

---

# Faktorer som påverkat min forskarverksamhet

ULF-HÅKAN STENMAN

---

Min karriär som läkare och forskare har påverkats av händelser som dels varit slumpartade dels planerade. Mycket har berott på människor som jag mött i olika skeden av mitt liv. En viktig orsak till att jag valde att studera medicin var min lärare i biologi, Ragnar Storå, som har inspirerat många av sina elever att studera medicin och biologi. Då jag började studera hade jag en ganska diffus uppfattning om forskning, men redan under de första terminerna prövade jag på att delta i forskningsprojekt som assistenterna i de prekliniska kurserna erbjöd. Det ledde inte till någon fortsättning, men då Calle Gahmberg 1964 föreslog att jag skulle komma till Minerva för att arbeta med Kai Simons, nappade jag på anbudet.

Kai var en entusiasmerande handledare, och jag började ivrigt studera ett B12-vitaminbindande protein, transcobalamin I, som förekom i höga koncentrationer hos patienter med kronisk myeloisk leukemi. Jag lärde mig metoder för separering av proteiner, mätning av radioaktivitet och användning av vetenskaplig litteratur. Ett par somrar kunde jag arbeta på heltid med projektet tack vare stipendier, främst från Finska Läkaresällskapet. Under terminerna gick forskningen långsamt vid sidan av studierna. Ganska snart efter att jag hade börjat på Minerva åkte Kai till USA för ett år som postdoktoral forskare och jag fortsatte med "fjärrstyrning". När Kai två år

senare återvände, flyttade han till Serobakteriologiska institutionen. Calle flyttade också medan jag fortsatte på Minerva, där Ralph Gräsbeck så småningom övertog handelskapet. Målet var att karakterisera och isolera transcobalamin I, vilket så småningom lyckades tack vare att docent Wolmar Nyberg kunde samla fostervatten som innehöll relativt mycket transcobalamin I (1).

För att karakterisera proteinet i olika vävnader och kroppsvätskor använde jag elektrofores i Pevikon – ett inert plastpulver. När en yngre medicinare, Lasse Hortling, gjorde experimenten var resultaten förbryllande, transcobalamin I kunde separeras i flera toppar. Jag vågade inte tro på resultaten, men då jag senare började använda isoelektrisk fokusering, kunde vi bekräfta dem. Transcobalamin I var mikroheterogent pga. varierande mängder sialinsyra i glykoproteinet kolhydratdel, vilket i början av 1970-talet var ett rätt nytt fynd. Av det här lärde jag mig att man skall tro på sina resultat – om de inte passar in på hypotesen, så skall man ändra den.

Studierna av transcobalamin I ledde så småningom till en avhandling och genom dem lärde jag mig mycket om proteinkemi, vilket har varit grunden för min senare forskning. Samtidigt specialiserade jag mig i klinisk kemi, vilket föll sig naturligt då Ralph var min handledare. Hans inställning till specialistutbildningen var att "en fiffig karl tar reda på saker själv", och det passade mig. Under de följande åren var jag omväxlande assistentläkare på Dals och Maria sjukhus och forskningsassistent vid Finlands Akademi. Då jag disputerade 1974 var Erkki Ruoslahti förhandsgranskare av min avhandling. Detta ledde till att jag efter disputationen inledde samarbete med honom. Jag hade beslutat byta forskningsområde, och tumördiagnostik var intressant. Jag arbetade först med immunkemisk bestämning av CEA och samtidigt utredde jag möjligheterna till

## FÖRFATTAREN

MKD **Ulf-Håkan Stenman** är emeritus professor i klinisk kemi vid Helsingfors universitet. Han verkade under åren 1977-2001 som avdelningsöverläkare vid Kvinnoklinikens laboratorium och HUSLAB.

---

ett år som postdoktoral forskare. Jag fick ett NIH-stipendium och valde att flytta till Charlie Todds avdelning för immunologi vid City of Hope National Medical Centre i Duarte, en förstad till Los Angeles. En bidragande orsak var att Erkki Ruoslahti flyttade till samma institution.

Mitt projekt gick ut på att undersöka tumörassocierade transplantationsantigener i urin från cancerpatienter. Hypotesen var att tumörer uttrycker för kroppen främmande proteiner som kan ge upphov till rejktion av tumören. Före avfärden hemifrån isolerade jag beta-2-mikroglobulin från urin från transplantationspatienter och tog med mig tiotals milligram till City of Hope. Jag kopplade mikroglobulinet till en affinitetskolonn, som jag använde för att fånga upp tumörassocierade transplantationsantigener ur urin från cancerpatienter. För att påvisa antigenerna använde vi en något osäker metod – inhibition av leukocytadhesion. Efter nästan ett års arbete hade jag inte hittat några tumörassocierade antigener. Jag har sedan dess följt litteraturen och konstaterat att ingen annan heller har gjort det.

Jag insåg att jag inte kommer att åstadkomma någon publikation från året i USA, vilket bekymrade mig. Då Kai Simons kom på besök påpekade han att det inte är viktigt vad man publicerar under sin tid som postdoktor utan det man gör 2–3 år efter återkomsten till hemlandet. Mitt år som postdoktoral forskare kom i alla fall att ha avgörande betydelse för min fortsatta forskning; jag lärde mig många nya metoder, och tanken att söka tumörmarkörer i urin föddes. Jag kunde ha förlängt min vistelse i USA, men då Markku Seppälä kom på besök och frågade om jag var intresserad av en tjänst som laboratorieläkare på Kvinnokliniken, avgjorde det saken. Tanken var att jag tillsammans med honom skulle bygga upp ett forskningslaboratorium samtidigt som jag utvecklade rutinlaboratoriet.

Jag kunde på Kvinnokliniken utveckla den endokrinologiska diagnostiken och undersöka tumörmarkörer, vilket var i linje med klinikens och mina egna intressen. Jag beslöt satsa på någonting nytt. Eftersom alla kända tumörmarkörer var proteiner var min hypotes att det även måste finnas peptider, dvs. små proteiner, som är tumörmarkörer. Peptider utsöndras i urin, och därför borde det vara möjligt att isolera dem från urin från cancerpatienter. På basis av denna hypotes gjorde jag stipendieansökningar och fick napp, bl.a. från Sällskapet. Tack vare stipendierna och

samarbete med Markku Seppälä kunde jag anställa en biokemist, Marja-Liisa Huhtala.

Vi inledde projektet genom att isolera peptider från normal urin, göra antikroppar mot dem, koppla antikropparna till en affinitetskolonn för att avlägsna normala peptider ur urin från en patient med ovariecancer. De peptider som blev kvar använde vi till att göra ett nytt antiserum, som visade sig reagera med en peptid i urin från cancerpatienter. Vi kunde nu med hjälp av antiserumet isolera peptiden och utveckla en radioimmunologisk bestämningsmetod (RIA) (2). Peptidens aminosyra-sekvens visade att den var en trypsininhibitor, och vi kallade den därför "tumor associated trypsin inhibitor" eller TATI (3). Vi bestämde TATI-koncentrationen i serum- och urinprover från patienter med olika typer av cancer och fann förhöjda värden hos mer än hälften av patienterna. TATI kunde därför användas som markör för dessa tumörer. Senare studier visade att TATI inte är specifikt för någon viss typ av cancer utan uttrycks av flertalet tumörer. Förhöjda TATI-värden visade sig vara associerade med dålig prognos hos patienter med ovariecancer, och senare visade vi att detta gällde även andra tumörer (4).

TATI var inte tumörspecifikt, det var även känt som "pancreatic secretory trypsin inhibitor" eller PSTI, och i bukspottkörteln var dess uppgift att hindra aktivering av trypsin inne i körteln. Vi beslöt därför att studera om tumörer som uttrycker TATI även uttrycker något trypsinliknande enzym. En ny doktorand, Erkki Koivunen, isolerade två trypsinvarianter, som vi kallade "tumörassocierat trypsin" eller TAT-1 och TAT-2 (5). Dessa aktiverade andra tumörassocierade proteaser som bidrog till tumörinvasion. Eftersom TATI och TAT uttrycktes samtidigt, antog vi att sambandet mellan förhöjda TATI-värden i serum och urin reflekterade uttryck av trypsin i tumören och att detta förklarade sambandet med dålig prognos (6). Det skulle också ha varit logiskt att TATI som trypsininhibitor kunde hindra tumörinvasion och därför vara en god prognostisk faktor. Intressant nog är detta fallet för patienter med ventrikelcancer; högt uttryck av TATI i tumören är förbundet med god prognos (7). Vid prostatacancer är högt uttryck av TATI associerat med dålig prognos oberoende av uttrycket av trypsin, vilket kan förklaras av att TATI aktiverar receptorn för epidermala tillväxtfaktorn (EGF-R) och därigenom bidrar till tumörens aggressivitet. Det är fascinerande att samma molekyl kan ha så olika funktioner i olika sammanhang. TATI

---

har varit ett långvarigt tema för vår grupp, och det är spännande att se om man kan utnyttja TATI inte bara som tumörmarkör utan även som mål för behandling.

Framstegen inom biomedicin under de senaste decennierna har öppnat möjligheter att utveckla nya diagnostiska metoder. Resultat från tusentals studier av genuttrycket i olika tumörer kan utnyttjas för att identifiera potentiella tumörmarkörer. I samarbete med Arul Chinnayans grupp kunde vi därför visa att förhöjt uttryck av TATI-genen (kallad SPINK1) i prostatacancervävnad gör att prostatacancer utvecklas aggressivt är förknippat med dålig prognos (8). Vi hade tidigare visat samma sak med immunhistokemi (9),

Då vi isolerat trypsinogen-1 och -2 gjorde Outi Itkonen monoklonala antikroppar och tog tillsammans med Jari Leinonen fram specifika bestämningsmetoder (10). Eftersom trypsinogen produceras i stora mängder av pankreas, undersökte vi om trypsinogen kan användas för diagnostik av pankreatit. Trypsinogen-2 visade sig vara en mycket känslig serummarkör, och i motsats till trypsinogen-1 utsöndrades det i höga koncentrationer i urin (11). Vi utnyttjade detta till att i samarbete med Medix Biochemica utveckla en snabb s.k. immunokromatografisk metod. Den visade sig vara mer känslig och specifik för pankreatit än amylas. Metoden validerades kliniskt av Johan Hedström och Esko Kempainen, och vi publicerade resultaten i förstklassiga tidskrifter (12, 13). Metoden används främst för att utesluta pankreatit på hälsocentraler som bara har tillgång till patientnära analys. Aktivering av trypsinogen till enzymatisk aktivt trypsin inne i pankreas leder till vävnadsnekros och anses vara den viktigaste mekanismen vid uppkomsten av pankreatit. Då trypsin når cirkulationen bildar det komplex med proteasinhistorer. Vi utvecklade därför en metod för bestämning av komplexet mellan trypsin och alfa-1-proteasinhistor (API). Trypsin-2-API-koncentrationen i serum visade sig vara en mycket bra indikator för pankreatitens svårighetsgrad (14), vilket beror på att komplexet återspeglar aktivering av trypsin.

Genom mitt intresse för tumörmarkörer koncentrerades bestämningen av dessa inom HUS till Kvinnoklinikens laboratorium. Detta ledde till att vi kom att studera prostataspecifikt antigen (PSA). Då vi utredde orsaken till att två prover med höga PSA-halter gav svårtolkade resultat, fann vi att PSA i serum bestod av två komponenter, dels fritt PSA och dels ett komplex med alfa-1-antikymotrypsin

(ACT). Huvudparten av PSA i serum bestod av PSA-ACT, och hos patienter med prostatacancer var andelen av PSA-ACT större än hos män med benign prostatahyperplasi (BPH) (15). Detta kunde användas för att förbättra PSA:s cancerspecificitet. Tillsammans med Jari Leinonen utvecklade vi först en metod för bestämning av PSA-ACT, men bestämning av den fria formen visade sig vara enklare, och i dag används bestämning av andelen fritt PSA (%fPSA) i hela världen. Förutom att ett lågt %fPSA tyder på att en förhöjd risk för cancer, tyder det även på att cancer är aggressiv (16).

Användning av PSA-bestämningar för opportunistisk sållning har lett till en dramatisk ökning av incidensen av prostatacancer från ca 1 500 fall för 20 år sedan till ca 5 000 fall per år under de senaste fyra åren. Hälften av fallen beror på överdiagnostik, dvs. man hittar långsamt växande tumörer som aldrig skulle ge upphov till symtom under den återstående livstiden. För att undvika överbehandling strävar man i dag efter att följa upp dessa patienter och behandla dem aktivt endast om tumören visar tecken på aggressiv tillväxt. För detta behövs tillförlitliga prognostiska markörer, och %fPSA kan då användas för att uppskatta tumörens aggressivitet (16).

Då vi nu hade tillgång till en ny och känslig markör för prostatacancer ville jag studera om den kunde användas för sållning av prostatacancer. Tack vare tillgång till en serumbank med serumprover insamlade 1968–1972 kunde vi studera hur PSA-nivåerna stiger innan prostatacancer diagnostiseras. Vi fann förhöjda PSA-nivåer 5–10 år före diagnosen, vilket innebar att man borde kunna utnyttja PSA för sållning (17). Jag började därför lobba för att vi skulle starta en sållningsstudie i Finland och fick draghjälp av Fritz Schröder från Rotterdam, som bildade ett konsortium för en stor europeisk studie. Projektet väckte häftig debatt, men 1996 kunde vi starta studien, och nu börjar vi se resultaten. De visar att dödligheten i prostatacancer minskar med 30–40 procent, och effekten förstärks då uppföljningstiden efter hand blir längre. Mortaliteten minskar emellertid bara hos män under 70 år (18, 19), vilket jag räknade ut på basis av serumbankstudien från 1994 (17). Överdiagnostiken leder till överbehandling, och det är viktigt att nu optimera diagnostiken så att vi huvudsakligen hittar de tumörer som behöver behandlas.

Prostatacancer är en unik tumör: å ena sidan är förekomsten av ockulta tumörer mycket hög, 40–50 procent av män över 60 år

---

har åtminstone en mikroskopisk tumör, men de flesta tumörerna växer mycket långsamt, dubblingstiden är 2–3 år medan den för t.ex. bröstcancer är 3–6 månader (17).

Kombinationen av hög incidens och långsam tillväxt kan förklaras av att PSA både kan frigöra tillväxtfaktorer och hindra angiogenes. I ett tidigt skede, redan i 20–30-årsåldern, kan PSA genom att frigöra tillväxtfaktorer stimulera uppkomsten av prostatatumörer. Tillväxten bromsas av PSA:s antiangiogena effekt när tumören når en storlek på 2–3 mm och behöver kapillärer; vi försöker identifiera mekanismen. Preliminära resultat tyder på att PSA genom sin proteolytiska effekt frigör en faktor som förhindrar bildningen av kapillärer. För att utnyttja detta terapeutiskt har vi utvecklat peptider, som ökar den antiangiogena effekten (20). Peptiderna har kort halveringstid i cirkulationen och vi försöker därför utveckla läkemedel med samma aktivitet men bättre farmakologiska egenskaper. Dessa kunde hindra prostatacancers tillväxt så att den inte utgör ett hot mot patientens hälsa.

En viktig del av mitt arbete på Kvinnoklinikens laboratorium var att utveckla immunologiska metoder för bestämning av hormoner. Jag inledde samarbete med professor Jim Schröder, som hade hämtat tekniken för framställning av monoklonala antikroppar till Finland och med dessa kunde utveckla mycket känsliga bestämningsmetoder. Den första tillämpningen var bestämning av koriongonadotropin (human chorionic gonadotropin eller hCG) (21, 22). Genom samarbetat med Wallac i Åbo fick jag tillgång till tidsupplöst fluorometri – en metod med mycket högre känslighet än de radioisotopmetoder som tidigare använts för hormonbestämningar. Tack vare detta kunde vi utveckla snabba och känsliga metoder för hCG samt ett flertal andra hormoner och tumörmarkörer (22–24). De nya metoderna möjliggjorde kliniska studier som inte tidigare varit möjliga, bl.a. snabba bestämningar av hCG för tidig graviditetsdiagnostik (25).

Mitt intresse för hCG ledde till ett projekt för standardisering av immunologiska bestämningsmetoder. Vid ett möte arrangerat av den internationella federationen för klinisk kemi (IFCC) i Lenggries i Tyskland 1992 föreslog jag ett projekt för standardisering av hCG-bestämningar. Jag fick fria händer att välja en arbetsgrupp och kunde engagera de främsta experterna på området: Steven Birken från New York, Peter Berger från Innsbruck, Jean-Michelle Bidart från Paris och Robert

Norman från Adelaide, senare kom Cathie Sturgeon med i gruppen som sekreterare. Vi började med att rena de sex viktigaste formerna av hCG i cirkulationen och dessa accepterades 2003 som nya WHO standarder. De används nu av den diagnostiska industrin för kalibrering och karakterisering av hCG-bestämningar (26).

I samband med studierna av hCG utvecklade vi även mycket känsliga metoder för bestämning av den fria b-enheten (hCGb) baserade på monoklonala antikroppar och Delfia-tekniken. Med dem kunde vi visa att hCGb är en universell cancermarkör. Serumnivåerna är förhöjda hos 20–50 procent av patienter med olika tumörer, och även en mycket liten förhöjning är förknippad med dålig prognos. Det återstår att utreda orsaken och undersöka om man kan utnyttja fenomenet för att utveckla nya behandlingsmetoder. Vid utvecklingen av metoderna för bestämning av olika former av hCG har Henrik Alfthan varit en nyckelperson (23). Han har en ovanlig förmåga att optimera metoder och vid sidan om det sköta de mest olika uppdrag. I studierna av hCG har även Kristina Hotakainen varit mycket viktig (27).

Efter arbetet som ordförande för hCG-gruppen fortsatte jag med att övervaka dess verksamhet som medlem i IFCC:s vetenskapliga kommitté. Det var en intressant utkiksplats, och man kunde där även se hur olika kulturer påverkade inställningen till medicinska frågor. När jag introducerade ett projekt för standardisering av bestämning av kolhydratfattigt transferrin (carbohydrate deficient transferrin eller CDT), möttes jag av stark skepsis från kommitténs andra medlemmar. Uppenbarligen uppfattades metoder för bedömning av alkoholkonsumtion som ett otillbörligt intrång på den personliga integriteten. Projektet godkändes i alla fall så småningom.

Mina publikationer om hCG ledde till att jag fick ett ovanligt uppdrag. Jag ombads komma med ett utlåtande till Scotland Yard om resultaten från hCG-bestämningar på prinsessan Dianas blod, som extraherats ur mattan i den bil hon åkte i vid olyckan där hon omkom. En detektiv ringde mig ett flertal gånger och ville att jag med ett par dagars varsel skulle komma till London för att vittna. Slutligen lyckades det så att jag blev intervjuad under en mellanlandning på Heathrow på väg hem från Puerto Rico. Detektiver från Scotland Yard tog hand om mig och min fru genast då vi steg ur planet; medpassagerarna uppfat-

---

tade oss möjligen som terrorister. Det var en säregen upplevelse.

Under största delen av min yrkesverksamhet har min huvuduppgift varit att leda och utveckla ett rutinlaboratorium. Ända till 1999, då jag blev professor, var forskningen en "hobby", som jag dock kunde kombinera med rutinverksamheten. De metoder som jag utvecklade för min forskning kunde utnyttjas i klinisk diagnostik och de har därför bidragit till att utveckla rutinverksamheten. Jag har alltid satt metodernas kvalitet i främsta rummet, men då huvudparten av analysverksamheten automatiserats, har möjligheterna att välja metoder begränsats. För att automatisering skall fungera bra, anskaffas analysatorer till klinisk-kemiska laboratorier helst från samma företag. Tyvärr har inget företag optimala metoder för alla bestämningar. De immunkemiska metoderna för bestämning av steroidhormoner är speciellt problematiska. Jag insåg det här i ett tidigt skede, men gammalmodiga manuella metoder fanns inte längre att tillgå. Vi började därför bestämma steroidhormoner med masspektrometri, och i dag bestämmer mitt "gamla" laboratorium på Kvinnokliniken 15 olika steroidhormoner (28). Bestämningarna blir dyrare än med automatiska metoder, men endokrinologerna i Finland uppskattar kvaliteten. Ett felaktigt positivt resultat kräver ofta omfattande tilläggsundersökningar, som kan kosta tio- eller hundrafalt mer än hormonbestämningen. De ständigt ökande sjukvårdskostnaderna kräver naturligtvis att vi minimerar även laboratoriets kostnader, men detta bör inte få ske på bekostnad av kvalitet och klinisk relevans. Användning av masspektrometri har en annan positiv konsekvens – kemin kommer åter till heders.

Den ökande användningen av kommersiella metoder har lett till uppfattningen att metodutveckling i laboratorier är onödigt – allt sköts av diagnostikindustrin. Det är en missuppfattning. Nya metoder utvecklas av kliniska kemister och andra biomedicinska forskare, men diagnostikföretag behövs för att kommersialisera dem. Detta har tyvärr blivit svårare i och med att utveckling av automatiska metoder är dyr. Det finns numera bara en handfull firmor, som kan leverera paket omfattande all analytik, som går att automatisera. I paketet ingår serologiska bestämningar och i framtiden sannolikt även genetik. Det innebär att de kliniska kemisterna roll förändras. Gränserna mellan olika laboratoriespecialiteter blir allt mer diffus. Vi har kanske i framtiden en specialitet som

heter laboratoriemedicin och subspecialiteter inom detta huvudområde. Det kräver nytänkande i utbildningen av kliniska kemister och andra laboratoriespecialiteter. Det kräver också samarbete med specialister från olika områden. Förutom läkare behövs bl.a. biokemister, biologer, genetiker och statistiker. Samarbete mellan olika specialiteter är också en förutsättning för framgångsrik forskning, och jag har haft nöjet att samarbeta med ett stort antal hängivna läkare, biokemister, genetiker och statistiker. I framtiden kommer sådant samarbete även att vara en förutsättning för effektiv rutindiagnostik.

Mängden information som en läkare i dag bör behärska, har ökat enormt under de senaste decennierna och utvecklingstakten ökar hela tiden. Jag tror, att man för att klara av de ständigt ökande kraven måste börja utnyttja de möjligheter datatekniken kan ge. I samarbete med Patrik Finne har vi utnyttjat logistisk regression och neurala nätverk för att förbättra diagnostiken av prostatacancer. Erfarenheterna från det projektet har övertygat mig om teknikens möjligheter. För många läkare känns ett ökat beroende av datateknik främmande. Jag tror att den är ofrånkomlig och att vi bör utnyttja den då den blir tillgänglig. Utvecklingen av användarvänliga och tillförlitliga metoder är emellertid mycket krävande. Stora diagnostikföretag satsar redan på att kombinera olika bitar av information, kliniska undersökningar, laboratorieresultat, röntgen-, ultraljud och NMR-undersökningar i diagnostiska algoritmer. Det här kan kännas opersonligt och patienten vill kanske inte bli diagnostiserad av en dator utan av en empatisk läkare. Jag ser det här som en möjlighet och inte som ett hot, snabba och säkra automatiska diagnostiska metoder kan ge läkaren mer tid att samtala med patienten.

**Prof. Ulf-Håkan Stenman**  
**Avdelningen för klinisk kemi**  
**Helsingfors universitet och HUSLAB**  
**Biomedicum, PB 63**  
**00014 Helsingfors universitet**  
**ulf-hakan.stenman@helsinki.fi**

## Referenser

1. Stenman U-H. Characterization of r-type vitamin b12-binding proteins by isoelectric focusing. Iii. Cobalophilin (r protein) in myeloproliferative states and leukocytosis. *Scand J Clin Lab Invest* 1975;35:157-161.
2. Stenman U-H, Huhtala M-L, Koistinen R, Seppälä M. Immunochemical demonstration of an ovarian cancer associated urinary peptide. *Int J Cancer* 1982;30:53-57.

3. Huhtala ML, Pesonen K, Kalkkinen N, Stenman UH. Purification and characterization of a tumor-associated trypsin inhibitor from the urine of a patient with ovarian cancer. *J Biol Chem* 1982;257:13713–6.
4. Paju A, Stenman U-H. Biochemistry and clinical role of trypsinogens and pancreatic secretory trypsin inhibitor (psti/tati/spink1). *Crit Rev Clin Lab Sci* 2006;43:95–101.
5. Koivunen E, Huhtala ML, Stenman UH. Human ovarian tumor-associated trypsin. Its purification and characterization from mucinous cyst fluid and identification as an activator of pro-urokinase. *J Biol Chem* 1989;264:14095–9.
6. Koivunen E, Itkonen O, Halila H, Stenman UH. Cyst fluid of ovarian cancer patients contains high concentrations of trypsinogen-2. *Cancer Res* 1990;50:2375–8.
7. Wiksten JP, Lundin J, Nordling S, Kokkola A, Stenman UH, Haglund C. High tissue expression of tumour-associated trypsin inhibitor (tati) associates with a more favourable prognosis in gastric cancer. *Histopathology* 2005;46:380–388.
8. Tomlins SA, Rhodes DR, Yu J, Varambally S, Mehra R, Perner S, et al. The role of spink1 in ets rearrangement-negative prostate cancers. *Cancer Cell* 2008;13:519–528.
9. Paju A, Hotakainen K, Cao Y, Laurila T, Gadaleanu V, Hemminki A, et al. Increased expression of tumor-associated trypsin inhibitor, tati, in prostate cancer and in androgen-independent 22rv1 cells. *Eur Urol* 2007;52:1670–81.
10. Itkonen O, Koivunen E, Hurme M, Alfthan H, Schröder T, Stenman UH. Time-resolved immunofluorometric assays for trypsinogen-1 and 2 in serum reveal preferential elevation of trypsinogen-2 in pancreatitis. *J Lab Clin Med* 1990;115:712–718.
11. Hedström J, Sainio V, Kemppainen V, Puolakkainen P, Haapiainen R, Kivilaakso E, et al. Urine trypsinogen-2 as a marker of acute pancreatitis. *Clin Chem* 1996;42:685–90.
12. Hedström J, Korvuo A, Kekomäki P, Tikanoja S, Haapiainen R, Kivilaakso E, Stenman U-H. Urinary trypsinogen-2 test for acute pancreatitis. *Lancet* 1996;347:729–731.
13. Kemppainen EA, Hedstrom JI, Puolakkainen PA, Sainio VS, Haapiainen RK, Perhoniemi V, et al. Rapid measurement of urinary trypsinogen-2 as a screening test for acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1997;336:1788–93.
14. Hedström J, Sainio V, Kemppainen V, Haapiainen R, Kivilaakso E, Schröder T, Stenman U-H. Serum complex of trypsin 2 and a1 antitrypsin as diagnostic and prognostic marker of acute pancreatitis: Clinical study in consecutive patients. *Brit Med J* 1996;313:333–337.
15. Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: Assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 1991;51:222–226.
16. Visapaa H, Hotakainen K, Lundin J, Ala-Opas M, Stenman UH. The proportion of free psa and upgrading of biopsy gleason score after radical prostatectomy. *Urol Int* 2010;84:378–381.
17. Stenman UH, Hakama M, Knekt P, Aromaa A, Teppo L, Leinonen J. Serum concentrations of prostate specific antigen and its complex with alpha 1-antichymotrypsin before diagnosis of prostate cancer. *Lancet* 1994;344:1594–8.
18. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized european study. *N Engl J Med* 2009;360:1320–8.
19. Roobol MJ, Kerkhof M, Schroder FH, Cuzick J, Sasieni P, Hakama M, et al. Prostate cancer mortality reduction by prostate-specific antigen-based screening adjusted for nonattendance and contamination in the european randomised study of screening for prostate cancer (erspc). *Eur Urol* 2009;56:584–591.
20. Wu P, Leinonen J, Koivunen E, Lankinen H, Stenman U-H. Identification of novel prostate-specific antigen-binding peptides modulating its enzyme activity. *Eur J Biochem* 2000;267:6212–20.
21. Seppälä M, Tontti K, Ranta T, Stenman UH, Chard T. Use of a rapid hcg-beta-subunit radioimmunoassay in acute gynaecological emergencies. *Lancet* 1980;1:165–166.
22. Stenman UH, Alfthan H, Myllynen L, Seppälä M. Ultrarapid and highly sensitive time-resolved fluoroimmunoassay for chorionic gonadotropin. *Lancet* 1983;2:647–649.
23. Alfthan H, Haglund C, Roberts P, Stenman U-H. Elevation of free b-subunit of human chorionic gonadotropin and core b fragment of human chorionic gonadotropin in the serum and urine of patients with malignant pancreatic and biliary disease. *Cancer Res* 1992;52:4628–33.
24. Alfthan H, Haglund C, Dabek J, Stenman U-H. Concentrations of human chorionic gonadotropin, its b-subunit and the core fragment of the b-subunit in serum and urine of men and nonpregnant women. *Clin Chem* 1992;38:1981–7.
25. Cacciatore B, Stenman U-H, Ylöstalo P. Early screening for ectopic pregnancy in high-risk symptom-free women. *Lancet* 1994;343:517–8.
26. Birken S, Berger P, Bidart JM, Weber M, Bristow A, Norman R, et al. Preparation and characterization of new who reference reagents for human chorionic gonadotropin and metabolites. *Clin Chem* 2003;49:144–154.
27. Hotakainen K, Lintula S, Stenman J, Rintala E, Lindell O, Stenman U-H. Detection of messenger rna for the beta-subunit of chorionic gonadotropin in urinary cells from patients with transitional cell carcinoma of the bladder by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Int J Cancer* 1999;84:304–308.
28. Turpeinen U, Markkanen H, Valimäki M, Stenman UH. Determination of urinary free cortisol by hplc. *Clin Chem* 1997;1386–91.