

ARBETSMILJÖ

FONDENS

SAMMANFATTNINGAR

1033

Hudirriterande ämnen

Analys av inflammatoriska cellinfiltrat i huden

För innehållet i denna sammanfattning svarar Ove Groth, Chris Anderson och Karin Sundberg, Hudkliniken, Regionsjukhuset i Linköping, 581 85 Linköping, tel 013-19 1000.

Pnr 84-0122 Kemiska problemområden, allmänt (10); Lösningsmedel, bränslen (11) Mars 1987

Inledning

Undersökningen har utnyttjat två objektiva mikroskopiska mätmetoder, räkning av den inflammatoriska cellinfiltrationen och mätning av förändringar i överhudens tjocklek, och jämfört dessa med den traditionella avläsningsmetoden med makroskopisk inspektion och palpation. Effekterna av tensiden natriumlaurylsulfat, ett välkänt hudirriterande ämne, har analyserats i detalj och därefter utnyttjats som referensreaktioner i undersökning av de hudskadande egenskaperna hos organiska lösningsmedel. Modellen som utvecklats ger möjlighet till både prediktiv testning av hudskadande egenskaper hos andra ämnen och studium av uppkomstmekanismer vid icke-allergiska eksemreaktioner.

Påfrestningar på huden

Huden är utsatt för påfrestningar av en hel rad ämnen. Detta förekommer såväl på arbetsplatsen som i hemmet. Under de senaste årtiondena har man successivt genom förebyggande insatser kunnat förbättra arbetsmiljön vad gäller risken för hudskador. Man har speciellt inriktat sig på att sanera arbetsplatser från ämnen som kan framkalla allergiskt kontakteksem. Denna typ av eksem innebär att kroppens immunförsvar har känt igen en specifik substans och mobiliserar ett inflammatoriskt svar vid kontakt med detta ämne. Under denna process orsakar en viss typ av vita blodkroppar (lymfocyter) en inflammatorisk reaktion. Denna syns i huden som rodnad, svullnad och blåsbildning. Djurexperimentella modeller för stadium av kontaktallergi finns sedan länge.

Det är dock vanligare att ämnen orsakar hudförändringar utan att speciell kontaktallergi föreligger. Alkaliska ämnen liksom bl a syror kan ge hudskador även efter enstaka kontakter. Det finns välkända djurmodeller för undersökning av sådana kraftigt hudskadande ämnen. Denna typ av hudreaktioner kallas i djurexperimentella sammanhang "toxiska" kontaktreaktioner. Enbart skadeeffekter på huden avses då.

Även svagt hudskadande och hudirriterande ämnen kan efter upprepad kontakt bryta ned hudens motståndskraft så att kontakteksem uppstår utan samtidig kontaktallergi. Detta kallas då icke-allergiskt (traumiterativt) kontakteksem. Denna typ av eksem är den vanligaste formen av kontakteksem.

Inom djurexperimentell forskning finns idag inga allmänt erkända modeller för studium av svagt hudskadande ämnens effekt. Det är kring dessa reaktioner som det aktuella forskningsprojektet rör sig. Vi har benämnt dessa reaktioner "irritantreaktioner" och kommer att använda detta uttryck i fortsättningen av denna rapport. Ämnen som åstadkommer sådana reaktioner kallar vi "irritantämnen".

Vi har i tidigare undersökningar på marsvin framkallat såväl allergiska som "toxiska" kontaktreaktioner. Vi har bedömt styrkan av reaktionen med gradering av rodnad och svullnad i huden. Vi har också sett på det mikroskopiska utseendet av reaktionen och speciellt studerat de inflammatoriska celler som ingår i dessa reaktioner. Cellsammansättningen i detta inflammatoriska infiltrat i läderhuden har tidigare visat sig variera mellan allergiska och "toxiska" kontaktreaktioner. Försöksmodeller, i vilka mindre irriterande substanser har studerats, har ofta löpt under relativt lång tid. Genom att använda multipla applikationer av de irriterande substanserna erbjuds möjlighet att minska försökstiden.

Syfte

Målsättningen har varit att utveckla en djurexperimentell modell på marsvin som kan användas för studier av irriterande kontaktreaktioner enl definitionen ovan. Arbe-

tet har utförts med följande frågeställningar som vägledning:

1. Hur skiljer sig det kronologiska förloppet, reaktionens styrka och sammansättningen av det cellulära infiltratet i huden från tidigare studerade reaktioner?
2. Kan de mikroskopiska förändringarna användas som mätparametrar för reaktionens intensitet?
3. Kan en prediktiv djurmodell utvecklas för studier och gradering av potentiella irriterande egenskaper hos ämnen?
4. Vilken är uppkomstmekanismen i den irriterande typen av kontaktreaktion?

Uppläggning och genomförande

Försöken har genomförts på marsvin. Huden på flankerna har klippts och centimeterstora ytor har markerats, där ämnen kunnat anbringas ett flertal gånger under flera dygn. Från dessa testområden har sedan tagits hudbiopsi, som efter histologisk preparering och färgning bedömts enligt angivna metoder. I regel har tio djur ingått i varje grupp och resultaten redovisats delvis grupp för grupp och delvis i sammanställningar av flera försöksgrupper.

För att kunna värdera undersökningsresultaten och jämföra med andra har vi valt den välkända tensiden natriumlaurylsulfat (SLS) som referenssubstans. Effekten av natriumlaurylsulfat har studerats i detalj. Därefter har undersökningarna huvudsakligen koncentrerats till organiska lösningsmedel vars förmåga att framkalla irriterande reaktioner ställts i relation till reaktioner orsakade av referenssubstansen. En gruppindelning av lösningsmedlen samt de medel som studerats framgår av tabell 1.

En detaljerad metodbeskrivning finns i slutrapporten.

Resultat och diskussion

Både 1-procentig och 2-procentig lösning i vatten av natriumlaurylsulfat (SLS) gav synliga reaktioner och statistiskt signifikanta cellinfiltrat. Reaktionerna var mer uttalade för den 2-procentiga lösningen. Vid jämförelse mellan det makroskopiska svaret och

cellinfiltratet erhöjls ett lineärt förhållande för den 1-procentiga men inte för den 2-procentiga lösningen av natriumlaurylsulfat. Detta innebär att det i denna modell inte är aktuellt med studier av högre koncentrationer av referenssubstansen men väl med lägre. Den 1-procentiga lösningen av natriumlaurylsulfat gav vid ökande antal applikationer successivt starkare reaktioner, såväl makroskopiskt som mikroskopiskt. Med 2-procentig lösning, ökade det makroskopiska svaret under de första tre dagarna av applikation, medan maximal effekt på det cellulära infiltratet nåddes efter två dagars pensling.

En mycket intressant iakttagelse var att cellinfiltratet kvarstod under ytterligare ett antal dagar efter det att penslingen upphört och det synliga makroskopiska svaret börjat dala. Detta kan innebära att en väsentligt högre känslighet fortfarande finns kvar i huden så att ytterligare kontakt med svagt hudskadande faktorer lättare kan bidra till en mer bestående eksemreaktion. Hur länge cellinfiltrationen kvarstår utöver 96 timmar efter avslutad behandling har inte kunnat bestämmas i denna undersökning.

Överhudens tjocklek har tidigare använts i bedömning av lokala corticosteroiders effekt på hudreaktioner. För den 1-procentiga lösningen av natriumlaurylsulfat var ökningen i överhudens tjocklek signifikant på tredje dagen. För den 2-procentiga lösningen var ökningen statistiskt signifikant efter ett dygn och senare. Mätning av överhudens tjocklek har således visat sig vara en användbar parameter i modellen.

Den principiella skillnaden mellan allergiska, "toxiska", och irritantreaktioner (SLS) vid differentialräkning av vita blodkroppar har detaljstuderats. Inslaget av basofila granulocyter är starkt signifikant vid allergiska kontaktreaktioner. Antalet neutrofilgranulocyter var betydligt fler i den irritativa reaktionen än i den "toxiska".

Resultaten av undersökningen av organiska lösningsmedel finns sammanställda i tabell 2. I likhet med en tidigare undersökning, uteblev irritanta effekter för en del agens och en varierande grad av reaktioner erhöjls för de flesta medlen. Graderingen av irritanseffekten har gjorts med hjälp av re-

ferenssubstansen natriumlaurylsulfat. En poängsättning av individuella mätparametrar har gjorts. Med hjälp av den totala poängen har en rangordning upprättats.

Vi har funnit en relativt god överensstämmelse mellan resultaten av de olika undersökningarna, trots att de avspeglar olika skeenden, nämligen kärreaktion (rodnaden-svullnaden), cellnybildning och svullnaden (överhudstjocklek) och aktiv inflammation (cellinfiltration). Här skall dock påpekas att samma överensstämmelse inte nödvändigtvis behöver föreligga vid studium av andra irritanta ämnen. Differentialräkning av de i reaktionsområdet infiltrerande cellerna har gjorts för samtliga ämnen. Vi har inte kunnat observera säkra skillnader i fördelningen av celler jämfört med referenssubstansen med det antal djur, vi här använt.

Slutsatser

1. I denna studie på marsvin av substanser med låggradigt hudskadande egenskaper har det utvecklade testförfarandet visat sig snabbt och pålitligt kunna avslöja hudirriterande effekter.
2. Cellinfiltratet i läderhuden och överhudens tjocklek har visat sig vara användbara och känsliga mått på hudskadans intensitet.
3. Studien av referenssubstansen natriumlaurylsulfat har givit kunskaper i det naturliga förloppet vid de studerade icke-allergiska hudreaktionerna.
4. Undersökta organiska lösningsmedel har visat varierande grad av eksemframkallande egenskaper och har genom jämförelse med en referenssubstans kunnat graderas. Speciellt anmärkningsvärt är att "lacknafta" och "thinner" som ganska allmänt används som lösningsmedel, har betydande hudskadande egenskaper.

Rekommendationer

1. Den i detta projekt utvecklade modellen bör kunna användas för systematiska studier av ytterligare grupper av produkter med hudskadande förmåga t ex skärvätskor, handrengöringsmedel m fl.

2. Ämnen med ännu svagare hudirriterande effekt borde studeras genom samma testförfarande men med applikationer under längre tid.
3. "Vanliga" kommersiellt tillgängliga lösningsmedel har visat betydande hudskadande egenskaper. Möjligheten att genom ändring av kompositionen kunna producera mindre hudretande produkter borde studeras.
4. Studier av vad som sker i huden under en längre tid, efter det att kontakten med den hudskadande substansen upphört, är av stort intresse, eftersom en "inflammatorisk beredskap" i form av ett ökat antal celler verkar kvarstå i huden sedan den synliga reaktionen försvunnit.
5. Användandet av andra mått, t ex farmakologiska, i de studerade reaktionerna borde företas för att söka ytterligare belysa uppkomstmekanismen, då inte nödvändigtvis samma typ av skadeeffekt behöver gälla för alla irriterande ämnen.

Tabell 1. Klassificering av organiska lösningsmedel enligt Lauwerys 1982 och modifierad av Lachapelle.

<i>Grupp</i>	<i>Testade</i>
Aromatiska kolväten	Xylen, Toluén
Alifatiska kolväten	n-hexan
Klorerande kolväten	Triklöretylen, 1,1,1 triklöretylen 1,1,2 triklöretylen CC14
Alicykliska kolväten	
Alkoholer	Metanol, Etanol
Ketoner	Aceton, Metyletylketon (MEK)
Estrar	
Aldehyder	
Estrar	
Glykoler och derivat	Etylen glykol
Amiter	
Koldisulfid	
Handelsvaror	"Lacknafta", "Thinner"

Tabell 2. Gradering av organiska lösningsmedels irritationseffekt i jämförelse med vattenlösning av natriumlaurylsulfat (SLS).

	<i>Rodnad och svullnad</i>	<i>Cellinfiltrat i läderhuden</i>	<i>Överhudens tjocklek</i>
Lika irriterande som 2 % SLS	Lacknafta Triklöretylen	Triklöretylen Toluén CC14 1,1,2 triklor	Triklöretylen Lacknafta
Lika irriterande som 1 % SLS	1,1,2 triklor Xylen 1,1,1 triklor Thinner Toluén CC14	Lacknafta 1,1,1 triklor n-Hexan Xylen Thinner	Xylen Toluén 1,1,2 triklor 1,1,1 triklor CC14 Thinner
Mindre irriterande än 1 % SLS	n-Hexan MEK Etylen glykol	MEK Etylen glykol	n-Hexan Etylen glykol
Icke irriterande	Aceton Metanol Etanol	Aceton Metanol Etanol	MEK Aceton Metanol Etanol

Rapporten

Analys av inflammatoriska cellfiltrat i huden som provocerats vid kontakt med irriterande ämnen; med målsättning prediktiv

test (11 sidor plus bilagor) kan beställas från Hudkliniken, Regionsjukhuset i Linköping, 581 85 Linköping, tel 013-19 1000.

Arbetsmiljöfonden

Box 1122, 111 81 Stockholm
Tel 08-796 47 00 (vx)