



ENFERMEDAD PULMONAR EXPERIMENTAL POR DIISOCIANATO DE TOLUENO

A. MARTINEZ-BERGANZA ASENSIO, J.D. ESCOLAR CASTELLON*,
F. ESCOLAR CASTELLON y P. ROCHE ROCHE*

Servicio de Neumología. Departamento de Medicina y Departamento de Anatomía*.
Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.

A pesar de que la enfermedad profesional por diisocianato de tolueno (DIT) es conocida desde hace años, todavía se discuten los mecanismos patógenos que intervienen en su desencadenamiento. Para aportar datos al conocimiento de la etiopatogenia, se ha establecido un modelo experimental en ratas.

Se sometió a 8 ratas a una atmósfera de vapores de DIT, de forma ininterrumpida durante 30 días, posteriormente las ratas fueron sacrificadas, se les realizó lavado broncoalveolar (LBA) y estudio histológico que incluía inmunohistoquímica para la detección de IgG.

El LBA mostró un incremento de los linfocitos (38 %), lo que coincidía con la infiltración de linfocitos peribronquial y, en menor grado, de los tabiques alveolares. Asimismo, se detectaron depósitos de IgG en las paredes de los capilares alveolares. Todos estos hechos sugieren: la participación de mecanismos de hipersensibilidad retardada tipo III, mediada por IgG; así como, la implicación tanto de las vías aéreas como del parénquima pulmonar. Quedando por aclarar las posibilidades evolutivas de los depósitos de IgG, encontrados en las paredes alveolares.

Arch Bronconeumol 1987; 23:234-237

Experimental pulmonary disease induced by toluene diisocyanate

Even though the occupational disease induced by toluene diisocyanate (DIT) has been known for years, the pathogenetic mechanisms that trigger this condition remain unclear. An experimental model has been developed in the rat in order to provide some insight on the etiopathogenesis of the disease.

Eight rats were maintained on an DIT atmosphere continuously for 30 days and then killed. Bronchoalveolar lavage (LBA) and histological exam including immunohistochemical assessment for IgG detection were performed in all the animals.

An increased proportion of lymphocytes (39 %) was found in the bronchoalveolar lavage, together with a peribronchial lymphocytic infiltration of the alveolar septa. IgG deposits on the alveolar capillary walls were also found. These findings suggest that IgG-mediated type III delayed hypersensitivity mechanisms are involved, and that both airway and pulmonary parenchyma are affected. The final outcome of the IgG deposits found on the alveolar walls is still confuse.

Introducción

El diisocianato de tolueno (DIT) es un producto químico industrial de amplio uso en la fabricación de espumas y barnices de poliuretano. Poco tiempo después de la introducción de este proceso tecnológico, se observó que entre un 5 % y un 10 % de los trabajadores expuestos, desarrollaban disnea¹. Asimismo, la inhalación provocada de DIT en trabajadores sensibilizados produjo una respuesta broncoconstrictora inmediata, tardía, o ambas². Pero en otros estudios, trabajadores con inmunoglobulinas séricas al DIT no mostraron haber padecido la enfermedad³.

Todos estos hechos han originado confusión a la hora de clarificar los mecanismos patogénicos que intervienen en la producción de la enfermedad respiratoria por diisocianato de tolueno (ERDIT). Es precisamente en los trabajos experimentales donde se ha puesto más énfasis en la patogenia inmunitaria de las reacciones de hipersensibilidad⁴. Mientras que en otros trabajos, se ha señalado la hipótesis de la beta-2 toxicidad, al demostrarse en estos pacientes alteraciones en el metabolismo del AMP-cíclico⁵⁻⁷. La confusión es todavía mayor con la posible implicación del alveolo en la ERDIT, siendo descrita por algún autor⁸.

Para estudiar estas discrepancias y aportar nuevos datos sobre la patogenia de esta enfermedad, hemos diseñado un modelo experimental de ERDIT en ratas.

Recibido el 26-1-1987 y aceptado el 27-4-1987.



Material y métodos

Se ha sometido a ocho ratas Wistar adultas, cuyo peso estaba entre 200 y 300 g, a la inhalación ininterrumpida de vapores de DIT durante 30 días. Las ratas, que tenían libre acceso al agua y comida, fueron colocadas en una jaula cerrada con un sistema de ventilación de flujo aéreo, que posibilitaba la renovación constante del aire en su interior y al mismo tiempo evitaba la contaminación exterior de los vapores de DIT. Dicha jaula, contenía un recipiente abierto con diisocianato de tolueno y permitía su renovación y agitación constante.

A los treinta días, los animales fueron anestesiados con pentotal, para ser sacrificados. Se les realizó lavado broncoalveolar (LBA), por medio de una traqueotomía cervical, introduciéndoles un catéter «Venocath» en el bronquio derecho. Al mismo tiempo, se ligaba el bronquio izquierdo mediante toracotomía, para evitar la contaminación de este pulmón. En el LBA se obtenía alrededor de 1 ml de líquido, administrando 3 ml de suero fisiológico. Posteriormente, el pulmón izquierdo fue resecaado para estudio anatomopatológico.

Las técnicas histológicas comprendían: tricrómico de Martins, azul de Prusia, tinción de orceína y utilizando la peroxidasa-anti-peroxidasa (PAP) para la detección de IgG. El líquido del LBA se analizó para determinar el número de células y el porcentaje de las diversas células presentes en el sedimento, con la tinción de panóptico. También se empleó la técnica de la fosfatasa ácida, para diferenciar los linfocitos B de los T.

El estudio estadístico de las células del LBA comprendía el cálculo de la media y desviación típica, y se realizó con un ordenador Apple «Macintosh Plus», utilizando el programa ST WORKS.

Resultados

El LBA demostró en todas las ratas un aumento de los linfocitos, con un porcentaje medio del 38 % (fig. 1), mientras que el porcentaje de polimorfonucleares era del 1 %, y un 60 % de macrófagos. El 60 % de los linfocitos presentaban grumos fosfatasa ácida positivos alrededor del núcleo, considerando que se trataba de linfocitos B.

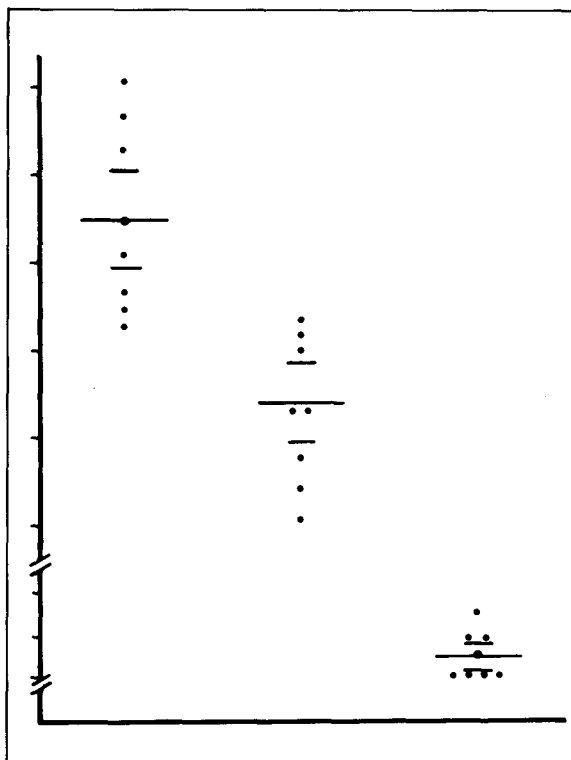


Fig. 1. Porcentajes medios y desviaciones estándar de las células presentes en el sedimento de los lavados broncoalveolares.

El estudio histológico de los cortes de pulmón evidenció la existencia de infiltrados peribronquiales de linfocitos que, en algunas ocasiones, formaban acúmulos pero sin llegar a constituir verdaderos granulomas, al no existir necrosis central. En la luz de las vías aéreas había exudados con abun-

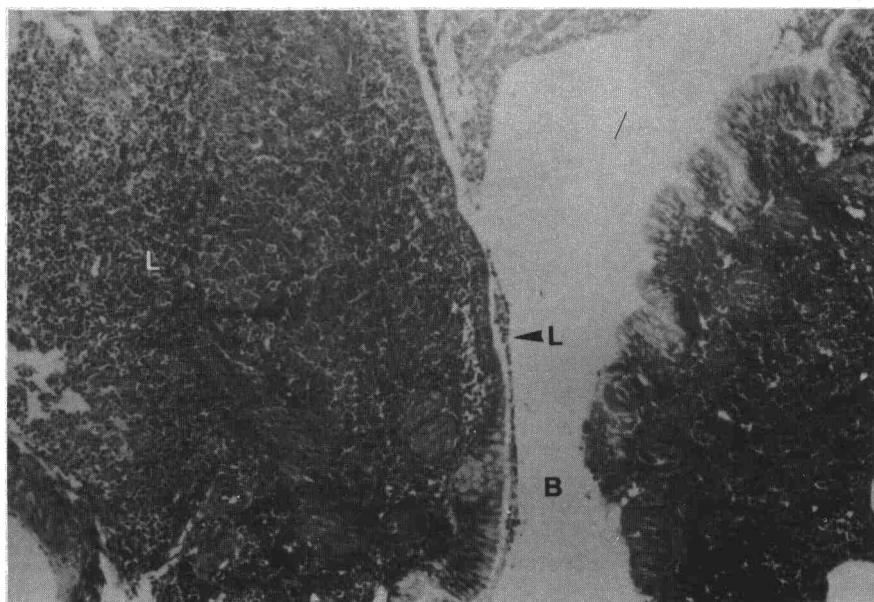


Fig. 2. Corte de pulmón en el que se aprecia una luz bronquial (B) cortada longitudinalmente, con abundantes infiltrados linfocitarios (L) peribronquiales y en el exudado endobronquial. (Tinción de Martins; $\times 100$.)

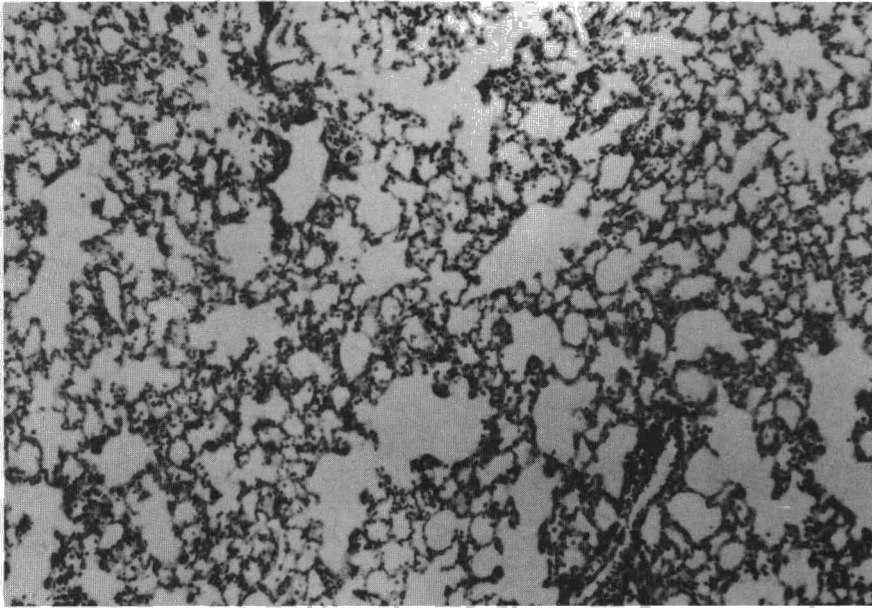
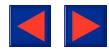


Fig. 3. Panorámica del parénquima pulmonar, estructura alveolar conservada con ligero aumento del grosor de los tabiques e infiltrado linfocitario. (Tinción de Martins; $\times 200$.)

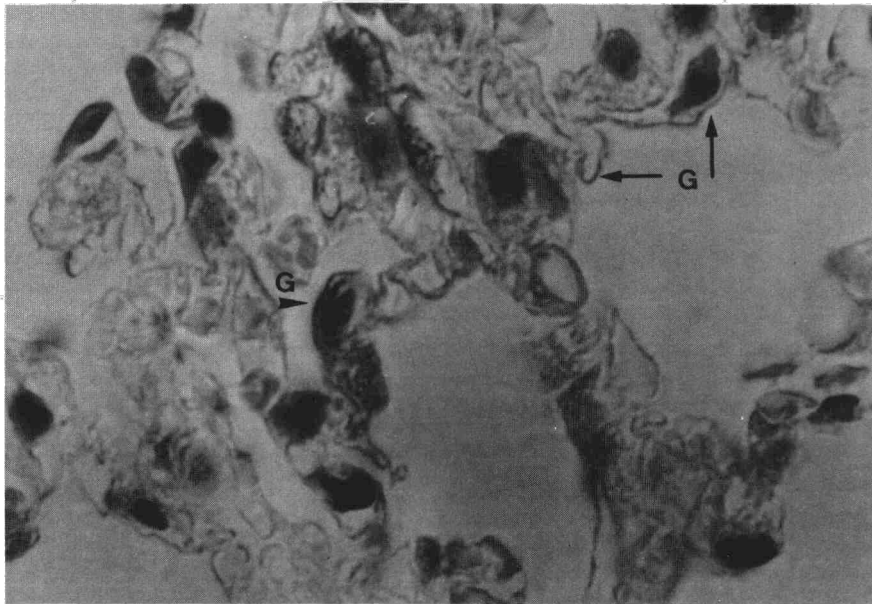


Fig. 4. Parénquima pulmonar. Depósitos de IgG, líneas oscuras más gruesas (G), en torno a los capilares alveolares. (PAP-anti IgG; $\times 1.000$.)

dantes linfocitos (fig. 2). En el intersticio alveolar existía un incremento del grosor de los tabiques alveolares, junto con un infiltrado difuso de linfocitos, aunque el número de éstos no era tan marcado como en las vías aéreas. La localización de estos linfocitos fue preferentemente en los tabiques (fig. 3).

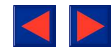
Mediante la técnica de la PAP «anti-inmunoglobulina-G de rata», se pudo demostrar la existencia de depósitos de IgG en las paredes de los capilares alveolares (fig. 4).

Discusión

Para explicar la patogenia de la ERDIT se han planteado tres hipótesis:

- Una reacción de hipersensibilidad tipo I, mediada por IgE⁹.
- Acción tóxica del DIT directa sobre los receptores beta-2-adrenérgicos^{5,6}.
- Reacción de hipersensibilidad retardada tipo III, mediada por IgG⁸.

Este trabajo experimental parece comprobar la



participación en la ERDIT de la tercera hipótesis.

Los modelos habitualmente utilizados en la literatura, se basan en conseguir una brusca sensibilización, por medio de una intensa administración de antígeno, durante cortos períodos de tiempo¹⁰. Nuestro modelo se ajustaría más a las condiciones de exposición humana, concentraciones de vapor de DIT no muy altas, con períodos de exposición largos¹¹.

El parénquima pulmonar de nuestros animales no mostró la presencia de eosinófilos, al contrario de lo señalado en un trabajo realizado en cobayas sometidas a exposiciones de DIT intermitentes e intensas¹⁰. De hecho, los resultados del LBA, en nuestras ratas, se ajustan más a un caso reportado de alveolitis humana por DIT⁸. Asimismo, los depósitos de IgG puestos en evidencia por la PAP, concuerdan con el hallazgo de altas concentraciones de IgG en el LBA del caso anteriormente referido⁸.

La infiltración de linfocitos en los tabiques interalveolares y los depósitos de IgG, eran las únicas alteraciones que encontramos en el parénquima pulmonar, no visualizándose destrucción de los tabiques alveolares, ni otras lesiones enfisematosas destacables. Tampoco existía un abundante infiltrado de estas células inflamatorias en las luces alveolares, siendo éste de mayor intensidad en los tabiques. Tal vez, consecuencia de la administración local del DIT directamente en las vías aéreas en el caso anteriormente señalado¹⁰.

Todos estos hechos sugieren la participación en esta enfermedad de mecanismos mediados por la inmunidad humoral y apuntan hacia la hipótesis de la reacción tipo III mediada por IgG.

Estos resultados sugieren que el DIT, en nuestro modelo experimental, es capaz de producir daño sobre todo en las paredes alveolares y en las vías respiratorias, y que estas lesiones incluyen depósitos de IgG. Estos hechos, sobre todo la participación del intersticio alveolar, deberán de ser tenidos en cuenta a la hora de evaluar y tratar a nuestros pacientes con ERDIT, como ya ha sido señalado por algún autor⁸. Por ello, es importante la búsqueda sistemática de afectación parenquimatosa en todos estos enfermos.

Para establecer la definitiva repercusión de la ERDIT sobre el parénquima pulmonar, sería interesante realizar un modelo experimental más crónico, que ponga en evidencia las posibilidades evo-

lutivas de los depósitos de inmunocomplejos. Sobre todo, en el sentido de que puedan desencadenar fibrosis intersticial difusa, como se supone en las enfermedades intersticiales de origen desconocido^{12,13}.

BIBLIOGRAFIA

1. Davies RJ, Pepys J. Occupational asthma. En *Asthma*. Clark TJH, Godfrey SW. Philadelphia, Saunders 1977; 190-213.
2. Butcher BT, Jones RN, O'Neil CE, Glindmeyer HW, Diem JE, Dharmarajan V, Weill H, Salvaggio JE. Longitudinal study of workers employed in the manufacture of toluene diisocyanate. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116:411-421.
3. Butcher BT, O'Neil CE, Reed MA, Salvaggio JE. Radioallergosorbent testing with p-tolyl monoisocyanate in toluene diisocyanate workers. *Clin Allergy* 1983; 13:31-34.
4. Karol MH, Dixon C, Brady M, Alarie Y. Immunologic sensitization and pulmonary hypersensitivity by inhalation of aromatic isocyanates. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 53:260-270.
5. Butcher BT, O'Neil CE, Reed MA, Salvaggio JE. Radioallergosorbent testing of toluene diisocyanate-reactive individuals using p-tolyl isocyanate antigen. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 66:213-216.
6. Davies RJ, Butcher BT, O'Neil CE. The in vitro effect of toluene diisocyanate on lymphocyte cystic adenosine monophosphate production by isoproterenol, prostaglandin and histamine: a possible mode of action. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 60:233-237.
7. Butcher BT, Karr RM, O'Neil CE, Wilson MR, Dharmarajan V, Salvaggio JE, Weill H. Inhalation challenge and pharmacologic studies of toluene diisocyanate (TDI)-sensitive workers. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 64:146-152.
8. Bascom R, Kennedy TP, Levitz D, Zeiss CR. Specific bronchoalveolar lavage IgG antibody in hypersensitivity pneumonitis from diphenylmethane diisocyanate. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131:463-465.
9. Karol MH, Ioset HH, Alarie YC. Tollyl-specific IgE antibodies in workers with hypersensitivity to toluene diisocyanate. *Am Ind Hyg Assoc J* 1978; 39:454-458.
10. Tanaka K, Kawai M, Maekawa N. Experimental model of asthma by toluene diisocyanate. *Bull Chest Dis Res Inst* 1983; 16:1-8.
11. Karol MH. Concentration-dependent immunologic response to toluene diisocyanate (TDI) following inhalation exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983; 68:229-241.
12. Crystal RG, Bitterman PB, Rennard SI, Hance AJ, Keogh BA. Interstitial lung diseases of unknown cause: disorders characterized by chronic inflammation of the lower respiratory tract (I). *N Engl J Med* 1984; 310:154-166.
13. Crystal RG, Bitterman PB, Rennard SI, Hance AJ, Keogh BA. Interstitial lung disease of unknown cause: disorders characterized by chronic inflammation of the lower respiratory tract (II). *N Engl J Med* 1984; 310:235-244.