

Slutrapport for Ultrafine-projektet

Forår 2024

Et studie af helbredseffekterne ved udsættelse for ultrafine partikler fra madlavning og stearinlys



Karin Rosenkilde Laursen & Torben Sigsgaard, Institut for Folkesundhed, Aarhus Universitet
Marianne Glasius & Merete Bilde, Institut for Kemi, Aarhus Universitet
Steffen Loft & Peter Møller, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet



Indholdsfortegnelse

Forord

1. Status.....	4
1.1 Formål med Ultrafine-projektet.....	4
1.2 Rekruttering af forsøgsdeltagere.....	4
1.3 Opsætning af forsøget.....	5
1.4 Dataindsamling.....	6
1.4.1 Målinger i kammeret.....	6
1.4.2 Helbredsmålinger.....	6
2. Resultater.....	7
2.1 Partikler.....	8
2.2 Studiepopulation.....	9
2.3 Exit Poll.....	9
2.4 Helbredseffekter.....	11
2.4.1 Påvirkning af de øvre luftveje.....	11
2.4.2 Påvirkning af de nedre luftveje.....	11
2.4.3 Påvirkning af markører i blodet.....	12
2.4.2 Selvrapporterede symptomer.....	12
2.4.2 Opsummering af resultater.....	12
3. Formidling af Ultrafine-projektet.....	13
4. Afrunding.....	13

Forord

Tak til alle 36 søde og tålmodige forsøgsdeltagere, som har udholdt mange timer i eksponeringskamrene, for herefter at blive underlagt diverse helbredstests. Tak til det dygtige Klimakammerpersonale for altid at være klar på nye udfordringer samt sjove, men lange dage i Klimakamrene. Tak til vores samarbejdspartnere fra hhv. Institut for Kemi på Aarhus Universitet, Institut for Klinisk Medicin ved Aarhus Universitetshospital og Institut for Folkesundhed på Københavns Universitet. Slutteligt, vil vi sige mange tak til Realdania for at støtte Ultrafine-projektet. Uden denne støtte havde det ikke været muligt at gennemføre projektet, og vi ser frem til vores fremtidige samarbejde.

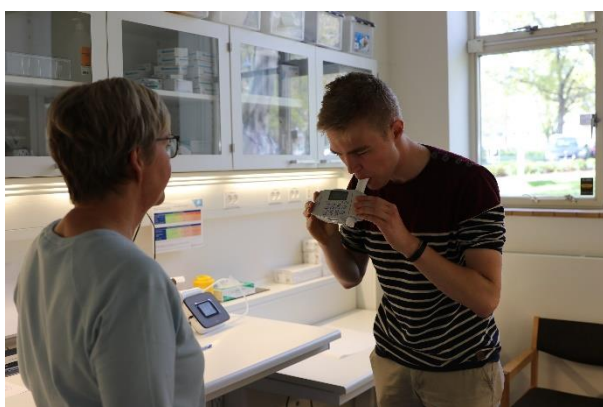
Da det er to år siden sidste statusrapport (Foråret 2022), har vi udarbejdet en opdateret status- og slutrapport med de nyeste og endelige resultater.



Forsøgsdeltagerne er flittige, mens de opholder sig i kammeret.



Peter og Ole styrer kamrene og holder øje med, at eksponeringen udvikler sig som planlagt.



Før, efter og 24 timer efter eksponeringen skal deltagerens helbred testes. Her testes en deltagers lungefunktion hos Kirsten.



Her tages en blodprøve, hvor en del af prøven køres direkte til Aarhus Universitetshospital. Resten af prøven sendes til Københavns Universitet til analyse.

1. Status

1.1 Formål med Ultrafine-projektet

Forekomsten af fine og ultrafine partikler har betydning for indemiljøet, og vi har en formodning om, at tilstedeværelsen af partikler fra levende stearinlys og madlavning kan påvirke følsomme personers helbred, herunder lungerne.

Med Ultrafine-projektet ønsker vi at skabe viden, der kan bidrage til et bedre indeklima med færre skadelige partikler, og deraf færre relaterede helbredseffekter blandt danske unge med astma. Projektets formål har været, at undersøge mulige akutte helbredseffekter af, at være udsat for partikler fra madlavning og levende stearinlys blandt unge astmatikere.

1.2 Rekruttering af forsøgsdeltagere

En styrkeberegning viste, at vi skulle bruge 36 personer for at kunne have et design, som ville være stærkt nok til at kunne påvise statistisk signifikante forskelle mellem ren luft og dårligt indeklima ift. afledte helbredseffekter. Målgruppen var unge med mild astma i alderen 15-25 år.

De unge astmatikere er rekrutteret gennem opslag på uddannelsesinstitutioner, i lokale aviser samt via sociale medier, herunder Facebook. Nedenstående billeder er eksempler på et Facebook-opslag, samt flyers der blev omdelt i kantiner på uddannelsesinstitutioner i Aarhus, som universitetet, gymnasier, VIA UC, VUC m.fl. Rekrutteringen fandt sted i foråret 2019, samt i sensommeren 2019. Rekrutteringen gik over al forventning og vi fik rigtig mange henvendelser. Flere interesserede blev dog sorteret fra, fordi de ikke opfyldte vores kriterier om mild astma, samt kravet om at kunne undvære fast astmamedicin i forsøgsperioden. Det lykkedes i sidste ende at nå de 36 deltagere – hvilket er første gang i klimakamrenes historie, at vi har opnået 100% deltagelse, samt haft så mange deltagere med i ét forsøg.



1.3 Opsætning af forsøget

De 36 deltagere blev fordelt i ni grupper med fire deltagere i hver gruppe. Vi kørte fire af grupperne i foråret 2019 (april-juni) og de restende fem grupper blev afviklet i efteråret 2019 (september-december).

Undersøgelsen er gennemført som et blindet og randomiseret (tilfældig tildelt) klimakammerforsøg, hvor forsøgspersonerne under kontrollerede forhold udsættes for forudbestemte niveauer af hhv. partikler fra stearinlys, hhv. stegeos, samt ren luft fordelt på tre forskellige forsøgsgange, hvorefter deres almene helbred undersøges ved diverse helbredsundersøgelser. Eksponeringerne blev genereret i vores lille klimakammer, og ved hjælp af en rørforbindelse og et lille undertryk, ledt over i det store eksponeringskammer, hvor deltagerne opholdte sig i grupper a fire personer (se billede nedenfor). Deltagerne opholdte sig i det store kammer i fem timer hver forsøgsgang. I løbet af de fem timer, skulle de besvare et spørgeskema hver 30. min, men ellers sad de primært og læste eller så film.

De tre scenarier fordelt på tre forsøgsgange er (i tilfældig rækkefølge):

- I. Eksponering for partikler og andre emissioner fra stearinlys
- II. Eksponering for partikler og andre emissioner fra madlavning
- III. Eksponering for ren luft



Billedeserie 1. Billederne viser forsøgsopsætningen i det lille kammer ved hhv. stegeos hhv. stearinlys. Billedet af forsøgsparticipanterne er taget i det store kammer.

På eksponeringsdage med stegeos havde vi i det lille eksponeringskammer placeret fire ovne, som på skift i en fast overlappende cyklus lavede stegt flæsk. Samlet blev der stegt seks plader flæsk på en eksponeringsdag for at kunne holde en konstant eksponering i al den tid deltagerne opholdte sig i kammeret. På dage med eksponering for partikler fra stearinlys, var fire stagelys og seks bloklys placeret som vist på billedet ovenfor. Der var let luftcirkulation i kammeret, så flammerne blafrede en smule. Ståltragten over lysene sugede luften ind i røret, som havde forbindelse til det store kammer. På dage med ren luft var der ingenting i det lille kammer.

1.4 Dataindsamling

1.4.1 Målinger i kammeret

Eksponeringerne i det store kammer blev styret og overvåget ud fra online målinger af partikelmasse (TSI Dusttrak) og partikelkoncentration (TSI P-Trak). Partikelmålinger af antal og størrelsesfordeling (partikelstørrelse område 2,4-660 nm) under eksponeringen blev foretaget med TSI SMPS udstyr. Der blev opsamlet partikler på filtre til gravimetrisk bestemmelse af PM (particulate matter) værdier. Med hjælp fra Institut for Kemi på Aarhus har vi ret præcist kunne belyse, hvilke partikler og hvor mange partikler, deltagerne har været udsat for.

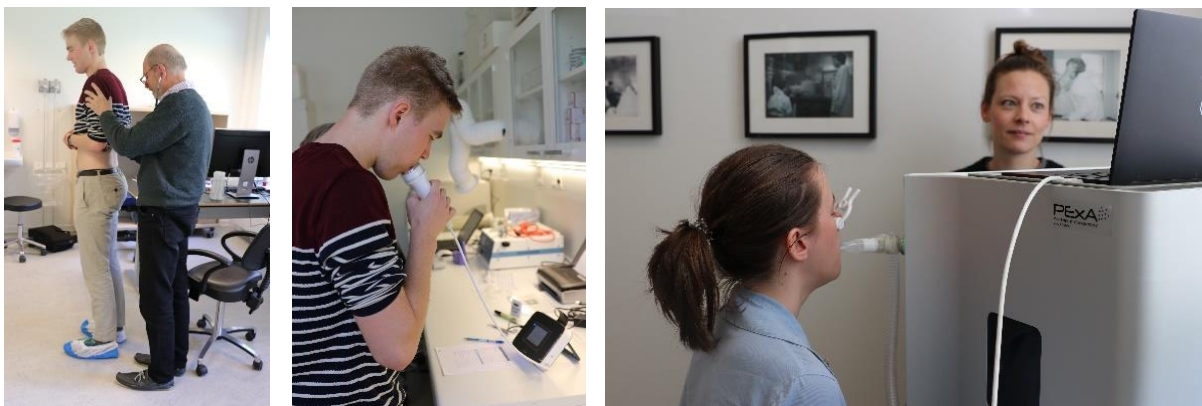
Vores samarbejdspartnere på Institut for Kemi har estimeret partiklernes antal og masse (vægt), og deres evne til at vokse ved høj fugtighed (som det er tilfældet i lungerne). Vi har desuden fået taget billeder af partiklerne (vha. Scanning Electron Microscopy (SEM)) hos iNano, Aarhus Universitet og vi har fået analyseret Polycykliske Aromatiske Hydrocarboner (PAH'er) hos Bo Strandberg fra Arbejds- og miljømedicinsk afdeling i Lund, Sverige. PAH'er har vist sig at have sundhedsskadelige egenskaber, bl.a. er nogle PAH'er kræftfremkaldende, så det er relevant at finde ud af om stegeos- eller stearinlysemissionerne indeholder disse, og i så fald, hvor høje koncentrationerne er.

1.4.2. Helbredsmålinger

På hver forsøgsdag startede deltagerne med et lægetjek for at sikre, at de var friske og oplagte til en dag i eksponeringskammeret. Før, lige efter eksponering og morgenen efter eksponering blev deltageres helbred testet ved en række undersøgelser, som er listet nedenfor. Under selve eksponeringerne i klimakamrene udfyldte deltagerne et symptomspørgeskema hver 30. minut samt ved start (0 min.) og slut (5 timer). Herved fik vi information om deres symptomer og velbefindende set fra deres eget perspektiv undervejs i forsøget. Ved at sammenligne forsøgsdeltageres helbredsmålinger fra dagene med ren luft med helbredsmålingerne fra eksponeringsdagene med partikler, har vi kunne undersøge om og i hvor høj grad, deltageres helbred påvirkes.

Deltagerne skulle igennem følgende helbredsundersøgelser før, efter og 24 timer efter eksponering:

- Næseskyl med saltvand
- Måling af næsevolumen ved akustisk rhinometri
- Måling af lungefunktion med elektronisk spirometer (FEV₁ og FVC)
- Måling af Nitrogen Oxid (NO) i udåndingsluften (FeNO)
- Måling af partikler (Surfaktant Protein-A (SP-A) og albumin) i udåndingsluften (PExA)
- Blodprøve.



Billedeserie 2. Billederne viser i nævnte rækkefølge: 1) Lægetjek om morgenen på forsøgsdagen 2) Måling af NO i udåndingsluften og 3) Måling af partikler (SP-A og albumin) i udåndingsluften

Ved flere af prøverne er der afgivet væsker, partikler og lignende – dette gælder for blodprøver samt partikler i udåndingsluften. Disse prøver er analyseret hos os eller hos vores samarbejdspartnere.

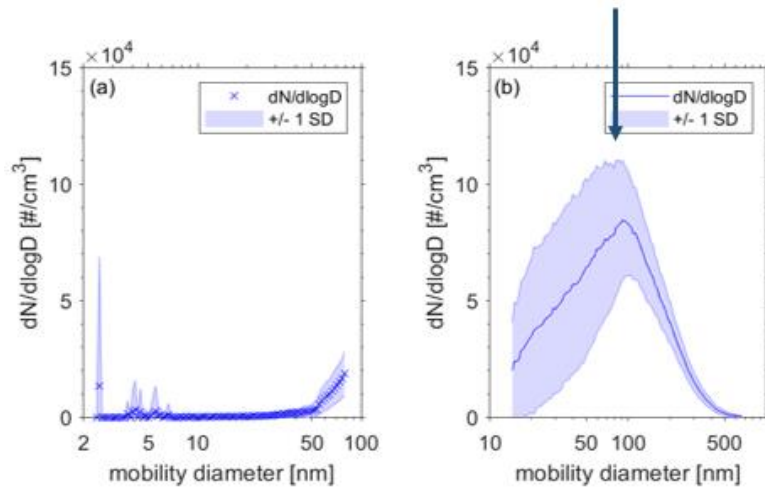
Alle på projektet – med undtagelse af Peter Ravn (kammerherre) og Vibeke H. Gutzke (projektkoordinator) var blindet for hvilke eksponeringer, deltagerne har været udsat for på de givne forsøgsdage, indtil alle basale statistiske analyser var foretaget.

2. Resultater

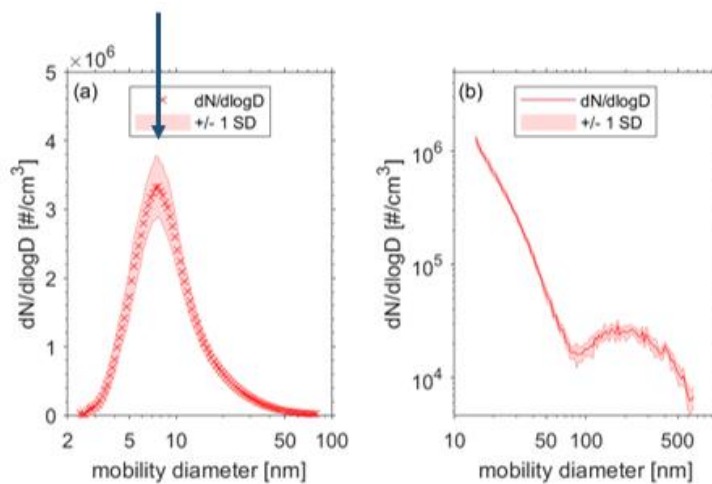
2.1 Partikler

Nedenfor ses størrelsesfordelingen af partikler for hhv. stegeos (Figur 1) og stearinlys (Figur 2). Partiklerne er målt i det store kammer, hvor deltagerne opholdte sig. Graferne viser, at deltagerne under stegeos forsøget har været eksponeret for færre, men større partikler sammenlignet med eksponeringen under stearinlysforsøget. X-aksen viser partiklernes størrelse i nanometer (nm), mens y-aksen viser det normaliserede antal af partikler. For

partikler dannet ved stegeos fandtes der flest partikler med størrelse omkring 80 nm. For partikler dannet ved tændte stearinlys forekom der flest partikler omkring 7,5 nm. For begge eksponeringer var der således mange ultrafine partikler (partikler < 100 nm). Ultrafine partikler har – pga. deres lille størrelse – mulighed for at trænge ned i de allermindste luftveje og herfra trænge videre over i blodbanen, hvorfra de kan nå organer såsom hjerte og hjerne.



Figur 1. Normaliseret størrelsesfordeling af partiklerne dannet ved stegeos. Pilen indikerer, hvor der er flest partikler fordelt på størrelse (ca. 80 nm).



Figur 2. Normaliseret størrelsesfordeling af partiklerne dannet ved stearinlys. Pilen indikerer, hvor der forekommer flest partikler fordelt på størrelse (ca. 7.5 nm).

Analyserne af PAH'er under de tre eksponeringer viste at både stegeos og stearinlys udleder PAH'er. Vi fandt flest PAH'er ved eksponering for stearinlys sammenlignet med stegeos (og færrest PAH'er ved ren luft).

2.2 Studiepopulation

36 unge med mild astma i alderen 18-25 deltog i Ultrafine-projektet. I Tabel 1 kan man se udvalgte karakteristika om deltagerne.

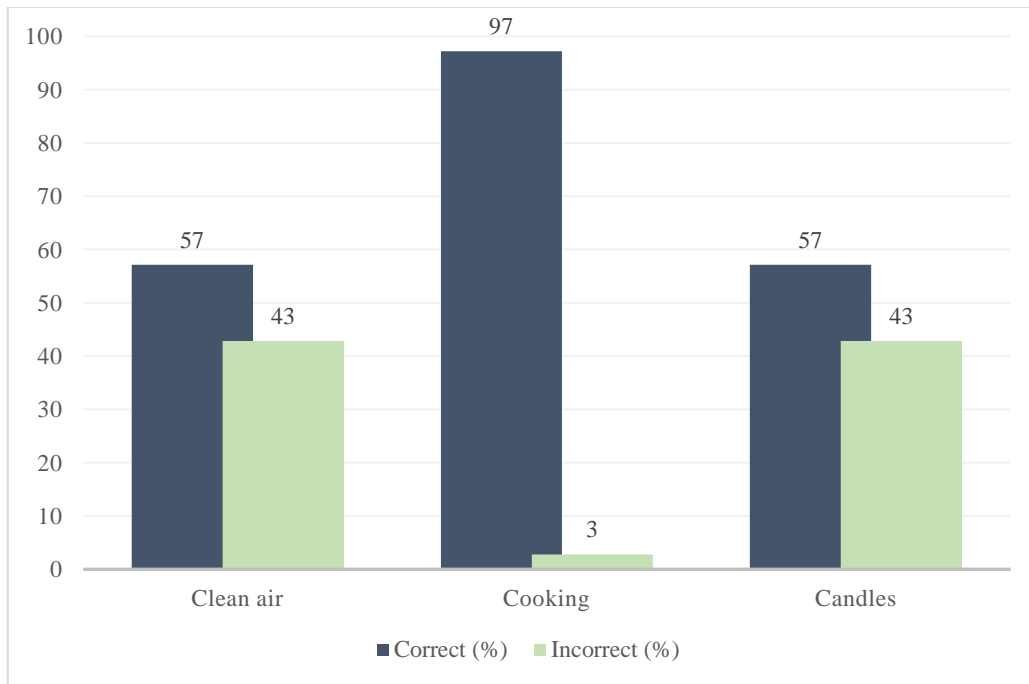
Karakteristika	Mål
Deltagere, <i>N</i> (%)	36 (100.0)
Kvinder, <i>n</i> (%)	20 (55.6)
Mænd, <i>n</i> (%)	16 (44.4)
Ikke-rygere, <i>n</i> (%)	36 (100.0)
Alder (år), <i>middel (min-max)</i>	22.3 (18-25)
Højde (cm), <i>middel (sd)</i>	174.1 (7.2)
Vægt (kg), <i>middel (sd)</i>	70.2 (10.0)

Som det ses af ovenstående tabel havde vi ingen deltagere under 18 år med i forsøget, selvom alderskriteriet på forhånd var sat ned til 15 år. Vi tror, det skyldtes problemer med registrering af fravær på ungdomsuddannelser, samt logistiske problemer, da deres forældre skulle deltage i et informationsmøde og underskrive informeret samtykke. Det lykkedes at have enkelte gymnasie studerende med i forsøget, men alle var fyldt 18 år.

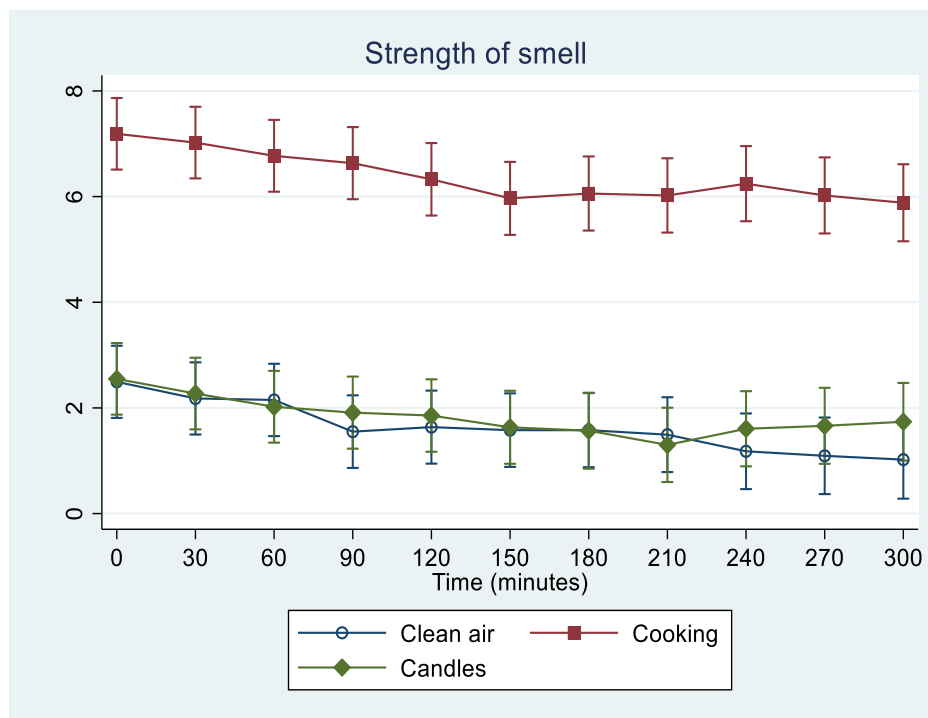
2.3 Exit Poll

Efter deltagernes tredje og dermed sidste forsøgsgang blev de bedt om at udfylde en såkaldt "Exit Poll", hvor de skulle angive, hvornår de troede, de havde været udsat for hvilken eksponering. Denne Exit Poll har givet os et billede af, om vi har kunne blinde deltagerne for eksponeringerne.

På eksponeringsdage med stegeos kunne 35 ud af 36 deltagere (~97%) identificere eksponeringen (Figur 3). Vi var således ikke i stand til at blinde deltagerne for eksponeringen med stegeos. Deltagerne kunne derimod ikke identificere, om de havde været udsat for hhv. stearinlys eller ren luft og således er det lykkedes os at blinde deltagerne for de to eksponeringer. Resultaterne af Exit Poll'en kommer ikke bag på os, da der på dage med stegeos lugtede af stegt flæsk i hele bygningen. Den kraftige luft fremgår også af deltagernes oplevede lugtstyrke jf. Figur 4.



Figur 3. Andelen af deltagere (n=36) der har gættet hhv. rigtigt og forkert på de tre eksponeringer.



Figur 4. Deltagernes oplevede lugtstyrke undervejs for de tre eksponeringer (0 minutter til 300 minutter (5 timer)). Lugtstyrken er angivet på en skala fra 0-10, hvor 10 er værst. Den røde graf er stegeos, mens den grønne angiver stearinlys. Den blå graf er ren luft.

2.4 Helbredseffekter

2.4.1 Påvirkning af de øvre luftveje

Partiklernes påvirkning af deltagernes øvre luftveje, herunder næsen og den øverste del af lungerne er undersøgt ved at måle næsevolumen, lungefunktion (bl.a. FEV₁) og inflammation i lungerne (FeNO). For alle analyser gælder det at stegeos og stearinlys er sammenlignet med ren luft – ren luft er således referencepunktet i analyserne. Ved statistisk signifikante resultater stoler vi på, at resultaterne ikke skyldes tilfældigheder.

Næsevolumen: Næsevolumen indikerer næsens åbenhed. Ved irritation og inflammation vil næsens slimhinder hæve og næsevolumen vil blive mindre. Blandt mændene så vi et signifikant fald i næsevolumen efter eksponering for stegeos. Dette fald skyldes formentlig, at nogle af de større partikler er blevet fanget i næsen og har forårsaget irritation. Det er svært at udtale sig om, hvorfor det kun er mændenes næser, som blev påvirket signifikant af stegeosen – det kan skyldes forskelle i anatomi, immunforsvar, følsomhed eller blot tilfældigheder.

NO i udåndingsluften (FeNO): For FeNO, som måler graden af inflammation i lungerne, forventede vi stigende NO-værdier som udtryk for en øget grad af inflammation efter eksponering for partikler. Vi så dog ikke nogen forskel på de tre eksponeringer med undtagelse af analyserne opdelt på hhv. mænd og kvinder. Her faldt NO-koncentrationen i luftvejene særligt blandt mænd efter udsættelse for stearinlys. En mulig forklaring er, at stearinlys udleder høje niveauer af NO₂, hvilket kan nedregulere NO-produktionen i lungerne. Konsekvensen af denne nedregulering er usikker.

Lungefunktion: Hvad angår lungefunktion, hvor FEV₁ fortæller, hvor mange liter luft, man kan puste ud i det første sekund, forventede vi et fald som følge af en eksponering for partikler. Her så vi dog ingen forskel på de tre eksponeringer. Forklaringen på dette kan være, at der skal højere eksponeringsniveauer til for at påvirke unge – næsten raske – mennesker.

2.4.2 Påvirkning af de nedre luftveje

Ved at måle og analysere partikler i udåndingsluften (PExA), herunder SP-A og albumin har vi fået et indtryk af de to emissioners påvirkning af de allernederste luftveje, også kaldet alveolerne. Det er i alveolerne iltudvekslingen med blodet foregår og det er således væsentligt om partikler og øvrige irritanter når herved og kan gøre skade på bl.a. immunforsvaret og det osmotiske tryk.

Efter eksponering for både stegeos og stearinlys steg deltagernes koncentration af albumin i de små luftveje. Dette kan være et tegn på inflammation, da det tidligere er set at albumin siver fra blodbanen og ind i lungerne grundet beskadigelse af (inflammation i) cellerne der udgør barrieren mellem luftveje og blodbane.

Udviklingen i SP-A, som er en vigtig del af både regulering af overfladespændingen i alveolerne, men også immunforsvaret, var sværere for os at tolke. Sammenlignet med normale døgnniveauer af SP-A blandt raske mennesker, så vi et fald i SP-A efter stegeos og efter ren luft, hvilket muligvis skal forklares af to forskellige mekanismer, hhv. et fald som konsekvens af øget forbrug hhv. et fald som konsekvens af øget vejrtrækning grundet den

meget rene luft. PExA-metoden er stadig så ny, at der skal yderligere forskning til at støtte op om vores fund. Vi observerede ingen forskelle efter eksponering for stearinlys.

2.4.3 Påvirkning af markører i blodet

Flere af inflammationsmarkørerne i blodet var ikke påvirkede efter eksponering for hhv. stegeos hhv. stearinlys. Nogle af markørerne faldt i koncentration, mens andre steg, hvilket kan skyldes at emissionerne kun går ind og påvirker nogle markører og således ikke sætter gang i hele immunsystemet, fordi der kun er tale om mild inflammation.

Efter eksponering for stegeos fandt vi en signifikant øget forekomst af skader på DNA. DNA-skader bliver relativt hurtigt repareret. Næsten når der er mange skader der skal repareres, stiger risikoen for en fejlaflæsning i processen, hvilket kan føre til mutationer, som på sigt kan give anledning til en øget forekomst af kræftceller. Vi er i den forbindelse ved at få analyseret PAH'er i emissionerne fra stegeos og stearinlys, da disse netop er kendt for at være kræftfremkaldende, og derfor kan være en mulig årsag til de observerede DNA-skader.

2.4.4 Selvrapporterede symptomer

Flere af deltagerne rapporterede flere og signifikant mere alvorlige symptomer såsom øjne, der løb i vand og tilstoppet næse, mens de var udsat for emissioner fra stearinlys sammenlignet med ren luft. Deltagerne oplevede signifikant mere alvorlige symptomer inklusiv øjenirritation (tørre øjne, våde øjne), løbende næse og tilstoppet næse, hovedpine, kvalme og generelt ubehag under udsættelse for stegeos sammenlignet med ren luft. Der var generelt en tendens til at kvinderne rapporterede mere alvorlige symptomer for alle parametre sammenlignet med mændene.

2.4.5 Opsummering af resultater

Analyserne fra Ultrafine-studiet viser at stegeos fører til mindsket næsevolumen – i særdeleshed blandt mænd – samt øget albumin i de dybeste luftveje. Nogle inflammationsmarkører i blodet steg, mens andre ikke var påvirkede. Der sås en øget forekomst af DNA-skader i blodet og deltagerne rapporterede flere og mere alvorlige symptomer under eksponering for stegeos sammenlignet med eksponering for ren luft. Stearinlys førte til en nedregulering af NO-koncentrationerne i luftvejene blandt mænd, øget albumin i de nederste luftveje samt enkelte påvirkede inflammationsmarkører i blodet sammenlignet med ren luft. Deltagerne rapporterede flere symptomer såsom øjen- og næseirritation under eksponering for stearinlys sammenlignet med under eksponeringen for ren luft.

Alt i alt tyder undersøgelsen på, at stegeos og stearinlys fører til mild inflammation i luftveje og blod blandt unge astmatikere.

3. Formidling af Ultrafine-projektet

Officiel formidling af projektet er sket i følgende sammenhænge:

- Poster til NorDoc PhD-Summit, Stockholm Universitet, August 2017
- Flash Talk PhD-Day, Aarhus Universitet, Januar 2019
- Artikel i Realdanias nyhedsbrev 2019/06
- Artikel i Lungenyt Nr. 4, November 2019
- Mundtligt oplæg ved DANVAK-dagen 1. September 2020
- Artikel i HVAC-magasinet, oktober 2020
- Mundtligt oplæg ved det årlige Ramazzini-seminar, November 2020
- 3MT (Three Minute Thesis Competition), Aarhus Universitet, Marts 2021
- Artikel udgivet i det internationale tidsskrift ”Indoor Air” Juli 2021 (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ina.12902>)
- Indslag i DR 21-nyhederne, Juli 2021.
- Mundtligt oplæg til partikel-seminar, Dansk Selskab for Toksikologi, November 2021
- Radioindslag i P4 Østjylland, 4. December 2021
- Karin PhD-forsvar, 10. December 2021.
- Indoor Air (international konference), Kuopio, Finland, 12.-16. juni 2022
- Sundhedsstyrelsens Rådgivende Videnskabelige Udvalg for Miljø og Sundhed, 7. September 2022. Temamøde om støv og partikler.
- Artikel udgivet i det internationale tidsskrift ” Particle and Fibre Toxicology” Juli 2023 (<https://doi.org/10.1186/s12989-023-00537-7>).
- AU presse vedr. artikeludgivelse: (<https://via.ritzau.dk/pressemeddelelse/13717448/taendte-stearinlys-og-os-fra-madlavning-er-skadeligt-ved-selv-mild-astma?publisherId=12670528&lang=da>)
- Oplæg til Indeklimaets temadag, Teknologisk Institut, Tåstrup, d. 5. december 2023.
- BBC Science - tema om indeklima på deres hjemmeside, November 2023 (<https://www.sciencefocus.com/science/indoor-air-pollution>).
- Artikel i Astma Allergi – medlemsblad. December 2023-Januar 2024.
- Samt i flere lokale, nationale og internationale medier.

4. Afrunding

Karin har afleveret og forsvaret sin PhD som planlagt i december 2021. De to artikler relateret til forsøget er publiceret i anerkendte internationale tidsskrifter og vores resultater er formidlet vidt og bredt jf. afsnit 3.

Ultrafine-studiet har påvist at fem timers udsættelse for stearinlys og stegeos fører til mild inflammation i luftveje og blod blandt unge astmatikere. Ved gentagen udsættelse for disse eksponeringer er det vores hypotese, at denne inflammation forværres, og derfor kan medføre mere alvorlige effekter i denne følsomme gruppe. Man kan således overveje om der bør fremstilles opdaterede guidelines, som hjælper befolkningen til den mest hensigtsmæssige adfærd i forhold til brugen af stearinlys og ved madlavning inden døre.

Så vidt vi ved, er der kun lavet få lignende eksponeringsforsøg med stearinlys og stegeos – og alle tidligere studier er foretaget blandt raske voksne. Således bidrager indeværende studie med ny viden om helbredseffekterne af indendørs luftforurening. Ligeledes bidrager studiet med viden om sekundær forebyggelse af astma.

Ved at uddybe vores forståelse af de skadelige effekter af stearinlys og stegeos på vores helbred, kan vi modificere og reducere eksponeringerne, hvilket kan være medvirkende til at reducere sygelighed og dødelighed relateret til dårligt indeklima.

Aarhus d. 22. marts 2024



Torben Sigsgaard