Wilinson AJ, Baron M, Pastore A, Tappin MJ, Campbell ID, Gregory H, Sheard B. The solution structure of human epidermal growth factor. *Nature* 1987;327:339-341.
16. Persson E, Selander M, Linse S, Drakenberg T, Öhlin A-K, Stenflo J. Calcium binding to the isolated β -hydroxyaspartic acid-containing epidermal growth factor-like domain of bovine factor X. *J Biol Chem* 1989;264:16897-16904.
17. Sunnerhagen M, Forsén S, Hoffrén A-M, Drakenberg T, Teleman O, Stenflo J. Structure of the Ca^{2+} -free Gla domain sheds light on membrane binding of blood coagulation proteins. *Nature Structural Biology* 1995;2:504-509.
18. Winship PR, Dragon AC. Identification of haemophilia B patients with mutations in the two calcium binding domains of factor IX: importance of a beta-OH Asp 64-Asn change. *Br J Haematol* 1991;77:102-109.
19. Boswell EJ, Kurniawan ND, Downing AK. Calcium-binding EGF-like domains. *Handbook of Metalloproteins* Vol. 3:553-570. Edited by Messerschmidt A, Bode, W, Cygler M. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, 2004.
20. Stenflo J, Fernlund P. β -Hydroxyaspartic acid in vitamin K-dependent plasma proteins from scorbutic and warfarin-treated guinea pigs. *Febs Letters* 1984;168:287-291.
21. Merrifield RB. Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. *J Am Chem Soc* 1963;2149-2154.
22. Merrifield RB, Vizioli LD, Boman HG. Synthesis of the antibacterial peptide cecropin A (1-33). *Biochemistry* 1982;21:5020-5031.
23. Stenflo J, Holme E, Lindstedt S, Chandramouli N, Tsai Huang LH, Tam JP, Merrifield RB. Hydroxylation of aspartic acid in domains homologous to the epidermal growth factor precursor is catalyzed by a 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase. *Proc natl Acad Sci USA* 1989;86:444-447.
24. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated Protein C. *Proc natl Acad Sci USA* 1993;90:1004-1008.
25. Svensson PJ, Dahlbäck B. Resistance to activated Protein C as a basis for venous thrombosis. *N Engl J Med* 1994;330:5517-522.
26. Dahlbäck B. Progress in the understanding of the Protein C anticoagulant system. *Int J of Hematol* 2004;79:109-116.

Welcome into 2015

We are here to make the world Healthier, Safer and Cleaner

We continue to deliver new unique Allergy and Autoimmunity diagnostic products to the market.

These 3 are ready for you to order ...

ImmunoCAP Alpha Gal

The unbelievable new allergen test – resolving mammalian meat allergy

- Galactose-alpha-1-3-galactose
- Allergen code o215

EliA Calprotectin 2

First-line test to rule out an Intestine Inflammatory process

New Updated test:

- Highest measuring range; up to 6000 mg/kg
- Improved reproducibility and extraction stability
- High clinical sensitivity

As all other EliA markers; fully automated random access

ImmunoCAP Tryptase – Update

For evaluation of mastcell activation (eg. Allergic reactions, Mastocytosis)

New Updated test:

- Elimination of heterophilic antibody interference
- Unique recombinant Tryptase calibrator
- Extended documentation

www.thermoscientific.com/phadia

Denmark

Tel: + 45 70 23 33 06

info-dk.idd@thermofisher.com

Finland

Tel: +358 9 3291 0110

info-fi.idd@thermofisher.com

Norway

Tel: +47 21 67 32 80

no.idd@thermofisher.com

Sweden

Tel: +46 18 16 60 60

info-se.idd@thermofisher.com

Avhandling:

Improving venous blood sampling practices

Karin Bölenius

Department of Nursing, Department of Medical Biosciences, Clinical Chemistry

Umeå University, Sweden

karin.bolenius@umu.se



Summary

My thesis "Improving venous blood specimen collection practices – Method development and evaluation of an educational intervention program", available at: <http://umu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A705815&dsid=9859>

is, to my knowledge, the first that has evaluated the impact of a large-scale educational intervention program on venous blood sampling practices. By using the frequent occurring near-miss markers it was possible to compare and benchmark venous blood sampling practices down to the individual healthcare unit and hospital ward. Our results indicate that monitoring and take action against near misses in venous blood sampling practices is a well-functioning preventive action to prevent errors to occur. The general educational intervention program opened up opportunities for reflection about health care safety and improved venous blood sampling practices in primary health care centres with larger deviations from guidelines. Educational intervention programs that provide time for reflection and discussion could therefore further improve venous blood sampling practices. Directed educational intervention programs focused on specific venous blood sampling practice flaws might be even more effective. The thesis, has led to deeper and extended knowledge of the impact of an educational intervention program on venous blood sampling practices. The methodology used and the results of the thesis can be used when considering venous blood sampling practice interventions.

Background

Laboratory services influence clinical decision making (1, 2). Almost 60%–80% of the most important decisions

in diagnosis, administration, and medication are based on laboratory test results (1, 3). Error rates in laboratories varies between 0.05% and 10% (4, 5). Deficiencies in venous blood sampling (VBS) practices may lead to the need of a repeated collection and delay in diagnosis and treatment. Compromised test results also mean additional patient suffering and increased costs for the society as well as for the individual patient (6). VBS is strictly regulated by guidelines (7, 8). VBS personnel often deviates from those guidelines (9, 10, 11, 12) which increases the risk for an error to occur. Some reasons for the low compliance to guidelines have been found to be e.g. personnel disagreeing with recommended guidelines and considering them unnecessary (13), lack of time, and lack of support from the clinic or their superiors (14). More-over, errors in VBS usually depend on human mistakes in relation to the system (15), indicating that they are preventable.

The majority of errors within the total testing process occur in the pre-analytical phase (3). Some examples of the pre-analytical errors encountered are incorrect analysis ordered (12), incorrect patient preparation procedures such as insufficient patient rest, use of information from outdated sources (11, 16), and use of wrong type of collection tube (5). A common reason for specimen rejection and renewed sampling is specimen haemolysis, which in most cases is caused by incorrect specimen collection procedures (17, 11). Common specimen handling errors include incorrect test tube labelling (10, 11), incorrect test request management, missing tubes, and transportation errors (18).

Our previous studies demonstrated the phlebotomists' self-reported VBS practices performance was poor as it did not adherence to VBS guidelines (9, 10, 11, 12, 16). This motivated a short but large-scale educational intervention program intending to update

VBS practices and implement national and local VBS practice guidelines of all VBS personnel within the Västerbotten County Council, Sweden. To evaluate the prevention program, it is necessary to develop functional outcome measures tested for validity and reliability. The occurrence of sample haemolysis and a self-reported questionnaire have hitherto not been used in such an evaluation process. Also qualitative research based on the personnel's own experiences of VBS was also lacking.

Methods

In the four studies that was part of the thesis we used both quantitative as well as qualitative methods. The study settings were primary healthcare centres in northern Sweden. Participants were VBS personnel. Data consisted of the VBS questionnaire of self-reported practices (19, 20), medical records of low-level haemolysis index (specimens quality indicator) in serum samples (21), and interviews about VBS practices (22). The VBS questionnaire was developed in accordance with the national gu-

deline (23). First, we tested the VBS questionnaire for validity and reliability. Thereafter, we evaluated the impact of the educational intervention program. We compared a self-reported VBS questionnaire of two county councils with a before-after approach. The personnel were divided into an intervention group ($n = 84$) and a corresponding control group ($n = 79$). In order to test changes in blood specimen quality we monitored haemolysis in serum samples (2008, $n = 6652$ samples and 2010, $n = 6121$ samples) from 11 Primary health care centres. Finally, thirty VBS personnel from ten Primary health care centres reported their experiences. Data were analysed using descriptive, comparative and multivariate statistics in three of the studies. In the last study, the interview questions were open-ended. The interviews were analysed by qualitative content analysis (Graneheim H & Lundman, 2004). Educational substance was based on the guideline the National Handbook for Healthcare and local directives, directives almost identical to the CLSI H3-A6 guideline. The educational intervention program was mandatory and included three parts: 1)

Table 1. Percentage of haemolysed specimens ($HI \geq 15$, free $Hb \geq$ approx. 150 mg/L) and HI 95th percentile in 11 PHCs before (July–September 2008) and after (July–September 2010) the EIP.

PHCs 2008	n ¹	HI \geq 15 (%)	HI 95 th	PHCs 2010	n ¹	HI \geq 15 (%)	HI 95 th	P
PHCs all	6652	10.5	19	PHCs all	6121	11.8	22	0.022
Rural	2039	15.8	23	Rural	1902	12.8	22	0.007**
Urban	4613	8.2	18	Urban	4219	11.4	22	<0.001*
1	472	6.4	16	1	559	5.9	16	0.864
2	713	7.2	16	2	628	8.3	19	0.502
3	1223	7.6	17	3	989	9.7	21	0.063
4	477	9.0	18	4	396	9.6	19	0.834
5	307	17.6	24	5	363	12.0	22	0.059
6	609	7.9	18	6	606	16.5	27	<0.001*
7	1138	8.3	18	7	1089	13.3	23	<0.001*
8	458	13.7	24	8	348	16.1	24	0.409
9	362	13.8	21	9	364	12.1	21	0.561
10	649	14.9	21	10	541	10.9	21	0.049
11	244	32.0	34	11	238	24.4	31	0.080

Rural = PHCs 4, 5, 9–11; Urban = PHCs 1–3, 6–8

¹n = number of specimens, P = chi square for independence

*significantly increased percentage of haemolysed specimens,

**significantly decreased percentage of haemolysed specimens

Participating VBS personnel had to read the national VBS guideline as a part of the educational intervention program and intervention group signify that they had read the guidelines before the education. 2) Attendance at two oral lectures as compulsory. The first included VBS practices concerning information regarding local non-adherence to preanalytical practices, and emphasis was also put on how to avoid haemolysis.

Results

A validated venous blood sampling questionnaire

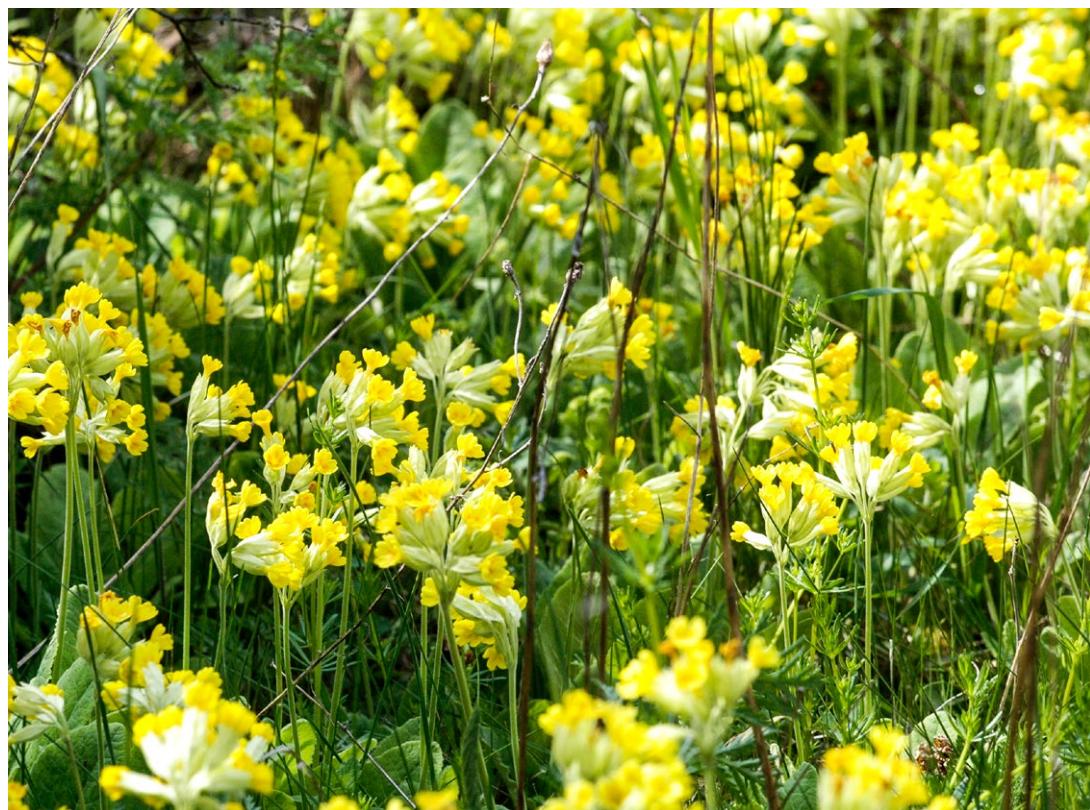
The venous blood sampling questionnaire was found to have acceptable validity and reliability. It included 19 questions of which 9 had in total 34 underlying items. The test-retest analysis demonstrated that questions and items had acceptable stability; a total of 82% fulfilled the reliability acceptance criteria. Questions and items were considered clearly outlined and easy to understand (19).

Adherence to venous blood sampling guidelines

When evaluating the educational intervention program, we found that self-reported adherence to guidelines had significantly improved in several items (10 out of 32) in the intervention group, while the control group showed no significant improvements at all.

Intervention group participants reported more often searching for information using the Internet and internal networks. They more seldom used printed papers, and seldom asked colleagues for information ($p < 0.001-0.003$). Participants also reported that they more often allowed the patients to rest for the recommended time before venipuncture ($p = 0.004$).

After the educational intervention program, participants from the intervention group stated that they more often checked that the test request and test tube identification number matched ($p = 0.003$), and more often labelled test tubes at the patient's side before specimen collection ($p = <0.001$) in accordance with guidelines. They also significantly improved control



Gullviva (*Primula veris*). Foto: Henrik Alfthan.

of patient's photo identification ($p = <0.001$). All findings above regarding identification procedures were significantly improved for the intervention group, but no differences were found in the between-group comparisons with the control group (20).

Blood specimen quality

The total percentage of specimens with haemolysis index ≥ 15 during July to September 2010 was 11.8% compared to 10.5% in 2008 ($p = 0.022$) (Table1), showing a degradation of blood specimen quality following phlebotomy. Rural primary health care centres had a higher percentage of haemolysed specimens before the intervention and higher reduction of haemolysis in the univariate analyses; therefore, it was essential to compare rural with urban primary health care centres. Divided into groups, rural Primary health care centres demonstrated a significant ($p < 0.001$) reduction in haemolysis (Odds ratio = 0.74, CI = 0.651–0.851) after intervention, whereas the urban Primary health care centres demonstrated a significant ($p < 0.001$) increase (OR = 1.45, CI = 1.912–1.765) in haemolysis (21).

Experiences of venous blood sampling practices

Primary healthcare VBS personnel's experienced that the education opened up opportunities for reflections on safety. They *became aware of risks, achieved improvements in clinical practice and felt strengthened in working as usual*. Reflections on safety revealed during the analysis could be identified in almost all subthemes and in relation to the educational intervention program.

The participants *become aware of risks*. They related that low accuracy and communication problems could be risky when performing identification procedures. Participants reflected on environmental disturbances, stressful and noisy atmosphere, deficient workplans and pointed them out as risks for VBS practice errors. They described the physical environment as varying from arranged to completely unfamiliar places. Lack of knowledge such as not knowing the content in the VBS guidelines was experienced as risky. More-over, transfer of information was described as a risk for misunderstanding and sample delay, patients and/or the professionals sometimes received wrong or no information at all.

Participants reflected on safety and reported that they had *achieved improvements in clinical practice*.

To have standardised ways of working was described as important to ensure quality,. Participants described how they improved in following guidelines, such as using venous stasis for a shorter period of time and inverting test tubes more in line with the national guidelines. One PHC had bought bags especially for sampling, with space for all materials and a carrier to store the tubes standing as instructed. The participants described better routines, such as performing one thing at a time, and reflected on improvements in planning, being well prepared, making systematic checks, and having all the materials available. The participants described being more careful after the education and having learned about the importance of comparing the identity with the test request. They were also more accurate in labelling test tubes.

Some participants felt that they already worked as instructed, while others thought that they had not learnt anything new during the education or just did not want to change their routines. The VBS education motivated and reminded them of consequences that could appear in daily VBS practices (22).

Conclusions

My thesis is as far as I know the first to evaluate the impact of an educational interventional program aimed at improving VBS practices. Self-reported VBS questionnaires and monitoring of low-level venous specimen haemolysis reflected VBS practices and could be used to evaluate the educational intervention programs impact on VBS practices. By using near-miss markers that occur in high frequency instead of studying the low frequencies of reported adverse events makes it possible to compare and benchmark VBS practices also at the level of individual primary health care units and hospital wards. It was obvious that the educational intervention program opened up opportunities for reflection on safety. The general educational intervention program had an impact on several VBS practices, while some VBS practices remained unchanged. There are still several areas in VBS practices that need improvement through further and continuous interventions, with the understanding that changes take time. In addition, educational intervention programs that provide participants time for reflection and discussion based on specific VBS practice flaws may be effective. Several of the results could also be explained from a system perspective, indicating that e.g. deficiencies in

transfer of information, environmental disturbances, patient rest prior to sampling, and unclear guidelines must be changed on a higher level of organization than by an educational program for VBS personnel on the health care frontline. Further studies are also needed on how work place culture influence VBS practices.

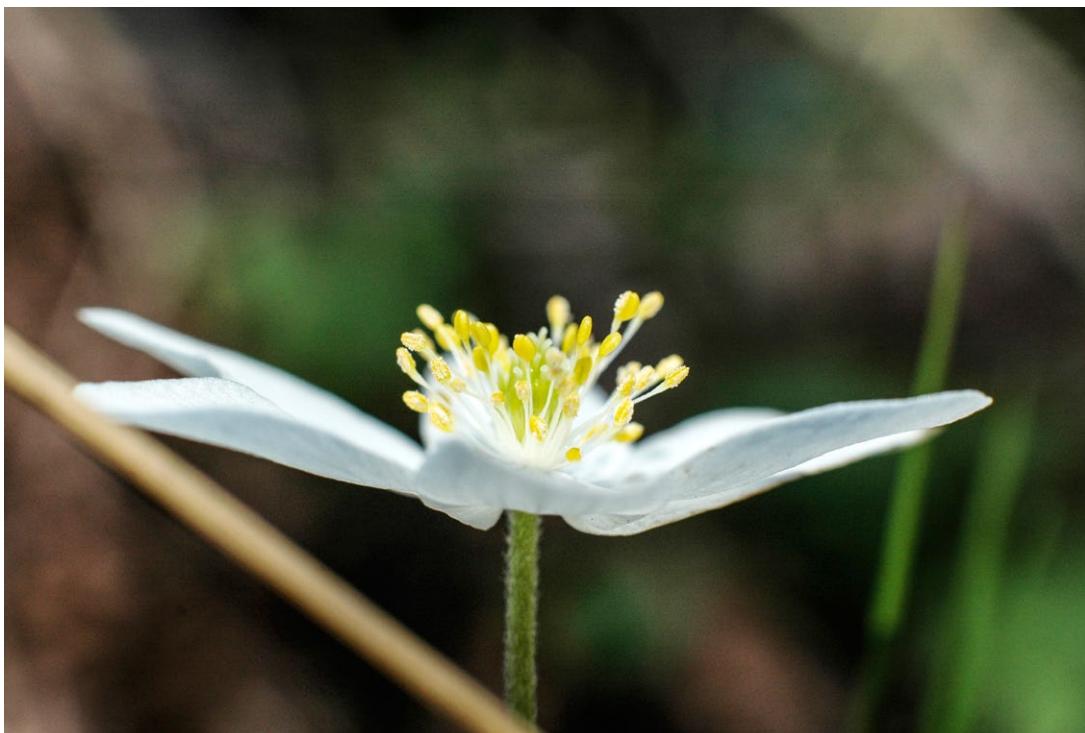
Clinical relevance

Our results indicate that monitoring and counteracting the near misses in VBS practices is a well-functioning preventive action. We propose that the VBS monitoring instruments (VBS questionnaire & haemolysis index) we used and the educational intervention program strategy proposed should be tested in additional countries with different healthcare settings. It is suggested that a national program intended to identify near misses and prevent VBS errors should be developed in the healthcare system. General e-learning programs may be cheaper than, and as effective as, the educational intervention program and may be performed everywhere and any time. Systematic planning, allowing time for reflection and focus on specific elements of a practice skill together with increased use of guidelines, could probably increase practice improvements. Our studies have led to deeper and extended knowledge of the impact of an educational intervention program on VBS practices. Our results can be used when considering future VBS practice interventions.

References

1. Forsman R. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? *Clin Chem* 1996;42:813-6.
2. Kalra J. Medical errors: impact on clinical laboratories and other critical areas. *Clin Biochem* 2004;37(12):1052-62.
3. Plebani M. Exploring the iceberg of errors in laboratory medicine? *Clin Chem Acta* 2009;6:16-23.
4. Lippi G, Guidi GC. Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:720-7.
5. Carraro P, Plebani M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clin Chem* 2007;53:1338-42.
6. Hammerling JA. A review of medical errors in laboratory diagnostics and where we are today. *Lab Med* 2012;43:41-44.
7. World Health Organization. Patient Safety. Available at: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/Health-systems/patient-safety/patient-safety> [Accessed 2014-03-04].
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 6 ed. Wayne: CLSI; 2007, CLSI document H3-A6.
9. Wallin O, Söderberg J, Van Guelpen B, Brulin C, Grankvist K. Patient-centred care - pre-analytical factors demand attention: A questionnaire study of venous blood sampling and specimen handling. *Scand J Clin Lab Invest* 2007;67:836-47.
10. Wallin O, Söderberg J, Van Guelpen B, Stenlund H, Grankvist K, Brulin C. Preanalytical venous blood sampling practices demand improvement - A survey of test-request management, test-tube labelling and information search procedures. *Clin Chim Acta* 2008;391:91-7.
11. Söderberg J, Brulin C, Grankvist K, Wallin O. Preanalytical errors in primary healthcare: a questionnaire study of information search procedures, test request management and test tube labelling. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:195-201.
12. Söderberg J, Wallin O, Grankvist K, Brulin C. Is the test result correct? A questionnaire study of blood collection practices in primary health care. *J Eval Clin Pract* 2010;16:707-11.
13. Walter ND, Lyimo T, Skarbinski J, Metta E, Kahigwa E, Flannery B, et al. Why first-level health workers fail to follow guidelines for managing severe disease in children in the Cost Region, the United Republic of Tanzania. *Bull World Health Organ* 2009;87:99-107.
14. Francke AL, Smit MC, de Veer AJ, Mistiaen P. Factors influencing the implementation of clinical guidelines for health care professionals: a systematic meta-review. *BMC Med Inform Decis Mak* 2008;8:38.
15. Johnstone M. Patient safety ethics and human error management in ED contexts. Part I:

- development of the global patient safety movement. *Aust Emerg Nurs J* 2007;10:13-20.
16. Wallin O, Söderberg J, Van Guelpen B, Stenlund H, Grankvist K, Brulin C. Blood sample collection and patient identification demand improvement: a questionnaire study of preanalytical practices in hospital wards and laboratories. *Scand J Caring Sci* 2010;24:581-91.
17. Fang L, Fang SH, Chung YH, Chien ST. Collecting factors related to the haemolysis of blood specimens. *J Clin Nurs* 2008;17:2343-51.
18. Kirchner MJA, Funes VA, Adzet CB, Clar MVD, Escuer MI, Girona JM, et al. Quality indicators and specifications for key processes in clinical laboratories: a preliminary experience. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:672-7.
19. Bölenius K, Brulin C, Grankvist K, Lindkvist M, Söderberg J: A content validated questionnaire for self-reported venous blood sampling practices. *BMC Research Notes* 2012;5:39.
20. Bölenius K, Lindkvist M, Brulin C, Grankvist K, Nilsson K, Söderberg J. Impact of a large-scale educational intervention program on venous blood specimen collection practices. *BMC Health Services Research* 2013;13:463.
21. Bölenius K, Söderberg J, Hultdin, Lindkvist M, Brulin C, Grankvist K: Minor improvement of venous blood specimen collection practices in primary healthcare after a large-scale educational intervention. *Clinical Chemistry and Clin Chem Lab Med* 2013;51:303-10.
22. Bölenius K, Brulin C, Graneheim U. Personnel's experiences of venous blood specimen collection practices after participating in an educational intervention program. *Nurs Res Pract* 2014;14:1-8.
23. The Handbook for Healthcare. Blodprov, venös provtagning (In Swedish). Available at: <http://www.vardhandboken.se/In-English/> [Accessed: 2014-03-04].



Vitsippa (*Anemone nemorosa*). Foto Henrik Alfthan.

Disputats

Apolipoprotein M: impact on lipoprotein metabolism and vascular function

Christina Christoffersen

Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet og Biomedicinsk Institut, Panum Institutet, Københavns Universitet.

christina.christoffersen@regionh.dk



Åreforkalkning og hjerte-kar sygdom udgør et betydelig sundhedsmæssigt problem i den vestlige verden. Åreforkalkning er en multifaktoriel sygdom, hvor lipoproteiner, så som high-density lipoprotein (HDL) og low-density lipoprotein (LDL), spiller en væsentlig rolle. HDL betegnes som det herlige kolesterol, mens LDL anses som det lede (skadelige) kolesterol. Modificeret LDL (f.eks oxideret LDL) kan optages i karvæggen, hvor det kan fremme lipidaflejring og vækst af plak. Som kontrast kan HDL fungere som en lipid-acceptor, og dermed reducerer lipidaflejringen i karvæggen og udviklingen af åreforkalkning.

Lipoproteiner pakker kolesterol og andre lipider ved hjælp af apolipoproteiner. Apolipoproteiner stabiliserer lipoproteinerne, men de kan også interagere med enzymer og receptorer, der modulerer lipidindholdet og -sammensætningen i lipoproteinerne. Ud fra et samfundsmæssigt og individuelt synspunkt er der stor interesse for at forbedre behandlingen for patienter med åreforkalkning og hjerte-kar sygdom. Der findes medicinske præparater, som kan sænke plasma LDL-kolesterol, men det ikke tilstrækkelig til at undgå kliniske events hos alle patienter. Derfor har man også forsøgt med udvikling af medicinske præparater, som øger plasma HDL-kolesterol niveauer. Kliniske forsøg har dog indtil videre ikke påvist en positiv effekt af plasma HDL-kolesterol stigning. I stedet har man erkendt behovet for at øge forståelsen for funktionen af specifikke HDL-partikler og den biologiske betydning af HDL-associeret apolipoproteiner særlig i relation til lipidmetabolismen.

Apolipoprotein M (apoM) blev opdaget i 1999. Formålet med de studier som er gennemgået i over-

sigten har været at øge forståelsen for den biologiske funktion af apoM, og særligt om apoM har nogen betydning for udvikling af åreforkalkning. Da apoM ved starten af disse studier var et yderst sparsomt undersøgt molekyle har, det været nødvendigt at udvikle en række nye metoder for at kunne studere apoM i detaljer. Desuden har udvikling af flere genetisk modificerede musemodeller, som enten overudtrykker eller helt mangler apoM, været essentielle for de inkluderede studier.

Nærværende studier har vist, at apoM kan være bundet til flere typer af lipoproteiner, men den største fraktion af plasma apoM findes i HDL-partikler (ca 96% af den totale plasma apoM mængde). Desuden har vi fundet at apoM-berigede HDL-partikler er særligt gode til at transportere kolesterol væk fra karvæggen, samt at apoM-holdige HDL-partikler beskytter LDL mod oxidering. Disse karakteristika understøtter ideen om at apoM beskytter mod udvikling af åreforkalkning.

De genetisk modificerede musemodeller har specielt været anvendelige til at studere apoM's rolle i lipid-metabolismen og udviklingen af åreforkalkning *in vivo*. Overudtrykkes apoM i en almindelig mus, stiger plasma HDL-kolesterol, mens et overudtryk af apoM i en mus med defekt LDL-receptor også øger LDL- og VLDL-kolesterol. Det kan forklares med, at apoM forsinket turnover af LDL i plasma, når LDL-receptoren er defekt. Ganske interessant så viser både mus og humane studier også, at ændringer i LDL-metabolismen påvirker plasma apoM. Har man således mutationer i gener som påvirker omsætningen af LDL, kan plasma apoM stige. Selv hos raske personer er der også en negativ association mellem LDL turnover rate og plasma apoM koncentrationen. Det faktum, at clearance af LDL kan påvirke omsætningen

af et apolipoprotein, der primært er associeret med HDL (så som apoM), er overraskende.

En række store og detaljerede studier viser, at apoM kan beskytte mod udviklingen af åreforkalkning. Dog er det også sådan, at hvis den stigende mængde af apoM forårsager markante stigninger i plasma LDL-kolesterol, så som hos individer med defekte LDL-receptorer, vil en ellers beskyttende effekt på udviklingen af åreforkalkning i mus modvirkes.

Vores studier har også vist, at apoM cirkulerer i plasma uden kløvning af dets signalpeptid, hvilket er højst usædvanligt. Signalpeptidet forankrer apoM i lipoproteinerne, dvs hvis apoM mangler signalpeptidet, filtreres proteinet og tabes via urinen. Derudover har krystalliseringsforsøg vist, at apoM har en struktur som ligner et kaffefilter med evne til at binde små lipider i en central bindingslomme. Specielt er det illustreret, at apoM er vigtig for transport af et mindre lipid kaldet sphingosine-1-phosphat (S1P). Komplekset apoM/S1P er vigtigt for at opretholde en tæt endotelcelle-barriere i karvæggen. Om dette kan bidrage til apoM's rolle i udviklingen af åreforkalkning er endnu uvist.

Overordnet har de her beskrevne studier bidraget betydeligt til at øge forståelsen for apoM's rolle i udviklingen af åreforkalkning, samt i relation til lipid-metabolismen og endotelcelle-funktion. S1P har mange funktioner, f.eks. kan det påvirke angiogenese, lymfocytmigration og karvæggens endotelcelle-barrierer. Patogenesen bag mange sygdomme, inklusiv kræft, infektioner, sepsis og multipel sklerose, er påvirket af en eller flere af disse mekanismer. Opdagelsen af apoM/S1P komplekset kan derfor have vidtrækende perspektiver i relation til at øge sygdomsforståelsen og dermed bane vejen for udvikling af nye behandlingsstrategier - ikke kun i relation til åreforkalkning, men også ved f.eks. sepsis og multipel sklerose.

Krystalstruktur af apolipoprotein M (apoM) og sphingosine-1-phosphat (S1P) i kompleks. ApoM indeholder β -sheets (A-H) der omkredser bindings-lommen. S1P er vist med grøn og vandmolekyler som røde bolde. Elektron densiteten omkring S1P er angivet med blå. Disulfidbroer er indikeret med gul. Figuren er modificeret fra Paper V (PNAS,2011;108(23):9613-8)

Den medicinske doktor afhandling (ISBN 879-87-997518-0-8) omfatter foruden oversigten følgende:

Paper I: Isolation and characterization of human apolipoprotein M-containing lipoproteins. *J Lipid Res* 2006;47:1833–43.

Paper II: Effect of apolipoprotein M on high density lipoprotein metabolism and atherosclerosis in low density lipoprotein receptor knock-out mice. *J Biol Chem* 2008;283:1839–47.

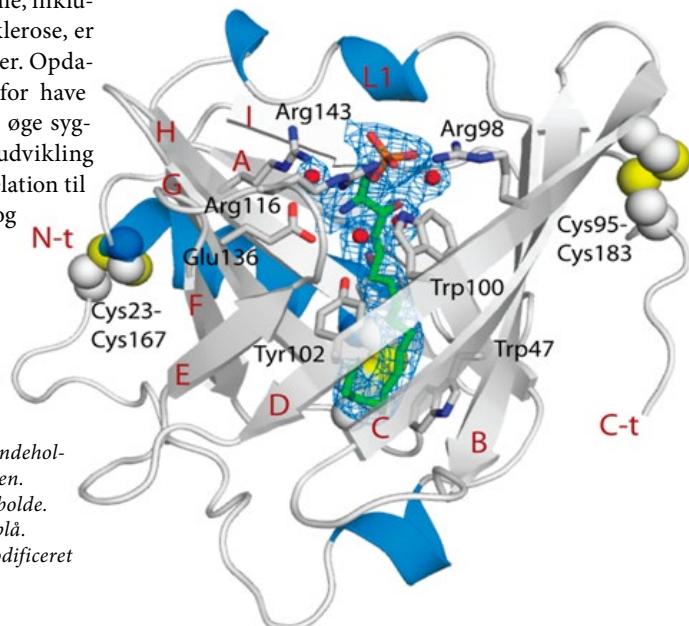
Paper III: The signal peptide anchors apolipoprotein M in plasma lipoproteins and prevents rapid clearance of apolipoprotein M from plasma. *J Biol Chem* 2008;283:18765–72.

Paper IV: Opposing effects of apolipoprotein M on catabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins and atherosclerosis. *Circ Res* 2010;106:1624–1634.

Paper V: Endothelium-protective sphingosine-1-phosphate provided by HDL-associated apolipoprotein M. *Proc Natl Acad Sci* 2011;108:9613–18.

Paper VI: The plasma concentration of HDL-associated apoM is influenced by LDL receptor-mediated clearance of apoB-containing particles. *J Lipid Res* 2012;53:2198–2204.

Den kan rekvireres hos christina christoffersen (christina.christoffersen@regionh.dk).

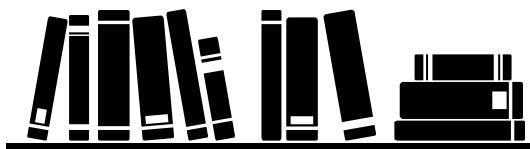


Hagve, Tor-Arne och Berg, Jens Petter (red.)

Klinisk Biokjemi og Fysiologi,

5. Utgave, Gyldendal Akademisk, 2015

Elvar Theodórsson



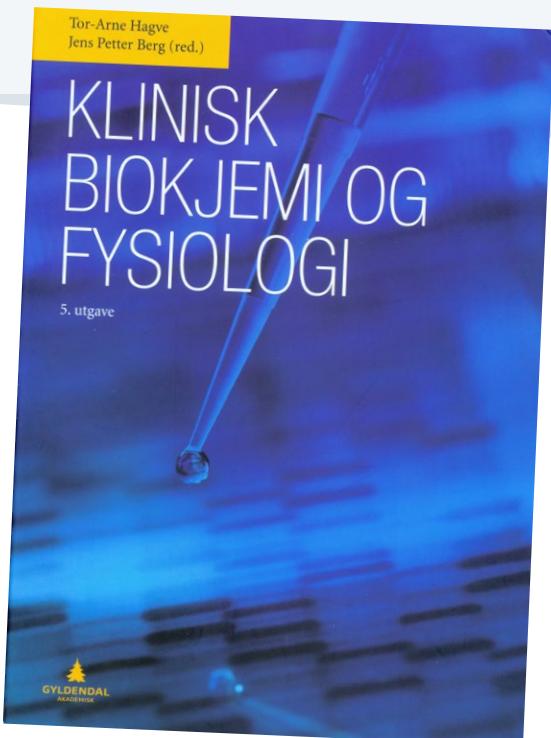
Den norska läroboken Klinisk Biokjemi og Fysiologi publiceras i dagarna i en femte utgåva, redan fyra år efter föregående utgåva. Med sina 34 kapitel och 443 sidor representerar den en grafiskt och innehållsmässigt nytänkande bland Nordiska läroböcker i Klinisk kemi med innehåll och textmassa anpassad primärt till medicinstudenter. Samtliga kapitel har uppdaterats sedan tidigare version och flera är helt nyskrivna.

Författarna

Författarna är lärare och specialister representerande samtliga norska akademiska miljöer som utbildar medicinstudenter. Flertalet är specialister i klinisk kemi eller klinisk fysiologi, men specialister inom andra kunskapsområden medverkar också, fördjupar och förstärker framställningen.

Det förekommer en tydlig systematik i att nya generationer specialister samarbetar med äldre och etablerade i skrivarbetet för att med tiden naturligt ta över ledarträjan. Således finns Ivar Følling som var med redan vid första upplagan 1972 fortfarande med som författare. Ivar är son till Asbjørn Følling (han som först beskrev fenylketonuri) och som var Norges första professor i Klinisk kemi.

Som lärare för medicinstudenter vid övergången från preklinik till klinik, upplevs behov av Nordisk lärobok i patofysiologi som spannar hela området



patofysiologiska mekanismer, medicinsk diagnostik och mekanismer för läkemedelsbehandling. Denna lärobok som kombinerar klinisk kemi och klinisk fysiologi på ett högst naturligt och berikande sätt tjänar som exempel på att detta skulle kunna vara görbart.

Huvudredaktörerna för boken, i synnerhet Tor-Arne Hagve, har spelat och spelar en enastående roll inom klinisk kemi i Norge såväl som i hela Norden. Förutom de talrika böcker som Tor-Arne är redaktör för och författare till har han i åratals varit ryggraden i Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation och för Klinisk Biokjemi i Norden. Det är insatser som verkligen lämnar avtryck långt utöver verksamheten inom den egna specialiteten.

Bokens innhåll - kapitel

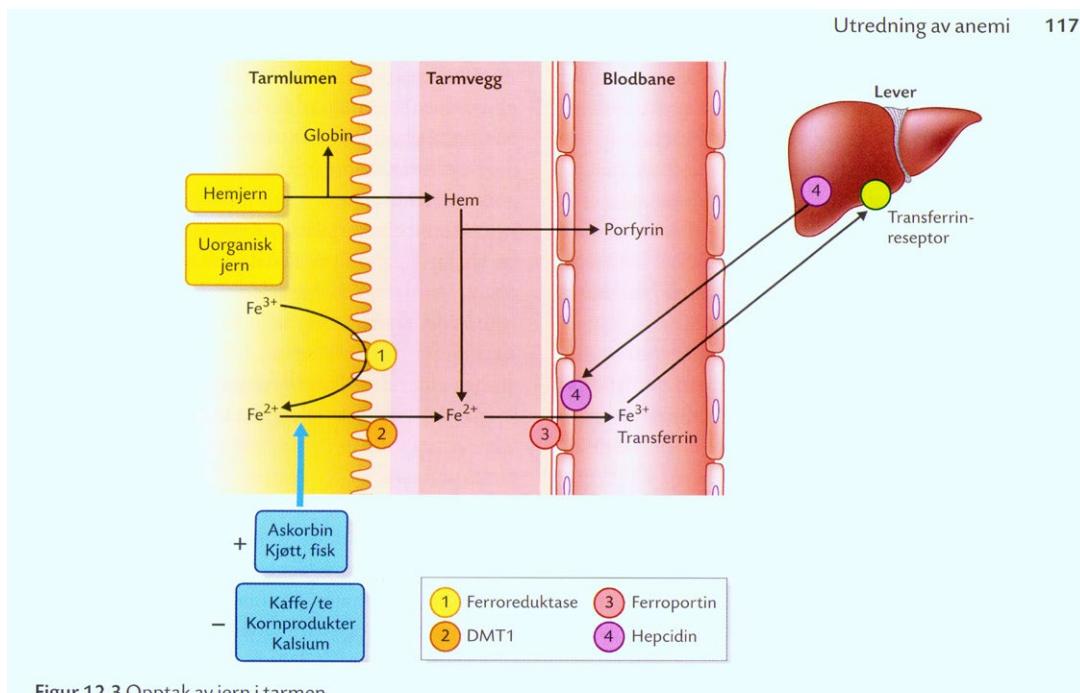
1. Prøvetaking og prøvehåndtering
2. Tolkning av laboratoriedata
3. Plasmaproteiner
4. Betennelsemarkører
5. Forstyrrelser i syre-base-likevekten
6. Sporelementer
7. Tumormarkører
8. Blodlipider og aterosklerose
9. Hemostasemekanismene
10. Årsaker til økt blødningstendens
11. Trombosemekanismene
12. Utredning av anemi
13. Utredning av hemoglobinopatier
14. Hemokromatose
15. Myeloproliferative og lymfoproliferative sykdommer
16. Primaere immundefekter
17. Autoimmune sykdommer og autoantistoffer
18. Hjertets patofysiologi
19. Hjertets elektrofysiologi
20. Hypertension
21. Biokjemiske hjertemarkører
22. Respirationsfysiologi og lungefunktionspröver

23. Gastrointestinaltraktus
24. Diagnostikk av leversykdommer
25. Nyrefunksjon og elektrolytbalanse
26. Spinalvaeskeundersökelse ved nevrosegenerative sykdommer
27. Diabetes mellitus
28. Utredning av sykdom i hypofysen
29. Utredning av sykdom i binyrene
30. Utredning av sykdom i tyreoidea
31. Hormonanalyser i gynækologi og obstetrik
32. Kalcium, fosfor och skjelett
33. Medfödte stoffskiftesykdommer
34. Utredning av porfyrisykdommer

Fyra av de 34 kapitlen har entydig klinisk fysiologisk inriktning; hjertets patofysiologi, hjertets elektrofysiologi, hypertension, respirationsfysiologi och lungefunktionspröver. I övriga kapitel i gränsområdet mellan klinisk kemi och fysiologi har ämnena integrerat framställningen.

Textmängd och ämnesdjup

En ständig strävan för förlag och läroboksförfattare är försök att begränsa textmassan utan att ge för stort



Figur 12.3 Opptak av jern i tarmen.

avkall på ämnesfördjupning. När man undervisar och examinerar studenter efterställas så hög taxonomisk nivå som möjligt (Solo eller Bloom), dvs. att studenterna inte bara skall kunna räbla upp fakta (den lägsta taxonomiska nivån), utan helst skall kunna tillämpa de kunskaper som de förvärvat i nya situationer (den högsta taxonomiska nivån). Flera av kapitlen i boken är kortfattade, men innehåller samtidigt en tillräcklig informationsmängd för att studenterna skall nå tillräcklig förståelse genom studier primärt av denna lärobok. Det stora flertalet kapitel fyller detta kriterium, möjligen med undantag av det summariska kapitlet om prövetaking och próvehändtering.

Illustrationer och grafisk form

Kvaliteten i illustrationerna i Klinisk Biokemi och Fysiologi är utsökt både estetiskt och innehållsmässigt. De är ritade av Deborah Maizels, uppenbart i nära samarbete med de individuella författarna och sannolikt även genom egna insikter.

Walter Boron och Emile Boulpaeps bok "Medical Physiology" som kom i sin första version år 2003 satte en helt ny standard i för kvalitet av illustrationer i medicinska läroböcker, inte enbart genom illustrationernas grafiska kvaliteter utan speciellt genom det noga genomtänkta sambandet mellan texterna och illustrationerna. Det är uppenbart att författarna och Gyldendals förlag har insett betydelsen av goda illustrationer och god grafisk form i utformningen av modern och attraktiv kurslitteratur och har varit villigt att satsa de resurser som behövs för att åstadkomma detta. De grafiska och illustrationsmässiga förbättringar som ägt rum med boken i och med aktuella utgåva är en heder både för förlaget och för redaktörerna.

Fallbeskrivningarna

De talrika fallbeskrivningarna som nu finns i boken fördjupar påtagligt dess innehåll och förstärker dess roll som verktyg för lärande. Att sätta medicinska kunskaper i kliniska sammanhang är bland de viktigaste verktygen för att höja den taxonomiska nivån i studenternas lärande. Fallbeskrivningarna är övervägande mycket relevanta och välanpassade till det kunskapsinnehåll de syftar till att förstärka.

Historik

Klinisk Biokemi och Fysiologi kom till redan år 1972, då som ett kompendium för medicinstudenter. Under

1990-talet tog Universitetsforlaget i Oslo hand om publiceringen och förlaget Gyldendal efter millennieskiftet 2000. Den utgåva som ges ut nu i dagarna är således egentligen nummer 16, men nummer 5 med Gyldendal som förlag.

Oddvar Stokke

Professor Oddvar Stokke var mycket aktiv som författare och redaktör av boken Klinisk Biokemi och Fysiologi under tidigt 1980-tal och fram till 2004. Stokke är också medförfattare på kapitlet om syrabs-balans i den aktuella versionen av boken. Han gick tyvärr ur tiden våren 2014.

Oddvar Stokke var bland nestorerna inom Norsk och Nordisk klinisk kemi, vetenskapligt, sjukvårds-mässigt, inom ledarskap och inte minst genom sina stora insatser för publiceringsverksamhet inom klinisk kemi. Vill här speciellt nämna hans mångåriga ansvar som huvudredaktör för Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation i 20 år och boken "Fra håndverk til høyteknologi. Klinisk kjemi på Rikshospitalet fra 1953 til 2003". Hans verksamheter inom klinisk kemisk diagnostik var främst inom biokemisk och molekylärbiologisk diagnostik av ämnesomsättningssjukdomar.

Jag personligen minns Oddvar som tryggt förankrad i den Norska myllan, målmedveten, klarsynt och effektiv ledare och som omtänts och humoristisk medmänniska.

Lärobok vs handbok

Historiskt har man ofta försökt kombinera läroböcker i klinisk kemi med funktionen som handbok som skall tjäna som stöd vid patientförberedelse, provtagning, provförsändelse och tolkning av resultat. Det har även varit ekonomiskt fördelaktigt att kombinera dessa funktioner i en bok som därmed blir attraktiv för vårdavdelningar, mottagningar, vårdcentraler såväl som för studenter. Det blir dock vanligen problematiskt att prioritera mellan rollen som handbok och som lärobok.

Den norska miljön har redan beslutat sig för en modern lösning på frågeställningen. Man driver numera en web-baserad "Nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokemi" (<http://brukerhandboken.no>) under ledning av Prof. Tor-Arne Hagve tillsammans med Atle Brun, Gunhild Garmo Hov, Morten Lindberg och Arne Åsberg som innehåller aktuella uppgifter om patientförberedelse, provtagning, prov-

försändelse och tolkning av resultat. Den finns även utformad som en App för mobiltelefoner och läsplattor med namnet ”Medisinsk biokemi”. Därmed är det en entydig fördel att fokusera en lärobok i klinisk kemi att vara - just det - enbart lärobok.

Några saker att överväga vid framtida utveckling av boken

- Biologisk variation förklaras som ”naturlige fysiolgiske variationer som er knyttet til alder, kønn, etnisitet, genetiske faktorer, biologiske rytmer, kropsvekt, kosthold, fysisk aktivitet eller kropens stilling under prövetaking”. Det förklaras inte att begreppet biologisk variation allt mer kommit att definieras som den homeostatiska variation som koncentrationen av komponenter uppvisar kring en koncentration karakteristisk för individen och där man i så stor grad som möjligt kontrollerat för de (stör)faktorer boken nämner som orsaker till ”biologisk variation”.
- Thalassemi nämns först i ett eget kapitel om hemoglobinopatier (kapitel 13), men förekommer förvånande nog inte alls som differentialdiagnos i det generella kapitlet om utredning av anemier (kapitel 12). När man analyserar en blodstatus i en vanlig klass på 100 svenska medicinstudenter finner man vanligen 2-3 studenter med lätt mikrocytär, hypokrom och homogen anemi som tecken på den penetrans av talassemigenen som redan finns i befolkningen.

Sammanfattning

Den norska kliniskt- kemiska och fysiologiska miljön har under ledning av Tor-Arne Hagve och av Jens-Petter Berg åter igen mycket hedersamt kraftsamlat för att inom fyra år från senaste upplaga skapa och publicera en helt genomarbetad ny upplaga av en numera klassisk lärobok. Boken fokuserar entydigt på att tjäna som lärobok för medicinstudenter och representerar ett avgörande och mycket tydligt kvalitetslyft avseende illustrationer, fallbeskrivningar, texter och grafik. Vi i Norden har därigenom fått ett nytt och högre riktmärke bland läroböcker i våra ämnen att eftersträva. Att rekommendera medicinstudenter att läsa t ex engelskspråkig litteratur när så bra Nordisk lärobok och läroböcker finns att tillgå uppfattar jag som att gå över ån efter vatten.

Kasuistikk 33.2

Metabolsk sykdom som rammer energiproduksjonen:

En tidligere helt frisk fem år gammel jente legges inn komatøs etter fire dager med omgangssyke. Den femte morgen klarer ikke foreldrene å vekke henne, og de ringer desperat etter ambulanse. Pasienten har aldri vært noe særlig syk før, alltid spist og drukket bra, hun har utviklet seg normalt på alle måter, og nå dette. Legene ved sykehuset gjør alt riktig. De finner at P-glukose er 1 mmol/L (4,2–6,3), men det er lite ketoner i urinen (1+ på stiks). ALAT er 10 000 U/L. Sykehistorien og funnene med hypoketonisk hypoglykemi og leveraffeksjon vekker mistanke om medfødt stoffskiftesykdom, det tas derfor øyeblikklig prøver (urin og plasma) som sendes til Oslo universitetssykehus for metabolsk screening. Pasienten får også straks intravenøs ernæring med 20 % glukose, betydelig mer enn det som gis til vanlig. Den metabolske screeningen viser et mønster av organiske syrer som tyder på MCAD-mangel (medium chain acyl-CoA dehydrogenasemangel). Mønsteret av acylcarnitinier i plasma støtter diagnosen. Senere mutasjonsanalyser gir en endelig bekrefteelse, pasienten er homozygot for mutasjonen c.985A>G i ACADM-genet. Heldigvis gikk det bra denne gangen, men en slik metabolsk krise kan fort føre til stor hjerneskade, og dødeligheten er ca. 20 %. Behandlingen er i prinsippet enkel. Pasienten må rett og slett ikke faste. Ved redusert næringsinntak, som ved annen forbigående sykdom, må pasienten derfor få ekstra næring hjemme i form av et såkalt nødregime med peroral tilførsel av karbohydrater eller legges inn og få intravenøs glukose. Dietten for øvrig kan være normal, dog bør fettinntaket begrenses. Det er usikkert hvor mange som har denne sykdommen i Norge. I Danmark har 1 per 10 000 vært estimert.



Jørgen Lyngbye Student og ung læge i efterkrigstid Barn med en psykopat

Ebba Nexø

Multivers ApS, 2014 (156 sider)



Jørgen Lyngbye er et velkendt navn for læserne af Klinisk Biokemi i Norden. Mange kender Jørgen Lyngbye personligt, og endnu flere kender ham som forfatter af vægtige værker om vores fag udgivet i Norge (Norsk håndbok i laboratoriemedicin, 1999) og i Danmark (senest Lyngbyes Laboratoriemedicin, 2010).

Nu har Jørgen Lyngbye skrevet nok en bog, et værk med temaer fra hans opvækst og senere professionelle liv. Den præsenterer sig som en let læst og læseværdig oplevelse. Barndommen fylder meget, og ambivalansen i forholdet til den dominérende men for omverdenen charmerende læge-far, kommer tydeligt frem. Så tydeligt at det afspejles allerede i titlen "Barn med en psykopat".

Beskrivelserne fra livet som student og videre frem tegner sig som en række skitser, der ofte efterlader læseren med åbne spørgsmål. De illustrerer den brede palet af emner og indtryk, der har været med til at præge forfatterens liv, og giver indimellem fine stemningsbilleder måske bedst illustreret i beskrivelsen af en koncertoplevelse med den kendte violinist Heifetz, og forfatterens efterfølgende bestræbelser for at få Heifetz til at indspille musik af Carl Nielsen.

Bogens sidste kapitel – epilogen – er en smule ude af trit med den øvrige tekst. Det omhandler diagnostisk sensitivitet og specificitet, så også dette afsnit er let læst for dette tidsskrifts læzerskare.

Al i alt en bog, der giver indblik i en kollegas baggrund og mangfoldige udfordringer og aktiviteter.

Den vandrande vetenskapsmannen: Vi talar alla euroengelska

Per Simonsson, Siemens Healthcare Diagnostics AB

per.simonsson@siemens.com



Vi talar alla euroengelska. Det är så vi kommuniceras. Poeter och kemister, konstnärer och doktorer. Vi som sitter vid kafébord och vi som sitter med i work groups och technical committees.

Alla utom Alison pratar euroengelska men så är hon också från England. Hon talar som om hon jobbar på BBC, vilket hon också gör som deras korrespondent i Lisboa. Deras krisreporter, specialist på arbetslöshet och statsskuld. En kväll går vi till Tasca do India som inte alls är en indisk restaurant. Namnet vill få oss att minnas Portugals koloniala era. När Indiens kust var prickig av portugisiska kolonier. Och alla talade nån sorts eurolatin. Vi går till Tasca do India med hennes vän Peter från Reuters i Madrid och äter grillade räkor serverade i en korg, med mycket salt. Det är vad vi slutligen bestämmer oss för men först försöker Alison beställa stekt njure som är husets specialitet men idag är det slut på njure. Så är det ofta i Portugal.

Här sitter jag denna kväll, på en stökgig restaurang, med två reportrar, sådana reportrar som man hör på radio. Utlandsreportrar. De som är där det händer. På plats. Närvarande. De som bor i fjärran huvudstäder, snappar upp nyheterna, kan bakgrunden. Kan alla varför och alla hur. Och framför allt alla vem. Som talar det lokala språket. De som kan fråga taxichauffören om nuläget. De som känner alla med främmande namn och kan uttala dem som man gör där. Främmande namn man aldrig hört talas om förr. Och som berättar vad de sa, sist de sågs. På det lokala språket.

I deras sällskap blir jag mycket tyst. Inför utrikesraportrar blir jag tyst. Det finns inget jag kan säga. Jag skalar en räka, i tystnad.

Vi pratat alla euroengelska. Vi, alla de andra, vi som inte jobbar för BBC eller Reuters. Vi som inte är britter eller amerikaner. Vi som inte är Alison eller



Peter. Alla vi andra som är från Europas gränstrakter, små fragmenterade stater som kämpar för att vara en del av Europa. Vi som talar exotiska språk. Baskiska, isländska, svenska. Vi som kommuniceras på euroengelska.

Som nu, när jag skriver detta, så blir mitt språk en sorts euroengelska. När jag skriver detta och hör Vanda eller Carlos eller Theo eller någon av oss andra som samlas på Café O Seculo.

- Smultronstallet, Jungfrukallan, säger Bruno som producerar portugisisk såpopera. Jag kan de flesta originaltitlarna på Bergmans filmer.

- I don't wanna live with somebody's depression, säger jag, citerande Bowie.

Det tycker Bruno är roligt - att känna igen citat, dela kulturarvet, det europeiska: Bergman, Bowie - och han skrattar sitt stora skällande skratt.

När vi pratar euroengelska lånar vi från allt anglosaxiskt vi läst och hört och sett; romaner och kurslitteratur, sångtexter och editorials, review och lätttitlar. Plus lite av vårt eget språk också. En krydda. Exotisk. De lokala uttrycken. Blandar det, på en grund av skäckig engelska. Det vi har till förfogande för att göra oss förstådda och lyckas förstå. Ett nytt språk som vi brukar som om det vore vårt eget, vilket vi också gjort det till, vårt språk av rocktexter och filmrepliker och dräpande romanformuleringar. Det får oss att verka lite koolare, lite smartare. Vi barn av odödliga rocktexter, filmernas slutsцener, vetenskapliga floskler, fragment av flerspråkiga manualer.

- Jag längtar efter den dag när du kan portugisiska, säger Vanda. Då jag kan prata portugisiska med dig. Så du kan se vem jag egentligen är. Nu låter jag som en tonåring. Som Frankie.

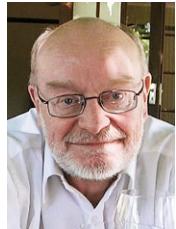
Jag tittar på Vanda. Mörka ögon. Blå rök från tunn, handrullad cigarr.

- Vem är Frankie?

- Frankie goes to Hollywood!

Asparges!

Palle Wang



"Det forekom mig at disse himmelske nuancer røbede tilstedeværelsen af nogle vidunderlige skabninger der havde moret sig med at forvandle sig til grønsager, og som i deres formummelse i fast og spiseligt kød, og med deres gryende morgenrøde, deres antydede regnbuer og deres blå aftenskumring, lod mig fornemme deres dyrebare essens, som jeg genkendte når de hele natten efter en middag hvor jeg havde fået asparges, med deres poetiske og grovkornede farcer som i en eventyrkomedie af Shakespeare muntrede sig med at forvandle min natpotte til et duftende kar."(1)

I april begynder alle sande gourmeter at glæde sig. For nu kommer årets første grønsag, den herlige asparges, snart.

Rejser man i Tyskland, hvor klimaet gør, at de kommer lidt før end i Danmark, oplever man store udstillinger af hvide og grønne asparges i butikkerne, smukt flankeret af tyskerne's foretrukne Spiegelwein, en hvidvin på Sylvanerdruen.

Ved middagsmåltider samtales livligt, når de første asparges kommer ind som forret, sprøde og smukke. Hvor smager bedst – de hvide eller de grønne? Hvad spiser og drikker man til? Hvad er den rette kogetid? Personligt foretrækker jeg de hvide, kogt få minutter i letsaltet vand, så de bevarer deres sprødhed og ikke bliver bløde og slaskede. Mulighederne for tilbehør er mange, fra rørt smør over en olie-eddike marinade, evt. med hakkede hårdkogte æg, til en sauce mouseline, hvis man har tid og evner til at lave den. Dertil vand eller en let hvidvin – den tyske Spiegelwein er bestemt velegnet.

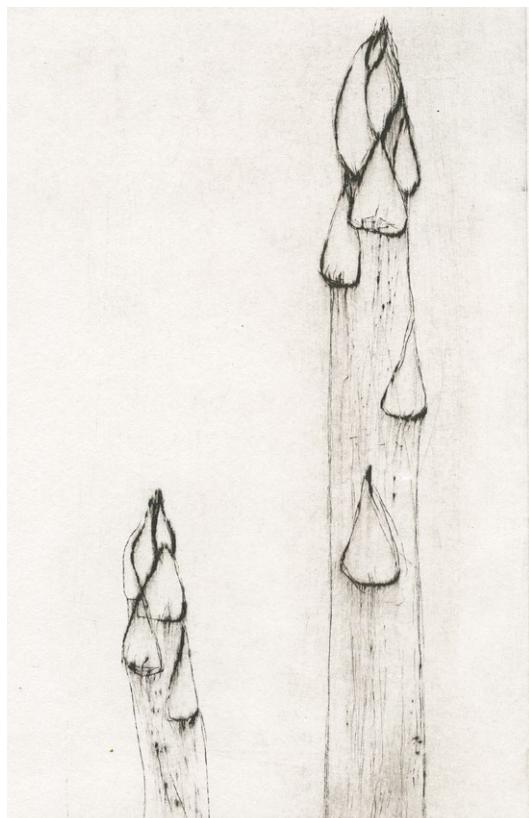
Samtalen er som sagt livlig, men et emne berøres meget sjældent: hvorfor lugter urin efter indtagelse af asparges?

Proust beskriver det så poetisk i ovenstående citat fra "På sporet af den tabte tid", mens andre som Benjamin Franklin noterer: "a few stems of asparagus eaten shall give your urine a disagreeable odor".

Lugten er også blevet beskrevet som "rotten or boiled cabbage" og "vegetable soup".

Nutidige forfattere har også berørt emnet. I Julian Barnes novellesamling "Puls" beskriver fortællerne, hvordan har overhørte en samtale mellem to kvinder fra Australien, en romanforfatter og en kok:

"- jeg lyttede til deres samtale, der drejede sig om virkningen af forskellige fødeemner på smagen af mandens sperma. "Kanel," sagde romanforfatteren vidende. "Nej, ikke kanel uden noget andet," svarede kokken. "Jordbær, brombær og kanel er det bedste." Hun tilføjede, at hun altid kunne genkende en kødspi-



Næse for asparges? af Birgitte Thorlacius

ser. "Tro mig, jeg ved det. Jeg var engang med til en blindsmagnning." Noget tøvende med at blande mig i samtalen nævnte jeg dog asparges. "Ja," svarede kokken. "Asparges kan ses på urinen, men viser sig også i den ejakulerede substans."(2)

Biokemikere, der foruden at være nysgerrige også sætter pris på god mad, har naturligvis forsøgt at løse gåden. Der er to hypoteser: den første er, at der er en mutation i det gen, der styrer produktionen af den lugtende komponent, således at nogle personer udskiller den og andre ikke. Den anden er, at alle producerer stoffet, men at mennesker er forskellige i deres evne til at opfatte lugten.

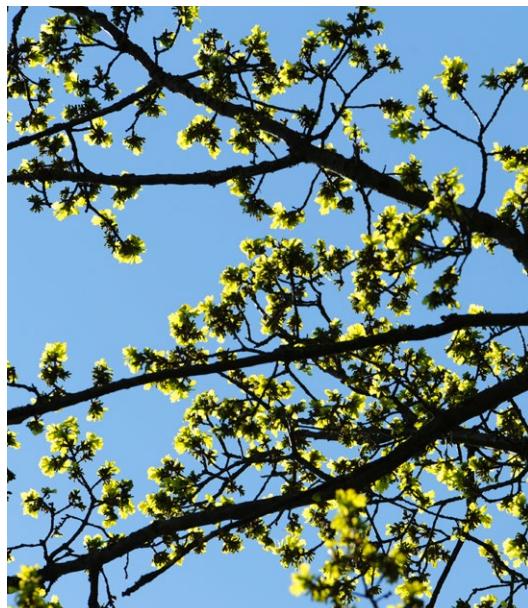
Der er i tidens løb blevet foreslæbt ikke mindre end 23 komponenter i urinen, som kunne være lugtstoffet, først og fremmest naturligvis svovlforbindelser men også smørsyredervater har været kandidater. Det er jo ikke småting man kan finde i urin, når hele det biokemiske armamentarium slippes løs. Ingen af kandidaterne har dog været overbevisende. Der er færre snuseforsøg og langt de fleste har anvendt forsøgsopstillinger, som ikke er så intelligente. Et af dem var en spørgeskemaundersøgelse blandt 103 unge franske studerende, hvor de blev spurgt om de kunne lugte noget i deres urin efter indtagelse af asparges. Det kunne de alle sammen, hvorfra man måske kan slutte, at de havde læst i hvert fald første bind af "På sporet af den tabte tid".

Blandt 800 britiske statsborgere kunne 57 % ikke lugte noget – jeg skal undlade at konkludere noget på det. Andre undersøgere var lidt mere raffinerede, idet de lod forsøgspersonerne lugte til andres urin og sammenligne med destilleret vand. Her kunne alle 328 israelske forsøgspersoner lugte noget sammen med 98 % af de kinesiske snusere, mens 5 af 15 amerikanere ikke lugtede noget som helst.

Marcia Levin Pelchat og medarbejdere har, om ikke løst gåden, så hævet vores uvidenhed til et højere niveau. Deres udgangspunkt var, at begge ovenstående hypoteser kunne være rigtige.

De udviklede derfor en såkaldt "psycho-physical method", beskrevet i detaljer i (3), hvor de forsøgte at eliminere så mange fejlkilder som muligt. Desuden gennemførte de en række molekulærgenetiske undersøgelser af forsøgspersonerne.

Der deltog 38 mænd og kvinder i forsøgene. Konklusionen var, at tre personer ud af de 37, som leverede urin, ikke var i stand til at producere lugtstoffet i tilstrækkelig mængde til at det kunne detekteres.



Der var variationer i styrken hos de øvrige personer, men hos alle kunne den karakteristiske lugt erkendes. Måling af koncentrationen var selvsagt udelukket.

31 personer deltog i lugtetesten og af dem kunne to ikke detektere den karakteristiske lugt, men havde normal lugtesans for andre teststoffer. Én person kunne hverken producere eller lugte noget.

Den nedsatte evne til at lugte metabolitterne fra asparges var relateret til en SNP tæt ved OR2M7 som er genet for en olfaktorisk receptor. Man kan ikke teste om det er OM2R7 eller et nabogen, der er ansvarlig for det manglende respons.

Således kan I nu oplyse deltagerne ved det næste aspargesmåltid, hvis samtalen truer med at gå i stå. Måske skal I spare på nogle af detaljerne afhængig af selskabets sammensætning.

Referencer:

- Proust M. Swanns verden 1. in: På Sporet af Den Tabte Tid. Multivers 2009: 169-70.
Barnes J. Puls. Tiderne skifter 2014:196
Pelchat ML, Bykowski C, Duke FF and Reed DR. Excretion and perception of a characteristic odor in urine after asparagus ingestion: a psychophysical and genetic study. Chem. Senses 2011; 36: 9-17

Til manuskriptforfattere

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptteksten og skrives i Vancouver-stil. Dersom artikelen har mer en syv forfattere listes de seks første etterfulgt av "et al". Forfatters navn skrives først, deretter initialer (for og mellomnavn), forfatterne skiller ved komma og punktum settes etter siste forfatters initialer evt. etter "et al". Punktum brukes også etter tittel på artikkelen. Journalnavn forkortes som angitt i Pubmed, liste over forkortelser finnes i LinkOut Journals. Etter journalforkortelsen følger et mellomrom, årstall for publikasjonen, et semikolon, volum nummer, et kolon og sidetall. Overflødige sidetall fjernes, som vist i eksempelet 1989;49:483-88. Personlige meddelelser (inkludert fullt navn og årstall) og produkt informasjon skal ikke stå i referanselisten men refereres i manuskriptteksten.

Eksempler

Journal artikkel med inntil syv forfattere:

- Vermeersch P, Mariën G, Bossuyt X. A case of pseudoparaproteinemia on capillary zone electrophoresis caused by geloplasma. *Clin Chem* 2006;52:2309-11.

Journal artikkel med mer enn syv forfattere:

- Fiechtner M, Ramp J, England B, Knudson MA, Little RR, England JD, et al. Affinity binding assay of glycohemoglobin by two-dimensional centrifugation referenced to hemoglobin Alc. *Clin Chem* 1992;38:2372-9.

Abstrakt:

- Hortin GL, King C, Kopp J. Quantification of rhesus monkey albumin with assays for human microalbumin [Abstract]. *Clin Chem* 2000;46:A140-1.

Bok kapitler:

- Rifai N, Warnick GR. Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th Ed. St. Louis: Elsevier Saunders 2006:903-81.

PhD teser:

- Haughton MA. Immunonephelometric measurement of vitamin D binding protein [MAppSci thesis]. Sydney, Australia: University of Technology, 1989:87pp.

On-line publisert artikkel som ennå ikke er trykt:

- Milbury CA, Li J, Makrigiorgos GM. PCR-based methods for the enrichment of minority alleles and mutations. [Epub ahead of print] *Clin Chem* February 6, 2009 as doi:10.1373/clinchem.2008.113035.

Supplement:

- Castelli WP. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 1996;124 Suppl:S1-9.

Internett kilde:

- American Association for Clinical Chemistry. AAC continuing education. <http://www.aacc.org/development/ce/pages/default.aspx#> (Tilgjengelig Mars 2012).

Se også NFKK's og KBN's hjemmeside: www.nfkk.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 arbeidsggrupper og komiteer. Foreningen har det vitenskabelige ansvaret 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: Henrik Jørgensen (København), Line Rode (København), Tuula Metso (Helsingfors), Tommi Vaskivuo (Uleåborg), Ísleifur Ólafsson (Reykjavík), Ingunn Þorsteinsdóttir (Reykjavík), Tor-Arne Hagve (Oslo), Yngve Thomas Bliksrud (Oslo), Per Bjellerup (Västerås) og Mattias Aldrimer (Falun).

Ordførande: Yngve Thomas Bliksrud (Oslo).

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktør: Ingunn Þorsteinsdóttir · Tryk: Clausen Grafisk

Danmark

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

Norge

Overlege Helle Borgström Hager
Sentrallaboratoriet
Sykehuset i Vestfold, Postboks 2168
3013 Tønsberg
Telefon: +47 33 34 30 53
helle.hager@siv.no

Island

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

Sverige

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

Finland

Sjukhuskemist Henrik Alfthan
Helsingfors Universitetscentralsjukhus
HUSLAB/Kvinnokliniken
Haartmansgatan 2
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
henrik.alfthan@hus.fi

NFKK

Overlege Yngve Thomas Bliksrud
Avdeling for medisinsk biokjemi
Oslo universitetssykehus HF
Rikshospitalet
Postboks 4950 Nydalen
0424 Oslo
Telefon: +47 23 07 41 13
yngve.thomas.bliksrud@ous-hf.no

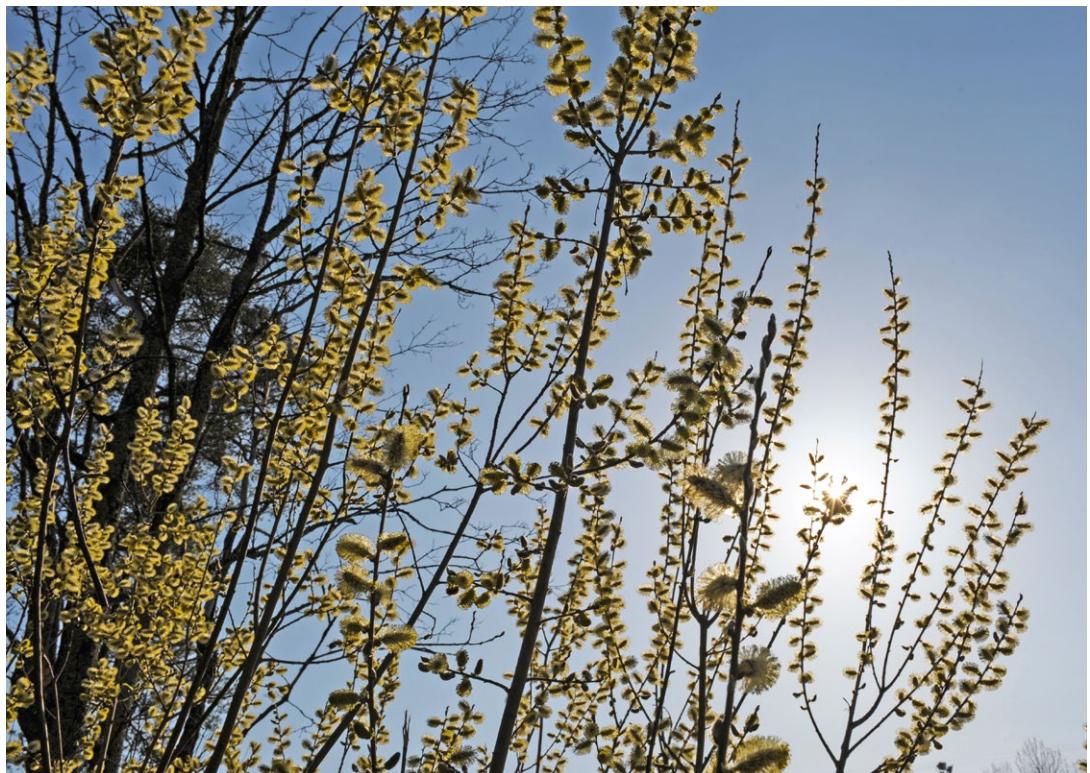


Foto: Henrik Alfthan

SIEMENS

A91DX-9247-A1-7600 © 2012 Siemens Healthcare Diagnostics Inc. All rights reserved.



Test smarter.

Siemens answers unite clinical and workflow excellence to help you thrive.

siemens.com/test-smarter

Clinical diagnostic testing is part science and part business. Which means its overall performance depends on how well these two integral parts work together. Siemens Healthcare Diagnostics can make that happen. We offer answers that combine the extensive menu of tests you want with the leading-edge technology you need to run them efficiently. Not only do we deliver assays to support your clinical excellence, we commit all our technical know-how to developing innovative

diagnostic solutions that increase productivity. What's more, we provide the education, services, and support that keep you running at your absolute best. So you can unite and transform both clinical and workflow performance to deliver the highest-quality patient care.

Find out how Siemens helps you work better by working with you. Visit siemens.com/test-smarter.

Answers for life.