



LUND UNIVERSITY

Bronkocancerogena egenskaper hos rök från svetsning i kromhaltigt stål och termisk sprutning med kromhaltigt material

Berg, N O; Berlin, M; Bohgard, Mats; Rudell, B; Schütz, A; Warfvinge, K

1984

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Berg, N. O., Berlin, M., Bohgard, M., Rudell, B., Schütz, A., & Warfvinge, K. (1984). *Bronkocancerogena egenskaper hos rök från svetsning i kromhaltigt stål och termisk sprutning med kromhaltigt material*. (Rapport till ASF, anslag nr 77/68:1-4; Vol. ASF anslag nr 77/68:1-4). [Publisher information missing].

Total number of authors:

6

General rights

Unless other specific re-use rights are stated the following general rights apply:

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Read more about Creative commons licenses: <https://creativecommons.org/licenses/>

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

LUND UNIVERSITY

PO Box 117
221 00 Lund
+46 46-222 00 00

BRONKOCANCEROGENA EGENSKAPER HOS RÖK FRÅN SVETSNING
I KROMHALTIGT STÅL OCH TERMISK SPRUTNING MED KROM-
HALTIGT MATERIAL

Berg N O, Berlin M, Bohgard M, Rudell B, Schütz A och
Warfvinge K

Arbetet har finansierats genom anslag från ASF nr 77/68:1-4.

Innehållsförteckning

	sid
Sammanfattning	1
Inledning	3
Bakgrund	3
Mutagenicitet	3
Djurexperiment	4
Epidemiologi	4
Material och metoder	6
Råttor	6
Pelletframställning	6
Intrabronkial implantationsteknik	10
Obduktionsförfarande	11
Histologi	11
Analys av pelletens krominnehåll vid avlivandet	11
Resultat	14
Observationer	14
Resorption av krom från pelleten	15
Obduktionsresultat	15
Diskussion	22
Referenser	25

SAMMANFATTNING

Epidemiologiska undersökningar har visat att svårösliga kromatföreningar kan framkalla lungcancer medan något samband mellan lungcancer och exponering för vattenlösliga krom(VI)föreningar ej har observerats. Exponering för såväl svårösliga som lättlösliga krom(VI)föreningar förekommer bland annat vid svetsning med kromhaltiga elektroder och vid termisk sprutning av krom(III)oxid. För att undersöka huruvida rökpartiklar från dessa processer har lungcarcinogena egenskaper exponerades råttor enligt testmodell av Laskin et al (1970). Enligt denna modell implanteras en pellet av testsubstansen uppslammad i kolesterol i bronkträdet och lämnas där för att diffundera ut i lungvävnaden och genom långtidsverkan eventuellt framkalla bronkialcancer. Alla kända lungcarcinogena substanser, som hittills testats enligt denna modell, har framkallat bronkialcancer.

Två grupper på vardera 100 råttor exponerades enligt Laskin's modell för kromhaltig svetsrök från metallbågsvetsning respektive för rök från termisk sprutning av krom(III)oxid. En kontrollgrupp på 100 djur exponerades på samma sätt för pellets bestående av ren kolesterol. Vid försöksperiodens slut (efter 34 månader) eller vid tecken på sjukdom avlivades råttorna och lungorna undersöktes noggrant patologiskt-anatomiskt. Vidare obducerades råttorna och misstänkta förändringar samt lungorna undersöktes mikroskopiskt. Samtliga råttor visade upp en enkel fibrös reaktion i pelletbädden. Cirka en tredjedel av råttorna visade dessutom en proliferation av bronkialkörtlar och metaplasia av det respiratoriska epitelet. Förändringarna var jämnt fördelade mellan de båda testgrupperna och kontrollgruppen. I lungan hos en råtta med svetsrökpellet i andra lungan iaktogs

skivepitelcancer utan klar relation till bronk. Den starkt förhornade, högt differentierade skivepitelcancern tedde sig som en perifer metastas, men någon ursprungstumör påträffades ej.

Som positiv test av experimentmodellen fungerade tre råttor, som hade pellets indränkta med bens(a)pyren planterade i bronkträdet. Efter ca 15 månaders exposition visade en råtta cancer in situ i pelletloben, efter 22 månader visade en annan atypier i pelletloben och efter 29 månaders bens(a)pyrenexposition visade den tredje råtta metastaserande skivepitelcancer i pelletloben. Detta resultat bekräftar att den använda modellen ger positivt utfall på känd carcinogen substans.

INLEDNING

Bakgrund

Samband mellan lungcancerincidens och exponering för luftburna föroreningar i industrimiljö har i flera fall påvisats. I sin arbetsmiljö kan svetsare exponeras för höga koncentrationer av svetsrök. Egenskaperna hos dessa partiklar är skiftande och kunskapen om deras skadliga effekter ringa. Vid institutionerna för hygien och kärnfysik, Lunds universitet, bedrivs ett omfattande forskningsprojekt beträffande hälsoeffekter av svetsrök. I detta projekt har visats att, vid svetsning med kromhaltiga elektroder, svetsrökpartiklarna på ytan innehåller krom(VI) (bl a Malmqvist et al, 1980). Omständigheten att svetsrök innehåller sexvärt krom ger anledning att misstänka att svetsrök är carcinogent.

Mutagenicitet

I Ames' test har sexvärt krom visat sig vara mutagent, men ej trevärt krom (Green et al, 1976; Nestmann et al, 1979; Petrilli och DeFlora, 1978). Kromosomaberrationer har också kunnat induceras i odlade humana lymfocyter med såväl sexvärt som trevärt krom (Nakamuro et al, 1978), dock hade det sexvärda kromet väsentligt större aktivitet. I in vitro-system har såväl trevärt som sexvärt krom visat sig kunna inducera felkodning vid DNA-syntes (Sirover och Loeb, 1976). Även i odlade däggdjursceller har sexvärt krom visat sig kunna ge upphov till mutationer och kromosomaberrationer (Newbold et al, 1979). Sexvärt krom har också visats öka virusinducerad transformation i kulturer av hamsterceller liksom transformation av celler från syrisk hamster (Casto et al, 1979). Hos kromatexponerade arbetare har observerats en ökad

frekvens av kromosomaberrationer i perifera lymfocyter (Bigaliev et al, 1977).

Djurexperiment

Djurexperiment har visat att vissa krom(VI)föreningar kan framkalla cancer, oberoende av administrationsätt. Huvuddelen av lungcancer observerad vid kromatexposition utgöres av skivepitelcancer eller småcellig bronkialcancer och en mindre del adenocarcinom (Hueper, 1966). Med hjälp av den i vårt försök använda djurexperimentella modellen har Laskin et al (1970) och Levy (1975) påvisat att kalciumkromat framkallar bronkialcancer av skivepiteltyp. Likaledes har vissa svårslösliga kromatpigment såsom zinkkromat, också kunnat visas ge upphov till bronkialcancer av skivepiteltyp. Andra, lösliga alkalikromater har icke kunnat framkalla bronkialcancer i detta modellsystem.

Epidemiologi

Krom(VI)föreningar kan framkalla effekter såsom hudulcerationer, ulcererad nasal mukosa, perforerat nasalt septa, rinitis, näsblödningar, perforerade trumhinnor, njurskador, lungödem, epigastritsmärta, erosion och missfärgning av tänder samt dermatit (NIOSH. Chromium(VI), 1975).

Dock har inte alla sexvärda kromföreningar kunnat visas framkalla cancer. Epidemiologiska undersökningar har bekräftat djurexperimentella observationer att svår- och medelsvårslösliga kromater kan framkalla cancer medan däremot exponering för krom(VI)föreningar, som är lösliga i vatten inte har observerats vara förenad med förhöjd lungcancerincidens (NIOSH. Chromium(VI), 1975; Hayes, 1979). I viss utsträckning varierar således cancerogeniciteten med lösligheten av krom(VI)-

föreningen men betydelsen av kromaternas löslighet är inte närmare preciserad.

MATERIAL OCH METODER

Råttor

303 råttor av Sprague-Dawley stam (147 honor, 156 hanar) från Møllegaards Avelslaboratorium, Danmark, har använts. De var vid leveransen SPF-djur. De förvarades i för djur avsatta rum med 12 timmars mörker och 12 timmars ljus, med en luftfuktighet på 35-50% och en temperatur på $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. De har hållits i grupper om två eller tre, testgrupper och kontrollgrupp blandade och honor skilda från hanar. De har hållits i burar ventilerade med filtrerad luft enligt ett modifierat system beskrivet av Rylander och Hellström (1973). Hög hygienisk standard har upprätthållits genom att personalen vid kontakt med råttorna varit iklädda speciella skyddskläder, munskydd, handskar, mössa och skoskydd.

Burarna har rengjorts två gånger per vecka och djurrummen spolats varje dag. Råttorna har erhållit rent vatten fyra gånger per vecka och haft fri tillgång till foder, Ewos-Anticimex avels- och tillväxtfoder R3 och Ewos-Anticimex underhållsfoder för råttor och möss, autoklaverat i 10 minuter vid 120°C . Råttorna har observerats varje dag och vägts en gång per vecka. Vid tecken på håravfall har råttorna erhållit vitaminer, Beviplex forte (B-vit, Ferrosan) och Polymin (multivitaminpreparat, Ewos).

Pelletframställning

Enligt Laskin et al (1970) tillverkades en cylindrisk pellet med krokar på följande sätt: ett finmaskigt rostfritt stål nät klipptes till en rektangel, 5 mm x 10 mm. Nätet roterades runt en dubbelvikt ståltråd med krokar. Man erhöll då en pellet ca 1 mm i diameter och 5 mm lång. Krokarnas uppgift var att kvarhålla pelleten

i bronken. Pelleten impregnerades därefter med en smälta (150°C) bestående av kolesterol innehållande testmaterial. Testmaterialet bestod av svetsrök från svetsning i rostfritt stål med en av ESABs vanligaste kromhaltiga svetsELEKTRODER, OK 63.41, respektive av rök från termisk sprutning av krom(III)oxid (Cr_2O_3). Rök från ett flertal olika svetsELEKTRODER analyserades med avseende på krominnehåll; av undersökta ELEKTRODER innehöll rök från OK 63.41 mest olösligt krom, både vad avser totala krominnehållet och sexvärt krom. Röken från denna ELEKTROD innehöll dessutom relativt mycket olösligt kalcium medan halten olösligt zink var ungefär lika hög i svetsröken från samtliga undersökta ELEKTRODER. Svårlösliga kalcium- och zinkkromater har i andra undersökningar visats framkalla bronkialcancer hos råtta.

Elementinnehåll i röken från OK 63.41 analyserades med PIXE (particle induced X-ray emission) (Malmqvist et al, 1981) och innehöll:

Element	Koncentration (vikt%)	
	Total	Svårlösligt
K	20	2,2
Ca	1,7	1,0
Ti	2,3	1,8
Cr	3,6	0,70
Mn	2,9	1,7
Fe	3,4	2,8
Ni	0,25	0,17
Zn	0,13	0,08
F	34	2

Gränserna för 95% konfidensintervall: mindre än +10% för otvättade prover (total) och +20% för tvättade prover (svårlösligt). Analysnoggrannhet: ca 10%.

Svårslöslighet definierades som den mängd som återstod i partiklarna efter tvättning med vatten buffrat med $\text{NH}_4\text{NO}_3/\text{NH}_4\text{OH}$ till pH 7,4 (Bohgård et al, 1979). I en fristående analys med hjälp av atomabsorptionsbestämning (se under Analys av pelletens krominnehåll vid avlivandet) bestämdes kromhalten i svetsrökpartiklar som användes i försöket till $4,2\% \pm \text{SD } 0,18$ (sex analyser).

För att ytterligare karakterisera kromfraktionen vad avser oxidationsstatus bestämdes mängden sexvärt krom i den lösliga fraktionen spektrofotometriskt med difenylkarbazidreagens (Abell och Carlberg, 1974; Bohgård et al, 1979) och mängden sexvärt krom, kvarvarande på partiklarna efter tvättning, med hjälp av ESCA (electron spectroscopy chemical analysis) (Bohgård et al, 1979). Resultaten av dessa kromanalyser är sammanfattade nedan och jämförda med resultaten från PIXE-analyserna.

Metod	Fraktion	Konc (vikt%)
1. PIXE	Cr(total)	3,6
2. PIXE	Cr(svårslösl)	0,70
3. 1-2	Cr(lösl)	2,9
4. DPC	Cr(VI, lösl)	0,62
5. ESCA	Cr(VI, svårslösl)	0,2

Gränserna för 95% konfidensintervall är mindre än $\pm 10\%$ för Cr(total) och Cr(VI, lösl) samt mindre än $\pm 20\%$ för Cr (svårslösl), Cr(lösl) och Cr(VI, svårslösl).

Vad gäller röken från termisk sprutning visade undersökningar med transmissionselektronmikroskop att över 99% av partiklarna har en diameter på 0,01-0,1 μm . En stor del av partiklarna är således respirabla. PIXE-analys av prov med respirabla partiklar har visat följande elementinnehåll:

Ca	0,7%
Cr	56%
Fe	0,2%
Ni	0,1%
Cu	0,04%

Gränserna för 95% konfidensintervall är mindre än $\pm 10\%$. Analysnoggrannheten är ca 10%.

Således utgörs 50-60% av rökens vikt av krom (jmf med ren Cr_2O_3 och CrO_3 som innehåller 68 resp 52% Cr). I en fristående analys med hjälp av atomabsorption (se under Analys av pelletens krominnehåll vid avlivandet) bestämdes kromhalten i partiklarna från termisk sprutning till $49\% \pm 2,6\%$ (SD) (nio prover). DPC-analys av tvättvattnet har visat att 1-10% av den totala krommängden består av Cr(VI) i lättlöslig form. ESCA-analyser av otvättade prov har visat att på ytan var ca 55% av kromet sexvärt och av tvättade prov var 25% av kromet på ytan sexvärt.

Den maximala koncentrationen av testsubstans i kolesterol, som medgav att blandningen fortfarande trängde in i pelleten, blev för svetsrök 20 viktsprocent och för rök från termisk sprutning 40 viktsprocent. Som positiv test av experimentmodellen fungerade 40 viktsprocent bens(a)pyren (Fluka AG, Buchs SG 12780, 97% (HPLC), Labkemi AB, Göteborg) i kolesterol.

Intrabronkial implantationsteknik

Vid operationstillfället vägde råttorna 115-195 gram (honor) och 140-330 gram (hanar). Råttorna sövdes med Brietal-Sodium (Lilly) i dos 60 mg/kg intraperitonealt. Ett snitt gjordes längs trakea, som dissekerades fram. Med hjälp av diatermiapparat gjordes ett hål mellan trakeas broskringar i höjd med klavikeln. En trokar, som utgjordes av en avsågad paracentesnål, innehållande pellet, fördes ned i vänstra bronkträdet till ett naturligt stopp. Pelleten trycktes ut med en mandrin och kvarhölls därefter i bronken med hjälp av krokarna. Trakea syddes ihop med ett stygn och släpptes tillbaka på sin naturliga plats. Såret slöts med tre agraffer.

100 råttor erhöll pellet med enbart kolesterol för att tjäna som kontrolldjur, mängden testsubstans i pelleten var 3,22-7,60 mg, 100 råttor erhöll pellet med svetsrökpartiklar - inbakade i kolesterol - från svetselektroden OK 63.41, mängden testsubstans i pelleten var 5,27-9,47 mg, 100 råttor erhöll pellet med partiklar uppsamlade vid termisk sprutning och inbakade i kolesterol, mängden testsubstans i pelleten var 4,30-10,41 mg. Tre råttor erhöll pellet med bens(a)pyren inbakat i kolesterol, mängden testsubstans i pelleten var 4,90-5,65 mg. Råttorna märktes med klipp i öronen.

Operationerna genomfördes efter en plan, där en grupp bestående av tre honor opererades med kontrollpellet, svetsrökpellet respektive pellet med partiklar från termisk sprutning, därefter en grupp bestående av tre hanar, med samma förfarande. Testsubstansen förväntas nå vävnaden genom långsam diffusion (slow release), vilket ger kronisk exponering.

Obduktionsförfarande

Vid försöksperiodens slut (34 månader) eller vid tecken på sjukdom avlivades råttorna. Detta skedde genom sövning med eter och blodtappning via aorta abdominalis. Lever, njurar och mjälte vägdes. Alla organ undersöktes makroskopiskt. Följande organ fixerades för mikroskopisk undersökning: lungor, trakea, esofagus, aorta, tymus, tyreoidea, paratyreoidea, kolon, jejunum, ileum, magsäck, duodenum, pankreas, lever, njure, binjure, mjälte, genitalia (ovarium resp testis), hjärta, spottkörtel, mesenteriumlymfkörtel, hypofys och hjärna. I de fall patologiska tillstånd påträffades i andra organ fixerades även dessa för mikroskopisk undersökning. Efter ca ett dygn i formalin plockades pelleten ut ur lungan och förvarades i -80°C i väntan på kromanalys.

Histologi

Organen fixerades i 10% formalin, paraffininbäddades och snittades i 4-5 μm tjocka snitt. Den lunglob där pelleten fanns snittades stegvis, dvs några blindsnitt togs mellan varje snitt för mikroskopisk undersökning. Snitten rutinfärgades i hematoxylin-eosin.

Den histologiska undersökningen utfördes utan kännedom om vilken grupp råttorna tillhörde.

Analys av pelletens krominnehåll vid avlivandet

Pellet (inkl stål nät) överfördes till ett vägt provrör av glas, torkades i 12 timmar i ett värmeskåp vid 50°C och vägdes på nytt.

För att förstöra det organiska materialet i pelleten upphettades den i en degelugn stegvis till en maximitemperatur av $430-450^{\circ}\text{C}$ och hölls vid denna

temperatur i 1 timme. Efter avsvälning och vägning tillsattes 1 ml avjonat vatten och provet behandlades i ultraljudbad i 1 timme. Stålnätet togs upp under sköljning med 1-2 ml avjonat vatten från sprutflaska varefter det torkades och vägdes. (Inga fastsittande rester av pelletmassan kunde ses på stålnätet i binokularlupp vid 20 gångers förstoring). Innehållet i röret indunstades till torrhet i värmeskåp. Indunstningsåterstoden från svetsröks- respektive kontrollpellet löstes i 1 ml svavelsyra spädd 1:1 under 1 timmes värmning på sandbad vid ca 250 °C. Efter avsvälning späddes innehållet i röret till 10 ml med avjonat vatten.

Till indunstningsåterstoden från pellet med rök från termisk sprutning sattes 0,1 mg KMnO_4 och 1 ml svavelsyra spädd 1:1. Provet värmdes 1 timme på sandbad vid ca 250 °C. Kvarvarande permanganat och utfälld brunsten reducerades genom tillsats av 1 ml 20%-ig lösning av hydroxylaminhydroklorid varefter provet späddes till 10 ml.

Halten krom i proverna bestämdes med atomabsorptionsflamma (reducerande låga, 357,9 nm). Kontrollproverna analyserades ospädda medan svetsrökproverna och proverna innehållande rök från termisk sprutning späddes 10 respektive 50 gånger med 2%-ig salpetersyra.

För beräkning av kromhalten i provlösningarna användes kalibreringskurvor gjorda på kromstandardlösningar i 2%-ig salpetersyra. Vid tillsats av känd mängd krom till 10 provlösningar med svetsrök och 10 provlösningar med rök från termisk sprutning blev utbytet med detta kalibreringsförfarande 99±6% respektive 102±7%. Den tillsatta krommängden motsvarade 50-100% av ursprunglig mängd i provet.

Detektionsgränsen för krom i de analyserade
provlösningarna bedömdes ligga vid 0,03 ppm, vilket med
de aktuella provspädningarna motsvarar en lägsta
detekterbar mängd krom på 0,3 ug i kontrollpellet, 3 ug
i svetsrökpellet och 15 ug i pellet med rök från termisk
sprutning. Kromhalten i kemiska blankprov, som
behandlades parallellt med pelletproverna, låg under
detektionsgränsen.

RESULTAT

Observationer

Under försökets gång iaktogs inga tecken på luftvägsinfektion. Hos ett fåtal djur noterades den första tiden efter implantation rosslande andning, som dock avtog. Skadan var troligen uppkommen vid operationen.

Råttornas tillväxtkurva och överlevnadstid presenteras i Fig 1 och 2.

Mammartumörer förekom i riklig mängd. Redan efter två månader iaktogs den första tumören, ulcererande tumor mammae. Den vanligast förekommande tumörformen var fibroadenom, men även cancer, cystor och hyperplasier förekom. Hudtumörer och mammartumörer opererades delvis profylaktiskt för att förlänga råttans livslängd, Fig 3. Cirka 75% av honråttorna visade någon gång under deras livstid tecken på tumörväxt - mammartumörer och enstaka hudtumörer. Under de sista åtta månaderna av försöket opererades inga råttor, då påfrestningarna blev för stora för de åldrade djuren.

Sex råttor, jämnt fördelade mellan grupperna, gick ner i vikt på grund av att tänderna växte okontrollerat. På en del djur iaktogs håravfall, framförallt på tassar och nos. Råttorna erhöll då vitaminpreparat.

Under de sista sex månaderna av försöket avtynade råttorna snabbt. De vanligaste symptomen var hastig viktninskning, apati, orörlighet i bakdelen samt ett allmänt ruggigt utseende. Totalt spontandog 39 stycken råttor - 15 kontroldjur, 15 svetsröksdjur och 9 djur med partiklar från termisk sprutning.

Resorption av krom från pelleten

Analyser av pelletmassan innehållande svetsrökpartiklar och kolesterol visade ett krominnehåll på $59,4 \mu\text{g} \pm \text{SD } 8,56$ i implanterade pellets. Motsvarande analyser utförda sedan pelleten tagits ut vid obduktionen visade ett krominnehåll på $38,5 \mu\text{g} \pm \text{SD } 8,40 \mu\text{g}$, d v s en resorption på 35% eller $21 \mu\text{g}$ krom. Kromhalten i pelletmassan innehållande kolesterol och partiklar från termisk sprutning innehöll $1\ 277 \pm 247 \mu\text{g/pellet}$ och vid obduktionen återfanns $522 \pm 393 \mu\text{g}$ i de uttagna pellets. Resorptionen var sålunda $754 \mu\text{g}$ eller 59%.

Obduktionsresultat

De flesta djuren visade på lungornas ytor och snittytor upp till $1/2$ cm stora ljusa, nästan vita, områden i flera, ofta i alla, lobar. Dessa ljusa områden var ej koncentrerade till pelletloben. Pelleten lokaliserades i regel på platsen för operationen, men i några få fall iaktogs pelleten i höger nedre lunglobs bronk. I 22 fall kunde pelleten inte återfinnas; av dessa var sex kontrollpellets, åtta pellets med svetsrök och åtta pellets med partiklar från termisk sprutning. Bronken distalt om pelleten kunde ibland iakttagas vara lätt vidgad, slem- eller varfyllt. Fastare infiltration runt bronken syntes hos ett litet antal djur.

Primära tumörer och tumörliknande tillstånd i bronker-lungor: Bronkiala förändringar i pelletloben syntes hos de tre bens(a)pyrenrättorna - klart infiltrerande skivepitelcancer (Fig 4), skivepitelcancer in situ samt skivepitelcancer i bronk. I lungan hos en råtta med svetsrökpellet iaktogs skivepitelcancer (Fig 5:3) i höger lunga utan klar relation till bronk. Den starkt förhornade, högt differentierade skivepitelcanceren tedde sig som en perifer metastas, men någon ursprungstumör påträffades ej.

Lungor, allmänt: I lungorna iaktogs hos praktiskt taget alla djur större eller mindre områden av lungvävnad genomsett av stora, ljusa celler med små runda kärnor och genomskinlig, skummig cytoplasma efter utlösta fettsubstanser. Dessa s k makrofager, som helt uppfyllde engagerade lungdelar, låg påtagligt reaktionslöst i lungparenkymet, oberoende om råttorna levtt ett eller ett par år (Fig 5:1 och 5:2). I de flesta lungor iaktogs enstaka, tuberkelstora granulom med luckor efter utlösta lancettliknande kristaller motsvarande kolesterolkristaller. Dessa var omgivna av de typiska främmandekroppsjättecellerna och en lindrig fibros. Även dessa förändringar var nyckfullt spridda i lungorna, alltid mycket glest belägna.

Pelletloben: Pelletbäddens utseende varierade betydligt. Den kännetecknades alltid av en viss fibros, avkapslande och cellfattig i många fall och ej sällan belägen mitt i eller lätt asymmetriskt i bronken med två eller tre smala, spaltformade bronkhålrums i omgivningen (Fig 5:1). I regel syntes endast obetydlig bronkvidgning perifert och ingen eller antydd inflammatorisk retning. Denna reaktionstyp har kallats ren fibros och den sågs hos 144 stycken djur, tabell 1. En annan vanlig bild var fibros, som endast delvis avgränsade pelleten. Mot pelletytan iaktogs då ett prolifererande epitellager, oftast med s k skivepitelmetaplasi, dock aldrig med atypier (med undantag för bens(a)pyrenkontrollerna). I dessa bronkväggar sågs i regel ökad rundcellsinfiltration och fibroszonen var bredare, med omvandlade bronkialkörtlar (Fig 5:2). Epitelet i dessa bronkialkörtlar var inte slembildande utan lågt kubiskt. Intrycket var att det hade skett en nybildning av körtlar, då de ofta iaktogs i riklig mängd. Några mitoser iaktogs ej. I bronkens lumen syntes en del slem och ej sällan basofila eller eosinofila, skiktade, konkrementliknande avlagringar. Dessa avlagringar hade en viss likhet med

s k alveolära mikrokonkrement (mikrolitiasis), som man relativt ofta ser hos gamla människor. Denna reaktionstyp har grupperats som proliferation-metaplasi och sågs hos 85 råttor, tabell 1. Intermediära former mellan ren fibros och proliferation-metaplasi var relativt vanliga såsom framgår av tabell 1.

I de flesta lungor sågs i anslutning till pelletbädden små mängder brunt hemosiderinliknande pigment, ibland tillblandat svart pigment med varierande kornstorlek. Mängder pigment har ej registrerats. Detta svarta pigment sågs praktiskt taget enbart vid pelletbädden hos djur med partiklar från termisk sprutning. Som tecken på tidigare blödning kunde någon gång brunt pigment ses i alveolerna på längre avstånd från pelleten.

Atelektaser och emfysem: Begränsade atelektaser i anslutning till pelletbädden sågs i ca 1/5 av alla pelletlobor och var sålunda vanliga, i regel någon liten sektor i anslutning till pelletbädden eller något distalt härom; de var ej infekterade. Kombination med betydande dilatation av bronker sågs i åtta fall. I några fall var pelletloben totalförstörd genom en kombination av slemretention, bronkdilatation, atelektas och kronisk inflammation med fibros. Denna förändring sågs hos tre råttor med svetsrökpellet (Fig 5:2) och en råtta med pellet med partiklar från termisk sprutning. En liknande bild visade bens(a)pyren-kontrollrättan med cancer. Härdformade emfysem perifert om pelleten iaktogs ibland, men var mindre utpräglade.

Bronkiter och pneumonier: Mindre utpräglade peribronkitiska förändringar i anslutning till pelletbädden var mycket vanliga och under denna rubrik avses ej dessa förändringar. Mera utpräglade bronkiter och pneumonier med bilateral lokalisation framgår av tabell 2. Av dessa sex råttor har sålunda tre dött

spontant. Flera hade sjukdomar predisponerande för pneumonier: två djur hade påverkan på centrala nervsystemet, en råtta malignt lymfom, en råtta tumör i ventrikeln och en råtta utpräglad nefropati. Den råtta som ej hade någon mera klart predisponerande sjukdom hade hypofysadenom, binjureadenom, insulom i pankreas, små tumörer i tyreoida och var opererad för en mammartumör vägande 12,8 g.

Under denna rubrik bortses även från de mycket vanliga granulomatösa förändringar där man klart kunde se luckor efter kolesterolkristaller och jätteceller av främmandekroppstyp. Här bortses även från två, något avvikande fall: en kolesterolexponerad råtta visade ett ovanligt utpräglat inflammatoriskt inslag i anslutning till utbredda xantomcellshärdar i lungorna bilateralt, dvs flera rundceller och inslag av ödem. Ett djur med partiklar från termisk sprutning hade en peribronkiell fibromatos utpräglad i alla lobar. Reaktionen är ovanlig och för tanken på sjukdomarna peritoneal fibros och mediastinal fibromatos hos homo.

Egentliga pneumoniska förändringar i lungorna utan relation till pelleten var sålunda mycket ovanliga. Detta framgår ännu tydligare om man tar hänsyn till hur vanliga olika tillstånd, predisponerande för lung- och bronksjukdomar, var i råttmaterialet. Sålunda hade 17 råttor förändringar i stora eller lilla hjärnan vilka kunde predisponera till bronkiter eller härdpneumonier, därav sex djur med hypofysadenom med blödning och/eller inväxt i mellanhjärnan. Den stora gruppen hypofystumörer med engagemang av centrala nervsystemet avspeglar den utomordentligt höga frekvensen hypofystumörer i detta råttmaterial. Cirka 50% av råttorna hade någon form av hypofystumör.

Maligna lymfom: Maligna lymfom kan ge lungsjukdomar genom försämrat immunförsvar och direkt genom infiltration i lungorna, med atelektas, tumörnekros etc. Av de 11 råttor som hade maligna lymfom (inkluderande myeloisk leukemi) hade de flesta mycket utbredda infiltrat i lungorna (Fig 5:4), delvis så utpräglade att de försvårade bedömningen av pelletbädden. Två av dessa djur var spontandöda och hos det ena iaktogs diskreta härdpneumonier. Det var det enda djuret med klara inflammatoriska lungförändringar i denna grupp.

Metastaser till lungorna: Lungmetastaser är ovanliga vid primära maligna spontana tumörer hos råttor. I detta material iaktogs 12 djur med multipla metastaser i lungorna, förutom de 11 lymfomfallen. Lungan var det organ som oftast var säte för metastaser. Djuren med metastaser i lungorna var jämnt fördelade på de olika grupperna och mellan könen (se nedan).

Tabell 3

	Lungmetastaser	
	Honor	Hanar
Kontroll	2	3
Svetsrök	2	2
Termisk	1	2

Sjukdomar i hals, svalg och käkar: Sjukdomar i denna region i form av tyreoidetumörer var vanliga och även om dessa är relativt stora synes de inte haft någon inverkan på lungfunktionen. Fula, delvis ulcererande, nekrotiserande tumörer i käkarna iaktogs i fem fall. Hos inget av dessa djur iaktogs lungförändringar som kunde hänföras till påverkan på respirationsorganen.

Njursjukdomar: Njursjukdomar var mycket vanliga hos de äldre råttorna, men ofta diskreta. Mera utpräglade njurförändringar registrerades hos 21 av 200 undersökta djur. Samtliga var av inflammatorisk natur och några rent nefrosliknande bilder är ej medräknade. Ibland sågs mycket utpräglade pyelonefrititer, i något fall med pyelonefritisk abscess. Sex av denna grupp på 21 djur var spontandöda och av dessa visade ett kontroldjur en relativt lindrig bronkit. Djuret dog en hjärtdöd med stor tromb i förmaken. Möjligen finns det ett samband mellan spontandöd och njursjukdom.

Spontandöda: Av djuren dog 39 spontant. Lungorna visade hos dessa djur en karakteristisk bild med utpräglad ödem och stas. Mycket sällan syntes tecken på kronisk stas med järnpigmentförande alveolarfagocytoser. Bilden var så utpräglad att man i praktiskt taget alla fall enbart genom undersökning av lungorna kunde avgöra att djuren var spontandöda. Härtill bidrog att de allra flesta övriga djuren hade blivit föremål för effektiv utblödning i samband med avlivandet, vilket gjorde lungorna blodfattiga.

Orsaken till spontandöden var ofta oklar. Den största gruppen associerade sjukdomar var nefropatier. Tumörer iakttoogs i sammanlagt åtta fall - två maligna lymfom + tre med engagemang av centrala nervsystemet, två sarkom och en skivepitelcancer i lunga. En relativt liten grupp visade inflammatoriska förändringar. Rena myokarditer sågs hos fyra djur och hjärtsjukdom med stor förmakstrombos hos två djur. I ett fall sågs septikopyemi av mera utbredd typ och i ett annat fall fulminant njurinfektion samt orkit, sammanlagt sålunda åtta djur med associerade inflammatoriska förändringar förutom de sex djuren med njursjukdomar. Man kan sålunda säga att en viss klarhet beträffande orsakerna till den spontana döden erhöles i 21 fall av 39, sålunda drygt hälften av fallen.

Övrig histologi: Av övriga fynd dominerar hos honorna tumörer från mammarkörtlar, men hos bägge könen sågs rikligt med tumörer i endokrina organ, delvis av typer som är mycket sällsynta hos homo.

Kroppsvikter, organvikter samt tumörvikter presenteras i tabell 4. Ingen statistiskt signifikant skillnad vad avser dessa parametrar finns mellan de olika grupperna.

DISKUSSION

Syftet med den genomförda concertesten var att belysa risken för bronkialcancer vid kronisk exponering för rök från svetsning i rostfritt stål och sprutning med kromhaltigt material. Den testmetodik vi valt har av andra forskare visats ge positivt utfall för kromföreningar som i epidemiologiska undersökningar visats inducera bronkialcancer hos människa, medan sådana kromföreningar som ej i epidemiologiska undersökningar visats vara förenade med ökad cancerincidens ej heller med den av oss använda testmetodiken givit positivt utfall. Vi har testat två typer av partiklar vilka bägge innehåller sex- och trevärdiga kromföreningar av olika löslighet. Röken har uppsamlats från helt skilda processmetoder, termisk sprutning och svetsning med belagda elektroder. För att förvissa oss om att metoden i vår hand kan ge svar i form av skivepitelcancer har vi även inkluderat positiva kontroller med bens(a)pyren och dessa kontroller visade att metodiken även i våra händer är känslig för bronkogent cancerogena ämnen.

Det är väl känt att hos råttor kan luftvägsinfektioner vara en begränsande faktor för överlevnadstiden. Vi vidtog därför särskilda åtgärder för att begränsa risken för smittspridning via luften. Med särskilt konstruerad burställning hölls råttorna två och två, isolerade från övriga med hjälp av separat ventilation för varje burkompartiment. Stor omsorg nedlades vid varje manipulation i syfte att hindra smittspridning. Resultatet av ansträngningarna är ytterst uppmuntrande. Den begränsande faktorn för överlevnaden hos huvuddelen av våra 300 råttor visade sig vara utveckling av tumörer, huvudsakligen från endokrina organ och reproduktionsorganen. De få allvarliga luftvägsinfektioner som observerats är sannolikt sekundära till andra förändringar. I ett antal fall såg

vi svåra pyelonefriten. Vi hade en medianöverlevnadstid för våra djur på 110 veckor och range 22 till 140 veckor.

Djuren visade vid obduktion en provkarta på tumörer. Hypofysadenom synes vara vanligt förekommande hos denna rättstam och, möjligen sekundärt till dessa, tyreoida- och binjuretumörer. Mammartumörer var vanligt hos honorna, vilket tvingade oss att ingripa operativt för att förlänga induktionstiden i lungorna. Den höga frekvensen av mammartumörer sammanhänger sannolikt med den vanliga förekomsten av hypofysadenom.

Mammarvävnaden visade ofta en laktationsbild som vid prolaktinpåverkan. Det är svårt att avgöra huruvida den höga frekvensen av endokrina tumörer är genetiskt betingad och förknippade med den rättstam vi använt eller om den var betingad av en faktor i födan. Det kan konstateras att med den rättstam vi använt hade en begränsning av materialet till hanar inneburit en möjlighet till förlängd induktionstid i lungorna, då mammartumörerna uppenbarligen påverkade överlevnadstiden för honorna.

När det gäller lungfynden kunde vi, i likhet med tidigare undersökare, konstatera att pelleten framkallar en fibros lokalt. I ett fall hittades en skivepitelcancer i höger lunga utan säker anknytning till bronk, således på motsatta sidan från den där pelleten återfanns; denna råtta hade exponerats för svetsrökpartiklar från konventionell bågsvetsning. Levy (1975) följde under två år 400 råttor med kolesterolpelletet implanterad i bronk utan att observera ett enda fall av skivepitelcancer. Den förväntade incidensen av skivepitelcancer i lungan är således låg.

Det finns uppenbarligen flera möjligheter att tolka vårt fynd av en skivepitelcancer i detta fall. Avsaknaden av kontakt med bronk skulle kunna tyda på en

solitär metastas, men någon primärtumör har icke kunnat återfinnas, vilket emellertid inte utesluter att en sådan kan ha funnits någonstans i lungan eller annorstädes. Pelletbädden visade enbart fibros utan metaplasi. Man kan ej helt utesluta att material från pelleten vid implantationen, eller senare, har lossnat och deponerats i höger bronkträd och där inducerat cancer. Det kan således inte helt uteslutas att denna cancer, som observerades i detta enstaka fall, kan vara orsakad av svetsrökexpositionen. Trots att metaplasi i bronkialepitelet var ett vanligt fynd iaktogs ej något djur med dysplastiska precancerösa förändringar i epitelet i anslutning till pelleten. Det kan således konstateras att - jämfört med tidigare testade bronkogent cancerogena kromföreningar och jämfört med bens(a)pyren - dessa svetsrökpartiklar har en väsentligt lägre grad av cancerogenicitet. Det är inte sannolikt att man med denna råttmodell kan ytterligare kvantifiera denna låga risk. Mot bakgrunden av kroms mutagena effekt och den omständigheten att vissa kromföreningar är klart bronkogent cancerogena finns naturligtvis anledning att epidemiologiskt uppmärksamt följa arbetare som exponeras för kromhaltig svetsrök.

Hittills genomförda epidemiologiska studier ger inte stöd för någon starkt cancerogen effekt av dylik svetsrök. Den av oss genomförda testen ger inget stöd för några risker av sådan storleksordning att de kräver omedelbara åtgärder eller omprövning av nu gällande riskbedömning. Det är emellertid väsentligt att understryka att våra negativa resultat inte utesluter en överrisk för lungcancer hos svetsrökexponerade arbetare, som svetsar i rostfritt eller kromhaltigt stål.

REFERENSER

Abell MT, Carlberg JR.

A simple reliable method for the determination of airborne hexavalent chromium. *Am Ind Hyg Ass J* 35:229 (1974).

Bigaliev AB, Turebaev MN, Bigalieva RK, Elemesova M Sh. Cytogenic examination of workers engaged in chrome production. *Genetika* 13:545 (1977).

Bohgard M, Jangida BL, Akselsson KR.

An analytical procedure for determining chromium in samples of airborne dust. *Ann Occup Hyg* 22:241 (1979).

Casto BC, Myers J, DiPaolo JA.

Enhancement of viral transformation for evaluation of the carcinogenic or mutagenic potential of inorganic metal salts. *Cancer Res* 39:193 (1979).

Green MHL, Muriel WJ, Bridges BA.

Use of a simplified fluctuation test to detect low levels of mutagens. *Mutat Res* 38:33 (1976).

Hayes RB.

Occupational exposure to chromium and cancer: a review. In: *Reviews of Cancer Epidemiology*, vol 1, Elsevier/North Holland, New York (1979).

Hueper WC.

Specific occupational cancers and their environmental counterparts. *Recent Results Cancer Res* 3:1 (1966).

Laskin S, Kuschner M, Drew RT.

In: Inhalation Carcinogenesis (MG Hanna Jr, P Nettesheim and JR Gilbert, eds). AEC Symposium Series 18. Oak Ridge, Tenn: United States Atomic Energy Commission, Division of Technical Information, 321-350 (1970).

Levy L.

Effects of various chromium-containing materials on rat lung epithelium. Thesis, London University (1975).

Malmqvist K, Johansson G, Bohgard M, Akselsson R.

Luftföroreningar vid svetsning - karakterisering av svetsrök. Slutrapport ASF Dnr 75/109. LUTFD2/TFKF-3025/1-113 (1980).

Malmqvist KG, Johansson GI, Bohgard M, Akselsson KR.

Elemental concentrations in airborne particles from welding and metal spraying operations. Nuclear Instruments and Methods 181:465 (1981).

Nakamuro K, Yoshikawa K, Sayato Y, Kurata H.

Comparative studies of chromosomal aberration and mutagenicity of trivalent and hexavalent chromium. Mutat Res 58:175 (1978).

National Institute for Occupational Safety and Health.

Occupational exposure to chromium (VI). HEW Publ No (NIOSH) 76-129 (1975).

Nestmann ER, Matual TI, Douglas GR, Bora KC, Kowbel DJ.

Detection of the mutagenic activity of lead chromate using a battery of microbial test. Mutat Res 66:357 (1979).

Newbold RF, Amos J, Connell JR.

The cytotoxic, mutagenic and clastogenic effects of chromium-containing compounds on mammalian cells in culture. *Mutat Res* 67:55 (1979).

Petrilli FL, DeFlora S.

Metabolic deactivation of hexavalent chromium mutagenicity. *Mutat Res* 54:139 (1978).

Rylander R, Hellström PA.

Versatile cage for environmental protection housing of research animals. *J Lab Animal Science* 23:876 (1973).

Sirover MA, Loeb LA.

Infidelity of DNA synthesis in vitro: screening for potential metal mutagens or carcinogens. *Science* 194:1434 (1976).

Tabell 2

Bronkiter och pneumonier.

<u>Exposition</u>	<u>Sjukdomstillstånd</u>	<u>Anmärkning</u>
Kolesterol kontroll:	Kronisk bronkit, dock mest i höger lob.	Nefropati + hjärtdöd med förmaksflimmer. Spontandöd.
Svetsröks- råtta:	Varig bronkit bilateralt.	Hypofysadenom med CNS- blödning. Spontandöd.
Svetsröks- råtta:	Variga härdpneumonier bilateralt.	-----
Svetsröks- råtta:	Smärre härdpneumonier.	Gliom i hjärnan.
Termisk sprutning råtta:	Smärre härdpneumonier. Mest dx.	Malignt lymfom. Spontandöd.
Termisk sprutning råtta:	Härdpneumoni + varig bronkit.	Sarkom i ventrikeln.

Kön	Grupp	Kroppsvikt (g)		Organvikter, i % av kroppsvikten samt i gram												
		Medel	Min.värde	Max.värde	Lever		Njurar		Mjälte							
					%	g	max	min	%	g	max	min				
Honor	Kontroll	340.0	239.0	484.0	3.58	12.2	6.6	28.4	0.78	2.6	1.5	3.7	0.39	1.3	0.5	7.9
	Svetsrök	308.4	182.0	425.0	3.48	10.1	5.9	17.9	0.85	2.6	1.4	4.8	0.35	1.1	0.3	3.1
	Termisk	333.1	230.0	448.0	3.64	12.3	6.6	23.8	0.84	2.7	1.7	7.2	0.38	1.3	0.5	4.6
Honar	Köntroll	497.9	289.0	652.0	3.50	17.6	9.1	33.0	0.83	4.1	2.0	6.7	0.34	1.7	0.6	10.2
	Svetsrök	501.6	212.0	705.0	3.93	19.1	8.5	27.2	0.93	4.4	2.2	8.8	0.60	2.2	0.5	28.8
	Termisk	494.3	331.0	726.0	3.87	19.0	11.1	36.1	0.94	4.5	3.0	7.1	0.31	1.5	0.5	8.7

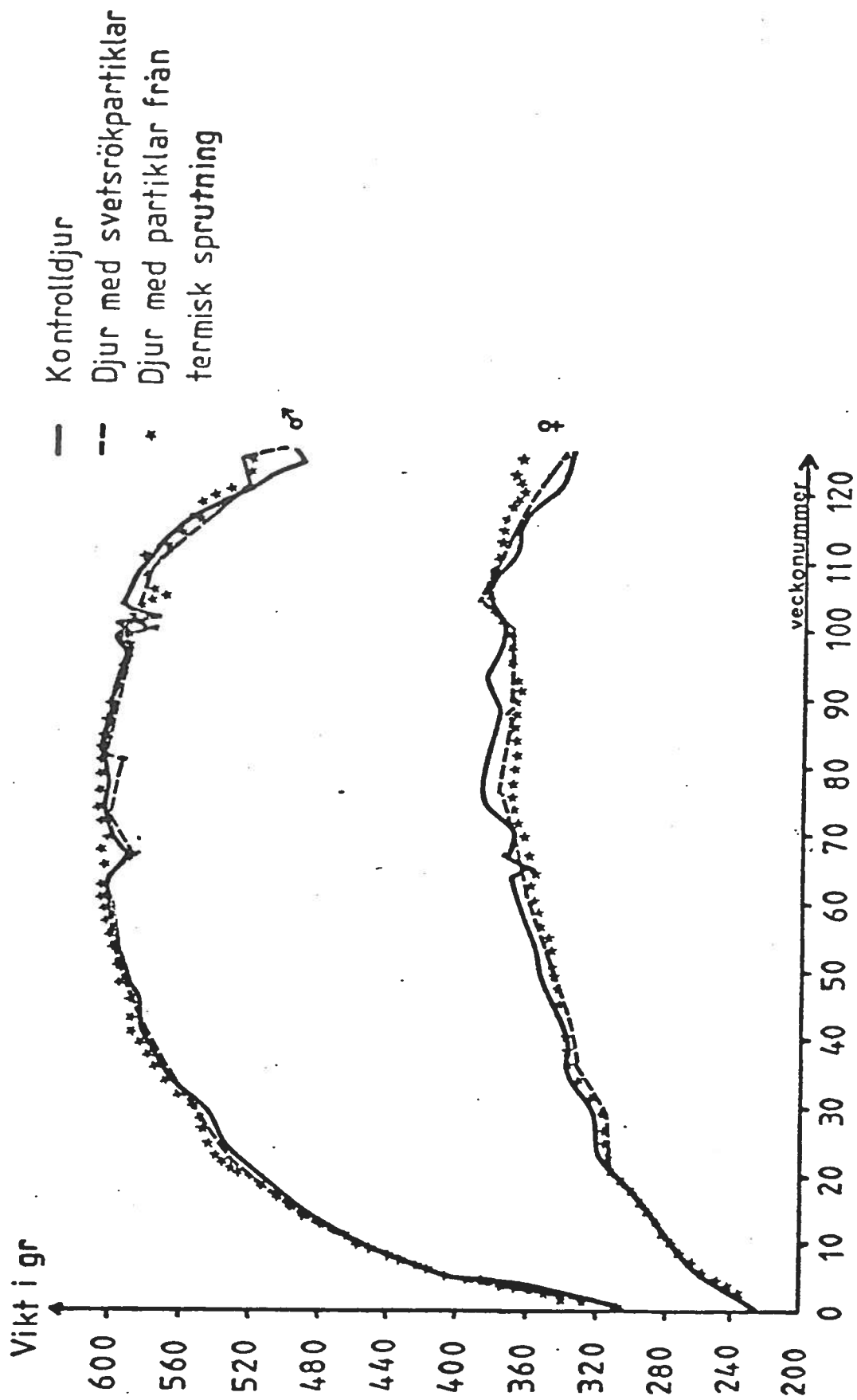
Kön	Grupp	Tumörvikter, i % av kroppsvikten		Obduktionstumör (max.värde)		Operationstumör 1 (max.värde)		Operationstumör 2 (max.värde)	
		Medel	Max.värde	Max.värde	Max.värde	Max.värde	Max.värde	Max.värde	Max.värde
Honor	Kontroll	8.29	(43.88)	1.72	(21.89)	0.71	(13.03)		
	Svetsrök	4.84	(25.62)	2.83	(16.38)	0.39	(8.29)		
	Termisk	8.49	(40.63)	1.67	(10.62)	0.75	(13.20)		
Honar	Köntroll	0.66	(12.29)	0.48	(18.89)	-			
	Svetsrök	1.58	(30.02)	0.32	(5.73)	-			
	Termisk	0.24	(10.74)	0.07	(1.73)	-			

Figurtexter

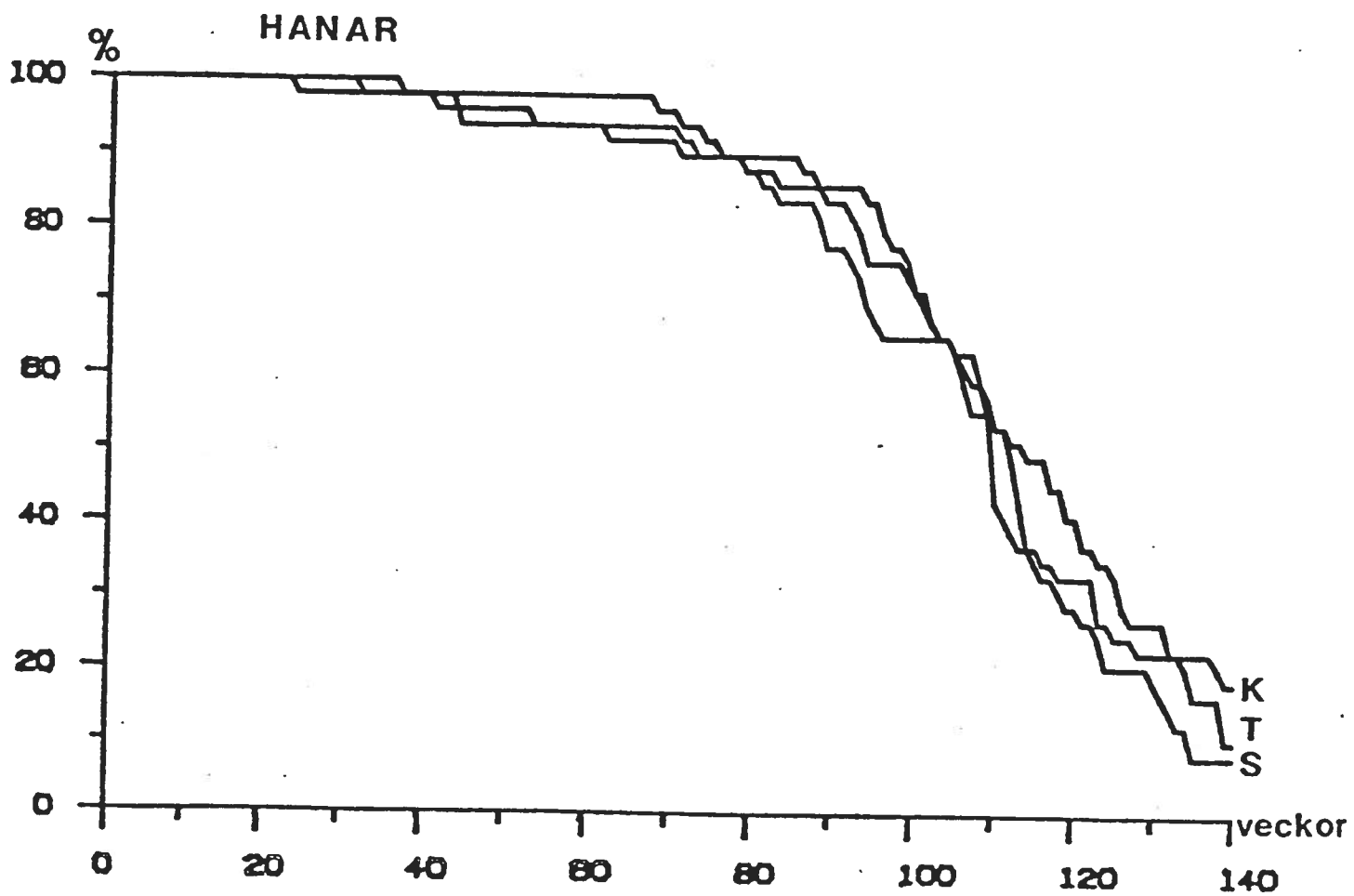
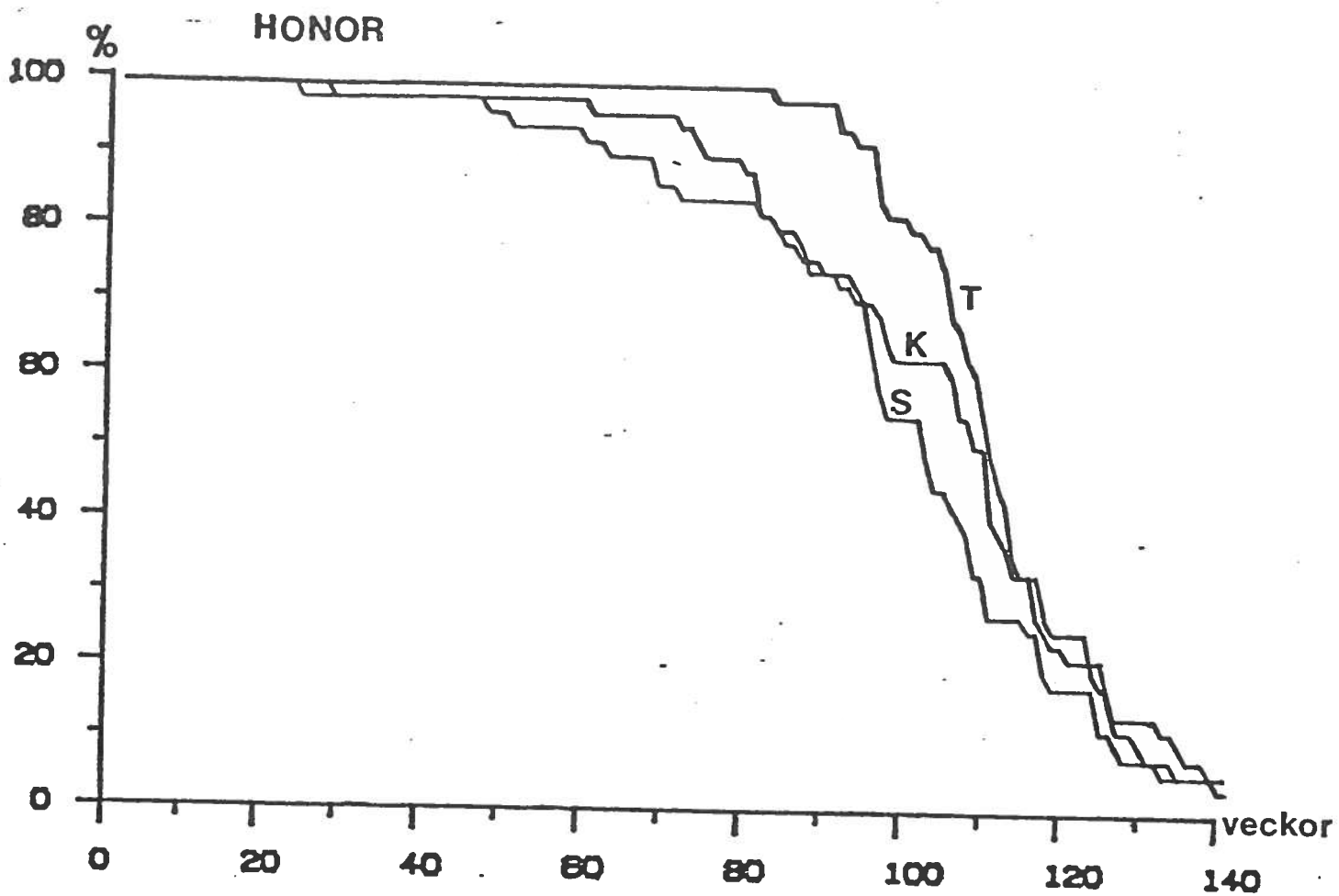
Fig 5.

- Fig 5:1. Råtta (278) exponerad för svetsrökpartiklar. Pelletbädd med enkel fibrös avkastning av pelleten inne i bronklumen. Bronklumen kvarstår som halvmånformade spalter runt om. Ingen atelektas och ingen fibros i omgivande lungvävnad.
- Fig 5:2. Råtta (164) exponerad för svetsrökpartiklar. Nedtill till höger ses vidgning av bronken som utklädes av metaplastiskt skivepitel. Mäktig fibrös förtjockning av bronkväggen med rester av slemkörtlar, delvis som små cystor. Fibros och inflammation i omgivande lunglob som var totalförstörd.
- Fig 5:3. Råtta (185) exponerad för svetsrökpartiklar. Pelletfri del av lungan, i övre delen av bilden lungvävnad med fetthaltiga "skumceller" i alveolerna. Nedtill högt differentierad skivepitelcancer med massiv utformning av hornskollor i stora virvlar. Liten angränsande bronk utan reaktion i väggen.
- Fig 5:4. Råtta (81) exponerad för rökpartiklar från termisk sprutning. Massiv infiltration av maligna lymfoceller runt en liten bronk. I omgivande lungalveoler rikligt med fettrika stora celler med skummig cytoplasma (makrofager).

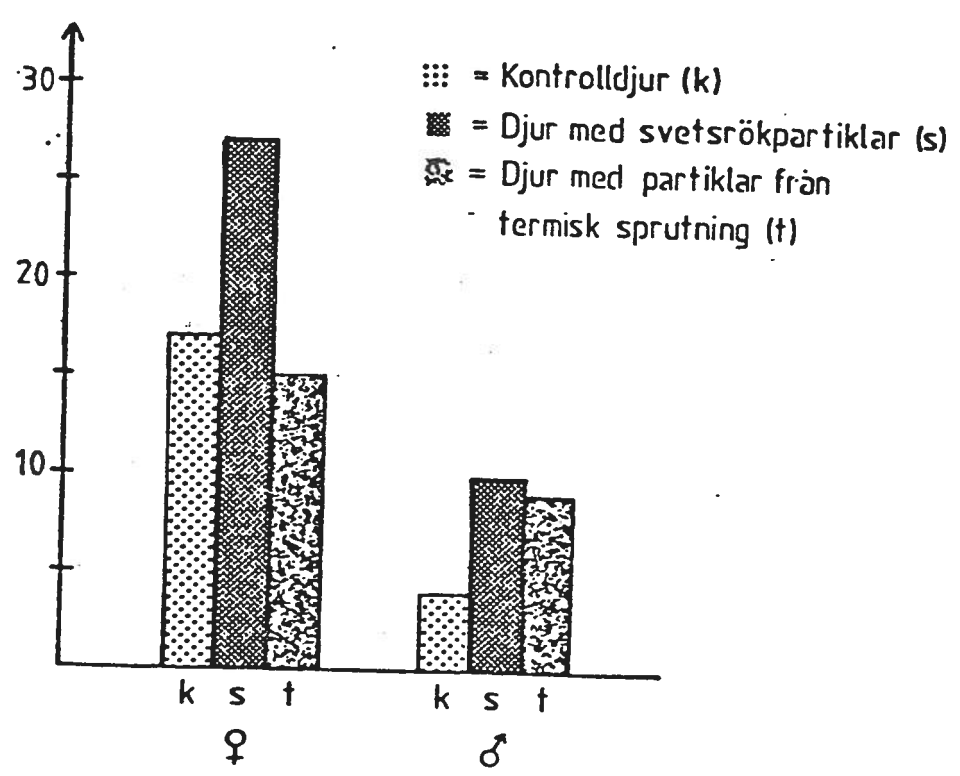
VIKTKURVA FÖR HANAR OCH HONOR



OVERLEVNADSTID



Antal djur på
vilka tumörexcision gjorts



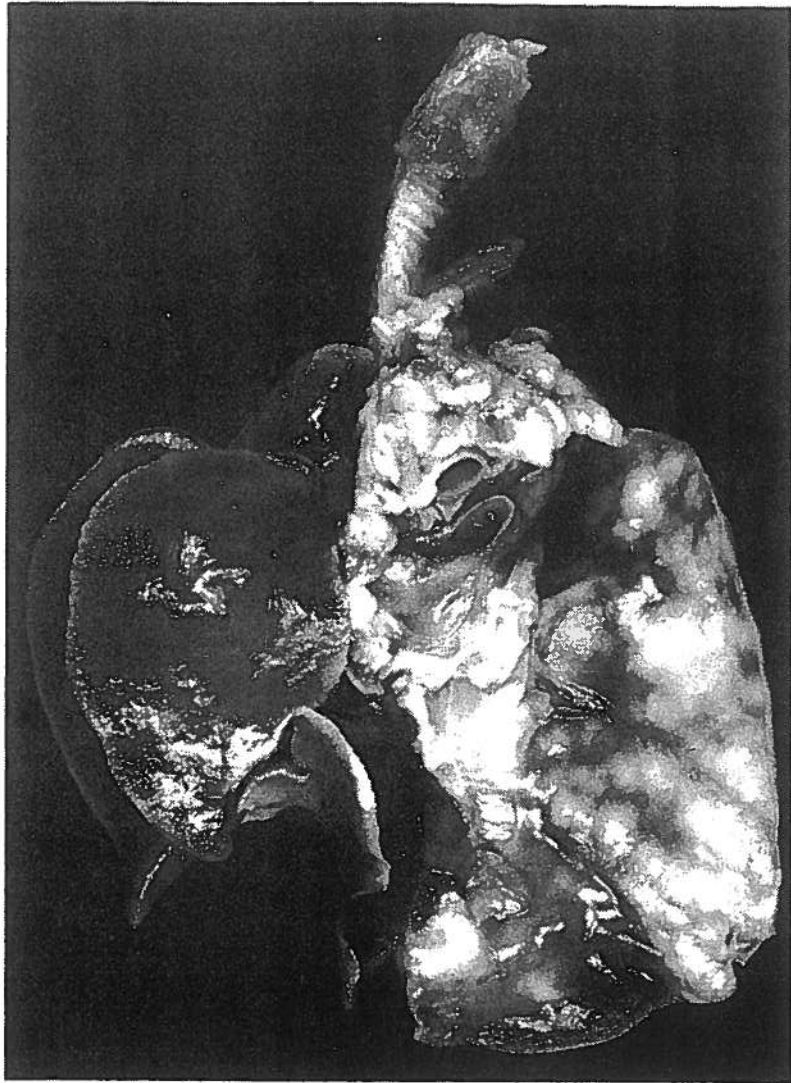


Fig. 4

Råtta exponerad för bens(a)pyren. Utbredd växt av cancer i pelletloben.

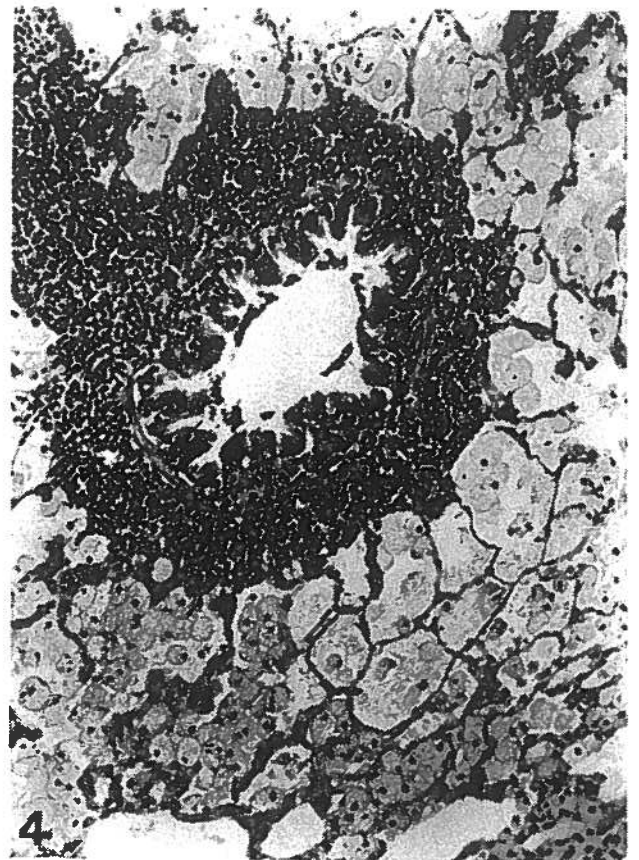
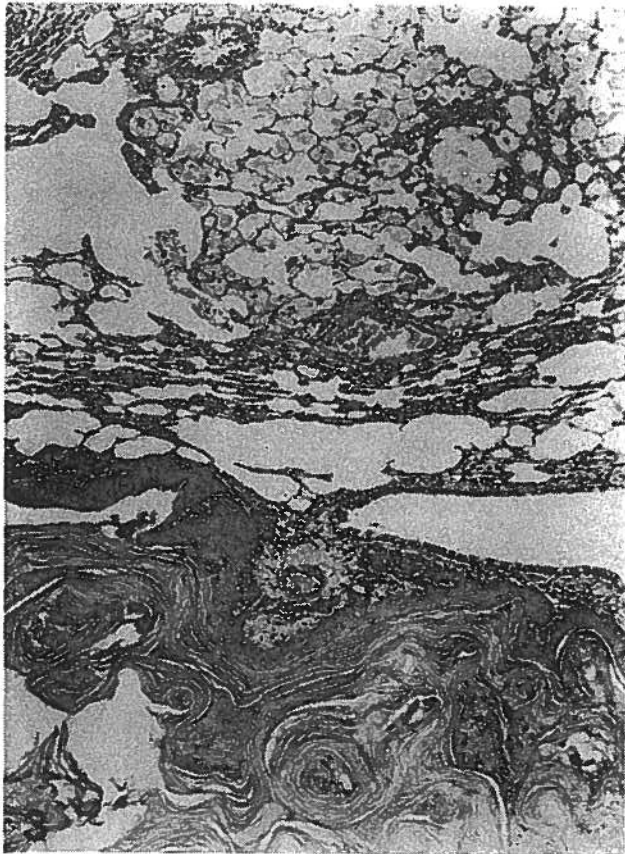
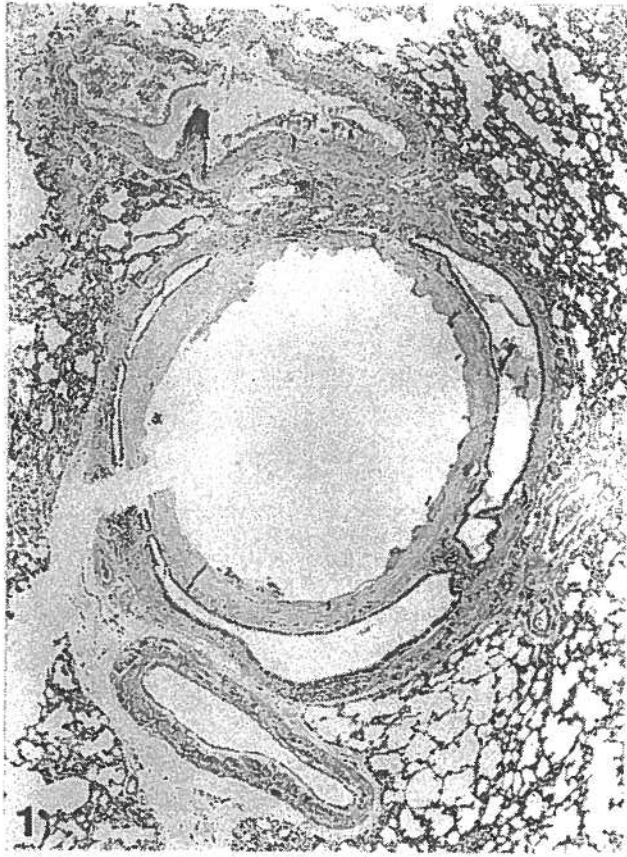


Fig. 5