proLékaře.cz | 24.8.2025

Nejnovější vývoj v laboratorní diagnostice izokyanátového astmatu

Adam V. Wisnewski

Význam přehledu

Izokyanáty – reaktivní chemické látky používané k výrobě polyuretanu – jsou v celosvětovém měřítku hlavní příčinou astmatu z povolání. Nejdůkladněji prozkoumaným rizikovým faktorem rozvoje zmíněného onemocnění je expozice těmto látkám na pracovišti, avšak sledování expozice je náročné. Stanovování klinické diagnózy a rozlišování izokyanátů jako příčiny astmatu není jednoduché. Test představující zlatý standard – specifická inhalační provokace – je technicky náročný a nákladný a z těchto důvodů jej provádí na celém světě pouze několik specializovaných pracovišť. V souvislosti se zvyšujícím se používáním izokyanátů vyvstává naléhavá potřeba účinných laboratorních testů pro diagnostiku izokyanátového astmatu a expozice izokyanátům.

Aktuální výsledky

Přehled je zaměřen na literaturu publikovanou v letech 2005 a 2006. Souvislost s diagnostikou izokyanátového astmatu byla zkoumána u více než 150 článků nalezených v databázi PubMed za pomoci klíčových slov „difenylmetan“, „toluen“ či „hexametylen-diizokyanát“. Je zde popsán pokrok v poznání patogeneze izokyanátového astmatu, který napomáhá zdokonalování konvenčních radioalergosorpčních testů a metod enzymové imunoanalýzy (ELISA) používaných ke stanovení izokyanát-specifických protilátek IgE a IgG. Vyvíjejí se i nové imunoanalýzy založené na buněčných odpovědích a na nejnovějších vědeckých poznatcích.

Souhrn

Laboratorní testy používané v současnosti v humánní medicíně ke stanovení izokyanát-specifických protilátek IgE a IgG jsou diagnosticky přínosné u části dělníků trpících izokyanátovým astmatem, přičemž u většího podílu osob vystavených těmto látkám na pracovišti mohou sloužit jako biologické ukazatele expozice.

Klíčová slova

astma, diagnóza, expozice, izokyanát, protilátka

Developments in laboratory diagnostics for isocyanate asthma
Curr Opin Allergy Clin Immunol 2007;7:138–145

© 2007 Lippincott Williams & Wilkins, Inc.

Yale University School of Medicine, Department of Internal Medicine, New Haven, Connecticut, USA

Adresa pro korespondenci: Adam V. Wisnewski, PhD, Yale University School of Medicine, Department of Internal Medicine, 333 Cedar Street; PO Box 20857, New Haven, CT 06520-8057, USA
E-mail: adam.wisnewski@Yale.edu

Zkratky

HDI	hexametylen-diizokyanát
MCP	monocyto-makrofágový chemoatrakční protein (monocyte/macrophage chemoattractant protein)
MDI	difenylmetan-diizokyanát
PBMC	mononukleární buňka periferní krve (peripheral blood mononuclear cell)
RAST	radioalergosorpční test
TDI	toluen-diizokyanát

Úvod

Diizokyanáty (toluen-diizokyanát, TDI; hexametylen-diizokyanát, HDI; difenylmetan-diizokyanát, MDI) nebo funkčně podobné polymerové izokyanáty jsou „povinnými“ příčně vazebnými látkami nezbytnými pro komerční výrobu polyuretanu – polymeru, na němž je moderní společnost závislá. Na celém světě jsou každoročně vyrobeny a spotřebovány miliony tun izokyanátů, a to v nejrůznějších pracovních prostředích, kde dochází k jejich finálnímu použití [1,2–5,6•,7•]. Nejdůkladněji prozkoumaným rizikovým faktorem rozvoje izokyanátového astmatu je expozice těmto látkám na pracovišti; její kvantifikace je však obtížná, neboť jde o směsi izomerů a „prepolymerů“ rozpuštěných v roztocích, v aerosolu a v plynné fázi. V určitých průmyslových provozech může uvedená expozice vyvolat izokyanátové astma a dlouhodobou bronchiální hyperreaktivitu [1,8,9, 10•,11•]. Jejich dlouhodobou prognózu zlepšuje časné rozpoznání izokyanátového astmatu a rychlé zamezení další expozici izokyanátům u vnímavých jedinců [9]. Existuje tedy potřeba praktických testů pro screening osob a diagnostiku izokyanátového astmatu i testů schopných sledovat osobní expozici.

Z hlediska klinického obrazu se izokyanátové astma nápadně podobá běžnému astmatu podmíněnému vlivy prostředí, což vedlo k vypracování hypotézy o jeho imunologické podstatě, byly však zaznamenány i drobné rozdíly [9,10•,12•]. Zvířecí modely uvedenou hypotézu podporují a díky transgenním kmenům se objevují první zprávy o možné úloze jednotlivých genů [13••,14••,15,16••,17,18]. Alergologové a imunologové překonali značné nesnáze při práci s reaktivními izokyanáty, jejímž cílem bylo vyvinout sérologické testy pro stanovení protilátek specifických vůči těmto látkám [19–21]. Těmito testy byla u malého procenta pracovníků potvrzena alergie na izokyanát jako podklad astmatu, nicméně u většiny citlivých osob izokyanát-specifické protilátky IgE nalézány nejsou. Zmíněné výsledky vnesly do celé oblasti výzkumu značnou dávku nejistoty. Uplatňují se u izokyanátového astmatu jiné patogenní mechanismy (např. non-IgE) než ty, které známe u běžného atopického astmatu, nebo specifické protilátky IgE přítomny jsou, ale

proLékaře.cz | 24.8.2025

selhaly metody jejich zjišťování? Používáme v našich sérologických testech nevhodnou antigenní formu izokyanátu, nebo vyšetřujeme pracovníky v nevhodnou dobu (po skončení expozice)? Představuje snad izokyanátové astma, tak jak je v současnosti definováno, celé spektrum různých onemocnění, z nichž jsou pouze některá spojena s odpovědí protilátek [3,9,10•]?

Tento přehled shrnuje důvody pro používání klinických laboratorních testů pro zjišťování imunitních odpovědí, které odrážejí expozici izokyanátům a přítomnost astmatu, přičemž důraz je kladen na informace získané během posledního roku. Je popsán jak potenciální význam „izokyanát-specifických“ sérových protilátek IgE a IgG jakožto biologických ukazatelů, tak i izokyanátový antigen rozpoznávaný těmito imunoglobuliny [22••,23]. Spolu s klinickým využitím a s omezeními testů pro diagnostiku izokyanátového astmatu a expozice izokyanátům, které jsou v současné době k dispozici, se přehled zabývá i slibnými testy, jejichž vývoj se očekává [20,24,25••].

Imunologické testy jako ukazatele izokyanátového astmatu

Přirozený vznik izokyanátového astmatu obecně připomíná reakci přecitlivělosti I. typu, včetně časné prodlevy (během níž se předpokládá rozvoj systémové senzibilizace) a zvyšující se senzibilizace vůči extrémně nízkým expozičním dávkám, která vede k časným, pozdním a dvoufázovým astmatickým odpovědím. Klíčovým aspektem onemocnění zahrnujících přecitlivělost I. typu (např. astmatu) je alergen-specifická protilátka IgE, která slouží i jako biologický ukazatel alergické senzibilizace vůči mnoha běžným původcům astmatu (např. kočičím lupům, alergenům roztočů v domácnostech) i jako cíl imunoterapie [26]. Izokyanát-specifické protilátky IgE tak mohou analogicky ukazovat na možnost zánětlivých odpovědí zprostředkovaných IgE v dýchacích cestách po jejich expozici izokyanátům. Jsou-li izokyanát-specifické sérové protilátky IgE přítomny, pak s velkou pravděpodobností předpovídají výskyt izokyanátového astmatu [21,27]. Zdokonalení tradičního sérologického vyšetření na přítomnost izokyanátů jakožto diagnostické pomůcky lze pravděpodobně dosáhnout, pokud se bude pozornost věnovat konkrétně expozici (viz níže) a izokyanátovému antigenu (viz oddíl „Izokyanátový antigen“).

Expozice izokyanátům a poločas protilátek IgE

U nemocí z povolání, jako je izokyanátové astma, u nichž k expozici látce vyvolávající příznaky dochází výhradně na pracovišti, má jedinečný význam krátký poločas nevázaných sérových protilátek IgE (přibližně 2 dny) [26,28,29]. Krátká období (řádově týdny) strávená mimo pracoviště (tedy mimo expozici) mohou vést k poklesu sérových koncentrací IgE na úroveň, kterou klasické radioalergosorpční testy (RAST) nedokáží zjistit [27]. V některých případech mohou socioekonomické aspekty izokyanátového astmatu osobě jím postižené bránit ve vyhledání lékařské pomoci až do doby, kdy se onemocnění zhorší natolik, že této osobě již nedovolí pracovat [8]. K používání izokyanátů na pracovišti navíc může docházet jen sporadicky, což dále zvyšuje časovou variabilitu vztahu mezi expozicí a sérologickými nálezy [30••]. V tomto případě je situace značně odlišná, než jak ji známe v souvislosti s běžnými aeroalergeny s často obecněji rozšířeným výskytem (např. roztočů v domácnostech). Přesnější poznání protilátkových odpovědí zprostředkovaných izokyanát-specifickými IgE ve vztahu k expozici nejspíše umožní až prospektivní studie, protože zpětně nelze tyto informace obvykle získat a průřezové studie mohou být v daném směru omezeny účinky „zdravého pracovníka“ [4,22••,30••,31–34]. Bez přesných údajů o expozici mohou negativní výsledky testů na stanovení izokyanát-specifických protilátek IgE vést k chybné diagnóze a k nesprávným závěrům ohledně patogenních mechanismů.

Imunologické testy jako ukazatele expozice izokyanátům

Dosud nejdůkladněji prozkoumaným rizikovým faktorem rozvoje izokyanátového astmatu je expozice těmto látkám, avšak expozici izokyanátům přítomným ve vzduchu lze z praktického a technického hlediska obtížně kvantifikovat [4,6•,7•,8,30••,32,35•]. Vnitřní expoziční dávka izokyanátů se navíc může značně lišit od té, kterou naměříme pomocí vnějších měřičů, což platí zejména pro pracovníky používající osobní ochranné pomůcky [36,37]. Většina dosavadních snah o zvýšení hygieny průmyslových provozů se soustředila na expozici dýchacích cest, i když dochází i k expozici kůže, která může být z imunologického hlediska významná (viz oddíl „Imunologická senzibilizace prostřednictvím expozice kůže“).

Imunologické odpovědi na působení izokyanátů mohou sloužit jako náhradní biologické ukazatele expozice těmto látkám. Imunoglobuliny podtřídy IgG mají poločas přibližně 30 dnů a byla vyslovena představa, že by se mohly stát potenciálně užitečným, jediným biologickým ukazatelem dlouhodobé expozice [38•,39]. S protilátkami IgG rozpoznávajícími konjugáty izokyanát–albumin se u neexponovaných osob nesetkáváme téměř nikdy [20,22••,39,40,41•]. U exponovaných pracovníků bylo prokázáno, že sérový titr izokyanát-specifických protilátek IgG těsně koreluje s mírou expozice těmto látkám na pracovišti [39]. Vyšší koncentrace IgG u jedinců s izokyanátovým astmatem, popisované v některých studiích, mohou být odrazem zvýšené expozice těchto osob, která snad zčásti vysvětluje rozvoj jejich onemocnění [21,22••,39].

U pracovníků, u nichž dojde k rozvoji odpovědí zprostředkovaných izokyanát-specifickými IgG, mohou jejich koncentrace představovat užitečný ukazatel dodržování hygienických předpisů v průmyslových závodech a osobní ochrany před expozicí. Takoví jedinci mohou v daném pracovním prostředí sloužit jako „hlídky“ a jako biologicky rea-

proLékaře.cz | 24.8.2025

gující ukazatele účinnosti organizačních snah o omezení expozice.

Biologická úloha izokyanát-specifických protilátek IgG v rámci odpovědi na expozici zůstává nejasná. Jejich podíl na patogenezi je nepravděpodobný vzhledem k tomu, že se vyskytují i u asymptomatických osob, a někteří odborníci dokonce uvažují o jejich možném ochranném působení. Případné rozdíly mezi izokyanát-specifickými protilátkami IgG nalézanými u osob s izokyanátovým astmatem a u asymptomatických jedinců (pokud jde o specificitu epitopů, afinitu, podtřídy IgG) je nutno teprve zkoumat.

Imunologická senzibilizace prostřednictvím expozice kůže

Přibývá důkazů tom, že v posledních letech se převažující formou expozice izokyanátům možná stala expozice kůže, neboť se začaly běžně používat méně prchavé izokyanátové přípravky (viz oddíl „Izokyanátové ‚prepolymery' a izomery") a zdokonalily se hygienické předpisy pro ochranu dýchacích cest. Ve vzácných případech mohou izokyanáty vyvolávat alergickou kontaktní dermatitidu; nedávno proběhlo nové hodnocení komerčních náplasťových testů pro diagnostiku kožní senzitivity [42,43]. Ještě významnější je ovšem skutečnost, že podle studií prováděných se zvířaty by izokyanáty mohly prostupovat kožní tkání a navozovat systémovou senzibilizaci, která může za vhodných podmínek při následné expozici dýchacích cest vést k rozvoji „astmatu" (např. zánětu dýchacích cest a k příslušným fyziologickým odpovědím na něj) [13••,14••,44,45,46•,47•,48]. Dávkování a četnost expozic kůže mají zřejmě významný vliv na kvalitu vyvolané imunitní odpovědi [13••,14••]. Vzhledem ke zmíněným údajům je nutné, aby se expozici kůže na pracovišti věnovala zvýšená pozornost.

Podíl expozice kůže na systémové izokyanát-specifické humorální imunitní odpovědi u člověka dosud nebyl objasněn. Ze studií prováděných na pracovištích s extrémně nízkými koncentracemi izokyanátů v ovzduší vyplynulo, že expozice kůže může sama o sobě navodit systémovou senzibilizaci [49]. V klinických studiích lze ale obtížně odlišit vzájemné možné rozdíly mezi imunitními odpověďmi navozenými prostřednictvím kůže a dýchacích cest, protože expozici na pracovišti lze pouze zřídka připisovat pouze jedné z uvedených bran vstupu [4,30••,50•]. K objasnění možného podílu expozice kůže na systémové imunitní senzibilizaci u člověka bude zapotřebí další klinicko-epidemiologický výzkum, zaměřený mj. na izokyanát-specifické protilátky IgE a IgG [50•,51•].

Izokyanátový antigen

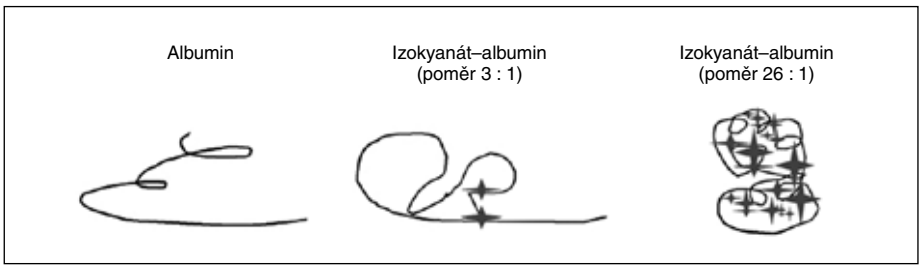
Sérologické vyšetření vychází ze specifické trojrozměrné struktury alergenu, která však v případě izokyanátů zatím nebyla úplně popsána, což představuje značnou překážku jak pro výzkum, tak pro klinické studie. Izokyanáty vlivem reakcí s vlastními molekulami mění svou strukturu (a vytvářejí níže popsané neoepitopy), takže jejich standardizace je obtížnější než v případě běžných aeroalergenů, které lze molekulárně definovat pomocí sekvence DNA (prachové a kočičí alergeny). Pro izokyanátové imunoanalýzy mají klíčový význam teoretické poznatky o vzniku biologicky relevantních izokyanátových antigenů a technické metody, které jejich vznik umožňují.

Odborníci se původně domnívali, že se izokyanáty chovají jako hapteny, což je pravda, tím však lze jejich imunogenitu vysvětlit pouze zčásti. Snad stejně významná je i schopnost izokyanátů vytvářet nové (neo-) epitopy prostřednictvím intramolekulárních a intermolekulárních příčných vazeb měnících náboj a konformaci (vlastních) nosičových proteinů [52,53]. Tato základní představa, jež se pozvolna rodila během posledních 40 let, významným způsobem ovlivňuje vývoj „izokyanátových antigenů" používaných pro imunologická vyšetření. V případě haptenů zvýšená konjugace s nosičovým proteinem zvyšuje hustotu epitopů a celkově zvyšuje citlivost ve smyslu rozpoznávání specifických imunoglobulinů. Pokud je však kritický epitop jedinečnou konformací navozenou specifickými příčnými vazbami izokyanátu, může „nadměrná reaktivita" nebo použití nesprávného nosičového proteinu vést ke vzniku biologicky irelevantních konjugátů izokyanát–protein (antigenů), jak znázorňuje obrázek 1 [22••,54,55]. Izokyanátové „antigeny" používané v klinických studiích by měly odpovídat těm, jež se vyskytují *in vivo* v mikroprostředí dýchacích cest, kde je epitelová tekutina vystavena nízkým (na pracovišti přítomným) koncentracím izokyanátů [33].

Konjugát(y) izokyanát–albumin

Dosud jediným proteinem, který může u osob exponovaným na pracovišti izokyanátům prokazatelně sloužit jako účinný „nosič" těchto látek (s cílem indukovat protilátky), je albumin [22••,39,54,55]. Izokyanáty konjugované s jinými proteiny než s albuminem zatím nebyly podrobně prozkou-

Obrázek 1 Neoepitopy indukované konjugací izokyanátu s lidským albuminem



Dvojrozměrný model, v němž je albumin vyznačen jako čára a izokyanát jako křížek, zobrazuje nové konformace utvářené příčnými vazbami izokyanátu, které může imunitní systém hostitele rozpoznávat jako cizí.

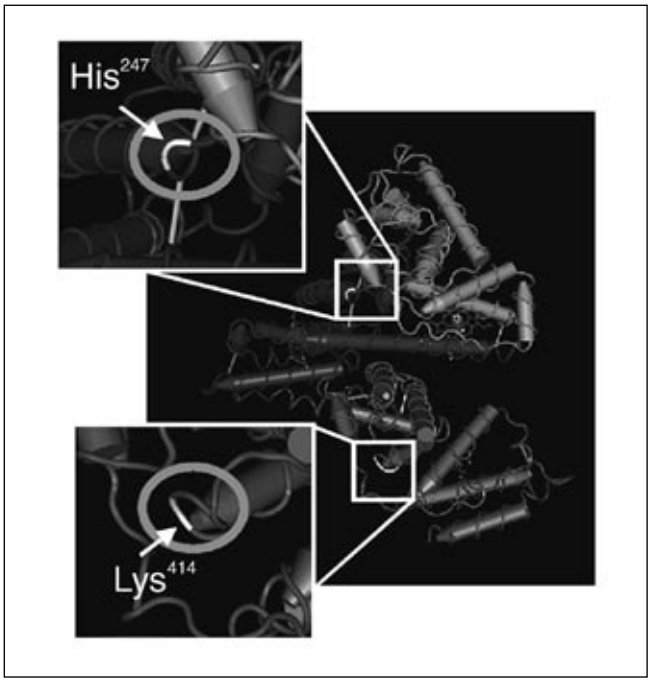
proLékaře.cz | 24.8.2025

mány, nicméně těch několik málo, které již zkoumány byly (viz dále), nejsou lidskými protilátkami rozpoznávány.

Produkty reakcí mezi izokyanáty a albuminem (a jejich antigenita) do značné míry závisí na reakčních podmínkách. Expozice albuminu v tekuté fázi (tj. v tekutině epitelové výstelky) koncentracím izokyanátových par zjišťovaným v pracovním prostředí (přibližně 20 ppb) vede ke vzniku omezeného množství vysoce specifických chemických konjugátů [22••,39]. Podle nedávno publikovaných studií lze sérové protilátky IgE rozpoznávající tento albumin exponovaný izokyanátovým parám nalézt u 40–50 % osob s astmatem vyvolávaným látkami TDI a HDI, avšak pouze u 1–4 % exponovaných asymptomatických jedinců [22••,39]. Koncentrace protilátek IgG specifických pro konjugáty izokyanátových par a albuminu u asymptomatických osob navíc silně koreluje s mírou expozice na pracovišti. Naopak konjugáty izokyanát–albumin vytvořené reakcemi albuminu v tekuté fázi s koncentrovanějšími izokyanáty v kapalné fázi (tato metoda se do roku 2004 používala ve většině studií) jsou při zjišťování protilátek IgE méně citlivé a u neexponovaných jedinců jsou s větší pravděpodobností rozpoznávány protilátkami IgG [22••,39].

Nedávno byla popsána dvě místa, na kterých dochází ke konjugaci mezi plynným HDI a lidským albuminem (obr. 2) [39]. Jedno z nich – Lys^{414} – je součástí dilyzinového motivu, který se vyskytuje výhradně v lidském albuminu, což je velmi zajímavé vzhledem k tomu, že izokyanáty konjugované s albuminem kravským, myším nebo kuřecím (ovalbuminem) nejsou lidskými protilátkami rozpoznávány [39,54,55]. Dalším možným místem konjugace s HDI je His^{247}, ležící na povrchu albuminu a za fyziologických podmínek disponující sekundárním aminem s pKa příznivým pro nukleofilní adici k izokyanátu. Zdá se, že na His^{247} může docházet i ke konjugaci s TDI (osobní pozorování) [22••].

Obrázek 2 Strukturální trojrozměrný model oblastí lidského albuminu, na kterých může docházet ke konjugaci s hexametylen-diizokyanátem



Významná místa pro konjugaci s hexametylen-diizokyanátem po expozici jeho parám – His^{247} a Lys^{414} – jsou zvětšena a zakroužkována.

Hlavním izokyanátovým antigenem u exponovaných osob je tedy izokyanát konjugovaný s albuminem. Za fyziologických podmínek expozice na pracovišti reagují izokyanátové páry s lidským albuminem vysoce specifickým způsobem za vzniku vysoce specifického antigenu. Albuminové konjugáty vytvořené s izokyanátem za reakčních podmínek, které se zásadně liší od situace *in vivo* (pokud jde o pH, koncentraci apod.), mohou být imunologicky odlišné a mohou být při sérologickém vyšetření zdrojem artefaktů.

Izokyanátové „prepolymery“ a izomery

Jak již bylo zmíněno v úvodu, expozice izokyanátům na pracovišti představuje složitý děj, v němž figurují směsi různých izokyanátových izomerů a „prepolymerů“ rozpuštěných v roztocích, v aerosolu a v plynných fázích. Například průmyslové směsi izomerů TDI (např. 2,4-TDI oproti 2,6-TDI) mohou být používány v poměru 80 : 20 nebo 65 : 35, zatímco surový MDI obsahuje směs řady izomerů i polymerů (tab. 1) [40,56]. V případě HDI se k povrchovým úpravám karoserií používají převážně biuretové a izokyanurátové „prepolymery“, které nicméně obsahují stopová množství prchavějšího „monomeru“ HDI.

Studie z poslední doby prokázaly rozdíly v antigenitě albuminových konjugátů připravených pomocí různých izomerů nebo polymerů téhož izokyanátu [22••,40]. Imunoanalýzy pro stanovení izokyanát-specifických protilátek proto musí v ideálním případě pracovat s antigeny vytvořenými ze stejného izokyanátového polymeru/izomeru, jaký se používá na daném pracovišti. Vzhledem k vysoké zkřížené reaktivitě mezi různými izokyanáty je možné, že existuje omezený počet univerzálně použitelných izomerních a polymerních přípravků, které ovšem bude třeba definovat empirickým zkoušením.

Používání izokyanátových laboratorních testů v současné klinické praxi

Izokyanátové laboratorní testy byly od doby, kdy se v písemnictví poprvé objevil jejich popis, značně zdokonaleny a ve své současné podobě jsou nejspíše více užitečné, než by se podle starších publikací mohlo zdát. Pro lékaře v klinické praxi je přítomnost izokyanát-specifických protilátek IgE nebo IgG v séru pacienta užitečnou známkou, díky níž může izokyanáty určit jako možnou příčinu astmatu; tato informace však sama o sobě není natolik citlivá, aby bylo možno diagnózu postavit výlučně na ní. Hlavní přínos izokyanátových laboratorních testů spočívá a) v potvrzení přítomnosti izokyanát-specifické odpovědi přecitlivělosti I. typu u osob s podezřením na onemocnění podmíněné izokyanáty nebo b) v doložení expozice na základě titrů izokyanát-specifických protilátek IgG.

proLékaře.cz | 24.8.2025

Tabulka 1 Izokyanátové izomery a „pre-polymery“

Izomer	Poměr
Toluen-diizokyanát	80 : 20
Toluen-diizokyanát (2,4 : 2,6)	65 : 35
Difenylmetan-diizokyanát	Směs
Difenylmetan-diizokyanát (4,4’, 2,4’, 2,2’)	
Monomer	Polymer
Hexametylen-diizokyanát	Biuret-izokyanurát

Izokyanát-specifické sérové protilátky IgE lze nalézt u značného procenta osob trpících izokyanátovým astmatem – podle studií z poslední doby až u 50 % – a to v závislosti na konjugátech izokyanát–albumin použitých v roli antigenů [22••,27,39]. Nejcitlivějším testem prováděným v současné době je „klasický“ izokyanátový test RAST (s použitím papírového disku-^{125}I), podobné výsledky však poskytují i novější neizotopové metody enzymové imunoanalýzy ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) [22••,27,39]. Omezený počet komerčních prodejců nabízí testy ke stanovení (či měření koncentrace) izokyanát-specifických protilátek IgE; není však jasné, jaké antigeny tyto testy používají [57]. Pátrat po izokyanát-specifických protilátkách IgE má smysl pouze u výdělečně činných osob, neboť – jak již bylo uvedeno výše – koncentrace izokyanát-specifických protilátek IgE může po krátkém období bez expozice klesnout pod zjistitelné hodnoty.

„Izokyanát“-specifické protilátky IgE je třeba zásadně stanovovat současně s celkovou koncentrací IgE a s „kontrolním“ vzorkem (tedy se simulovaně exponovaným albuminem), protože vzorky séra s vysokými koncentracemi IgE vykazují *in vitro* zvýšený sklon k nespecifickým vazbám [19]. K potvrzení specificity jsou vhodné inhibiční testy [19]. Přítomnost izokyanát-specifických protilátek IgE v séru pracovníka je dosti přesvědčivým ukazatelem izokyanátového astmatu a u nesenzibilizovaných pracovníků se s ním setkáme pouze zřídka (méně než 5 % případů), což platí zejména po korekci na celkovou koncentraci IgE a na nespecifické vazby [22••,27,39].

Na základě sérových koncentrací izokyanát-specifických protilátek IgG lze potvrdit, že daná osoba byla izokyanátům exponována již v minulosti. Při sledování dalších expozic mohou pomoci opakovaná měření během delšího časového rozmezí, která pravděpodobně představují souhrnný ukazatel vypovídající o expozici spíše v několika posledních měsících než v posledních hodinách či dnech.

Pro imunoanalýzy určené pro izokyanáty platí stejně jako pro všechny ostatní imunoanalýzy, že je nutno je provádět s použitím přesně definovaných „antigenů“ a interpretovat pouze v kontextu klinicky definovaných pozitivních vzorků (od osob trpících izokyanátovým astmatem) a negativních kontrolních vzorků (exponovaných i neexponovaných). Při provádění a hodnocení významu izokyanátových sérologických testů mohou být mimořádně cenné rady zkušených odborníků, neboť významné praktické, zdánlivě nedůležité okolnosti sérologického stanovování izokyanátů, které je výsledkem výzkumu trvajícího celá desetiletí a často metodou pokusů a omylů, zůstávají běžně nezveřejněny nebo nejsou dostatečně známy.

Budoucí metody vyšetření na citlivost vůči izokyanátům

Budoucí metody vyšetření na citlivost vůči izokyanátům budou nejspíše spadat do dvou různých kategorií; cílem jedné z nich bude zdokonalit současné sérologické přístupy, zatímco druhá se nebude zabývat odpovědí protilátek na expozici, ale bude založena na nových imunitních výstupech (viz dále).

Zjišťování izokyanát-specifických protilátek IgE lze pravděpodobně zdokonalit začleněním novějších plynných a „prepolymerních“ konjugátů izokyanát–albumin do již vypracovaných metodik. Nejčastěji používanou matricí pro klinické stanovení protilátek IgE je opouzdřený polymer ImmunoCAP [58]. Až donedávna prováděl vazbu alergenů na ImmunoCAP výhradně výrobce, který nabízí testy pro TDI, MDI a HDI, ale který o použitých „antigenech“ poskytuje velmi málo informací [57,59]. Nedávno byla uvedena na trh matrice Streptavidin-ImmunoCAP (na niž lze navázat jakýkoli biotinem označený alergen), která by měla jednotlivým výzkumníkům umožnit případné uplatnění matrice ImmunoCAP po navázání izokyanátových antigenů s odlišnou antigenitou [59].

Alergenové testy typu „microarray“ představují relativně nový přístup, který dosud prochází vývojem a hodí se zejména pro simultánní analýzu vazeb IgE na tisíce různých proteinů nebo epitopů. V rámci tohoto přístupu jsou proteinové alergeny v malých množstvích nanášeny na sklíčka a vazba sérových protilátek IgE se zjišťuje pomocí protilátek proti IgE označených fluorescenční látkou [60•]. U omezeného počtu alergenů, které se zatím takto zkoušely, závisí typ vazby sérových protilátek IgE na klinickém stavu. Citlivost této metody je srovnatelná s citlivostí metod CAP a k jejímu provádění stačí velmi malé množství séra. Ačkoli v případě pracovníků exponovaných izokyanátům zatím přístupy využívající „alergenových“ testů typu „microarray“ nebyly použity, jsou ideální pro analýzu širokého spektra různých konjugátů izokyanát–albumin a potenciálních epitopů.

Z hlediska diagnostiky izokyanátového astmatu mohou být přínosné i buněčné imunoanalýzy založené na nových imunologických výstupech, zejména pokud se při rozvoji daného onemocnění – jak se mnozí autoři domnívají – uplatňují převážně mechanismy nezávislé na protilátkách IgE/IgG [23,61•]. Bernstein a spol. [20] nedávno popsali test *in vitro*, při němž je izokyanátovým antigenem navozena produkce monocyto-makrofágového chemoatrakčního proteinu (monocyte/macrophage chemoattractant protein, MCP) 1 v mononukleárních buňkách periferní krve (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) a který podle předběžných studií dokáže odlišit osoby trpící izokyanátovým ast-

proLékaře.cz | 24.8.2025

matem. MCP-1 je (vedle protilátek IgE) významným faktorem spouštějícím uvolňování histaminu, tvořeným v lidských PBMC, a je pravděpodobně jedním z několika mediátorů, jejichž produkci u citlivých jedinců selektivně navozují izokyanáty [62].

Budoucí buněčné testy založené na nově objevených vědeckých přístupech, jakými jsou profilování exprese, proteomika a metabolomika, mohou rozpoznávat různé typy imunologických odpovědí, jež definují citlivost vůči izokyanátům a odlišují pracovníky náchylné ke vzniku onemocnění od osob, u nichž došlo k rozvoji tolerance nebo u nichž nedošlo k senzibilizaci. Významnou determinantou všech podobných budoucích studií bude nejspíše forma izokyanátu (antigenu) použitého jako imunologického podnětu.

Závěr

Naše poznání imunitních odpovědí a patologických změn navozených expozicí izokyanátům se díky vytrvalému úsilí v oblasti výzkumu stále prohlubuje. Použití kombinovaných metod, jako jsou laserová desorpce/ionizace za účasti matrice (matrix-assisted laser desorption/ionization) s hmotnostní spektrometrií a *in vitro* systémy expozice navržené tak, aby jejich biochemické a biofyzikální parametry odpovídaly mikroprostředí dýchacích cest, umožnilo dosáhnout nebývalého pokroku v charakterizaci izokyanátové antigenity. Tento pokrok se začíná projevovat v optimalizaci imunologických testů zaměřených na izokyanát-specifické imunitní odpovědi.

Významný pokrok představují i teoretické a technické změny v našem pohledu na izokyanátové antigeny a okolnosti vzniku těchto reakčních produktů, přičemž k uvedenému posunu došlo díky empirickým poznatkům. Nové metody vytváření konjugátů izokyanát–albumin prostřednictvím expozice plynným (spíše než kapalným) izokyanátům zajišťují vznik „antigenů“ potenciálně vhodnějších pro oblast biologie než metody klasické, jež mají sklon k navozování „nadměrných“ reakcí a popřípadě ke vzniku artefaktových „antigenů“. K rozpoznávání protilátek významně přispívá také izomerní a polymerní složení izokyanátů. Další optimalizace izokyanátových antigenů může zvýšit senzitivitu/specificitu testů na izokyanát-specifické protilátky IgE do té míry, že se tyto testy stanou užitečnou metodou pro sledování léčby onemocnění navozeného izokyanáty. I kdyby pátrání po protilátkách IgE proti izokyanátům odhalilo pouze zlomek osob trpících izokyanátovým astmatem, mohl by se screening ve velkém měřítku vyplatit, uvážíme-li dlouhodobé zhoršení funkce plic ohrožující senzibilizované pracovníky, pokud jejich onemocnění zůstane nerozpoznáno.

Přes pokrok, který byl v poznání izokyanátové imunogenity v poslední době dosažen, je vhodnost vyšetřování senzibilizace vůči izokyanátům založené na stanovení protilátek IgE i nadále zpochybňována, a to částečně kvůli neúspěšnosti vyšetřovacích metod s nízkou senzitivitou a částečně kvůli alternativním hypotézám patogeneze (nezaloženým na IgE). Jsou vyvíjeny novější imunoanalýzy vycházející z hypotézy, že významnější úlohu (než humorální odpovědi) hrají v patogenezi izokyanátového astmatu buněčné odpovědi navozené izokyanátem. Tyto metody používající PBMC se mohou soustředit na konkrétní výstupy (protein MCP-1) nebo na typy exprese genů/proteinů/ /metabolitů, u nichž se může prokázat, že korelují s klinickým stavem, popřípadě jej definují.

Lze tedy shrnout, že sérologická vyšetření zaměřená na izokyanáty se v posledních letech dále vyvíjejí a díky jejich zdokonalení lze stanovením izokyanát-specifických protilátek IgE a IgG při klinickém vyšetření osob s expozicí na pracovišti získat cenné informace. Přestože se výše uvedené skutečnosti možná týkají pouze části exponovaných pracovníků, platí, že přítomnost izokyanát-specifických protilátek IgE je silným předpovědním ukazatelem výskytu izokyanátového astmatu a že specifické protilátky IgG mohou vypovídat o míře expozice v delším časovém úseku a mohou napomáhat při úpravách hygienických norem v průmyslových provozech. Větší diagnostickou senzitivitu do budoucna slibují novější testy na přecitlivělost vůči izokyanátům, založené na buněčných odpovědích.

Odkazy a doporučená literatura

Zvláště významné práce zveřejněné během roku přípravy tohoto přehledového článku jsou označeny takto:

• = významné,
•• = mimořádně významné.

1. Bonauto DK, Sumner AD, Curwick CC, *et al.* Work-related asthma in the spray-on truck bed lining industry. J Occup Environ Med 2005;47:514–517.
2. Taramian A, Doosthoseini K, Mirshokraii SA, Faezipour M. Particleboard manufacturing: an innovative way to recycle paper sludge. Waste Manag 2007; In press.
3. Berode M, Jost M, Ruegger M, Savolainen H. Host factors in occupational diisocyanate asthma: a Swiss longitudinal study. Int Arch Occup Environ Health 2005;78:158–163.
4. Robert A, Ducos P, Francin JM, Marsan P. Biological monitoring of workers exposed to 4,40-methylenediphenyl diisocyanate (MDI) in 19 French polyurethane industries. Int Arch Occup Environ Health 2007;80:412–422.
5. Sennbro CJ, Littorin M, Tinnerberg H, Jonsson BA. Upper reference limits for biomarkers of exposure to aromatic diisocyanates. Int Arch Occup Environ Health 2005;78:541–546.
6. Sennbro CJ, Lindh CH, Mattsson C, *et al.* Biological monitoring of exposure to 1,5-naphthalene diisocyanate and 4,40-methylenediphenyl diisocyanate. Int Arch Occup Environ Health 2006;79:647–653.
   • V hydrolyzované moči a plazmě lze po získání derivátů pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie zjišťovat biologické ukazatele expozice izokyanátům, které dokládají vnitřní expozici na pracovišti. Vzhledem k široké individuální variabilitě je otázkou, zda mohou tyto biologické ukazatele sloužit k určování expozice u velké populace pracovníků.
7. Boutin M, Dufresne A, Ostiguy C, Lesage J. Determination of airborne isocyanates generated during the thermal degradation of car paint in body repair shops. Ann Occup Hyg 2006;50:385–393.
   • Nedostatečně uznávané riziko expozice je spojeno s uvolňováním izokyanátů tepelnou degradací, k níž dochází při řezání, broušení a orbitálním pískování v dílnách provádějících úpravy karoserií.
8. Tarlo SM, Liss GM. Prevention of occupational asthma – practical implications for occupational physicians. Occup Med (Lond) 2005;55:588–594.
9. Pisati G, Baruffini A, Bernabeo F, *et al.* Rechallenging subjects with occupational asthma due to toluene diisocyanate (TDI), after long-term removal from exposure. Int Arch Occup Environ Health 2007;80:298–305.
10. Jones MG, Floyd A, Nouri-Aria KT, *et al.* Is occupational asthma to diisocyanates a non-IgE-mediated disease? J Allergy Clin Immunol 2006;117: 663–669.
    • Zde uvedené údaje rozšiřují nepřítomnost protilátek IgE navozených izokyanáty i na podslizniční tkáně dýchacích cest, jak prokázalo bronchoskopické vyšetření a hybridizace *in situ*. Účastníci studie byli vybíráni ve specializované ambulanci, kam je doporučovali jejich praktičtí nebo závodní lékaři. U většiny účastníků nedošlo po více než 30 dnů před zařazením do studie k expozici, což mohlo ovlivnit výsledky studie.
11. Rudbeck MG, Omland O. Work-related asthma caused by IgE-verified allergy to methylene di-isocynate. Ugeskr Laeger 2006;168:1345–1346.
    • Kasuistika v cizojazyčném časopise dokládající výskyt astmatu navozeného látkou MDI, a to s MDI-specifickými protilátkami IgE.

proLékaře.cz | 24.8.2025

12. Kim SH, Oh HB, Lee KW, *et al.* HLA DRB1*15-DPB1*05 haplotype: a susceptible gene marker for isocyanate-induced occupational asthma? Allergy 2006;61:891–894.
• Vztah mezi haplotypy lidských leukocytárních antigenů a izokyanátovým astmatem ukazuje na úlohu odpovědí zprostředkovaných dendritickými buňkami/T-buňkami při rozvoji uvedeného onemocnění. Byl ovšem zjištěn slabý vliv; jednotlivé alely lidských leukocytárních antigenů nevykazovaly významné vazby a lišily se od těch, které byly (podle starších studií publikovaných jinými autory) spojeny s izokyanátovým astmatem.
13. Tarkowski M, Vanoirbeek JA, Vanhooren HM, *et al.* Immunological determinants of ventilatory changes induced in mice by dermal sensitization and respiratory challenge with toluene iisocyanate. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007;292:L207–L214.
•• Rozšíření předchozí práce stejných autorů, dále zkoumající mechanismy dermální expozice vedoucí k systémové senzibilizaci a při další expozici dýchacích cest k rozvoji astmatu. Studie upozorňuje na možnost, že by kůže mohla sloužit jako účinná cesta k senzibilizaci a k patologickým změnám navozeným expozicí, přičemž tyto odpovědi jsou zprostředkovány pomahačskými T-lymfocyty 1. i 2. typu.
14. Ban M, Morel G, Langonne I, *et al.* TDI can induce respiratory allergy with Th2-dominated response in mice. Toxicology 2006;218:39–47.
•• Tato studie podtrhuje možný podíl expozice kůže na rozvoji astmatu a naznačuje, že kůže je možná nejúčinnější cestou expozice, pokud jde o indukci alergických odpovědí na izokyanáty (zprostředkovaných pomahačskými T-lymfocyty 2. typu).
15. Furusho S, Myou S, Fujimura M, *et al.* Role of intercellular adhesion molecule-1 in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma. Clin Exp Allergy 2006;36:1294–1302.
16. Lee KS, Park SJ, Kim SR, *et al.* Modulation of airway remodeling and airway inflammation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma. J Immunol 2006; 177:5248–5257.
•• Agonista receptoru gama aktivovaného peroxisomálním proliferátorem rosiglitazon, popřípadě pioglitazon, omezuje výskyt patologických změn v myším modelu astmatu navozeného látkou TDI. Bylo by možné těmito látkami přispět ke zmírnění příznaků izokyanátového astmatu u člověka?
17. Matheson JM, Johnson VJ, Luster MI. Immune mediators in a murine model for occupational asthma: studies with toluene diisocyanate. Toxicol Sci 2005;84:99–109.
18. Matheson JM, Johnson VJ, Vallyathan V, Luster MI. Exposure and immunological determinants in a murine model for toluene diisocyanate (TDI) asthma. Toxicol Sci 2005;84:88–98.
19. Karol MH, Kramarik JA, Ferguson J. Methods to assess RAST results in patients exposed to chemical allergens. Allergy 1995;50:48–54.
20. Bernstein DI, Cartier A, Côté J, *et al.* Diisocyanate antigen-stimulated monocyte chemoattractant protein-1 synthesis has greater test efficiency than specific antibodies for identification of diisocyanate asthma. Am J Respir Crit Care Med 2002;166:445–450.
21. Cartier A, Grammer L, Malo JL, *et al.* Specific serum antibodies against isocyanates: association with occupational asthma. J Allergy Clin Immunol 1989;84:507–514.
22. Ye YM, Kim CW, Kim HR, *et al.* Biophysical determinants of toluene diisocyanate antigenicity associated with exposure and asthma. J Allergy Clin Immunol 2006;118:885–891.
•• Slibná vylepšení testu TDI-RAST pro diagnostiku astmatu navozeného látkou TDI, k nimž přispěl multidisciplinární přístup. Laserová desorpce/ /ionizace za účasti matrice (matrix-assisted laser desorption/ionization) s hmotnostní spektrometrií definují rozdíly mezi konjugáty TDI–albumin vzniklými po expozici plynnému a kapalnému TDI, které korelují s jejich antigenitou. Protilátky IgE specifické vůči konjugátům plynného TDI a albuminu byly nalezeny u 29 ze 66 osob trpících astmatem navozeným expozicí TDI (44 %), avšak pouze u 7 ze 167 exponovaných kontrolních osob (4 %) a u žádného ze 64 jedinců s atopickým (tedy ne izokyanátovým) astmatem.
23. Wisnewski AV, Liu Q, Liu J, Redlich CA. Glutathione protects human airway proteins and epithelial cells from isocyanates. Clin Exp Allergy 2005;35: 352–357.
24. Lee CT, Ylostalo J, Friedman M, Hoyle GW. Gene expression profiling in mouse lung following polymeric hexamethylene diisocyanate exposure. Toxicol Appl Pharmacol 2005;205:53–64.
25. Izuhara K, Saito H. Microarray-based identification of novel biomarkers in asthma. Allergol Int 2006;55:361–367.
•• Vynikající přehled věnovaný uplatnění genové čipové technologie při rozpoznávání biologických ukazatelů astmatu.
26. Infuhr D, Crameri R, Lamers R, Achatz G. Molecular and cellular targets of anti-IgE antibodies. Allergy 2005;60:977–985.
27. Tee RD, Cullinan P, Welch J, *et al.* Specific IgE to isocyanates: a useful diagnostic role in occupational asthma. J Allergy Clin Immunol 1998;101: 709–715.
28. Hellman L. Regulation of IgE homeostasis, and the identification of potential targets for therapeutic intervention. Biomed Pharmacother 2007;61:34–49.
29. Patterson R, Oh SH, Roberts M, Hsu CC. Massive polyclonal hyperimmunoglobulinemia E, eosinophilia and increased IgE-bearing lymphocytes. Am J Med 1975;58:553–558.
30. Pronk A, Yu F, Vlaanderen J, *et al.* Dermal, inhalation, and internal exposure to 1,6-HDI and its oligomers in car body repair shop workers and industrial spray painters. Occup Environ Med 2006;63:624–631.
•• Kapalinová chromatografie–hmotnostní spektrometrie/hmotnostní spektrometrická analýza hydrolyzované derivatizované moči prokazuje, že v lakýrnickém provozu dochází k vnitřní expozici izokyanátům, a to jak u osob provádějících postřiky, tak u okolostojících. Analýzu lze provádět pouze za pomoci náročného analytického vybavení, což může omezovat praktickou použitelnost sledování expozice.
31. Redlich CA, Stowe MH, Coren BA, *et al.* Diisocyanate-exposed auto body shop workers: a one-year follow-up. Am J Ind Med 2002;42:511–518.
32. Sakai T, Morita Y, Roh J, *et al.* Improvement in the GC-MS method for determining urinary toluene-diamine and its application to the biological monitoring of workers exposed to toluene-diisocyanate. Int Arch Occup Environ Health 2005;78:459–466.
33. Gagne S, Lesage J, Ostiguy C, *et al.* Quantitative determination of hexamethylene diisocyanate (HDI), 2,4-toluene diisocyanate (2,4-TDI) and 2,6-toluene diisocyanate (2,6-TDI) monomers at ppt levels in air by alkaline adduct coordination ionspray tandem mass spectrometry. J Environ Monit 2005;7:145–150.
34. Ogawa M, Oyama T, Isse T, *et al.* Hemoglobin adducts as a marker of exposure to chemical substances, especially PRTR class I designated chemical substances. J Occup Health 2006;48:314–328.
35. Creely KS, Hughson GW, Cocker J, Jones K. Assessing isocyanate exposures in polyurethane industry sectors using biological and air monitoring methods. Ann Occup Hyg 2006;50:609–621.
• I přes nízké koncentrace izokyanátů v ovzduší lze na základě močových metabolitů prokázat jejich biologické vstřebávání, přičemž k nejvyšší inhalační expozici dochází při lakování nákladních automobilů postřikem (0,066 mg/m^3) a při provádění izolace polyuretanovou pěnou ve spreji (0,023 mg/m^3). Další činnosti spojené s vysokou expozicí, jako jsou míchání/odlévání polyuretanových výrobků, poloautomatické lisování a aplikace pryskyřic, mohou zahrnovat i expozici kůže.
36. Hogberg J, Larsson K, Albin M, *et al.* Comments on „Respiratory effects of toluene diisocyanate in the workplace: a discussion of exposure–response relationships“. Crit Rev Toxicol 2005;35:459–460; author reply 461–462.
37. Isocyanate exposure in an autobody repair and collision center. J Occup Environ Hyg 2006;3:D24–D27.
38. Church JA, Leibl H, Stein MR, *et al.* Efficacy, safety and tolerability of a new 10% liquid intravenous immune globulin [IGIV 10%] in patients with primary immunodeficiency. J Clin Immunol 2006;26:388–395.
• Běžný sérový poločas protilátky IgG je přibližně 35 dnů.
39. Wisnewski AV, Stowe MH, Cartier A, *et al.* Isocyanate vapor-induced antigenicity of human albumin. J Allergy Clin Immunol 2004;113:1178–1184.
40. Aul DJ, Bhaumik A, Kennedy AL, *et al.* Specific IgG response to monomeric and polymeric diphenylmethane diisocyanate conjugates in subjects with respiratory reactions to isocyanates. J Allergy Clin Immunol 1999;103: 749–755.
41. Bernstein DI, Ott MG, Woolhiser M, *et al.* Evaluation of antibody binding to diisocyanate protein conjugates in a general population. Ann Allergy Asthma Immunol 2006;97:357–364.
• Údaje naznačují, že izokyanát-specifické protilátky IgG mohou sloužit jako biologický ukazatel expozice, přičemž tyto protilátky se při vyšetřování (metodou ELISA) pomocí konjugátů izokyanát–albumin s nízkými substitučními poměry (3 : 1) nacházejí v obecné populaci. Výsledky enzymatické metody ELISA využívající protilátek IgG a nižších hodnot ředění séra než 1 : 10, popřípadě konjugátů izokyanát–albumin s vyššími substitučními poměry (nad 19 : 1), je třeba interpretovat opatrně. Je třeba zvažovat i expozice izokyanátům mimo pracoviště (např. při zájmových činnostech a při úpravách v domácnosti).
42. Frick-Engfeldt M, Zimerson E, Karlsson D, *et al.* Chemical analysis of 2,4-toluene diisocyanate,16-hexamethylene diisocyanate and isophorone diisocyanate in petrolatum patch-test preparations. Dermatitis 2005;16: 130–135.
43. Hannu T, Estlander T, Jolanki R. Allergic contact dermatitis due to MDI and MDA from accidental occupational exposure. Contact Dermatitis 2005;52: 108–109.
44. Pauluhn J. Brown Norway rat asthma model of diphenylmethane 4,40-diisocyanate. Inhal Toxicol 2005;17:729–739.
45. Pauluhn J, Woolhiser MR, Bloemen L. Repeated inhalation challenge with diphenylmethane-4,40-diisocyanate in brown Norway rats leads to a time--related increase of neutrophils in bronchoalveolar lavage after topical induction. Inhal Toxicol 2005;17:67–78.
46. Bello D, Smith TJ, Woskie SR, *et al.* An FTIR investigation of isocyanate skin absorption using in vitro guinea pig skin. J Environ Monit 2006;8: 523–529.
• Nové uplatnění infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací ve výzkumu izokyanátů, u kterého je třeba blíže objasnit detekční limity a praktickou využitelnost.
47. Selgrade M, Boykin EH, Haykal-Coates N, *et al.* Inconsistencies between cytokine profiles, antibody responses, and respiratory hyperresponsiveness following dermal exposure to isocyanates. Toxicol Sci 2006;94: 108–117.
• Expozice kůže izokyanátům zvyšuje sérové koncentrace protilátek IgE a produkci cytokinů, což zdůrazňuje možnou úlohu kůže v rozvoji astmatu.
48. Nabe T, Yamauchi K, Shinjo Y, *et al.* Delayed-type asthmatic response induced by repeated intratracheal exposure to toluene-2,4-diisocyanate in guinea pigs. Int Arch Allergy Immunol 2005;137:115–124.
49. Petsonk EL, Wang ML, Lewis DM, *et al.* Asthma-like symptoms in wood product plant workers exposed to methylene diphenyl diisocyanate. Chest 2000;118:1183–1193.
50. Fent KW, Jayaraj K, Gold A, *et al.* Tape-strip sampling for measuring dermal exposure to 1,6-hexamethylene diisocyanate. Scand J Work Environ Health 2006;32:225–240.
• Nová neinvazivní metoda umožňující detekci izokyanátů na povrchu lidské kůže je přístupem potenciálně významným pro budoucí studie zabývající se úlohou kůže v rozvoji senzibilizace vůči izokyanátům.

proLékaře.cz | 24.8.2025

51. Flynn MR, Koto Y, Fent K, Nylander-French LA. Modeling dermal exposure – an illustration for spray painting applications. J Occup Environ Hyg 2006;3:475–480.
• Matematický model expozice kůže upozorňuje na potenciální úlohu ochlupení v mikroprostředí kůže při zvýšeném ukládání izokyanátů. Zajímavé by bylo též podobné modelování poškozené či poraněné kůže.
52. Chen SE, Bernstein IL. The guinea pig model of diisocyanate sensitization. I. Immunologic studies. J Allergy Clin Immunol 1982;70:383–392.
53. Jin RZ, Karol MH. Intra- and intermolecular reactions of 4,40-diisocyanatodiphenylmethane with human serum albumin. Chem Res Toxicol 1988;1: 281–287.
54. Baur X. Immunologic cross-reactivity between different albumin-bound isocyanates. J Allergy Clin Immunol 1983;71:197–205.
55. Wass U, Belin L. Immunologic specificity of isocyanate-induced IgE antibodies in serum from 10 sensitized workers. J Allergy Clin Immunol 1989; 83:126–135.
56. Cummings BJ, Booth KS. Industrial hygiene sampling for airborne TDI in six flexible slabstock foam manufacturing facilities in the United States: a comparison of the short-term and long-term sampling data. Appl Occup Environ Hyg 2002;17:863–871.
57. Baur X, Chen Z, Flagge A, *et al.* EAST and CAP specificity for the evaluation of IgE and IgG antibodies to diisocyanate-HSA conjugates. Int Arch Allergy Immunol 1996;110:332–338.
58. Bousquet J, Chanez P, Chanal I, Michel FB. Comparison between RAST and Pharmacia CAP system: a new automated specific IgE assay. J Allergy Clin Immunol 1990;85:1039–1043.
59. Sander I, Kespohl S, Merget R, *et al.* A new method to bind allergens for the measurement of specific IgE antibodies. Int Arch Allergy Immunol 2005;136:39–44.
60. Mothes N, Valenta R, Spitzauer S. Allergy testing: the role of recombinant allergens. Clin Chem Lab Med 2006;44:125–132.
• Přehled alergenových testů typu „microarray“.
61. Ogawa H, Inoue S, Ogushi F, *et al.* Toluene diisocyanate (TDI) induces production of inflammatory cytokines and chemokines by bronchial epithelial cells via the epidermal growth factor receptor and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. Exp Lung Res 2006;32:245–262.
• Tyto údaje dále svědčí pro aktivní zapojení epitelu v patogenezi astmatu, neboť naznačují, že buňky epitelu dýchacích cest odpovídají na přítomnost konjugátů izokyanát–albumin (antigenů) zvýšenou aktivitou signalizačních drah, jež spouštějí expresi zánětlivých genů.
62. Kuna P, Reddigari SR, Rucinski D, *et al.* Monocyte chemotactic and activating factor is a potent histamine-releasing factor for human basophils. J Exp Med 1992;175:489–493.