

## Exposition professionnelle aux isocyanates et susceptibilité individuelle

Michèle Berode, Heikki Savolainen

Institut universitaire de médecine et d'hygiène du travail (IUMHT), Lausanne

Le problème de l'exposition professionnelle aux isocyanates reste préoccupant. En Suisse, cette classe de produits figure au premier rang des agents chimiques responsables d'asthme d'origine professionnelle<sup>1</sup>.

Si la pathologie pulmonaire associée à l'exposition aux isocyanates est bien établie, le mécanisme responsable de l'hyperréactivité bronchique reste toujours inexpliqué. Certains symptômes (crise retardée, amélioration pendant le weekend) et les faibles doses nécessaires au déclenchement de la sensibilisation, font naturellement penser à des réactions de type immunologique. De cas en cas des réactions spécifiques ont pu être observées<sup>2,3</sup> sans qu'aucune tendance marquée ne soit mise en évidence<sup>4</sup>.

Des mécanismes non immunologiques pourraient aussi être à l'origine de ces réactions. Un des mécanismes les plus intéressants est probablement celui résultant de l'action de certaines substances exogènes sur les fonctions contractiles de l'arbre bronchique par rupture de l'équilibre protéolytique dû à un excès de protéase, e.g. d'élastase. En 1986, Gettins<sup>5</sup> a montré que certaines amines exogènes et notamment la méthylamine provoquent des perturbations au niveau des antiprotéases et particulièrement une inhibition de l'alpha-1-antitrypsine [ $\alpha$ AT], principale antiprotéase dirigée contre l'élastase.

D'un point de vue chimique, une fonction isocyanate est instable en présence d'eau et se transforme en amine. Il est donc assez probable que, dès son entrée dans l'organisme par voie respiratoire (milieu saturé en vapeur d'eau), un isocyanate s'hydrolyse et que l'amine ainsi formée déclenche le mécanisme d'hyperréactivité par déséquilibre protéolytique résultant de l'inhibition de  $\alpha$ AT. Ce système enzymatique  $\alpha$ AT est particulièrement intéressant puisqu'il présente un polymorphisme génétique plus connu sous le nom de phénotype Pi (Protease inhibitor), l'activité enzymatique dépendant du phénotype<sup>6</sup>. Ainsi donc, selon le phénotype Pi, certains sujets, déficients en  $\alpha$ AT seraient plus enclins à développer un asthme aux isocyanates par rupture de l'équilibre protéolytique.

Autre fait intéressant quant à l'approche des facteurs individuels de risque, on sait qu'une des voies de biotransformation des amines passe par la N-acétylation pour former des amides. Cette transformation est sous la dépendance de l'enzyme NAT (N-acétyltransférase) qui présente aussi un poly-

morphisme génétique, la population caucasienne<sup>7</sup> se répartissant en proportions à peu près égales entre acétylateurs lents et rapides. Selon le polymorphisme [NAT], la demi-vie d'une amine dans l'organisme est plus ou moins longue augmentant ou diminuant ainsi la probabilité de rupture de l'équilibre protéolytique.

En vue de comprendre la variabilité dans la réponse aux isocyanates et de mettre en évidence chez l'homme des facteurs individuels permettant d'expliquer ces différences, un projet de recherche a été entrepris à l'IUMHT.

Dans une première phase, quelques études *in vitro* réalisées sur le diisocyanate monomère HDI [1,6-hexane diisocyanate] ou sur la diamine correspondante HDA [1,6-hexane diamine] ont permis de montrer

- i) qu'au niveau du tractus respiratoire l'hydrolyse de HDI en HDA constitue la voie majeure de biotransformation de HDI<sup>8</sup>,
- ii) que l'amine HDA ainsi formée est capable d'inhiber  $\alpha$ AT, l'inhibition étant plus marquée pour les hétérozygotes M ou les porteurs d'un caractère déficient S ou Z<sup>9</sup>.
- iii) qu'après acétylation, l'amine perd tout pouvoir d'inhibition antiprotéolytique quel que soit le phénotype Pi<sup>10</sup>.

### Méthodes

Ces bases étant établies expérimentalement, il restait à les vérifier *in vivo* par l'étude de deux groupes bien distincts. Le premier groupe était constitué de 11 patients (10 hommes, 1 femme âgés de 20 à 53 ans) souffrant d'asthme bronchique résultant d'une exposition professionnelle aux isocyanates. Six salariés (hommes) travaillant depuis au moins deux ans à la fabrication des monomères diisocyanates et ne présentant aucun symptôme liés aux isocyanates formaient le second groupe.

La capacité individuelle de N-acétylation a été réalisée chez tous ces sujets par le «test à la caféine» selon la méthode décrite par Grant<sup>11</sup>, le rapport molaire de deux métabolites de la caféine permettant de définir la capacité de N-acétylation du sujet testé. Si le quotient AFMU/MeX est inférieur à 0.6, le sujet est considéré comme acétylateur lent. La caractérisation du phénotype Pi est effectuée sur

le sérum par focalisation isoélectrique dans une gamme de pH variant de 4.2 à 5.0 selon la méthode de Brooks<sup>12</sup>.

## Résultats

En ce qui concerne le phénotype Pi, seul le groupe des patients a pu être typé. Les fréquences de distribution des différents phénotypes comparées aux fréquences établies pour une population suisse<sup>13</sup> montrent une sous-représentation du phénotype homozygote M au profit du type hétérozygote (Figure 1). Ce fait est en soit intéressant puisque *in vitro* l'inhibition de alpha-1-antitrypsine par HDA était surtout importante pour les phénotypes sur-représentés dans cette population de malades. Le polymorphisme NAT étudié sur les deux collectifs a permis de mettre en évidence (Figure 2) une proportion nette d'acétylateurs lents chez les patients contre une répartition plutôt favorable aux acétylateurs rapides chez les travailleurs sains. Sur la base de ces premiers résultats, il semble que le caractère NAT rapide constitue une condition

nécessaire et suffisante pour ne pas développer d'hyperréactivité bronchique aux isocyanates. Par contre, le caractère d'acétylateur lent constitue une condition nécessaire mais pas suffisante pour développer la maladie.

## Conclusions

Malgré le nombre limité de cas étudiés, l'hypothèse selon laquelle un sujet caractérisé comme acétylateur lent et ayant un phénotype Pi déficient ou hétérozygote a plus de chance de développer une hyperréactivité aux isocyanates que s'il était NAT rapide et homozygote M semble confirmée.

Des investigations devront être poursuivies aussi bien chez des personnes hypersensibles aux isocyanates que chez des travailleurs sains afin d'évaluer la valeur prédictive de ces caractères génétiques dans le déclenchement de la maladie.

Le caractère peu invasif des tests proposés et les premiers résultats observés devraient permettre de faire de ces test de caractérisation individuelle un outil de prévention.

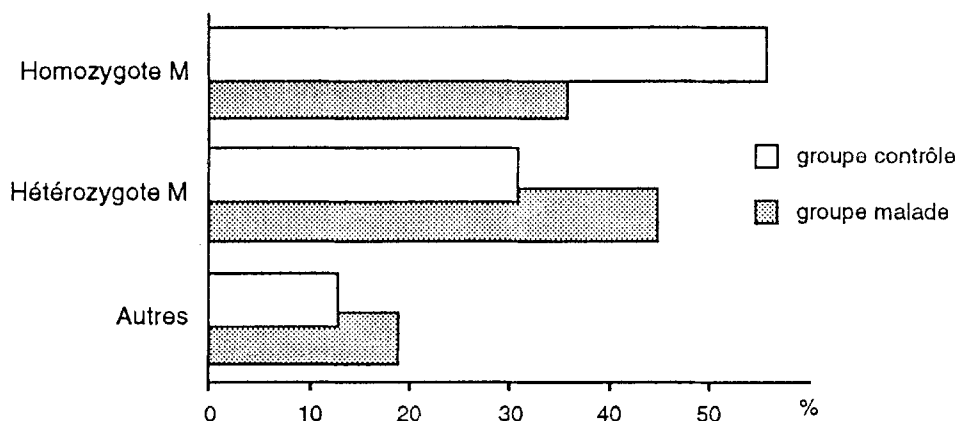


Fig. 1. Phénotype Pi: fréquence de distribution obtenue pour le groupe de patients malades comparée à la population générale<sup>13</sup>.

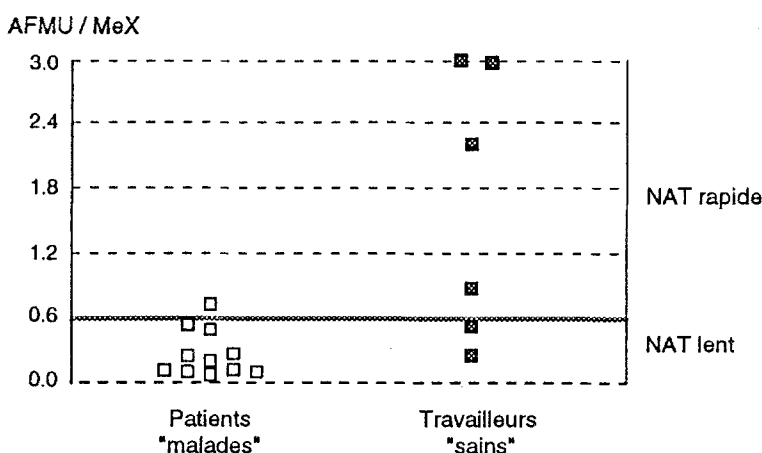


Fig. 2. Phénotype NAT: distributions comparées des valeurs de AFMU/MeX obtenues pour les patients et pour les travailleurs sains.

**Résumé**

Le mécanisme de l'hyperréactivité bronchique aux isocyanates est abordé ici non pas sous un aspect immunologique, mais sous un aspect toxique en relation avec les amines formées par biotransformation des isocyanates. Parmi 11 patients diagnostiqués pour un asthme aux isocyanates, la majorité (10/11) sont des acétylateurs lents. Au point de vue du phénotype de l'alpha-1-antitrypsine, ces mêmes patients se distinguent aussi d'une population de contrôle avec une sur-représentation du caractère hétérozygote. Il semble que la combinaison du caractère acétylateur lent et porteur d'un phénotype d'alpha-1-antitrypsine hétérozygote prédispose à la maladie.

**Summary****Occupational exposure to isocyanates and individual hypersensitivity**

Patients with organic diisocyanate-induced pulmonary disease may be specially susceptible to the toxic effects of agent. Among 11 cases diagnosed in one year, the majority (10/11) were slow acetylators. The same patients were different from the control population in terms of alpha-1-antitrypsin phenotypes. Heterozygous combinations were more frequent than among controls. It seems that the combination of low N-acetylation capacity and a heterozygous alpha-1-antitrypsin predisposes to the disease.

**Zusammenfassung****Isocyanatexposition am Arbeitsplatz und individuelle Empfindlichkeit**

Patienten mit einer Diisozyanat-bedingten Lungenerkrankung können besonders empfindlich gegenüber dem toxischen Effekt des Stoffes sein. In einer Gruppe von 11 Patienten eines Jahres war die Mehrheit (10/11) langsame Azetylierer. Dieselben Patienten unterschieden sich von der Kontrollpopulation für ihre Alpha-1-antitrypsin Phänotypen. Heterozygote Kombinationen waren häufiger als bei Kontrollen. Es scheint, dass die N-

Azetylationsfähigkeit und ein heterozygoter Alpha-1-antitrypsin zur Krankheit prädisponieren.

**Références**

- 1 Jost M, Ruppen L. Statistique des maladies professionnelles de la CNA. Situation actuelle et tendances. Lucerne: Caisse nationale suisse d'assurance en cas d'accidents, 1992:84 pp.
- 2 Baur X, Fruhmann G. Specific IgE antibodies in patients with isocyanate asthma. *Chest* 1981; 80:73S–76S.
- 3 Bascom R, Kennedy TP, Levitz D, Zeiss CR. Specific bronchoalveolar lavage IgG antibody in hypersensitivity pneumonitis from diphenylmethane diisocyanate. *Am Rev Resp Dis* 1985; 131:463–465.
- 4 Belin L, Wass U. XII Congress on Occupational Health, Sydney 1987; Abstract 193.
- 5 Gettins P, Cunningham LW. Identification of <sup>1</sup>H resonances from the bait region of human  $\alpha$ -2-macroglobulin and effects of proteases and methylamine. *Biochem* 1986; 25:5011–5017.
- 6 Fagerhol K. Serum prealbumin. Polymorphism in man. *Science* 1965; 149:986–987.
- 7 Platzer R, Küpfer A, Bircher J, Preisig R. Polymorphic acetylation and aminopyrine demethylation in Gilbert's syndrome. *Europ J Clin Invest* 1978; 8:219–223.
- 8 Berode M, Testa B, Savolainen H. Bicarbonate-catalysed hydrolysis of hexamethylene diisocyanate to 1,6-diaminohexane. *Toxicol Letters* 1991; 56:173–178.
- 9 Berode M, Leuenberger P, Savolainen H. Phenotype-dependent inhibition of human alpha-1-antitrypsin by 1,6-hexanediamine in vitro. *Biochem Int* 1988; 17:141–145.
- 10 Berode M. Detoxification of an aliphatic amine by N-acetylation: experimental and clinical studies. *Biochem Int* 1991; 24:947–950.
- 11 Grant DM, Tang BK, Kalow W. A simple test for acetylator phenotype using caffeine. *Brit J Clin Pharmacol* 1984; 17:459–464.
- 12 Brooks WE, Iammarino RM. Determination of alpha-1-antitrypsin phenotypes and M subtypes by isoelectric focusing on immobilized pH gradient. *Clin Biochem* 1985; 18:280–284.
- 13 Bär W, Kratzer A. Polymorphism of alpha-1-antitrypsin (Pi) in the Swiss population determined by isoelectric focusing with an immobilized pH gradient. *Hum Hered* 1988; 38:106–110.

**Remerciements**

Les auteurs expriment leur gratitude à Mme Monique Strelbel, Mme Patricia Oswald et à Monsieur Pierre-Alain Porchet pour leur assistance technique de qualité.

**Adresse pour correspondance:**

M. Berode  
Dr. es Sc., IUMHT  
Bugnon 19  
CH-1005 Lausanne/Suisse