
miljø og sundhed

Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter

Supplement nr. 2, maj 2003

Helbredseffekter af luftforurening

Temanummer om

partikulær luftforurening i udemiljø

partikulær luftforurening i indemiljø

Indhold

Forord	3
Partikulær luftforurening	7
Sundhedsmæssige effekter af partikulær luftforurening	13
Individuel udsættelse for luftforurening i København	20
Arbejde i svinestalde: Lungernes immunologiske reaktion ved udsættelse for organisk støv	27
Projekt DAMOS: Slimhindeeffekter efter eksperimentel udsættelse for støv tilsat glucan eller aldehyd	30
Center for Miljø og Luftveje – phthalater og allergi	33
Farevurdering af phthalater mht. adjuvant effekt – resultater fra in vitro forsøg	37
Miljøadjuvansers betydning for udvikling af luftvejsallergi	40
Eksposering for phthalater	46

Miljø og sundhed

Bladet henvender sig primært til forskere, beslutningstagere og administratorer, der beskæftiger sig med miljø og sundhed.

Udgives af:

Indenrigs- og Sundhedsministeriets
Miljømedicinske Forskningscenter

Redaktion:

Finn Gyntelberg (ansv.)
Lis Keiding
Hilde Balling

9. årgang, supplement nr. 2, maj 2003.

ISSN, trykt udgave 1395-5241
ISSN, elektronisk udgave 1601-4146

URL: <http://www.ismf.dk/blad/msS02.pdf>

Partikulær luftforurening

Partikler fra forbrændingsprocesser, herunder partikler fra trafikken, er blandt de miljøproblemer, der berører mange mennesker. Som det fremgår af dette temanummer, kan der være tale om alvorlige effekter på mennesker, og den viden, der fremlægges, er vigtig som en del af baggrunden for aktuelt diskuterede planer om forebyggende indsatser.

Plastblødgørere i form af phthalater viser sig at være vidt forekommende, når forskellige indemiljøer undersøges og en stor del af eksponeringen af mennesker synes at ske via inhalation af partikler, i form af støv, som phthalater adhærer til. Forskellige væsentlige skadelige effekter på sundheden undersøges i øjeblikket nærmere. Artiklerne i dette temanummer bidrager til grundlaget for igangværende og kommende indsatser over for phthalater i vores daglige omgivelser.

Center for Miljø og Luftveje har været rammen om de her beskrevne forskningsprojekter. Dette er et eksempel på et forsknings samarbejde, som er blevet faciliteret via det netværk, som Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter udgør.

Det er redaktionens håb, at dette temanummer om helbredseffekter af forskellige typer luftforurening vil blive anvendt både som grundlag for indsatser og som inspiration til yderligere forskning for at kunne gøre forebyggelsen så effektiv som muligt.

Redaktionen

Forord

Center for Miljø og Luftveje (CML) blev etableret i 1998 under Det Strategiske Miljøforskningsprogramms delprogram om miljø- og sundhedsfarlige stoffer med en bevilling på 19 mio. kr. Centret blev organiseret som et såkaldt ”murstensløst center” med deltagelse af 10 forskningsinstitutioner og en rådgivende ingeniørvirksomhed under ledelse af forskningsdirektør Otto Melchior Poulsen fra Arbejdsmiljøinstituttet.

Målet for forskningen i CML var at udvikle metoder og modeller, der kan bidrage til en forbedret risikovurdering af luftbårne kemiske stoffer og mikroorganismer eller biologisk aktive stoffer fra mikroorganismer i relation til luftvejslidelser. Fokus har især været rettet mod trafikgenererede partikler i udeluft, biologisk aktive stoffer fra mikroorganismer i indeluft samt betydningen af blødgørere for udvikling af luftvejsallergi.

I forbindelse med afslutningen af forskningsprogrammet afholdt CML den 5. december 2002 en workshop i København med deltagelse af CMLs styregruppe, projektlederne i CML og inviterede udenlandske forskere. Dette forum drøftede resultater fra programmet, fremtidige udfordringer og muligheder for internationalt samarbejde på området.

Dagen efter afholdt ISMF i samarbejde med CML en temadag på Panum Institutet i København med deltagelse af forskere og administratorer, der beskæftiger sig med miljø og sundhed. Emnet for temadagen var ”Risikovurdering af partikulære forureninger i ude- og indeluft” med indlæg fra deltagerne i workshoppen - danske såvel som udenlandske.

Som opfølgning herpå foreligger nu dette temanummer om partikulær luftforurening i inde- og udemiljø.

Planlægningen af temadag og temanummer er varetaget af en arbejdsgruppe, nedsat af ISMF, med følgende sammensætning:

Seniorforsker Ole Hertel, Danmarks Miljøundersøgelser,
Seniorforsker Finn Palmgren Jensen, Danmarks Miljøundersøgelser,
Professor Steffen Loft, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet,
Centerleder, forskningsdirektør Otto Melchior Poulsen, Arbejdsmiljøinstituttet,
Programleder Ole Raaschou-Nielsen, Inst. for Epidemiologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse,
Forskningskonsulent Thomas Schneider, Arbejdsmiljøinstituttet,
Hilde Balling, faglig sekretær for ISMF og
Anette Bindslev, sekretær for ISMF

Temanummeret er inddelt i 2 hovedafsnit, der omhandler partikulær luftforurening i henholdsvis udemiljø og indemiljø.

Til afsnittet om udemiljø har Ole Hertel m.fl. skrevet en statusartikel om partikulær luftforurening – partiklers egenskaber, hvordan de måles, lovgivningen på området, niveauet for partikler i Danmark og modeller for trafikforurening.

Steffen Loft m.fl. har skrevet en statusartikel om sundhedsmæssige effekter af partikulær luftforurening - akutte og kroniske effekter, forskelle i helbredseffekter betinget af forskelle i egenskaber hos partikler i forskellige størrelsesfraktioner og kvantitativ vurdering af sammenhæng mellem størrelsesfraktioner af partikler og helbredsudfald. Endvidere skriver Steffen Loft m.fl. om et projekt, udført under Center for Miljø og Luftveje, der belyser personlig individuel eksponering for luftforurening, herunder eksponering for fine partikler, i København.

Afsnittet om indemiljø omfatter 6 artikler om mikroorganismer og blødgørere og tensider - de 2 andre hovedområder i CML.

Hans Jürgen Hoffmann og Martin Iversen beskriver en undersøgelse af lungernes immunologiske reaktion ved udsættelse for organisk støv under arbejde i svinestalde og Lars Mølhøve m.fl. skriver om projektet DAMOS: Slimhindeeffekter efter eksperimentel udsættelse for støv tilsat glucan eller aldehyd.

De øvrige 4 artikler omhandler CMLs forskning vedrørende den mulige sammenhæng mellem udsættelse for phthalater og udvikling af allergi.

Otto Melchior m.fl. giver en oversigt over baggrund og de problemstillinger, som forskningen har belyst - fareidentifikation, eksponeringsvurdering og risikovurdering. Karen Frydendahl Jepsen m.fl. skriver om farevurdering af phthalater m.h.t. adjuvant effekt, herunder om udvikling af immuntoksikologiske modeller. Gunnar Damgård Nielsen m.fl. om miljøadjuvansers betydning for udvikling af luftvejsallergi – herunder om udvikling af en screeningsmodel for adjuvant effekt med henblik på farevurdering og udvikling af en inhalationsmodel til risikovurdering af adjuvant effekt. Endelig har Per Axel Clausen m.fl. skrevet en artikel om eksponering for phthalater – data fra Produktregisteret, emissioner fra byggematerialer, phthalater i støv og eksponeringsmodeller.

Temanummeret giver således en bred indsigt i den nuværende viden om partikulær luftforurening – en status, som er resultatet af bidrag fra mange forskere i ISMFs medlemsinstitutioner og i Center for Miljø og Luftveje.

Arbejdsgruppen takker alle for et frugtbart samarbejde og håber, at mange vil have fornøjelse af at læse resultatet af dette samarbejde.

København, maj 2003.

Arbejdsgruppen

Helbredseffekter af partikulær luftforurening i udemiljø

Partikulær luftforurening

Sundhedsmæssige effekter af
partikulær luftforurening

Individuel udsættelse for
luftforurening i København

Partikulær luftforurening

Af Ole Hertel, Finn Palmgren, Steen Solvang Jensen, Peter Wåhlin og Martin Hvidberg,
Danmarks Miljøundersøgelser

Baggrund

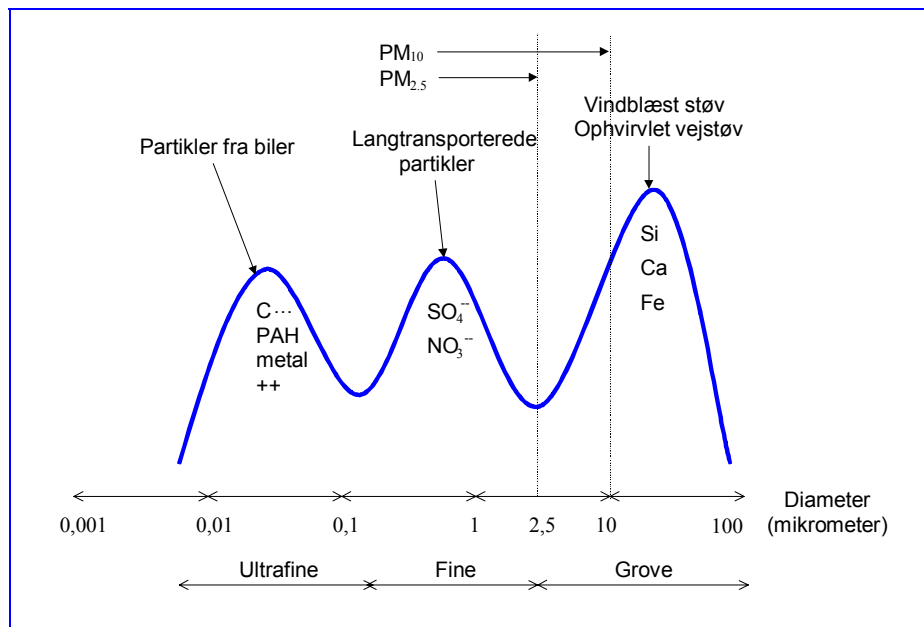
En stor del af de partikler som befolkningen udsættes for stammer fra trafikken i gaderne i byområderne, hvor folk færdes. En række undersøgelser peger på, at det er de meget små partikler, som er de mest sundhedsskadelige. Endvidere menes en række egenskaber ved partiklerne at have betydning for deres skadevirkninger; det gælder f.eks. kemisk sammensætning, overfladeegenskaber, form, om der er tale om væskedråber eller faste partikler etc.

Partiklernes egenskaber

Størrelsesfordelingen af partiklerne er helt afgørende for deres skadevirkninger, og luften i vore omgivelser indeholder en meget kompleks blanding af partikler med forskellig størrelse og kemisk sammensætning (Palmgren et al., 2001). Typisk optræder partiklerne således

i tre relativt klart adskilte størrelsesfraktioner, som almindeligvis betegnes hhv. ultrafine (0,01-0,1 μm eller 10–100 nm), fine (0,1-2,5 μm) og grove (>2,5 μm) partikler (figur 1).

I befærdede gader stammer en meget stor del af partikelforureningen fra trafikken. Den direkte emission fra bilernes udstødning består af partikler, som dannes dels i motoren under forbrændingen ved høje temperaturer og dels i luften i og umiddelbart efter udstødningsrøret. Partikelemissionen afhænger primært af mængden af trafik, dens fordeling på bilernes type og alder samt køremønstret. Denne emission bidrager til den ultrafine størrelsesfraktion af partikler i gaden. Trafikken bidrager imidlertid også med mekanisk dannede partikler i form af slid på dæk og vejbelægning samt ophvirvlet vejstøv. Disse mekanisk dannede partikler findes især i den grove størrelsesfraktion.



Figur 1. Skematisk illustration af de tre størrelsesfraktioner ultrafine, fine og grove partikler. Begreberne $\text{PM}_{2,5}$ og PM_{10} er forklaret i teksten.

I den fine størrelsesfraktion finder man hovedparten af den partikulært bundne ammonium og sulfat og endvidere en stor del af den partikelbundne nitrat. Sulfat stammer fra oxidation af svovldioxid i atmosfæren og nitrat tilsvarende fra oxidation af kvælstofoxider. Ammoniumpartikler dannes når ammoniak reagerer med salpetersyre eller sure partikler i atmosfæren. En stor del af partiklerne i den fine fraktion er derfor såkaldt sekundære partikler, dannet ud fra menneskeskabte emissioner af luftforurenende gasser. Partiklerne i den fine fraktion er et resultat af de kemiske omdannelser, koagulation af partikler samt kondensation af gasser og vanddamp på overfladen af partikler. Disse partikler fjernes stort set kun ved våddeposition efter optag i sky og regndråber. Hvis en luftpakke ikke møder et nedbørsområde, kan partiklerne i den fine størrelsesfraktion have en levetid på over en uge og transporteres fra det sydlige Europa og helt op til Danmark. Den fine fraktion er derfor helt overvejende langtransporteret.

I den grove fraktion finder man bl.a. partikler fra havsprøjt og ophvirvlet støv (bl.a. det allerede nævnte vejstøv), som har en relativt stor masse og derfor afsættes bl.a. ved gravitation. Afsætningen af grove partikler fra atmosfæren til jordoverfladen foregår derfor betydeligt hurtigere end for de fine og ultrafine partikler, og opholdstiden i atmosfæren er derfor også væsentligt mindre. Også pollen kan bidrage til denne fraktion af partikler.

Målinger af partikler

Måleteknisk opererer man i luftkvalitetssammenhæng med flere forskellige partikeldefinitioner. Indtil for få år siden var målinger af partikler centreret om luftens indhold af svævestøv (TSP – Total Suspended Particulate Matter) og sod (sod findes især i den ultrafine, men også den i fine fraktion). TSP omfatter typisk partikler op til en diameter omkring 30 μm , men afhængig af vindhastigheden kan den øvre afskæring variere fra ca. 10 til 50 μm ved de anvendte målemetoder. Mængden af partikulært materiale bestemmes ved vejning af et

filter, som partiklerne er opsamlet på. Sod omfatter farvede (sorte) partikler, som primært dannes ved forbrænding af olieprodukter. Sod bestemmes ved den relative sværtningsgrad i forhold til et hvidt filter.

I de senere år har der været fokus på de mindre partikler i atmosfæren. Måling af PM_{10} er i den forbindelse blevet mere almindelig. Det har den fordel frem for TSP, at varierende afskæringdiameter undgås ved at afskære de største partikler ($>10 \mu\text{m}$) på en veldefineret måde inden opsamlingen. Desuden anses de store partikler for at være mindre sundhedsskadelige. I et vist omfang er man ligeledes begyndt at måle $\text{PM}_{2,5}$, da disse partikler anses for at have endnu større sundhedsmæssig betydning, og denne fraktion omfatter de ultrafine og fine partikler (se figur 1).

Massen af partikler (TSP, PM_{10} og $\text{PM}_{2,5}$) kan bestemmes på forskellige måder. EUs referencemetode er baseret på vægtforøgelsen af et filter efter opsamling af partikler ved gennemsugning af forurenede luft (gravimetrisk bestemmelse). Metoden kræver manuelt laboratoriearbejde og den giver ikke aktuelle data, som bl.a. er nødvendig for løbende at kunne informere befolkningen, som EU direktiverne kræver. Derfor har man udviklet automatiske metoder til løbende partikelmålinger. En af metoderne (SM200) anvendes inden for det landsdækkende måleprogram for luftkvalitet i de danske byer (LMP IV) (Kemp and Palmgren, 2002) til måling af døgnmiddelværdier. Metoden er baseret på måling af forøgelsen i absorption af beta-stråling i et filter efter opsamling af partikler. En anden metode er den såkaldte TEOM (Tapered Electronic Oscillating Microbalance), som er baseret på svingningsfrekvensen på en vibrerende enhed, hvorpå der er monteret et filter til opsamling af partikler. TEOM har sin styrke i stor tidsopløsning ($\frac{1}{2}$ -1 time) og er derfor velegnet til måling tæt ved trafikken. Svagheden ved TEOM er, at vand fjernes ved opvarmning, hvilket også betyder tab af flygtige stoffer som ammoniumnitrat og organiske forbindelser.

Til måling af de fine og ultrafine partikler kan man anvende DMA (Differential Mobility Analyser), som bestemmer antal partikler i størrelsesfraktioner, f.eks. i intervallet 0,01-0,7 µm. I en DMA sorteres partikler efter størrelse ved at tilpasse en elektrisk spænding mellem en indre elektrode og huset på DMA'en, således at en bestemt størrelse af partikler netop rammer udgangsspalten og fortsætter til en kondensationskintæller. Sættes en varierende spænding på elektroden kan man scanne henover et partikelstørrelsesinterval, så man får en såkaldt DMPS (Differential Mobility Particle Sizer). I DMUs system foregår scanningen mellem 6 og 700 nm i løbet af 2-3 minutter.

Lovgivning på området

Bekendtgørelsen om luftkvalitet fra Miljø- og Energiministeriet nr. 836, dateret 10.12.1986, fastsætter grænseværdier for TSP, i.e. 300 µg/m³ som 24 timers gennemsnit og 150 µg/m³ som årligt gennemsnit.

Et nyt EU direktiv ”Rådets Direktiv 1999/30/EC af 22. april 1999 om grænseværdier for svovldioxid, kvælstofdioxid og kvælstofoxider, partikler og bly i udeluft” giver bl.a. grænseværdier for PM₁₀. Medlemslandene skal opfylde en 24 timers grænseværdi på 50 µg/m³ – som ikke må overskrides mere end henholdsvis 35 gange og 7 gange pr. år - før 2005 og 2010. For årlige gennemsnit er grænseværdierne henholdsvis 40 µg/m³ og 20 µg/m³, som skal opfyldes før 2005 og 2010. Dette direktiv er ophøjet til dansk lov ved bekendtgørelse nr. 671 af 9. juli 2001.

WHO har ikke givet anbefalinger om grænseværdier for partikler, fordi der mangler viden på området, og fordi man ikke har kunnet identificere en nedre grænse for effekter.

EU Kommissionen har ligeledes konkluderet, at vores viden om sundhedsskadelige effekter samt om kilderne og de fysisk/kemiske egenskaber er for ringe; derfor er det besluttet at revidere grænseværdierne, når der foreligger mere viden på området. Direktiverne indehol-

der forpligtelser for medlemslandene til at indsamle data om mindre partikler, PM_{2,5}. Imidlertid har undersøgelser vist, at korrelationen mellem partikelkoncentrationen og sundhedsskadelige effekter vokser med aftagende partikelstørrelse. Det er derfor vigtigt at undersøge specielt forekomsten af de meget små partikler og opgjort som antal af partikler i mange størrelsesintervaller.

Niveauer og udvikling i Danmark

TSP bliver målt i det Landsdækkende Luftkvalitetsmåleprogram (LMP) (<http://luft.dmu.dk>) og Kemp and Palmgren, 2002). TSP i byluft er en blanding af bidrag fra forskellige kilder, men de grove (>2,5 µm) fra det af vinden lokalt ophvirvlede støv dominerer massen af denne del af partikelstørrelsesfordelingen.

TSP er målt som 24 timers gennemsnitsværdier i København, Odense, Aalborg siden 1982. Målingerne på Lille Valby startede i begyndelsen af 1995. Statistiske data for PM₁₀ fra 2001 er vist i tabel 1. De gamle grænseværdier blev ikke overskredet. Det skal bemærkes, at PM₁₀ målinger blev påbegyndt i 2001; derfor er tidsserien ikke komplet.

Udviklingstendenserne er vist i figur 2 på målestationer på trafikerede gader og en målestation i et landdistrikt ca. 40 km vest for København. Den generelle udviklingstendens har været faldende indhold af TSP over en år-række, bl.a. på grund af bedre ”husholdning” ved byggerier, andre konstruktionsarbejder, industrier, ”grønne marker” om vinteren m.v. Det forventes, at denne tendens vil fortsætte de kommende år. En væsentlig del af massen af partiklerne (de grove partikler i figur 1) er ophvirvlet støv af naturlig oprindelse samt bidrag fra byggerier eller ophvirvlet støv fra veje samt som resultat af de generelle reduktioner i udslippene af NO_x og SO₂. Desuden er det fjerntransporterede bidrag faldet på grund af generelle reduktioner i emissionen i Europa, bl.a. i Østeuropa. Partikler fra forbrændingsprocesser findes, som tidligere nævnt, i den fine og ultrafine fraktion. Denne del af partiklerne forven-

Station	Antal	Gns.	36. højeste	90-perc.	95-perc.	8. højeste	Max.	Dato
<i>Trafik:</i>								
København	262	34	48	54	62	67	216	010101
Århus	140	32	-	-	-	-	-	-
Odense	260	31	45	50	58	64	84	010308
Aalborg	292	29	45	48	56	60	84	011015
<i>Bybaggrund:</i>								
Aalborg	170	24	-	-	-	-	-	-
<i>Land:</i>								
Ll. Valby	316	21	34	35	44	50	74	010815
Keldsnor	76	-	-	-	-	-	-	-
Grænseværdi	>329	40/20	50	-	-	(50)	-	-

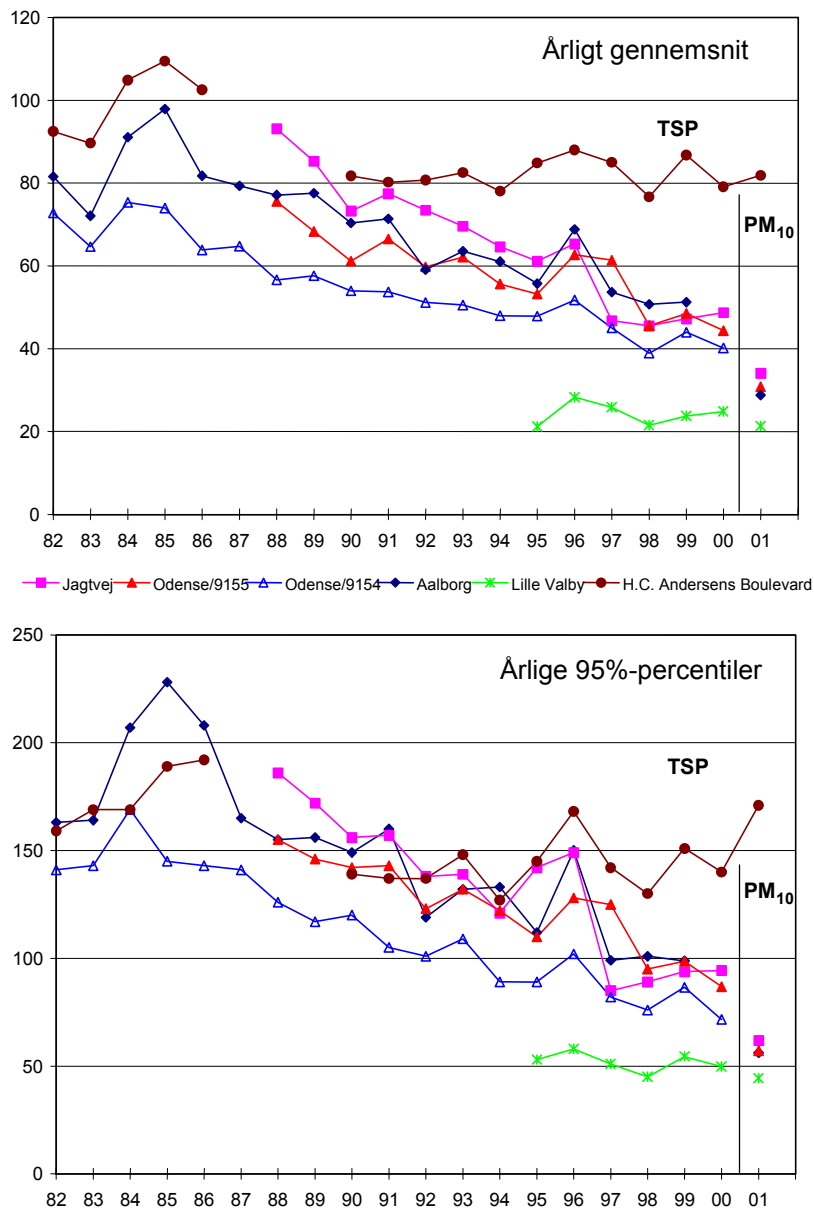
Tabel 1. Årsstatistik for PM₁₀ målinger under LMP. Gennemsnit og 36. højeste og 8. højeste værdier svarer til nugældende grænseværdier. Grænseværdien i parentes er forslag til grænseværdi, som skal opfyldes i 2010. Bemærk, at PM₁₀ målingerne startede i 2001 og tidsserien ikke er komplet.

tes at aftage i fremtiden på grund af emissionsreduktioner som følge af bedre rensning af røg-gasser fra kraftværker m.v., øget udbredelse af trevejs katalysatorer (TWC) på alle nye benzindrevne biler og begrænsninger i dieselbiler-nes udslip. TSP er blevet målt på mellem en tredjedel og halvdelen af niveauet på gadestationerne i byerne. På H.C. Andersens Boulevard ses ikke det samme fald som på de andre målestationer i byområderne. Dette tyder på, at bidraget fra trafikken er vokset i løbet af 1990erne.

Målinger af ultrafine partiklers fordeling på størrelse er blevet gennemført på stærkt trafikerede gader i København (Jagtvej og H.C. Andersens Boulevard) og i Odense (Albanigade). Undersøgelser har vist, at ultrafine partikler ikke ændres væsentligt under den korte opholdstid på sekunder til få minutter i gaderummet (Wåhlin et al., 2001a).

Sodpartiklerne i udstødningen fra dieselbiler findes især i størrelsesområdet 30-300 nm, men antalsmæssigt dominerer partiklerne i området 10-50 nm. Denne del af de ultrafine partikler betegnes ofte nanopartikler og består for det meste af væskedråber, f.eks. smøreolie,

uforbrændt/delvis forbrændt dieselolie, forskellige flygtige organiske forbindelser og svovlsyre (og vand). De dannes i motorer og i eller umiddelbart efter udstødningsrøret. I sommeren 1999 gik man i Danmark over til dieselolie med lavere svovlindhold, fra maksimum 500 ppm til under 50 ppm. I samme periode blev der målt ultrafine partikler i København. Målinger i vintrene 1999 og 2000 viste, at antallet af de allermindste partikler i størrelsesområdet < 20 nm blev stærkt reduceret ved overgang til dieselolie med lavere svovlindhold (Wåhlin et al., 2001b). Det drejer det sig derfor formodentligt især om svovlsyrepartikler. Om natten, særligt efter fredag og lørdag, er der relativt mange af disse partikler. Dette tyder på, at de især emitteres fra moderne dieselbiler (taxier) med oxiderende katalysator. Da massen af disse meget små partikler er helt forsvindende, er det tvivlsomt, om de har særlig sundhedsmæssig betydning. Der kan dog være andre grunde til at nedsætte svovlindholdet yderligere, bl.a. længere holdbarhed af katalysatorer, anvendelse af nye motorteknologier eller korrosion på motor og udstødningssystem.



Figur 2. Årlige gennemsnitsværdier og 95-percentiler for TSP (og PM₁₀) i Danmark fra 1982 til 2001 (målt i $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Man skiftede fra TSP til PM₁₀ i 2000 efter en indkøringsperiode, hvor begge metoder blev anvendt. (Kemp og Palmgren, 2002).

Modeller for trafikforurening

Modeller for luftforurening fra trafik er et vigtigt værktøj i forbindelse med kortlægning af luftforurening samt vurdering af befolkningens eksponering. Dette gør sig især gældende, når

modellerne anvendes i kombination med måledata. DMU har en meget anerkendt model for luftforurening i gader med trafik. Denne model OSPM (Operational Street Pollution Model) kommer i foråret næste år i en brugervenlig Windows baseret version. Denne nye model

gør det muligt, ved hjælp af en række data, hvor Vejdirektoratet og Danmarks Transport-Forskning bla. har leveret trafikdata, at beregne emissionen fra trafikken, der har betydning for luftkvaliteten. For at kunne gennemføre en luftkvalitetsberegning skal brugeren vælge en gadetype, indtaste årsdøgntrafikken og rejsehastigheden for gaden samt angive oplysninger om gadekonfigurationen. Endvidere skal der vælges et datasæt for de meteorologiske forhold og baggrundsforurening, som foreligger som datasæt for forskellige regioner af Danmark. Endelig vælges en kategori af bystørrelse, baseret på indbyggertallet. Hvis brugeren ikke har specifikke data for beregningsstedet, er der i modellen opstillet standardværdier for trafikens variation, emission, meteorologi og baggrundsforurening. Modellen skal naturligvis løbende opdateres med nye parametre efterhånden som de ændres. Det kan eksempelvis være flere elbiler, nye strammere EU-krav eller andre ændrede forhold, der har betydning for beregningerne.

Indbygget i den nye modelversion er en metode til beregning af bybaggrunds niveauer, som omfatter byområdets generelle bidrag til forureningen samt bidrag fra regionalt transporteret luftforurening. Emissionsmodellen for trafikens udslip er baseret på COPERT modellen, som er et almindeligt anvendt værktøj. Det har imidlertid vist sig nødvendigt med forskellige korrektioner af COPERT modellen for at få resultaterne til at stemme med måledata. COPERT modellen indeholder kun emissionsfaktorer for den direkte emission fra udstødningsrøret og indeholder således ikke ophvirvling mv. Med udgangspunkt i den løbende partikelforskning vil DMU på sigt opstille emissionsfaktorer og bybaggrundsdata for partikler for at gøre det muligt at foretage PM₁₀ beregninger i gaderum.

Den Windows baserede OSPM version gør det også muligt at foretage en beregning langs en rute, f.eks. i et givet byområde. Denne facilitet vil blive anvendt inden for en række projekter under Det Strategiske Miljøforskningsprogram og ISMF til bestemmelse af personlig eksponering

langs ruter i danske bygader. Til dette formål er der ligeledes udviklet en række GIS (Geografisk Informationssystem) baserede værktøjer inden for DMUs AirGIS system (Jensen et al., 2001). Disse værktøjer gør det muligt at generere informationer til OSPM beregningerne, automatiseret for f.eks. et helt byområde, på basis af diverse digitale kort og forskellige registerdata (Hvidberg og Jensen, 2002).

Referencer

Hvidberg M., Jensen SS. *A GIS tool for pre-processing route information for air pollution modelling*. GI - Communication and Perspective, 25. - 27. November 2002, Ålborg, Denmark. Poster presentation:

www.geoforum.dk/norgis/norgisram.htm

Jensen SS, Berkowicz R., Hansen H Sten, Hertel O. *A Danish decision-support GIS tool for management of urban air quality and human exposures*. Transportation Research Part D: Transport and Environment, Volume 6, Issue 4, 2001, pp. 229-41.

Kemp K, Palmgren F. *The Danish Air Quality Monitoring Programme. Annual Summary for 2001*. 32s. Faglig rapport fra DMU 427, 2002 (elektronisk).

www.dmu.dk/1_viden/2_Publikationer/3_fagrappor-ter/rapporter/FR427.pdf

Palmgren F, Wählin P, Berkowicz R, Hertel O, Jensen SS, Loft S, Raaschou-Nielsen O. *Partikelfiltre på tunge køretøjer i Danmark. Luftkvalitets- og sundhedsvurdering*. Afdeling for Atmosfærisk Miljø. 94s. Faglig rapport fra DMU 358, 2001 (elektronisk).

www.dmu.dk/1_viden/2_Publikationer/3_fagrappor-ter/rapporter/FR358.pdf

Wählin P, Palmgren F, van Dingenen R. *Experimental studies of ultrafine particles in streets and the relationship to traffic*. Atmospheric Environment 2001a;35(suppl. 1):63-9.

Wählin P, Palmgren F, van Dingenen R, Raes F. *Pronounced decrease of ambient particle number emissions from diesel traffic in Denmark after reduction of the sulphur content*. Atmospheric Environment 2001b;35(21):3549-52.

Sundhedsmæssige effekter af partikulær luftforurening

Af Steffen Loft¹, Ole Raaschou-Nielsen², Ole Hertel³ og Finn Palmgren³

Partikler og helbredseffekter

Partikulær luftforurening har længe været kendt som sundhedsskadelig. Fokus er primært på luftvejssygdomme og hjertekarsygdomme. I de senere år er opmærksomheden blevet rettet mod størrelsesfordelingen af luftforureningspartikler som betydende for sundhedseffekterne. Meget tyder på, at meget små partikler udgør et af de alvorligste sundhedsmæssige forureningsproblemer. De ultrafine partikler har en række egenskaber i kraft af deres størrelse og store overflade, som gør, at de kan være særligt farlige.

Befolkningsundersøgelser

Akutte og kroniske effekter

Der er udført talrige befolkningsundersøgelser til vurdering af partikelforureningens sundhedsskadelige effekter. De fleste undersøgelser har drejet sig om akutte effekter, der optræder i forbindelse med forhøjede partikelkoncentrationer, hvor især PM₁₀ har været benyttet som mål for partikeleksponering. Effekterne har først og fremmest været dødelighed, forekomst af luftvejssymptomer og -indlæggelser for luftvejslidelser og akut hjertesygdom. Man har sammenholdt tidsmæssige udsving i henholdsvis partikelkoncentration og forekomst af helbredsudfald i et såkaldt tidsseriedesign. En række andre, især kohortebaserede undersøgelser, har været rettet mod kroniske effekter, især i form af total og årsagsspecifik dødelighed i relation til partikelforurening.

Man har typisk sammenlignet forskellige geografiske områder med varierende partikelforurening. Generelt har tidsseriebaserede undersøgelser vist mindre effekt på f.eks. dødelighed end de kohortebaserede undersøgelser i forhold til en given forskel i partikelkoncentration.

Epidemiologisk evidens for PM₁₀

Der er betydelig og konsistent epidemiologisk evidens for at PM₁₀-fraktionen af partikulær luftforurening er associeret med helbredsproblemer. Der er en påfaldende konsistens mellem 19 studier, der viser korrelation mellem daglig dødelighed, sygelighed og stigninger i PM₁₀ (Anderson, 2000). Anderson konstaterer også i denne oversigtsartikel, at partikler har effekter, der er uafhængige af effekter, forårsaget af irriterende gasser i luftforurening (NO_x, SO₂ og ozon). Der er stort set enighed om, at der er kausal sammenhæng mellem luftforurening og helbredseffekter, og at partikler bidrager væsentligt til dette.

Amerikanske befolkningsundersøgelser

De mest omtalte undersøgelser til vurdering af den kroniske effekt er to store amerikanske befolkningsundersøgelser, som blev publiceret i midten af 1990'erne, hvor partikelniveauet er sat i forbindelse med dødeligheden. Den ene undersøgelse omfatter ca. 8.000 mennesker i 6 større byer (Dockery et al., 1993), mens den anden omfatter ca. 550.000 mennesker i 151 byområder (Pope et al., 1995). I undersøgelserne er der taget højde for en række samvirkende faktorer som alder, race, rygevaner, alkoholforbrug m.m. Undersøgelserne viser, at der er en direkte sammenhæng mellem dødelighed og partikelniveau (bestemt som PM_{2,5}) i byerne. Den øgede dødelighed kommer især til udtryk blandt personer med luftvejslidelser og hjerte/karlidelser. Det skal pointeres, at undersøgelserne er baseret på det generelle partikel-

1 Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet

2 Institut for Epidemiologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse

3 Danmarks Miljøundersøgelser

niveau i baggrundsområder, og at der ikke indgår specielle vurderinger af trafikens bidrag. Det har været diskuteret i hvilken udstrækning den øgede dødelighed vil påvirke gennemsnitslevialderen i befolkningen. WHO har med baggrund i de to nævnte amerikanske undersøgelser beregnet, at en forøgelse af det gennemsnitlige PM_{2.5}-niveau med 10 µg/m³ (svarende til en forøgelse på ca. 50%) vil resultere i et fald i den forventede middellevialder på ca. 1 år. Andre amerikanske undersøgelser, gennemført i perioden 1987-1993, indikerer en forøgelse i forekomsten af bronkitis og kronisk hoste på 10-25% ved en stigning i PM₁₀-niveauet på 10 µg/m³. Det kan tilføjes, at de californiske myndigheder efter mange års undersøgelser har konkluderet, at udstødningsgassen fra dieslbiler er toksisk, og at de amerikanske miljømyndigheder har karakteriseret dieseludstødningen som "likely human carcinogen".

Ny amerikansk undersøgelse - opdatering vedr. PM_{2.5}

Pope et al. har i 2002 opdateret deres undersøgelse efter at have fulgt den samme population til år 1999. Der er målt PM_{2.5} igen i 1999-2000. Der er benyttet forbedrede statistiske modeller og der indgår en række andre mål for luftforurening for hele perioden, herunder også mål for andre partikelfraktioner end PM_{2.5}. Det betyder, at datagrundlaget er blevet markant forbedret og det er muligt at udtale sig mere sikkert om sammenhænge mellem partikler og helbredseffekter, herunder også om man kan følge effekter helt frem til år 1999.

Bekræftelse af tidligere resultater

Resultatet af den nye undersøgelse blev en understregning af resultaterne fra 1995. Der fandtes en statistisk meget sikker sammenhæng mellem dødelighed og PM_{2.5} niveau. Der var et betydeligt fald på ca. 1/3 i PM_{2.5} niveau fra 1979-83 til 1999-2000 for alle måleområderne. Dødeligheden steg med 4% per 10 µg/m³ stigning i PM_{2.5}, målt i 1979-83, eller med 6% per 10 µg/m³ stigning i PM_{2.5}, målt i 1999-2000, og ved brug af et vægtet gennemsnit over hele perioden. Dødelighed af hjerte/lungesygdom-

me steg med 9% og af lungecancer med 14% per 10 µg/m³ stigning i PM_{2.5}, målt som et vægtet gennemsnit mellem 1979 og 2000.

Den tydelige sammenhæng mellem PM_{2.5} niveau og lungecancer, som især var klar hos ikke rygere, var ikke klar i 1995. Det er foreneligt med en svensk undersøgelse af risiko for lungekræft associeret med trafikgenereret luftforurening, målt som NO₂, hvor effekten så ud til at have en lang latenstid (Nyberg et al. 2000).

WHO-projekt for Østrig, Frankrig og Schweiz

Et meget omtalt projekt til vurdering af partikelforureningens sundhedsmæssige konsekvenser er gennemført af et forskersteam fra Østrig, Frankrig og Schweiz. Projektet blev præsenteret ved WHO's ministerkonference for miljø og sundhed i London i juni 1999 "Health Costs due to Road Traffic-related Air Pollution" (<http://www.eehc.dk/London99/traffic.htm>).

Man har anvendt PM₁₀ som indikator for luftforureningen og har beregnet den eksponering af PM₁₀, som befolkningen i de 3 lande bliver udsat for. På baggrund heraf har man, med udgangspunkt i foreliggende litteratur, beregnet antallet af personer med for tidlig død og antallet af forskellige former for sygelighed, der kan henføres til luftforurening fra vejtrafik. Beregningerne er foretaget med udgangspunkt i situationen i 1996. For at kunne vurdere trafikens bidrag har man foretaget beregninger for en fiktiv situation, hvor al vejtrafik er fjernet. Forskellen mellem de to situationer er herefter tilskrevet vejtrafikens bidrag. For Schweiz (ca. 7 mio. indbyggere) viser beregningerne, at det nuværende niveau af PM₁₀ medfører ca. 3.300 tilfælde af for tidlig død pr. år, hvoraf ca. 1.800 kan tilskrives vejtrafikken. Beregningerne viser endvidere ca. 45.000 tilfælde af akut bronkitis hos børn (hvoraf ca. 24.000 kan tilskrives vejtrafik), 4.200 tilfælde af kronisk bronkitis hos voksne (hvoraf 2.200 kan tilskrives vejtrafik) og 2,8 mio. dage med nedsat aktivitet (hvoraf 1,5 mio. kan tilskrives vejtrafik). Beregningerne siger ikke noget om effekten af en isoleret reduktion af partikelemissionen.

WHO-projektet dannede grundlag for et forsøg på en tilsvarende kvantitativ vurdering for danske forhold (Palmgren et al. 2001; Raaschou-Nielsen et al. 2002).

Sundhedsvurdering

Nye undersøgelser

Den nye amerikanske undersøgelse (Pope et al. 2002) udgør den til dato sikreste dokumentation for sammenhængen mellem lang tids udsættelse for fine partikler i byområder og øget dødelighed i befolkningen som følge af hjerte-kredsløbslidelser, luftvejslidelser og lungecancer. Partikler større end $PM_{2.5}$ synes ikke at have betydning for dødeligheden. Det betyder, alt andet lige, at ultrafine partikler får større relativ vægt, selvom de stadig masse-mæssigt repræsenterer en mindre del af $PM_{2.5}$. Den stærke sammenhæng mellem $PM_{2.5}$ og dødelighed kan følges helt op til år 1999, hvilket tyder på, at det fortsat er et væsentligt helbredsproblem. Det må dog erindres, at nogle langtids-effekter, som lungecancer, er måske 20 år om at udvikles og her har niveauet i 1999-2000 næppe spillet en direkte rolle. Niveauet af $PM_{2.5}$ i de amerikanske områder er gennemsnitligt tæt på forholdene i Danmark. Imidlertid peger den amerikanske undersøgelse ikke direkte på trafik som kilde til sundhedseffekterne. Således har NO_2 og CO ingen prædiktiv værdi for dødeligheden, hvorimod sulfatpartikler og svovldioxid har signifikant effekt, om end den for en gennemsnitseksposering er mindre end den tilsvarende effekt af $PM_{2.5}$. Det tyder på, at stationære kilder er væsentlige i de amerikanske byområder. Det kan betyde en øget usikkerhed ved brug af dosis-respons-sammenhænge mellem $PM_{2.5}$ og dødelighed, baseret på den amerikanske undersøgelse på partikler, til risikovurdering af partikler fra trafikrelaterede kilder. Mange egenskaber af betydning for helbredseffekter er dog ens for partikler af faststof, men den kemiske sammensætning har i øvrigt også betydning.

Senest har en hollandsk undersøgelse vurderet sammenhæng mellem eksponering for luftforurening fra især trafik og dødelighed (Hoek et

al. 2002). Her blev en kohorte på 5.000 personer fulgt fra 1986 til 1994. Eksponering blev vurderet ud fra dels baggrundsniveauer af sod (black smoke), der nu formodes overvejende at komme fra tunge køretøjer, og kvælstofdioxid og dels ved nærheden af personens bolig på trafikerede veje. Dødelighed som følge af hjertelungelidelser var fordoblet hos personer, der boede inden for 100 m fra en motorvej eller 50 m fra en større gade i bycentre.

Størrelsesfraktioner af partikler og helbredseffekter

I de seneste år har ny viden om forskelle i egenskaber af partikler i forskellige størrelsesfraktioner ført til en formodning om, at der også er forskelle i deres helbredseffekter (Vrang et al. 2002). Nedenfor resumeres egenskaber af betydning for helbredseffekter af ultrafine partikler i forhold til større partikler, og nye epidemiologiske undersøgelser af sammenhænge mellem dødelighed og ultrafine partikler diskuteres.

Deponering af partikler i lungerne

Partikler med diameter over 10 μm vil hovedsagelig deponeres i de øvre luftveje (næse/svælg), mens partikler under 10 μm (PM_{10}) kan deponeres længere nede i bronkierne. Mindre partikler kan nå helt ud i lungeblærerne (alveolerne). Partikler, der er aflejret i bronkierne, fjernes relativt hurtigt på grund af fimrehårenes bevægelser, mens de partikler, der når alveolerne, kræver optagelse i såkaldte makrofager for at kunne fjernes. Jo mindre partikler er, des større overflade har de per vægtenhed og dermed mulighed for at stoffer, der er bundet, kan reagere med cellerne i alveolerne og makrofagerne.

Ultrafine partikler

De mindste ultrafine partikler under 0,1 μm (100 nm) i diameter har særlig stor overflade per vægtenhed, kan trænge ind i lungevævet (interstitialiseres) og endda føres videre ad blodbanen. Fraktionen af ultrafine partikler, der deponeres i lungerne, øges med mindsket

partikelstørrelse og med dybere, længerevarende vejtrækning. Ultrafine partikler deponeres i lungerne via diffusion, hvorimod større partikler deponeres ved impaktion og sedimentation. Ultrafine partikler kan også hæmme makrofagernes funktion. Et vigtigt led i sygdomsprocesserne synes at være igangsætning af inflammation (betændelsesreaktioner), som i sig selv medfører en række skader. Hvilke skader, der forvoldes, afhænger således i høj grad dels af partikelstørrelsen og dels af den kemiske sammensætning, herunder hvilke stoffer, der måtte være adsorberet på partiklernes overflade. Nyere data peger på, at de fine partikler (mindre end 2,5 μm) og især ultrafine partikler (under 0,1 μm eller 100 nanometer) udgør den største sundhedsmæssige trussel, idet disse fraktioner dels har en kraftig påvirkning på lungevævet og dels påvirker blodets viskositet og hjertekredsløbet.

Partikler i dansk luft

I Danmark består $\text{PM}_{2.5}$ overvejende af langtransporterede partikler af ammoniumsulfat og ammoniumnitrat foruden partikler fra trafikken, som er ultrafine eller i akkumuleringsfasen. Ammoniumnitrat og ammoniumsulfat er vandopløselige, men der er ingen sikker viden om de biologiske effekter af disse stoffer i partikelform. Det må dog erindres, at sulfatholdige partikler i de amerikanske undersøgelser var knyttet til dødelighed. Ultrafine partikler består af væske eller fast stof. Væskepartikler forventes let at kunne opløses på de øvre luftvejers overflader og vil derfor kun i begrænset omfang nå nedre luftveje. Ultrafine partikler af fast stof består typisk hovedsageligt af elementært kulstof og har et vekslende indhold af polyaromatiske kulbrinter (PAH) og metaller, som er bundet til overfladen. Det må antages, at partikler af fast stof med kemisk sammensætning som ultrafine partikler vil være mest aktive i at inducere inflammation og direkte skade på luftvejscellerne. Ydermere er ultrafine partikler i stand til at trænge igennem cellerne i luftvejene og kan findes i lungevævet og vil cirkulere med kredsløbet.

Internationale undersøgelser

Der er tiltagende interesse for at adskille bidraget fra de forskellige partikler som årsagsfaktorer ved både akutte og kroniske effekter. Der er kun få studier, hvor grove, fine og ultrafine partikler adskilles. I studier af sammenhænge mellem partikler og daglig mortalitet findes den største effekt på eksponeringsdagen eller dagen efter (Brunekreef & Holgate 2002). For studier med måling af både PM_{10} og $\text{PM}_{2.5}$ var mortaliteten bedst associeret med sidstnævnte (Dockery et al, 1993; Pope et al. 2002). De hidtil eneste undersøgelser af dødelighed i relation til ultrafine partikler er gennemgået mere udførligt nedenfor. I tre undersøgelser af voksne patienter med astma var associationen med anfald stærkest for ultrafine partikler, mindre stærk for fine partikler, mens der slet ikke kunne findes association med PM_{10} . I et tilsvarende studium med børn var associationen mellem astmaanfald og partikler dog bedst knyttet til PM_{10} og sod, men ikke til fine og ultrafine partikler. Der er flere europæiske og amerikanske undersøgelser af sammenhænge mellem ultrafine partikler og hjertekarsygdomme på vej.

Nye europæiske undersøgelser af akutte effekter af ultrafine partikler

Enkelte nye undersøgelser har vist, at associationen med lungesygelighed hos voksne og mortalitet er stærkere for den ultrafine fraktion af partikler end $\text{PM}_{2.5}$ og PM_{10} , alle målt i bybaggrund (Ibald-Mulli 2002). Den eneste undersøgelse med kvantitative estimater er gennemført som et tidsseriestudie i Erfurt, en by med ca. 300.000 indbyggere i Tyskland 1995 til 1998 (Wichmann et al. 2000). Daglig årsagsspecifik mortalitet blev registreret sammen med måling af størrelsesfordeling som antalskoncentration af ultrafine og fine partikler foruden masse af fine og grove partikler. Kilden til ultrafine partikler var hovedsageligt trafik. $\text{PM}_{2.5}$ og PM_{10} var kun moderat korreleret med ultrafine partikler. Regressionsanalyse viste, at den relative risiko relateret til total dødelighed for en stigning svarende til 8000 til 20700 partikler med diameter mellem 10 og 100 nm per ml af ultrafine partikler var 1.046

(95% konfidensinterval 0.997-1.097) med lagtime på 4 dage. Dette svarer nogenlunde til en stigning på 4,6% i total dødelighed i hele befolkningen. Effekten var mest knyttet til luftvejsrelateret dødelighed med relativ risiko på 1.16 (1.06-1.29) og død af hjertesygdom med relativ risiko på 1.06 (1.01-1.12). For $PM_{2.5}$ var de relative risici for stigning svarende til interkvartil range tilsvarende. Effekten af ultrafine og $PM_{2.5}$ var ved samanalyse næsten uafhængige. Det bemærkes, at effekten af ultrafine var helt uafhængig af en ret stærk effekt af SO_2 med relativ risiko på ca. 1.06 (1.01-1.11) for interkvartil range. NO_2 og CO havde tilsyneladende også effekter, som blev reduceret ved samanalyse med ultrafine, hvilket støtter, at trafikemission er ansvarlig. Endelig havde også PM_{10} effekt, men dette er ikke samanalyseret med ultrafine. Der var ikke signifikante forskelle i latenstid for de forskellige helbredseffekter relateret til ultrafine og fine partikler.

I en ny europæisk undersøgelse fra Erfurt, Helsinki og Amsterdam er hjertefunktion sat i relation til partikulær luftforurening (Pekkanen et al. 2002). Der var signifikant sammenhæng mellem ændringer i elektrokardiogram, som er tegn på truende blodprop, og ultrafine partikler og $PM_{2.5}$ uafhængigt af hinanden, mens der ikke var sammenhæng med grove partikler. Det passer godt sammen med de ovennævnte tidligere viste sammenhænge med død i Erfurt.

Kroniske effekter

I denne sammenhæng skal det bemærkes, at tidsseriestudier kun kan belyse akutte effekter af luftforurening, men ikke kroniske effekter som f.eks. lungecancer, og derfor regnes for at underestimere de samlede effekter. Yderligere har den omtalte undersøgelse benyttet en relativ kort latenstid på op til 5 dage, og det er muligt, at effekter på dødelighed kan spores i op til 40 dage (Zanobetti et al. 2002). I den undersøgelse, som bygger på PM_{10} niveauer og dødelighed i 10 europæiske byer, fandtes en 0,7% stigning i dødelighed per $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ stigning i PM_{10} ved én dags latenstid, men 1,6% stigning ved 40 dages latenstid. Bemærk for-

skellen op til 4% stigning per $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ PM_{10} , som findes i langtidstudier.

Den nye hollandske undersøgelse af dødelighed i relation til bolig nær trafikeret vej er vanskelig at anvende kvantitativt (Hoek et al. 2002). I undersøgelsen boede 5% af den indgående kohorte nær trafikeret vej og var dermed betragtet som værende i risiko. Den justerede effekt på total dødelighed var 1,5 gange. Man kan antage, at der i Danmark er samme andel, dvs. 5%, og at disse har samme øgning af risiko (relativ risiko 1.53 med 95% konfidensinterval 1.01-2.33) for at dø i forhold til den øvrige befolkning. Total dødelighed i Danmark er ca. 1,1% per år og under antagelse af at hele undersøgelsen kan overføres til danske forhold, vil 5% af befolkningen så have en overdødelighed på 0,57%, hvilket svarer til ca. 1450 i alt (95% konfidensinterval 27 til 3600). Der er naturligvis flere forkerte forudsætninger, idet der er regnet med hele befolkningen, hvor den hollandske undersøgelse kun omfattede befolkningsgrupper på 58 til 66 år. Det er på den anden side næppe heller korrekt kun at regne med én given risiko forbundet med at bo inden for én bestemt afstand fra trafikeret vej, hvor der må formodes at være et kontinuerligt fald med stigende afstand. Det er dog interessant, at dette estimat på 1450 døde er i samme størrelsesorden, som det estimat, vi tidligere har baseret på de amerikanske undersøgelser og det estimat, som er baseret på undersøgelsen af ultrafine partikler fra Erfurt i Tyskland.

Virkning af ultrafine partikler

En ny europæisk undersøgelse har som anført vist, at ændringer i elektrokardiogram og tegn på truende blodprop i hjertet er associeret til stigninger i niveauet af ultrafine partikler i Erfurt, Helsinki og Amsterdam (Pekkanen et al. 2002). Ved sammenligning af effekten af eksponering af henholdsvis ultrafine og fine partikler på rotter er det vist, at de ultrafine partikler forårsagede et større inflammatorisk respons (betændelsesreaktion). Inflammationsinducerende effekter af ultrafine partikler er også fundet ved eksperimentel udsættelse af

mennesker for dieseludstødning eller koncentreret byluft. Disse fund er i overensstemmelse med at Seaton et al. (1995) fremkom med en hypotese om at de ultrafine partikler forårsager betændelsesreaktioner i lungevævet, hvorved der frigives signalstoffer, som bl.a. fremkalder anfald af akut luftvejssygdom hos følsomme individer. Det øgede antal dødsfald pga. hjertekarsygdomme, mente de, kan forklares ved ændringer i blodets størkningsevne, viskositet og aktivering af hvide blodlegemer. Partikler formodes således især at virke helbredsskadelige ved at påføre såkaldt oksidativt stress via inflammation og deres indhold af overgangsmetaller, der kan generere frie ilt-radikaler, hvor ultrafine er særligt aktive.

Konklusion af kvantitativ vurdering af ultrafine partikler

De få epidemiologiske undersøgelser baseret på tidsseriedesign og eksperimentelle undersøgelser giver meget begrænset mulighed for direkte kvantitative estimater af sammenhæng mellem størrelsesfraktioner af partikler og helbredsudfald. De peger dog entydigt på, at en given masse af ultrafine partikler har væsentligt større helbredseffekter end den samme masse af større fine partikler endsige af grove partikler. Det eneste eksisterende estimat angiver en stigning i akut dødelighed på omkring 4,5% (med sikkerhedsgrænser fra et fald på 0,05% til en stigning på 11%) ved en stigning fra 8.000 til 20.700 ultrafine partikler per ml luft. Den samlede dødelighed i Københavnsområdet med 1,2 mio. indbyggere er ca. 15.000 per år. Baggrundsniveauet af ultrafine partikler er endnu ikke beskrevet i København. Hvis man forestiller sig en reduktion på f.eks. 60% i niveauet, svarende til forskellen i Erfurt, kunne dette medføre 675 færre døde per år i København (med 95% sikkerhedsinterval fra 0 til 1650). Konfidensintervallet angiver, at det sande estimat med 95% sikkerhed ligger indenfor disse grænser, således at sandsynligheden er størst nær det centrale estimat - her 675 - alt naturligvis afhængigt af, at alle andre forudsætninger er opfyldt. Det skal understreges, at dette bygger på kun én mindre undersøgelse i en by, hvor forholdene ikke behøver at være

sammenlignelige med København, og der er ikke taget hensyn til effekter af andre komponenter i luftforureningen. Den nye europæiske undersøgelse af ultrafine partikler støtter, at der er sammenhæng med risiko for blodprop, og den nye hollandske undersøgelse støtter, at trafikgenererede partikler har væsentlige helbredseffekter.

Referencer

Anderson HR. *Differential epidemiology of ambient aerosols*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A – Mathematical and Engineering Science 2000;358:2771-85.

Brunekreef B, Holgate ST. *Air pollution and health*. Lancet 2002;360:1233-42.

Dockery DW, Pope AC III, Xu X et al. *An association between air pollution and mortality in six U.S. cities*. N Engl J Med 1993;329:1753-9.

Hoek G, Brunekreef B, Goldbohm S, Fischer P, van den Brandt PA. *Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: a cohort study*. Lancet 2002;360:1203-9.

Ibald-Mulli A, Wichmann HE, Kreyling W, Peters A. *Epidemiological evidence on health effects of ultrafine particles*. J Aerosol Med 2002;15:189-201.

Nyberg F, Gustavsson P, Jarup L, Bellander T, Berglind N, Jakobsson R et al. *Urban air pollution and lung cancer in Stockholm*. Epidemiology 2000; 11:487-95.

Palmgren F, Wählin P, Berkowicz R, Hertel O, Jensen SS, Loft S, Raaschou-Nielsen O. *Partikelfiltre på tunge køretøjer i Danmark. Luftkvalitets- og sundhedsvurdering*. Danmarks Miljøundersøgelser. 94 s. – Faglig rapport fra DMU, nr. 358, 2001.

Pekkanen J, Peters A, Hoek G, Tiittanen P, Brunekreef B, de Hartog J, Heinrich J, Ibal-Mulli A, Kreyling WG, Lanki T, Timonen KL, Vanninen E. *Particulate air pollution and risk of ST-segment depression during repeated submaximal exercise tests among subjects with coronary heart disease: the Exposure and Risk Assessment for Fine and Ultrafine Particles in Ambient Air (ULTRA) study*. Circulation 2002;20;106:933-8.

Pope CA III, Thun MJ, Namboodiri MM et al. *Particulate air pollution as a predictor of mortality in a prospective study of U.S. adults.* Am J Respir Crit Care Med 1995;151:669-74.

Pope CA III, Burnette RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, Thurston GD. *Lung cancer, cardiopulmonary mortality and long-term exposure to fine particulate air pollution.* JAMA 2002;287:1132-41.

Raaschou-Nielsen O, Palmgren F, Solvang Jensen S, Wåhlin P, Berkowicz R, Hertel O, Vrang M-L, Loft S. *Helbredseffekter af partikulær luftforurening i Danmark – et forsøg på kvantificering.* Ugeskr Laeger 2002;34:3959-63.

Seaton A, MacNee W, Donaldson K, Godden D. *Particulate air pollution and acute health effects.* Lancet 1995;345:176-8.

Vrang M-L, Hertel O, Palmgren F, Wåhlin P, Raaschou-Nielsen O, Loft S. *Helbredseffekter af trafikgenererede ultrafine partikler.* Ugeskr Laeger 2002;34:3937-41.

WHO (1999). Synthesis report. *Health costs due to road traffic-related air pollution.*
<http://www.eehc.dk/london99/transport04.htm>

Wichmann HE et al. *Daily mortality and fine and ultrafine particles in Erfurt, Germany.* Health Effects Institute Report 2000.

Zanobetti A, Schwartz J, Samoli E, Gryparis A, Touloumi et al. *The temporal pattern of mortality responses to air pollution: a multiplicity assessment of mortality displacement.* Epidemiology 2002;13:87-93.

Individuel udsættelse for luftforurening i København

Af Steffen Loft¹, Mette Sørensen¹, Lisbeth E. Knudsen¹, Peter Møller¹, Herman Autrup², Lars Dragsted³, Håkan Wallin⁴, Ole Raaschou-Nielsen⁵, Ole Hertel⁶, Steen Solvang Jensen⁶, Helle Vibeke Andersen⁶ og Ivan Vejsgaard Nielsen⁶

Udsættelse for luftforurening kan medføre en række helbredseffekter, som beskrevet andetsteds i dette temahæfte. Helbredseffekterne, som især omfatter luftvejs- og hjertesygdom, er beskrevet i et stort antal epidemiologiske undersøgelser. I næsten alle disse undersøgelser er udsættelsen blevet vurderet samlet i større regioner ved måling på central målestation, mens den individuelle eksponering ikke har været søgt vurderet. Der er i langt de fleste studier benyttet tidsseriedesign, hvor svingninger i f.eks. dødsfald eller indlæggelser over tid sammenholdes med svingninger i niveauet af luftforurening. Dette design kan naturligvis kun afdække effekter med relativt kort latens-tid, dvs. at effekterne optræder overvejende hos særligt følsomme, f.eks. hos personer med eksisterende sygdom i luftveje eller hjerte og blodkar. Til vurdering af de samlede effekter, herunder langtidseffekter, må benyttes kohortedesign, hvor man sammenligner forskellige geografiske områder med forskellige eksponeringsniveauer. Til dette kræves god kontrol af andre risikofaktorer, dvs. at den type designs er begrænset til store kohorter, som ofte er etableret med andre formål.

Imidlertid er der meget begrænset viden om den personlige individuelle eksponering for partikulær luftforurening, og hvorledes denne hænger sammen med målinger fra central må-

lestation og i hvilket omfang lokale udendørs og indendørs kilder bidrager. Sådant viden er helt nødvendig for risikovurdering og for at kunne udvikle modeller, som kan anvendes til at bedømme den personlige eksponering i større epidemiologiske undersøgelser. Under Center for Miljø og Luftveje, finansieret af Det Strategiske Miljøforskningsprogram 1998 (SMP98), er der gennemført et projekt, der har belyst individuel eksponering for luftforurening i København.



Figur 1. Udstyr til måling af personlig eksponering

Materialer og metoder

I 4 kampagner, en for hver sæson i 1999-2000, måltes eksponering, individuelt, indendørs og på gadeplan for partikler og gasser blandt 50 studerende med samtidig måling af biomarkører knyttet til intern dosis og de relevante helbredsudfald. Da enkelte forsøgspersoner udgik, deltog i alt 75 personer i projektet, således at der kunne være 50 i hver kampagne. Forsøgspersonerne blev udstyret med en rygsæk, der indeholdt udstyr til måling af partikler i form af fine partikler (PM_{2.5}) og en GPS, således at deres bevægelsesmønstre kunne registreres (figur 1). Udstyret fulgte forsøgspersonen i 48 timer. PM_{2.5} målerne bestod af en pumpe, der trak luft

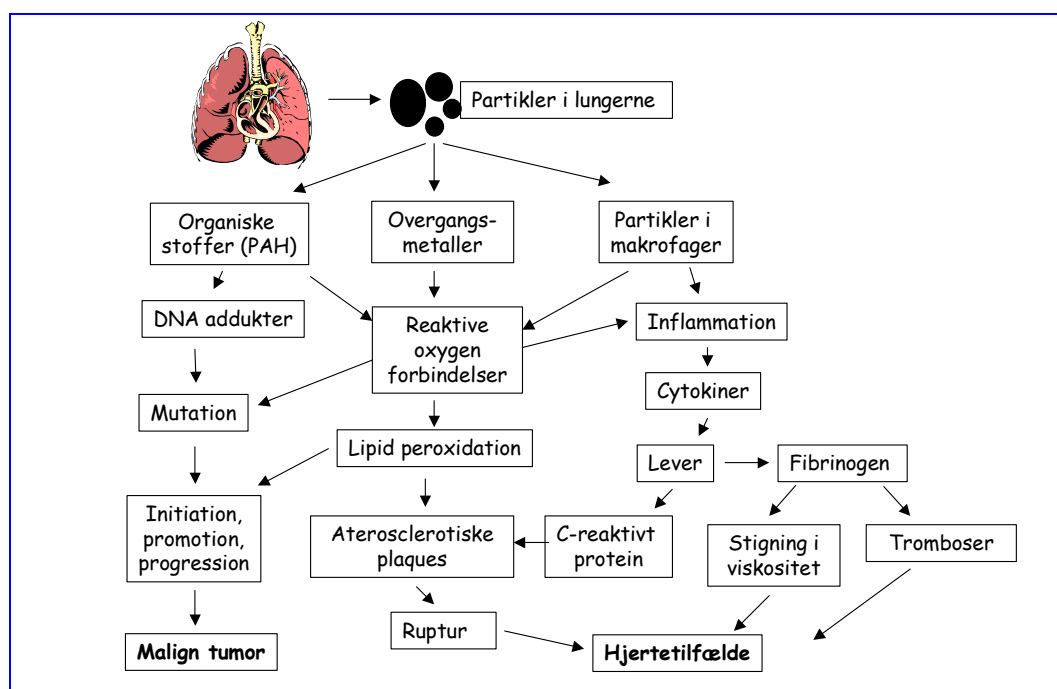
-
- 1 Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet
 - 2 Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet
 - 3 Institut for Fødevarerikkerhed og Ernæring, Fødevedredirektoratet
 - 4 Arbejdsmiljøinstituttet
 - 5 Institut for Epidemiologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse
 - 6 Afd. for Atmosfærisk Miljø, Danmarks Miljøundersøgelser

gennem en cyklon, der frasorterer partikler med en diameter større end 2,5 µm, og derefter et filter, hvor de mindre partikler blev opsamlet. Ved vejning af filtrene før og efter opsamling kan eksponering måles som masse af PM_{2.5}. Eksponering for sod, der er mere direkte relateret til forbrændingsprodukter, herunder dieksemission, blev også målt ved reflektans af de eksponerede filtre. Eksponering for NO₂ blev målt med en passiv diffusionsopsamler. I en enkelt kampagne målt også eksponering for benzen, toluen, xylener og tertmetylbutylæter, finansieret af ISMF. Der blev benyttet tilsvarende PM_{2.5} og NO₂ målere i soveværelset og nede på gaden foran boligen hos 30 af de 50 forsøgspersoner i hver kampagne. Endelig sammenlignedes individuelle eksponeringsmål med målinger på centrale målestationer på taget af H.C. Ørsted Institutet, Jagtvej og H.C. Andersens Boulevard.

Ved afslutning af de 48 timers opsamlingsperiode for eksponering for luftforurening målt en række biomarkører, der belyser den interne dosis, den biologisk effektive dosis og følsomhed (figur 2). Genotoksiske effekter blev registreret i lymfocytter ved måling af ok-

sidative skader i form af oksidation af guanin, oksiderede purin- og pyrimidinbaser og strengbrud i DNA og ved måling af PAH-addukter til DNA. Reparationsproduktet af oksidation af guanin i DNA eller i cellernes pool af nukleotider blev målt i urin. Intern dosis af PAH blev målt som en metabolit (1-hydroxypyren) i urin. Eksponering for benzen blev ligeledes målt som en metabolit (fenylmerkaptursyre), der delvist belyser bioaktivering og dermed er mål for biologisk effektiv dosis. Individuel følsomhed for især de genotoksiske effekter, men formentlig også andre effekter af oxidativt stress, blev vurderet ved genotyper af glutathion-S-transferaser og quinonreduktase.

Der blev også målt en række biomarkører, der kan belyse risiko for hjertekarsygdom. I projektet målt inflammationsmarkørerne interleukin 6 (IL6), for dette menes at knytte sig til inflammation med øget produktion af plasma-komponenter, der øger viskositet og celleaggregation og oxidativt stress, især i relation til lipider og protein i plasma eller urin. Lipidoxidation kan måles som bl.a. F₂-isoprostaner (med f.eks. ELISA) og malondialdehyd (MDA). Markører for inflammation og blod-



Figur 2. Effekt af partikler på risiko for kræft og hjertesygdom

viskositet blev målt i form af fibrinogen, C-reaktivt protein i plasma og hæmoglobin, erythrocyttal, erythrocytvolumen og trombocytal i blod (finansieret af ISMF). Endvidere blev det forsøgt at måle F₂-isoprostaner (8-epi-PG F₂α) i urin med ELISA. Trods mange forsøg på optimering af dette assay lykkedes det ikke at få tilstrækkelig kvalitet af data til at de kan benyttes. IL6 målingen var ligeledes problematisk, da det anvendte assay ikke er tilstrækkeligt sensitivt til at måle de niveauer, der er i plasma uden sværere grad af inflammatorisk tilstand. Vi har også udviklet metoder til at måle udtryk af forsvarsenzymer mod DNA skade og oxidativt stress. Dem forsøger vi at bruge til at måle på prøver fra forsøgspersonerne i dette projekt (finansieret af ISMF), men målinger er endnu ikke afsluttede pga. tekniske problemer.

Resultater og diskussion

Undersøgelserne viste, at den personlige eksponering for partikler er betydelig og at den gennemsnitlig er højere end selv i de trafikerede gader. Der var betydelig forskel på sæsonerne, således at eksponering var betydeligt lavere om sommeren end efterår, vinter eller forår. Om sommeren var den personlige eksponering afhængig af niveauet lige uden for boligen, mens niveauet inde i boligen var bestemmende for personlig eksponering de andre 3 sæsoner, især vinter. Indendørs kilder som tændte stearinlys og passiv røg bidrog væsentligt til eksponering indendørs, især om vinteren. Der var ikke signifikant sammenhæng mellem personlig eksponering og samtidige målinger på de faste målestationer.

Der fandtes ingen sammenhæng mellem eksterne eksponeringsmål og biomarkører relateret til PAH eksponering, dvs. 1-hydroxypyren i urin og addukter til DNA i lymfocytter. I en tidligere undersøgelse af mere massiv udsættelse for luftforurening blandt buschauffører i København blev der fundet forøgede addukter hos de mest eksponerede chauffører (Autrup et al. 1999). Imidlertid er der heller ikke ved sammenligning mellem studenter, der bor i Athen og i en lille studenterby 60 km uden for Athen fundet tegn på at udendørs PM_{2.5} øger PAH

addukter (Kyrtopoulos et al).

Der var signifikant korrelation mellem oksidation af guanin i DNA i lymfocytter og personlig eksponering for PM_{2.5} (Sørensen et al. i trykken). Derimod var der ikke signifikant sammenhæng med andre mål for oksidative skader på DNA i lymfocytter i form af oksiderede baser og strengbrud eller med udskillelse af reparationsprodukt i urinen. I føromtalt undersøgelse af buschauffører var der effekt af eksponering på dette reparationsprodukt i urinen, mens oksidative skader ikke blev målt i lymfocytter (Autrup 1999). Det er muligt, at den mest følsomme biomarkør i denne sammenhæng er oksidation af guanin i DNA.

I den ene målekampagne, hvor kulbrinte målinger blev gennemført, var benzen under detektionsgrænsen for de passive diffusionsopsamlere. Ligeledes var koncentrationen af benzenmetabolitter under detektionsgrænsen i urin. Ved en tidligere kampagne i 1998 var det muligt at måle både koncentrationerne i luften og i urinen (Sørensen et al. i trykken; finansieret af ISMF). Benzenindholdet i benzinen er ikke blevet reduceret i den mellemliggende periode. En sådan reduktion fandt sted i 1998, inden den første målekampagne. Imidlertid er andelen af biler med katalysatorer steget mellem de to kampagner, ligesom forskellige meteorologiske forhold kan have indvirket på resultaterne.

Ingen af følsomhedsmarkørerne i form af genotyper for metabolismeenzymer havde nogen effekt på biomarkørerne for biologisk effektiv dosis eller sammenhængen med den personlige eksponering for partikler. Derimod var der signifikant effekt af genotype på sammenhængen mellem benzeneksponering og DNA skade i lymfocytter.

Proteinoksidation i plasma viste signifikant sammenhæng med udsættelse for PM_{2.5}. Hos kvinder viste erythrocytvolumen og hæmoglobin samt lipidoksidation målt som MDA i plasma ligeledes signifikant sammenhæng med udsættelse for partikler (Sørensen et al. i trykken). I føromtalt undersøgelse af buschauffø-

rer var der ligeledes sammenhæng mellem eksponering og oksidation af protein og lipid (Autrup et al 1999). Fibrinogen og C-reaktivt protein i plasma og de få målbare koncentrationer af IL6 viste ingen sammenhæng med eksponeringen.

De indsamlede PM_{2,5} filtre er hos en tysk samarbejdspartner under analyse for deres indhold af metaller og evne til at forårsage oksidativt stress *in vitro*. De foreløbige resultater er særdeles interessante og synes at bekræfte fund af de oksidativt stress relaterede effekter. De endelige resultater afventes med spænding.

DMUs AirGIS system er baseret på den tidligere nævnte gadeluftmodel OSPM (Berkowicz et al., 1997; Jensen et al. 2001). Dette system er baseret på digitale kort og registerdata til generering af de nødvendige input data for beregninger med OSPM. Inden for SMP98 projektet er der udviklet et program, som ud fra GPS data kan generere den rute de studerende har fulgt under kampagnen. OSPM kan derefter anvende denne rutefil til beregning af luftforurening langs ruten. Efterfølgende kan disse beregningsresultater sammenlignes med måledata. Systemet blev færdig i den sidste del af projektet og resultaterne er derfor endnu ikke publicerede.

Konklusion

Disse resultater tyder på, at selv moderat udsættelse for fine partikler som borger i København kan forårsage oksidativt stres. Dette kan være vigtigt for risiko for kræft, udvikling og forværring af hjertesygdom og udløsning af astmaanfald. Oksidativ beskadigelse af DNA menes at være involveret i mutationer og initering og evt. promotion af kræft. Oksidativt stress menes også at være vigtig ved astma og andre inflammatoriske luftvejssygdomme. I relation til hjertekarsygdom kan oksidativt stress og lipidoksidation fremme selve den atherosclerotiske proces i karvæggen. Desuden vil et øget erythrocytvolumen medføre øget viskositet, som kan medvirke til udløsning af akut iskæmi i hjertet og evt. en blodprop. Den personlige eksponering for luftforurening er af-

hængig af sæson og adfærd. I denne population af studenter ser det ud til at eksponering inden-dørs er væsentligst for den samlede eksponering i vinterhalvåret, mens udendørs kilder ser ud til at være væsentligst i sommerhalvåret.

Projektet har modtaget støtte fra Det Strategiske Miljøforskningsprogram og Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenters Fond.

Referencer

1. Autrup H, Daneshvar B, Dragsted LO, Gamborg M, Hansen ÅM, Loft S, Okkels H, Nielsen F, Nielsen PS, Raffn E, Wallin H, Knudsen LE. *Biomarkers for exposure to ambient air pollution – comparison of carcinogen adduct levels with other exposure markers and markers for oxidative stress*. Environ Health Perspec 1999;107:233-8.
2. Berkowicz R, Hertel O, Sørensen NN, Michelsen JA. *Modelling Air Pollution from Traffic in Urban Areas*. Perkins RJ, Belcher SE (Eds). Proceedings from IMA meeting on “Flow and Dispersion Through Obstacles”, Cambridge, England, 28 to 30 Mar., 1994, 1997 pp. 21-142.
3. Hertel O, Jensen SS, Andersen HV, Palmgren F, Wählin P, Skov H, Nielsen IV, Sørensen M, Loft S, Raaschou-Nielsen O. *Human exposure to traffic pollution*. Experience from Danish studies. Pure Appl Chem 2001;73:137-45.
4. Jensen SS, Berkowicz R, Hansen HS, Hertel O. *A Danish decision-support GIS tool for management of urban air quality and human exposures*. Transportation Research Part D: Transport and Environment 2001;6(Issue 4):229-41.
5. Sørensen M, Dragsted LO, Hertel O, Knudsen LE, Loft S. *Personal PM_{2,5} exposure and markers of oxidative stress in blood*. Environ Health Perspectives 2003;111:161-6.
6. Sørensen M, Skov H, Autrup H, Hertel O, Loft S. *Urban Benzene Exposure and Oxidative DNA Damage*. Sci Total Environ, i trykken.
7. Sørensen M, Autrup H, Hertel O, Wallin H, Knudsen LE, Loft S. *Personal exposure to PM_{2,5} in an urban environment and biomarkers of genotoxicity*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, i trykken.

Helbredseffekter af partikulær luftforurening i indemiljø

Arbejde i svinestalde:
Lungernes immunologiske reaktion ved udsættelse for organisk støv

Projekt DAMOS:
Slimhindeeffekter efter eksperimentel udsættelse for støv tilsat glucan eller aldehyd

Center for Miljø og Luftveje – phthalater og allergi

Farevurdering af phthalater mht. adjuvant effekt – resultater fra in vitro forsøg

Miljøadjuvansers betydning for udvikling af luftvejsallergi

Eksposering for phthalater

Arbejde i svinestalde: Lungernes immunologiske reaktion ved udsættelse for organisk støv

Af Hans Jürgen Hoffmann, Martin Iversen, Lungemedicinsk Afd., Aarhus Kommunehospital

I projekt AIBAL (CML Projekt 1.1, Acute Inflammation investigated with Broncho-alveolar lavage) undersøgte 16 personer for inflammation i lungen og for mulige længerevarende effekter af en kort eksponering. Projektet er godkendt af den videnskabetiske komité for Århus Amt og er finansieret af Det Strategiske Miljøforskningsprogram (Center for Miljø og Luftveje), Velux Fonden, Lundbeck Fonden, Aarhus Universitets Forskningsfond og Lungemedicinsk Forskningsafdeling. Det blev gennemført på Lungemedicinsk Forskningsafdeling i samarbejde med Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Institut for Mikrobiologi og Immunologi og Institut for Molekylærbiologi ved Aarhus Universitet, Statens Jordbrugsforskning (SJF) i Horsens og med samarbejdspartnere i Norge og Tyskland.

Baggrunden for undersøgelsen er den voksende viden gennem de sidste ti år om de sundhedsskadelige virkninger ved indånding af organisk støv. Specielt foreligger der en række studier over arbejde i svinestalde, hvor støvudsættelse berører et stort antal personer, i Danmark mindst 20.000. Fra tidligere danske undersøgelser vides det, at arbejdet er årsag til mange symptomer (1) og bevirker på langt sigt fald i lungefunktion, som kan medføre lungeinvaliditet (2), og resultaterne fra de danske undersøgelser bekræftes af udenlandske undersøgelser. Ekspositionsundersøgelser i Danmark og Nordeuropa (3) bekræfter, at arbejde i svinestalde medfører en af højest målte ekspositioner på 5-10 mg/m³ støv.

Igennem de sidste ti år er der også udført en række forskellige undersøgelser med eksperimentel udsættelse af frivillige forsøgspersoner for organisk støv i svinestalde. Alle undersøgelser viser, at der fremkaldes et intenst akut immunologisk respons med ophobning af hvi-



Fig. 1. Hovedansvarlige for undersøgelsen. Fra venstre: cand. scient. Hans Jürgen Hoffmann, overlæge dr. med. Martin Iversen, professor, overlæge dr. med. Ronald Dahl, alle lungemedicinsk afdeling ved Aarhus Kommunehospital.

de blodlegemer i lungen og produktion af stoffer (såkaldte cytokiner), der fremkalder en betændelsesagtig tilstand. Denne reaktion synes i høj grad at være fremkaldt af nedbrydningsprodukter fra gram-negative bakterier i støvet (endotoxiner), som har meget stærke vævsirriterende egenskaber ved selv lave koncentrationer.

I AIBAL studiet valgte man for første gang at bruge forsøgspersoner, hvis reaktion på arbejdsmiljøet var kendt. Desuden lagde vi vægt på realistiske arbejdsbetingelser og ville undgå meget høje ekspositioner, som var blevet anvendt i en del tidligere studier.

Deltagerne blev rekrutteret fra Sund Stald Studiet 1992-1994 (SUS) (4), hvor lungesymp-tomer og lungefunktion hos 2.341 landbrugsele-ver blev fulgt under uddannelse gennem fem år. SUS undersøgelsen udgår fra Aarhus Uni-versitet, Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin. Her fandt man ca. 60 personer, der havde ud-viklet lungesymp-tomer (trykken for brystet, hvæsende vejrtrækning eller vedvarende hoste) mens de arbejdede i svinestalde, og hvor symp-tomerne svandt efter ophør med arbejdet. Otte af disse personer med ”svage” lunger blev rekrutteret, og ligeledes otte kontroller, der ikke havde udviklet symptomer under arbejde i svinestalde. Vi havde kontaktet 60 personer for at finde de 16, vi havde brug for. En deltager skiftede mening og blev sendt hjem. To del-tagere måtte ekskluderes, da de alligevel ikke opfyldte betingelserne. Ingen af deltagerne, der gennemførte forsøget, havde arbejdet i en svi-nestald de sidste tre år.

For at få fat i deltagerne holdt vi tre rekrutte-ringsmøder, hvor vi fortalte hvad undersøgel-sen gik ud på og hvordan vi kunne forestille os at undersøgelsen ville gavne. De potentielle deltagerere måtte overnatte i patienthotellet på Aarhus Kommune Hospital i forbindelse med forsøgsdagene og fik udbetalt erstatning for tabt arbejdsfortjeneste.

Forsøget strakte sig over tre uger med i alt fem undersøgelsesdage. Der blev udført måling af lungefunktion (lungevolumen og iltoptagelse (diffusion)), måling af bronkial reaktivitet ved histaminprovokation og undersøgelse af de im-munologiske forhold i blodet og i lungerne ved kikkertundersøgelse (bronkoskopi) med skyl-ning af et lille lungesegment (bronkoalveolær lavage, BAL) en uge før og dagen efter ekspo-sitionen. Desuden blev personerne undersøgt en uge og to uger efter ekspositionen, dog uden BAL.

Forsøget bestod af en tre timers eksponering. To af deltagerne, en læge og en bio-analytiker, kørte til gården Stenkær ved Horsens kl. 7.00 om morgenen, hvor der blev skiftet tøj inden opholdet i svinestalden. Her mødtes de med to teknikere fra SJF Horsens, der stod for måling

af eksponeringsgraden. Under opholdet i svin-estalden udførte personerne et lettere fysisk ar-bejde, som simulerede arbejdet i stalden. Da påvirkningen indtræder meget hurtigt blev der taget blodprøver for hver time under opholdet i stalden og med længere intervaller resten af døgnet. Næste morgen blev der foretaget BAL. De sidste to deltagere gennemførte undersøgel-sen i vinteren 2000/2001.



Figur 2. Forsøgsperson under ophold i svinestald.

Resultaterne af undersøgelsen viser, at de føl-somme deltagere havde et svagere cellulært immunsvar end personerne uden symptomer, og samtidigt forsøgte kroppen at yde et stærkere humoralt svar (dvs. ved hjælp af antistof-fer) gennem komplement aktivering, som er en del af kroppens forsvarssystem over for mikro-organismer. Der var også en synlig påvirkning af hvordan kroppens immunsystem tilpassede sig omgivelserne (det adaptive immunsystem), idet personerne med symptomer fik et øget be-redskab af immunceller (dendrit celler og T lymfocytter) i lungerne og i blodet. Vi under-søgte næsens respons gentagne gange under



Figur 3. Blodprøvetagning under forsøg.

antagelse af, at næsen er den øverste del af lungen. I næsen kom et akut respons en time efter eksponeringen, og en anden bølge af reaktioner dagen efter eksponeringen, hvor vi også undersøgte lungerne. Der var ændringer i cellefordelingen i næsen selv to uger efter ekspositionen, tydende på langvarige effekter af selv en enkelt kort eksposition.

Forsøget viste meget tydeligt, at også en svag eksponering medfører et inflammatorisk respons og at den påvirker immunsystemet i længere tid end de to uger, vi fulgte deltagerne. Desuden er det tydeligt, at følsomme deltagere har et andet inflammatorisk respons end normale. Dette stiller spørgsmålstegn ved relevansen af resultaterne af de undersøgelser, der er lavet på uselekerede deltagere.

Resultaterne fra denne undersøgelse er delvis indsendt til publikation i to internationale tidskrifter. Der foreligger materiale til yderlige tre publikationer.

Referencer

1. Iversen M, Dahl R, Korsgaard J, Hallas T, Jensen EJ. *Respiratory symptoms in Danish farmers: an epidemiological study of risk factors*. Thorax 1988;43:872-7.
2. Iversen M, Dahl R. *Working in swine-confinement buildings causes an accelerated decline in FEV1: a 7-year follow-up of Danish farmers*. Eur Respir J 2000;16:404-8.
3. Takai H, Pedersen S, Johnsen JO et al. *Concentrations and emissions of airborne dust in livestock buildings in Northern Europe*. J Agric Eng Res 1998;70:59-77.
4. Sigsgaard T, Hjort C, Omland O, Miller MR, Pedersen OF. *Respiratory Health and Allergy Among Young Farmers and Non-Farming Rural Males in Denmark: The SUS Study*. Journal of Agromedicine 1997;4:63-78.

Projekt DAMOS: Slimhindeeffekter efter eksperimentel udsættelse for støv tilsat glucan eller aldehyd

Af L. Mølhavé¹, T. Sigsgaard¹, S. K. Kjærgaard¹, J. E. Juto², K. Andersson³, L. Bodin⁴, G. Stridh³, J. Bønløkke¹, E. B. Jørgensen¹, Håkan Löfstedt³, T. Karlsson³

I vandskadede bygninger ved man, at der kan opstå vækst af mikroorganismer, som påvirker beboerne, enten ved afgivelse af sporer, gasser eller dampe mens mikroorganismene er i live, eller gennem dele af de sønderdelte døde celler. Et af de stoffer, som findes i cellevæggen er β -(1,3)-D-Glucan, som frigives til indemiljøet når cellerne dør. β -(1,3)-D-Glucan er da også fundet i bygninger med vandskade.

Fra mange forskellige byggeprodukter afgives naturligt aldehyder til indemiljøet og denne afgivelse øges ved fugtskader. Eksempler på produkter, som afgiver aldehyder, er træ, linoleum gulvbelægning og linoliebaserede malinger. Målinger af luftens indhold af flygtige organiske forbindelser (VOC) viser, i de fleste bygninger, forekomster af tunge aldehyder (C_6 - C_{12}). Flertallet af aldehyder anses for at være luftvejsirriterende og kan således være en anden årsag til at der opstår irritation ved ophold i fugtskadede bygninger.

DAMOS projektets formål er derfor at undersøge, om inhalation af β -(1,3)-D-Glucan eller aldehyder provokerer inflammatoriske effekter og forøger frigørelsen af cytokiner (signalstofferne IL1 og IL8) fra de udsatte personers slimhinder. Samtidigt er det ønsket at undersøge, om der er sensoriske eller respiratoriske forandringer som følge af udsættelsen.

Forskellige personer vil reagere forskelligt på udsættelse for bio-aerosoler (luftbårne partikler med indhold af biologisk materiale) afhængigt af individuelle sårbarhedsfaktorer.

I projektet blev normale personer sammenlignet med personer, som var histamin hyperreaktive i næseslimhinden, og personer med allergi. Disse personer blev, i klimakammeret ved Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet, udsat for ren luft, standard kontorstøv, standard kontorstøv tilsat β -(1,3)-D-Glucan og standardstøv tilsat aldehyder. Før, under og efter eksponeringen undersøgte vi en række forskellige parametre, der alle tidligere er blevet beskrevet som værende associerede med en inflammatorisk reaktion i slimhinderne. I undersøgelserne indgik frivillige forsøgspersoner. Deres deltagelse fulgte nøje nationale og internationale regler for sådanne forsøg. Forsøget var godkendt af den videnskabetiske komite for Århus Amt.

Den eksperimentelle del med humane eksponeringer, indsamling af data og biologiske prøver er afsluttet og de fleste analyser af data er overstået.

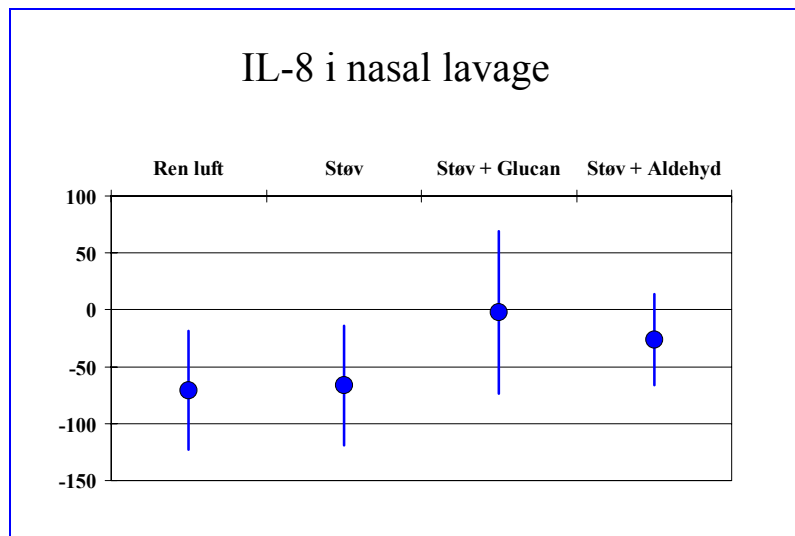
De første analyser af sammenhængen mellem reaktionerne i luftvejene og eksponering for de forskellige støvtyper viste en effekt på cytokin-koncentrationen (IL-8) i nasal lavage umiddelbart efter eksponeringen i kammeret, se fig 1. Analysen viste, at der muligvis er en forskel mellem reaktioner på ren luft og det støv, som var tilsat aldehyd og glucan. Dette tyder på, at der er en øget effekt af cytokinfrisætningen i næseslimhinden, når støvet tilsættes glucan eller aldehyder.

1 Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet

2 Huddinge Universitetssjukhus, Öron, Näsa, Halskliniken, SE-14186 Stockholm

3 Yrkes- og miljömedicinska kliniken, Universitetssjukhuset Örebro

4 Kliniskt Forskningscentrum, Universitetssjukhuset Örebro

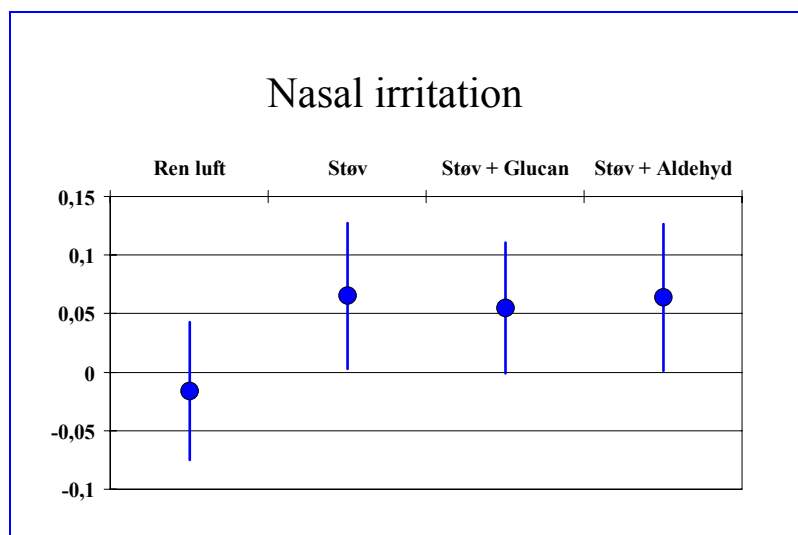


Figur 1. Middelændring og 95% sikkerhedsinterval for interleukin-8 koncentrationer i nasal lavage (pg/ml) blandt 36 personer eksponeret for forskellige typer husstøv ($p = 0,042$ for eksponeringseffekt i en parret data variansanalyse).

Eksperimentelle undersøgelser som den her skitserede kan være svære at overføre til den virkelige verden, bl.a. fordi der kun er undersøgt få personer og de kun er udsat for støvet få gange og i begrænset tid.

Personerne førte en logbog over irritation i næsen i løbet af forsøget og optegnelser fra denne logbog viser irritation i forbindelse med støvudsættelsen, hvilket stemmer med ændringer af næsevolumen og frigivelse af signalstoffer.

Vi undersøgte også effekten af eksponeringerne på nasal volumen og fandt et signifikant fald.



Figur 2. Ændringen i selvrapporteret nasal irritation som følge af støveksposeringerne (skala 0 - 1). Figuren angiver middelværdier og variation om middelværdien for forsøgspersoners reaktioner på ren luft og de tre typer støv.

Selv om ikke alle analyser er overstået, tyder undersøgelserne på, at støv i koncentrationer, der ikke er usædvanlige for danske boliger, påvirker os. Resultaterne tyder også på, at aldehyd- eller glucan-tilsat støv har større effekt på slimhinden end almindeligt støv, og vi kan ydermere se, at overfølsomme har en større daglig variation i nasal volumen end ikke overfølsomme personer.

Den samlede konklusion synes derfor at blive, at inhalation af β -(1,3)-D-Glucan eller aldehyder provokerer inflammatoriske effekter og forøger frisættelsen af cytokiner (signalstofferne IL1 β og IL-8) fra næseslimhinden. Undersøgelserne viste også, at der, sammen med de inflammatoriske forandringer, findes sensori-

ske og respiratoriske reaktioner som følge af udsættelsen.

Det er kendt, at fugt i bygninger fører til emission af kemiske stoffer og skimmelvækst. Disse resultater underbygger således hypotesen, at fugt i bygninger, f.eks. som følge af vandskader, kan bidrage til irritation og diskomfort og muligvis egentlige sundhedsskader blandt beboerne.

Projektet har modtaget støtte fra Det svenske Byggeforskningsråd og fra Formas, Sverige samt fra Det Strategiske Miljøforskningsprogram og fra Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenters fond.



Figur 3. Måling af næsens volumen i klimakammeret ved Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet under påvirkninger af luftforureninger. (Foto reproducet efter aftale med de implicerede).

Center for Miljø og Luftveje – phthalater og allergi

Af Otto Melchior Poulsen¹, Gunnar Damgaard Nielsen¹, Lars K. Poulsen², Ole Ladefoged³, og Thomas Schneider¹

Denne artikel giver en oversigt over de problemstillinger, Center for Miljø og Luftveje (CML) har belyst i forskningen vedrørende den mulige sammenhæng mellem udsættelse for phthalater og udviklingen af allergi. De efterfølgende tre artikler præsenterer de vigtigste resultater inden for dette forskningsområde.

Samlet kan CMLs forskning i phthalater udtrykkes i følgende overordnede konklusioner:

Undersøgelser i forsøgsdyrmodeller viser, at phthalater kan have adjuvante egenskaber, som forstærker produktionen af de typer af antistoffer (IgG1 og IgE), der er involveret i den allergiske reaktion.

Adjuvanseffekten af phthalater er stærkt afhængig af længden af alkoholsidekæden – maximum ved DEHP (C₈) og DIHP (C₉). De kortkædede phthalater (DBP og BBP) har ingen eller kun ringe adjuvanseffekt. Undersøgelser på isolerede lungeepitelceller viser ligeledes, at såvel de toksiske som de stimulerende effekter af phthalater stiger med stigende længde af sidekæden.

Mennesker udsættes for phthalater både ved oral indtagelse, gennem huden og ved indånding. Mængden af phthalater i støv i boliger, institutioner og skoler er så høj, at en adjuvant effekt på mennesker bedømmes at være en reel mulighed.

Der er behov for epidemiologiske undersøgelser, som klart kan dokumentere problemets faktiske omfang i Danmark.

Der foreligger ingen undersøgelser af adjuvanseffekter af de stoffer, der foreslås anvendt ved substitution af phthalater som blødgørere i PVC.

Baggrund og problemstilling

En lang række undersøgelser har konsistent vist en foruroligende stigning i forekomsten af allergisk høfeber og astma, især blandt børn, i løbet af de seneste par årtier i de industrialiserede lande (Burkholter and Schiffer 1995; Peterson and Saxon 1996; Butland et al. 1997; Schäfer and Ring 1997; Beasley et al. 2000), inklusive Danmark (Keiding 1997). I dag har 15-20% af de danske børn symptomer på astma, høfeber eller andre allergiske lidelser (Saval et al. 1993; Bindslev-Jensen and Brandrup 1997). En del af denne stigning skyldes utvivlsomt, at der er sket en ændring af diagnostisk praksis, men flere undersøgelser tyder på, at ”vestlig” livsstil har betydning for den observerede stigning i forekomsten af allergisk høfeber og astma. Vi ved imidlertid ikke hvilke specifikke faktorer, der især har bidraget til denne stigning, og vi ved derfor ikke, hvor en forebyggelse mest effektivt kan sættes ind.

Tre forskellige hypoteser søger at forklare stigningen i allergisk høfeber og astma. De tre hypoteser udelukker ikke gensidigt hinanden, og det er tænkeligt, at alle tre kan bidrage til at forklare stigningen i allergi. De tre hypoteser er:

”Allergenteorien” - udsættelsen for allergener er steget. Dette synes at være tilfældet for husstøvmider (Hirsch et al. 2000), men derimod næppe for udendørs allergener såsom pollen og sporer fra skimmelsvampe.

1 Arbejds miljøinstituttet

2 Rigshospitalet, Laboratoriet for Medicinsk Allergologi, Allergiklinikken afsnit 7551

3 Institut for Fødevarersikkerhed og Ernæring, Fødevaredirektoratet

”Hygiejneteorien” – udsættelse for mikroorganismer og/eller biologisk aktive stoffer fra mikroorganismer er ændret (faldet), hvilket ændrer stimuleringen af immunsystemet fra tolerance (et dominerende Th-1 respons) til sensibilisering (et dominerende Th-2 respons). En lang række forskellige studier synes at støtte denne hypotese. Nogle undersøgelser tyder f.eks. på, at en øget risiko for infektioner i de første leveår reducerer risikoen for at udvikle allergi (Strachan 2000). Teorien forudsiger imidlertid, at prævalensen af Th1-sygdomme (insulinkrævende sukkersyge, leddegigt) skulle falde i takt med at Th2-sygdomme (allergier) stiger, og dette synes ikke at være tilfældet. Teorien er derfor af flere modificeret til at inddrage dæmpende faktorer fra f.eks. bakterier, som fører til dannelse af såkaldte Th3- eller regulerende T-celler. For nyligt viste en større europæisk undersøgelse, at udsættelse for endotoxin fra Gram-negative bakteriers cellevæg skifter immunsystemets balance i retning af tolerance og dermed reducerer risikoen for at udvikle allergi (Braun-Fahrlander et al. 2002).

”Adjuvansteorien” – Udsættelse for forureninger med adjuvante egenskaber er steget. Det er velkendt, at en række stoffer har adjuvant effekt, dvs. evnen til at stimulere immunsystemets reaktion overfor naturligt forekommende allergener. Størst fokus har været på dieselpartikler og PAHer (Peterson and Saxon 1996, Løvik et al. 1997, Ormstad et al. 1998).

CMLs forskning i helbredseffekter af phthalater er knyttet til adjuvansteorien. Interessen blev vakt af norske undersøgelser, der tydede på en sammenhæng mellem mængden af bløde PVC-gulvbelægninger i hjemmet og forekomst af astma blandt børn (Øie et al. 1997; Jaakkola et al. 1999). Den norske forskergruppe antydede en mulig sammenhæng mellem udsættelse for phthalater og udvikling af astma.

Phthalater dominerer gruppen af plastblødgørere, og phthalater udgør en gruppe af ”high-volume” kemikalier, der anvendes i enorme mængder til blødgøring af PVC-holdige materialer og produkter, så som gulvbelægninger,

ringbind, chartekker, tape, kabler, emballage, bideringe, legetøj mv. Blød PVC kan indeholde 20-50% phthalater. Som følge af den udbredte brug er hele den danske befolkning i større eller mindre grad eksponeret gennem et regelmæssigt brug af produkter, der indeholder og frigør phthalater.

Risikovurdering af phthalater vanskeliggøres af en generel mangel på valide data om eksponeringsniveauer og -veje samt af mangel på data om fareidentifikation i forhold til allergi og adjuvant effekt. CMLs forskning har derfor haft til formål at bidrage med viden til de forskellige elementer i en samlet risikovurdering.

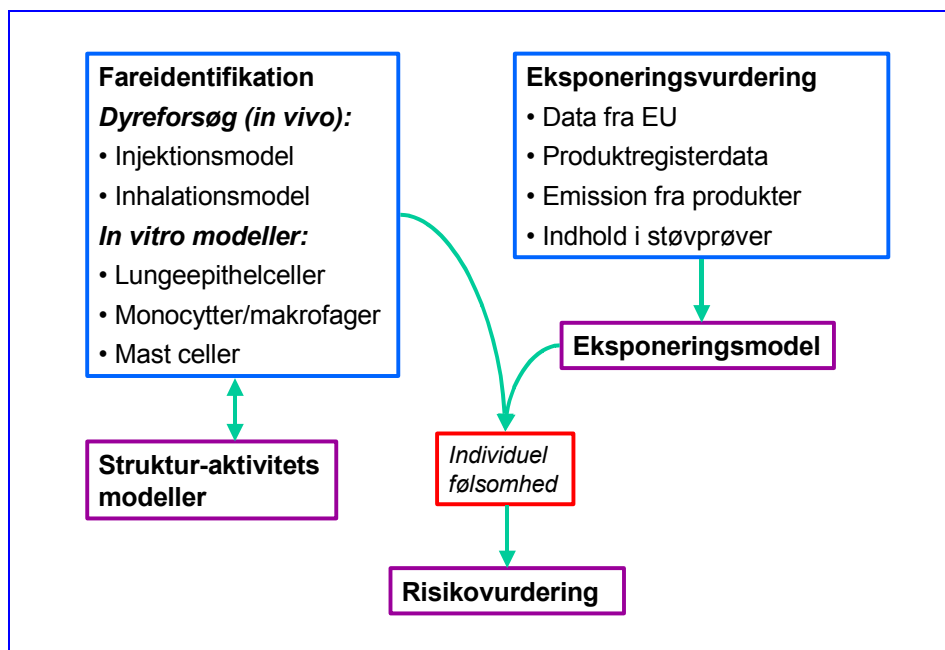
Elementer i CMLs risikovurdering af phthalater

Figur 1 skitserer elementerne i CMLs bidrag til risikovurdering af phthalater i forhold til adjuvant effekt.

Fareidentifikation

Fareidentifikation har til formål at opnå viden om et stofs iboende, skadelige egenskaber, dvs. den potentielle fare for at udvikle en specifice ret, skadelig helbredseffekt ved udsættelse for den pågældende forurening. Fareidentifikation baseres på resultater fra kontrollerede humane eksponeringsforsøg, på undersøgelser i forsøgsdyrsmodeller (*in vivo*) eller på undersøgelser i *in vitro* modeller, f.eks. baseret på isoleerede organer eller cellekulturer.

Generelt tillægges humane eksponeringsstudier størst vægt, mens undersøgelser i forsøgsdyr er mindre konklusive. Ofte findes konklusive resultater om fareidentifikation alene fra undersøgelser på forsøgsdyr. Disse tillægges især vægt, hvis den anvendte eksponeringsvej og de anvendte eksponeringskoncentrationer er sammenlignelige med de forhold, der er fremherskende ved eksponeringen af befolkningen. *In vitro* studier opfattes primært som indikative.



Figur 1. Elementer i CMLs risikovurdering af phthalater

CML har gennemført undersøgelser af de fem vigtigste phthalater (DEHP, DINP, DIDP, BBP, DBP) og deres nedbrydningsprodukter (6 forskellige monophthalater) både *in vitro* på isolerede cellelinier og i forsøgsdyrmodeller på BALB/c mus, der er en velkendt ”high responder” stamme mht. at udvikle et allergisk IgE immunrespons overfor modelallergenet ovalbumin.

CMLs forskning har endvidere taget hul på udvikling af struktur-aktivitetsmodeller, der kan anvendes til at forudse biologiske effekter af forskellige plastblødgørere på baggrund af deres fysisk-kemiske egenskaber.

I toksikologien skal fareidentifikationen føre frem til et estimat af N(L)OAEL (No (Low) Observed Adverse Effect Level). I denne sammenhæng udgør særligt følsomme individer en central problemstilling, der også bør inddrages i en risikovurdering. CMLs forskning i phthalater har ikke omfattet dette aspekt, der derimod har en fremtrædende rolle i CMLs forskning i luftvejseffekter af mikroorganismer.

Eksponeringsvurdering

I eksponeringsvurderingen indsamles kvantitative data om de vigtigste kilder og eksponeringsveje og -koncentrationer. Ideelt set anvendes disse data i en eksponeringsmodel, der kan anvendes til at beregne eksponeringsniveauet for subgrupper af befolkningen (eller enkeltpersoner), f.eks. i epidemiologiske undersøgelser. Eksponeringsmodeller anvendes tillige til at forudse den forventede effekt af en intervention eller regulering, der har til formål at nedbringe befolkningens eksponering.

For phthalater er eksponeringsvejene uklare, og der mangler metoder til at måle intern dosis og effekt. I CMLs projekter har fokus derfor været på at kortlægge produktets sammensætning og deres anvendelse samt på at undersøge, hvordan phthalater transporteres fra produkter til indeklimastøv, der herefter vil udgøre en potentiel kilde til eksponering via inhalation.

Risikovurdering

I risikovurderingen sammenholdes data fra eksponeringsvurderingen med den værdi for N(L)OAEL, der i fareidentifikationen er blevet fastlagt for den kritiske effekt. Den faktor, som N(L)OAEL ligger over det estimerede eksponeringsniveau for befolkningen, eller særligt udsatte subgrupper heraf, betegnes MOS (margin of safety).

Traditionelt fokuserer risikovurdering på enkelte kemiske stoffer og ikke på grupper af stoffer med sammenlignelige egenskaber. Når der er akkumuleret tilstrækkeligt med dokumentation for skadelige effekter af et givent kemisk stof, vil en regulering af brugen af dette stof ofte føre til, at det bliver erstattet med et andet stof, der har tilsvarende tekniske egenskaber. Det er i denne forbindelse vigtigt, at det alternative stof ikke har mindre dokumentation for mulige skadelige effekter end det stof, der erstattes.

Projektet har modtaget støtte fra Det Strategiske Miljøforskningsprogram.

Referencer

- Beasley R, Crane J, Lai CKW, Pearce N. *Prevalence and etiology of asthma*. J Allergy Clin Immunol 2000;105:466-72.
- Bindslev-Jensen C, Brandrup F. *Atopisk dermatitis*. Ugeskr Laeger 1997;159:6199-6204.
- Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, Maisch S, Carr D, Gerlach F, Bufe A, Lauener RP, Schierl R, Renz H, Nowak D, von Mutius E. *Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children*. N Engl J Med 2002;347:869-77.
- Burkholter D, Schiffer P. *The epidemiology of atopic diseases in Europe - A review*. Allergy and Clinical Immunology News 1995;7:113-25.
- Butland BK, Strachan DP, Lewis S, Bynner J, Butler N, Britton J. *Investigation into the increase in hay fever and eczema at age 16 observed between the 1958 and 1970 British birth cohorts*. BMJ 1997;315:717-21.
- Hirsh T, Hering M, Bürkner K, Hirsch D, Leupold W, Kerkmann M-L, Kulisch E, Jatzwauk L. *House-dust-mite allergen concentrations (Der f 1) and mold spores in apartment bedrooms before and after installation of insulation windows and central heating systems*. Allergy 2000;55:79-83.
- Jaakkola JJ, Øie L, Nafstad P, Botten G, Samuelson SO, Magnus P. *Interior surface materials in the home and the development of bronchial obstruction in young children in Oslo, Norway*. Am J Public Health 1999;89:188-92.
- Keiding L. *Astma, allergi og anden overfølsomhed i Danmark - og udviklingen 1987-1994*. Dansk Institut for Klinisk Epidemiologi, København, 1997. ISBN nr. 87-89662-98-9.
- Løvik M, Hogseth AK, Gaarder PI, Hagemann R, Eide I. *Diesel exhaust particles and carbon black have adjuvant activity on the local lymph node response and systemic IgE production to ovalbumin*. Toxicology 1997;121:165-78.
- Ormstad H, Gaarder PI, Johansen BV, Løvik M. *Airborne house dust elicits a local lymph node reaction and has an adjuvant effect on specific IgE production in the mouse*. Toxicology 1998;129:227-36.
- Peterson B, Saxon A. *Global increases in allergic respiratory disease: the possible role of diesel exhaust particles*. Ann Allergy Asthma Immunol 1996;77:263-70.
- Saval P, Fuglsang G, Madsen C, Osterballe O. *Prevalence of atopic disease among Danish school children*. Pediatr Allergy Immunol 1993;4:117-22.
- Schäfer T, Ring J. *Epidemiology of allergic diseases*. Allergy 1997;52 (suppl. 38):14-22.
- Strachan DP. *Family size, infection and atopy: The first decade of the "hygiene hypothesis"*. Thorax 2000;55(suppl 1): S2-S10.
- Øie L, Hersoug L-G, Madsen JØ. *Residential exposure to plasticizers and its possible role in the pathogenesis of asthma*. Environ Health Perspect 1997;105:972-8.

Farevurdering af phthalater mht. adjuvant effekt – resultater fra *in vitro* forsøg

Af Karen Frydendall Jepsen¹, Christian Glue², Lars K. Poulsen² og Otto Melchior Poulsen¹

Baggrund og problemstilling

Nyere undersøgelser tyder på, at nogle phthalater måske har adjuvant effekt, der kan forstærke sensibiliseringen over for allergener eller forstærke udløsningen af astmareaktioner hos allergiske personer (Øie et al. 1997, Jaakkola et al. 1999).

Farevurdering har til formål at opnå viden om et stofs iboende, skadelige egenskaber, dvs. den potentielle fare for at udvikle en specificeret, skadelig helbredseffekt ved udsættelse for det pågældende stof. Farevurderingen baseres ofte på resultater fra undersøgelser i forsøgsdyrsmodeller (*in vivo*) eller på undersøgelser i *in vitro* modeller f.eks. baseret på isolerede organer eller cellekulturer. Det er klart, at en simpel *in vitro* model i bedste fald kun kan give en indikation af muligheden for, at et stof har en adjuvant effekt, der kan manifestere sig i det komplette immunsystem.

Påvisning af at et stof kan stimulere isolerede celler til produktion af signalstoffer, der mobiliserer og klargør dele af immunsystemet, kan imidlertid bidrage til en bedre forståelse af hvordan en eventuel adjuvant effekt opstår *in vivo*.

En uspecifik mekanisme kan f.eks. være knyttet til at epitelceller frigør signalstoffer som reaktion på udsættelse for lokalirriterende stoffer. Lungeepitel cellelinien A549 kan f.eks. stimuleres til at frigøre signalstoffet IL-8, der virker proinflammatorisk ved at tiltrække neutrofile granulocytter. Cellelinien danner derimod ikke signalstoffer, der i sig selv kan

forskyde immunsystemets balance i retning af Th-1 (autoimmunitet) eller Th-2 respons (allergi).

In vitro test på mere centrale celler i immunsystemet, f.eks. makrofager, monocytter eller andre antigenpræsenterende celler, kan potentielt bidrage med viden om, hvorvidt teststoffet kan føre til at cellerne frigør signalstoffer og overfladeproteiner, der forskyder immunsystemets balance i retning af Th-1 eller Th-2 respons.

Udvikling af immuntoksikologiske modeller

Arbejds miljøinstituttet og Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin på Aarhus Universitet har i en årrække anvendt cellelinien A549 til at teste det proinflammatoriske potentiale af rene kemiske stoffer og komplekse blandinger som f.eks. organisk støv fra skoler og anlæg til sortering og genanvendelse af husholdningsaffald (Roepstorff & Sigsgaard 1997a; 1997b; Hansen et al. 1997; 1999; Hansen & Poulsen 1999; Allermann Møller & Poulsen 2000).

Baseret på ovenstående overvejelser er der udviklet modeller, hvor man ved måling af mRNA for diverse signalstoffer (cytokiner) kan bestemme, om cellerne bliver stimuleret til produktion af disse (Glue et al. 2002b). Ved at stimulere f.eks. med bakterieprodukter er det i CML blevet vist, at disse modeller har en høj følsomhed. Disse modeller vil kunne anvendes generelt til en hurtig og følsom test af stoffers og materialers immuntoksikologiske effekter, herunder selvfølgelig også test af phthalater.

¹ Arbejds miljøinstituttet

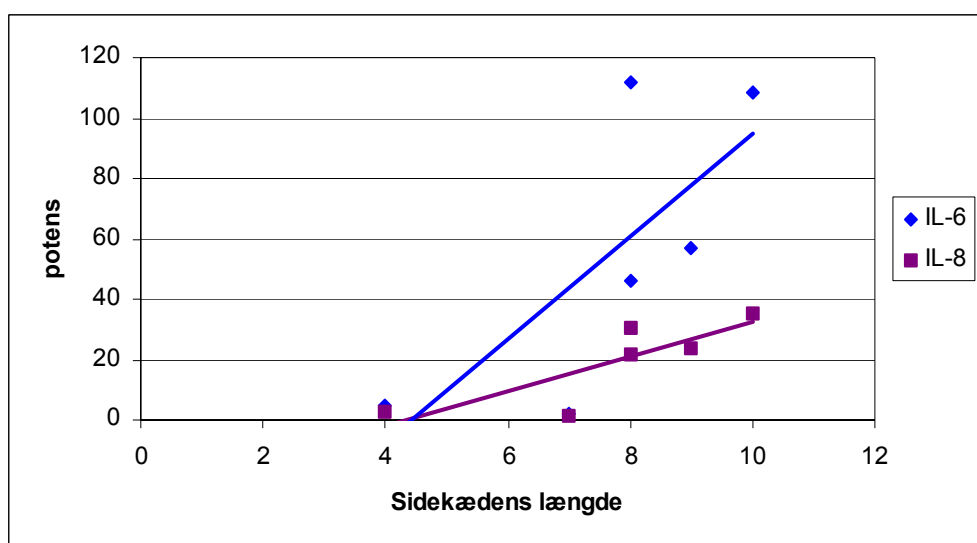
² Rigshospitalet, Laboratoriet for Medicinsk Allergologi, Allergiklinikken afsnit 7551

Inflammatorisk potentiale af phthalater in vitro

I CML har vi testet seks forskellige monophthalater for henholdsvis et uspecifikt, proinflammatorisk potentiale på lungeepithelceller (A549), og et mere specifikt, immunmodulerende potentiale på henholdsvis monocytcellen THP-1 og mononukleære celler isoleret fra blod fra allergiske og ikke-allergiske personer. Overordnet set synes monophthalater stortset udelukkende at have en cytotoxisk

effekt på monocytcellen THP-1 (den cytotoxiske effekt synes at stige med længden af alkoholsidekæden), mens en begrænset cytokineexpression blev observeret i de mononukleære celler fra blod fra allergiske og ikke-allergiske personer (Glue et al. 2002a).

Som vist i figur 1 har monophthalater derimod en distinkt effekt på lungeepithelceller. I overensstemmelse med resultaterne fra *in vivo* forsøg på mus er effekten afhængig af sidekædens længde.



Figur 1. Sammenhæng mellem alkylsidekædens længde og monophthalaters evne til at inducere IL-6 henholdsvis IL-8 sekretion fra lungeepithelceller A549. (Modificeret fra Jepsen et al. 2003). Potens fremkommer ved at udtrykke stimulationsindex pr. mg monophthalat.

Projektet har modtaget støtte fra Det Strategiske Miljøforskningsprogram.

Referencer

Allermann Møller L, Poulsen OM. Inflammatory Potential of dust from waste handling facilities measured as IL-8 secretion from lung epithelial cells in vitro. *Ann Occup Hyg* 2000;44(4):259-69.

Glue C, Millner A, Bodtger U, Jinquan T, Poulsen LK. *In vitro* effects of monophthalates on cytokine expression in the monocytic cell line THP-1 and in peripheral blood mononuclear cells from allergic and non-allergic donors. *Toxicology in Vitro* 2002a;16:657-62.

Glue C, Hansen JB, Schjerling P, Jinquan T, Poulsen LK. *LPS-induced cytokine production in the monocytic cell line THP-1 determined by multiple quantitative competitive PCR (QC-PCR)*. *Scand J Clin Lab Invest*. 2002b;62(6):405-12.

Hansen LA, Poulsen OM, Andersen Nexø BA. *Inflammatory potential of organic dust components and chemicals measured by IL-8 secretion from human epithelial cell line A549 in vitro*. *Ann Agric Environ Med* 1997;4:27-33.

Hansen LA, Poulsen OM, Würtz H. *Endotoxin potency in the A549 lung epithelial bioassay and the limulus amoebocyte lysate assay*. *J Immunol Methods* 1999;226:49-58.

Hansen LA, Poulsen OM. *Correlation between the in vitro inflammatory potential and microbial parameters in dust from indoors environments.* Indoor Air 1999;2:719-24.

Jaakkola JJ, Øie L, Nafstad P, Botten G, Samuelsen SO, Magnus P. *Interior surface materials in the home and the development of bronchial obstruction in young children in Oslo, Norway.* Am J Public Health 1999;89:188-92.

Jepsen KF, Abildtrup A, Larsen ST. *Mono-phthalates promote IL-6 and IL-8 production in the human epithelial cell line A549,* submitted to Toxicology in Vitro 2003.

Roepstorff V, Sigsgaard T. *Cytotoxic effect of organic dust extracts from different working environments, an in vitro assay.* AAEM 1997a;4:195-201.

Roepstorff V, Sigsgaard T. *The Cytotoxic Potential of Household Waste During Composting.* Waste Management and Research 1997b;15:189-96.

Øie L, Hersoug L-G, Madsen JØ. *Residential exposure to plasticizers and its possible role in the pathogenesis of asthma.* Environ Health Perspect 1997;105:972-78.

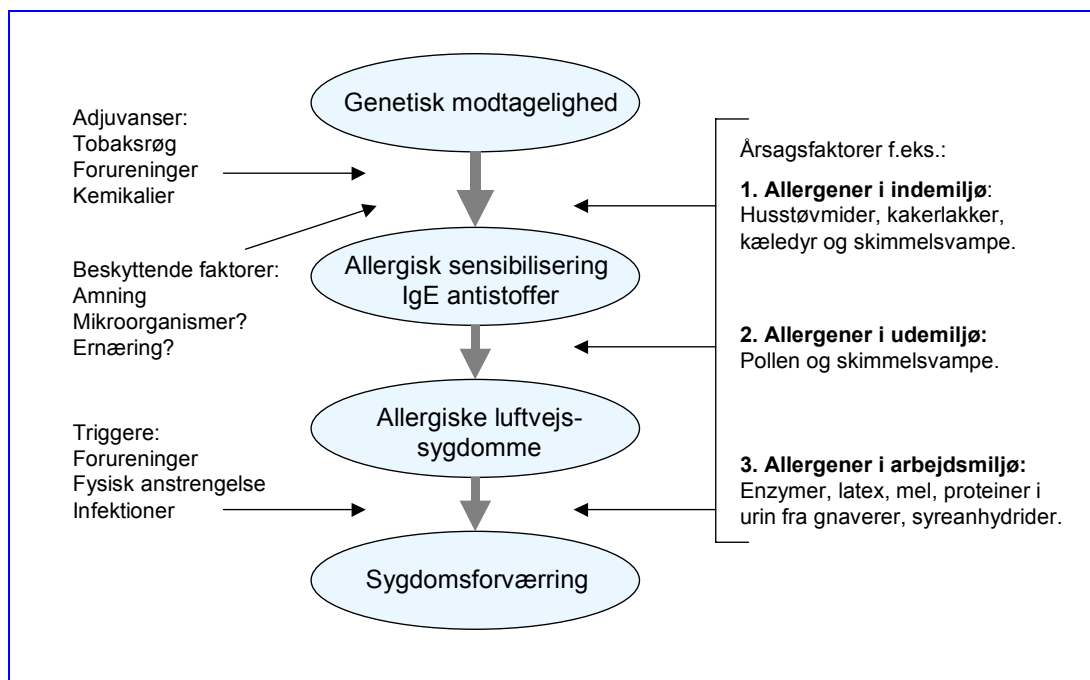
Miljøadjuvansers betydning for udvikling af luftvejsallergi

Af Gunnar Damgård Nielsen, Søren Thor Larsen, Susanne Knoth Clausen og Otto Melchior Poulsen, Arbejds miljøinstituttet

Baggrund og problemstilling

Allergisk astma og rhinitis øges i de vestlige, industrialiserede lande (for oversigt, se f.eks. Nielsen et al. 2002) og de er forbundet med væsentlige samfundsmæssige omkostninger – astma koster årligt det danske samfund omkring 2 mia. kr. (Arbejds miljøinstituttet, upubliceret undersøgelse). Nedbringelse af disse omkostninger er et samfundsmæssigt og patientmæssigt vigtigt mål. Hertil kommer det arbejdsmiljøproblem, at astmatikere er mere følsomme, f.eks. for kold luft, fysisk anstrengelse og luftvejsirritanter.

Allergisk astma og rhinitis opstår i to trin. Først udvikles specifikke IgE antistoffer (sensibilisering) over for et allergen og ved fortsat indånding af allergenet opstår den allergiske sygdom. Udsættelse for allergener er derfor en nødvendig forudsætning for udvikling af allergi, men der er mange fremmede ("adjuvanter") og hæmmende påvirkninger, som er lige så vigtige for sensibilisering og udviklingen af sygdom (figur 1, modificeret fra Ring et al. (2001) og Karol (1994)).



Figur 1. Allergiske luftvejsygdommes udviklingsforløb, modificeret efter Ring et al. (2001) og Karol (1994). Allergenesponering er en nødvendig kausal faktor. Allergener kan stamme fra inde- og udemiljøet og fra arbejdsmiljøet. Allergenerne er nødvendige for sensibilisering, for udvikling af sygdom og de kan udløse sygdomsanfald. Der er imidlertid en lang række modificerende faktorer, som også er vigtige for sygdomsudviklingen, vist i venstre side af figuren.

Det har været et vigtigt mål i CML at udvikle testmetoder - anerkendte OECD guidelines findes ikke - til identifikation af, om stoffer og forureninger kan virke som adjuvanser (fareidentifikation). Endvidere har det været et vigtigt mål at belyse, hvilken rolle en sådan adjuvant egenskab spiller (risikovurdering) i forbindelse med de normale niveauer, mennesker udsættes for. Valget af teststoffer bør tage et andet vigtigt punkt i betragtning: Hvis et stof eller en forurening skal kunne spille en betydende rolle i forbindelse med stigningen i de allergiske luftvejslidelser, er det nødvendigt, at mange mennesker udsættes for eksponeringen. Dieseludstødning udgør en hyppigt forekommende eksponeringstype, som viser adjuvant effekt hos mennesker (Parnia & Frew 2001). Det samme ses hos mus efter injektion såvel som efter intranasal og intratracheal instillation (Granum et al. 2001). Dette lader formode, at fareidentifikation af adjuvanseffekt kan foretages ud fra den simpleste og mest hensigtsmæssige administrationsvej. I modsætning hertil må det formodes, at dyremodeller til risikovurdering bør tage afsæt i inhalationsstudier.

Vi har undersøgt om overfladeaktive stoffer (tensider og sæber) har adjuvanseffekt i en injektionsmodel med mus. I den forbindelse fandt vi, at det anioniske tensid, natriumlaurylsulfat, kunne virke som adjuvans (Clausen et al. 2000). Også det nonioniske, overfladeaktive stof, octyl phenoxy polyethoxyethanol, havde adjuvanseffekt i en dyremodel (Granum et al. 2001). At overfladeaktive stoffer kan virke som adjuvanser er vist i flere uafhængige undersøgelser. Gall viste i en omfattende undersøgelse fra 1967, at en række kationiske overfladeaktive stoffer var potente adjuvanser i en injektionsmodel med marsvin. Quillaja saponin, der er et naturligt plantestof med overfladeaktive egenskaber, kan anvendes som adjuvans i vacciner (Dalsgaard 1978; Chavali et al. 1988). Natriumdodecylbenzensulfonat fremmer udviklingen af antistoffer mod inaktiveret *Bacillus subtilis* proteinase ved indånding hos marsvin (Markham and Wilkie 1976). Intratracheal instillering hos mus af enzymet alkalase og et vaskemiddelprodukt, bestående af tensider, silikat og perborat, viste, at vaskemid-

let virkede som adjuvans og således øgede udviklingen af specifikke IgE og IgG1 antistoffer (Kawabata et al. 1996).

I CML har vi valgt at undersøge phthalater pga. følgende tre forhold:

- 1) Nyere epidemiologiske undersøgelser lader formode, at phthalater kunne være af betydning for udvikling af astma hos børn (Øie et al. 1997, Jaakkola et al. 1999).
- 2) Phthalater anvendes som blødgørere i polymerer, specielt i PVC, hvorfor de anvendes i meget store mængder. Anvendelsen per år i Europa er således for dibutylphthalat (> 20.000 t (DBP)), butylbenzylphthalat (> 20.000 t (BBP)), di(2-ethylhexyl)phthalat (> 400.000 t (DEHP)), di-n-octylphthalat (begrænset anvendelse (DnOP)), diisononylphthalat (> 100.000 t (DINP)) og diisodecylphthalat (> 100.000 t (DIDP)) (Harris et al. 1997).
- 3) Phthalater metaboliseres til den tilsvarende monoester (dvs. MBP, MBnP, MEHP, MnOP, MINP og MIDP), som har egenskaber og strukturer, der på mange måder ligner tensiders.

Screeningsmodel for adjuvanseffekt med henblik på farevurdering

I forbindelse med CML har vi udviklet en generel screeningstest, baseret på en lavdosis metode til sensibilisering af mus. I 70'erne blev det således vist, at mus (Vaz et al. 1971) og rotter (Jarrett 1978) kan udvikle allergenspecifikke IgE antistoffer, hvis allergenet indsprøjtes i lav dosis (ca. 1 µg) under huden sammen med aluminiumhydroxid, der er en potent adjuvans. Det specifikke IgE-respons fremmes ved efter 10 dage (booster 1) og igen 5 dage senere (booster 2) at gentage injektionen af allergen i en lavere dosis (ca. 0,1 µg). Både efter en og to boosters aflives en gruppe mus, og de specifikke IgE-antistoffer måles i serum, enten ved hjælp af en immunokemisk metode (enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)), eller ved hjælp af en hudtest på rotter (passiv kutan anafylaksitest). Den sidste metode anbefales af

det japanske sundhedsministerium til test af allergenicitet (Yakuji Nippo 1995). I CML har vi i screening modellen målt både adjuvans-effekt på IgE og IgG1-responsene, der begge fremmes af de samme Th2 cytokiner (Corry & Kheradmand 1999).

I screening modellen indsprøjtes prøver, f.eks. en tensidopløsning, sammen med ovalbumin (OVA), der anvendes som model-allergen. Dyrene boostes en eller to gange og fem dage senere bestemmes koncentrationen af OVA-specifikke antistoffer i serumprøverne (Løvik et al. (1997; Larsen et al. (2003)) og de sammenlignes med den antistofkoncentration, der opnås i en gruppe mus, der alene har fået samme OVA doser. For hvert stof anvendes en lang række forskellige koncentrationer af teststoffet for ikke at overse en adjuvans-effekt. Aluminiumhydroxid anvendes som den positive kontrol, idet stoffet er en stærk adjuvans. Hvis teststoffet medfører at antistofproduktionen er større end i den gruppe, der alene har fået OVA, har teststoffet adjuvans-effekt. Ved at sammenligne antistofproduktionen i testgruppen med produktionen i aluminiumhydroxidgruppen er det muligt at få en ide om, hvor potent en adjuvans teststoffet er.

I CML har vi undersøgt de fem ovennævnte phthalater og de tilsvarende seks monophthalater. Både phthalater og monophthalater havde maksimal adjuvans-effekt, når der var omkring 8-9 kulstofatomer i molekylernes alkohol-del, dvs. har en molekylstruktur, der minder om DEHPs og MEHPs. Hvis alkohol-delen havde en kædelængde på 4 eller 10 kulstofatomer, havde stofferne ringe eller ingen adjuvans-effekt (Larsen 2002; Larsen et al. 2001a; 2001b; 2002; 2003). Adjuvans-effekten udviste således en klokkeformet kurve som funktion af længden af kulstofkæden i alkohol-delen. Dette viste, at adjuvans-effekten ikke er en direkte funktion af stoffernes lipofilitet, der stiger med kædelængden.

Det var en overraskelse i forhold til udgangshypotesen, at phthalaterne selv havde større maksimal adjuvans-effekt end det tilsvarende monophthalat. Her var adjuvans-effekten ho-

vedsagelig på IgG1-responset. Omvendt havde monophthalaterne adjuvans-effekt ved meget lavere doser og responset var hovedsagelig på IgE-produktionen. Da monophthalaterne har suppressiv effekt på immunresponset ved doser, der er lidt over de doser, der viste adjuvans-effekt (Larsen et al. 2001a), kan det lavere maksimalrespons meget vel skyldes en inhiberende effekt ved de lidt højere koncentrationer.

En sådan inhiberende effekt kendes fra andre overfladeaktive stoffer (Clausen et al. 2000). Samlet lader dette formode, at monophthalaterne meget vel kan have betydning som adjuvanser ved meget lave doser, mens højere doser af phthalater kan give anledning til et større maksimalrespons.

I tabel 1 er vist forholdet mellem OVA-specifik IgG1-koncentration i den testgruppe, der gav anledning til maksimal antistofproduktion, og den tilsvarende OVA kontrolgruppe. For vandige opløsninger af OVA øger aluminiumhydroxid groft taget antistofproduktionen med en faktor 3 (Larsen et al. 2001a). Det er dog uvist om denne faktor kan anvendes til andet end en grov potensvurdering af phthalater, da de ikke er vandopløselige og derfor er injiceret i vehiklet polyethylenglycol.

Inhalationsmodel til risikovurdering af adjuvans-effekt

Udvikling af en inhalationsmodel, der er relevant for undersøgelse af stigningen i allergiske luftvejssygdomme i befolkningen, må nødvendigvis tage i betragtning, at stigningen hovedsagelig ses i relation til allergi over for de klassiske allergener fra husstøvmider, kæledyr, pollen og svampe (e.g. Nielsen et al. 2002). Hypotesen er derfor, at luftbårne adjuvanser, der indåndes sammen med de almindelige allergener, fremmer sensibiliseringen og dermed det første led i kæden, der kan ende med allergisk astma og/eller allergisk rhinitis (figur 1). Målet var derfor at udvikle en dyremodel, hvor indånding af et modelprotein (i vores tilfælde OVA) sammen med luftbårne adjuvanser fremmer dannelsen af specifikke Th2 medierede antistoffer.

Teststof	Antal C-atomer i sidekæder	Påvisning af koncentration-respons sammenhæng	Ratio mellem IgG1 i testgruppen og ovalbumin-gruppen ^{b)}	Koncentration (µg/ml) med adjuvanseffekt	Phthalatkoncentration i husstøv (µg/g)		
					Tyskland ^{c)}	Norge	Danmark
DBP	4	Mulig (IgG1)	4	200	240	100 (10-1030) ^{d)} 370 (130-690) ^{e)}	
BBP	4 og 7	Ikke tilstede	1	-	320	110 (0-440) ^{d)} 140 (0-750) ^{e)}	
DnOP	8	Ja (IgE, IgG1)	10	20 og 2000	-	-	
DEHP	8	Ja (IgG1)	10	2000	2600	640 (100-1610) ^{d)} 600 (240-940) ^{e)}	3214 (7063) ^{f)}
DINP	9	Ja (IgE, IgG1)	7	200 og 2000		≤ 100 ^{d)} 0 ^{e)}	
DIDP	10	Ikke tilstede	1	-	-	-	-

a) Larsen et al. 2001b; 2002; 2003.

b) Den maximale adjuvant effekt udtrykt som median af serumkoncentration af IgG1 i testgruppen divideret med median af serumkoncentration af IgG1 i den gruppe, der kun fik ovalbumin. Både IgE og IgG1 er Th2 cytokin afhængige antistoffer (Corry & Kheradmand 1999).

c) 95% percentil for indholdet i støv fra 286 repræsentative boliger i nordtyskland (Butte et al. 2001).

d) Gennemsnitlig phthalatkoncentration (range i parentes) i blandet støv fra børns seng, soveværelse samt gulv og hylder i opholdsrum. 38 norske boliger (Øie et al. 1997).

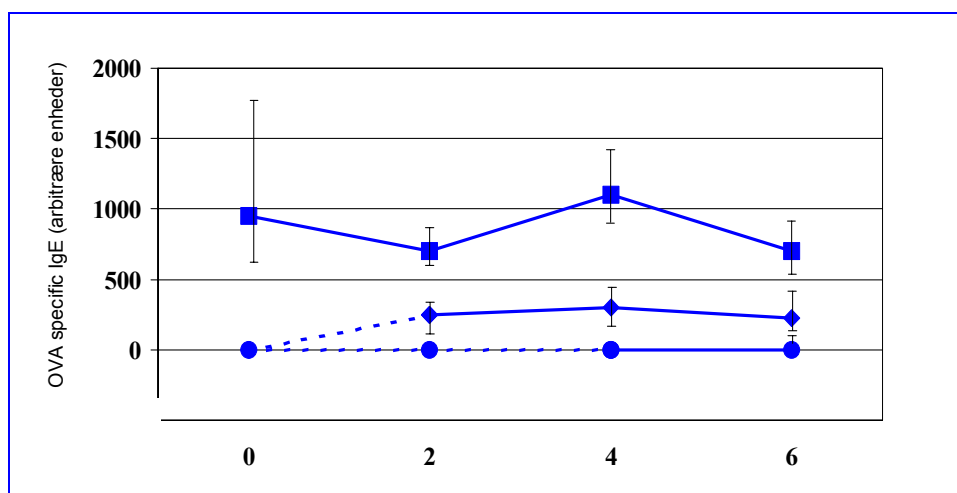
e) Gennemsnitlig phthalatkoncentration (range i parentes), i luftbåret støv fra 6 norske boliger (Øie et al. 1997).

f) Gennemsnit og 95% percentil for gulvstøv i 15 danske skoler (Clausen et al. 2003a).

Tabel 1. Adjuvant effekt af phthalater i en injektionsmodel på mus ^{a)}

Det er nemt at sensibilisere marsvin over for proteinaerosoler. Efter sensibilisering reagerer dyrene med bronchokonstriktion, når de på ny udsættes for en allergenaerosol (Karol 1994). Imidlertid er marsvin relativt dyre og pladskrævende, og de er langt mindre velkarakteriseret immunologisk set end f.eks. mus (Karol 1994). Forsøg med mus har specielt ydet et stort bidrag til forståelsen af patogenesen af allergisk astma (Leong & Huston (2001). Vi har derfor satset på at implementere en meget lovende model, hvor sensibilisering af mus blev opnået med gentagen udsættelse for OVA aerosoler (Renz et al. 1992; Renz et al. 1993). Efter at have arbejdet intensivt i over et år uden at kunne reproducere de publicerede resultater (Bergqvist 1998; 1999) henvendte vi os til Renz, som meddelte, at han efter at være flyttet fra USA til Tyskland heller ikke længere kunne reproducere de tidligere resultater.

Herefter indledte vi selv et større udviklingsarbejde (Clausen et al. 2003b). Den vigtigste erkendelse var, at de høje allergendoser, der normalt anvendes i forbindelse med luftbåren eksponering, førte til udvikling af tolerance på IgE-responset. Tolerancen aftager med faldende allergendosis, og når allergenniveauet er tilstrækkeligt lavt, ses en lav partiel tolerance, men ingen IgE-udvikling. Et lidt højere allergenniveau bevirker en meget marginal IgE-udvikling, som kan fremmes betragteligt, hvis der sammen med OVA blev indåndet aluminiumhydroxid (figur 2), vores modeladjuvans. Hvis dette fund kan generaliseres, er det for første gang lykkedes at påvise et optimalt ”vindue” for adjuvanseffekt i forbindelse med indånding. Hertil kom, at det anvendte allergenniveau var sammenligneligt med allergenniveauer, som mennesker udsættes for og som kan sensibilisere og give anledning til allergiske luftvejssygdomme.



Figur 2. Antallet af ugentlige eksponeringer for aerosol.

For at undersøge om phthalater kan spille en rolle ved udvikling af allergiske luftvejssygdomme, må det formodes at være mest kosteffektivt at undersøge om MEHP og DEHP udviser adjuvanseffekt ved indånding, da MEHP og DEHP repræsenterer stoffer med maksimal effekt i screening modellen. Vi har derfor planlagt at undersøge MEHP i et inhalationsstudie, hvor vi anvender det optimale "vindue" ved allergeneksponeringen. På tilsvarende vis vil det være ønskeligt at undersøge DEHP.

Projektet har modtaget støtte fra Det Strategiske Miljøforskningsprogram samt fra Arbejdsmiljørådets Service Center til udvikling af forsøgsdyrmodeller.

Referencer

Bergqvist M. *Murin astmamodel til bestemmelse af kemiske stoffers adjuvant effekt*. Institut for Farmakologi, Danmarks farmaceutiske Højskole, København 1998. [Master thesis].

Bergqvist M. *Murin astmamodel*. Institut for Biokemi & Ernæring, Danmarks Tekniske Universitet, Lyngby 1999. [Master thesis].

Butte W, Hoffmann W, Hostrup O, Schmidt A, Walker G. *Endokrin wirksame substanzen im Hausstaub: Ergebnisse eines repräsentative Monitorings*. Gefahrst Reinhalt Luft 2001;61:19-23.

Chavali SR, Barton LD, Campbell JB. *Immunopotentialization by orally administered Quillaja saponins: effects in mice vaccinated intraperitoneally against rabies*. Clin Exp Immunol 1988;74:339-43.

Clausen PA, Bille RLL, Nilsson T, Hansen V, Svensmark B, Bøwadt S. *Simultaneous extraction of di(2-ethylhexyl) phthalate and nonionic surfactants from house dust*. Concentrations in floor dust from 15 Danish schools. J Chromatogr A 2003a; 986:179-90.

Clausen SK, Bergqvist M, Poulsen LK, Poulsen OM, Nielsen GD. *Development of sensitisation or tolerance following repeated OVA inhalation in BALB/cJ mice. Dose-dependency and modulation by the Al(OH)₃ adjuvant*. Toxicology 2003b;184: 51-68.

Clausen SK, Sobhani S, Poulsen OM, Poulsen LK, Nielsen GD. *Study of adjuvant effect of model surfactants from the groups of alkyl sulfates, alkylbenzene sulfonates, alcohol ethoxylates and soaps*. Food Chem Toxicol 2000;38:1065-74.

Corry DB, Kheradmand F. *Induction and regulation of IgE response*. Nature 1999;402 (suppl, 25 November): B18-B23.

Dalsgaard K. *A study of the isolation and characterization of the saponin Quil A*. Acta Vet Scand 1978;69 (suppl 69): 1-40.

Gall D. *Observations on the properties of adjuvants*. International Symposium on Adjuvants in Immunity, Utrecht 1966; Symp Series Immunobiol Standard. 1967;6:39-48.

-
- Granum B, Gaarder PV, Groeng E-L, Leikvold R-B, Namork E, Løvik M. *Fine particles of widely different composition have an adjuvant effect on the production of allergen-specific antibodies.* Toxicol Lett 2001;115:171-81.
- Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter JP. *The estrogenic activity of phthalate esters in vitro.* Environ Health Perspect 1997;105:802-11.
- Jaakkola JJ, Øie L, Nafstad P, Botten G, Samuelsen SO, Magnus P. *Interior surface materials in the home and the development of bronchial obstruction in young children in Oslo, Norway.* Am J Public Health 1999; 89:188-92.
- Jarrett EEE. *Stimuli for the production and control of IgE in rats.* Immunol Rev 1978;41:52-76.
- Kawabata TT, Babcock LS, Horn PA. *Specific IgE and IgG1 responses to Subtilisin Carlsberg (Alcalase) in mice: development of an intratracheal exposure model.* Fund Appl Toxicol 1996;29:238-43.
- Karol MH. *Animal models of occupational asthma.* Eur Respir J 1994;7:555-68.
- Larsen ST. *Adjuvant effect of phthalates and monophthalates in a murine injection model.* Arbejds-miljøinstituttet, København 2002. [Ph.D. thesis].
- Larsen ST, Hansen JS, Thygesen P, Begtrup M, Poulsen OM, Nielsen GD. *Adjuvant and immunosuppressive effect of six monophthalates in a subcutaneous injection model with BALB/c mice.* Toxicology 2001a 169:37-51.
- Larsen ST, Lund RM, Nielsen GD, Thygesen P, Poulsen OM. *Di-(2-ethylhexyl) phthalate possesses an adjuvant effect in a subcutaneous injection model with BALB/c mice.* Toxicol Lett 2001b 125:11-8.
- Larsen ST, Lund RM, Nielsen GD, Thygesen P, Poulsen OM. *Adjuvant effect of di-n-butyl-, di-n-octyl-, di-iso-nonyl- and di-iso-decyl phthalate in a subcutaneous injection model using BALB/c mice.* Pharmacol Toxicol 2002;91:264-72.
- Larsen ST, Lund RM, Thygesen P, Poulsen OM, Nielsen GD. *Investigation of the adjuvant and immunosuppressive effects of benzyl butyl phthalate, phthalic acid and benzyl alcohol in a murine injection model.* Food Chem Tox 2003;41:439-46.
- Leong KP, Huston DP. *Understanding the pathogenesis of allergic asthma using mouse models.* Ann Allergy Asthma Immunol 2001;87:96-110.
- Løvik M, Høgseth A-K, Gaarder PI, Hagemann R, Eide I. *Diesel exhaust particles and carbon black have adjuvant activity on the local lymph node response and systemic IgE production to ovalbumin.* Toxicology 1997;121:165-78.
- Markham RJF, Wilkie BN. *Influence of detergent on aerosol allergic sensitization with enzymes of Bacillus subtilis.* Int Arch Allergy Appl Immunol 1976;51:529-43.
- Nielsen GD, Hansen JS, Lund RM, Bergqvist M, Larsen STR, Clausen SK, Thygesen P, Poulsen OM. *IgE-mediated asthma and rhinitis I: A role of allergen exposure?* Pharmacol Toxicol 2002;90: 231-42.
- Parnia S, Frew AJ. *Is diesel the cause for the increase in allergic disease?* Ann Allergy Asthma Immunol 2001;87(suppl):18-23.
- Renz H, Bradley K, Larsen GL, McCall C, Gelfand EW. *Comparison of the allergenicity of ovalbumin and ovalbumin peptide 323-339. Differential expansion of V β -expressing T cell populations.* J Immunol 1993;151:7206-13.
- Renz H, Smith HR, Henson JE, Ray BS, Irvin CG, Gelfand EW. *Aerosolized antigen exposure without adjuvant causes increased IgE production and increased airway responsiveness in the mouse.* J Allergy Clin Immunol 1992;89:1127-38.
- Ring J, Eberlein-Koenig B, Behrendt H. *Environmental pollution and allergy.* Ann Allergy Asthma Immunol 2001;87 (suppl): 2-6.
- Vaz EM, Vaz NM, Levine BB. *Persistent formation of reagins in mice injected with low doses of ovalbumin.* Immunology 1971;21:11-5.
- Yakuji Nippo, LTD. *Japanese Guidelines for non-clinical studies of drugs manual 1995.* Editorial supervision by Pharmaceutical and Cosmetics Division, Pharmaceutical Affairs Bureau, Japanese Ministry of Health and Welfare. ISBN 4-8408-0363-C C3047.
- Øie L, Hersoug L-G, Madsen JØ. *Residential exposure to plasticizers and its possible role in the pathogenesis of asthma.* Environ Health Perspect 1997;105:972-8.
-

Eksponering for phthalater

*Af Per Axel Clausen¹, Lars Gunnarsen², Anne Kirstine Müller³, Elsa Nielsen³,
Ole Ladefoged³, Mari-Ann Flyvholm¹ og Otto Melchior Poulsen¹*

Baggrund og problemstilling

Phthalater udgør en gruppe af ”high-volume” kemikalier, der anvendes i meget store mængder til blødgøring af PVC i materialer og produkter så som gulvbelægnings, ringbind, char-tekke, tape, kabler, emballage, bideringe, legetøj mv. Blød PVC kan indeholde 20-50% phthalater.

Phthalater gennemgår i disse år en kritisk evaluering og risikovurdering i EU såvel som i DK (Nielsen and Larsen, 1996; Miljøstyrelsen 1997). Den overordnede konklusion er, at phthalater kan skade miljøet. Endvidere er nogle phthalater biologisk aktive stoffer med effekt på forskellige typer af celler og væv, f.eks. nedsat fertilitet hos hanner (herunder testikelatrofi), påvirkning af fosterets udvikling og aktivering af enzymssystemer (induktion af peroxisom-proliferation) i gnavere. Hertil kommer mistanken om, at nogle phthalater kan have adjuvant effekt, hvilket er et centralt tema i CMLs forskning.

På grund af en stigende bekymring over de mulige miljømæssige og sundhedsmæssige effekter af phthalater er der politisk interesse for at reducere forbruget af PVC og phthalater. Miljøstyrelsen har i den forbindelse lanceret en strategi for PVC-området samt en handlingsplan for afvikling af anvendelsen af phthalater i blød plast (Miljø og Energiministeriet 1999a,b). Derudover er der et forbud mod anvendelse af phthalater i legetøj samt visse småbørnsartikler til børn under 3 år (Miljø og Energiministeriet 1999c, 2002).

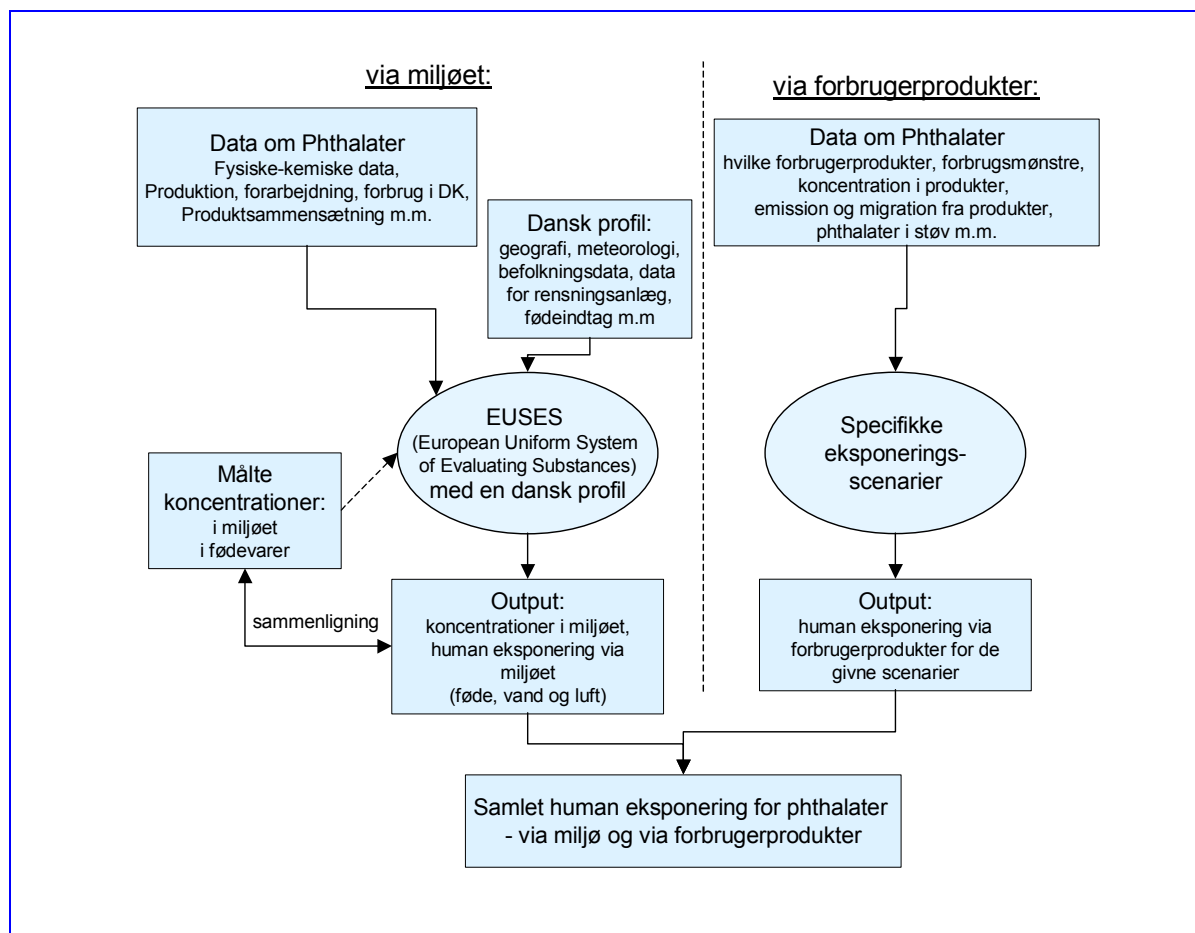
Som følge af den udbredte brug af blød PVC må vi forvente, at hele den danske befolkning i større eller mindre grad er eksponeret, men data om forskellige grupper af menneskers faktiske udsættelse for phthalater fra forskellige kilder er, ligesom data om den totale eksponering af befolkningen som helhed, meget begrænsede, selv for den mest anvendte phthalat DEHP. Meget få data findes om eksponering for DINP, DIDP, BBP og DBP. Det er velkendt, at befolkningen kan blive eksponeret for phthalater gennem føden, idet materialer og genstande anvendt ved tilberedning samt emballage af blød plast kan frigøre phthalater til fødevarerne (Svensson 1994). Der er gennemført enkelte undersøgelser af frigørelse af phthalater fra produkter, f.eks. måling af afgang fra vinylgulve (Bremer et al. 1993) og måling af phthalater i husstøv (Øie et al. 1997). I miljøet er der foretaget måling af phthalater i spildevandsslam (Miljøstyrelsen 2001, Boutrup et al. 1998, Kristensen et al. 1996, Grüttner et al. 1995), jord (Vikelsøe et al. 1999, Boutrup et al. 1998) samt vand og sediment fra marine og ferskvandsområder (Boutrup et al. 1998, Lillebæltssamarbejdet 1998, Vikelsøe et al. 2001).

Det er stadig usikkert om den danske befolkning, eller undergrupper heraf, er eksponeret for phthalater i skadelige koncentrationer. CML har derfor gennemført en række aktiviteter, der bidrager til at karakterisere befolkningens udsættelse for phthalater, se figur 1. Målet er at kunne bedømme den sandsynlige kæde af hændelser: Produktindhold → anvendelse af produkt → de resulterende eksponeringsveje (det kemiske stofs vandring fra produkt til eksponeret person) → intern dosis → effekt. De vigtige eksponeringsveje skønnes at være inhalation, hudkontakt og oral indtagelse, f.eks. af forurenede føde- og drikkevarer. For den generelle befolkning vurderes det, at langt det største optag sker via oral indtagelse.

1 Arbejdsmiljøinstituttet

2 By og Byg, Statens Byggeforskningsinstitut

3 Institut for Fødevarer, Ernærings- og Fødevarerdirektoratet



Figur 1. Human eksponeringskarakterisering af phthalater.

Data fra Produktregistret

Der er ingen produktion af phthalater i Danmark, men den årlige import af phthalater i Danmark kan estimeres til 11.500 – 14.000 tons pr. år. Heraf udgør rene phthalater ca. 6.500 tons, ca. 3.000 – 5.000 tons kommer i PVC produkter og 2.000 – 2.500 tons importeres som semi-forarbejdet phthalat (Hoffmann 1996). Generelt har der været et fald i importen af phthalater i perioden 1992-2002, dette fald har været 20% for importen af DBP og 30% for importen af DEHP.

Oplysninger om produktsammensætning kan give vigtig viden om mulige eksponeringskilder. Et vigtigt element i en samlet eksponeringsvurdering er derfor at identificere hvilke

produkter, der indeholder det pågældende kemiske stof og i hvilke koncentrationer. Hoffmann gennemførte en analyse af phthalater i Produktregistret i 1994 (Hoffmann 1996), og Flyvholm har i CML regi gennemført analyser i Produktregistret i 1999 og 2001, se tabel 1 (IFSE 2003). CMLs analyser viser, at i både 1999 og 2001 var den totale mængde phthalat i produkter, ifølge data fra Produktregistret, væsentligt lavere end den totale mængde phthalat, der ifølge andre datakilder blev importeret. Dette er sandsynligvis en afspejling af, at oplysninger om den faktiske mængde af phthalater i produkter kun findes for ca. halvdelen af de produkter, der i 2001 angives at indeholde phthalater.

	1994 ⁽¹⁾	1999 ⁽²⁾		2001 ⁽²⁾	
	Tons pr. år	Antal	Tons pr. år	Antal	Tons pr. år
DBP	3.200	1.184	3.170	803 (417)	1.950
BBP	730	471	950	454 (226)	360
DEHP	7.500	327	5.350	359 (160)	6.450
DINP	142	168	370	-	-
DIDP	76	96	140	-	-
Total	11.649		9.980		8.760

⁽¹⁾ Hoffmann 1996

⁽²⁾ Flyvholm (CML) (For 2001 angiver parenteser det antal produkter, hvor mængder er opgivet)

Tabel 1. Phthalater i kemiske produkter registreret i PROBAS – antal og mængde (Redigeret fra IFSE 2003)

Generelt anvendes ca. 90% af den totale mængde phthalater som blødgørere i PVC produkter, mens resten anvendes i andre produkter. Anvendelsen af de forskellige phthalater er imidlertid ret forskellig. Således anvendes DEHP stort set udelukkende i PVC, mens DBP i vid udstrækning anvendes i andre produkter, f.eks. som bindemiddel eller som blødgørere i maling, trykfarve, gulvplejemidler etc.

Emission af phthalater fra byggematerialer

Emissionsrate fra primærkilder er en vigtig inputvariabel i modeller for eksponering af mennesker i indeklimaet. Phthalater tilhører imidlertid gruppen af svært fordampelige organiske stoffer (SVOC) med kogepunkter i området 240-400°C. Ved rumtemperatur er deres emissionsrate derfor lav, og når de endelig fordampes, har de en høj affinitet for at adsorbere til andre overflader. Ved analyser af emission af phthalater fra byggematerialer må man som udgangspunkt forvente meget lave luftkoncentrationer, der kræver et optimalt analysesystem og opsamling af et meget stort volumen luft (30-300 l).

CML har løst denne tekniske udfordring ved at prøvetage i lang tid på tenaxrør med efterfølgende analyse på GC-MS, der har den nødvendige høje følsomhed og specificitet. Test af emission fra primærkilder er gennemført i "small scale" kamre af Climpaq typen

(Gunnarsen et al. 1994). Kamrene er fremstillet af glas og kan indeholde produkter af betydelig størrelse eller antal, hvilket måske gør måling af luftkoncentrationer af phthalater lettere. Endvidere er FLEC (Field Laboratory Emission Chamber) (Wolkoff et al. 1993) blevet anvendt som alternativ ved test for emission fra plane overflader. Netop det at anvende de to meget forskellige typer af kamre, hvad der giver meget forskellige testbetingelser, har uventet vist, at afgangningen af DEHP fra et PVC gulvmateriale er meget afhængig af testbetingelserne (Clausen et al. 2002a). Luftkoncentrationerne af DEHP ved test af forskellige PVC materialer i CLIMPAQ'er har stort set kun varieret fra 0,2 µg/m³ til 1,2 µg/m³ ved ligevægt, og det er ikke muligt at udtale sig om de reelle emissionsrater for disse materialer i indeklimaet (Afshari et al. 2002). Det samme materiale, testet i henholdsvis CLIMPAQ og FLEC, har vist 10 ganges forskel i den observerede emissionsrate for DEHP ved ligevægt (Clausen et al. 2003a). Umiddelbart tyder CMLs resultater på, at den reelle afgangning eller måske rettere afgivelse af phthalater fra PVC materialer i indeklimaet er væsentlig større end kammerforsøgene viser. Dette undersøges i igangværende forsøg. Fortolkningen understøttes af forsøg, der har vist, at optaget af phthalater i støv på en PVC overflade kan være op til flere gange større end beregnet ud fra en afgangningsmåling i et testkammer (Clausen et al. 2003a).

Studie	Prøvetagning og behandling	Middelværdi	90% percentil	95% percentil	Bygningstype	Antal prøver
Danmark 2003 ⁽¹⁾	HVS 3*	3214	6404	7063	Skoler	15
Tyskland 2001 ⁽²⁾	Støvsuger og sigte < 63 µm			2600	Boliger	286
Danmark 2001 ⁽³⁾	Filter på støvsuger	858	1761	2595	Boliger	23
Tyskland 1997 ⁽⁴⁾	Støvsuger, Partikel-fraktion		1600	2000	Boliger	272
Norge 1997 ⁽⁵⁾	Filter på støvsuger	640			Boliger	38

⁽¹⁾ Clausen et al. 2003, ⁽²⁾ Butte et al. 2001, ⁽³⁾ Clausen et al. 2002b, ⁽⁴⁾ Pöhner et al. 1997, ⁽⁵⁾ Øie et al. 1997

*HVS 3: "High-volume small surface sampler". Specialkonstrueret støvsuger, der sikrer reproducerbar opsamling af støv.

Tabel 2. DEHP koncentrationer (µg/g støv) i overfladestøv fra forskellige bygninger i forskellige lande (modificeret fra Clausen et al. 2003)

Phthalater i støv

Produkter, der indeholder phthalater, kan forurene både indeklimaet (Clausen and Wolkoff 1997; Clausen et al. 1999) og alle overflader og støv i et lokale (Øie et al. 1997; Jaakkola et al. 1999). Det er i teorien muligt, at indholdet af phthalater i støv afspejler den samlede frigørelse af phthalater fra plastholdige produkter i lokalet. Det blev for nylig vist, at eksponering for DEHP adsorberet til luftbårne partikler i boliger er mindst 1 – 3 gange befolkningens estimerede daglige udsættelse for phthalater i gasfasen (Øie et al. 1997). Det er således muligt, at phthalater på luftbårne støvpartikler i væsentlig højere grad end gasformige phthalater udgør det primære bidrag til den totale mængde phthalat, der optages via inhalation.

Vi har i CML målt phthalater i støvprøver fra boliger og skoler. Tabel 2 sammenligner resultaterne for DEHP med tilsvarende målinger udført i Tyskland og Norge (Clausen et al. 2003b). For boliger er resultaterne fra CML i god overensstemmelse med de tyske og norske data.

Resultaterne fra de 15 skoler viser et overraskende højt indhold af DEHP i gulvstøv, især taget i betragtning, at gulvene blev rengjort hver dag. Lignende resultater har vi i CML opnået i en undersøgelse af både DBP og DEHP i luften fra 12 institutioner/kontorer (Clausen et al. 1999). Her var median koncentrationerne ca. dobbelt så høje som det, der blev målt i luften i boliger i USA.

Eksponeringsmodeller - EUSES

Den eksisterende viden om befolkningens faktiske udsættelse for phthalater via oral indtagelse, inhalation eller hudkontakt er stærkt begrænset, og det er en uoverkommelig opgave at gennemføre det omfattende måleprogram, der kan give sikker viden, også for undergrupper af befolkningen. Den eneste mulighed for eksponeringsvurdering er derfor at anvende eksponeringsmodeller til at estimere eksponering for phthalater i den danske befolkning og undergrupper heraf.

I EUs risikovurderingsprogram for nye og eksisterende kemikalier har man valgt at anvende eksponeringsmodellen EUSES (European Union System for the Evaluation of Sub-

stances) til at estimere eksponering for kemiske stoffer fra forskellige kilder. I EUSES indgår ca. 500 parametre i modelleringen, f.eks. stoffets fysiske-kemiske karakteristika, produktsammensætning, normal brug af de mest udbredte produkter, emission af stoffet fra produkter, når de bruges under normale betingelser, samt mange flere. EUSES anvendes på tre spatiale skalaer: Den kontinentale skala (EU), den regionale skala (f.eks. Danmark) og den lokale skala (f.eks. i nærheden af en produktionsvirksomhed for det pågældende stof).

CML har anvendt EUSES til at estimere eksponering for 4 udvalgte phthalater (DBP, DEHP, DINP, DIDP) for danske forhold. Et vigtigt udgangspunkt for denne modellering har været de parametre, der er blevet anvendt i EUs risikovurderinger af disse phthalater, hvor EUSES er blevet anvendt på EU forhold (den kontinentale skala) (EU-RAR of DEHP, 2001; EU-RAR of DBP, 2001; EU-RAR of DINP, 2001; EU-RAR of DIDP, 2001). Kort fortalt har CML så vidt muligt anvendt parametre for danske forhold, når dette har været muligt. I de tilfælde, hvor troværdige parametre for danske forhold ikke har været tilgængelige, er de tilsvarende parametre for EU forhold blevet anvendt.

Resultaterne af dette arbejde vil i løbet af 1. halvår 2003 blive publiceret i en rapport (IFSE 2003), der beskriver human eksponering via forbrugerprodukter såvel som indirekte via eksponering fra det ydre miljø, herunder levnedsmidler.

Projektet har modtaget støtte fra Det Strategiske Miljøforskningsprogram.

Referencer

Afshari A, Gunnarsen L, Clausen PA, Hansen V. *Emission of phthalate esters from PVC and other plasticized materials*. Indoor Air, 2002 Submitted.

Boutrup S, Erichsen PC, Wiggers L, Jensen CA. *Miljøfremmede stoffer i Århus amt – Fase 2 og 3, 1997-1998*. Århus Amt, Natur- og Miljø, 1998.

Bremer J, Witte E, Schneider D. *Measurement and characterisation of emissions from PVC materials for indoor use*. Proceedings of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate 1993;2:419-25.

Butte W, Hoffmann W, Hostrup O, Schmidt A, Walker G. *Endokrin wirksame Substanzen im Hausstaub: Ergebnisse eines repräsentativen Monitorings*. Staub-Reinhaltung der Luft 2001;61:19-23.

Clausen PA, Wolkoff P. *Evaluation of automatic thermal desorption capillary gas chromatography for determination of semivolatile organic compounds in indoor air*. Journal of High Resolution Chromatography 1997;20(2):99-108.

Clausen PA, Wolkoff P, Svensmark B. *Preliminary study of semivolatile organic compounds in some danish indoor environments*. Proceedings of the 8th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, 1999; Vol. 2, pp. 434-9.

Clausen PA, Hansen V, Gunnarsen L, Afshari A, Wolkoff P. *Emission of Phthalates from PVC flooring in two very different test chambers*. Levin H (Ed). Proceedings of the 9th Conference on Indoor Air Quality and Climate. Indoor air 2002, Vol. 2, 932-7.

Clausen PA, Hansen V, Gunnarsen L, Afshari A. *Sampling of house dust for analysis of phthalate esters - Concentrations in floor dust from 25 Danish homes*. In preparation (2002b).

Clausen PA, Hansen V, Gunnarsen L, Afshari A, Wolkoff P. *Emission of di(2-ethylhexyl)phthalate from PVC into air and dust. Chamber and sorption experiments*. In preparation (2003a).

Clausen PA, Bille RLL, Nilsson T, Hansen V, Svensmark B, Bøwadt S. *Simultaneous extraction of di(2-ethylhexyl) phthalate and nonionic surfactants from house dust. Concentrations in floor dust from 15 Danish schools*. J Chromatography A 2003b, 986:179-90.

EU-RAR of DEHP *European Union Risk Assessment of bis(2-ethylhexyl)phthalate*. CAS-No.:117-81-7. Consolidated Final Report: September 2001. <http://ecb.jrc.it/existing-chemicals>

EU-RAR of DBP *European Union Risk Assessment of Dibutylphthalate*. CAS-No.:84-74-2. Final version, 2001. <http://ecb.jrc.it/existing-chemicals>

EU-RAR of DINP *European Union Risk Assessment of 1,2-Benzenedicarboxylic acid, di-C8-10-branched alkyl esters, C9-rich and Di-“isononyl”phthalate*. CAS-No.:68515-48-0 and CAS-No.:28553-12-0. Finalised report of May 2001. France. <http://ecb.jrc.it/existing-chemicals>

EU-RAR of DIDP *European Union Risk Assessment of 1,2-Benzenedicarboxylic acid, di-C9-11-branched alkyl esters, C10-rich and di-“isodecyl”phthalate*. CAS-No.:68515-49-1 and CAS-No.:26761-40-0. Finalised report of May 2001. France. <http://ecb.jrc.it/existing-chemicals>

Gunnarsen L, Nielsen PA, Wolkoff P. *Design and Characterization of the CLIMPAQ, Chamber for Laboratory Investigations of Materials, Pollution and Air Quality*. Indoor Air 1994;4:56-62.

Grüttner H, Lindgaard-Jørgensen P, Vikelsøe J. *Måleprogram for phthalater på 3 danske renseanlæg*. Arbejdsrapport fra Miljøstyrelsen nr. 54:1-78, 1995.

Hoffmann L. *Massestrømsanalyse for Phthalater*. Miljøprojekt nr. 320, Miljøstyrelsen 1996.

Human exposure to phthalates in Denmark. Draft. Institut for Fødevarerikthed og Ernæring, 2003.

Jaakkola JJ, Øie L, Nafstad P, Botten G, Samuelson SO, Magnus P. *Interior surface materials in the home and the development of bronchial obstruction in young children in Oslo, Norway*. Am J Public Health 1999; 89:188-92.

Kristensen P, Tørsløv J, Samsøe-Petersen L, Rasmussen JO. *Anvendelse af affaldsprodukter til jordbrugsformål*. Miljøprojekt nr. 328, Miljøstyrelsen 1996.

Lillebæltsamarbejdet. *Miljøfremmede stoffer i havbunden*. Fyns Amt, Sønderjyllands Amt og Vejle Amt, 1998.

Miljø og Energiministeriet (1999a). *Strategi for PVC-området - Statusredegørelse og fremtidige initiativer*.

Miljø og Energiministeriet (1999b). *Handlingsplan for at reducere og afvikle anvendelsen af phthalater i blød plast*.

Miljø og Energiministeriet (1999c). *Bekendtgørelse om forbud mod phthalater i legetøj til børn i alderen 0-3 år samt i visse småbørnsartikler m.v.* Bekendtgørelse nr. 151 af 15/03/1999.

Miljø og Energiministeriet. *Bekendtgørelse om ændring af bekendtgørelsen om forbud mod phthalater i legetøj til børn i alderen 0-3 år samt i visse småbørnsartikler m.v.* Bekendtgørelse nr. 975 af 27/11/2002.

Miljøstyrelsen. *Punktkilder 2000 – NOVA 2003*. Orientering fra Miljøstyrelsen nr. 13, 2001.

Miljøstyrelsen. *Handlingsplan for at reducere anvendelsen af phthalater i blød plast*. Udkast. Miljøstyrelsen, maj 1997.

Nielsen E, Larsen PB. *Toxicological evaluation and limit values for DEHP and phthalates, other than DEHP*. Environmental Review No. 6, Danish EPA, 1996.

Pöhner A, Simrock S, Thumulla J, Weber S, Wirkner T. *Hintergrundbelastung des Hausstaubes von Privathausehalten mit mittel- und schwerflüchtigen organischen Schadstoffen*. Umwelt & Gesundheit 1997;2:79-80.

Svensson K. *Legislation, control and research in then Nordic countries on plastics for packaging food*. Food Additives and Contaminants 1994;11: 241-8.

Vikelsøe J, Fauser P, Sørensen PB, Carlsen L. *Phthalates and nonylphthalates in Roskilde Fjord*. NERI Technical Report No. 339, 2001.

Vikelsøe J, Thomsen M, Johansen E. *Phthalates and nonylphthalates in soil*. NERI Technical Report No. 268, 1999.

Wolkoff P, Clausen PA, Nielsen, Gunnarsen L. *Documentation of Field and laboratory Emission Cell “FLEC”*. Indoor Air 1993;3:291-7.

Øie L, Hersoug L-G, Madsen JØ. *Residential exposure to plasticizers and its possible role in the pathogenesis of asthma*. Environ Health Perspect 1997;105:972-8.

