

Hälsorelaterad miljöövervakning

Biobank för variabilitet av miljöföroreningar i blod och urin - Variabilitetsbiobank vid Arbets- och miljömedicin, Göteborg

Gerd Sällsten professor, 1:e yrkes- och miljöhygieniker

Lars Barregård senior professor, överläkare

Arbets- och miljömedicin, Sahlgrenska Akademin, Göteborgs universitet

Göteborg den 13 augusti 2015



SAHLGRENSKA
AKADEMIN
Arbets- och miljömedicin



NATIONELL
MILJÖÖVERVAKNING
PÅ UPPDRAG AV
NATURVÅRDSVERKET



NATIONELL
MILJÖÖVERVAKNING
PÅ UPPDRAG AV
NATURVÅRDSVERKET

ÄRENDENUMMER NV-00463-13
AVTALSNUMMER 215-13-008
PROGRAMOMRÅDE HÄLSORELATERAD
MILJÖÖVERVAKNING
DELPROGRAM BIOLOGISKA MÄTDATA –
METALLER

Biobank för variabilitet av miljöföroreningar i blod och urin - Variabilitetsbiobank vid Arbets- och miljömedicin, Göteborg

<p>Rapportförfattare Gerd Sällsten, Göteborgs universitet Lars Barregård, Göteborgs universitet</p>	<p>Utgivare Göteborgs universitet, Arbets- och miljömedicin Postadress Box 414, 405 30 Göteborg Telefon 031-786 63 00</p>
<p>Rapporttitel och undertitel Biobank för variabilitet av miljöföroreningar i blod och urin – Variabilitetsbiobank vid arbets- och miljömedicin, Göteborg</p>	<p>Beställare Naturvårdsverket 106 48 Stockholm Finansiering Nationell MÖ (HÄMI)</p>
<p>Nyckelord för plats Göteborg</p>	
<p>Nyckelord för ämne biobank, biomarkörer, blod, urin, kreatinin, densitet, forskningssamverkan</p>	
<p>Tidpunkt för insamling av underlagsdata 2012 och 2013</p>	
<p>Sammanfattning Biomarkörer i form av biologiska prover från människa används ofta i utredningar och forskning om miljögifter för att belysa exponering och/eller effekter. För de flesta biomarkörer saknas dock information om den normala variationen under ett dygn eller dag- till dag-variationen inom individer samt variationen mellan individer. Tidpunkten för provtagning kan spela roll, speciellt för urinprover, där fysiologiska faktorer under dygnet kan påverka.</p> <p>I detta projekt har en biobank skapats vid Arbets- och miljömedicin med upprepade urin och blodprover från 60 friska individer, samtliga icke-rökare, boende i Göteborgstrakten. Deltagarna rekryterades delvis från anställda eller studenter vid Göteborgs universitet eller Sahlgrenska sjukhuset och delvis av vänner till dessa. Biobanken innehåller mer än 25 000 enskilda prover från både män (n=29) och kvinnor (n=31). Medelåldern var 33 år (median 31 år, intervall 21-64 år). Prover insamlades under två perioder (2012-2013). Urinprover insamlades under två 24h perioder, med cirka en veckas mellanrum. Urinprov lämnades vid sex förutbestämda tidpunkter (första morgonurin, 9:30, 12:00, 14:30, 17:30 och 22:00). Insamlingstid och urinvolymer för varje prov registrerades. Urin överfördes till plaströr (NUNC) och vissa av dessa förvarades i kyl och analyserades på kreatinin, densitet och albumin inom tre dagar. Alla övriga delprover (28 rör/person och tidpunkt) förvaras i lågtemperaturfrys (-80°C). Blodprover togs också vid två tillfällen med cirka en veckas mellanrum i samband med urinprovtagning. Helblod, serum, plasma och erytrocyter insamlades i olika provtagningsrör. Blodprover förvaras i lågtemperaturfrys (-80°C). Miljöföroreningar i enskilda urinprov kan uttryckas som utsöndrad mängd per timme eller per 24h (utsöndringshastighet), eller halt korrigerad för kreatinin eller densitet.</p> <p>I detta projekt har vi skapat en biobank specifikt inriktad på att kunna undersöka inom- och mellanindividvariation av biomarkörer i blod och urin när sådana frågeställningar uppkommer. Prover i biobanken är nu tillgänglig för andra forskare att studera variabilitet i forskningssamverkan.</p>	

Innehåll

Bakgrund	1
Syfte	1
Metoder	2
Uppgifter som ingår i biobanken och möjligheter till forskningssamverkan	3
Några resultat från tre examensarbeten	4
Clara cell protein	4
Cystatin C	5
Albumin i urin	7
Sammanfattning	8
Tack	9
Referenser	9
Bilaga 1	10
Bilaga 2	12
Bilaga 3	13

Bakgrund

Vid hälsorelaterad miljöövervakning (HÄMI) och i miljömedicinsk forskning är analys av biomarkörer i blod och urin, framför allt analys av miljöföroreningar centralt. Biomarkörer används även inom annan medicinsk forskning. Inom HÄMI har blod och urin använts för analys av framför allt metaller och organiska miljöföroreningar eller dess metaboliter, men i några fall även för effektmarkörer, såsom markörer för tubulär njurpåverkan.

När man i epidemiologiska studier använder en biomarkör för att mäta exponering eller en effekt hos ett antal individer är den vanligaste situationen att man tar ett enda prov av t ex blod eller urin. Man vill egentligen använda sig av variationen mellan individer för att påvisa skillnader. Men biomarkörer varierar också inom individer, d.v.s. mellan olika tidpunkter hos varje individ. Om endast ett prov tas per individ är den totala variation som man noterar summan av den egentliga variationen mellan individers medelvärden och variationen inom individer. Inom-individvariation kan vara slumpmässig, men en särskild typ är dygnsvariation. Vissa biomarkörer har ett förlopp med typiska förändringar över dygnet. Fysiologiska faktorer som ofta påverkar inom-individvariationen är kostintag, fysisk aktivitet, sömn/vakenhet/kroppsläge samt urinflöde.

Om inom-individvariationen är stor i förhållande till mellanindividvariationen blir det svårt att påvisa skillnader mellan grupper eller samband mellan exponering och effekter. Med kännedom om både inom- och mellanindividvariationen kan man optimera provtagningen så att ett tillräckligt antal prover/individ insamlas. Det finns få studier som undersökt inom-individvariation för olika biomarkörer. Vid AMM vid Göteborgs universitet har vi gjort det för vissa äggviteämnen i urin, som även använts inom HÄMI (1,2) samt för kvicksilver i blod och urin (3), 8-oxodG (4) och kadmium i urin (5). Om man inte samlar dygnsurin (idealt, ”gold standard” är oftast massa/24 tim) utan använder ”spot urin” justerar man normalt koncentrationen av biomarkörer i urin för urinflöde (utspädningseffekt) med kreatinin eller specifik vikt.

Vid HÄMI eller inom miljömedicinsk forskning avseende biomarkörer (t.ex. miljöföroreningar) är det värdefullt att kunna undersöka inom-individvariationen (och jämföra den med mellanindividvariationen) för denna biomarkör. Särskilt viktigt är det att också undersöka eventuell dygnsvariation. Men att samla in material för en särskild studie för denna biomarkör är en stor arbetsinsats. I detta projekt har vi därför skapat en biobank specifikt inriktad på att kunna undersöka inom- och mellanindividvariation av biomarkörer i blod och urin när sådana frågeställningar framkommer.

Syfte

Studiens syfte var att skapa en biobank för att kunna kartlägga inom- och mellanindividvariation av biomarkörer i blod och urin, särskilt dygnsvariationen i urinprov samt när det är applicerbart att kunna beräkna renalt clearance genom samtidig bestämning av biomarkörer i ”tidat” urin och i serum/plasma.

Metoder

60 friska män och kvinnor i åldern 18-65 år rekryterades genom informationsblad (Bilaga 1). För inklusion krävdes att man var frisk, icke-rökare, inte gravid och inte använde några mediciner förutom p-piller och kosttillskott. Rekryteringen skedde i samband med tre olika examensarbeten inom Apotekarprogrammet vid Sahlgrenska Akademin (5, 6, 7). Femtio individer rekryterades hösten 2012 och 10 ytterligare under hösten 2013. Deltagarna var boende i Göteborgstrakten och rekryterades delvis från anställda eller studenter vid Göteborgs universitet eller Sahlgrenska Universitetssjukhuset och delvis av vänner till dessa.

Efter information om studien genomfördes provtagning av blod och urin. All urin under ett dygn lämnades i 6 olika 1000 mL polyetenlaskor vid sex fixa tidpunkter (tiden för första morgonurin, kl 9.30, kl 12.30, kl 14.30, kl 17.30 och kl 22.00). Samma dygn togs blodprov på AMM. Urinflaskorna lämnades till AMM, volymer mättes, tider kontrollerades och urin fördelades i ett antal olika polypropylenrör (NUNC), av vilka flertalet frystes in. Innan dess bestämdes pH och specifik vikt. Urinprov som förvarats i kylskåp skickades, inom tre dagar, för analys av kreatinin och albumin till centrallaboratoriet vid Sahlgrenska sjukhuset. Helblod, serum, plasma och erythrocyter fördelades till olika mikrorör under samma dag som provtagningstillfället. Proceduren upprepas under ytterligare ett dygn cirka en vecka senare. Blod- och urinprover är kodade. Totalt insamlades 21 600 NUNC-rör med urin och 3480 NUNC-rör med blod/serum/plasma/erythrocyter (se Bilaga 2).

Blodproverna behandlades på laboratoriet vid AMM enligt följande: Na-citrat rören centrifugerades i 20 minuter (2000 varv/min). Därefter pipetterades 0,5 ml plasma till 3 polypropylenrör (NUNC). Serumrör inkuberades i 60 minuter för att få en fullständig koagulation, och centrifugerades sedan vid 2000 varv/min i 10 minuter. Efter centrifugeringen pipetterades 0,5 ml serum med Pasteur-pipett till 8 polypropylenrör (NUNC). Li-heparinröret om 4 ml centrifugerades inte men vändes några gånger och sedan pipetterades hel blod med syradiskad pipett till 7 polypropylenrör (1 ml + 6 x 0,5 ml). Li-heparinröret om 6 ml centrifugerades (2000 varv/min) i 10 minuter. Plasma pipetterades med syrediskad pipett till 5 polypropylenrör med vardera 0,5 ml, och erythrocyterna med samma pipett till ytterligare 5 polypropylenrör om 0,5 ml.

Forskningspersonerna fick också fylla i en enkät om längd, vikt, rökvanor, kost (enstaka enkla frågor) och några andra faktorer (Bilaga 3).

Vid AMM Göteborg har analyser utförts av inom- och mellanindividvariation hos kvinnor i biobanken för Clara Cell-protein (5) som används som biomarkör för luftvägsinflammation vid exponering för luftföreningar. Hos 50 individer har motsvarande analyser utförts för Cystatin C och kreatininclearance (6), som används för att studera effekter på njure vid t.ex. exponering för kadmium. Inom-individvariationen för albumin i urin har studerats för samtliga 60 individer (7).

En avgörande kärna i projektet är att forskningspersonerna gett tillstånd att biomarkörer analyseras utan att vi från början anger exakt vilka biomarkörer det rör sig om. Undantaget är att genetiska markörer inte kommer att analyseras. Projektet har godkänts av Etikprövningsnämnden i Göteborg.

Uppgifter som ingår i biobanken och möjligheter till forskningssamverkan

I databasen ingår kön, ålder, vikt och längd samt provnummer, id-kod, veckoomgång, provomgång för urin (1-6), urinvolym, provsamlingstid, urinflöde, kreatinin, densitet och pH för respektive urinprov samt albumin i urinproven. För urinprov kan analyser göras dels avseende utsöndringshastighet och dels efter justering för kreatinin och specifik vikt. För blodprov ingår samma uppgifter, men endast en provomgång per vecka (veckoomgång anges). Uppgifter om antal ggr/vecka som man uppgett konsumtion av ris, fisk och kött ingår liksom hur många ggr/vecka man motionerar.

I detta projekt har vi skapat en biobank specifikt inriktad på att kunna undersöka inom- och mellanindividvariation av biomarkörer i blod och urin när sådana frågeställningar uppkommer. Prover i biobanken är nu tillgänglig för andra forskare intresserade av att studera variabilitet. Det sker då i forskningssamverkan med AMM Göteborg.

Inom- och mellanindividvariation inklusive dygnsvariation kan analyseras med både statistiska standardmetoder och mer avancerade metoder t.ex. mixed models. Även eventuell inverkan av ålder, kön och urinflöde mm kan kartläggas. Kontaktpersoner för biobanken är Gerd Sällsten och Lars Barregård (gerd.sallsten@amm.gu.se, lars.barregard@amm.gu.se)

I tabell 1 redovisas bakgrundsdata för samtliga 60 individer samt uppdelat på kvinnor och män. Medelåldern var 33 år (median 31 år (range 21-64 år).

Tabell 1. Medelvärde, median och range för ålder, längd, vikt, matvanor, motion, urinflöde och urin-albumin mg/h under 24h, baserat på 60 icke-rökande friska personer, 29 män och 31 kvinnor.

	alla		kvinnor		Män	
	Medelvärde	medianvärde	Medelvärde	medianvärde	Medelvärde	medianvärde
	(Range)		(Range)		(Range)	
Ålder	33	31	35	31	33	29
	(21-64)		(21-62)		(21-64)	
Längd (cm)	170	172	166	165	181	182
	(150-193)		(150-175)		(170-193)	
Vikt (kg)	71	70	60	61	80	78
	(49-140)		(49-80)		(65-140)	
Ris ggr/vecka	2	2	2	2	3	1
	(0-10)		(0-6)		(0-10)	
Fisk ggr/vecka	2	2	2	2	2	2
	(0-7)		(0-7)		(0-7)	
Kött ggr/vecka	5	5	4	5	6	4
	(0-14)		(0-10)		(1-14)	
Motion ggr/vecka	1	1	1	1	1	1
	(0-7)		(0-1)		(0-7)	
Urinflöde 24h(ml/h)	70	67	69	69	70	65
	(35-151)		(35-121)		(37-151)	
Albumin (mg/24h)	10	6	5	4	16	7
	(2-103)		(2-19)		(2-103)	

Några resultat från tre examensarbeten

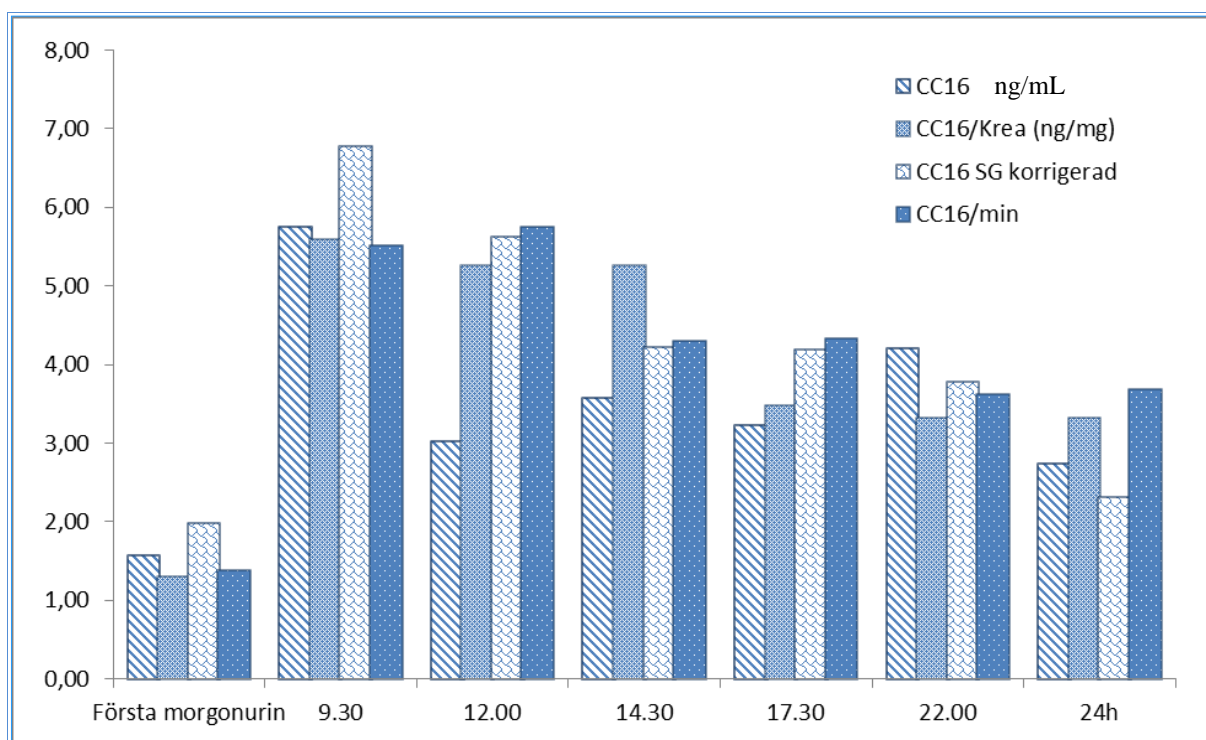
I nedanstående avsnitt presenteras några resultat hämtade från examensarbetena (5,6,7).

Clara cell protein

Clara cell protein (CC16) produceras framför allt i lungorna av icke cilierade Claraceller, men även i andra vävnader och elimineras genom glomerulär filtration. CC16 reabsorberas nästan fullständigt i proximala tubuli. CC16 har en antiinflammatorisk effekt samt modulerar det medfödda immunsystemet. Ett litet ”läckage” av CC16 sker normalt genom lungepitel till serum. CC16 i serum används därför som biomarkör för att upptäcka luftvägspåverkan där man misstänker övergående påverka på luft-blod-barriären. Även i urin är CC16 en tänkbar markör för luftvägsskada, men också för renal tubulär funktion. Hos män finns en postrenal utsöndring (från prostata), vilket gör att CC16 i urin hos män är olämpligt som markör för luftvägs- eller njurpåverkan.

Clara cell protein bestämdes hos 23 kvinnor i blod och urin (5). Urinutsöndringen varierade över dygnet och var högre på förmiddagen och eftermiddagen än under natten, Figur 1. Utsöndringen i första morgonurin var signifikant lägre jämfört med övriga tidpunkter.

Figur 1. U-CC16 (ng/mL, CC16/krea ng/mg, CC16 SG korrigerad, CC16 ng/min) vid sex tidpunkter och medelvärde för 24 timmar.



Spridningen i CC16 i dygnsurin var stor mellan individer (0,36-20) ng/ml liksom inom-individvariationen (67 - 97 % uttryckt som CV mellan dagar), Tabell 2. Serum-CC16 hade mindre spridning (10,5-54,5 ng/ml) och inom-individvariation (CV=6 % mellan dagar). Variationen inom individer för CC16 i dygnsurin var stor (t.ex. 78 % uttryckt som CV mellan dagar för kreatininjusterat

CC16, se tabell 2). Detsamma gällde första morgonurin (102% uttryckt som CV mellan dagar) och relativt clearance (113% uttryckt som CV mellan dagar). Det fanns ingen signifikant korrelationen mellan CC16 i serum och dygns-urin.

Kreatinin-utsöndringshastigheten varierade också inom individer, men betydligt mindre än CC16 (19 % uttryckt som CV mellan dagar). Variabiliteten beräknades även för 22 kvinnor då en ”outlier” togs bort från beräkningarna. Variationen inom individer för CC16 var 70% (uttryckt som CV mellan dagar för kreatininjusterat CC16), för första morgonurin 83% (CV) och för relativt clearance 76% (CV). Inom- och mellan individvariationen i andelen av total variabilitet (tabell 2) bestämdes. Variabiliteten mellan individer minskade något när en ”outlier” togs bort.

Tabell 2. Inom individvariation och variation mellan idivider av CC16 i serum och urin.

	Inom individvariation (2dygn)	Inom-och mellanindividvariation i % av total variabilitet Inom/Mellan
S-CC16 (ng/ml)	0,06	6/94
U-CC16/kreatinin (ng/mg)	0,78	46/54
U-CC16 ng/h	1,06	57/43
CC16-Relativt Clearance (ml/h)	1,13	41/59
Första morgonurin/krea (ng/mg)	1,02	48/52
Massa/ (24h) (ng)	0,97	
Kreatinin utsöndringshastighet (mg/l)	0,19	51/49

Resultaten talar för att det är svårt att använda CC16 i urin som biomarkör för luftsvägspåverkan eller tubulär funktion, då utsöndringen varierar under dygnet och även inom-individvariationen för dygnsurin är hög.

Cystatin C

Cystatin C (cys C) är en markör för glomerulär filtrationshastighet (GFR) och det finns formler för estimering av GFR från cystatin C i serum. Kunskapen om variationen i cystatin C inom individer är mycket begränsad, men kan vara betydelsefull vid bedömning av provsvar och utvärdering av vetenskapliga studier.

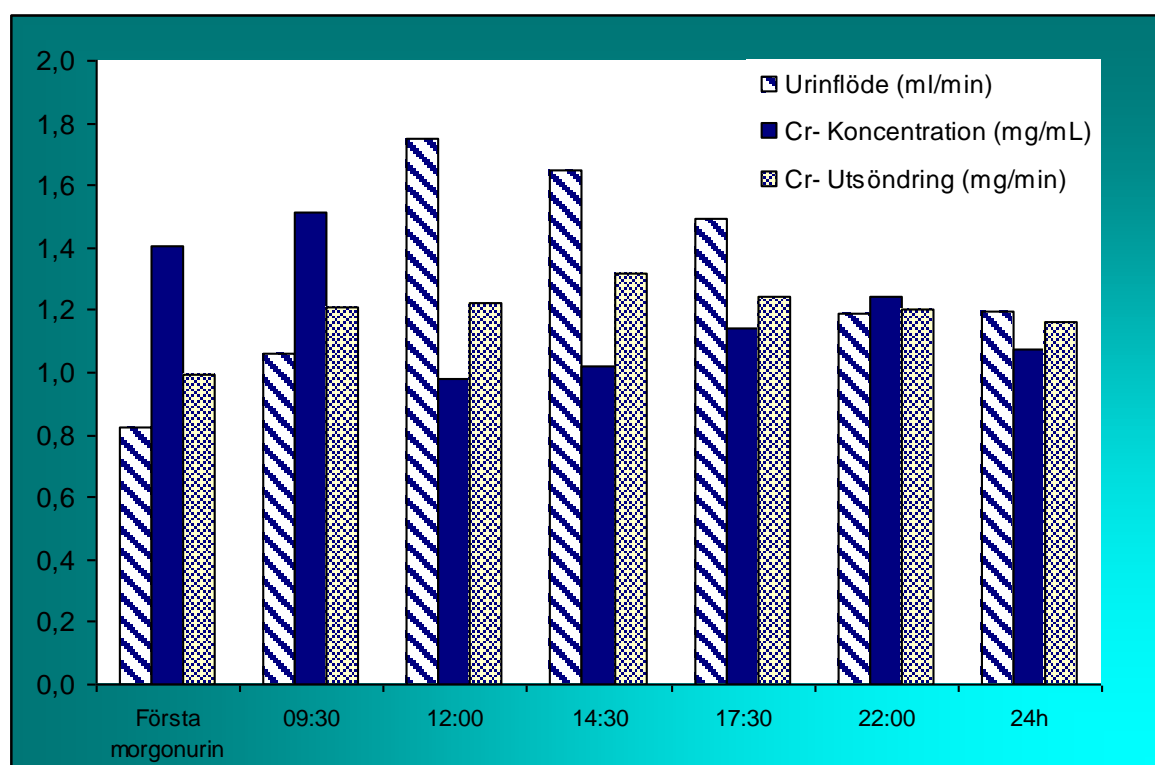
Studien inkluderade 50 friska, icke rökande försökspersoner mellan 21-64 år utan kronisk läkemedelsbehandling (6). GFR estimerades (eGFR) från serumcystatin C med hjälp av CKD-EPI formeln och från serumkreatinin med hjälp av Cockcroft-Gault-ekvationen och den så kallade Lund-

Malmö (LM)-ekvationen. Serum-och urinkreatinin användes för mätning av CrCl (kreatinin clearance).

Urinflöde, kreatininkoncentration och kreatininutsöndring för de olika tidpunkterna samt för 24 timmar beräknades som medelvärdet av dag 1 och dag 2. Urinflödet är som lägst i första morgonurinen, följd av 09:30 provet och når sitt topp vid 12:00 för att sjunka successivt därefter (Figur 2). Kreatininskoncentration är högst i första morgonurinen och 09:30 provet.

Kreatininutsöndringen visar en motsatt tendens då den är som lägst under natten vilket märks i första morgonurinen och når sitt toppvärde vid 14:30.

Figur 2. Urinflöde och kreatininutsöndring i de enskilda proven och totala för 24-timmar.



Inom-individvariationen för kvinnor och män beräknades både gemensamt och separat för varje kön, Tabell 3. Variabiliteten inom individer är störst för kreatininclearance och urinflöde följd av kreatininutsöndring. Variabiliteten i dessa förnämnda måtten är större hos kvinnor än män.

Variationen (uttryckt som CV) inom individer i Cys C och Cys C-eGFR var 6% och i Scr och Scr-eGFR 3% medan CV för kreatininclearance var 15%. Cys C och Scr var signifikant korrelerade med varandra, med vikt och kreatininclearance. Cys C-eGFR korrelerade, utöver med Cys C, med ålder (negativt) och kreatininclearance (positivt). Resultaten antydde att Cys C-estimerad GFR var det minst dåliga estimerade måttet på GFR hos friska.

Tabell 3: Variabiliteten inom individer i de studerade måtten uttryckt som variationskoefficient (CV, SD/ medelvärde).

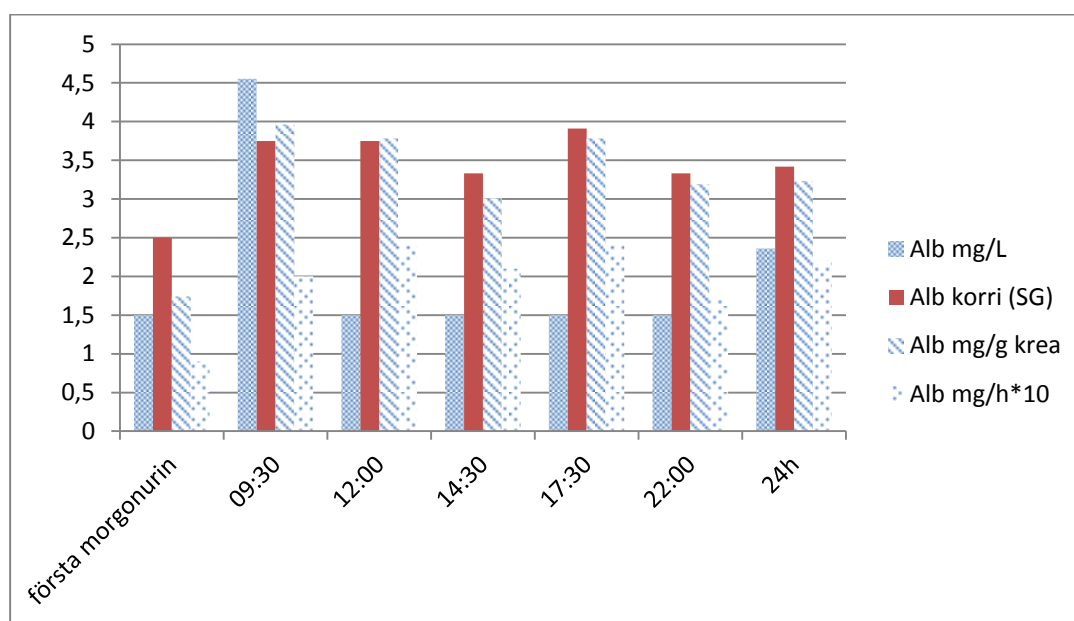
	Cys C	Scr	U -Cr (24h)	Urinflöde	Cys C-eGFR	CrCl	CG -eGFR	LM-eGFR
Kvinnor	0,05	0,03	0,11	0,18	0,06	0,19	0,03	0,02
Män	0,06	0,03	0,07	0,12	0,06	0,08	0,03	0,03
Totalt	0,06	0,03	0,09	0,15	0,06	0,15	0,03	0,03

Albumin i urin

Albumin är ett viktigt transportprotein i serum och binder även till de flesta läkemedel. Normalt utsöndras endast små mängder albumin i urin. Inom sjukvården används urin-albumin som en viktig markör för att diagnosticera njurskada vid diabetes mellitus eller hypertoni.

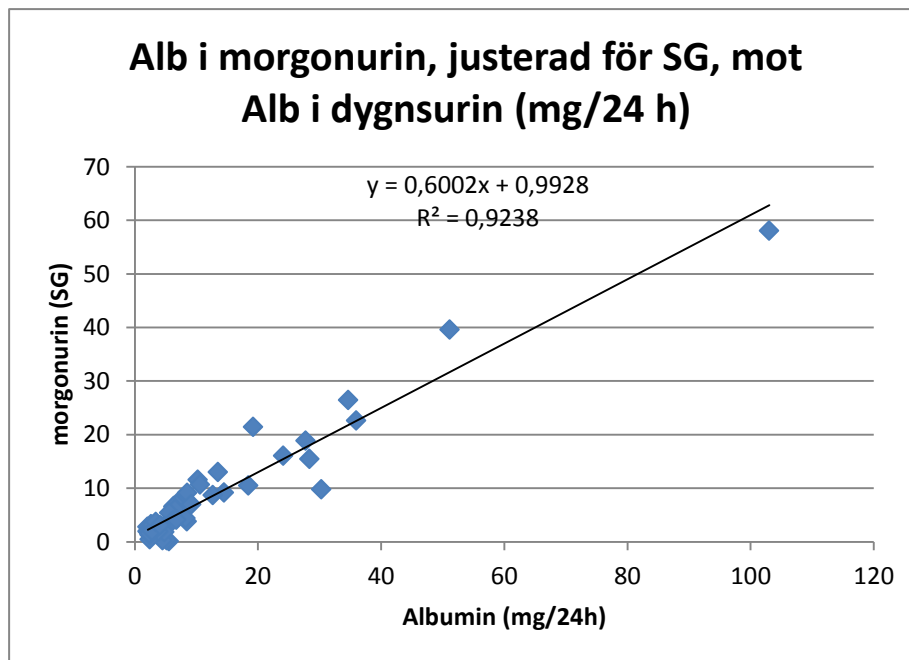
I studien inkluderades 60 friska, icke rökande personer, totalt 29 män och 31 kvinnor (7). Det fanns en dygnsvariation med högre utsöndring av albumin under dagen än under natten, Figur 3.

Figur 3. Medianvärde av dygnsvariation för utsöndringshastighet urin-albumin (mg/l och mg/h*10), urin-albumin korriberat med kreatinin (mg/g krea) samt specifik vikt (SG).



Efter exkludering av några individer med mikroalbuminuri (>30 mg albumin/24 tim), var inom-individ-variabiliteten (uttryckt som variationskoefficient, CV) cirka 30 % för dygnsurin och cirka 50 % för första morgonurin. Inga statistiskt signifikanta samband sågs mellan albuminutsöndring (mg/24h) och urinflöde, vikt eller kön. Tydliga och signifikanta samband sågs mellan albumin i morgonurin (t.ex. justerad för specifik vikt) och i dygnsurin (Figur 4).

Figur 4. Albuminutsöndring i morgonurin justerad för specifik vikt jämfört med albumin i dygnsurin (mg/24h), N=60.



Sammanfattning

Biomarkörer i form av biologiska prover från människa används ofta i utredningar och forskning om miljögifter för att belysa exponering och/eller effekter. För de flesta biomarkörer saknas dock information om den normala variationen under ett dygn eller dag- till dag-variationen inom individer samt variationen mellan individer. Tidpunkten för provtagning kan spela roll, speciellt för urinprover, där fysiologiska faktorer under dygnet kan påverka.

I detta projekt har en biobank skapats vid Arbets- och miljömedicin med upprepade urin och blodprover från 60 friska individer, samtliga icke-rökare, boende i Göteborgstrakten. Deltagarna rekryterades delvis från anställda eller studenter vid Göteborgs universitet eller Sahlgrenska sjukhuset och delvis av vänner till dessa. Biobanken innehåller mer än 25 000 enskilda prover från både män (n=29) och kvinnor (n=31). Medelåldern var 33 år (median 31 år, intervall 21-64 år). Prover insamlades under två perioder (2012-2013). Urinprover insamlades under två 24h perioder, med cirka en veckas mellanrum. Urinprov lämnades vid sex förutbestämda tidpunkter (första morgonurin, 9:30, 12:00, 14:30, 17:30 och 22:00). Insamlingstid och urinvolym för varje prov registrerades. Urin överfördes till plaströr (NUNC) och vissa av dessa förvarades i kyl och analyserades på kreatinin, densitet och albumin inom tre dagar. Alla övriga delprover (28 rör/person och tidpunkt) förvaras i lågtemperaturfrys (-80°C). Blodprover togs också vid två tillfällen med cirka en veckas mellanrum i samband med urinprovtagning. Helblod, serum, plasma och erythrocyter insamlades i olika provtagningsrör. Blodprover förvaras i lågtemperaturfrys (-80°C). Miljöföreningar i enskilda urinprov kan uttryckas som utsöndrad mängd per timme eller per 24h (utsöndringshastighet), eller halt korrigerad för kreatinin eller densitet.

I detta projekt har vi skapat en biobank specifikt inriktad på att kunna undersöka inom- och mellanindividvariation av biomarkörer i blod och urin när sådana frågeställningar uppkommer. Prover i biobanken är nu tillgänglig för andra forskare att studera variabilitet i forskningssamverkan.

Tack

Ett stort tack till Ghofran Jasem, Payam Jabbar Hasan och Shahed Human som i sina examensarbeten arbetat med insamling av biobanken. Ett stort tack även till Lisa Svedbom som arbetat med allt från inköp av rör och lågtemperaturfrys till kodning av prover och organisering av prover i biobanken. Naturvårdsverket tackas för bidrag till skapandet av denna biobank.

Referenser

1. Andersson L, Lundberg P-A, Barregard L. Methodological aspects on measurement of Clara cell protein in urine as a biomarker for airway toxicity, compared to serum levels. *J Appl Toxicol* 2007;27:60-66.
2. Andersson L, Haraldsson B, Johansson C, Barregard L. Urinary alpha 1-microglobulin as a marker of tubular function – methodological issues. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:1252-1256.
3. Symanski E, Sällsten G, Barregård L. variability in airborne and biological measures of exposure in the chloralkali industry: Implications for epidemiological studies. *Environ Health Perspect* 2000;108:569-73.
3. Barregard L, Moller P, Henriksen T et al. Human and methodological sources of variability in the measurement of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine. *Antioxid Redox Signal* 2013;18:2377-2391.
4. Akerstrom M, Barregard L, Lundh T, Sallsten G. Variability of urinary cadmium excretion in spot urine samples. First morning voids and 24 h urine in a healthy population, and its implications for study design. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2014;24:171-179.
5. Jasem G. Clara cell protein. Variabilitet av Clara cell protein (CC16) i serum och urin hos friska kvinnor. Master's thesis in Pharmacy. Sahlgrenska Academy. 2012-2013.
6. Hasan PJ. Variabilitet i Cystatin C. Intra- och interindividuell variation i cystatin C hos friska personer och jämförelse med andra mått på glomerulär filtration. Master's thesis in Pharmacy. Sahlgrenska Academy. 2012-2013.
7. Humam S. Urin-albumin. Inter- och intraindividuell variabilitet av urin-albumin hos friska personer. Master's thesis in Pharmacy. Sahlgrenska Academy. 2013-2014.

Bilaga 1

Biomarkörer i blod och urin - Information till forskningspersoner

Syfte med undersökningen

Arbets- och miljömedicin vid Göteborgs universitet bedriver ett forskningsprojekt där syftet är att ta reda på hur halter av olika ämnen i blod och urin varierar under dygnet.

Förfrågan om deltagande och hur undersökningen går till

Vi vänder oss till friska personer som inte regelbundet tar några mediciner (p-piller och kosttillskott är OK). För de som tackar ja till att delta innebär undersökningen att vi tar blodprov i armvecket vid två olika tillfällen (3 provrör om vardera 7 mL varje gång) med cirka en veckas mellanrum. Vidare får du lämna urinprov i speciella flaskor under två olika dygn (samma dygn som du lämnar blodprovet). Du lämnar under dygnet all urin vid sex fasta tidpunkter i plastflaskor som du får av oss.

Blod och urinprov delas upp i små portioner, som fryses in i en så kallad biobank. Proverna ska efterhand analyseras på ett antal olika ämnen som normalt finns i blod och/eller urin. Det rör sig om äggviteämnen, inflammationsmarkörer, miljöföreningar med mera. Vi har inte ännu bestämt alla de analyser som kan komma att göras på proverna, men inga genetiska (på arvsmassan) analyser kommer att göras. Du får också fylla i en enkät med några enkla frågor om kost, rökning, fysisk aktivitet under den senaste tiden samt vilket land du är född i. Du får ersättning för besväret med 1200 kr (600 per provtagningsdygn), dock endast om du fullföljer hela provtagningen. Ersättningen är beskattningsbar.

Vilka är riskerna? Nyttan?

Vissa kan svimma när man tar blodprov men det är sällsynt. Urinprov innebär ingen risk. Det är litet obekvämt att samla urin under två hela dygn, men vi väljer dagar som passar dig själv. Du har själv ingen direkt nytta av provsvaren men för samhället är kunskapen viktig om hur olika ämnen i blod och urin varierar. Inom forskning om t.ex. olika riskfaktorer eller miljöföreningar är det vanligt att man tar prov vid ett tillfälle utan man känner till hur halterna av ämnet normalt varierar.

Sekretess

Blod, urinprov och enkäter märks med en kod. Kodnyckeln förvaras inlåst hos ansvarig forskare. Personuppgiftsansvarig är Göteborgs universitet (Kristina Ullgren, Box 100, 405 30 Göteborg, tel 031-786 1092). Dina svar och resultat kommer att behandlas så att inte obehöriga kan ta del av dem. Om du vill kan du lämna ditt telefonnummer så att vi kan ringa dig om vi har ytterligare frågor. I rapporter om resultaten kan enskilda personer inte identifieras. Om du meddelar kontaktinformation och onormala halter påvisas av en biomarkör för vilken kunskap om referensvärden finns, meddelar vi dig och ger råd om eventuellt behov av ytterligare utredning.

Biobank

Det urin- och blodprov som tas i samband med den forskning du skall genomgå kommer att lagras i en biobank. Proverna kommer att förvaras kodade, vilket innebär att de inte direkt kan härledas till dig som person. Proverna liksom en tillhörande identifieringslista (kodnyckel) förvaras på ett säkert sätt och åtskilda. Du har full rätt att utan närmare förklaring begära att ditt prov förstörs eller avidentifieras (dvs. de kan inte spåras till dig som person). Biobankslagen (SFS 2002:297).

Frivilligt

Deltagandet är frivilligt. Även om du tackar ja till att delta i undersökningen kan du när som helst avbryta den utan att behöva ge några skäl till det.

Ansvariga

Om Du har några frågor om undersökningen eller om det skulle uppstå tveksamhet vid någon fråga, ring oss – vi svarar gärna på Dina frågor.

Lars Barregård
Professor
Arbets- och miljömedicin
Göteborgs universitet
Tfn 031-786 28 96
lars.barregard@amm.gu.se

Gerd Sällsten
Professor
Arbets- och miljömedicin
Göteborgs universitet
Tfn 031-786 28 97
gerd.sallsten@amm.gu.se

Bilaga 2

Rör, pytsning och nedfrysning av blod- och urinprover - Biobank 2012

Typ av provtagningsrör	Rörvolym	Produkt	Provvolyml/dag	Avhållningsrör	Typ av pipett	Nedfrysning	Rör till frys/dag
BD 368430 Serumrör, utan tillsats 	10mL	Serum	Ca 4mL serum	0,5mL PP	Acetonskölj Pasteurpipett	0,5mL serum/rör	8 rör
VACUETT E 454056 Litium Heparin 	4mL	Helblod	Ca 4mL helblod	2mL PP	Syra diskad 0,1-1mL	1mL helblod/rör	1 rör
				0,5mL PP		0,5mL helblod/rör	6 rör
BD 368886 Litium Heparin 	6mL	Heparinplasma	Ca 2mL H-plasma	0,5mL PP	Syra diskad 0,1-1mL	0,5mL H-plasma/rör	5 rör
		Erytrocyter	Ca 2mL Erytrocyter	0,5mL PP		Syra diskad 0,1-1mL	0,5mL Erytrocyter/rör
BD 367704 Coagulation Tube, 3,8% 	4,5mL	Citratplasma	Ca 2mL C-plasma	0,5mL PP	Lämna 0,5cm av plasman kvar i röret!	0,5mL C-plasma/rör	3 rör
Nalgene 215-1038 (VWR) HDPE, neutral färg, med PP-skruvlock	1000mL	Urin	6 st flaskor	2mL PP	Syra diskad 0,1-1mL 1st/dag	1,75mL urin/rör	180 rör
Totalt/dag/id					4st syra diskade 1st acetonskölj		208 rör

Bilaga 3

Biomarkörer i blod och urin – enkät Kod:

Namn Personnummer

Kön Födelseland

Längd Vikt Yrke

Rökvanor (sätt kryss och ange år och antal om du är eller har varit rökare)

Jag har aldrig rökt Jag började röka när jag var år och slutade när jag var år

Jag började röka när jag var år och röker fortfarande cig/dag

Mat och dryck

Jag äter fisk gånger per vecka

Jag äter kött gånger per vecka

Jag äter ris gånger per vecka

Jag dricker mest (ange dryck, t.ex. vatten, mjölk, kaffe, coca-cola, öl eller annat)

Jag är vegetarian eller vegan (stryk under)

Fysisk aktivitet

Jag motionerar regelbundet (minst 2 x 30 minuter per vecka)

Jag har ett fysiskt tungt arbete (sätt kryss) Ja Nej.....

Om det är OK att vi ringer och ställer kompletterande frågor – ge ett telefonnummer här:

Telefon:

Om du vill att vi ska skicka ett brev om ev onormalt resultatet av blod- och urinprov – ge din adress här:

Adress: