

Dominika Świerczyńska-Machura

Cezary Pałczyński

WYBRANE PATOGENETYCZNE I KLINICZNE ASPEKTY ASTMY WYWOŁANEJ ZAWODOWĄ EKSPOZYCJĄ NA DIIZOCYJANIANY

PATHOGENETIC AND CLINICAL ASPECTS OF DIISOCYANATE ASTHMA

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Łódź

Ośrodek Alergii Zawodowej i Zdrowia Środowiskowego

STRESZCZENIE

Diizocyjaniany (DIC) są jedną z najczęstszych przyczyn astmy zawodowej, której częstość w krajach rozwiniętych szacuje się od 5% do 15% astmy dorosłych. Narażenie na te związki chemiczne dotyczy zatrudnionych przy produkcji pianki poliuretanowej, plastikowych opakowań, laminatów i farb poliuretanowych. Diagnostyka astmy zawodowej indukowanej diizocyjanianami jest trudna ze względu na brak prostych diagnostycznych i przesiewowych testów, niejasny patomechanizm oraz mnogość innych potencjalnych astmogenów obecnych w środowisku pracy. Obecnie jedynym badaniem o rzeczywistej wartości diagnostycznej astmy diizocyjanianowej jest standaryzowana próba wziewna z alergenami środowiska pracy w stężeniach nieprzekraczających przyjętych normatywów higienicznych. W uczuleniu wywołanym przez diizocyjaniany odczynowi zapalnemu w drogach oddechowych towarzyszy zwiększona aktywacja komórek Th2 oraz zwiększony poziom cytokin IL-4, IL-5 i IL-13. Część badaczy uważa jednak, że reakcja immunologiczna na diizocyjaniany ma charakter mieszany i jest typu Th1/2. Kluczową rolę w poszerzaniu wiedzy na temat patogenetyki licznych chorób, w tym również astmy oskrzelowej, odgrywają badania eksperymentalne na zwierzętach. Zdecydowanie najlepszym modelem doświadczalnym dla astmy indukowanej diizocyjanianami jest model myszy. Myszy mają lepiej zdefiniowany genom w porównaniu z świnkami morskimi i szczurami, poza tym istnieje większa dostępność odczynników do badań immunologicznych oraz różnego rodzaju transgenicznymi odmian tych zwierząt. Pogłębienie wiedzy dotyczącej patomechanizmu alergicznego zapalenia w drogach oddechowych oraz astmy indukowanej przez diizocyjaniany powinno prowadzić do odkrycia wczesnych markerów uczulenia, wyodrębnienia kolejnych czynników ryzyka oraz udoskonalenia procesu diagnostycznego astmy zawodowej wywołanej przez ww. astmogeny. Med. Pr. 2012;63(1):97–103

Słowa kluczowe: diizocyjaniany, astma zawodowa, immunopatogeneza, modele doświadczalne

ABSTRACT

Diisocyanates are currently the most common cause of occupational asthma in industrialized countries, where its prevalence ranges from less than 5% to 15%. They are mainly used in the production of polyurethane foam, plastic packagings, laminates and polyurethane paints. The diagnosis of diisocyanate asthma is often problematic due to the lack of simple diagnostic or screening tests, uncertainty of underlying mechanisms, and a multitude of other potential occupational and environmental causes of asthma. At present, only a specific standardized challenge test with diisocyanates in concentrations not exceeding the adopted hygiene standards has been found to show a real diagnostic value. The diisocyanate-induced sensitization, is associated with the recruitment of CD4 T lymphocytes to the lungs and the production of Th2-type cytokines, including IL-4, IL-5 and IL-13. However, clinical studies have suggested that an immunological response to diisocyanates may involve both Th1 and Th2 cells. The development of animal models has been instrumental in furthering the understanding of the pathogenesis of many diseases, including bronchial asthma. Murine models of diisocyanate-induced asthma have proved to be the most useful. Mouse models offer distinct advantages of a better-defined genome than that of guinea pigs or rats and the availability of antibody reagents and transgenic strains to investigate detailed mechanistic pathways. A better understanding of the immunopathogenesis of diisocyanate asthma will hopefully lead to early markers of sensitization and asthma, as well as to a profound comprehension of exposure and host risk factors, both of them should greatly facilitate the development of much-needed diagnostic and preventive strategies for diisocyanate asthma. Med Pr 2012;63(1):97–103

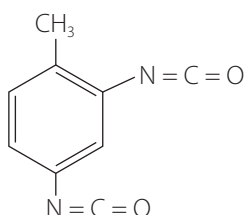
Key words: diisocyanates, occupational asthma, immunopathogenesis, experimental models

Adres autorki: Ośrodek Alergii Zawodowej i Zdrowia Środowiskowego,
Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź; e-mail: mika@imp.lodz.pl
Nadesłano: 24 stycznia 2012
Zatwierdzono: 26 stycznia 2012

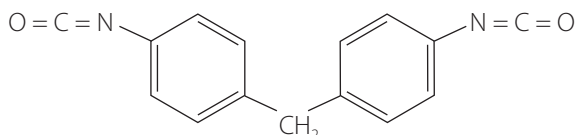
WSTĘP

Diizocyjaniany (diisocyanates – DIC) należą do grupy silnie elektrofilnych, związków chemicznych o małej masie cząsteczkowej (tj. poniżej 5000 D) wykorzystywanych do produkcji poliuretanów. W przemyśle powszechnie stosuje się: diizocyjanian toluenu (toluene diisocyanate – TDI), diizocyjanian difenylometanu (diphenyl-methane isocyanate – MDI) i diizocyjanian heksametylenu (hexamethylene diisocyanate – HDI), natomiast rzadziej diizocyjanian naftalenu (naphthalene diisocyanate – NDI) i diizocyjanian izoforonu (isophorone diisocyanate – IPDI) (ryc. 1) (1,2).

2,4 – TDI



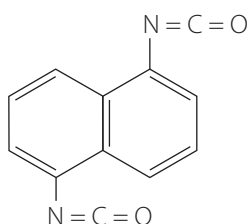
MDI



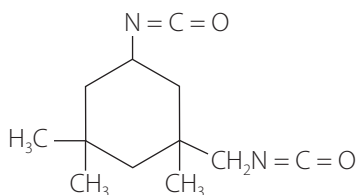
HDI



NDI



IPDI



Ryc. 1. Budowa chemiczna głównych diizocyjanianów
Fig. 1. Chemical structures of major diisocyanates

Diizocyjaniany są jedną z głównych przyczyn astmy zawodowej, której częstość występowania w krajach rozwiniętych szacuje się na 5% do 15% astmy dorosłych (3–7). Obecnie w produkcji przemysłowej stosuje się wiele rodzajów monomerów, polimerów wstępnych, oligomerów oraz polidiizocyjanianów, które różnią się właściwościami chemicznymi i fizycznymi, w tym rozpuszczalnością oraz wielkością cząstek. Narażenie na wszystkie ww. czynniki może prowadzić do rozwoju astmy zawodowej u narażonych pracowników (8–10).

Silna reaktywność chemiczna diizocyjanianów przejawiająca się w zdolności do wiązania z białkami w połączeniu z ich własnościami toksycznymi powoduje, że patogeneza astmy wywołanej przez te związki, podobnie jak obraz kliniczny, jest heterogenna.

NARAŻENIE NA DIC, BIOMARKERY NARAŻENIA, CZYNNIKI RYZYKA ASTMY WYWOŁANEJ EKSPOZYCJĄ NA DIC

Narażenie na diizocyjaniany dotyczy przede wszystkim zatrudnionych przy produkcji pianki poliuretanowej, plastikowych opakowań, laminatów i farb poliuretanowych (tab. 1). Biologiczne skutki ekspozycji na diizocyjaniany związane są m.in. z ich działaniem drażniącym i uczulającym układ oddechowy oraz skórę (11,12). W zależności od wymagań procesu technologicznego DIC mogą występować w formie ciekłej, pary lub aerozolu (13). Uważa się, że do alergizacji dochodzi pierwotnie drogą układu oddechowego, jednak również ekspozycja skórna może indukować uczulenie dróg oddechowych, co udowodniono zarówno u zwierząt, jak i u ludzi (14–16). Większe ryzyko występowania objawów astmatycznych odnotowano u pracowników fabryki mebli narażonych poprzez ekspozycję skórą na ciekły MDI w porównaniu z pracownikami nienarażonymi (17). Oprócz astmy diizocyjaniany w obrębie układu oddechowego mogą wywoływać także m.in. alergiczny nieżyt nosa, zespoły: reaktywnej dysfunkcji dróg oddechowych (reactive airways dysfunction syndrome – RADS) i górnych dróg oddechowych (reactive upper airways dysfunction syndrome – RUDS), chemiczne zapalenie oskrzeli, obrzęk płuc, przetrwałą niespecyficzną nadreaktywność oskrzeli (1), alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (AZPP, tzw. płuco pracowników przemysłu chemicznego) oraz przyspieszony spadek natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej (forced expiratory volume in 1 second – FEV₁) związany z wiekiem.

Tabela 1. Najczęstsze zastosowanie diizocyjanianów
Table 1. Major applications of diisocyanates

Nazwa chemiczna Chemical name	Zastosowanie Application
Diizocyjanian toluenu (TDI) / Toluene diisocyanate	elastyczne pianki uretanowe, powłoki poliuretanowe / flexible urethane foams, polyurethane coatings
Diizocyjanian difenylometanu (MDI) / Diphenylmethane diisocyanate	sztywne i półsztywne pianki poliuretanowe, materiały izolacyjne, syntetyczna skóra, kleje, laminaty / rigid and semi-rigid polyurethane foams, insulating materials, synthetic leather, glues, laminates
Diizocyjanian heksametylenu (HDI) / Hexamethylene diisocyanate	farby poliuretanowe, pokrycia, lakiery / polyurethane paints, coatings, varnishes

Udokumentowanym czynnikiem ryzyka zarówno uczulenia, jak i astmy oskrzelowej jest wysokie stężenie diizocyjanianów w powietrzu środowiska pracy (18). Przy ustalaniu obowiązujących wartości normatywnych higienicznych dla większości związków chemicznych o małej masie cząsteczkowej bierze się pod uwagę zależność między poziomem narażenia a efektami alergizującymi tych substancji. Badania Bernsteina i wsp. (19) wskazują, że utrzymywanie poziomu stężenia MDI poniżej 0,005 ppm w otoczeniu pracujących skutkuje niską częstością uczulenia na MDI i związanej z nim astmy zawodowej. Ponieważ diizocyjaniany występują w środowisku pracy jako aerosole i pary zawierające różnego rodzaju monomery i polimery, ocena stężenia tych alergenów w powietrzu jest technicznie dosyć trudna. Z tego powodu poszukuje się wiarygodnych wskaźników umożliwiających prowadzenie monitoringu biologicznego. Potencjalnymi biomarkerami narażenia na DIC mogą być białkowe połączenia cząsteczek izocyanianów z albuminami lub hemoglobina w surowicy krwi, metabolity DIC zawarte w moczu, a także specyficzne przeciwciała klasy IgG skierowane przeciwko diizocyjanianom (20–23). Jedną z prozapalnych cytokin – metaloproteinaza 9 (matrix metalloproteinase-9 – MMP-9) – wydaje się być według niektórych autorów najlepszym serologicznym markerem ryzyka rozwoju astmy zawodowej wśród pracowników narażonych na działanie TDI w miejscu pracy (24,25).

Zaobserwowano, że polimorfizm swoistych HLA klasy II jest związany z podatnością lub opornością na rozwój astmy diizocjanianowej. Szczególne znaczenie ma tu zmienność aminokwasu występującego w pozycji 57. HLA-DQB1. Istotnym czynnikiem ryzyka takiej astmy jest także obecność niektórych polimorfizmów genetycznych związanych z procesami metabolizmu ksenobiotyków, zwłaszcza polimorfizmów genów kodujących glutation-S-transferazę. Z tego powodu uważa się, że osoby będące nosicielami tych mutacji (np. nosiciele

genotypu glutation-S-transferazy pi – GSTP1) są znacznie bardziej wrażliwe i zachorowują nawet w przypadku bardzo niskich poziomów narażenia (26,27).

OBJAWY KLINICZNE ORAZ DIAGNOSTYKA ASTMY DIIZOCYJANIANOWEJ

Kliniczne objawy astmy diizocyjanianowej rozwijają się po okresie latencji wynoszącym zwykle od kilku miesięcy do kilku lat od początku ekspozycji. Potwierdzają to m.in. badania autorów kanadyjskich, z których wynika, że okres ten wśród analizowanej przez nich grupy 425 pracowników z rozpoznaną astmą zawodową indukowaną przez diizocyjaniany wynosił średnio 5 lat (18). Z kolei w badaniach Orriolsa i wsp. pierwsze objawy sugerujące astmę pojawiły się u pracowników średnio po 16 miesiącach pracy w narażeniu na diizocyjaniany (28).

Nawet bardzo niskie stężenia astmogenów mogą prowokować wystąpienie objawów astmy u osób uczulonych. Obraz kliniczny astmy indukowanej przez DIC jest właściwie tożsamy z objawami astmy atopowej (kaszel, duszność, świsty w klatce piersiowej). Reakcja astmatyczna może obejmować wszystkie trzy klasyczne typy reakcji: wczesną (poniżej godziny od ekspozycji), późną (między 4. a 12. godziną) oraz dwufazową (29). Generalnie przyjmuje się jednak, że izolowana reakcja wczesna nie jest charakterystyczna dla astmy diizocyjanianowej. U chorego z astmą wywołaną przez DIC rozwija się przetrwała nadreaktywność oskrzeli na niespecyficzne czynniki, która może występować nawet mimo przerwania narażenia na diizocyjaniany.

Rozpoznanie astmy zawodowej indukowanej diizocyjanianami jest trudne ze względu na brak prostych diagnostycznych i przesiewowych testów, niejasny patomechanizm oraz mnogość innych potencjalnych astmogenów obecnych w środowisku pracy.

Związek istniejących u pracownika dolegliwości ze strony układu oddechowego z narażeniem na diizo-

cyjaniany w środowisku pracy często bywa trudny do udowodnienia. W tym celu analizuje się dane uzyskane z wywiadu chorobowego, ocenia się zmienność szczytowego przepływu wydechowego oraz stopień nadreaktywności oskrzeli w próbie metacholinowej, a także wykonuje się badania serologiczne (oznaczanie antygenowo swoistych przeciwciał klasy IgE i IgG) (30,31).

U osób z astmą wywołaną przez DIC swoiste przeciwciała IgE występują u około 5–30% pacjentów, ale sporadycznie spotyka się je także w surowicy pracowników bez objawów klinicznych. Ponadto poziom specyficznych przeciwciał może być niewykrywalny, jeżeli okres od zakończenia narażenia jest odpowiednio długi (32–36). W Instytucie Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi materiał z lat 1999–2010 pokazuje, że u pacjentów narażonych na DIC w miejscu pracy oznaczenia poziomu swoistych przeciwciał dla tych alergenów nie przyniosły pozytywnych wyników. W tym przypadku okres odsunięcia od narażenia wynosił średnio 7,5 roku (37). Dodatkowo u części osób wykazano również obecność IgG specyficznych dla diizocyjanianów, które to przeciwciała uznaje się obecnie za jeden z biomarkerów narażenia na DIC.

Obecnie jedynym badaniem o rzeczywistej wartości diagnostycznej astmy diizocyjanianowej jest standaryzowana próba wziewna z alergenami środowiska pracy w stężeniach nieprzekraczających przyjętych normatywów higienicznych. Jest ona szczególnie przydatna, kiedy dochodzi do rozbieżności między dodatnim wywiadem a ujemnymi wynikami innych badań laboratoryjnych oraz kiedy nie można obserwować pacjenta w miejscu pracy (38–40).

PATOGENEZA ASTMY WYWOŁANEJ EKSPOZYCJĄ NA DIIZOCYJANIANY

Diizocyjaniany są związkami chemicznymi mającymi charakter haptenu, które ujawniają swoje działanie alergizujące po kowalencyjnym związaniu z białkami komórkowymi oraz białkami występującymi w płynach biologicznych. Obecność w cząsteczce diizocyjanianu dwóch silnie elektrofilnych ugrupowań $N = C = O$ decyduje o reaktywności w stosunku do białek oraz powoduje, że związki te mają właściwość tworzenia wiązań krzyżowych w strukturze łańcucha polipeptydowego tej samej cząsteczki białka, a także między łańcuchami polipeptydowymi różnych białek. W ten sposób dochodzi do powstania nowych epitopów antygenowych, odmiennych od tych, jakie występują w natywnym białku. Diizocyjaniany mogą tworzyć wiązania kowa-

lencyjne z albuminami, a także z aktyną, tubuliną i keratyną (41,42).

W nabłonku dróg oddechowych występuje metaplasja komórek kubkowych, hipersekrecja śluzu, napływ leukocytów oraz eozynofilia i neutrofilia, a także dochodzi do remodelingu oskrzeli.

Mimo że klinicznie astma diizocyjanianowa jest podobna do astmy alergicznej, to mechanizmy immunologiczne biorące udział w indukcji zapalenia są przypuszczalnie odmienne. W uczuleniu wywołanym przez diizocyjaniany – podobnie jak w astmie alergicznej – odczynowi zapalnemu w drogach oddechowych towarzyszy zwiększona aktywacja komórek Th2 oraz zwiększony poziom cytokin IL-4, IL-5 i IL-13. Część badaczy uważa jednak, że reakcja immunologiczna na diizocyjaniany ma charakter mieszany i jest typu Th1/2. Potwierdzają to badania, w których stymulacja *in vitro* limfocytów pobranych od pacjentów wykazała napływ prozapalnych cytokin obu typów komórek. Ponadto we krwi obwodowej oraz nabłonku dróg oddechowych wykrywa się aktywowane limfocyty T CD8 (43,44).

Wielu autorów podkreśla także istotną rolę TNF- α w astmie indukowanej przez TDI, który to czynnik wpływa zarówno na niespecyficzne procesy zapalne, jak i na procesy immunologiczne. Wykazano spadek do podstawowego poziomu liczby komórek zapalnych w drogach oddechowych i metaplasji komórkowej oraz zmniejszenie uszkodzenia nabłonka i nadreaktywności oskrzelowej na metacholinę u myszy pozbawionych tej cytokiny. Stwierdzono ponadto, że niedobór TNF- α znacząco znosi indukowany przez diizocyjanian toluenu (TDI) napływ cytokin zależnych od limfocytów Th2 oraz napływ komórek dendrytycznych do węzłów chłonnych, natomiast nie ma wpływu na poziom całkowitego IgE oraz produkcję specyficznych IgG (45).

Obecnie wydaje się, że podstawowym mechanizmem w ujawnianiu się potencjału alergizującego diizocyjanianów jest ich bezpośredni toksyczny wpływ na komórki oraz zdolność do nasilania stresu oksydacyjnego. Związki te tworząc stosunkowo trwałe połączenia z glutationem oraz hamując aktywność peroksydazy i reduktazy glutationowej, są powodem zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu. Zaobserwowano, że krótkotrwały i odwracalny niedobór glutationu w komórce prezentującej antygen przyczynia się do zahamowania ekspresji genów związanych z produkcją cytokin warunkujących rozwinięcie się odpowiedzi immunologicznej typu Th1. Wykazano również ochronną rolę glutationu w stosunku do toksycznego działania HDI na nabłonek dróg oddechowych (46–49).

BADANIA NA ZWIERZĘTACH

Kluczową rolę w poszerzaniu wiedzy na temat patogenezы liczych chorób odgrywają badania eksperymentalne na zwierzętach. Wiele z mechanizmów immunologicznych astmy atopowej zostało wyjaśnionych właśnie dzięki tym doświadczeniom. U myszy uczulanych owoalbuminą indukowano m.in. zapalenie eozynofilowe w drogach oddechowych, pobudzenie limfocytów Th2 oraz nadreaktywność oskrzeli (50–52).

Tworzenie eksperymentalnych modeli astmy diizocyjanianowej jest trudniejsze. Pierwsze modele powstawały z udziałem świnek morskich, które okazały się przydatne w indukcji wielu procesów leżących u podstawy rozwoju astmy wywołanej narażeniem na diizocyjaniany. Na podstawie doświadczeń na świnkach morskich udowodniono zdolność do wywołania uczulenia układu oddechowego w wyniku narażenia na DIC drogą przekórną, a także że izolowana ekspozycja na TDI powoduje uczulenie skóry (53,54).

Badania doświadczalne na szczurach dotyczące patogenezы astmy diizocyjanianowej mają znacznie mniejszą wagę. Wykorzystywano je jednak do oceny efektów drażniących tych związków chemicznych (55).

Zdecydowanie najlepszym modelem eksperymentalnym dla astmy indukowanej diizocjanianami jest model myszy. Myszy mają lepiej zdefiniowany genom w porównaniu ze świnkami morskimi i szczurami, poza tym istnieje większa dostępność odczynników do badań immunologicznych oraz różnego rodzaju transgenicznych odmian tych zwierząt. Wcześniejsze badania z użyciem modelu mysiego potwierdziły udział mechanizmów immunologicznych w patogenezы astmy diizocyjanianowej. W wyniku miejscowego narażenia na TDI nastąpił wzrost produkcji specyficznych przeciwciał IgE przeciwko temu astmogenowi oraz nadwrażliwość kontaktowa. Wykazano również, że komórkami efektorowymi tego rodzaju odpowiedzi immunologicznej są limfocyty T typu CD4+ i CD8+ (56,57).

Nowsze badania prowadzone na myszach znacznie lepiej odzwierciedlają warunki narażenia na diizocyjaniany oraz przebieg astmy indukowanej tymi związkami chemicznymi. W zależności od drogi podania astmogenu, użytego stężenia oraz czasu uczulania obserwuje się różnego rodzaju odpowiedzi immunologiczną w węzłach chłonnych, napływ do dróg oddechowych odmiennych komórek zapalnych oraz zależnych od nich cytokin. Stosowanie w eksperymentach myszy transgenicznych pozwoliło na potwierdzenie kluczowej

roli limfocytów Th2 CD4+ w uczuleniu, roli zapalenia w drogach oddechowych i nadreaktywności oskrzeli, ale także pozwoliło na podkreślenie znaczenia limfocytów Th1 CD8+ i interferonu γ (IFN- γ). U myszy pozbawionych genu kodującego IFN- γ stwierdzono redukcję zapalenia alergicznego, niższy poziom swoistych przeciwciał w surowicy krwi oraz mniejsze nasilenie zmian histopatologicznych w nabłonku tkanki płucnej (58–60). Ostatnio zaobserwowano, że dożylnе podanie mezenchymalnych komórek macierzystych szpiku kostnego myszom narażonym na TDI skutecznie zmniejsza liczbę komórek zapalnych w drogach oddechowych, remodeling oskrzelowy, a także zmniejsza nadreaktywność oskrzeli (61).

PIŚMIENNICTWO

1. Wisniewski A.V., Redlich C.A., Mapp C.E., Bernstein D.I.: Polyisocyanates and their prepolymers. W: Bernstein I.L., Chan-Yeung M., Malo J.L., Bernstein D.I. [red.]. Asthma in the workplace. Wyd. 3. Taylor and Francis, New York 2006, ss. 481–504
2. National Institute for Occupational Safety Health: Preventing asthma and death from diisocyanate exposure. Public Health Service, CDC/NIOSH Alert, Cincinnati, OH (USA) 1996, ss. 96–111
3. Baur X.: Occupational asthma due to isocyanates. *Lung* 1996;174:23–30
4. Moscato G., Dellabianka A., Maestrelli P., Paggiaro P., Romano C., de Zotti R. i wsp.: Features and severity of occupational asthma upon diagnosis: an Italian multicentric case review. *Allergy* 2002;57:236–242
5. Koperschmitt-Kubler M.C., Ameille J., Popin E., Calastreng-Crinquand A., Vervloet D., Bayeux-Dunglas M.C. i wsp.: Occupational asthma in France: a 1-yr report of the observatoire National de Asthmes Professionnels project. *Eur. Respir. J.* 2002;19:84–89
6. Bernstein J.A.: Overview of diisocyanate occupational asthma. *Toxicology* 1996;111:181–189
7. Ott M.G., Klees J.E., Poche S.L.: Respiratory health surveillance in a toluene diisocyanate production unit, 1967–1997: clinical observations and lung function analyses. *Occup. Environ. Med.* 2000;57:43–52
8. Van Kampen V., Merget R., Baur X.: Occupational airway sensitizers; an overview on the respective literature. *Am. J. Ind. Med.* 2000;38(2):164–218
9. Vandenplas O., Cartier A., Lesage J., Cloutier Y., Perreault G., Grammer L.C. i wsp.: Prepolymers of hexamethylene diisocyanate as a cause of occupational asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1993;91(4):850–861

10. Clarke C.W., Aldons P.M.: Isophorone diisocyanate induced respiratory disease (IPDI). *Aust. N. Z. J. Med.* 1981;11(30):290–292
11. Baur X., Wieners D., Marczyński B.: Late asthmatic reaction caused by naphthylene-1,5-diisocyanate. *Scand. J. Work Environ. Health* 2000;26:78–80
12. Tarlo S.M.: Recent advances in occupational asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2000;6:145–150
13. Melin J., Spanne M., Johansson R., Bohgard M., Skarping G., Colmsjo A.: Characterization of thermally generated aerosols from polyurethane foam. *J. Environ. Monit.* 2001;3:202–205
14. Wills-Karp M.: Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness. *Ann. Rev. Immunol.* 1999;17:255–281
15. Lee M., Park S., Park H.S., Youn J.K.: Cytokine secretion patterns of T cells responding to haptenized-human serum albumin in toluene diisocyanate (TDI)-induced asthma patients. *J. Korean Med. Sci.* 1998;13:459–465
16. Vandebriel R.J., de Jong W.H., Spiekstra S.W., van Dijk M., Fluitman A., Garssen J. i wsp.: Assessment of preferential T-helper 1 or T-helper 2 induction by low molecular weight compounds using the local lymph node assay in conjunction with RT-PCR and ELISA for interferon-gamma and interleukin-4. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2000;162:77–87
17. Petsonk E.L., Wang M.L., Lewis D.M., Siegel P.D., Husberg B.J.: Asthma-like symptoms in wood product plant workers exposed to methylene diphenyl diisocyanate. *Chest* 2000;118(4):1183–1193
18. Tarlo S.M., Liss G.M., Yeung K.S.: Changes in rates and severity of compensation claims for asthma due to diisocyanates: a possible effect of medical surveillance measures. *Occup. Environ. Med.* 2002;59:58–62
19. Bernstein D.I., Korbee L., Stauder T., Bernstein J.A., Scinto J., Herd Z.L. i wsp.: The low prevalence of occupational asthma and antibody-dependent sensitization to diphenylmethane diisocyanate in a plant engineered for minimal exposure to diisocyanates. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1993;92(3):387–396
20. Sabbioni G., Hartley R., Schneider S.: Synthesis of adducts with amino acids as potential dosimeters for the biomonitoring of humans exposed to toluenediisocyanate. *Chem. Res. Toxicol.* 2001;14:1573–1583
21. Sepai O., Henschler D., Sabbioni G.: Albumin adducts, hemoglobin adducts and urinary metabolites in workers exposed to 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate. *Carcinogenesis* 1995;16:2583–2587
22. Lushniak B.D., Reh C.M., Bernstein D.I., Gallagher J.S.: Indirect assessment of methylenediphenyl diisocyanate (MDI) exposure by evaluation of specific humoral responses to MDI conjugated to human serum albumin. *Am. J. Ind. Med.* 1998;33:471–477
23. Sennbro C.J., Littorin M., Tinnerberg H., Jönsson B.A.G.: Upper reference limits for biomarkers of exposure to aromatic diisocyanates. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2005;78:541–546
24. Parks W.C., Wilson C.L., Lopez-Boado Y.S.: Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2004;4:617–629
25. Palikhe N.S., Kim J.-H., Park H.-S.: Biomarkers predicting isocyanate-induced asthma. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2011;3(1):21–26
26. Nel A.E., Slaughter N.: T-cell activation through the antigen receptor. Part 2: Role of signaling cascades in T-cell differentiation, anergy, immune senescence, and development of immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002;109(6):901–915
27. Broberg K.E., Warholm M., Tinnerberg H., Axmon A., Jonsson B.A., Sennbro C.J. i wsp.: The GSTP1 Ile 105 Val polymorphism modifies the metabolism of toluene diisocyanate. *Pharmacogenet. Genomics* 2010;20:104–111
28. Orriols R., Drobnic M.E., Munoz X., Rodrigo M.J., Morrell F.: Occupational asthma due to isocyanates: a study of 21 patients. *Med. Clin. (Barc.)* 1999;113:659–662
29. Wills-Karp M.: Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness. *Ann. Rev. Immunol.* 1999;17:255–281
30. Bernstein D.I., Jolly A.: Current diagnostic methods for diisocyanate induced occupational asthma. *Am. J. Ind. Med.* 1999;36(4):459–468
31. Malo J.L., Ghezzi H., L'Archeveque J., Lagier F., Perrin B., Cartier A.: Is the clinical history a satisfactory means of diagnosing occupational asthma? *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991;143(3):528–532
32. Pieter S.J.: MHC class II restricted antigen presentation. *Curr. Opin. Immunol.* 1997;9:89–96
33. Kuchroo V.K., Das M.P., Brown J.A., Ranger A.M., Zamvil S.S., Sobel R.A. i wsp.: B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially disease therapy. *Cell* 1995;80:707–718
34. Park H.S., Kim H.Y., Nahm D.H., Son J.W., Kim Y.Y.: Specific IgG but not specific IgE antibodies to toluene diisocyanate-human serum albumin conjugate are associated with toluene diisocyanate bronchoprovocation test results. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999;104:847–851
35. Park H., Jung K., Kim H., Nahm D.H., Kang K.: Neutrophil activation following TDI bronchial challenges to the airway secretion from subjects with TDI-induced asthma. *Clin. Exp. Allergy* 1999;29:1395–1401

36. Baur X., Chen Z., Flagge A., Posch A., Raulf-Heimsoth M.: EAST and CAP specificity for the evaluation of IgE and IgG antibodies to diisocyanate-HAS conjugates. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1996;110(4):332–338
37. Świerczyńska-Machura D., Walusiak-Skorupa J., Wiszniewska M., Lipińska-Ojrzanowska A., Wittczak T., Dudek W. i wsp.: Rzeczywista wartość metod diagnostycznych stosowanych w przypadku dłuższego czasu izolacji od narażenia na izocyjaniany w środowisku pracy u pacjentów zdiagnozowanych w Instytucie Medycyny Pracy w Łodzi. *Med. Pr.* 2011;62(6):567–577
38. Banks D.E., Sastre J., Butcher B.T., Ellis E., Rando R.J., Barkman H.W. Jr i wsp.: Role of inhalation challenge testing in the diagnosis of isocyanate-induced asthma. *Chest* 1989;95:414–423
39. Baur X., Dewair M., Fruhmans G.: Detection of immunologically sensitized isocyanate workers by RAST and intracutaneous skin tests. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1984;73(5, Cz. 1):610–618
40. Bernstein D.I., Jolly A.: Current diagnostic methods for diisocyanate induced occupational asthma. *Am. J. Ind. Med.* 1999;36:459–468
41. Wisniewski A.V., Redlich C.A.: Recent developments in diisocyanate asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2001;1:169–175
42. Lange R.W., Day B.W., Lemus R., Tyurin V.A., Kagan V.E., Karol M.H.: Intracellular S-glutathionyl adducts in murine lung and human bronchoepithelial cells after exposure to diisocyanatotoluene. *Chem. Res. Toxicol.* 1999;1:931–936
43. Raulf-Heimsoth M., Baur X.: Pathomechanisms and pathophysiology of isocyanate-induced diseases – summary of present knowledge. *Am. J. Ind. Med.* 1998;34:137–148
44. Krakowiak A., Pałczyński C., Ruta U., Walusiak J., Wittczak T., Gruchała J. i wsp.: Cellular and biochemical findings in bronchoalveolar lavage from patients with occupational asthma due to diisocyanates. *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol.* 2000;6(2):45–49
45. Matheson J.M., Lemus R., Lange R.W., Karol M.H., Luster M.I.: Role of tumor necrosis factor in toluene diisocyanate asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2002;27:396–405
46. Liu R.M., Borok Z., Forman H.J.: 4-Hydroxy-2-nonenal increases gamma-glutamylcysteine synthetase gene expression in alveolar epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2001;24(4):499–505
47. Peterson J.D., Herzenberg L.A., Vasquez K., Waltenbaugh C.: Glutathione levels in antigen-presenting cells modulate Th1 versus Th2 response patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998;95(6):3071–3076
48. Lantz R.C., Lemus R., Lange R.W., Karol M.H.: Rapid reduction of intracellular glutathione in human bronchial epithelial cells exposed to occupational levels of toluene diisocyanate. *Toxicol. Sci.* 2001;60(2):348–355
49. Wisniewski A.V., Liu Q., Liu J., Redlich C.A.: Glutathione protects human airway protein and epithelial cells from isocyanates. *Clin. Exp. Allergy* 2005;35:352–357
50. Gelfand E.W.: Pro: mice are good model of human airway disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002;166(1):5–6
51. Isenberg-Feig H., Justice J.P., Keane-Myers A.: Animal models of allergic asthma. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2003;3:70–78
52. Karol M.H.: Comparison of clinical and experimental data from an animal model of pulmonary immunologic sensitivity. *Ann. Allergy* 1991;66:485–489
53. Ebino K., Ueda H., Kawakatsu H., Shutoh Y., Kosaka T., Nagayoshi E. i wsp.: Isolated airway exposure to toluene diisocyanate results in skin sensitization. *Toxicol. Lett.* 2001;121:79–85
54. Karol M.H., Hauth B.A., Riley E.J., Magreni C.M.: Dermal contact with toluene diisocyanate (TDI) produces respiratory tract hypersensitivity in guinea pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1981;58:221–230
55. Pauluhn J., Rungeler W., Mohr U.: Phenyl isocyanate-induced asthma in rats following a 2-week exposure period. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1995;24:217–228
56. Dearman R.J., Basketter D.A., Kimber I.: Variable effects of chemical allergens on serum IgE concentration in mice. Preliminary evaluation of a novel approach to the identification of respiratory sensitizers. *J. Appl. Toxicol.* 1992;12:317–323
57. Scheerens H., Buckley T.L., Davidse E.M., Garssen J., Nijkamp F.P., van Loveren H.: Toluene diisocyanate-induced *in vitro* tracheal hyperreactivity in the mouse. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996;154:858–865
58. Vanoirbeek J.A.J., de Vooght V., Nemery B., Hoet P.H.M.: Multiple challenges in a mouse model of chemical-induced asthma lead to tolerance: ventilatory and inflammatory responses are blunted, immunologic humoral responses are not. *Toxicology* 2009;257:144–152
59. Vanoirbeek J.A.J., Tarkowski M., de Vooght V., Nemery B., Hoet P.H.M.: Immunological determinants in a mouse model of chemical-induced asthma after multiple exposures. *Scand. J. Immunol.* 2009;70:25–33
60. Matheson J.M., Johnson V.J., Luster M.I.: Immune mediators in a murine model for occupational asthma: studies with toluene diisocyanate. *Toxicol. Sci.* 2005;84:99–109
61. Lee S.H., Jang A.S., Kwon J.H., Park S.K., Won J.H., Park C.S.: Mesenchymal stem cell transfer suppresses airway remodeling in a toluene diisocyanate-induced murine asthma model. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2011;3(3): 205–211