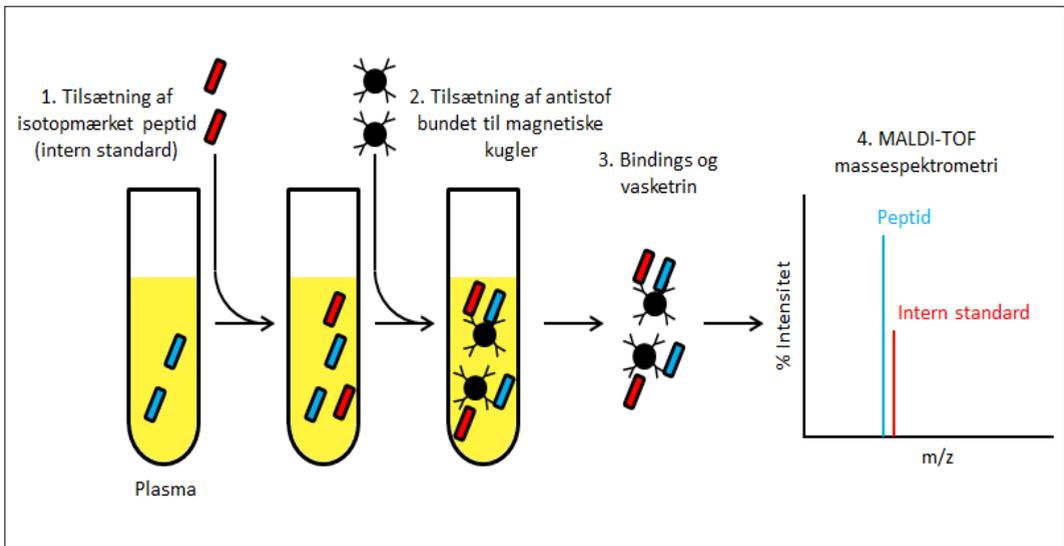


Klinisk Biokemi i Norden





NORDICS FIRST INSTALLATION OF POWER EXPRESS HAS ARRIVED*



A faster and more predictable TAT

» via complete system balance, meeting the needs of the most demanding laboratories.

Minimum manual interaction

» via flexible and intelligent sample routing, creating efficient tube workflow.

Increased productivity

» via open connectivity; streamlining processes across multiple disciplines.

Power Express gives the core laboratory peace of mind. By consistently producing results on time, you can focus on what really matters to move your lab forward.

Start realising your potential today;

email infouk@beckman.com or visit www.advancingyourlab.com/powerexpress

© Beckman Coulter, Inc. All rights reserved. Beckman Coulter, the stylized logo and the Beckman Coulter product and service names mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

*Aleris Medilab, Stockholm, Sweden



» **Move healthcare forward.**

INDHOLD

| | |
|---|----|
| Kampen mot overforbruk av laboratorieprøver | 4 |
| <i>Helle Borgstrøm Hager</i> | |
| Ordförandespalt | 7 |
| <i>Yngve Thomas Bliksrud</i> | |
| Preanalytical Working Group of the Nordic countries | 8 |
| <i>Mads Nybo</i> | |
| Første trimesters screening for præeklamsi | 10 |
| <i>Line Rode, Ann Tabor</i> | |
| Immuno-MALDI – en lovende metode til måling af peptider | 16 |
| <i>Jakob Albrethsen, Jens Peter Gøtze, Anders Holten Johnsen</i> | |
| CK-stigning i plasma som symptom på medfødt metabolsk sygdom | 20 |
| <i>Yngve Thomas Bliksrud</i> | |
| FindZebra – en søgemaskine dedikeret til sjældne sygdomme | 30 |
| <i>Henrik L Jørgensen, Dan Svenstrup, Ole Winther</i> | |
| Danmarks Nationale Biobank | 34 |
| <i>Lasse Bøding, Karina Meden Sørensen og Mads Melbye</i> | |
| Uppsala har ersatt Roche immunologiska albuminmetod med BCP metod på grund av skillnader i kalibrering | 38 |
| <i>Johanna Helmersson-Karlqvist, Mats Flodin, Aleksandra Mandic Havelka, Xiao Yan XU och Anders Larsson</i> | |
| Bestämning av detektionsgränsen och kvantifieringsgränsen för en immunologisk metod: som exempel hCG-analysmetoden på AutoDELFIA-analysatorn | 42 |
| <i>Henrik Alfthan, Ulf-Håkan Stenman</i> | |
| Litteraturhänvisningar | 46 |
| Info om NFKK och redaktion | 47 |

Omslagsbild: Se artikel om Immuno-MALDI på sida 16 i tidskriften.

Kampen mot overforbruk av laboratorieprøver

Helle Borgstrøm Hager



Sukk. Nå må jeg bare si fra. Jeg sitter og kommenterer laboratorieprøvesvar og der kommer det opp en svarrapport fra en fastlege jeg har hatt "i kikkerten" lenge. Han og to andre allmennleger bestiller til sammen mer enn 10 % av alle laboratorieanalyser fra våre eksterne rekvirenter. Akkurat denne legen bestiller nesten 40 analyser per pasient, omtrent det dobbelte av gjennomsnittet for de andre legene. Dette kan ikke forklares ut fra forskjeller i praksisprofil, sykkelighet eller kliniske behov alene. Jeg har gjennom lang tid kommentert svarrapportene hans for å prøve å redusere åpenbart unødvendige prøver – uten at det har hjulpet. Nå ringer jeg legekantoret og ber om å få snakke med legen.

Jeg gir han noen konkrete råd om bestilling av laboratorieanalyser - sett i lys av hans eget rekvireringsmønster. Snakker så fort jeg kan fordi jeg vet at han sikkert har dårlig tid. Sier blant annet at han ikke må bruke cancermarkører som screening hos pasienter uten kjent kreftsykdom (han bestiller CEA hos alle over en viss alder minst to ganger årlig og i tillegg PSA hos menn og CA 125 hos kvinner) og at fritt T3 bare er relevant ved hypertyreose, ikke ved hypotyreose (han ser ut til å bestille TSH, fritt T4 og fritt T3 på alle sine pasienter). Jeg legger til at han bestiller mer laboratorieprøver enn noen annen allmennpraktiker i hele Vestfold – og at det ikke akkurat er et kompliment. Han sier lite, men skyter inn et og annet spørsmål. "Kan jeg ikke bruke PSA som screening heller?" Jeg snakker om falske positive og falske negative, om at sannsynligheten for å finne laboratoriesvar utenfor referanseintervallene selv om pasienten er frisk er større jo flere analyser han bestiller. Han blir tilsynelatende ikke sur og jeg avslutter samtalen med å oppfordre han til å ringe til en av oss laboratorieleger hvis han ønsker hjelp til å velge de riktige laboratorieprøvene eller har spørsmål om tolkning av analysesvar.

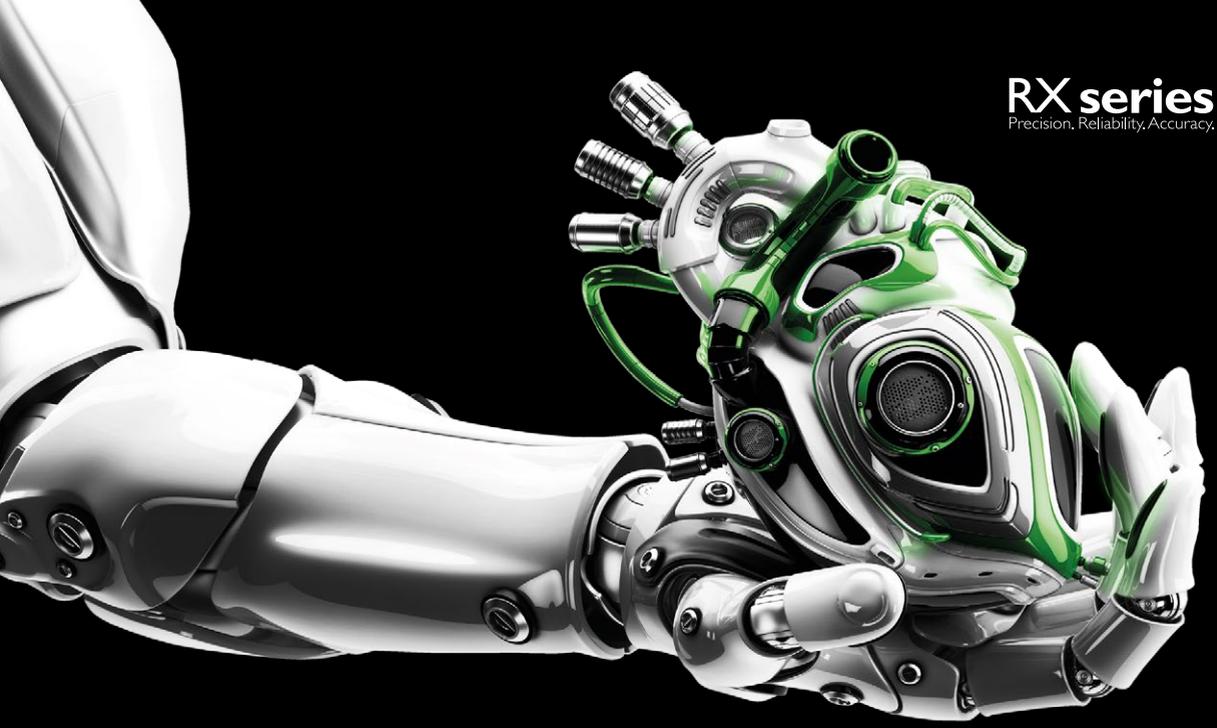
I Norge koster det ingenting for legene i allmennpraksis å bestille laboratorieanalyser som de sender

til sykehuslaboratorier eller private laboratorier. Analyser bestilt av leger i primærhelsetjenesten refunderes gjennom Folketrygden etter faste takster til de offentlige laboratorier. Mange av takstene fra Folketrygden er imidlertid så lave at de ikke engang dekker reagensutgiftene. En økning i antall bestilte analyser fra allmennpraksis kan dermed bety underskudd for laboratoriet. Uavhengig av vårt eget budsjett har vi på laboratoriet også et samfunnsansvar med å begrense unødvendige laboratorieanalyser – slik at offentlige midler ikke sløses bort uten at det gir bedre helse for pasientene. Selv om hver enkelt laboratorieanalyse som regel koster lite, utgjør de et betydelig antall og dermed en viktig utgiftspost på helsebudsjettet. Bruken av laboratorietjenestene må bli mer kunnskapsbasert – for å sikre reduksjon av unødvendige laboratorieanalyser og øke bruken av dem som bestilles for lite.

Vi forsøker å veilede våre rekvirenter til riktig bruk av laboratorieprøver – gjennom undervisning i medisinerstudiet, kurs og foredrag, nyhetsbrev, kommentering av svarrapporter med mer. Men jeg føler ofte at vi (altså laboratorieleger generelt) ikke gjør nok. Vi mangler gode verktøy for å styre legene vekk fra feilbruk. Vi burde etablere kunnskapsbaserte retningslinjer for bruk av laboratorieanalyser ved monitorering av sykdom slik som britene (1). Og vi burde hatt bedre elektroniske verktøy for å kunne kontrollere at retningslinjene blir overholdt. Hvis en HbA1c for eksempel blir bestilt kort tid etter at den ble bestilt sist, burde det dukke opp en melding om at dette ikke var i henhold til retningslinjene og en forklaring på hvorfor. Hvis legen likevel velger å bestille analysen, må han legge inn en begrunnelse. Noen laboratorier har etablert eller prøvd ut slike løsninger (2, 3) med god effekt.

Larsson og medarbeidere viste i 1999 at det var mulig å endre primærlegers laboratorierekvireringsmønster gjennom et to-dagers kurs (4). I regi av Norsk kvalitetsforbedring av laboratorievirksomhet utenfor sykehus (NOKLUS) arrangerer vi i mitt fylke årlige 6-timers laboratoriekurs for leger og medarbeidere på legekantor, men nettopp denne legen jeg kontaktet på

RX series
Precision. Reliability. Accuracy.



TECHNOLOGY AT THE HEART OF YOUR LABORATORY

The most versatile range of clinical chemistry analysers in their class, the RX series combines robust hardware and intuitive software with the RX series dedicated test menu putting innovation, ease-of-use, and superior technology at the heart of your laboratory.



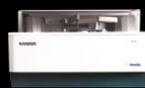
RX monza



RX monaco



RX daytona+



RX imola

RANDOX

A global market leader in the in vitro diagnostics industry for over 30 years

Tel: +44 (0) 28 9442 2413

therxseries@randox.com

therxseries.com



telefon kommer aldri på disse kursene. Det gjenstår å se om telefonsamtalen vil ha noen effekt. Det er vel optimistisk å tro at en enkelt telefonsamtale vil endre så mye, men det føles i hvert fall godt å ha sagt ifra. Det er vanskelig å styre bruken av det som tilsynelatende er uten restriksjoner eller kostnader. Bairds tre regler for bruk av laboratorieprøver (5) kan ikke gjentas for ofte:

- If you ask a stupid question, you get a stupid answer
- Laboratory testing is for sick people
- Too many good tests are the same as one bad test

Referanser

1. Lang T. National Minimum Re-testing Interval Project. A final report detailing consensus recommendations for minimum re-testing intervals for use in Clinical Biochemistry. Assoc Clin Biochem 2013;1-31.

2. Waldron JL, Ford C, Dobie D, Danks G, Humphrey R, Rolli A, et al. An automated minimum retest interval rejection rule reduces repeat CRP workload and expenditure, and influences clinician-requesting behaviour. J Clin Pathol 2014;67:731-3.
3. Lippi G, Brambilla M, Bonelli P, Aloe R, Balestrino A, Nardelli A, et al. Effectiveness of a computerized alert system based on re-testing intervals for limiting the inappropriateness of laboratory test requests. Clin Biochem 2015;48:1174-6.
4. Larsson A, Biom S, Wernroth ML, Hulsten G, Tryding N. Effects of an education programme to change clinical laboratory testing habits in primary care Scand J Prim Health Care. 1999;17:238-43.
5. Baird G. The laboratory test utilization management toolbox. Biochimica medica. 2014;24:223-34.



Foto: Helle B. Hager.

Ordförandespalt

Yngve Thomas Bliksrud



NFKK-styret hadde møte 22. april 2016 på Bornholm. Bornholm i solskinn i april var en opplevelse. Øya er full av vidunderlig natur, den har en interessant historie og man kan besøke en gedigen borg-ruin og merverdige rundkirker fra middelalderen. Det bor mange

kunstnere der som produserer, stiller ut og selger sine verker, og øya har dessuten en imponerende produksjon av sjokolade og drops. På et sånt sted er det godt å være, og det var det.

Et sentralt punkt på møteagendaen denne gangen var NFKK's økonomi. I flere år har NFKK fordelt midler til ulike prosjekter fra Nordfond. Men nå er fondet brukt opp, og NFKK vil dermed ikke ha samme muligheten til å støtte nordiske prosjekter økonomisk. Den økonomiske diskusjonen ledet derfor til en diskusjon om hva som bør være NFKKs prioriterte oppgaver. Vi var enige om at de faglige møteplassene i Norden er verdifulle og nyttige. Å legge til rette for møteplasser både i konkret forstand, det vil si i form av kurs/kongresser, men også de skriftlige møteplassene KBN og SJCLI bør være et hovedfokus for NFKK. Det vitenskapelige skrivekurset ("The Arctic Experience" Course in Scientific Writing and Publishing) har vært arrangert en rekke ganger i samarbeid med SJCLI. Kurset har fått svært gode tilbakemeldinger fra deltagerne både for det faglige og det sosiale innholdet. Det samme kan sies om det første felles nordiske utdanningskurset (The 1st Nordic Course in specialist training). Se under. Vi slo derfor entusiastisk fast at begge kursene skal være prioriterte oppgaver for NFKK. Den Nordiske kongressen er selvsagt også en prioritert oppgave, kanskje den mest sentrale, men kongressen skal ikke ha økonomisk støtte fra NFKK. Tvert i mot er kongressen en inntektskilde for NFKK. SJCLI har også en selvstendig økonomi, mens KBN og NFKK har økonomisk samarbeid. Det kan tenkes at KBN vil trenge mer økonomisk støtte fra NFKK i fremtiden.

Evaluering av det felles nordiske utdanningskurset som ble gjennomført i Carlotenlund september 2015,

var et annen viktig punkt på agendaen. Nete Hornung var invitert til å legge frem resultatet av den skriftlige tilbakemeldingen fra deltagerne, og til å delta i diskusjonen om fremtidige kurs. Tilbakemeldingene fra deltagerne var i all hovedsak svært positiv, det ble særlig holdt frem hvor inspirerende og nyttig det er å møte kolleger fra de andre nordiske land. Det er godt å høre. Muligheten til å knytte nordiske kontakter er jo en hovedbegrunnelse for å arrangere kurset i utgangspunktet. Blant forslagene til forbedringer kan nevnes ønske om mer gruppearbeid og mer tid til diskusjon. Nete mente dette trolig ville vært lettere å få til dersom deltagerantallet hadde vært litt lavere. Styret besluttet derfor at kurset skal arrangeres hvert annet år i stedet for hvert fjerde, som vi har foreslått tidligere. Det betyr at neste kurs allerede blir arrangert i 2017. Nete sa seg villig til å være hovedansvarlig for gjennomføringen nok en gang. Det er vi meget fornøyde med.

Besøket på Bornholm ble avsluttet med en fottur i håp om å få øye på Bornholms berømte bisonokser. Vi gikk i den vakreste vårskog som faktisk kunne by på Danmarks høyeste fossefall (fire svimlende meter). Vi så sikkert en million hvitveis, men ikke en eneste bison. Jeg er i grunnen glad for at det ikke var omvendt.



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

Preanalytical Working Group of the Nordic countries

Mads Nybo

Overlæge, ph.d.

Afdeling for Klinisk Biokemi og Farmakologi

Odense Universitetshospital

mads.nybo@rsyd.dk



The idea of forming a Nordic scientific working group on preanalytical issues was inspired by our participation in a recently formed EFLM Working Group on Preanalytics (WG-PRE). The EFLM WG-PRE has successfully promoted preanalytical issues by arranging specific preanalytical conferences and publishing a number of scientific papers on the subject.

We therefore applied the NFKK foundation for support in order to establish a Nordic working group – and this was granted autumn 2014. All Nordic National societies were asked to appoint a member to the working group, and the result was the following group:

Gudmundur Sigthorsson, Landspítali, Reykjavik, Iceland

Gunn Kristensen, Head of the Norwegian Clinical Chemistry EQA program (NKK), Bergen, Norway

Jonna Pelanti, Head of EQA, Labquality Oy, Helsinki, Finland

Kjell Grankvist, Department of Medical Biosciences, Umeå University, Sweden

Mads Nybo, Dept. of Clinical Biochemistry and Pharmacology, Odense University Hospital, Denmark

The working group (WG) held a constitutional meeting in March 2015 in Porto during the 3rd EFLM-BD European Conference on Preanalytical Phase, and the following terms-of-reference were established:

1. To promote the importance of the quality of the preanalytical phase of laboratory medicine in the Nordic countries

2. To conduct surveys using validated questionnaires and to conduct studies using quality indicators/instruments with the aim to assess the current preanalytical practices
3. To define the best practices and provide recommendations for critical activities in the preanalytical phase
4. To organize meetings and to promote e-learning or training courses on preanalytical phase issues.

At the constitutional meeting, a number of already ongoing Nordic projects were discussed (e.g. Establishment of a database on sample stability (Norway), Use of internal and external preanalytical QC systems (Finland and Norway), and Evaluation and promotion of e-learning activities through web-based education (Sweden)), and also, ideas for more specific future projects were outlined. Due to logistic challenges the next WG meeting was not held until February 2016 in Stockholm, but here are some of the projects that the WG agreed upon pursuing:

1. A preanalytical session at the forthcoming NFKK Congress in Odense, Denmark

Has been arranged June 15th, 10.30-12.30; please see the Congress program for details.

2. A harmonized fasting definition

This includes a description of the present situation in the Nordic countries and the evidence behind the use of fasting in relation to blood sampling.

3. Sampling auditing

The goal is an opinion paper on the rationale for a standardized, continuous quality control of

the blood sampling procedure, the evidence for this and a suggested guide for implementation of such a QC procedure; at the moment a similar work is in progress in the European WG, and the conclusions of this is awaited.

4. A policy for dissemination of existing preanalytical guidelines

The possibility of using the NFKK homepage will be investigated. Also, dissemination through National Society journals, *Klinisk Biokemi i Norden* and *SJCLI* are possibilities. Production of specific leaflets on different issues will also be considered.

5. Adoption of other EFLM activities

Sampling guideline – endorsement when finalized
Quality indicators – which to choose and how to proceed?

6. Forthcoming meetings

June 14th 2016 in Odense, 14.00-17.00 (in relation to the NFKK Congress)

November 24-25th 2016

March 17th 2017 in Amsterdam (in relation to the EFLM-BD Preanalytical Meeting)



Foto: Morten Rakke Photography.

Første trimesters screening for præeklampsji

Line Rode og Ann Tabor

Klinisk Biokemisk Afdeling og Center for Føtalmedicin og Gravide, Rigshospitalet København
line.rode@regionh.dk



Baggrund

Præeklampsji (svangerskabsforgiftning) defineres som hypertension (blodtryk $\geq 140/90$) opstået efter graviditetsuge 20 med ledsagende proteinuri $\geq 0,3$ g/døgn og er en af de mest alvorlige graviditetskomplikationer. Tilstanden, der forekommer hos mellem 3 % og 8 % af gravide, er associeret med øget morbiditet og mortalitet for både moder og barn (1). Svær præeklampsji er således associeret med alvorlige materielle komplikationer såsom eklampsji, dissemineret intravaskulær koagulation, HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets) syndrom, akut nyresvigt, leversvigt, hjerneblødning og lungeødem (2). Kvinder, der udvikler præeklampsji, har desuden øget risiko for at udvikle kardiovaskulær sygdom og nyresvigt senere i livet (3;4). Konsekvenserne for foster/barn afhænger af sygdommens sværhedsgrad og varierer fra intrauterin væksthæmning i mere moderate tilfælde til intrauterin død i sværere tilfælde (2). Ca. 15 % af gravide med præeklampsji forløses før graviditetsuge 34 dvs. meget præterm (5), hvilket øger risikoen for alvorlige neonatale komplikationer som hjerneblødning, cerebral parese, nekrotiserende enterocolitis, sepsis og respiratorisk distress syndrom (6).

Patogenesen for præeklampsji er endnu ikke fuldt afklaret, men abnorm trofoblast-invasion menes at være centralt. Under den normale tidlige dannelse af placenta ændres spiralkarrene i livmoderen fra høj- til lav-modstandskar, hvorved en høj blodgenemstrømning sikres. Den placental blodgennem-

strømning er nedsat ved præeklampsji, blandt andet fordi der primært sker en omdannelse af de mest overfladiske kar og ikke de dybere kar i myometriet. Den medfølgende hypoperfusion og hypoxi fører til oxidativt stress i placenta og systemisk inflammation (7). Ledsagende dysfunktion i endothelet bidrager til de kliniske manifestationer ved præeklampsji: Der udvikles hypertension grundet manglende kontrol af den vaskulære tonus, og en øget vaskulær permeabilitet medfører ødemer. Defekter i kargebet i hjerne og placenta er medvirkende årsag til hovedpine og kramper samt intrauterin væksthæmning (8). Den abnorme placentadannelse stimulerer frigivelse af en række vækstfaktorer, herunder Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) og Placental Growth Factor (PlGF), der stimuleres af hypoxi og derved er med til at sikre tilstrækkelig ilttilførsel til fosteret ved at øge angiogenesis (dannelsen af blodkar)(7).

Præeklampsji udvikles kun, når placenta er til stede, og den mest effektive behandling af præeklampsji er fødsel af placenta. Gennem de seneste årtier har flere studier dog vist, at lav-dosis (100 mg) aspirin kan forebygge udviklingen af svær præeklampsji, der fører til forløsning før graviditetsuge 34, især hvis behandling iværksættes før graviditetsuge 16 (9). På nuværende tidspunkt anbefales profylaktisk behandling med lav-dosis aspirin mange steder til høj-risiko gravide defineret ud fra oplysninger om kvindens tidligere graviditeter og sygdomme (10). Der findes fortsat ingen kurativ behandling af præeklampsji udover forløsning. Præeklampsji er derfor den hyppigste årsag til induceret præterm fødsel, og det er således af stor betydning at kunne skelne kvinder, der udvikler præeklampsji, fra dem, der ikke gør. Kvinder med tegn på præeklampsji, såsom forhøjet blodtryk eller proteinuri, bliver derfor ofte indlagt, indtil præeklampsji er udelukket. Da præeklampsji er en multifaktoriel sygdom, er det ikke sandsynligt, at der findes en enkeltstående markør til prædiktation/diagnostik af præeklampsji.

Smart infection diagnosis

Early identification of clinically relevant bacterial infections is crucial to improving patient outcomes. Furthermore, identifying patients that benefit from antibiotic treatment and monitoring of antibiotic treatment is recommended for a patient centered therapy. The determination of the infection and sepsis parameter **Procalcitonin (PCT)** with the immunoassay analyzer Samsung LABGEO^{IB10} allows now for **rapid and reliable decision making 24/7** in acute care settings.

Samsung IB B·R·A·H·M·S PCT at point of care

• For more information visit us at thermoscientific.com/brahms



Contact Petra Östlund | petra.ostlund@thermofisher.com | + 46 (0)8 594 691 30

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. B·R·A·H·M·S PCT™ and all other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. Samsung LABGEO® is a registered trademark of Samsung C&T Corporation. Thermo Fisher Scientific products are distributed worldwide; not all intended uses and applications mentioned in this printing are registered in every country.

SAMSUNG

Maternelle risikofaktorer og ultralydsparametre

Kvinder med mere end én af følgende risikofaktorer har moderat risiko for at udvikle præeklamsi: Førstegangsfødende, alder ≥ 40 år, mere end 10 år siden sidste graviditet, prægravid body mass index ≥ 35 kg/m², familiær disposition til præeklamsi samt flerfoldsgraviditet. Internationale kliniske guidelines anbefaler i dag lav-dosis aspirinbehandling samt ekstra obstetriske konsultationer til kvinder, der har haft svær præeklamsi i en tidligere graviditet, kronisk nyresygdom, autoimmun sygdom såsom systemisk lupus erythematosus eller antiphospholipidsyndrom, prægestationel diabetes, eller behandlingskrævende essentiel hypertension (10). Maternelle risikofaktorer estimeres at kunne prædiktere ca. 30 % af tilfældene af præeklamsi (11).

Udover anamnese er blodtryksmåling og undersøgelse for tilstedeværelse af proteinuri essentielt i diagnose og prædiktion af præeklamsi. Studier viser, at blodtrykket allerede er påvirket i første trimester af graviditeten og derfor kan benyttes til at vurdere risikoen for at udvikle præeklamsi senere i gravidite-



Den optimale screeningsperformance opnås ved at kombinere biokemiske markører med anamnese, blodtryksmåling og måling af flow i arteria uterina

ten (12). Desuden kan man undersøge flowet i arteria uterina via Doppler ultralydsundersøgelse og derved vurdere den uteroplacentale blodgennemstrømning (13.) Der er således fundet en signifikant korrelation mellem graden af flow modstand i arteria uterina så tidligt som i uge 11-13 og gestationsalder ved fødslen (14). Nyere studier tyder på, at det er muligt at prædiktere præeklamsi med høj sensitivitet og specificitet allerede i første trimester af graviditeten, såfremt anamnese, blodtryksmåling og flowmåling i arteria uterina kombineres med biokemiske markører (15). Blandt de mest undersøgte og lovende biokemiske markører i første trimester er Pregnancy-Associated Plasma Protein A (PAPP-A) og PIGF.

Pregnancy-Associated Plasma Protein A (PAPP-A)

PAPP-A har i mange år været brugt som markør for Trisomi 21, 18 og 13 i første trimester i kombination med frit β -humant choriogonadotropin og ultralydsbestemt nakkefoldstykkelser. Koncentrationen af PAPP-A findes nedsat i graviditeter, hvor fosteret har trisomi sammenlignet med fostre med normal karyotype (16).

PAPP-A er et glykoprotein, der syntetiseres af den placentale syncytiotrofoblast og findes i stigende koncentrationer i maternelt blod under graviditet. Koncentrationen stiger især markant i det første trimester af graviditeten. Via sin metalloprotease-aktivitet er PAPP-A involveret i regulering af Insulin-like Growth Factors (IGFs) og spiller derved en vigtig rolle for vækst af både placenta og foster (17). PAPP-A findes således også nedsat i graviditeter med intrauterin væksthæmning, ved præterm fødsel og før udvikling af præeklamsi (18;19.) PAPP-A har begrænset værdi som enkeltstående markør for præeklamsi, idet kun ca. 20 % af tilfældene af tidlig præeklamsi identificeres for en falsk-positiv rate på 5 % ved vurdering i første trimester, men i kombination med maternel anamnese og Dopplerundersøgelse af arteria uterina øges den identificerede andel (dvs. detektionsraten) til 62 %.(5) Screeningen bedres yderligere ved at tilføje måling af moderens blodtryk og bestemmelse af koncentrationen af PIGF (12;15).

Placental Growth Factor (PIGF)

Nyere evidens peger på, at en ubalance mellem pro-angiogene faktorer (eks. VEGF og PIGF) og anti-angiogene faktorer (eks. Soluble Fms-like tyrosine kinase

1, sFlt-1) bidrager til patogenesen for endothelial dysfunktion (20). PlGF betragtes som særlig interessant i prædiktionen af præeklamps, da ændringer i denne markør ses tidligt, dvs. allerede i første trimester, i lighed med PAPP-A, men modsat sFlt-1. PlGF er et angiogent glykoprotein, der dannes af den placentale trofoblast. I den normale graviditet stiger koncentrationen af PlGF indtil ca. graviditetsuge 30, hvorefter koncentrationen falder indtil terminen. Koncentrationen af PlGF er nedsat ved præeklamps, især ved tidlig udvikling af tilstanden og ved samtidig tilstedeværelse af intrauterin væksthæmning (21;22). PlGF forekommer i mindst fire isoformer, hvoraf PlGF-1 og PlGF-2 menes at være de primært forekommende (23;24). Studier indikerer, at PlGF-1 og PlGF-2 har forskellige funktioner. PlGF-1 menes hovedsageligt at stimulere proliferation af cytotrophoblastceller, mens PlGF-2 hæmmer endothelcelle-proliferation. PlGF-1 er muligvis nedsat i højere grad ved præeklamps end PlGF-2, men koncentrationen af begge isoformer er nedsat i forhold til normale graviditeter (23). Kun ca. 25 % af tilfældene af tidlig præeklamps detekteres i første trimester ud fra PlGF alene (25), mens det estimeres, at man kan detektere 93 % af tilfælde af præeklamps forløst før 34 uger (for en 5 % falsk-positiv rate) ved at kombinere anamnese, blodtryksmåling, flow i arteria uterina, PAPP-A og PlGF (15). Tabel 1

viser den estimerede detektionsrate for en 5 % falsk-positiv rate for forskellige screeningsalgoritmer. Der pågår aktuelt et multicenter randomiseret placebo-kontrolleret studie (ASPRE studiet), der undersøger effekten af 150 mg aspirin til forebyggelse af tidlig præeklamps blandt 1684 høj-risiko gravide identificeret ved screening i første trimester (<http://www.isrctn.com/ISRCTN13633058>). De første resultater forventes præsenteret i slutningen af 2016. Et nyligt australsk observationelt studie har fundet, at aspirinbehandling iværksat før graviditetsuge 16 blandt screen-positive vil kunne reducere forekomsten af præeklamps markant (26).

Øvrige markører

sFlt-1 er den opløselige form af VEGF1-receptoren. sFlt-1 binder og hæmmer koncentrationen af cirkulerende proangiogene faktorer, såsom VEGF og PlGF, hvilket medfører øget vasokonstriktion og endothelskade (21). Under den normale graviditet er koncentrationen af sFlt-1 uændret indtil tredje trimester, hvorefter koncentrationen stiger indtil terminen (21). sFlt-1 har begrænset værdi ved screening for præeklamps i første trimester (27), hvorimod koncentrationen af sFlt-1 i andet og tredje trimester er fundet øget ved præeklamps (28;29). Koncentrationen af PlGF og sFlt-1 ændres begge i andet trimester

Tabel 1: Den estimerede detektionsrate for en 5% falsk-positiv rate for forskellige kombinationer af første trimesters markører for tidlig præeklamps*

| Kombination af markører | Detektionsrate for en 5% falsk-positiv rate |
|---|---|
| Maternelle karakteristika | 36% |
| Maternelle karakteristika og PAPP-A | 44% |
| Maternelle karakteristika og blodtryk | 58% |
| Maternelle karakteristika og flow i arteria uterina | 59% |
| Maternelle karakteristika og PlGF | 59% |
| Maternelle karakteristika, blodtryk og flow i arteria uterina | 80% |
| Maternelle karakteristika, blodtryk, flow i arteria uterina og PAPP-A | 82% |
| Maternelle karakteristika, blodtryk, flow i arteria uterina og PlGF | 87% |
| Maternelle karakteristika, blodtryk, flow i arteria uterina, PAPP-A og PlGF | 93% |

*Poon & Nicolaides (14)

af graviditeten ved præeklamsi, og ratioen mellem disse synes derfor at være en bedre prædikator for udviklingen af præeklamsi efter første trimester end anvendelse af markørerne alene (20;30;31).

Placental protein-13 (PP-13) er et protein, der dannes af syncytiotrofoblasten og menes at have en vigtig rolle i blastocystimplantation, udvikling af placenta samt remodellering af spiralarterier. Koncentrationen er fundet nedsat i første trimester hos gravide, der senere udvikler præeklamsi (32), men selv i kombination med arteria uterina flowundersøgelse og PAPP-A findes kun moderat god prædiktions af præeklamsi (33.) Andre undersøgte markører er føtalt hæmoglobin, homocystein, A Disintegrin And Metalloprotease 12 (ADAM12), cystatin-C, resistin m.fl. Fælles for alle markører er, at de har begrænset værdi som enkeltstående markør for præeklamsi.

Konklusion

Præeklamsi er en multifaktoriel sygdom associeret med øget morbiditet og mortalitet for både moder og barn. Der er hidtil ikke identificeret én markør, der alene kan prædiktere eller diagnosticere præeklamsi med høj sensitivitet og specificitet. Mest lovende i første trimester af graviditeten er brugen af algoritmer, der estimerer risikoen for udvikling af tidlig præeklamsi på baggrund af en kombination af maternel anamnese, biofysiske markører og biokemiske markører.

Referencer

1. Roberts CL, Ford JB, Algert CS, Antonsen S, Chalmers J, Cnattingius S, et al. Population-based trends in pregnancy hypertension and pre-eclampsia: an international comparative study. *BMJ Open* 2011;1:e000101.
2. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
3. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2007;335:974.
4. Vikse BE, Irgens LM, Leivestad T, Skjaerven R, Iversen BM. Preeclampsia and the risk of end-stage renal disease. *N Engl J Med* 2008;359:800-9.
5. Poon LC, Maiz N, Valencia C, Plasencia W,

Nicolaides KH. First-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;33:23-33.

6. Ward RM, Beachy JC. Neonatal complications following preterm birth. *BJOG* 2003;110 Suppl 20:8-16.
7. Steegers EA, von DP, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010;376:631-44.
8. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science* 2005;10;308:1592-4.
9. Bujold E, Roberge S, Lacasse Y, Bureau M, Audibert F, Marcoux S, et al. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2010;116:402-14.
10. Hypertension in pregnancy: The management of hypertensive disorder during pregnancy. *Nice Clinical guideline August 2010.*
11. Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Prenat Diagn* 2011;31:66-74.
12. Poon LC, Syngelaki A, Akolekar R, Lai J, Nicolaides KH. Combined screening for pre-eclampsia and small for gestational age at 11-13 weeks. *Fetal Diagn Ther* 2013;33:16-27.
13. Velauthar L, Plana MN, Kalidindi M, Zamora J, Thilaganathan B, Illanes SE, et al. First-trimester uterine artery Doppler and adverse pregnancy outcome: a meta-analysis involving 55,974 women. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;43:500-7.
14. Poon LC, Nicolaides KH. Early prediction of preeclampsia. *Obstet Gynecol Int* 2014;2014:297397.
15. Akolekar R, Syngelaki A, Poon L, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. *Fetal Diagn Ther* 2013;33:8-15.
16. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human cho-

- rionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:231-7.
17. Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Gleich GJ, Hays LG, et al. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3149-53.
 18. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH, et al. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (the FASTER Trial). *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1446-51.
 19. Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1762-7.
 20. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006;355:992-1005.
 21. 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.
 22. Saffer C, Olson G, Boggess KA, Beyerlein R, Eubank C, Sibai BM. Determination of placental growth factor (PlGF) levels in healthy pregnant women without signs or symptoms of preeclampsia. *Pregnancy Hypertens* 2013;3:124-32.
 23. Nucci M, Poon LC, Demirdjian G, Darbouret B, Nicolaides KH. Maternal serum placental growth factor (PlGF) isoforms 1 and 2 at 11-13 weeks' gestation in normal and pathological pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 2014;36:106-16.
 24. Yang W, Ahn H, Hinrichs M, Torry RJ, Torry DS. Evidence of a novel isoform of placenta growth factor (PlGF-4) expressed in human trophoblast and endothelial cells. *J Reprod Immunol* 2003;60:53-60.
 25. Akolekar R, Zaragoza E, Poon LC, Pepes S, Nicolaides KH. Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;32:732-9.
 26. Park F, Russo K, Williams P, Pelosi M, Puddephatt R, Walter M, et al. Prediction and prevention of early-onset pre-eclampsia: impact of aspirin after first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;46:419-23.
 27. Akolekar R, de CJ, Foidart JM, Munaut C, Nicolaides KH. Maternal plasma soluble fms-like tyrosine kinase-1 and free vascular endothelial growth factor at 11 to 13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn* 2010;30:191-7.
 28. Aggarwal PK, Chandel N, Jain V, Jha V. The relationship between circulating endothelin-1, soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin in preeclampsia. *J Hum Hypertens* 2012;26:236-41.
 29. Haggerty CL, Seifert ME, Tang G, Olsen J, Bass DC, Karumanchi SA, et al. Second trimester anti-angiogenic proteins and preeclampsia. *Pregnancy Hypertens* 2012;2:158-63.
 30. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, et al. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* 2012;125:911-9.
 31. Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennstrom M, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med* 2016;374:13-22.
 32. Akolekar R, Syngelaki A, Beta J, Kocylowski R, Nicolaides KH. Maternal serum placental protein 13 at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn* 2009;29:1103-8.
 33. Odibo AO, Zhong Y, Goetzinger KR, Odibo L, Bick JL, Bower CR, et al. First-trimester placental protein 13, PAPP-A, uterine artery Doppler and maternal characteristics in the prediction of pre-eclampsia. *Placenta* 2011;32:598-602.

Immuno-MALDI

– en lovende metode til måling af peptider

Jakob Albrethsen, Jens Peter Gøtze, og Anders Holten Johnsen

Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet

jakob.christian.albrethsen@regionh.dk



Immuno-MALDI som biokemisk metode har potentiale i kliniske målinger af diagnostiske peptider (1). MALDI-TOF massespektrometri spiller allerede en vigtig rolle indenfor forskning i proteiner og peptider. MALDI-TOF er en forkortelse for "matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight" og metoden adskiller sig fra andre former for massespektrometri ved at være yderst brugervenlig. En dråbe prøveopløsning tilsættes en dråbe "matrixopløsning" og opløsningen sættes til indtørring på en metaloverflade ("target-pladen") i nogle få minutter. Den resulterende krystal-struktur på overfladen af target-pladen analyseres i instrumentet ved at en laser skyder på prøven, hvilket får ioniserede peptider til at løsrive sig og en elektrisk impuls accelererer herefter peptiderne i retning mod en detektor. Det grundlæggende analytiske princip er, at peptidernes præcise molekylvægt er proportional med flyvetiden ("time-of-flight") – jo hurtigere peptiderne flyver, jo mindre er molekylvægten. En MALDI-analyse kan således måle tilstedeværelsen af peptider identificeret ved deres forskellige og præcise molekylvægte.

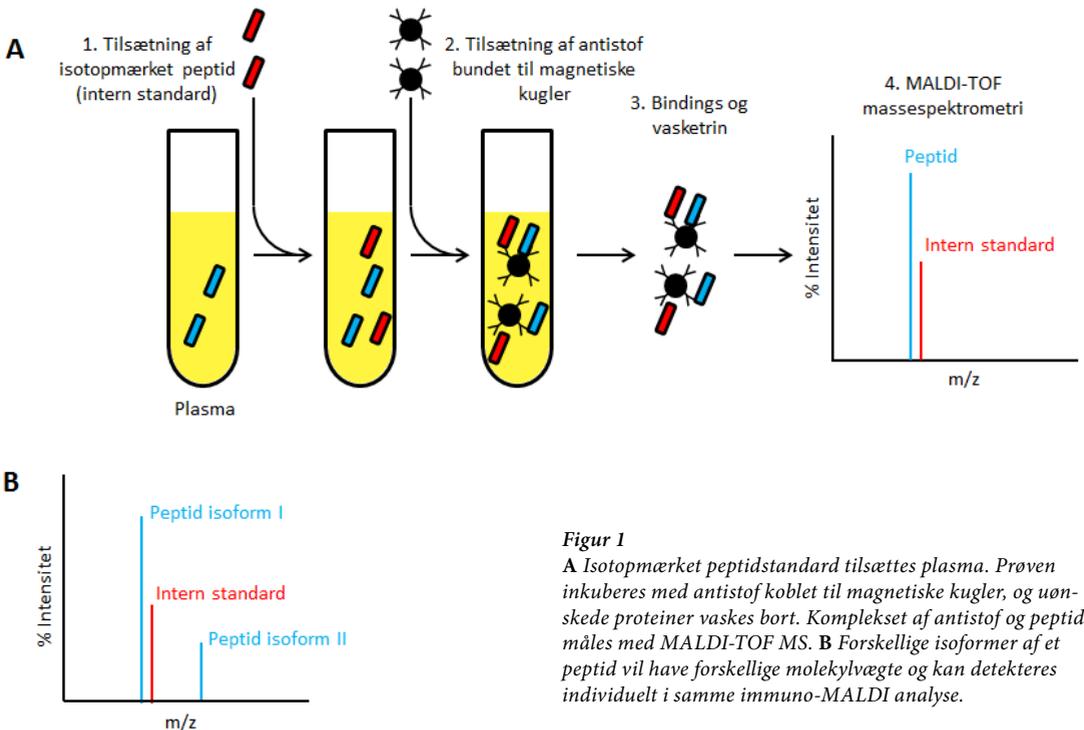
Senest har MALDI også fået sit kliniske gennembrud og MALDI-pladformer fra BioMe'rieux ("VITEK MS platform") og Bruker Daltonics ("MALDI Biotyper") er i løbet af de seneste år blevet implementeret i mikrobiologiske laboratorier verden over, hvor de reducerer arbejdsbyrden betydeligt i forhold til de traditionelle metoder for bakterieidentifikation (2). Kort fortalt placeres en bakterie-koloni på MALDI

target-pladen, en dråbe matrixopløsning tilsættes og en diagnostisk proteinprofil genereres ved tryk på en knap. Den samlede analyse tager dermed kun få minutter. MALDI-teknologien har således allerede demonstreret sin anvendelighed i rutinediagnostik. I en immuno-MALDI-analyse er teknikken lidt anderledes, hvor et peptid først bindes til et antistof, og kvantiteringen derefter sker ved traditionel MALDI-analyse (1) (Figur 1A). I immuno-MALDI tilføjes således en prøveforberedelse, som minder om ELISA, men hvor antistoffet i stedet er koblet til magnetiske kugler (eller ved en anden teknik). Efter bindings- og vasketrinene kvantiteres peptidet på MALDI-pladformen.

Et MALDI-instrument kan måle proteiner >500 kDa, men er mest følsom i området under 10 kDa, og under optimale omstændigheder er detektionsgrænsen for et rent peptid < 1 ng (3). Immuno-MALDI har først og fremmest potentiale til kvantitering af peptider, men ved MALDI-analyser af biologiske prøver uden forudgående selektion af targetmarkør, undertrykker et fåtal af højt koncentrerede proteiner signalet af alle andre proteiner og peptider. En MALDI-analyse af plasma vil for eksempel typisk kun føre til måling af ~10-20 proteiner som er til stede i højeste koncentration, herunder serum albumin (4). I immuno-MALDI benyttes derfor antistoffer til at binde det ønskede peptid, hvorefter de højt koncentrerede proteiner vaskes bort før MALDI-analysen. Flere studier har vist at immuno-MALDI metoden kan opnå god følsomhed. Popp et al. har udviklet immuno-MALDI til kvantitering af plasma angiotensin-1 (1296 Da) med en detektionsgrænse på 0,1 ng/L (< 1 pM) (5). Immuno-MALDI kan også måle proteiner, men her vil detektionsgrænsen typisk være højere. Meyer et al. har præsenteret en immuno-MALDI metode til kvantitering af plasma CRP (25 kDa) over 100 µg/L og Cystatin C (15,8 kDa) over 1 µg/L (6). Som enhver immunbaseret målemetode afhænger immuno-MALDI naturligvis helt og aldeles af antistoffets bindingsegenskaber over

for en given epitop. Et velkendt problem fra ELISA og RIA-målinger er dog uspecifik binding (7). Men her har immuno-MALDI en potentiel fordel. I immuno-MALDI er selve kvantiteringen baseret på intensiteten af en specifik top i et masse-spektrum, som specifikt svarer til det relevante peptid. Hvis antistoffet krydsreagerer med andre peptider og proteiner end det ønskede, vil disse fremstå som separate toppe i et masse-spektrum og ikke bidrage til kvantiteringen af det relevante peptid. Immuno-MALDI kunne derfor tænkes at have et potentiale ved validering og forbedring af allerede etablerede antistof-baserede målemetoder. En yderligere fordel er, at immuno-MALDI kan skelne mellem isoformer, såsom modificerede eller trunkeerede varianter af et peptid. Til sammenligning beror ELISA og RIA-baseret kvantitering på en samlet måling af alle forekommende isoformer af et peptid, der indeholder den antistof-bindende epitop (typisk en kort sekvens på 5-7 aminosyrer). I immuno-MALDI vil et trunkeeret peptid optræde som en top med en lavere masse, hvorimod for eksempel et glykosyleret peptid vil optræde med højere masse (Figur 1B). Dette åbner op for muligheden for parallel kvantitering af isoformer af et peptid, hvilket kan have

stor diagnostisk betydning (8). Ved brug af immuno-MALDI dokumenterede Niederkofler et al. først, at BNP nedbrydes i plasma i fravær af høje mængder af protease-hæmmere. Dernæst viste immuno-MALDI målinger, at plasma BNP 1-32 (det aktive hormon) var til stede i relativt lave mængder (20-40 ng/L) hos en gruppe patienter med hjertesvigt, men at plasmaet også indeholdt flere ukendte BNP-fragmenter. Ifølge den etablerede målemetode var plasma BNP koncentrationen >50 gange højere i samme patientgruppe (9). Denne forskel kunne netop forklares ved, at den etablerede antistof-baserede metode måler på summen af alle peptid-isoformer, inklusive ikke-aktive og trunkeerede former, mens immuno-MALDI måler specifikke isoformer individuelt. Oran et al. udviklede immuno-MALDI til kvantitering af plasma insulin (5,8 kDa) ned til <10 ng/L (<2 pM) og identificerede en modificeret form af insulin (des-thr30-insulin), som ellers kun tidligere er identificeret i urin, foruden tilstedeværelsen af en trunkeeret form af det terapeutiske insulin-præparat Lantus (10). Studiet fra Oran et al. tydeliggør derfor, at immuno-MALDI har et særligt potentiale til måling af endogene versus terapeutiske peptider i plasma. Og med efterhånden mange



Figur 1
A Isotopmærket peptidstandard tilsættes plasma. Proven inkuberes med antistof koblet til magnetiske kugler, og uønskede proteiner vaskes bort. Komplekset af antistof og peptid måles med MALDI-TOF MS. **B** Forskellige isoformer af et peptid vil have forskellige molekulvægte og kan detekteres individuelt i samme immuno-MALDI analyse.

terapeutiske peptider til klinisk brug, vil det åbne op for ny forståelse af det endogene respons til eksogen terapi. Samme forskergruppe identificerede for øvrigt også en trunkeret form af plasma C-peptid (3-31), som cirkulerede i øgede koncentrationer i patienter med type 2 diabetes (11).

Variation af signal-intensitet i MALDI afhænger bl.a. af effekter fra matrix-opløsningen og fra instrumentkomponenter (12). For optimal kvantitering kræves der derfor brug af interne standarder, såsom isotopmærkede peptider (5) eller kovalent modificerede proteiner (6). De interne standarder kan tilsættes inden prøveforberedelsen, og de ovennævnte studier har alle opnået acceptabel teknisk variation og linearitet. Hele arbejdsgangen kan potentielt automatiseres til rutinebrug (5)(10). Den største nuværende udfordring for klinisk brug af immuno-MALDI er følsomhed. Hvis antistoffet krydsreagerer med højt koncentrerede proteiner, vil disse ikke let kunne vaskes bort og vil dermed undertrykke peptid-signalet ved MALDI analysen. Højt koncentrerede proteiner kan også bringes med fra prøven ved uspecifik binding til overfladen af magnetiske kugler og til plastik, og ikke kun til selve antistoffet. Udvikling af immuno-MALDI kræver derfor optimering af bindings- og vasketrin, inklusive bindingstid, antistof versus prøve-volumen, prøvfortynding og buffer sammensætning (salt, detergent, blokerende BSA). Følsomheden vil desuden afhænge af peptidsekvensen. For at et peptid overhovedet kan detekteres ved MALDI, skal det kunne påføres en ladning, og meget små peptider som indeholder en eller flere sure eller basiske aminosyrer, vil generelt give det stærkeste signal i en MALDI analyse. Typisk har immuno-MALDI studier benyttet velkarakteriserede antistoffer, der allerede har demonstreret deres anvendelighed, for eksempel i kliniske ELISA, og denne strategi er velegnet til proof-of-concept studier. Men sådanne antistoffer er netop udviklet med henblik på traditionelle immunmetoder og vil ikke nødvendigvis være anvendelige eller optimale for immuno-MALDI. For at forbedre følsomheden i immuno-MALDI kan det derfor være nødvendigt at udvikle antistoffer specifikt med henblik på immuno-MALDI analyse. Endelig er der spørgsmålet om økonomi. Anskaffelsesprisen for et MALDI instrument og software er rundt regnet en million kr. (13), og dertil følger udgifter til reagenser og løn. Immuno-MALDI vil sandsynligvis ikke være billigere end eksisterende og højsensitive immuno-

metoder, som koster cirka 100 kr. per analyse, alt inkl. Det er nok ikke realistisk at immuno-MALDI for nuværende kan udkonkurrere etablerede kliniske immunmetoder, men immuno-MALDI vil måske kunne spille en rolle for udvalgte peptider. Immuno-MALDI tillader som nævnt direkte måling af plasma insulin, også i tilstedeværelse af terapeutisk insulin, og kunne være et interessant alternativ til C-peptid målinger. Et andet eksempel er immuno-MALDI af vassopressin, som i dag ofte måles i surrogatform som copeptin.

Endnu har ingen massespektrometri-platform bevist sin kliniske anvendelighed i rutineanalyser af lavt koncentrerede proteiner eller peptider i plasma (14). I modsætning til LCMS-baserede metoder, så er MALDI-platformen robust og brugervenlig og har allerede demonstreret sin anvendelighed i rutineanalyser. I immuno-MALDI sker kvantitering ved en direkte måling af det relevante peptid, som er identificeret ved dets unikke og præcise molekylvægt, og ikke, som i traditionelle immunmetoder, ved en indirekte reaktionsproces. Immuno-MALDI kan derfor bruges til kritisk validering af eksisterende kliniske immunmetoder, og metoden åbner op for nye diagnostiske muligheder.

Referencer

1. Sparbier K, Wenzel T, Dihazi H, Blaschke S, Müller G-A, Deelder A, et al. Immuno-MALDI-TOF MS: new perspectives for clinical applications of mass spectrometry. *Proteomics* 2009;9:1442–50.
2. Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clin Chem* 2015;61:100–11.
3. Hortin GL. The MALDI-TOF mass spectrometric view of the plasma proteome and peptidome. *Clin Chem* 2006;52:1223–37.
4. Albrethsen J. The first decade of MALDI protein profiling: a lesson in translational biomarker research. *J Proteomics* 2011;74:765–73.
5. Popp R, Malmström D, Chambers AG, Lin D, Camenzind AG, van der Gugten JG, et al. An automated assay for the clinical measurement of plasma renin activity by immuno-MALDI (iMALDI). *Biochim Biophys Acta* 2015;1854:547–58.
6. Meyer K, Ueland PM. Targeted quantification

of C-reactive protein and cystatin c and its variants by immuno-MALDI-MS. *Anal Chem* 2014;86:5807–14.

7. Baker M. Reproducibility crisis: Blame it on the antibodies. *Nature* 2015;521:274–6.
8. Hunter I, Goetze JP. Next generation natriuretic peptide measurement. *Adv Clin Chem* 2012;58:45–8.
9. Niederkofler EE, Kiernan UA, O’Rear J, Menon S, Saghir S, Protter AA, et al. Detection of endogenous B-type natriuretic peptide at very low concentrations in patients with heart failure. *Circ Heart Fail* 2008;1:258–64.
10. Oran PE, Jarvis JW, Borges CR, Sherma ND, Nelson RW. Mass spectrometric immunoassay of intact insulin and related variants for population proteomics studies. *Proteomics Clin Appl* 2011;5:454–9.

11. Oran PE, Jarvis JW, Borges CR, Nelson RW. C-peptide microheterogeneity in type 2 diabetes populations. *Proteomics Clin Appl* 2010;4:106–11.

12. Albrethsen J. Reproducibility in protein profiling by MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Chem* 2007;53:852–8.

13. Dhiman N, Hall L, Wohlfiel SL, Buckwalter SP, Wengenack NL. Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *J Clin Microbiol* 2011;49:1614–6.

14. Anderson NL, Anderson NG. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteomics* 2002;1(11):845–67.



Rosmarin (Rosmarinus officinalis). Foto: Henrik Alfthan

CK-stigning i plasma som symptom på medfødt metabolsk sykdom

Yngve Thomas Blikrud, overlege, Ph.D.

Avdeling for medisinsk biokjemi, Oslo universitetssykehus



Innledning

I mitt arbeid med diagnostikk av medfødte metabolske sykdommer treffer jeg relativt ofte på pasienter som utredes med vedvarende høy kreatin kinase (CK, EC 2.7.3.2) i plasma som et viktig funn. Alvoret i anamnesene varierer. En god del pasienter har egentlig lite symptomer utover det biokjemiske avviket, men mange har muskelsmerter i tillegg, og enkelte har sykehusinnleggelse bak seg grunnet livstruende episoder med rhabdomyolyse. Blant alle disse tilfellene kan en sjelden gang en medfødt stoffskiftesykdom være årsaken. Derfor er det nyttig for medisinske biokjemikere/kliniske kjemikere å ha hørt litt om noen av disse diagnosene og å vite at målrettede biokjemiske og genetiske undersøkelser med tanke på medfødt metabolsk sykdom kan være relevante som en del av utredningen hos slike pasienter.

Bakgrunn

CK katalyserer intracellulær dannelse av kreatinfosfat, som er en viktig energireserve for skjelettmuskel, hjertemuskel og sentralnervesystemet. Ved celleskade frigjøres CK til sirkulasjonen og graden av aktivitetsøkning svarer til vevsskaden. I vanlig klinisk rutine brukes CK kun som markør i forbindelse med sykdom i skjelettmuskulatur.

Det er verd å merke seg at CK kan stige betydelig etter kraftig anstrengelse. Verdier opp til flere tusen har vært registrert hos friske (1). Halveringstiden for CK i plasma er på 12-15 timer (2). Det betyr at en som trener hardt flere ganger i uken, svært ofte vil ha klart forhøyet P-CK. Derfor er det også anbefalt at pasienten må avstå fra kraftige fysiske anstrengelser i hele 3 døgn før bestemmelse av pasientens basale verdi.

Ved vedvarende moderat CK-forhøyelse uten god forklaring kan fenomenet makro-CK vurderes. Makro-CK er et kompleks av immunoglobuliner og

CK som forekommer hos 2% av befolkningen (3). Komplekset fører til redusert glomerulær eliminasjon av CK fra sirkulasjonen og følgelig økte måleverdier. Aktivitetsøkningen i plasma er således reell, men er intet uttrykk for celleskade. Laboratoriet kan ved hjelp av PEG-felling eller elektroforese avklare om makro-CK er tilstede.

Kraftig skjelettmuskelskade kan føre til rhabdomyolyse med svær CK-stigning. Andre intracellulære proteiner som eksempelvis myoglobin frigjøres også til sirkulasjonen. Myoglobin kan påvises både i plasma og i urin, og urinen kan få en rødbrun farge. Store mengder myoglobin kan lede til akutt nyresvikt, som i verste fall kan være livstruende. Rhabdomyolyse har mange årsaker/risikofaktorer: medikamenter/rusmidler, traumer, infeksjoner, ekstrem temperatur, dehydrering for å nevne noen (4, 5). Særlig hos pasienter med tendens til rhabdomyolyse blir det viktig å finne årsaken, slik at rhabdomyolysen kan forebygges på best mulig måte. I de fleste tilfeller har rhabdomyolyse en annen årsak enn medfødt metabolsk sykdom.

Bruk av statiner er en velkjent risikofaktor for rhabdomyolyse (6). Av differensialdiagnostiske hensyn er det verd å merke seg at det er en omfattende liste også av andre medikamenter og rusmidler som anses å øke risikoen for rhabdomyolyse (5). Det er særlig når ulike risikofaktorer kombineres at alvorlig muskelskade kan oppstå, for eksempel kombinasjonen av hard trening, høy temperatur og medikamentbruk/bruk av rusmidler.

I en undersøkelse av 475 innleggelse grunnet rhabdomyolyse var årsaken en medfødt metabolsk sykdom i 2% av tilfellene (4). For 46% av pasientene var medikamenter/rusmidler en del av årsaken, 60% av tilfellene hadde multiple årsaksfaktorer. For 7% av pasientene ble det ikke funnet noen årsak. Tallene trenger ikke være de samme for pasienter som ikke har vært innlagt med rhabdomyolyse, men som har

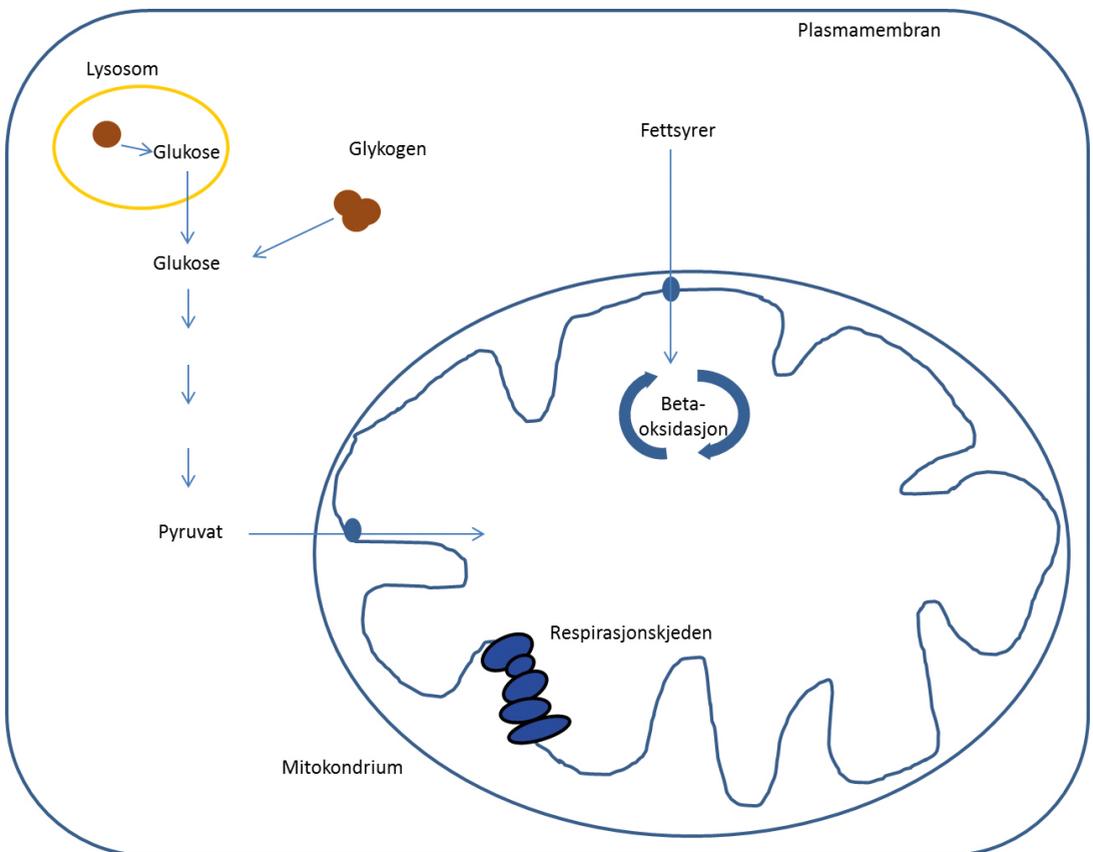
tendens til CK-stigning. Egen erfaring tilsier blant annet at andelen pasienter uten sikker årsaksforklaring er større.

CK-stigning som symptom ved medfødt metabolsk sykdom

Medfødt metabolsk sykdom er en stor gruppe (>1000) sjeldne og monogene sykdommer, de fleste har en recessiv arvegang. Sykdommene klassifiseres dels etter hvilken del av stoffskiftet som er affisert (f. eks. sukker- eller fettstoffsiftet) dels etter hvilken organelle som er rammet (f. eks. lysosomer eller mitokondrier). Som regel dreier det seg om et defekt enzym som fører til en blokkade i nedbrytningen eller i syntesen av et stoff. Blokkaden fører til endrede

konsentrasjoner av metabolitter, og endringen kan være sykdomsfremkallende på ulike måter avhengig av hvilke stoffer det dreier seg om. Diagnosen stilles ved at det endrede metabolittmønsteret påvises biokjemisk og ved bekreftende genetiske analyser. I den senere tid har det blitt stadig mer vanlig at genetiske analyser gjøres tidlig i utredningen. Ved påvist mutasjon får de biokjemiske analysene en mer bekreftende rolle, eventuelt vil de kunne si noe om graden av enzymsvikt.

Det er flere medfødte metabolske sykdommer som kan ha CK-stigning som debuterende symptom. De er å finne blant glykogenoser, beta-oksidasjon av fettsyrer og respirasjonskjedefekter (7). Relativt nylig er det beskrevet en defekt i syntesen av komplekse lipi-



Figuren viser en forenklet oversikt over aktuelle biokjemiske reaksjonsruiter som er forbundet med medfødt metabolsk sykdom som kan gi tendens til CK-stigning. Glykogenose type V er en svikt i omsetningen av glykogen i cytosol til glukose. Glykogenose type II er en svikt i omsetningen av glykogen i lysosomer til glukose. CPT II-defekt er en svikt i transporten av fettsyrer inn i mitokondriene til betaoksidasjon. Respirasjonskjedefekter rammer ett eller flere av de fem respirasjonskjedefleksene. LIPN1 er ikke tegnet inn i figuren.

der som er viktig ved uventet CK-stigning hos barn (Lipin1-defekt) (8). I det følgende blir kun de mest aktuelle medfødte metabolske sykdommene med CK-stigning som fellesnevner omtalt med noen hovedpunkter. For uttømmende beskrivelser av diagnosene og diagnosegruppene henvises det til lærebøker.

Glykogenoser

Glykogen er et makromolekyl som består av lange kjeder av glukose. Glukosen frigjøres fra glykogenet når tilførsel av ekstracellulær glukose synker som ved faste, eller ved økt behov som ved anaerobt muskellarbeid. Glykogen finnes i mange vev, men ekstra store lagre finnes i lever og muskel.

Glykogenosene er en gruppe sykdommer med svekket evne til å omsette lagret glykogen. Følgen kan være stor intracellulær opphopning av glykogen som ofte er mulig å se ved lysmikroskopi av muskel- eller leverbiopsi. Glykogenosene kan ramme lever, muskel, hjerte og nervesystem i ulik grad, og variantene klassifiseres derfor gjerne som hepatiske, myopatiske og cerebrale glykogenoser. Temaet for denne teksten er myopatier, her følger to viktige eksempler på myopatiske glykogenoser.

Glykogenose type V (GSD V) kalles også McArdles sykdom og myofosforilasedefekt. Myofosforilase (EC 2.4.1.1) katalyserer frigjøringen av glukoseenheter fra glykogen. Mangel på myofosforilase skyldes mutasjoner i PYGM-genet, og tilstanden arves autosomt recessivt. Nylig er prevalensen estimert til ca 1:50.000 i europeisk befolkning (9), noe som er omtrent dobbelt så hyppig som tidligere estimater (10). Variasjon mellom ulike befolkninger/land er tenkelig, så prevalensen må sies å være usikker.

Enzymdefekten fører til mangel på substrat til glykolyse og en akutt energisvikt for muskulaturen. De kliniske symptomene på dette er nedsatt anstrengelsesintoleranse med krampelignende muskelsmerter og tendens til rhabdomyolyse. CK er økt i plasma typisk også i hvile. Det er særlig kortvarig intens muskelbruk (eksempel vektløfting) eller litt mindre intens, men langvarig muskelbruk (rask gange oppover) som gir symptomer. Smerten kommer under anstrengelsen og gir seg ved hvile (11, 12). Et flertall av pasientene opplever også et karakteristisk fenomen som på engelsk går under betegnelsen "second wind". Det er både følelsen av å få ny energi og en faktisk evne til å fortsette anstrengelsen etter

en myalgisk episode, dersom pasienten tar en liten pause/reduserer intensiteten i muskellarbeidet noe. Den "nye energien" skyldes trolig at muskulaturen begynner å forbrenne frie fettsyrer og blodglukose etter at anstrengelsen har vart en stund (13)

Diagnosen GSD V kan stilles histologisk i muskelbiopsi ved spesifikk farging for myofosforilase. Den kan også påvises ved nedsatt evne til å produsere laktat. Laktat er som kjent endepunktet for den anaerobe glykolyse, og manglende substrat til glykolyse vil gi manglende laktatstigning ved anaerob muskelbruk. Ved den såkalte iskemiske underarmstesten klemmes blodtilførselen til underarmen av med en blodtrykksmansjett på overarmen. Pasienten arbeider i ett minutt iskemisk ved å klemme gjentatte ganger hardt på en gummiball. Laktat måles deretter fire ganger i løpet av tjue minutter, normalt skal P-laktat stige til 3-5 ganger utgangsverdien og falle igjen i løpet av den tiden. Et eventuelt positivt funn må bekrefte med genetiske analyser. Over 100 sykdomsgivende mutasjoner er registrerte i PYGM-genet, men i vår del av verden er det særlig én mutasjon (p.R50X) som går igjen. Behandling av GSD V vil være å tilpasse muskelbruken, eventuelt kan inntak av sukrose fem minutter før aktivitet forsøkes (11, 12).

Glykogenose type II (GSD II) kalles også Pompes sykdom eller sur alfa-glukosidase-defekt. Den regnes som den nest vanligste glykogenosen etter GSD V og skyldes sviktende sur alfa-glukosidase (EC 3.2.1.20) som følge av mutasjoner i GAA-genet. Den skiller seg ut fra de øvrige glykogenosene som en lysosomal avleirings sykdom. Glykogen blir transportert inn i lysosomene, men glykogenet blir ikke brutt videre ned. Til forskjell fra GSD V blir dermed ikke glykolyse rammet. Det betyr at pasientene ikke opplever en akutt anstrengelsesutløst muskelsmerte grunnet energimangel, men at cellene tar skade av avleiringen over tid. Forstørrede og rumperte lysosomer i seg selv er trolig ikke en tilstrekkelig patofysiologisk forklaring på myopatien, blant annet bidrar forstyrret autofagocytose til muskelskaden (14).

Glykogenose type II deles inn i en infantil, juvenil og voksen form som varierer med hensyn til involverte organer, alvorlighetsgrad og progresjonshastighet. Graden av alvor reflekterer graden av enzymsvikt (11, 12). Det er den voksne formen som er mest aktuell for denne fremstillingen. For fullstendighets skyld nevnes at den infantile formen er meget alvorlig med

blant annet hypotoni og hypertrofisk kardiomyopati, de fleste pasientene dør i løpet av første leveår grunnet kardiopulmonal svikt eller aspirasjonspneumoni (15). Den juvenile formen har sjelden hjerteaffeksjon, men er karakterisert ved en progredierende skelettmuskelaaffeksjon som gir store motoriske og respiratoriske problemer.

Den voksne formen av glykogenose type II debuter gjerne i 30- 40-års alder og kan karakteriseres som en langsomt progredierende, proksimal myopati med nedsatt muskelstyrke og atrofi i skuldre, bekken, paraspinal muskler og diafragma i et asymmetrisk mønster. CK i plasma er som regel konstant forhøyet. For noen pasienter dominerer affeksjonen av proksimal muskulatur, mens affisert respirasjonsmuskulatur kan være dominerende hos andre. Hjertemuskel er normalt ikke affisert.

Diagnosen stilles ved test av enzymaktiviteten (f. eks. i bloddråpe på filterkort). Ved den infantile formen forventes en enzymaktivitet på < 1%. Pasienter med de senere formene kan ha fra 2 - 30% restaktivitet. Bekreftende genetiske analyser er å anbefale. Det er registrert over 200 mutasjoner i genet for sur alfa-glucosidase som til dels gir prognostisk informasjon (11, 12).

Det finnes en relativt ny enzymerstatningsterapi for glykogenose type II, men effekten er varierende og behandlingen svært dyr (16). For øvrig behandles tilstanden symptomatisk.

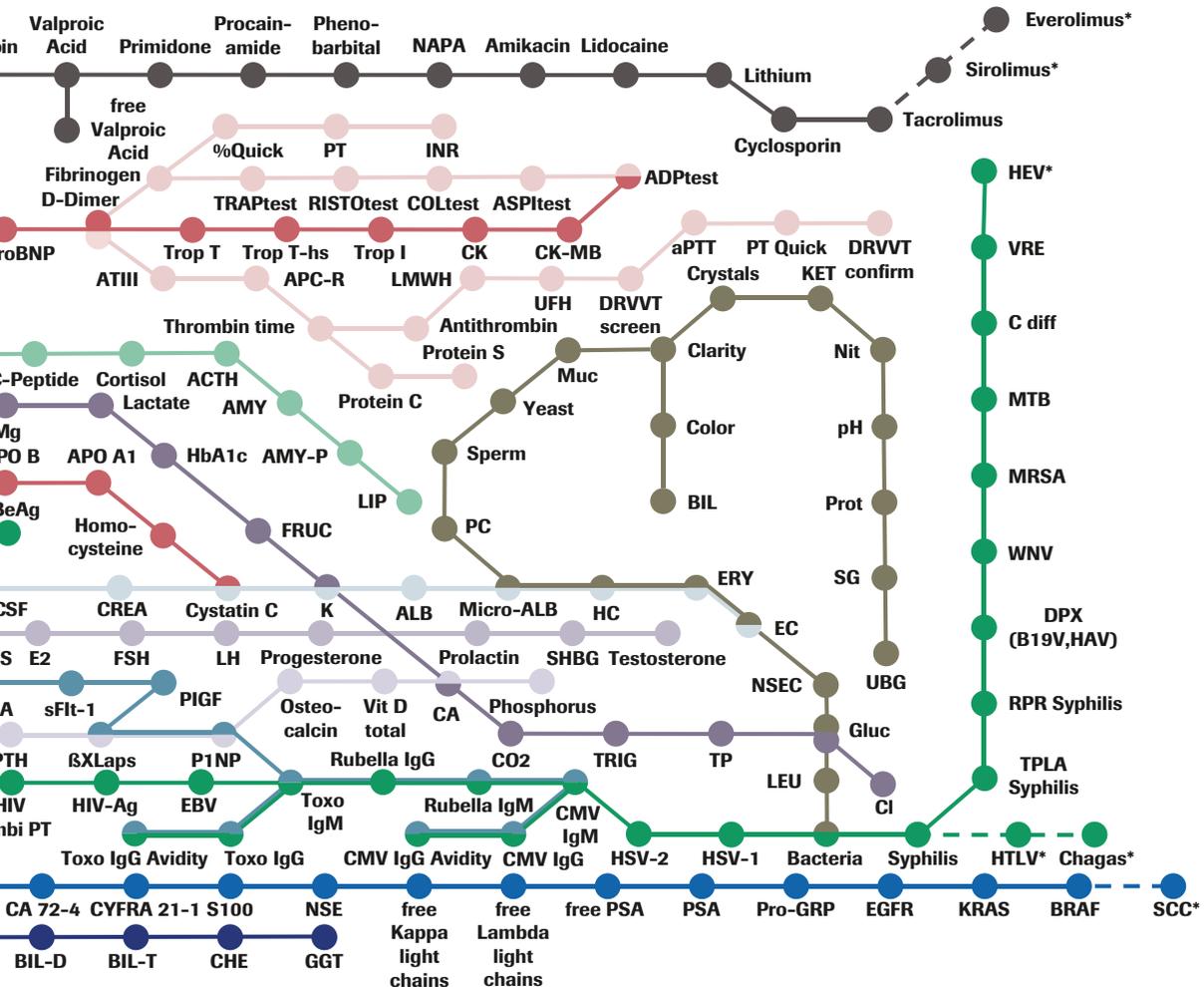
Mitokondriel beta-oksidasjon av fettsyrer

Den mitokondrielle beta-oksidasjonen av fettsyrer omfatter en rekke enzymsvikter, og flere av dem er assosiert med den klassiske og tidvis livstruende metabolske krisen med alvorlig hypoketotisk hypoglykemi, utløst av interkurrent sykdom eller langvarig faste. Myopati med muskelsmerter etter anstrengelse, CK-stigning og eventuelt rhabdomyolyse er imidlertid også mulig som et tilbakevendende hovedsymptom. Derfor kan generell metabolsk screening med blant annet analyse av organiske syrer og acylkarnitiner være viktig ved utredning av muskelsmerter og rhabdomyolyse. En eventuell fettsyreoksidasjonsdefekt bør jo helst påvises før pasienten opplever en alvorlig metabolsk krise.

Karnitinpalmitoyl transferase II (CPT II) (EC 2.3.1.21) er et enzym i karnitinsyklus og nødvendig for å få transportert lange fettsyrer over mitokondriemembranene. **CPTII-mangel**, myopatisk form er et viktig eksempel på svikt i fettsyremetningen,



Strandråg (*Leymus arenarius*). Foto: Henrik Alfthan.



novation

ay
 in different indications
 erent assay in same indication
 evelopment

hvor tendens til rhabdomyolyse er et hovedproblem. CPTII-mangel arves autosomt recessivt, og den myopatiske formen er den vanligste med debut i ungdomsåar eller i ung voksen alder. Muskelsmertene skiller seg en del fra de typiske ved GSD V. De beskrives mer i retning av ømhet i muskulaturen enn som akutt innsettende kramper. Smertene kommer oftest *etter* anstrengelse, men kan også oppstå under anstrengelsen. Anstrengelsen har gjerne vært langvarig, kortvarig intens muskelbruk tolereres bedre av pasienter med CPT II mangel enn av pasienter med GSD V. CPT II-pasientene opplever ikke "second wind". CK- stigningen, som kan bli svært høy, er ofte normal mellom episodene, eventuelt lett økt. Lavt næringsinntak øker faren for rhabdomyolyse hos CPT II-pasientene.

Den myopatiske og milde formen for CPTII er den vanligste. For fullstendighets skyld nevnes at det også finnes en letal, neonatal form for CPT II med hypoglykemi, hyperammonemi, mulig hjerteaffeksjon og medfødte malformasjoner, samt en intermediær form med hypoglykemi og leversykdom og mulig hjerteaffeksjon.

Diagnosen stilles ved enzymaktivitetsbestemmelse,



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

men metabolsk screening med analyse av acylkarnitiner kan gi en klar indikasjon på CPTII-mangel og bør gjøres først. Proven til acylkarnitiner må tas etter en natts vanlig faste. Genetisk bekreftelse er å anbefale. Mange patogene mutasjoner er påvist, i vår del av verden er en bestemt mutasjon (c.439C>T) hyppigst hos de myopatiske pasientene.

Behandlingen består av tilpasset diett og muskelbruk. Medikamentet bezafibrat øker ekspresjonen av enzymer i betaoksidasjonen og kan forsøkes i håp om å utnytte enzymets restaktivitet (17, 18).

Lipin1-defekt

I 2008 ble Lipin1-defekt beskrevet som en som en ny og viktig årsak til rhabdomyolyse hos barn (8). Lipin1 (EC 3.1.3.4) inngår i syntesen av fosfolipider og er med og regulerer energimetabolismen som regulator av genekspresjonen. Det hevdes at Lipin1-defekt er årsaken til halvparten av tilfellene ved rhabdomyolyse hos barn, når beta-oksidasjonsdefektene er utelukket (8). Symptomene kan være muskelsmerter og generell muskelsvakhet med særlig svekkelse av underekstremiteter. Gangfunksjonen kan være forsinket eller fraværende. Det er tydelig økt CK i plasma og eventuelt mørk urin. Heterozygote pasienter kan ha lette symptomer. Diagnosen stilles ved mutasjonsanalyse av genet LPIN1, det er særlig én delesjon som går igjen. Nylig har det blitt argumentert for at høyt karbohydratinntak som demper katabolisme kan redusere frekvens og varighet av episoder med rhabdomyolyse (19). Ellers er behandlingen symptomatisk.

Respirasjonskjededefekter

Den største delen av energiproduksjonen i de fleste celler foregår i mitokondriene ved hjelp av respirasjonskjeden. Beta-oksidasjonen av fettsyrer og flere andre viktige biokjemiske reaksjonsruter finner også sted i mitokondriene. Et stort antall proteiner og gener er involverte både i selve energiproduksjonen og for å opprettholde mitokondriefunksjonen. Det er med andre ord et stort antall genfeil som kan lede til mitokondriesykdom i betydningen respirasjonskjedesvikt. Mitokondriene har dessuten sitt eget DNA som blant annet koder for komponenter i fire av respirasjonskjedens fem store proteinkomplekser. Enhver arvegang er dermed mulig ved respirasjonskjededefekt inkludert maternell arv, dersom genfeilen sitter i mitokondrielt DNA.

Generelt varierer de kliniske bildene ved mitokondriesykdom veldig, men det mest typiske er at pasienten har symptomer fra flere vev samtidig (f. eks. både nevrologisk og endokrinologisk sykdom). Det er også typisk at de mest energikrevende vevene som nervevev og muskelvev ofte er involverte (20, 21). Ren myopatisk form med myalgi, anstrengelsesintoleranse med tilbakevendende rhabdomyolyse er likevel mulig for denne gruppen sykdommer. Defekter i flere respirasjonskjedekomplekser: I, III og IV har vært dokumentert biokjemisk og genetisk hos slike pasienter (22-25). Mitokondriopatiene regnes som den største gruppen av medfødte metabolske sykdommer med en samlet insidens på 1/5000. Et mindretall av disse vil utvikle en ren myopatisk form.

Å stille diagnosen respirasjonskjedefekt kan være komplisert. En karakteristisk biokjemisk konsekvens av svekket respirasjonskjede (aerob energi-produksjon) er at cellen øker sin laktatproduksjon (anaerob energi-produksjon). Økt laktat kan derfor ofte påvises i plasma ved mitokondriesykdom også i hvile. Metabolsk screening kan gi flere indisier på mitokondriesykdom, både mønsteret av organiske syrer, aminosyrer og acylkarnitiner kan endre seg. Men negative funn utelukker ikke sykdomsgruppen. Histologiske analyser kan i flere, men ikke alle tilfeller gi mye informasjon med påvisning av endrede mitokondrier. Det kan være nødvendig med spesifikk biokjemisk test av respirasjonskjeden i fersk biopsi helst tatt fra sykt vev og med påvisning av patogene mutasjoner (26). I den senere tid har det blitt vanligere med en bred genetisk screening tidlig i utredningen med tanke på mitokondriesykdom. Biokjemisk verifisering blir særlig viktig i tilfeller med funn av mutasjoner av usikker betydning.

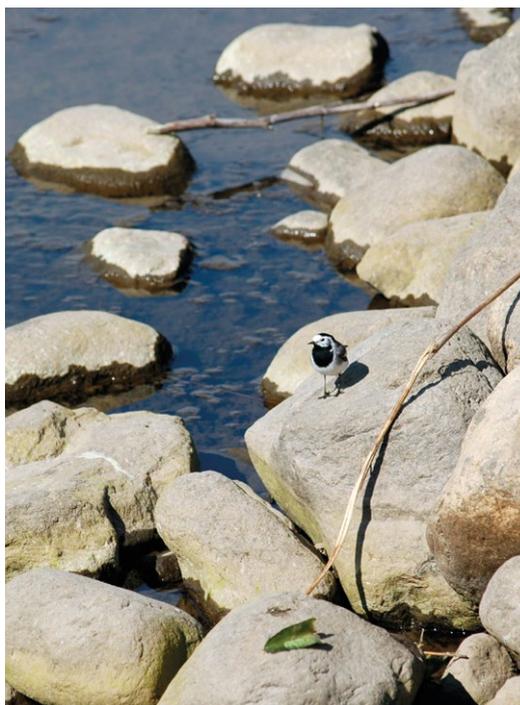
Konklusjon

Høy CK i plasma eventuelt med tilbakevendende rhabdomyolyse er ikke helt uvanlig. I noen tilfeller skyldes det medfødt metabolsk sykdom som rammer energistoffskiftet, for å avklare dette vil målrettet biokjemisk og genetisk diagnostikk være nødvendig. For de fleste pasienter med rhabdomyolyse er årsaken imidlertid en annen. Medikamenter/rusmidler er trolig den kvantitativt viktigste enkeltårsaken. Dessverre må man også forvente at det også gjenstår en betydelig andel tilfeller der man ikke finner noen god forklaring på tendensen til CK-stigning og rhabdomyolyse.

1. Lilleng H, Johnsen SH, Wilsgaard T, Bekkelund SI. Are the currently used reference intervals for creatine kinase (CK) reflecting the general population? The Tromso Study. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:879-84.
2. Stokke O. Klinisk enzymologi. In: Stokke O, editor. *Klinisk biokjemi og fysiologi*. 2 ed. Oslo: Gyldendal Akademisk; 2000. p. 61-74.
3. Panteghini MB, R. Enzymes. In: Burtis CA, ER; Bruns, DE, editor. *Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6 ed: Saunders Elsevier; 2008. p. 317-66.
4. Melli G, Chaudhry V, Cornblath DR. Rhabdomyolysis: an evaluation of 475 hospitalized patients. *Medicine* 2005;84:377-85.
5. Huerta-Alardin AL, Varon J, Marik PE. Benchto-bedside review: Rhabdomyolysis -- an overview for clinicians. *Crit Care* 2005;9:158-69.
6. Hedenmalm K, Alvan G, Ohagen P, Dahl ML. Muscle toxicity with statins. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2010;19:223-31.
7. Barca E, Emmanuele V, DiMauro SB. Metabolic Myoglobinuria. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2015;15:69.
8. Michot C, Hubert L, Brivet M, De Meirleir L, Valayannopoulos V, Muller-Felber W, et al. LPIN1 gene mutations: a major cause of severe rhabdomyolysis in early childhood. *Hum Mutat* 2010;31:E1564-73.
9. De Castro M, Johnston J, Biesecker L. Determining the prevalence of McArdle disease from gene frequency by analysis of next-generation sequencing data. *Genet Med* 2015;17:1002-6.
10. Haller RG. Treatment of McArdle disease. *Arch Neurol* 2000;57:923-4.
11. Laforêt PW, D.A.;Peter, G.;Smitt, A. The glycogen storage diseases and related disorders. In: Saudubray JMvdB, G;Walter, J.H., editor. *Inborn Metabolic Disease, Diagnosis and Treatment*. 5 ed: Springer; 2011. p. 115-49.
12. Chen Y-TK, P.S.;Koeberl, D. . Glycogen Storage Diseases. 2016. In: *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill Global Education Holdings, LLC.
13. Braakhekke JP, de Bruin MI, Stegeman DF, Wevers RA, Binkhorst RA, Joosten EM.

The second wind phenomenon in McArdle's disease. *Brain* 1986;109:1087-101.

14. Lim JA, Li L, Raben N. Pompe disease: from pathophysiology to therapy and back again. *Front Aging Neurosci* 2014;6:177.
15. van den Hout HM, Hop W, van Diggelen OP, Smeitink JA, Smit GP, Poll-The BT, et al. The natural course of infantile Pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature. *Pediatrics* 2003 Aug;112:332-40.
16. Han SO, Li S, Koeberl DD. Salmeterol enhances the cardiac response to gene therapy in Pompe disease. *Mol Gen Metab* 2016;118:35-40.
17. Stanley CAP, F;Bennett, M.J. Disorders of the Mitochondrial Carnitine Shuttle 2016. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases* [Internet]. McGraw-Hill Global Education Holdings, LLC.
18. Morris AAS, U. Disorders of mitochondrial fatty acid oxidation and related metabolic pathways. In: Saudubray JMvdB, G;Walter, J.H., editor. *Inborn Metabolic Disease, Diagnosis and Treatment 5ed*: Springer; 2011. p. 201-16.
19. Pichler K, Scholl-Buergi S, Birnbacher R, Freilinger M, Straub S, Brunner J, et al. A novel therapeutic approach for LPIN1 mutation-associated rhabdomyolysis--The Austrian experience. *Muscle Nerve*. 2015;52:437-9.
20. Munnich AR, A.;Rio, M. Defects of the respiratory chain. *Inborn Metabolic Disease, Diagnosis and Treatment*. 5 ed: Springer; 2011. p. 223-38.
21. Munnich AR, A.;Cormier-Daire, V.;Rustin, P. Clinical presentation of respiratory chain deficiency. 2016. In: *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* [Internet]. McGraw-Hill Global Education Holdings, LLC.
22. Rafiq J, Duno M, Ostergaard E, Ravn K, Vissing CR, Wibrand F, et al. Exercise intolerance and myoglobinuria associated with a novel maternally inherited MT-ND1 mutation. *JIMD Rep* 2015;25:65-70.
23. Vissing CR, Duno M, Olesen JH, Rafiq J, Risom L, Christensen E, et al. Recurrent myoglobinuria and deranged acylcarnitines due to a mutation in the mtDNA MT-CO2 gene. *Neurology* 2013;80:1908-10.
24. Andreu AL, Hanna MG, Reichmann H, Bruno C, Penn AS, Tanji K, et al. Exercise intolerance due to mutations in the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 1999;341:1037-44.
25. Emmanuele V, Sotiriou E, Rios PG, Ganesh J, Ichord R, Foley AR, et al. A novel mutation in the mitochondrial DNA cytochrome b gene (MTCYB) in a patient with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes syndrome. *J Child Neurol* 2013;28:236-42.
26. Korenev S, Morris AA. When to suspect and how to diagnose mitochondrial disorders? *Indian J Pediatr* 2016;Jan 13:1-7.



Sädesärila (*Motacilla alba*). Foto: Henrik Alfthan.

Welcome into 2016

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.

EliA Intrinsic Factor Antibody IgG EliA Parietal Cell Antibody IgG

- Fully automated
- Markers for autoimmune gastritis, Pernicious anemia, B12 deficiency
- Two new markers in the EliA Gastro package

EliA TSH – Receptor antibody IgG (TRAK/TRAS)

- Fully automated
- Based on Human antigen
- Calibrated against new International Reference

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

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

FindZebra – en søgemaskine dedikeret til sjældne sygdomme

Henrik L. Jørgensen¹, Dan Svenstrup² og Ole Winther²

¹ Klinisk Biokemisk Afdeling, Bispebjerg og Frederiksberg Hospital, Danmark

² DTU Compute; Technical University; Lyngby, Danmark



Sjældne sygdomme udgør en særlig udfordring for alle læger og i særdeleshed for praktiserende læger. Definitionen af en sjælden sygdom varierer fra land til land – i USA defineres det i *The Rare Disease Act* som en sygdom eller en tilstand, der berører mindre end 200.000 personer i USA, svarende til ca. 1 ud af 1500 personer.

Mange sjældne sygdomme er i øvrigt betydeligt mindre hyppige end dette, nogle gange med prevalencer på mindre end en ud af en million.

Sandsynligheden for at se en sådan sjælden sygdom er således meget, meget lav i en praktiserende læges professionelle liv, og mange af disse sygdomme forbliver derfor udiagnosticeret eller bliver først diagnosticeret efter et årelangt udredningsforløb, 5-7 år i gennemsnit ifølge *The Shire-backed Rare Disease Impact report*.

Som læger er vi helt naturligt opdragede til at lede efter de hyppigste sygdomme først hos en patient, hvilket jo i mere end 99% af tilfældene viser sig at holde stik. Imidlertid sidder man nogle gange med patient, hvor kombinationen af symptomer og undersøgelsesresultater ikke rigtig passer på en af de hyppige sygdomme eller tilfælde, hvor den oplagte behandling ikke virker. Her kunne en alternativ, måske sjælden diagnose være en mulighed. Der findes imidlertid tusindvis af sjældne sygdomme, og selv for eksperter kan det være svært at have det fulde overblik.

FindZebra søgemaskinen er tænkt som en hjælp i disse situationer til at få forslag til sjældne sygdomme, som kan passe til et specifikt sæt af symptomer.

FindZebra indekserer ca. 30.000 medicinske artikler fokuseret på sjældne sygdomme, der er frit tilgængelige på internettet fra kilder som Orphanet, Wikipedia, the Rare Disease Database and The Genetic and Rare Diseases Information Center. Den komplette liste over kilder kan ses på hjemmesiden: www.findzebra.com.

Navnet FindZebra er valgt ud fra et citat fra 1940'erne fra en professor ved University of Maryland School of Medicine, som fandt på sætningen: *“When you hear hoofbeats behind you, don’t expect to see a zebra”*. Navnet zebra har sidenhen fundet udbredt anvendelse som en slags medicinsk slang for en sjælden sygdom.

Man kan naturligvis søge på Pubmed, men ikke alt information om sjældne sygdomme er tilgængelig i artikelform, som indekseres her. Derudover skal søgeordene være præcist indeholdt i de fremsøgte emner.

Søger man med Google, kan man godt være heldig at finde artikler om sjældne sygdomme, men Googles (hæmmelige) algoritmer er optimeret efter, hvor mange klik et søgeresultat får. Derfor bliver en gennemsnitssøgning stadig bedre, mens specielle søgninger, for eksempel på sjældne sygdomme, ikke nødvendigvis drager fordel af Googles udviklingsarbejde. Endvidere vil mange hits være fra patientforeninger, medicinalfirmaer mm.

FindZebra forsøger at overkomme disse begrænsninger ved dels kun at søge i kuraterede kilder og dels at fungere som en fritekst søgemaskine. Den præcise søgealgoritme er beskrevet i artiklen af Dragusin et al (1). I samme artikel blev FindZebbras evne til at komme med de rigtige diagnoseforslag sammenlignet med Pubmed og forskellige varianter af søgninger i google på et datasæt bestående af 56 cases af sjældne

Tabel 1. Fra Dragusin et al (1).

| Method | MRR | P@10 | P@20 | Correct result in | |
|-------------------|-------|-------|-------|-------------------|------------|
| | | | | Top 10 | Top 20 |
| FindZebra | 0.385 | 0.125 | 0.089 | 35 (62.5%) | 38 (67.9%) |
| Google Search | 0.206 | 0.07 | 0.056 | 16 (28.6%) | 18 (32.1%) |
| Google Custom | 0.206 | 0.088 | 0.071 | 17 (30.4%) | 21 (37.5%) |
| Google Restricted | 0.098 | 0.013 | 0.006 | 6 (10.7%) | 6 (10.7%) |
| PubMed | 0.128 | 0.021 | 0.016 | 7 (12.5%) | 9 (16.07%) |

This table shows the performance of our system against three different versions of the Google Search engine in terms of retrieval precision at rank k ($P@k$), the mean reciprocal rank (MRR) and the fraction of queries with the correct result in top k .

sygdomme. Som det kan ses i tabel 1, havde FindZebra i en væsentlig større procentdel af tilfældene den rigtige diagnose blandt top 10 eller top 20 af diagnoseforslagene (1)

IBM har udviklet et diagnosesystem kaldet IBM Watson Health, som har samlet al information fra Pubmed, fra dusinvis af medicinske lærebøger, fra tusindvis af patientjournaler mm., i alt adskillige millioner sider tekst. Det er et såkaldt kognitivt computer system, som løbende "lærer" af de cases, som det bliver præsenteret for. For at teste deres system brugte udviklerne et sæt af 5000 medicinske spørgsmål fra *the American College of Physicians (ACP)*, som

har været brugt i en jeopardy lignende konkurrence kaldet *Doctor's Dilemma*.

Det kunne desværre ikke lade sig gøre at fremskaffe det præcise sæt af spørgsmål, som blev brugt i testen af Watson, men i en test af 546 spørgsmål fra ACP sættet på FindZebra, kom 53% af de korrekte diagnoser i top 10, hvilket svarer den rapporterede performance af Watson systemet (3).

Watson er tænkt som et bredt værktøj indenfor sundhed til at blandt andet komme med diagnoseforslag til alle typer sygdomme, hvorimod FindZebra fokuserer på sjældne sygdomme. Endvidere er FindZebra i modsætning til Watson gratis at bruge og er uafhængig af kommercielle interesser.



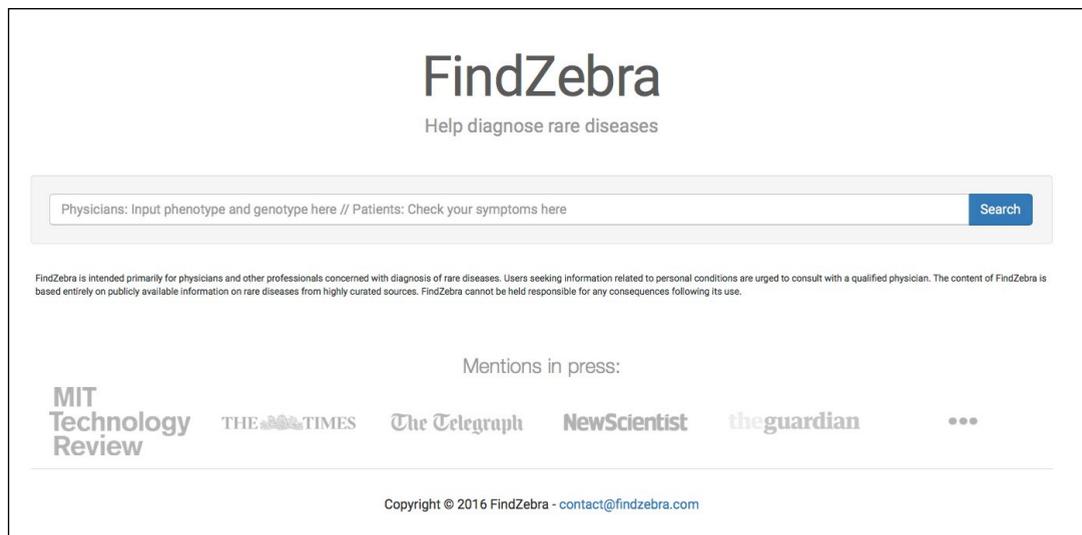
Mindre guldvinge (*Lycaena phlaeas*) på kattfot (*Antennaria dioica*). Foto: Henrik Alfthan.

Eksempel på anvendelse:

Case: *Normally developed boy age 5, progressive development of talking difficulties, seizures, ataxia, adrenal insufficiency and degeneration of visual and auditory functions.*

Denne case beskriver en patient med Adrenoleukodystrofi eller ALD.

I figur 1 ses case teksten tastet ind i søgelinjen på FindZebra's hjemmeside.



FindZebra
Help diagnose rare diseases

Physicians: Input phenotype and genotype here // Patients: Check your symptoms here

FindZebra is intended primarily for physicians and other professionals concerned with diagnosis of rare diseases. Users seeking information related to personal conditions are urged to consult with a qualified physician. The content of FindZebra is based entirely on publicly available information on rare diseases from highly curated sources. FindZebra cannot be held responsible for any consequences following its use.

Mentions in press:

MIT Technology Review THE TIMES The Telegraph NewScientist theguardian ...

Copyright © 2016 FindZebra - contact@findzebra.com

Figur 1

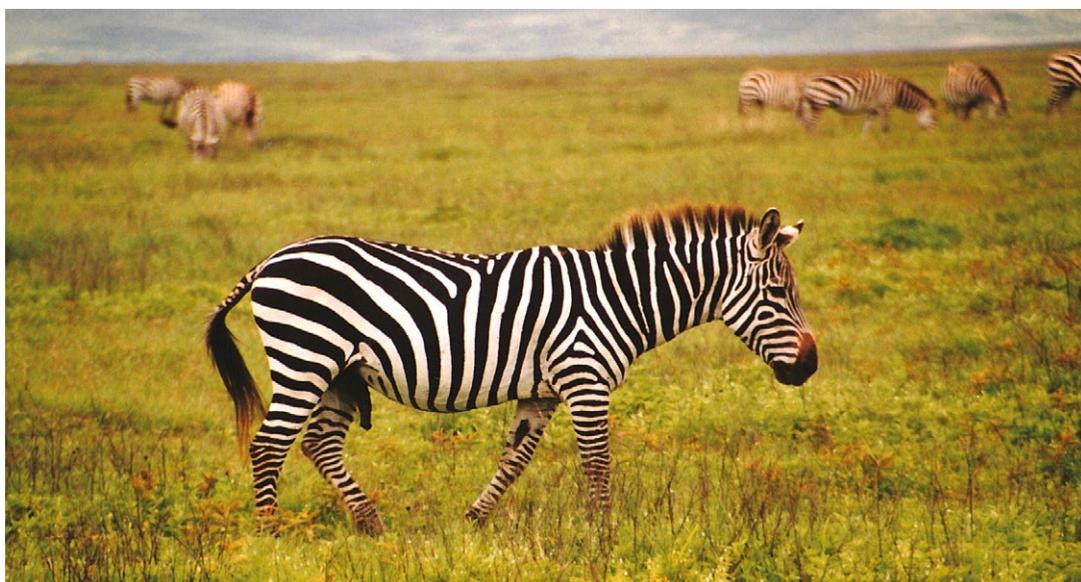


Foto: Helle Borgstrøm Hager, Tanzania, Kenya.

I figur 2 ses resultatet af søgningen, hvor de 20 mest sandsynlige diagnoseforslag står listet i venstre side med ALD som det mest sandsynlige forslag. I højre side af billedet, ses den første af fem artikler, som FindZebra har fundet om emnet, her fra Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) stillet til rådighed af National Institutes of Health (NIH), USA.

Adrenoleukodystrophi (5 articles)

Achalasia-addisonianism-alcrista s...

Proopiomelanocortin deficiency

Leukodystrophi, hypomyelinating, 6

Spinal muscular atrophy with progr...

Brown-vialetto-van laere syndrome 2

Epilepsy, progressive myoclonic, 5

Triple A syndrome

Pontocerebellar hypoplasia, type 1b

Pelizaeus-Merzbacher di... (2 articles)

Coenzym q10 deficiency, primary, 1

Adrenomyeloneuropathy

Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 8

Adrenoleukodystrophi

Add to watchlist

Retrieved: 27-07-2015
Source: OMIM (Original article)
Associated genes: [abcd1](#), [pex26](#), [pex13](#), [sod2](#), [lfnq](#), [hmax1](#), [pomc](#), [abcd2](#), [abcd3](#), [hsd17b4](#), [hbg1](#), [tnf](#), [abcd4](#), [chs](#), [acsbg2](#), [hla-drb1](#), [snca](#), [bcap31](#), [dhfr](#), [mthfr](#), [mtr](#), [mtrr](#), [cyp2e1](#), [slc27a2](#), [ndufa2](#), [cd14](#), [abcb6](#), [il10](#), [abca4](#), [abcg2](#), [arm](#), [il6](#), [hfe](#), [gstk1](#), [il1b](#), [tir4](#), [tgfb1](#), [silco6a1](#), [pnpla3](#), [stat3](#), [akr1b1p2](#), [ins-igf2](#), [cox8a](#), [st8sia4](#), [elovl1](#), [mog](#), [il1a](#), [hpgds](#), [anxa2](#), [ppara](#), [hamp](#), [bc12](#), [gstt1](#), [akr1a1](#), [ins](#), [pmp22](#), [mbp](#), [casp3](#), [atf4](#), [gjb1](#), [dmpk](#), [cd1d](#), [ar](#), [st14](#), [hadh](#), [ccnd1](#), [socs3](#), [or3a1](#), [tjp1](#), [abca1](#), [tcf7l2](#), [adh5](#), [elane](#), [atn1](#), [abcb11](#), [gstm1](#), [ntf3](#), [slu7](#), [vdr](#), [ehhadh](#), [cc12](#), [glul](#), [fas](#), [vldlr](#), [hsd11b1](#), [fasn](#), [gadd45b](#), [xbp1p1](#), [ptprn](#), [spink1](#), [ppif](#), [ppid](#)

Show all

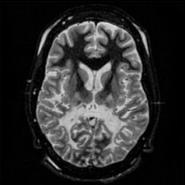
Description

A number (#) is used with this entry because of evidence that adrenoleukodystrophi and adrenomyeloneuropathy are caused by mutation in the ABCD1 gene (300371) on chromosome Xq21. Adrenoleukodystrophi is an X-linked disorder which is secondary to a mutation in the ABCD1 gene and results in the apparent defect in peroxisomal beta oxidation and the accumulation of the saturated very long chain fatty acids (VLCFA) in all tissues of the body. The manifestations of the disorder occur primarily in the adrenal cortex, the myelin of the central nervous system, and the Leydig cells of the testes.

ABCD1 is an ATPase binding cassette protein in the same category of transporter proteins such as the CFTR and MDR proteins.

Identification of X-ALD as a lipid-storage disease, as a defect in the capacity to degrade VLCFAs, and its characterization as a peroxisomal disorder was reviewed by Moser (1997).

Moser et al. (2005) provided a clinical review of ALD.



Figur 2

Det er naturligtvis langt fra altid, at den korrekte diagnose kommer til at stå øverst i FindZebra's liste over forslag, og i nogle tilfælde vil Google eller PubMed komme tættere på det rigtige resultat, hvis ens søgestreng passer bedre til disse databaser.

Det er muligt at sætte forskellige filtre i FindZebra, fx at man kun vil se resultater for autosomt dominant nedarvede sygdomme.

Alene i de første fem uger siden den første publikation om FindZebra blev tilgængelig online (1) havde hjemmesiden mere end 30.000 unikke besøgende, som tilsammen fik mere end 1.000.000 diagnoseforslag (2), så hjemmesiden udfylder tydeligvis et stort behov. Der findes således mange beskrivelser i anekdoterform på internettet om patienter, der er blevet hjulpet på vej til den rigtige diagnose ved hjælp af FindZebra (2).

Søgninger i systemer som fx FindZebra eller Watson kan naturligtvis aldrig stå alene, men kan være et værdifuldt supplement til den sædvanlige diag-

nostiske proces, særligt i situationer, hvor det kan være vanskeligt at få symptomer og fund til at pege i retning af mere gængse diagnoser.

Referencer

1. Dragusin R, Petcu P, Lioma C, Larsen B, Jørgensen HL, Cox IJ, et. al. FindZebra: a search engine for rare diseases. *Int J Med Inform* 2013;82:528-38
2. Dragusin R, Petcu P, Lioma C, Larsen B, Jørgensen HL, Cox IJ, et. al. Specialized tools are needed when searching the web for rare disease diagnoses. *Rare Dis* 2013;1: e25001.
3. Svenstrup D, Jørgensen HL, Winther O. Rare disease diagnosis: A review of web search, social media and large-scale data-mining approaches. *Rare Dis* 2015;3:e1083145.

Danmarks Nationale Biobank

Lasse Boding, Karina Meden Sørensen og Mads Melbye
labo@ssi.dk

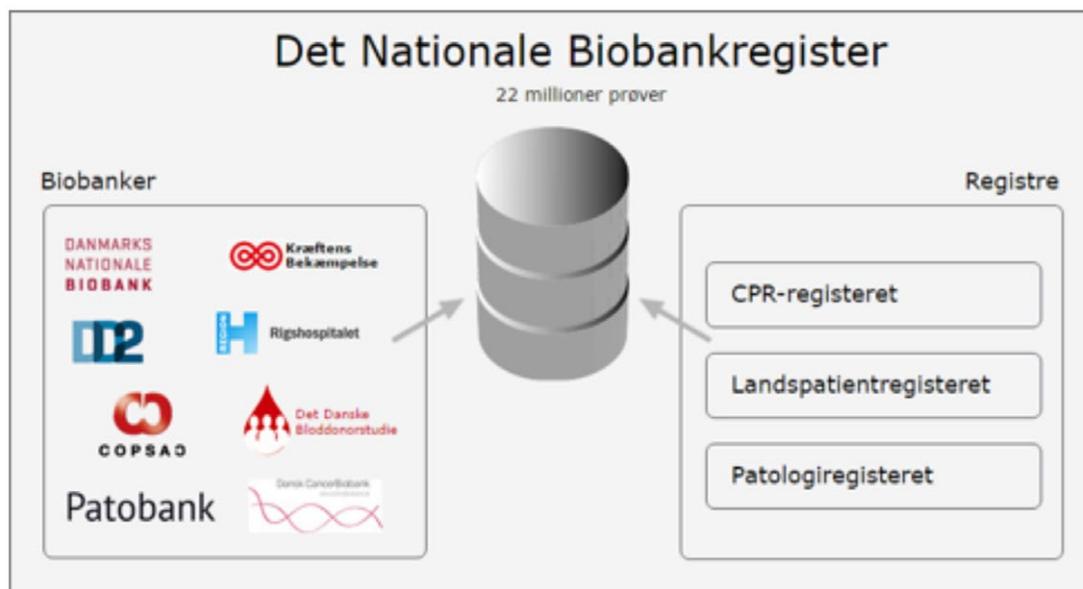


Danmarks Nationale Biobank (DNB) har eksisteret siden 2012, og ideen er at skabe ét sted, hvor forskere fra både ind- og udland kan skabe sig et unikt overblik over og få adgang til alle de biologiske prøver, der findes i Danmark. DNB er et tre-strengt projekt med et nationalt biobankregister, en stor fysisk biobank, og et koordinerende center.

Det Nationale Biobankregister - unikt overblik over mere end 22 mill. prøver

Med Danmarks Nationale Biobank behøver forskerne kun søge ét sted, når de har brug for biologisk materiale til deres forskning i forskellige sygdomme og hvordan de forebygges og behandles. Over 22 millioner biologiske prøver af blandt andet blod, væv og DNA, der via CPR-nummeret forbindes med for eksempel sygdomshistorie, fødselssted, alder og familierelationer, danner grundlag for helt unikke forskningsmuligheder.

Danmarks Nationale Biobank gør det altså muligt for forskerne at kombinere store mængder biologisk information med oplysninger fra de danske sundhedsregistre. Forskere fra både ind- og udland kan søge om tilladelse til at få tilsendt prøver og dataoplysninger. Det kræver blot godkendelse fra en Videnskabetiske Komité og Datatilsynet, og for udenlandske forskere også en dansk samarbejdspartner. Derefter hjælper biobankens Koordinerende Center forskerne videre. Primo 2016 linkes der til følgende information i registeret:



Indtil videre er følgende biobanker med i biobank-initiativet:

- Patobank (vævsprøver fra hospitalernes patologifdelinger)
- Kræftens Bekæmpelses 'Kost, kræft og helbred' kohorte
- Dansk CancerBiobank
- Rigshospitalets DNA-biobank
- DD2 projektet (type 2 diabetes)
- COPSAC (børneastma)
- Det Danske Bloddonorstudie
- Danmarks Nationale Biobank herunder bl.a.:
 - Bedre Sundhed i Generationer (prøver fra gravide + navlesnorsprøver)
 - PKU-prøver fra alle nyfødte i Danmark siden slutningen af 70erne
 - Statens Serum Instituts diagnostiske prøver indsamlet i mere end 50 år

Og der kan kobles til information fra følgende registre:

- CPR-registeret – går helt tilbage til 1968 og indeholder detaljerede oplysninger om fødselssted- og dato, køn, oprindelsesland, forældres oprindelsesland.
- Landspatientregisteret – registrerer hver gang en person har været i kontakt med det danske sygeshusvæsen, f.eks. i forbindelse med undersøgelser eller behandlinger. Det kan være, hvornår patienten bliver indlagt, diagnose og operationer.
- Patologiregisteret – information om procedurer og diagnoser fra patologiske undersøgelser af vævs- og celleprøver.

Der arbejdes løbende på at optage nye biobanker i registeret. Det er gratis at deltage, og det er gratis for forskere at søge i registeret. Der arbejdes ligeledes parallelt på at linke til flere sundhedsregistre.

Registeret tilgås via hjemmesiden www.nationalbiobank.dk, hvor der også findes en præsentationsvideo om registeret og en grundig video-tutorial med forklaring af de forskellige søgemuligheder.

Når forskerne får en god idé

Bjarke Feenstra, der er seniorforsker ved Statens Serums Institut, er en af de forskere, der har nydt godt af materiale fra Danmarks Nationale Biobank. Han har allerede flere publicerede artikler bag sig, som benytter materiale fra biobanken, selv om den kun



har eksisteret i få år. Eksempelvis har han i en artikel, udgivet i *Nature Genetics*, fundet vigtigt nyt om årsagen til feberkræmper, som en sjælden gang i mellem ses hos børn efter MFR-vaccination.

”Nogle forældre er bekymrede over MFR-vaccinens mulige bivirkninger. For at de stadig kan have tiltro til vaccinen, er det vigtigt, at vi som forskere undersøger, om der i realiteten er en øget risiko for bestemte sygdomme efter vaccination, og hvad den biologiske årsag i givet fald er”, siger seniorforsker Bjarke Feenstra og understreger, at MFR-vaccinen redder mange børn verden over, og dannes der tvivl om vaccinen på falsk grundlag, kan vi risikere, at den effektive forebyggelse falder fra hinanden.

En veldokumenteret men sjælden bivirkning ved MFR-vaccinen er en øget risiko for feberkræmper, svarende til omkring ét tilfælde per 1000 vaccinerede børn. Forskerne undrede sig og ønskede at forstå, hvad årsagen er. Det viste sig, at nogle af svarene ligger i genetikken.

Ved at sammenholde data fra det Danske Vaccinationsregister og Landspatientregisteret var det muligt for forskerholdet præcist at identificere børn med feberkræmper i et snævert tidsvindue på 9 til 14 dage efter deres MFR-vaccination. Og takket være hæl-blodprøverne i Danmarks Nationale Biobank havde forskerne biologiske materiale fra børnene, som de kunne analysere på.

Resultaterne viste, at DNA-variationer i to bestemte gener giver en øget risiko for feberkræmper efter MFR-vaccination. Disse gener er begge involveret i det medfødte immunforsvar og har betydning for bekæmpelsen af virusinfektioner.

“Det er jo et utroligt spændende fund, og på længere sigt kan man forstille sig, at resultatet kan bruges i forbindelse med udviklingen af nye vacciner, eller til

at forudsige, hvilke børn der er i øget risiko for feberkramper”, slutter Bjarke Feenstra, der vil fortsætte med at boltre sig i biobankens slaraffenland og bidrage til forskning, der kan gavne folkesundheden.

Den fysiske biobank

Den nationale biobank kan, bl.a. med to avancerede robotstyrede fryserne, rumme op til 30 millioner biologiske prøver. Prøverne indeholder en guldgrube af informationer for forskere. Og når de ligestilles med den viden, der allerede findes om danskerne via CPR-nummer og andre registre, giver det et mere objektivt og raffineret billede af den enkelte person. Det er muligt at følge et individ fra vugge til grav og dermed blive klogere på, hvorfor en person udvikler en bestemt sygdom. Det kan på længere sigt danne grundlag for mere målrettet og individuel behandling.

De biologiske prøver, som biobanken opbevarer, er indsamlet over en årrække, hvilket giver forskerne mulighed for at studere signaler i det biologiske materiale flere år før en person eventuelt udvikler en sygdom. Hvis en person for eksempel har udviklet lungekræft i 2008 og der findes en blodprøve fra 2002, altså 6 år før lungekræften diagnosticeres, kan prøven således bruges til at studere nye markører for tidlig opsporing af sygdommen og på sigt gavne den almene befolkning.

Der er også mulighed for at følge arvelighed af sygdomme, da flere generationer af samme familie kan være repræsenterede.

Ud over de biologiske prøver styres laboratoriearbejdet af 6 pipetteringsrobotter, 2 DNA-oprensingsrobotter og en COBAS analyserobot. Dermed kan DNB også fungere som samarbejdspartner, hvor prøver kan modtages dagligt og deles op i forskellige portioner til specifikke analyser. Nogle fraktioner skal måske DNA-oprenses og sendes til ekstern analyse. Andre kan analyseres for immunologiske- og biokemiske markører in-house vha. af COBAS robotten. Nogle helt tredje skal måske direkte på frys ved -80 grader. Alle processer registreres og håndteres automatisk og kan følges i DNB's laboratoriesystemer.

Det Koordinerende Center rådgiver forskere og biobanker

Det Koordinerende Center (KC) står for sagsgangen i nye projekter. Både når forskere ønsker materiale udleveret til et videnskabeligt projekt, og også når prøver ønskes opbevaret i biobanken. KC besidder den juridiske viden og bistår forskeren med at sikre, at den

danske lovgivning følges. KC er ligeledes involveret i drøftelser vedr. ny lovgivning eller ændrede retningslinjer på nationalt niveau. Derudover har centeret stor erfaring med forskningsprojekter og rådgiver ofte forskere ved prøveindsamlinger og udleveringer, så det biologiske materiale udnyttes bedst muligt.

Fakta

Danmarks Nationale Biobank indeholder 7,4 millioner biologiske prøver. Det Nationale Biobankregister linker til information om mere end 22 millioner prøver i danske biobanker.

Danmarks Nationale Biobank modtager hver dag over 1000 biologiske prøver, som håndteres af robotter i laboratoriet, der deler dem ud i små alikvoter, som lagres i automatiserede fryserne. Det betyder, at prøverne kan findes hurtigt og effektivt frem, og de små rør betyder, at utallige fryse-tø cykler undgås.

Danmarks Nationale Biobank er blevet til i samarbejde mellem det offentlige og private. Sponsorerne består af Novo Nordisk Fonden (hovedsponsor), Ministeriet for Forskning, Innovation og Videregående Uddannelser samt Lundbeckfonden.



Changing Perspectives: XN-L Series

XN-350

Single sample analysis
in open mode

added value
XN-BF

added value
XN-DIFF

CBC

added value
RET



XN-450

Single sample analysis
in closed or open mode

CBC

added value
XN-BF

added value
XN-BF



XN-550

Increased workflow
productivity with automated
sampler analysis

- Rerun & Reflex functionality
- Continuous loading

added value
XN-DIFF

added value
RET



Uppsala har ersatt Roche immunologiska albuminmetod med BCP metod på grund av skillnader i kalibrering

Johanna Helmersson-Karlqvist¹, Mats Flodin¹, Aleksandra Mandic Havelka²,
Xiao Yan XU¹ och Anders Larsson¹

¹Avdelningen för Klinisk Kemi och Farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala

²Avdelningen för klinisk kemi, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm, Sverige



Introduktion

Albumin är det vanligast förekommande plasma-proteinet hos människa, som står för 50-60% av den totala mängden av proteiner. Serumalbuminkoncentration används ofta som en markör för proteinstatus och protein malnutrition (1). Albumin används också som en prognostisk markör. Prognostiska plasma biomarkörer är av stort kliniskt värde på grund av deras tillgänglighet. Albumin har visat sig vara en prognostisk markör i olika cancerformer (2,3). Det är också en prognostisk markör hos patienter med njursjukdom, geriatriska patienter, höftfrakturer, breda sjukhuspopulationer, och allmänna populationer (4). Ofta använder man sig av internationell beslutsgränser vid riskbedömning vilket gör att det är viktigt att kalibreringen av dessa metoder är korrekta.

Albumin brukar mätas med färgbindningsmetoder såsom bromkresolgrönt (BCG) eller bromkresolpurpur (BCP) eller med immunologiska analyser. BCG-metoder har rapporterats överskatta albumin på

grund av påverkan av akutfasproteiner (5,6) medan BCP-metoder har visat sig ha en god överensstämmelse med immunologiska albuminmetoder i olika studier (7,8). Kalibreringar av nuvarande kommersiella albuminanalyser är spårbara till den internationella proteinkalibratoren ERM-DA470k/IFCC (9). Med samma kalibrator bör därför metoderna kunna uppvisa god överensstämmelse.

För något år sedan noterade vi i Uppsala att albuminresultat med den immunologiska metoden på Cobas c501 och BCP-metoden på Architect 16000 skilde sig när vi analyserade färsk patientprover. Vi uppskattade skillnaden till ca 3 g/L vilket vi uppfattade som en för stor skillnad för att vara acceptabel. Av tradition har vi använt oss av en immunologisk albuminmetod för albuminbestämningar i samband med proteinelektroforeser medan vi haft en färgbindningsteknik för övriga plasmaalbuminanalyser. Den immunologiska metoden är endast tillgänglig dagtid medan färgbindningsmetoden analyseras dygnet runt. Det gör att samma patient kan få albumin bestämt med två olika metoder vilket också ökar behovet av samstämmighet. Vi bestämde oss därför för att jämföra de två metoderna närmare med patientprover. Vi ville också jämföra överensstämmelsen mellan de två metoderna på olika albuminnivåer eftersom det tidigare rapporterats att färgbindningsmetoderna framförallt ger för höga värden vid låga albuminkoncentrationer.

Material och metoder

Albuminresultat där det fanns beställningar för både BCP-bestämning och immunologisk bestämning på samma remiss extraherades från laboratoriedatasystemet på avdelningen för klinisk kemi och farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala.

Resultaten extraherades tillsammans med information om ålder och kön hos patienten. Färsk patientprover skickades också till Stockholm och Falun för metodjämförelser mellan olika instrumentplattformar.

Albumin analyserades immunologiskt med Roche reagens (04469658190) på en Cobas c501 (Roche Diagnostics). Metoden kalibreras med hjälp av CFA kalibrator från Roche Diagnostics som är spårbar till den internationella proteinkalibratoren ERM-DA470k/IFCC. Den totala variationskoefficienten (CV) för den immunologiska albuminmetoden var 2,8 % vid både 24,4 g/L och 48 g/L.

Albumin analyserades också med BCP-reagens (7D54-21) från Abbott Diagnostics, (Abbott Park, IL, USA) på en Architect 16000 (Abbott Laboratories). Metoden kalibreras med hjälp av kalibrator 1E65-05 från Abbott Laboratories som också är spårbar till ERM-DA470k/IFCC. Den totala CV för BCP-metoden var 0,3% vid 39 g/L och 0,4% vid 49 g/L.

Albumin analyserades med Roche BCP reagens och Abbots BCP reagens på Cobas c501 som ytterligare jämförelser i Uppsala. Albumin analyserades också parallellt på flera instrumentplattformar med olika immunologiska metoder; Beckman Coulter Image, Roche Diagnostics Modular P, Roche Diagnostics Cobas c501 och Abbott Laboratories Architect c 8000.

Resultat

Totalt 77337 testresultat rapporterades med Architect-metoden under studieperioden. Median värdet för albumin var 34 g/L. 63 resultat var <10 g/L och 3830

resultat var lägre än 20 g/L medan 24 testresultat var högre än 50 g/L.

Jämförelse mellan Architect BCP och Roche immunologiska metoder för plasma albumin

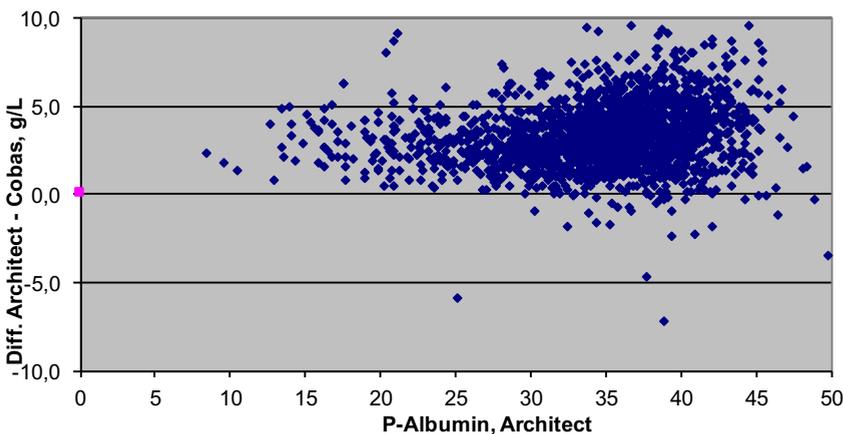
1951 rutinprover med albumin mätt både med Architect BCP och cobas c501 immunologiska metoder vid samma tillfälle extraheras från laboratoriesystemet under tidsperioden 1 januari 2013 och 10 februari 2014. Den linjära regressionsekvationen var $y = 1,047x + 1,687$; $R^2 = 0,930$ med högre värden för Cobas c501-metoden. Medianskillnaden mellan de två metoderna var 3,3 g/L (Figur 1). Skillnaden mellan de två metoderna var liknande i intervallet 10 till 20 g/L jämfört med 30-40 g/L.

Jämförelse mellan BCP och immunologiska metoder på Cobas instrumentet

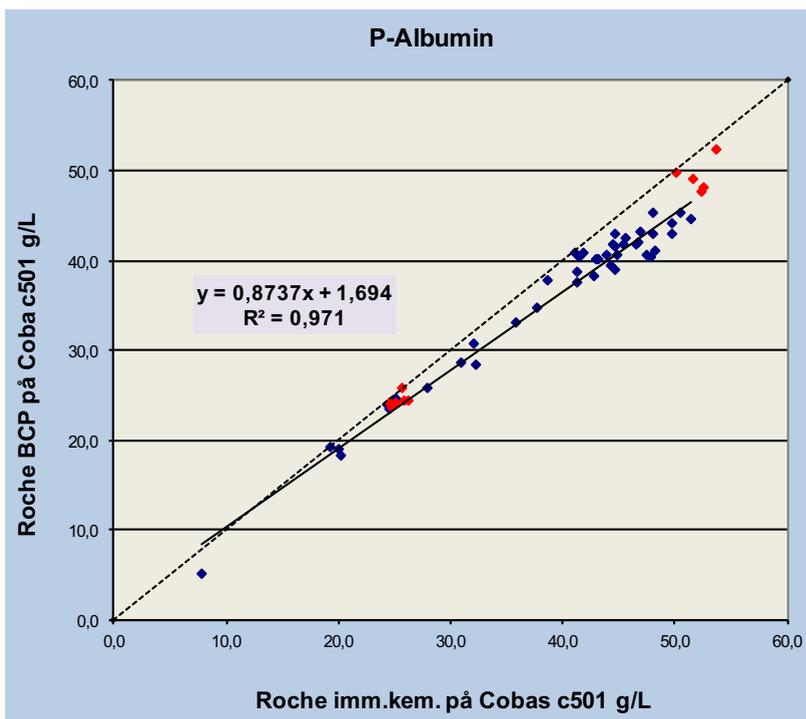
43 prover analyserades på Cobas-instrumentet med Roche immunologiska metod, Roche BCP metod och Abbot BCP metod. Det fanns en god överensstämmelse mellan de två BCP metoderna: $y = 0,987x - 0,453$, $R = 0,996$. Roche immunologiska metod gav högre värden än Roche BCP metod $y = 0,8737x + 1,694$, $R^2 = 0,971$; $R^2 = 0,971$. Medianskillnaden mellan de två metoderna var mindre för internkontrollerna än för patientresultaten (Figur 2).

Jämförelse mellan Abbot Architect BCP metod, Image immunologiska metod, Modular P och Cobas c501 immunologisk metod med samtidig mätning av ERM-DA470k/IFCC

P-Albumin Architect och Coibas beställda på samma remiss



Figur 1. Differensplot med skillnaden mellan P-albumin resultat analyserade på Architect med BCP metod och på Cobas c501 med immunologisk metod.



Figur 2. Jämförelse mellan Roche immunkemiska metod och Roche BCP metod analyserade på Cobas c501. Blå punkter representerar patientprover och röda punkter representerar internkontrollresultat.

20 patientprover analyserades med immunologiska metoder på Image, Modular P och Cobas c501 och med BCP-metoden på Architect c 8000. Resultaten från Cobas c501 var högre än resultaten från andra instrument. Den genomsnittliga skillnaden mellan resultat som erhållits med Image och Architect var 1,2 g/L, mellan Modular P och Architect 1,4 g/L och mellan Cobas c501 och Architect 2,5 g/L.

ERM-DA470k/IFCC har ett åsatt värde på 37,2 g/L. Vid analys på Cobas-instrumentet blev resultatet 39,4 g/L. Architect rapporterade ett värde av 37,3, Image 36,6 och Modular P 37,6 g/L.

Diskussion

Albumin är en viktig laboratorieanalys och det är viktigt att vi mäter albumin korrekt.

Vi brukade betrakta den immunologiska metoden som överlägsen bromkresolpurpur-metoden speciellt för patienter med låga albuminvärden. Detta var en av orsakerna till att ha två albumin metoder.

Den immunologiska Cobas c501 metoden överskattade albuminvärdena i patientprover med drygt 3 g/L jämfört med Abbott BCP metoden. Överskattningen av den immunologiska metoden

stöds av resultaten som erhållits med ERM-DA470k/IFCC kalibratoren och de resultat som erhållits med Roche BCP-metod.

Det gamla påståendet om att färgbindningsmetoderna kraftigt överskattade albumin när patienten hade låga albuminvärden verkar ej gälla moderna BCP-metoder. När vi jämför de resultat som erhållits med den immunologiska Roche metoden och färgmetoden på Architect finns det inga tecken till att färgmetoden ger högre resultat än den immunologiska metoden när patienten har låga albuminvärden (ned till albuminvärden på 10 g/L). I den här studien hade vi inga patienter med albuminvärden under 10 g/L vilket gör att man ej kan utesluta en effekt i området < 10 g/L. Samtidigt är dessa mycket låga värden ovanliga. Mindre än 0,1 % av våra patientprover har albuminvärden under 10 g/L och när vi tittar på upprepade resultat från samma patient hos patienter med värden under 10 g/L med färgbindningsmetoden så ger proverna liknande resultat från dag till dag vilket tyder på att resultaten från enskilda patienter kan följas över tid även i intervallet under 10 g/L.

Reagens till immunologiska metoder kostar mer än reagens till färgbindningsanalyser. Att immuno-

logiska analyser har en högre kvalitet på testresultaten skulle kunna motivera de högre kostnaderna. En viktig kvalitetsaspekt är dock en korrekt kalibrering av metoden och här uppvisar Roche immunologiska metod brister. För oss är det inte acceptabelt att ha två albuminmetoder som skiljer sig med mer än 3 g/L. Det har medfört att vi ersatt den immunologiska metoden med en BCP metod. Vi vill hålla ihop proteinelektroforespaketet av logistiska skäl. Det gör att vi analyserar dessa prover med Roche BCP-metod på Cobas c501. Vi har alltså fortfarande 2 albuminmetoder, men båda är av BCP-typ. Långsiktigt räknar vi med att ta bort den ena BCP metoden och bara ha en albuminmetod för plasma/serum.

Vår sammanfattande bedömning är att den immunologiska metoden på Cobas c501 inte var korrekt kalibrerad enligt DA470k/IFCC utan överskattade albuminkoncentrationen i färska patientprover. Metodskillnaderna var mindre vid analys av den interna kontrollen vilket gör att det är svårare att upptäcka metodskillnaderna och sannolikt även svårare för firmorna att åstadkomma en korrekt kalibrering. Vi ser inga direkta fördelar med att använda immunologisk metod vilket medfört att vi i Uppsala bytt metod till BCP metod.

Referenser

1. Cabrerizo S, Cuadras D, Gomez-Busto F, et al. Serum albumin and health in older people: Review and meta analysis. *Maturitas* 2015;81:17-27.
2. Fujii T, Sutoh T, Morita H, et al. Serum albumin is superior to prealbumin for predicting short-term recurrence in patients with operable colorectal cancer. *Nutr Cancer* 2012;64:1169-1173.
3. Lin MY, Liu WY, Tolan AM, et al. Preoperative serum albumin but not prealbumin is an excellent predictor of postoperative complications and mortality in patients with gastrointestinal cancer. *Am Surg* 2011;77:1286-1289.
4. Goldwasser P, Feldman J. Association of serum albumin and mortality risk. *J Clin Epidemiol* 1997;50:693-703.
5. Brackeen GL, Dover JS, Long CL. Serum albumin. Differences in assay specificity. *Nutr Clin Pract* 1989;4:203-205.
6. Speicher CE, Widish JR, Gaudot FJ, Hepler BR.

An evaluation of the overestimation of serum albumin by bromcresol green. *J Clin Pathol* 1978;69:347-350.

7. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. *Clin Chem* 1978;24:80-86.
8. Wells FE, Addison GM, Postlethwaite RJ. Albumin analysis in serum of haemodialysis patients: discrepancies between bromocresol purple, bromocresol green and electroimmunoassay. *Ann Clin Biochem* 1985;22:304-309.
9. Zegers I, Keller T, Schreiber W, et al. Characterization of the new serum protein reference material ERM-DA470k/IFCC: value assignment by immunoassay. *Clin Chem* 2010;56:1880-1888.



Tibast (*Daphne mezereum*). Foto: Henrik Alfthan.

Bestämning av detektionsgränsen och kvantifieringsgränsen för en immunologisk metod: som exempel hCG-analysmetoden på AutoDELFIA-analysatorn

Henrik Alfthan, Ulf-Håkan Stenman

HUSLAB och avdelningen för klinisk kemi, Helsingfors universitet



Introduktion

En av de centrala egenskaperna i en immunologisk analysmetod är "känsligheten", det vill säga den lägsta koncentrationen som (tillförlitligt) kan mätas. Det vanligaste sättet att beskriva detta värde är att ange detektionsgränsen (eng. Limit of detection (LOD)) eller kvantifieringsgränsen (eng. Limit of quantitation (LOQ)), eller båda. LOD kan uträknas från spridningen av 0-provets respons (ett prov som inte innehåller analysen ifråga). Vanligtvis används medelvärdet plus två eller tre standardavvikelser (1,2). LOQ kan också beräknas från samma rådata enligt principen medelvärdet plus tio SD (1). En mera sann bild av metodens egenskaper ger dock en precisionsprofil. I denna teknik analyseras prover i duplikat med koncentrationer täckande hela mätområdet. För varje prov beräknas variationskoefficienten (CV) och ritas in i ett koordinatsystem som en funktion av koncentrationen. Den lägsta koncentrationen, vid vilken CV är 20% kallas även för funktionell känslighet (3,4).

Beräkning av analyskänsligheten kan även göras på andra sätt, till exempel enligt NCCLS riktlinjer EP17-A. Enligt denna rekommendation är $LOD = LOB + 1.645 * SD^1$, där LOB (eng. Limit of blank) är medelvärdet av responsen i ett 0-prov/metodbuffert + $1.645 * SD$ (5,6).

SD^1 = standardavvikelse i prov med mycket låg analytkoncentration.

I arbetsmanualen för PerkinElmers hCG-metod på AutoDELFIA beskrivs metodens känslighet som "typiskt bättre än 0.5 IU / L". Vi bestämde oss för att undersöka vad LOD och LOQ är exakt med de ovan diskuterade beräkningsmetoderna genom att använda hCG-metoden som en mall.

Material och metoder

För beräkning av detektionsgränsen användes 10 på varandra följande standardkurvor ur rutinbestämningarna ($n = 20$ standardpunkter) och ur dessa beräknades medelvärdet och standardavvikelsen för 0-provets och den lägsta standardens fluorescens (Tabell 1). 0-provet och den lägsta standarden förbands med en rak linje för att få en avläsningsbar koncentration (Figur 1). Ur värdena i tabell 1 beräknades LOD (medelvärde plus tre standardavvikelser) och LOQ (medelvärde plus 10 standardavvikelse) och motsvarande koncentrationer avlästes från standardkurvan.

Prover för precisionsprofilen framställdes genom serieutspädning 1: 2 av den lägsta standarden (hCG 2.1 IU/L) i bestämningsbuffert. Provernas beräknade koncentrationer var 2.1 -> 0.03 IU / L och 0 IU/L (enbart buffert). Varje prov bestämdes i 12 replikat. Från provernas fluorescensvärden subtraherades bakgrundsfluorescensen, och från dessa värden beräknades CV%.

Resultat

Medelvärdet för 0-standardens respons var 267 pulser per sekund (engl. counts per second, cps) och standardavvikelsen 22 cps (Tabell 1). Detta gav kon-

centrationsvärdet 0.11 IU/L för LOD (medelvärde + 3 SD). Med samma fluorescensvärden blev LOQ 0.36 IU/L (medelvärde + 10 SD).

Beräknat enligt NCCLS Guidelines är LOB 0.04 IU/L och LOD 0.10 IU/L.

Från hCG:s precisionsprofil (Figur 2) kan man avläsa att CV är 20% vid 0.18 IU/L, vilket är metodens analytiska känslighet, LOQ.

Diskussion

AutoDELFLIA:s hCG-metod hade en LOD på 0.11 IU/L, en beräknad LOQ på 0.36 IU/L och det uppskattade LOQ från precisionsprofilen på 0.18 IU/L. Alla resultat uppfyllde således detektionsgränsen som anges i metodbeskrivningen (<0.5 IU/L).

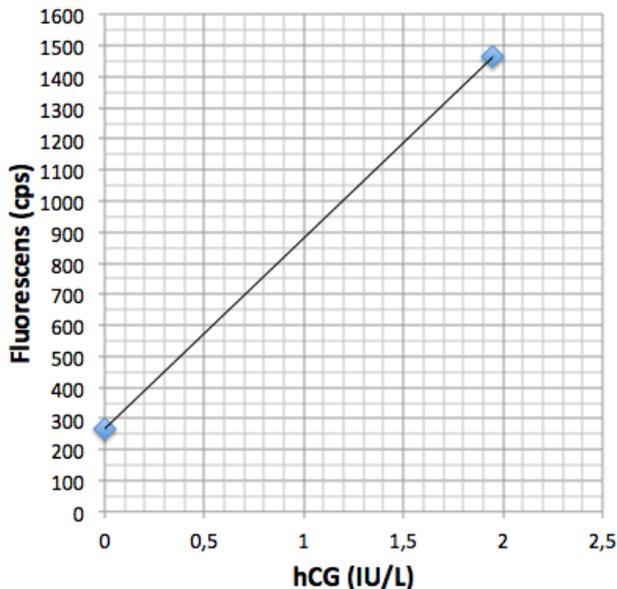
LOD är förmodligen till och med lite lägre än den beskrivna 0.11 IU/L. Detta värde erhöles genom analys

Tabell 1. 0-standardens och den lägsta standardens fluorescensvärden, medelvärden och standardavvikelse i tio på varandra följande standardkurvor (n=20). Som jämförelse motsvarande värden för metodbufferten (n=12). cps = counts per second

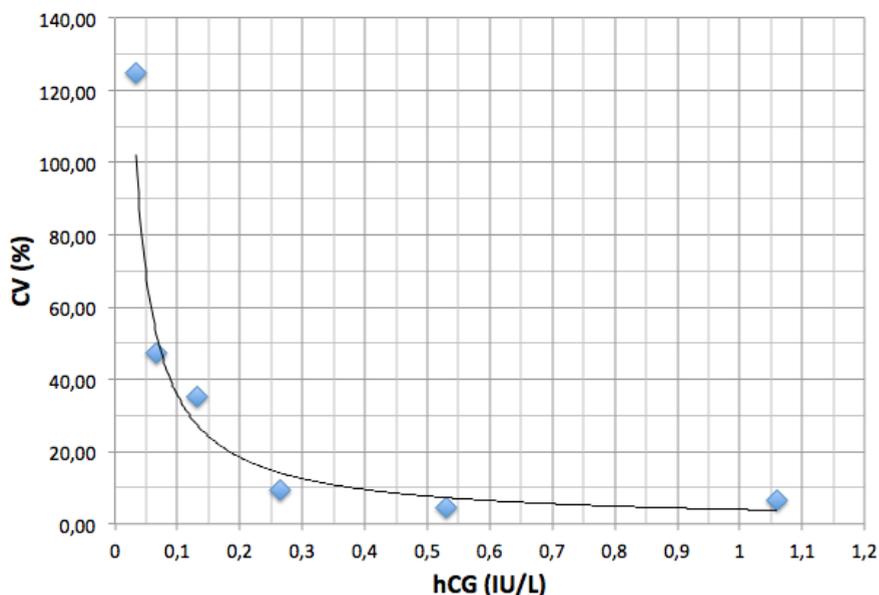
| | hCG Std "0" IU/L | hCG Std 1.95 IU/L | hCG Metodbuffert |
|-----------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| | Fluorescens cps | Fluorescens cps | Fluorescens cps |
| | 218 | 1496 | 184 |
| | 248 | 1540 | 182 |
| | 240 | 1410 | 182 |
| | 252 | 1480 | 176 |
| | 318 | 1494 | 182 |
| | 252 | 1478 | 176 |
| | 276 | 1458 | 176 |
| | 252 | 1448 | 182 |
| | 286 | 1470 | 162 |
| | 278 | 1436 | 210 |
| | 292 | 1536 | 202 |
| | 260 | 1492 | 216 |
| | 270 | 1464 | |
| | 266 | 1422 | |
| | 278 | 1506 | |
| | 254 | 1402 | |
| | 262 | 1412 | |
| | 258 | 1416 | |
| | 294 | 1430 | |
| | 286 | 1484 | |
| Medeltal | 267 | 1464 | 186 |
| SD | 22 | 41 | 16 |

av 0-standarden, som är en serumpool från män (7). Denna standard fluorescensvärde var 267 cps och analysbuffertens motsvarande 186 cps. Skillnaden 81 cps motsvarar cirka 0.13 IU/L hCG, vilken stämmer bra överens med tidigare studier, enligt vilka mediankoncentrationen av hCG i män under 50 års ålder är 0.14 IU/L (8).

Reagenstillverkarna har inget standardiserat sätt på vilket de beskriver sina metoders "känslighet". Dessutom är definitionerna av känsligheten sällan klart utskrivna och även om de är det, så behöver de inte vara exakt rätt. Som ett exempel en beskrivning från en kommersiell hCG-metod: "Om den analytiska



Figur 1. Standardkurva för AutoDELFI hCG-metoden för beräkning av LOD och LOQ.



Kuva 2. AutoDELFI hCG-metodens precisionsprofil.

känsligheten definieras som 0-provets medelvärde + 2 SD så är känsligheten i allmänhet bättre än 0.5 IU/L". Resultatet är klart, eftersom beräkningsmetoden är entydig.

Det är svårare att tolka resultaten i en annan kommersiell metod, där man endast anger att "känsligheten hos metoden är 0.5 IU/L". På ett annat ställe i metodbeskrivningen kan man avläsa att CV hos det lägsta kontrollprovet (1.8 IU/L) är 5.5%. Från dessa värden kan man indirekt härleda att LOQ är mellan 0.5 och 1.8 IU/L.

I graviditetsdiagnostiken har mätnoggrannheten i dessa låga koncentrationer ringa betydelse. Dock är situationen helt annorlunda när relativt låga koncentrationer mäts, såsom i cancer- och dopinganalytiken.

Referenser

1. Miller JN, Miller JC. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. Fifth ed., Ellison Harwood, Chichester, 2005.
2. Uhrovic J. Strategy for determination of LOD and LOQ values — Some basic aspects. Talanta 2014;119:178-80.
3. Spencer CA. Thyroid profiling for the 1990's: free T4 estimate or sensitive TSH measurement. J Clin Immunoassay 1989;12:82-9.
4. Nicoloff JT, Spencer CA. The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays. J Clin Endocrine Metab 1990;71:553-8.
5. Armbruster DA, Pry T. Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. Clin Biochem Rev 2008;29 Suppl 1:S49-52.
6. NCLLS Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation, Approved Guideline. CLSI document EP17-A. Wayne, PA USA:CLSI;2004.
7. AutoDELFI[®] hCG metodbeskrivning B007-101 (PerkinElmer Wallac, Åbo).
8. Alfthan H, Haglund C, Dabek J, Stenman UH. Concentrations of human chorionic gonadotropin, its beta-subunit, and the core fragment of the beta-subunit in serum and urine of men and nonpregnant women. Clin Chem 1992;38:1981-7.



Foto: Henrik Alfthan.

Til manuskriptforfattere

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptteksten og skrives i Vancouver-stil. Dersom artikkelen har mer en syv forfattere listes de seks første etterfulgt av "et al". Forfatterens etternavn skrives først, deretter initialer (for og mellomnavn), forfatterne skilles 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;49:483-8. 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:

1. 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:

2. 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:

3. 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:

4. 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:

5. 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:

6. 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:

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

Internett kilde:

8. American Association for Clinical Chemistry. AACC 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 arbeidsgrupper og komiteer. Foreningen har det vitenskapelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJCLI), har ansvar for utgivelse av Klinisk Biokemi i Norden, og står bak arrangering av de nordiske kongresser i klinisk kjemi.

Det nåværende styre består av: Henrik Jørgensen (København), Line Rode (København), Petra Anttila (Seinäjoki), Tommi Vaskivuo (Uleåborg), Ísleifur Ólafsson (Reykjavík), Leifur Franzson (Reykjavík), Helge Rootwelt (Oslo), Yngve Thomas Blikrud (Oslo), Per Bjellerup (Västerås), Ola Hammarsten (Göteborg), Lutz Schwettmann (Ålesund).

Ordförande: Yngve Thomas Blikrud (Oslo).

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktør: Ingunn Þorsteinsdóttir · Tryk: Clausen Grafisk

Danmark

Overlæge 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 Borgstrøm Hager
Sentrallaboratoriet
Sykehuset i Vestfold, Postboks 2168
3003 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
Topeliusgatan 35
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



Från vänster kring bordet Helle, Linda, Henrik, Anders, Ingunn och Yngve.



**Good News: You're automating your lab.
Best News: We perform over 900 workflow consultations each year.**

**Siemens Healthineers consultants ensure that your automation solution—
from concept to completion—will help you deliver the outcomes you demand.**

siemens.com/automation-leader

You've decided to automate your lab, but what's the next step? How do you find the right partner to meet your growth and productivity needs?

With nearly two decades of automation experience, Siemens will work closely with your team to define and help you achieve your goals. Utilizing our Lean analysis tools and proprietary simulation models, our healthcare consultants help establish new processes, redefine workflow, and improve staff utilization. And our project management team partners with you to make sure your implementation is a success.

As your long-term partner, Siemens will be there—from design and implementation to ongoing optimization of your laboratory's performance. That's why so many customers have trusted us for their first and replacement automation solutions. You can always expect our commitment to a seamless transition to your new solution, giving you confidence and peace of mind. And that's the best news of all.

Get more good news at siemens.com/automation-leader.