

# VROEGE EFFECTPARAMETERS VOOR DE NIEREN

state of the art

A.J.W. Verplanke  
R.F.M. Herber  
F.A. de Wolff

Rapport opgesteld in opdracht van het  
Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid  
door het Coronel Laboratorium,  
Acadernisch Medisch Centrum,  
Universiteit van Amsterdam

S 30 - 39

000  
-Aist  
0/39

7W

## Inhoudsopgave

1.	Inleiding	3
2.	Structuur en functie van de nier	5
3.	Nefrotoxiciteit	7
3.1.	Inleiding	7
3.2.	Etiologie	7
3.3.	Gevoeligheid van de nier	8
3.4.	Classificatie van nefrotoxische aandoeningen	8
3.4.1.	Glomerulaire aandoeningen	9
3.4.2.	Tubulo-interstiële aandoeningen	10
3.5.	Klinische nierfunctiemetingen	10
3.6.	Vroege effecten op de nieren	12
3.6.1.	HMM-proteïnurie	13
3.6.2.	$\beta_2$ -Microglobuline in serum ( $\beta_2$ MS)	14
3.6.3.	Overige glomerulaire parameters	14
3.6.4.	LMM-proteïnurie	15
3.6.5.	Enzymurie en overige parameters	15
3.7.	Risicofactoren	16
3.8.	Regeneratie en hyperfiltratie	16
3.9.	Voorspellende waarde en gezondheidsrelevantie	17
4.	Nefrotoxische stoffen	20
4.1.	Inleiding	20
4.2.	Nefrotoxische stoffen	20
4.2.1.	Lood	20
4.2.2.	Cadmium	21
4.2.3.	Kwik	21
4.2.4.	Chroom	22
4.2.5.	Andere anorganische stoffen	22
4.2.6.	Vluchtige koolwaterstoffen en gehalogeneerde koolwaterstoffen	22
4.2.7.	Bestrijdingsmiddelen	23
5.	Vroege effectmetingen in de bedrijfsgezondheidszorg	24
5.1.	Inleiding	24
5.2.	Doelgroepen	24
5.3.	Strategie	25
5.4.	Vroege effectmetingen	26
5.5.	Monsternamen	28
5.6.	Bepalingen	29
5.7.	Referentie-limieten	29
5.8.	Verdunningscorrectie	30
5.9.	Interpretatie	31
6.	Samenvatting	32

Literatuur	34
Appendix 1	40
Appendix 2	42
Appendix 3	44

## 1. *Inleiding*

Dit rapport behandelt de mogelijkheden en beperkingen van de detectie van effecten op de nieren ten gevolge van beroepsmatige blootstelling aan toxische stoffen.

Het constateren van nefrotoxische effecten is mogelijk door meting van stoffen die normaal in de matrices bloed en urine aanwezig zijn.

Voor deze stoffen worden de termen 'vroeg effectparameters voor de nieren' en 'vroeg effecten' gebruikt. 'Vroeg effectparameters voor de nieren' is een ruime omschrijving voor een verzameling van parameters die gemeen hebben dat ze worden gebruikt voor de detectie van effecten van toxische stoffen op de nieren. Deze parameters kunnen een beeld geven van het functioneren van de glomeruli en tubuli, zoals het vrijkomen van eiwitten en enzymen bij schade aan de tubulicellen of aanwijzingen geven voor immunologische processen of veranderingen in biochemische processen. De term 'vroeg' heeft een tweeledige betekenis: de parameters worden toegepast voor de vroegtijdige detectie van veranderingen in de nieren en deze veranderingen komen voor in een vroeg stadium van het ziekteverloop. De meeste parameters zijn ook geschikt voor de detectie van klinische effecten en enkele van de hier besproken vroeg-effectparameters (albumine in urine,  $\beta_2$ -microglobuline in serum) worden ook in klinisch-diagnostisch onderzoek toegepast.

In de bedrijfsgezondheidszorg worden in het onderzoek gebruik gemaakt van verschillende meetmethoden voor het vaststellen van blootstelling, dosis, en effect. De blootstelling aan een toxische stof wordt gemeten met environmental monitoring (EM) of met personal air monitoring (PM). De opgenomen dosis van een toxische stof wordt vastgesteld met biological monitoring (BM). De effecten van toxische stoffen worden bepaald door het uitvoeren van biological effect monitoring (BEM), of health surveillance (HS, in het nederlands gezondheidsbewaking) (Zielhuis en Henderson, 1986). De meting van vroeg effectparameters behoort tot de laatste twee categorieën, BEM en HS.

In dit rapport worden de termen vroeg effectparameters en vroeg effecten gebruikt.

In hoofdstuk 2 wordt een kort overzicht gegeven van de structuur en de werking van de nieren. Hoofdstuk 3 behandelt verschillende aspecten van nefrotoxiciteit in humane populaties, zoals etiologie, mechanismen, detectiemethoden en gezondheidsrelevantie. In hoofdstuk 4 worden geneesmiddelen en andere chemische stoffen besproken welke nefrotoxische effecten bij de mens kunnen veroorzaken. In hoofdstuk 5 worden adviezen gegeven voor het bepalen van vroeg effecten op

de nieren bij beroepsmatig blootgestelde personen.

## 2. *Structuur en functie van de nier*

De structuur en functie van de nier worden slechts kort weergegeven: met name die aspecten worden belicht die te doen hebben met de werking van toxische stoffen of metabolieten.

De nier is morfologisch onder te verdelen in drie regionen, de cortex, de medulla en pelvis. De functionele eenheid van de nier is de nefron; elke nier heeft circa 1 miljoen nefronen. De nefron is opgebouwd uit de glomerulus, de proximale tubulus, de lis van Henle en de distale tubulus (zie figuur 1). De nefronen komen uit in verzamelbuisjes, die op hun beurt samenkomen in het nierbekken. De glomeruli en de proximale en distale tubuli bevinden zich voornamelijk in de cortex. In de medulla bevinden zich de lis van Henle en de verzamelbuisjes.

De glomerulus, het eerste deel van het nefron, bestaat uit een netwerk van capillairen tussen een aanvoerende (afferente) en een afvoerende (efferente) arteriola. In de glomerulus wordt het arteriële bloed selectief gefiltreerd door de endotheliale cellen. De bloeddorstrooming in de nieren is 20 - 25% van het minuutvolume van het hart. Hiervan gaat 80-85% naar de cortex. Dagelijks wordt circa 180 L ultrafiltraat gevormd. Macromoleculen met een straal kleiner dan 1,8 nm (molecuulmassa tot circa 40 kilodalton (kDa) worden volledig doorgelaten, moleculen met een straal groter dan 4,5 nm (molecuulmassa vanaf circa 60 kDa) worden niet of nauwelijks doorgelaten. Door negatieve ladingen op de glomerulaire basaalmembraan (GBM) wordt de filtratie van negatief geladen macromoleculen bemoeilijkt en die van positief geladen macromoleculen bevordert. Eiwitten die de glomerulus volledig passeren zijn o.a.  $\beta_2$ -microglobuline ( $\beta_2M$ ) (11,8 kDa), retinol-bindend eiwit (RBP) (21 kDa),  $\alpha_1$ -microglobuline ( $\alpha_1M$ ) (31 kDa). Eiwitten die de glomerulus niet of nauwelijks passeren zijn o.a. albumine (ALB) (66 kDa) en transferrine (TRF) (79 kDa).

De proximale tubulus is van belang voor het handhaven van de homeostase. Circa 70% van het ultrafiltraat wordt hier geresorbeerd, Na, K, Ca, organische anionen en kationen, glucose en aminozuren door middel van een actief proces, water door middel van een passief proces. De proximale tubulus heeft mede een hoog resorberend vermogen door de vele microvilli op het lumenale oppervlak (brush-border-zone). Macromoleculen, waaronder eiwitten, worden geresorbeerd door middel van endocytose en afgebroken in de tubulaire lysosomen. Een aantal stoffen, o.a. creatinine en verschillende geneesmiddelen wordt vanuit de tubulus uitgescheiden. In de cellen van het nefron, met name in de tubulus, zijn verschil-

# LOCALISATIE PROCESSEN IN DE NIER-TUBULI

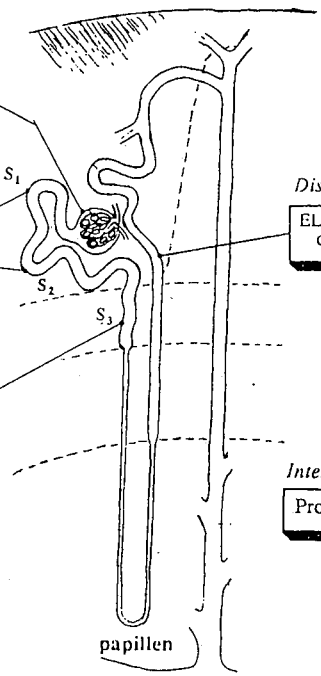
**DOORBLOEDING:**  
25% cardiale output  
= 1.2-1.3 ltr/min

**Glomerulus:**  
**ULTRA-FILTRATIE**  
MW 40.000-70.000 moeilijk  
MW > 70.000 niet  
125 ml/min = 180 ltr/dag

*Proximale tubulus - S<sub>1</sub> + S<sub>2</sub>*  
**REABSORPTIE:** Na<sup>+</sup>, glucose, aminozuren, eiwitten  
**SECRETIE:** organische cationen & anionen  
veel mitochondria  
actief endocytose-lysosomaal systeem

*Proximale tubulus - S<sub>3</sub>*  
**METABOLISME XENOBIOTICA**  
(Cytochroom P-450, B-Lyase e.a.)  
uitgebreid endoplasmatisch reticulum  
weinig mitochondria

*Lis van Henle*  
**Na<sup>+</sup> en Cl<sup>-</sup> reabsorptie**



*Distale tubulus:*  
**ELECTROLYT-HUISHOUDING**  
o.i.v. hormonen (o.a. ADH)

*Interstitium medulla*  
**Prostaglandin H synthetase**

Figuur 1. De nefronen

lende enzymen aanwezig. Tussen de verschillende delen van het nefron bestaan sterke verschillen in het voorkomen van deze enzymen (WHO, 1991).

In de lis van Henle wordt door middel van een tegenstroom-mechanisme de osmolaliteit van het ultrafiltraat geregeld. .

De distale tubulus speelt tevens een rol in de resorptie van ionen en water, echter dit gedeelte is van minder belang dan de proximale tubulus. Ook de mogelijkheid voor resorptie van eiwitten is zeer beperkt.

In het medullaire deel van het verzamelbuisje wordt de uiteindelijke concentratie van de urine bepaald. Uiteindelijk wordt dagelijks gemiddeld 1,5 L urine gevormd.

Naast de productie en uitscheiding van urine, de eliminatie van afvalprodukten en de regulatie van de zuur-base balans hebben de nieren ook endocriene functies (Brenner en Rector 1991).



## 3 *Nefrotoxiciteit*

### 3.1 *Inleiding*

Nefrotoxiciteit wordt gedefinieerd als de nieraandoening of de verstoorde nierfunctie die optreedt als direct of indirect gevolg van opname van geneesmiddelen, en/of blootstelling aan chemische stoffen tijdens de beroepsuitoefening of in het algemene milieu (WHO, 1991). De nefrotoxische stoffen kunnen aangrijpen op de verschillende anatomische onderdelen van de nier, zoals de cellen van de glomeruli, proximale en distale tubuli. De cellen van de proximale tubuli bezitten een sterk regenererend vermogen, de cellen van de glomeruli en het medullaire interstitium kunnen schade niet of nauwelijks herstellen. Nefrotoxiciteit is een dynamisch proces: afhankelijk van de aard en de frequentie van de schade kan compleet herstel, een daling in de functionele reserve of een progressief degeneratieve schade optreden.

### 3.2 *Etiologie*

Toxische nefropathie ten gevolge van beroepsmatige blootstelling aan nefrotoxische stoffen is een zeer weinig voorkomende diagnose. Het is aannemelijk dat toxische nefropathie vaak niet wordt onderkend. Bij de in 1985 en 1986 met dialyse startende patiënten in Europa en de landen rond de Middellandse Zee werden op een totaal van 43472 patiënten slechts drie gevallen van nefropathie ten gevolge van blootstelling aan chemische stoffen (lood en ethyleenglycol) geconstateerd (Wing et al, 1989). De meest voorkomende toxische nefropathie is de analgetische nefropathie (2.4%). Het vermoeden dat het aantal toxische nefropathieën onderschat wordt (Dieperink, 1989) kan worden onderbouwd met de volgende argumenten:

- het aantal chronische nierinsufficiënties met onbekende etiologie bedroeg in 1984 circa 50% (Dieperink, 1989);
- er zijn steeds meer aanwijzingen dat blootstelling aan stoffen kunnen leiden tot nierinsufficiënties.
- veel mensen worden beroepsmatig blootgesteld aan stoffen met een nefrotoxische werking. In de jaren 70 werden in de VS naar schatting bijna 4 miljoen werknemers beroepsmatig blootgesteld aan potentieel toxische stoffen (Landrigan, 1984);
- chronische nierinsufficiëntie is langdurig proces: de meeste geneesmiddelen en chemicaliën hebben een korte halfwaardetijd in het lichaam en zijn uit het lichaam verdwenen op het moment dat de aandoening zich

- openbaar;
- gedetailleerde informatie over blootstelling aan toxische stoffen in het verleden ontbreekt in de praktijk bijna altijd;
  - Er is een gebrek aan uniformiteit in klinische en pathologische diagnose van chronische nierinsufficiëntie (Sandler, 1987)

### 3.3. *Gevoeligheid van de nier.*

De gevoeligheid van de nier voor toxische effecten hangt samen met een aantal specifieke eigenschappen van de nier. De nier ontvangt een hoge bloedstroom, circa 20-25% van het minuutvolume van het hart. Door actieve of passieve concentratie-mechanismen kunnen de concentraties van xenobiotica toxische waarden bereiken. In de proximale tubuli gebeurt dit door endocytose van macromoleculen of het actieve transport van organische ionen. In de distale tubuli wordt eenzelfde effect veroorzaakt door passieve concentratie van de urine. In de cellen van het S3-segment van de proximale tubulus zijn relatief grote hoeveelheden cytochroom P-450 en het cysteïne conjugaat  $\beta$ -lyase aanwezig. Stoffen die weinig toxisch zijn, kunnen door bio-activatie door de genoemde enzymen omgezet worden in sterk toxische intermediären. De cellen in de medulla zijn kwetsbaar voor bepaalde xenobiotica door de aanwezigheid van prostaglandine-H-synthetase in combinatie met een lage concentratie glutathion. De cellen in de proximale tubulus hebben een relatief hoge energiebehoefte en zijn voor de energievoorziening volledig afhankelijk van de mitochondriale ademhaling. Beschadiging van de mitochondriën, met name in het S3-segment, leidt hierdoor sneller tot celdood.

### 3.4. *Classificatie van nefrotoxische aandoeningen*

Nefrotoxische aandoeningen zijn door de WHO (1987) op basis van de lokatie van de aandoening geïnclassificeerd (zie Tabel 1). Er wordt onderscheid gemaakt in glomerulaire en tubulo-interstitiële aandoeningen die door immunologische of directe toxische mechanismen veroorzaakt worden.

Tabel 1. Classificatie van nefrotoxische aandoeningen

- 
1. glomerulaire aandoeningen
    - immunologische gemedieerde glomerulaire aandoeningen
      1. anti-GBM gemedieerde glomerulonefritis
      2. membraneuze glomerulonefritis
      3. cel-gemedieerde glomerulonefritis
    - directe glomerulaire toxiciteit
  
  2. tubulo-interstitiële aandoeningen
    - acute interstitiële nefritis
    - acute tubulaire toxiciteit
    - chronische interstitiële nefritis

### 3.4.1. Glomerulaire aandoeningen

Immunologische mechanismen zijn de voornaamste oorzaak voor de meeste vormen van glomerulonefritis en een aanzienlijk deel van de tubulo-interstitiële aandoeningen. Drie mechanismen worden onderscheiden:

1. Antilichamen binden met een op de glomerulaire basaalmembraan (GBM) of de tubulaire basaalmembraan (TBM) aanwezig antigeen. Dit kan een structureel antigeen zijn of een niet-glomerulair antigeen, bijvoorbeeld een positief geladen eiwit dat gebonden is aan de negatief geladen GBM. De reactie van het antilichaam met het antigeen leidt tot immuundepositie, mediator activatie en vervolgens non-selectieve schade aan het nabijgelegen weefsel.
2. Antilichamen vormen immuun-complexen met in het bloed opgeloste antigenen. De immuun-complexen slaan neer in de glomeruli, op de GBM, de TBM of in het interstitieel weefsel.
3. Cel-gemedieerde beschadiging. Volgens dit mechanisme dringen macrofagen (leukocyten of monocyten) de glomerulaire cellen binnen en veroorzaken een lokale ontstekings-reactie en celschade.

Anti-GBM glomerulonefritis wordt veroorzaakt volgens het eerste mechanisme en wordt gekarakteriseerd door de aanwezigheid van lineaire IgG-depositie op de GBM. Een aandoening die in verband wordt gebracht met blootstelling aan organische oplosmiddelen is het Goodpastures syndroom. Dit is een anti-basaalmembraan-autoimmuun ziekte in de nierglomeruli en longalveoli met glomerulonefritis, anemie en hemosiderose van de longen.

Membraneuze glomerulonefritis kan zowel door depositie van vrij circulerende

antilichamen op een glomerulair antigeen als door depositie van circulerende immuun complexen veroorzaakt worden. De IgG-depositie op de GBM is granulaair. O.a. kwik, goud en D-penicillamine kunnen membraneuze glomerulonefritis veroorzaken.

Bij cel-gemedieerde glomerulonefritis is de IgG-depositie afwezig. Een voorbeeld van cel-gemedieerde glomerulonefritis is het nefrotisch syndroom met minimale glomerulaire veranderingen.

Directe glomerulaire toxiciteit is relatief zeldzaam; het is beschreven voor stoffen zoals goud en kristallijn SiO<sub>2</sub> waarvan deeltjes in de cellen gedeponeerd kunnen worden. (Burkholder, 1982) De depositie wordt gevolgd door proliferatie van glomerulaire cellen en een ontstekings-reactie. Een tweede mechanisme is de depositie van fibrine als gevolg van een activatie door een toxische stof van de lokale coagulatie. De fibrine kan de glomeruli beschadigen door afsluiting van de glomerulaire capillairen, of door directe toxiciteit voor glomerulaire cellen (Kanfer, 1989).

### 3.4.2. *Tubulo-interstitiële aandoeningen*

Acute interstitiële nefritis is een immuno-allergische of cel-gemedieerde immuunrespons op toxische stoffen (o.a. kwik). De symptomen zijn gezwollen nieren door oedeem, proteïnurie en hematurie. Schade aan de tubuluscellen is altijd aanwezig. Acute tubulaire toxiciteit is schade aan de epitheelcellen van de proximale tubulus. Dit kan variëren van kleine, cellulaire en functionele veranderingen tot necrose van de tubulaire cellen bij hogere blootstelling. Functionele en cellulaire veranderingen zijn proteïnurie, enzymurie, glucosurie, amino acidurie, verlies van concentrerend vermogen en verlies van het vermogen tot instandhouding van de water en electrolyten balans. Van veel stoffen is bekend dat ze effecten op de proximale tubuli kunnen veroorzaken (zie hoofdstuk 4). Persistente tubulaire toxiciteit kan leiden tot een chronische interstitiële nefropathie.

Chronische interstitiële nefritis wordt gekenmerkt door progressieve fibrose van het interstitiële weefsel, tubulaire atrofie, daling van het aantal functionele nefronen en uiteindelijk een daling van de glomerulaire filtratiesnelheid.

## 3.5. *Klinische nierfunctiemetingen*

De belangrijkste klinische nierfunctiemetingen zijn de bepaling van de glomerulaire filtratiesnelheid (GFR), en de eiwit-uitscheiding in urine (totaal eiwit).

Daarnaast is er een aantal analyses van de urine mogelijk o.a. de meting van de specifieke dichtheid, de zuurgraad en beoordeling van het urine sediment, welke uitgebreid beschreven worden door Levey et al, (1991). De gevoeligheid van deze tests is te laag voor het aantonen van nefrotoxische effecten.

De GFR is een maat voor het aantal functionerende nefronen. De GFR wordt meestal bepaald door het meten van een klaring, dit is de hoeveelheid vloeistof uit welke in een bepaalde periode een bepaalde stof wordt gefiltreerd. Deze stof dient volledig gefiltreerd te worden in de glomeruli en in de tubuli niet omgezet, geresorbeerd, uitgescheiden of aangemaakt te worden.

De gouden standaard voor de bepaling van de GFR is de bepaling van de inulineklaring. Inuline is een fructose- polysaccharide dat volledig gefiltreerd wordt, en niet geresorbeerd, uitgescheiden of gemetaboliseerd wordt. De inulineklaring heeft als nadelen dat de meting arbeidsintensief is — fructose dient via een infuus in het plasma gebracht te worden — en dat de bepaling van fructose niet eenvoudig is. De methode wordt in de klinische praktijk niet routinematig toegepast en is niet geschikt voor de bedrijfsgezondheidszorg. De meest gebruikte methode voor de bepaling van de GFR in de kliniek is de creatinineklaring. Deze bepaling heeft als nadeel dat de concentratie van creatinine in serum stijgt na de consumptie van gebakken/gebraden vlees. Daarnaast wordt creatinine actief in de tubuli uitgescheiden en daardoor overschat de creatinineklaring de werkelijke GFR met 10 - 40%. Dit kan onderdrukt worden door de toediening van cimetidine (van Acker, 1994).

In de bedrijfsgezondheidszorg is de betrouwbare verzameling van 24-uurs urine niet eenvoudig te verwezenlijken en daarom wordt meestal de concentratie van creatinine in serum gebruikt als maat voor de GFR. Creatinine in serum heeft ten aanzien van de inulineklaring een specificiteit van 97.5% en een sensitiviteit van 60% (Levey et al, 1991). De hoge specificiteit betekent dat een hoog-percentage van de personen met een normale GFR terecht als niet-ziek wordt geclassificeerd. De lage sensitiviteit betekent dat 40 % van de gevallen met een verlaagde GFR als niet-ziek wordt geclassificeerd met de bepaling van creatinine in serum. Deze test heeft dus een lage 'gevoeligheid' in het herkennen van gevallen met een verlaagde GFR.

In het algemeen geldt voor al deze metingen dat ze slechts bij ernstige schade aan de nieren of verminderde nierfunctie verhoogd zijn. Om vroege effecten van toxische stoffen op de nieren te detecteren, zijn gevoeliger methoden nodig.

De bepaling van totaal eiwit in urine is een veel gebruikte parameter voor het

aantonen van een verstoorde nierfunctie. Normale urine bevat onder normale omstandigheden minder dan 150 mg per dag, oftewel 100-150 mg/L. Bij een nefrotisch syndroom is de eiwit-uitscheiding hoger dan 3,5 g/dag. Met de totaal eiwit bepaling kan geen onderscheid worden gemaakt in glomerulaire of tubulaire functie-stoornissen. Voor een uitgebreide beschrijving zie Levey et al, 1991.

### 3.6. *Vroege effecten op de nieren*

In hoofdstuk 3.4. is een overzicht gegeven van de belangrijkste mechanismen voor nefrotoxiciteit. De gevolgen van nefrotoxiciteit kunnen zich openbaren op verschillende manieren, afhankelijk van de lokatie, de ernst en de duur van de schade. De volgende processen spelen zich af tijdens en na een beschadiging van het nierweefsel (zie ook 3.8).

Tijdens de acute fase van de celbeschadiging komen materialen uit de cellen vrij en worden de normale functies van de nieren verstoord. In de daaropvolgende reparatiefase is er een functionele aanpassing in de beschadigde en onbeschadigde regionen waardoor het functieverlies gecompenseerd wordt. Na reparatie of vervanging van de beschadigde cellen worden de functies hersteld, afhankelijk van de overgebleven reservecapaciteit. Onder bepaalde, nog niet opgehelderde omstandigheden, is de beschadiging dusdanig dat een verlies aan functionele reserve samengaat met een geleidelijke degeneratieve cascade van weefselverlies. Dit kan uiteindelijk leiden tot een nierinsufficiëntie. (Bach, 1989).

Nefrotoxische effecten kunnen in verschillende (functionele) delen van de nier optreden. De vroegtijdig optredende effecten zijn onder te verdelen in verschillende vormen van proteïnurie, enzymurie, aanwezigheid van antigenen of antilichamen, veranderingen in de bloedparameters, en andere effecten (zie Tabel 2)

Tabel 2. Testen om vroege effecten op de nieren vast te stellen

#### GLOMERULI

- Proteïnurie van eiwitten met een hoog-moleculaire massa (HMM)
- Circulerende anti-glomerulaire basaalmembraan antilichamen
- verhoogde concentratie  $\beta_2$ -microglobuline in serum
- Bepaling van rode bloedcellen- en bloedplaatjes-membranen met negatieve lading
- Microscopie van urine
- Glomerulaire reserve-filtreercapaciteit
- Lichaamsoefeningen en albuminurie

#### TUBULI

- Proteïnurie van eiwitten met een laag moleculaire massa (LMM)
- Enzymurie
- Tubulaire antigenen
- Uitscheiding van kallikreïne en prostaglandines
- Andere effecten

### 3.6.1. *HMM-proteïnurie*

Een glomerulaire proteïnurie wordt gekarakteriseerd door een verhoogde concentraties in de urine van eiwitten met een hoog-moleculaire massa (HMM), zoals bijvoorbeeld albumine (68 kDa), transferrine (79 kDa), of IgG (160 kDa). Deze eiwitten worden onder normale omstandigheden niet of nauwelijks gefilterd door de glomeruli. De selectiviteit van de glomerulaire filtratie is gebaseerd op grootte en lading. Verhoogde concentraties in de urine kunnen verschillende oorzaken hebben. Door schade aan de structuur van de glomerulaire capillairwand worden HMM-eiwitten in verhoogde mate doorgelaten. Verlies van negatieve lading op de GBM kan resulteren in een verhoogde uitscheiding van negatief geladen HMM-eiwitten zoals albumine. Bij chronische nieraandoeningen na verlies van functioneel nierweefsel kan de glomerulaire hydrostatische druk verhoogd zijn. Een

verhoogde glomerulaire hydrostatische druk kan tevens de uitscheiding van HMM-eiwitten verhogen. Een vergelijkbare verhoogde uitscheiding van albumine (ALB) wordt ook waargenomen bij patiënten met hypertensie (Kaplan, 1992). ALB is de meest gebruikte parameter in onderzoek naar werk-gerelateerde aandoeningen van de nier.

HMM-eiwitten kunnen ook door andere factoren in verhoogde mate uitgescheiden worden. Bij orthostatische proteïnurie is de uitscheiding van HMM-eiwitten afhankelijk van de lichaamshouding. Na liggen, bijvoorbeeld na slapen, is de uitscheiding van HMM-eiwitten normaal. Na enige tijd staan of lopen wordt een persistent verhoogde uitscheiding van HMM-eiwitten (meestal niet meer dan 2 g eiwitten) aangetroffen in personen met orthostatische proteïnurie. Ook in gezonde personen is een lichte vorm van orthostatische proteïnurie aanwezig: De concentratie van ALB is in ochtendurine lager dan in overdag verzamelde spot-urines.

Na zware lichamelijke inspanning, bijvoorbeeld bij sporten of zwaar lichamenlijk werk, is de uitscheiding van HMM-eiwitten verhoogd door een grotere gefiltreerde fractie. Bij patiënten met diabetes mellitus is albuminurie frequent aanwezig. Er zijn ook aanwijzingen dat een verhoogde uitscheiding van albumine veroorzaakt kan worden door veranderingen in de lading van dit eiwit (Ghiggheri et al, 1985).

### 3.6.2. $\beta_2$ -microglobuline in serum ( $\beta_2$ MS)

$\beta_2$ -microglobuline ( $\beta_2$ M) wordt volledig gefilterd en in de proximale tubulus geresorbeerd. Een verhoogde  $\beta_2$ MS is waarschijnlijk een goede maat voor een daling in de GFR.  $\beta_2$ MS is omgekeerd lineair evenredig aan de inulineklaring (Wibell, 1973).  $\beta_2$ MS kan echter bij een normale GFR ook verhoogd zijn ten gevolge een verhoogde aanmaak van  $\beta_2$ M. Dit komt voor bij verschillende aandoeningen, zoals auto-immuun en immuun-systeemziektes (Schardijn 1986; Doelman en Miedema, 1994).

### 3.6.3. Overige glomerulaire parameters

Naast de bovengenoemde parameters wordt er onderzoek gedaan naar nieuwe parameters die mogelijk geschikt zijn om vroege effecten op de glomeruli te detecteren. Het onderzoek richt zich met name op immunologische componenten van de GBM of antilichamen tegen componenten van de GBM. Het betreft de volgende parameters: anti-laminine antilichamen (Bernard et al, 1987), GBM-



antigenen in serum (Högenmann et al, 1986), anti-GBM antilichamen in serum, bepaling van rode bloedcellen- en bloedplaatjes-membranen met negatieve lading, microscopie van urine, en glomerulaire reserve-filtreercapaciteit.

De validiteit van deze parameters is echter nog onvoldoende onderzocht of de methodes zijn te arbeidsintensief om routinematig toegepast te kunnen worden..

### 3.6.4. LMM-proteïnurie

Tubulaire proteïnurie ten gevolge van een nefrotoxische effect komt voor in twee verschillende vormen. Als de resorptie van eiwitten in de proximale tubuli verstoord is, worden eiwitten met een lage moleculaire massa (LMM) in verhoogde concentraties in de urine aangetroffen. Bekende voorbeelden hiervan zijn  $\beta_2$ -microglobuline (11,8 kDa), retinol-bindend eiwit (21.4 kDa) en  $\alpha_1$ -microglobuline (circa 31 kDa). Ook HMM-eiwitten, met name albumine kunnen in dit proces in enigszins verhoogde hoeveelheden uitgescheiden worden (Lauwerys en Bernard, 1989).

Een tweede vorm van tubulaire proteïnurie komt voor bij beschadiging van tubulaire cellen. Hierbij komen met name bepaalde HMM-eiwitten vrij die onderdeel zijn van de tubulaire cellen (bijvoorbeeld Tamm-Horsfall glycoproteïne) of eiwitten die accumuleren in de tubulaire cellen (bijvoorbeeld ferritine).

Tubulaire proteïnurie komt ook voor ten gevolge van competitie in het resorptieproces in de proximale tubuli. Geneesmiddelen, bijvoorbeeld gentamicine, worden op dezelfde wijze als LMM-eiwitten geresorbeerd in de proximale tubuli. Competitie om dezelfde bindingsplekken op de tubulaire membraan kan hierdoor leiden tot een verlaagde resorptie van LMM-eiwitten.

Een tweede vorm van tubulaire proteïnurie is de zogenaamde overflow-proteïnurie. Deze vorm treedt op bij een verhoogde aanwezigheid van LMM-eiwitten in het bloed. Deze eiwitten worden door de glomeruli gefiltreerd. Bij verhoogde concentraties in het ultrafiltraat raakt de resorptie verzadigd wat resulteert in verhoogde concentraties van LMM-eiwitten in de urine.

### 3.6.5. Enzymurie en overige tubulaire parameters

Bij schade aan de cellen van de proximale tubuli komen de in de cellen aanwezige enzymen in het tubulaire lumen en uiteindelijk in de urine. Een aantal van deze enzymen zijn N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG),  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ GAL), alanine aminopeptidase (AAP),  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGT), trehalase (TRE), en lactaat dehydrogenase (LDH). Deze enzymen komen ook in het bloed voor, maar worden door hun hoge moleculaire massa niet door de glomeruli gefiltreerd. De enzymen zijn niet uniform verdeeld over de proximale tubuli. Alhoewel het in

theorie mogelijk zou zijn om op grond van het enzympatroon de lokalisatie van de schade in de proximale tubuli te bepalen, blijkt dit in de praktijk bij de genoemde enzymen niet haalbaar. Het isoenzym van alkalische fosfatase (IALP), dat op grond van zijn eerst ontdekte lokalisatie het intestinale type wordt genoemd, komt ook in de urine voor en is dan afkomstig uit de tubuli (Nuyts et al, 1992).

Andere parameters die in de literatuur als geschikt worden beschreven voor de vroegtijdige detectie van effecten op de tubuli zijn: adenosine-deaminase-bindend eiwit, een eiwit uit de cellen van de proximale tubuli (Thompson et al, 1985), brush-border-antigenen BBA, BB50 en HF5 (Mutti et al, 1985), en andere biochemische parameters (Cardenas et al, 1993), en uitscheiding van kallikreïne en prostaglandines.

### 3.7. *Risicofactoren*

Porter (1989) bespreekt een aantal risicofactoren die voorkomen bij patiënten met een acute nierinsufficiëntie. Deze factoren zijn: leeftijd hoger dan 59 jaar, hypertensie, pre-existerende nieraandoening en gebruik van diuretica, de aanwezigheid van jicht, diabetes, leveraandoeningen, vasculitis en systemische lupus erythematosus. Er is geen stelselmatig onderzoek gedaan naar de risicofactoren voor het ontstaan van chronische nieraandoeningen.

Factoren die bijdragen aan de ontwikkeling van een chronische insufficiëntie tot een terminale nierinsufficiëntie zijn: de aard van de nieraandoening, de bloeddruk, de aanwezigheid van proteïnurie, verstoring van de lipide-profielen in bloed, en stollings-afwijkingen (Schaap en Bilo, 1994).

Over de risico's van beroepsmatige blootstelling aan een aantal nefrotoxische stoffen tegelijkertijd of de mogelijkheid van synergistische effecten bij het gebruik van geneesmiddelen met nefrotoxische bijwerkingen zijn geen gegevens beschikbaar.

### 3.8. *Regeneratie en hyperfiltratie*

Een nefrotoxisch effect op de nieren kan afhankelijk van de aard en de locatie van de schade verschillende gevolgen hebben. Bij onherstelbare beschadiging van essentiële delen van het nefron, bv glomerulus, proximale of distale tubulus, stopt het gehele nefron met functioneren. Bij een minder zware beschadiging van bepaalde delen van het nefron is herstel mogelijk. Met name de proximale tubuli, de verzamelbuisjes, en het epitheel van de nierbekkens, urineleiders en blaas hebben een sterk regenererend vermogen. Epitheelcellen die ten gevolge van een toxische stof onherstelbaar beschadigd zijn, worden vervangen door nieuwe

epitheelcellen. In de glomeruli en het medullair interstitieel weefsel is het vermogen tot regeneratie beperkt. (Bach, 1989) Er wordt aangenomen dat het vermogen tot regeneratie na het vijftigste levensjaar snel afneemt.

Naast regeneratie van cellen is bij verlies van functionerende nefronen compensatie mogelijk. Deze theorie, ook wel 'hyperfiltratie-beschadiging' genoemd, is ontwikkeld door Hostetter et al (1982). Zij toonden aan dat na onherstelbare beschadiging van een nefron de overige nefronen hypertrofiëren. Hierbij veroorzaakt de verhoogde glomerulaire hydrostatische druk een verhoogde filtratiesnelheid per nefron. Dit proces leidt tot een compensatie van het verlies aan glomerulaire filtratie; verlies aan weefsel veroorzaakt niet direct een verlies aan functie. Echter, naarmate meer nefronen verloren gaan kan zich in de resterende nefronen een glomerulaire hypertensie ontwikkelen, die uiteindelijk een pathologische glomerulosclerose kan veroorzaken. Deze processen zijn schematisch weergegeven in figuur 2. Het uiteindelijke mechanisme dat de progressieve degeneratieve ontwikkeling veroorzaakt, is echter nog onbekend.

Een analoge vorm van aanpassing van de glomerulaire filtratiesnelheid wordt waargenomen bij toediening van een stimulus in de vorm van eiwitten of aminozuren. Volgens een nog niet opgehelderd mechanisme worden de glomerulaire bloedflow en de glomerulaire filtratiesnelheid verhoogd na toediening van de stimulus. Het verschil tussen de basaalwaarde en de maximumwaarde van de glomerulaire filtratiesnelheid wordt de reservecapaciteit van de nier genoemd. (Friedlander et al, 1989). Het is nog onduidelijk in hoeverre de reservecapaciteit, gemeten na toediening van eiwitten of aminozuren, overeenkomt met het vermogen tot compensatie door middel van hypertrofie.

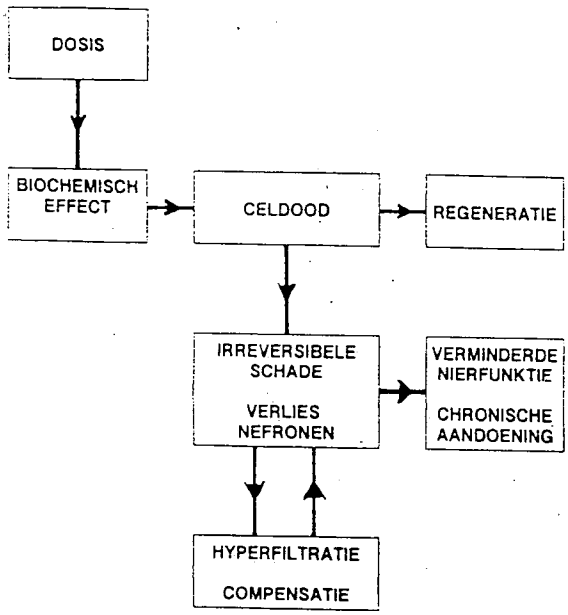
Samengevat kan een nefrotoxisch effect de volgende drie gevolgen hebben:

- a.       reversibele beschadiging gevolgd door volledige regeneratie van het weefsel en herstel van de functie
- b.       een irreversibele beschadiging zonder progressieve degeneratie en functieverlies
- c.       een irreversibele beschadiging en de ontwikkeling van een progressieve degeneratieve nieraandoening, ook na beëindiging van de blootstelling.

### *3.9.    Voorspellende waarde en gezondheidsrelevantie*

Er zijn enkele onderzoeken uitgevoerd die enige informatie geven over de voorspellende waarde van vroege effectparameters voor de ontwikkeling van de nierfunctie op langere termijn.

Roels et al (1989) volgden 23 werknemers die gemiddeld 25 jaar blootgesteld waren aan cadmium. De werknemers waren op grond van tubulaire proteinurie



Figuur 2. Schematisch overzicht van regeneratie en hyperfiltratie

( $\beta_2$ M of RBP > 300  $\mu\text{g/L}$ ) of gemengde proteïnurie (ook ALB > 20 mg/L) gemiddeld 6 jaar verwijderd van de werkplek met de cadmium-blootstelling. Hierbij was de gemiddelde cadmium-in-urine waarde 22.2  $\mu\text{g/L}$ . Bij deze werknemers bleek, 11 jaar na verwijdering van de werkplek met cadmium-blootstelling, de cadmium-in-urine waarden nog 70% van de aanvankelijke waarde te bedragen; RBP, ALB en TP waren echter 110% van de aanvankelijke waarden (TP na 11 jaar 293 mg/L). De proteïnurie was dus irreversibel. Tevens werd een stijging in creatinine en  $\beta_2$ M waarden in serum gevonden, die duiden op een daling van de glomerulaire filtratiesnelheid. De daling was circa vijf maal zo hoog als verwacht kon worden op grond van leeftijd.

Elinder et al (1985) volgde 19 werknemers die 4 tot 24 jaar waren blootgesteld aan cadmium. Vijf jaar na beëindiging van de blootstelling was de cadmiumuitscheiding bij 14 van de 19 werknemers gedaald. De tubulaire functie, gemeten met de  $\beta_2$ M uitscheiding, verslechterde in dezelfde periode in 18 van de 19 werknemers. Acht patiënten, behandeld met het cytostaticum cis-platina, vertoonden een acuut effect op de proximale tubuli en de glomeruli in de vorm van verhoogde uitscheiding van enzymen en LMM- en HMM-eiwitten. De concentratie van creatinine in serum na behandeling kon voor 88% verklaard worden door de totale uitscheiding van RBP in de eerste vier dagen na toediening van het cytostaticum tezamen met de concentratie van creatinine in serum voor behandeling (Verplanke et al, 1994).

Recent is onderzoek gedaan naar de voorspellende waarde van de parameter  $\beta_2$ M voor het optreden van sterfte ten gevolge van Balkan-endemische nefropathie (BEN). Deze aandoening komt frequent voor in bepaalde plaatsen in Bulgarije, Roemenië en voormalig Joegoslavië. De etiologische factor is nog onbekend, al worden wel bepaalde stoffen, zoals het mycotoxine ochratoxine A en kristallijn  $\text{SiO}_2$  genoemd. Een enkelvoudige test voor  $\beta_2$ M in urine (afkappunt 1,2 mg/L) had een sensitiviteit van 89.5% en een specificiteit van 78.3% voor sterfte aan BEN binnen 15 jaar (Radovanovic et al, 1991).

De sensitiviteit van een test geeft aan welk percentage van de geteste personen als terecht ziek wordt geclassificeerd; de specificiteit is het percentage van de geteste personen dat terecht als niet-ziek wordt geclassificeerd. De sensitiviteit en specificiteit van een test zijn afhankelijk van het afkappunt dat als norm voor ziek of niet-ziek wordt gekozen. De sensitiviteit en de specificiteit bepalen tezamen met de prevalentie van een bepaalde aandoening in een populatie de voorspellende waarde van een test. De gegevens van het onderzoek van Radovanovic et al (1991) gelden niet zonder meer voor andere populaties, maar zijn afhankelijk van het gekozen afkappunt en de prevalentie van de aandoening. Afkappunten, gebaseerd

op waarden van effectparameters in gezonde personen zijn beduidend lager dan in het onderzoek van Radovanovic et al (1991) (zie paragraaf 5.7). Bovenstaande gegevens suggereren dat er een verband is tussen de aanwezigheid van verhoogde vroege effectparameters en het optreden van klinische effecten op langere termijn. De bewijsvoering is echter nog niet sterk en gedegen opgezet longitudinaal onderzoek lijkt noodzakelijk om de voorspellende waarde van vroege effectparameters ondubbelzinnig vast te stellen.

Verschillende auteurs (Mutti 1989; Lauwerys en Bernard, 1989) stellen dat bij de afkappunten die in het algemeen gehanteerd worden (zie paragraaf 5.7.), de vroege effectparameters een hoge sensitiviteit en een lage specificiteit bezitten. Dit lijkt een realistische beoordeling te zijn van de validiteit van deze parameters.

## 4. *Nefrotoxische stoffen.*

### 4.1. *Inleiding*

De belangrijkste groepen van nefrotoxische stoffen zijn metalen, organische oplosmiddelen en bestrijdingsmiddelen. De meeste van deze stoffen kunnen bij hoge blootstelling acute nierinsufficiënties veroorzaken, maar dusdanig hoge blootstellingen worden in beroepssituaties tegenwoordig slechts incidenteel aangetroffen. Bij de huidige beroepsmatige blootstelling aan nefrotoxische stoffen kunnen kleine effecten optreden, die pas na een langdurige blootstelling klinisch manifest worden. In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van de stoffen waarvan uit epidemiologisch onderzoek is gebleken dat ze bij beroepsmatige blootstelling nefrotoxische effecten kunnen veroorzaken. Deze stoffen en de stoffen die potentieel nefrotoxisch zijn, maar waarvan geen epidemiologische gegevens voorhanden zijn, staan in appendix 1.

Een aparte groep van nefrotoxische agentia zijn geneesmiddelen. Een lijst van de belangrijkste nefrotoxische geneesmiddelen staat in appendix 2. Geneesmiddelgebruik is een belangrijke oorzaak voor het optreden van vroege effecten op de nieren. Bij onderzoek naar effecten van beroepsmatige blootstelling aan chemische stoffen dient rekening gehouden te worden met het geneesmiddelgebruik van de deelnemers.

Beroepsmatige blootstelling aan geneesmiddelen kan voorkomen bij productie, emballage, transport, opslag en toebereiding. De blootstellingsniveau's zijn in het algemeen factoren lager dan bij inname van het geneesmiddel.

## 4.2. *Nefrotoxische stoffen.*

### 4.2.1. *Lood*

Loodopname kan aanleiding geven tot acute en chronische nefrotoxische effecten. Hoge doses van lood kunnen acute tubulus necrose veroorzaken. Langdurige blootstelling aan lood kan leiden tot chronische interstitiële nefritis. Werknemers, blootgesteld aan hoge doses lood, hebben een verhoogd sterfterisico door chronische nierinsufficiëntie (WHO, 1991).

In de eerste fase van lood nefropathie komen in de proximale tubulus-cellen intranucleaire insluit-lichaampjes voor, bestaande uit een eiwit-lood complex en structurele veranderingen in de mitochondriën. Alleen bij een langdurige blootstelling aan hoge doses lood leidt de acute nefropathie tot chronische nierinsufficiëntie. Chronische blootstelling aan lood kan jicht veroorzaken door een verhoogde

resorptie van ureaat (Bennett 1985). Vroegtijdige detectie van nefrotoxische effecten van lood is problematisch. Tot voor kort werd aangenomen dat bij lood in bloed waarden lager dan 600 µg/L geen effecten voorkwamen. De laatste jaren is echter in verschillende studies aangetoond dat de uitscheiding van NAG, RBP en  $\alpha_1M$  ook bij lagere lood in bloed waarden verhoogd kan zijn (Meyer et al, 1984; Verschoor et al, 1987a; Endo et al, 1993; Cardenas et al 1993b). Effecten op de glomeruli zoals albuminurie zijn niet waargenomen.

#### 4.2.2. *Cadmium*

De nier is het kritische orgaan voor blootstelling aan cadmium. Cadmium heeft een zeer lange halfwaardetijd van 10 - 30 jaar in de nieren. Accumulatie van cadmium kan leiden tot een progressieve vorm van tubulo-interstitiële nefritis. De vroege effecten van cadmium zijn tubulaire proteïnurie ( $\beta_2M$ , RBP,  $\alpha_1M$ ) en enzymurie, met name NAG en AAP. Ook de glomerulaire functie kan aangetast worden door cadmium. Bij voortschrijdende cadmiumnefropathie zijn verhoogde uitscheiding van amino-zuren, glucose, calcium, urinezuur en een verlaagd concentrerend vermogen van de nieren mogelijk. In een groep arbeiders, blootgesteld aan cadmium, is door middel van een follow-up onderzoek vastgesteld dat cadmium de daling in glomerulaire filtratie snelheid met de leeftijd met een factor vijf versnelt (Roels et al, 1989). Tevens zijn er aanwijzingen dat de reservecapaciteit van de nieren wordt aangetast (Roels et al, 1991). In met cadmium verontreinigde gebieden in Japan komt de Itai-itai-ziekte voor die wordt gekenmerkt door proteïnurie, glucosurie en aminoacidurie. Effecten in de beroepsbevolking worden waargenomen vanaf cadmium-concentraties > 5 µg/g creatinine in urine (Verschoor et al, 1987b; Mueller et al 1989; Roels et al, 1993, van Sittert et al 1993)). Een uitgebreid overzicht van de effecten van cadmium is te vinden in een rapport van de WHO 1992.

#### 4.2.3. *Kwik*

Acute, hoge blootstelling aan anorganisch of metallisch kwik veroorzaakt acute tubulaire necrose. Chronische blootstelling aan metallisch kwik of kwik-(II)-chloride kan leiden tot chronische glomerulonefritis. Vroege effecten van beroepsmatige kwikblootstelling zijn glomerulaire en tubulaire proteïnurie, verhoogde uitscheiding van enzymen  $\beta$ GAL (Verschoor et al 1988a, NAG,  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase, en tubulaire antigenen (WHO, 1991; Cardenas et al 1993a). De resultaten van verschillende studies zijn niet ondubbelzinnig over mogelijke effecten van methylkwik op de proximale tubuli bij patiënten met de Minamata-



ziekte (WHO, 1991). Het fungicide fenyalkwik veroorzaakte reversibele schade aan de proximale tubuli bij kinderen (Gotelli et al, 1985). De effecten van anorganisch of metallisch kwik treden op vanaf circa 50 µg Hg/g creatinine in urine.

#### 4.2.4. *Chroom*

Oplosbaar Cr(VI) is verdacht nefrotoxisch. Acute tubulaire necrose kan veroorzaakt worden bij hoge blootstelling aan chromaat- en dichromaatzouten (Langard & Norseth, 1986). In verschillende onderzoeken zijn bij lassers blootgesteld aan chroom hoger dan 15 µg/g creatinine verhoogde uitscheiding gevonden van  $\beta_2$ M, RBP,  $\beta$ -glucuronidase, totaal eiwit en het BB-50 antigeen (Mutti et al, 1979; Lindberg & Vesterberg, 1983; Mutti et al, 1985). Dit is echter niet consistent (Verschoor, 1988b).

#### 4.2.5. *Andere anorganische stoffen*

Uranium kan schade en necrose in de proximale tubuli veroorzaken. Werknemers blootgesteld aan uranium hadden een verhoogde uitscheiding van  $\beta_2$ M en enzymen (Thun et al, 1985).

Werknemers in een nikkel-raffinaderij met nikkelconcentraties in urine > 100 µg/L hadden een verhoogde uitscheiding van  $\beta_2$ M (Sunderman en Horak 1981). Drie van de 32 werknemers van een vernikkel-bedrijf, die door een misverstand met nikkel verontreinigd water dronken, ontwikkelden een reversibele albuminurie. De concentraties nikkel in urine waren 150 - 1200 µg/g CREAT. (Sunderman 1988). Acute arseenvergiftiging kan leiden tot tubulaire necrose. Foa et al (1987) rapporteren een lichte stijging van RBP en trends voor ALB,  $\beta_2$ M en het tubulaire antigeen BB50 bij werknemers blootgesteld aan arseentrioxide.

Langdurige blootstelling aan kristallijn SiO<sub>2</sub> leidde tot een verhoging van ALB en  $\alpha_1$ M in een groep van 33 werknemers in granietmijnen (Ng et al, 1992).

#### 4.2.6. *Vluchtige koolwaterstoffen en gehalogeneerde koolwaterstoffen*

De noemer vluchtige koolwaterstoffen omvat een grote groep van alifatische, aromatische en gehalogeneerde koolwaterstoffen. Deze stoffen worden o.a. gebruikt als oplosmiddelen en monomeren voor de produktie van plastics. Er zijn aanwijzingen dat chronische blootstelling aan vluchtige koolwaterstoffen kan leiden tot bepaalde vormen van immunologisch gemedieerde glomerulonefritis. In acht van de tien case-control studies, (Roy et al, 1991; Porro et al, 1992) werd een verhoogd risico voor glomerulonefritis ten gevolge van blootstelling aan vluchtige

koolwaterstoffen gevonden. In transversale studies zijn vroege effecten op de nieren waargenomen bij werknemers blootgesteld aan tetrachlooretheen (Franchini et al, 1983; Vyskocil et al, 1990; Mutti et al, 1992), styreen (Askergren et al, 1981; Franchini et al, 1983; Lauwerys et al, 1985), toluen (Franchini et al, 1983; Ng et al, 1990) en mengsels van oplosmiddelen (Mutti et al, 1981; Viau et al, 1987; Hotz et al, 1989; Hotz et al, 1990; Zschiesche et al, 1990; Vyskocil et al, 1991; Hashimoto et al 1991; Rocskay et al, 1993; Yaqoob et al, 1993). De effecten zijn over het algemeen klein en worden zowel op de glomerulaire als de tubulaire functies waargenomen. Bij werknemers blootgesteld aan trichlooretheen, n-hexaan, terpentijn en methyl-ethylketon werden geen effecten waargenomen. Een versturende variabele zoals ploegenarbeid kan dan gaan overheersen (Boogaard et al, 1993). Van groot belang bij het optreden van vroege effecten bij deze groep van stoffen is, of er een verband is met een dosis- of blootstellingsindicator.

#### *4.2.7. Bestrijdingsmiddelen*

De herbicides paraquat en diquat zijn beide nefrotoxisch. Intoxicaties hebben in het verleden geleid tot acute nierinsufficiënties. Gegevens over chronische intoxicaties en vroege effecten zijn niet bekend. Het nematicide 1,3-dichloorpropeen is verdacht nefrotoxisch en hepatotoxisch. In drie recente studies zijn verhoogde waarden van NAG, RBP en ALB (Brouwer et al, 1991; Osterloh et al, 1989; Osterloh and Feldman, 1993) aangetroffen in urines van grondontsmetters.

## 5. *Vroege effectmetingen van de nieren in de bedrijfsgezondheidszorg*

### 5.1. *Inleiding*

In dit hoofdstuk wordt een aantal adviezen gegeven voor het uitvoeren van vroege effectmetingen. De adviezen zijn gebaseerd op de gegevens die voorhanden zijn betreffende de validiteit van vroege effectparameters.

Vroege effectmetingen zijn bruikbaar voor twee doelen.

In de eerste plaats kunnen vroege effectparameters gebruikt worden bij de beoordeling van de risico's op effecten op de nieren bij werknemers die blootgesteld zijn aan nefrotoxische stoffen. Algemeen aanvaarde strategieën voor het onderzoeken van toxicologische risico's in de bedrijfsgezondheidszorg gaan uit van vier fasen: risico-identificatie, risicobeoordeling, risicobeheersing en evaluatie (Stijkel, 1992). Het gebruik van vroege effectparameters hoort thuis in fase twee, de risicobeoordeling. Vroege effectparameters zijn een belangrijke aanvulling op de bestaande monitorings-technieken EM, PM en BM. Gezien de eigenschappen van de vroege effectparameters (zie hoofdstuk 3) is het niet zinvol om werknemers, zonder voorafgaande verzameling van kwantitatieve gegevens van de blootstelling, te screenen voor vroege effecten op de nieren.

Ten tweede kunnen vroege effectparameters gebruikt worden voor onderzoek met het doel epidemiologische informatie te verzamelen omtrent de nefrotoxiciteit van bepaalde stoffen.

### 5.2. *Doelgroepen*

Twee categorieën van werknemers komen in aanmerking voor het uitvoeren van vroege effectmetingen ten bate van de risico-evaluatie:

1. werknemers met een bekende blootstelling aan nefrotoxische stoffen)
2. werknemers met een moeilijk te kwantificeren blootstelling aan een aantal nefrotoxische stoffen.

De keuze voor het uitvoeren van vroege effectmetingen bij groepen van werknemers in de eerste categorie hangt af van een aantal factoren zoals:

- de nefrotoxiciteit van de stoffen) waaraan de werknemers is (zijn) blootgesteld,
- hoogte, duur en frequentie van de blootstelling,
- de halfwaardetijd van de nefrotoxische stof in het lichaam of doelorgaan

Ad 1 Voor groepen werknemers die beroepsmatig blootgesteld worden aan nefrotoxische stoffen dient in de eerste plaats onderzocht te worden wat de

hoogte, duur en de frequentie van de blootstelling is. Hoewel voor veel stoffen geen gegevens over het no-effect level voorhanden zijn, zou — in analogie met de door de Arbeidsinspectie gehanteerde actiegrens — het uitgangspunt kunnen zijn om vanaf een blootstelling hoger dan  $0.2 \times \text{MAC}$ -waarde vroege effectmetingen te overwegen.

De halfwaardetijd van de nefrotoxische stof in combinatie met de duur, hoogte en frequentie van blootstelling bepalen of een stof accumuleert in het lichaam of doelorgaan. Met name bij blootstelling aan cadmium en lood dient men rekening te houden met accumulatie.

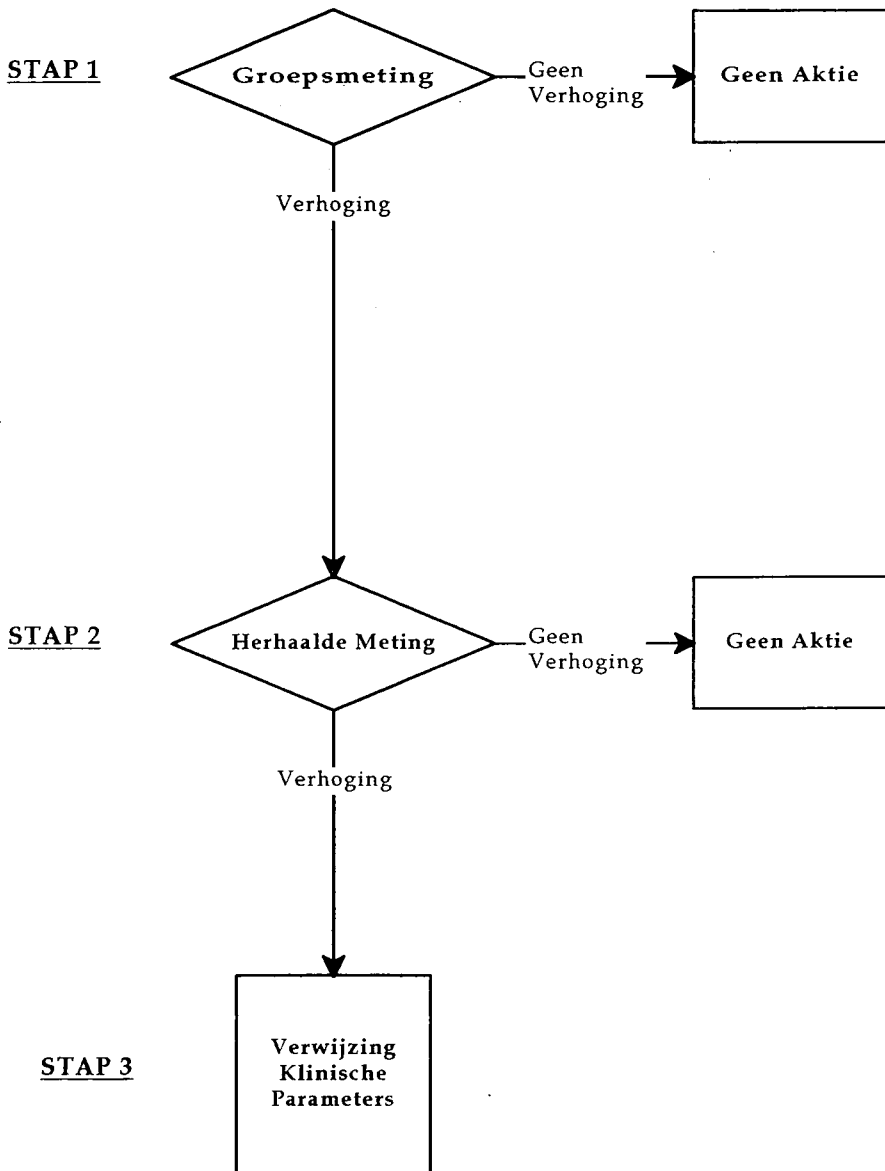
Ad 2 De tweede categorie werknemers die in aanmerking komen voor vroege effectmetingen zijn werknemers die zijn blootgesteld aan diverse nefrotoxische stoffen en waarbij de risico-evaluatie op grond van het meten van de blootstelling of doses aan deze stoffen niet mogelijk is. Hierbij geldt wel dat geen van de vroege effectparameters agens-specifiek is. Het oorzakelijke agens kan bij gelijktijdige blootstelling aan verschillende nefrotoxische stoffen niet achterhaald worden. Vroege effectparameters kunnen in dit geval op groepsniveau aanwijzingen geven voor de aanwezigheid van veranderingen in de werking van de nieren ten gevolge van werk-gebonden factoren (signaal-functie).

### 5.3. Strategie

Nadat is vastgesteld dat een groep werknemers mogelijk een verhoogd risico heeft voor nefrotoxische effecten ten gevolge van blootstelling aan toxische stoffen (dus behoort tot één van de doelgroepen genoemd bij 5.2) kunnen effectmetingen uitgevoerd worden.

In deze paragraaf wordt een onderzoek voorgesteld in drie stappen (zie Figuur3). De eerste stap is een gericht onderzoek naar vroege effecten op de nieren in de groep van blootgestelde werknemers. De vroege effect-parameters kunnen vergeleken worden met de waarden in een gematchte controlegroep of met referentie-limieten. De tweede fase is een herhaalde meting bij werknemers met verhoogde effect-parameters. Door middel van deze stap kunnen werknemers met een verhoogde gevoeligheid geïdentificeerd worden. Werknemers die in beide stappen verhoogde waarden hebben, worden doorverwezen voor klinisch onderzoek.

Een andere mogelijkheid om verhoogde waarden op te sporen is longitudinaal onderzoek. Dit kan bijvoorbeeld bestaan uit het vergelijken van een basiswaarde voor aanvang van de blootstelling met de waarde van de vroege effectparameters tijdens of na een periode van blootstelling (binnen-persoons vergelijking). Hierbij



Figuur 3. Strategie voor vroege effectmetingen

worden de effectparameters op een binnenpersoons-niveau vergeleken. Met deze onderzoeksdesigns kunnen zeer kleine effecten gedetecteerd worden en een dergelijk opgezet onderzoek is zinvol indien men uitsluitend de beschikking heeft over parameters met een lage sensitiviteit en een hoge specificiteit zoals de GFR (dus weinig vals-positieven en veen vals-negatieven). Aangezien de vroege effectparameters juist een hoge sensitiviteit (dus weinig vals-negatieven) hebben zijn deze onderzoeksdesigns minder zinvol (zie hoofdstuk 3.6) indien de binnenpersoons variatie groter is dan de tussen-persoons variatie. Een in dit geval wèl zinvolle aanpak is het vergelijken van groepen, bv een groep die hoog wordt blootgesteld met een groep die laag wordt blootgesteld. Een dergelijk onderzoek wordt transversaal genoemd.

## 5.4. Vroege effectmetingen

De metingen in fase 1 en 2 zijn samengevat in Tabel 3.

Tabel 3. Keuze van effectparameters

ONDERDELEN	parameter	alternatief
algemene proteinurie, hematurie, leucocyturie glucosurie	dipstick	
glomerulus	ALB	$\beta_2$ MS
proximale tubulus	RBP NAG	$\alpha_1$ M AAP, $\beta$ GAL
distale tubulus		concentrerend ver- mogen, NAG

De metingen bestaan uit 5 onderdelen:

1. een dipstick meting voor kwalitatieve bepaling van stoffen die een indicatie kunnen geven van grove afwijkingen in de nierfunctie
2. vroege effectparameters voor de glomerulusfunctie. Albumine is de meest gebruikte parameter.
3. vroege effectparameters voor de proximale tubulus. Het LMM-eiwit RBP en het enzym NAG zijn de geschiktste parameters
4. verzameling van gegevens over risicofactoren en versturende variabelen
5. meting van de distale tubulusfunctie: Dit is zelden noodzakelijk. Van slechts enkele stoffen is bekend dat effecten op de distale tubuli

voorkomen.

PM Overige gegevens kunnen in de vorm van een vragenlijst verkregen worden.

Een overzicht van de meest gebruikte vroege effectparameters wordt gegeven in appendix 3.

Tabel 4 Overige gegevens

#### RISICOFACTOREN

- 1 pre-existente nier-aandoening
- 2 verlies aan nierweefsel (nier-donoren)
- 3 hypertensie
- 4 diabetes
- 5 geneesmiddelengebruik (zie hoofdstuk 4)
- 6 leveraandoening
- 7 leeftijd hoger dan 59 jaar

#### VERSTORENDE VARIABELEN

- 8 fysieke inspanning (HMM-proteinurie)
- 9 koorts (proteinurie)
- 10 urineweg-infectie
- 11 overflow-proteinurie
- 12 zwangerschap
- 13 menstruatie
- 14 alcoholgebruik
- 15 ploegendienst (hangt vaak samen met 8)

De in tabel 4 genoemde factoren en variabelen zijn van belang bij de interpretatie van de resultaten van vroege effectmetingen. Informatie over de variabelen 1-10, 14 en 15 wordt met een vragenlijst verzameld. Variabelen 10-13 kunnen met de dipsticks getoetst worden, al dan niet in combinatie met gegevens van de vroege effectparameters en door middel van een vragenlijst. De variabele 8 is niet van belang bij verzameling van eerste ochtendurine (zie paragraaf 5.5.), behalve in geval van ploegendienst.

### 5.5. *Monstername*

Urinemonsters dienen op vaste tijdstippen van de dag verzameld te worden om



variatie ten gevolge van circadiane ritmes in de uitscheiding binnen en tussen personen te minimaliseren. Urinemonsters die gedurende de nachtrust (eerste ochtendurine) verzameld zijn hebben een aantal voordelen:

- periode van verzameling is relatief makkelijk te standaardiseren,
- variatie ten gevolge van fysieke inspanning op de uitscheiding van ALB is afwezig
- urine wordt verzameld over een relatief lange periode van circa 7-8 uur
- contaminaties met sperma hebben geen effect op de concentraties van albumine en RBP (Blumsohn et al, 1991).

Bij de verzameling van urinemonsters is de periode van blootstelling een belangrijke variabele. Bij continue blootstelling is een monstername in de tweede helft van de werkweek aan te bevelen. Bij incidentele blootstelling worden de grootste effecten kort (nul tot vijf dagen) na blootstelling waargenomen. Indien de periode tussen de blootstelling en de monstername langer is dan een week, dient rekening gehouden te worden met regeneratie van het beschadigde weefsel en herstel van de nieren.

Voor vrouwelijke werknemers dient men rekening te houden met de menstruatie: urinemonsters, die verzameld zijn tijdens de menstruatieperiode, zijn ongeschikt zijn voor het bepalen van vroege effectparameters.

Toevoeging van natriumazide (0.1 ml  $\text{NaN}_3$  met een concentratie van 0.15 mol/l voor 100-500 ml urine) heeft een gunstig effect op de houdbaarheid van de vroege effectparameters in urine. Specifieke gegevens voor de houdbaarheid van diverse parameters staan vermeld in appendix 3.

## 5.6. *Bepalingen*

Bepalingen, monstername en opslag van monsters dienen bij voorkeur uitgevoerd te worden volgens normen voor Good Laboratory Practice. Hierbij wordt verwezen naar de ISO 9000 series voor kwaliteitsborging. Specifieke gegevens van de bepalingen van diverse parameters staan vermeld in appendix 3.

## 5.7. *Referentie-limieten*

Referentie-limieten voor vroege parameters zijn afhankelijk van een groot aantal factoren. Een referentie-limiet wordt in het algemeen gedefinieerd als de waarde waarbij 95% van alle waarden van de effectparameter in een groep gezonde personen lager is. De in tabel 5 samengevatte referentielimieten voor een aantal vroege effectparameters zijn slechts richtwaarden. De referentie-limieten zijn o.a. afhankelijk van de representativiteit en grootte van de steekproef, het geslacht, de leeftijd, de toegepaste monstername, de verdunningscorrectie en de bepalingsmet-

hode. Gezien deze variatie in bepalingen is het van belang dat elk laboratorium zijn eigen referentie-limieten bepaalt en controleert of deze overeenkomen met andere laboratoria. Bij rapportage van resultaten dienen laboratoria hun referentiewaarden te vermelden. De hoogte van de referentie-limiet bepaalt tevens tot op zekere hoogte de sensitiviteit en de specificiteit van de test.

Tabel 5. Referentielimieten voor een aantal vroege effectparameters

PARAMETER	eenheid	richtwaarden voor referentie-limieten
ALB <sup>s</sup>	mg/l	30
	mg/g creatinine	20
β <sub>2</sub> MS	mg/l	2.4
RBP	µg/l	200
	µg/g creatinine	150
α <sub>1</sub> M	mg/l	10
	mg/g creatinine	8
β <sub>2</sub> M	µg/l	300
	µg/g creatinine	200
NAG	U/l	10
	U/g creatinine	7
AAP	U/l	16
	U/ g creatinine	12
βGAL	U/l	10
	U/g creatinine	7
THG	mg/l	70
	mg/g creatinine	50

### 5.8. Verdunningscorrectie

De concentraties van effectparameters in urine worden beïnvloed door de urine flow (de hoeveelheid urine die per tijdseenheid wordt gevormd). Standaardisatie van het tijdstip en de periode van monsternamē is de eerste stap in reductie van deze variatie. Daarnaast zijn verschillende vormen van verdunningscorrectie mogelijk. Verdunningscorrecties met behulp van creatinine of de urine dichtheid

(UD) zijn geschikte methoden.

## 5.9. Interpretatie

Bij de interpretatie van de resultaten van een onderzoek dient rekening gehouden te worden met de volgende punten:

- zijn er versturende factoren aanwezig die een verklaring kunnen geven voor een verhoging van vroege effectparameters?
- zijn er personen aanwezig in de onderzochte groep met een verhoogd risico door de aanwezigheid van risicofactoren?
- is er een verband tussen de hoogte van de blootstelling (eventueel na stratificatie van de blootgestelde groep) en de vroege effectparameters?
- is het gevonden effect consistent met de in de literatuur bekende gegevens?
- werknemers die langdurig en regelmatig blootgesteld worden aan nefrotoxische stoffen hebben een groter risico op het ontwikkelen van irreversibele veranderingen in de nieren dan werknemers die incidenteel worden blootgesteld aan gelijkwaardige concentraties.
- nefrotoxische stoffen met een lange halfwaardetijd kunnen accumuleren. Bij stoffen als cadmium en lood dient men rekening te houden met de lichaamslast (body burden).
- eenmalig verhoogde effectparameters zijn waarschijnlijk minder ernstig dan herhaaldelijk verhoogde parameters. Parameters die herhaaldelijk verhoogd zijn over een periode van een aantal maanden of jaren kunnen een aanwijzing geven voor permanente schade aan de nieren die kan leiden tot irreversibele degeneratieve veranderingen.
- algemene richtlijnen voor het nemen van maatregelen ter voorkomen van nefrotoxische effecten zijn niet te geven: elke populatie dient beoordeeld te worden volgens geldende epidemiologische en toxicologische principes. Tabel 6, Referentielimieten voor een aantal vroege effectparameters kan hierbij een hulpmiddel zijn. Verder is van belang goede voorlichting aan de werknemers te geven over de betekenis van de vroege effectparameters bij eventueel optredende verhoging.

## 6. *Samenvatting*

Nefrotoxiciteit wordt gedefinieerd als de nieraandoening of de verstoorde nierfunctie die optreedt als direct of indirect gevolg van opname van geneesmiddelen, en/of blootstelling aan chemische stoffen tijdens de beroepsuitoefening of in het algemene milieu (WHO, 1991). De nefrotoxische stoffen kunnen aangrijpen op de verschillende anatomische onderdelen van de nier, zoals de cellen van de glomeruli, proximale en distale tubuli. De cellen van de proximale tubuli bezitten een sterk regenererend vermogen, de cellen van de glomeruli en het medullaire interstitium kunnen schade niet of nauwelijks herstellen. Nefrotoxiciteit is een dynamisch proces: afhankelijk van de aard en de frequentie van de schade kan compleet herstel, een daling in de functionele reserve of een progressief degeneratieve schade optreden.

Vroege effectparameters zijn parameters die gemeen hebben dat ze worden gebruikt voor de detectie van effecten van toxische stoffen op de nieren. Deze parameters kunnen een beeld geven van het functioneren van de glomeruli en tubuli, zoals het vrijkomen van eiwitten en enzymen bij schade aan de tubuluscellen of aanwijzingen geven voor immunologische processen of veranderingen in biochemische processen. De vroege effectparameters kunnen gebruikt worden voor Biologische Effect Monitoring (BEM) of Health Surveillance (HS). De belangrijkste vroege effecten zijn glomerulaire en tubulaire proteïnurie en tubulaire enzymurie. De vroege parameters hebben een hoge sensitiviteit en een lage specificiteit. Deze eigenschappen hebben gevolgen voor de uitvoering van vroege effectmetingen. De belangrijkste groepen van nefrotoxische stoffen zijn metalen, organische oplosmiddelen en bestrijdingsmiddelen. De meeste van deze stoffen kunnen bij hoge blootstelling acute nierinsufficiënties veroorzaken, maar dergelijke hoge blootstellingen worden in beroepssituaties tegenwoordig slechts zelden aangetroffen. Bij de huidige beroepsmatige blootstelling aan nefrotoxische stoffen kunnen kleine effecten optreden, die pas na een langdurige blootstelling klinisch manifest worden.

Vroege effectparameters zijn in de eerste plaats geschikt voor de beoordeling van risico's van blootstelling aan nefrotoxische stoffen. Vroege effectparameters zijn een belangrijke aanvulling op de bestaande monitoringstechnieken EM, PM en BM. Gezien de eigenschappen van de vroege effectparameters is het in het algemeen weinig zinvol om werknemers, zonder voorafgaande verzameling van kwantitatieve gegevens van de blootstelling, in het kader van de arbozorg te screenen voor vroege effecten op de nieren.

Indien de noodzaak bestaat om epidemiologische informatie omtrent de

nefrotoxiciteit van bepaalde stoffen te verzamelen, zijn de vroege effectparameters belangrijke indicatoren voor effecten op de nieren.

## Literatuur

Acker BAC van. Glomerular filtration rate; accurate measurement and circadian rhythm. Thesis Universiteit van Amsterdam, Amsterdam, Nederland, 1994. pp 187

Askergren A, Allg n L-G, Karlsson C, Lundberg I, Nyberg E. Studies on kidney function in subjects exposed to organic solvents. I. Excretion of albumin and B<sub>2</sub>-Microglobulin in the urine. *Acta Med Scand* 1981;209:479-483.

Bach PH. Detection of chemically induced renal injury: the cascade of degenerative morphological and functional changes that follow the primary nephrotoxic insult and evaluation of these changes by in-vitro methods. *Toxicol Lett* 1989;46:237-250

Beetham R, Cattell WR. Proteinuria: pathophysiology, significance and recommendations for the measurement in clinical practice. *Ann Clin Biochem* 1993;30:425-434

Bennett WM. Lead nephropathy. *Kidney Int* 1985;28:212-220

Bernard AM, Roels HR, Foidart JM, Lauwerys R. Search for anti-laminin antibodies in the serum of workers exposed to cadmium, mercury vapour or lead. *Int Arch Occup Environ Health* 1987;59:303-309

Blumsohn A, Price A, Morris BW, Griffiths H, Gray TA. The effect of semen contamination on the concentration of low molecular weight proteins, albumin and total protein in male urine. *Ann Clin Biochem* 1991;28:187-188

Boogaard, PJ, Rocchi, PSJ, Sittert, NJ van. Effects of exposure to low concentrations of chlorinated hydrocarbons on the kidney and liver of industrial workers. *Br J Ind Med* 1993;50:331-339

Brenner BM and Rector RC (eds). *The kidney*. WB Saunders Co, Philadelphia, USA, 1991

Brouwer EJ, Evelo CTA, Verplanke AJW, Van Welie RTH, De Wolff FA. Biological effect monitoring of occupational exposure to 1,3-dichloropropene: effects on liver and renal function and on glutathione conjugation. *Br J Ind Med* 1991;48:167-172

Burkholder PM. Functions and pathophysiology of the glomerular mesangium (editorial). *Lab Invest* 1982;46:239-241

Cardenas A, Roels H, Bernard AM, Barbon R, Buchet JP, Lauwerys RR, Rosello J, Hotter G, Mutti A, Franchini I, Fels LM, Stolte H, De Broe ME, Nuyts GD, Taylor SA, Price RG. Markers of early changes induced by industrial pollutants. I Application to workers exposed to mercury vapour. *Br J Ind Med* 1993;50:17-27

Cardenas A, Roels H, Bernard AM, Barbon R, Buchet JP, Lauwerys RR, Rosello J, Ramis I, Mutti A, Franchini I, Fels LM, Stolte H, De Broe ME, Nuyts GD, Taylor SA, Price RG. Markers of early changes induced by industrial pollutants. II Application to workers exposed to lead. *Br J Ind Med* 1993;50:28-36

Dawney A, Thornley C, Cattell WR. An improved radio-immunoassay procedure for urinary Human Tamm-Horsfall glycoprotei. Investigation and resolution of factors affecting its quantification. *Biochem J* 1982;206:461-465

Dieperink HH. Identification of groups at risk for renal disease (including nephrotoxicity) *Toxicol Lett* 1989;46:257-268

Doelman CJA, Miedema K. Back to the basis: the biochemical part. In: Creatinine and renal function. Eds. Bilo HJG, Idink-Mecking CAM, Miedema K. De Weezenlanden Series no. 1, Zwolle, The Netherlands,

1994. pp 9-31.

Elinder CG, Edling C, Lindberg E, Kagedal B, Vesterberg O.  $\beta_2$ -microglobulinuria among workers previously exposed to cadmium: follow-up and dose-response analyses. *Am J Ind Med* 1985;8:553-564

Endo G, Konishi Y, Kiyota A, Horiguchi S. Urinary  $\alpha_2$  Microglobulin in lead workers. *Bull Environ Contam Toxicol* 1993;50:744-749

Foa' V, Colombi A, Maroni M, Barbieri F, Franchini I, Mutti A, De Rosa E, Bartolucci GB. Study of kidney function of workers with low level exposure to inorganic arsenic. In: Foa' V, Emmett EA, Maroni M, Colombi A (eds). *Occupational and environmental chemical hazards*. Chichester, Ellis Horwood Limited, 1987: 362-367

Franchini I, Cavatorta A, Falzoi M, Lucertini S, Mutti A. Early indicators of renal damage in workers exposed to organic solvents. *Int Arch Occup Environ Health* 1983;52:1-9.

Friedlander G, Blanchet F, Amiel C. Renal functional reserve. *Toxicol Lett* 1989;46: 227-236

Ghiggeri GM, Candiano G, Delfino G, Gueirolo C. Electrical charge of serum and urinary albumin in normal and diabetic humans. *Kidney Int* 1985;28:168-177

Gotelli CA, Astolfi E, Cox C, Cernichiari E, Clarkson TW. Early biochemical effects of an organic mercury fungicide on infants: dose makes the poison. *Science* 1985;227:638-640

Hashimoto DM, Kelsey KT, Seitz T, Feldman HA, Yakes B, Christiani DC. The presence of urinary cellular sediment and albuminuria in newspaper pressworkers exposed to solvents. *J Occup Med* 1991;33:516-526

Herber RFM, Bernard A, Schaller K-H. Standardized method for the determination of  $\beta_2$ -Microglobulin, Retinol Binding Protein and Albumin in urine. *Pure Appl Chem* 1994;66:915-930

Högenmann B, Balleisen L, Rauterberg J, Voss B, Gerlach U. Basement membrane components (7S collagen, laminin P1) are increased in sera of diabetics and activate platelets in vitro. *Haemostasis* 1986;16:428-432

Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM. The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. *Am J Med* 1982;72:375-380

Hotz P, Pilliod J, Soderstrom D, Rey F, Boillat MA, Savolainen H. Relation between renal function tests and a retrospective organic solvent exposure score. *Br J Ind Med* 1989;46:815-819

Hotz P, Pilliod J, Bernard A, Berode M, Rey F, Mazzocato C, Guillemin M, Boillat M-A. Hydrocarbon exposure, hypertension and kidney function tests. *Int Arch Occup Environ Health* 1990;62:501-508

Jung K, Scholtz D. An optimized assay for alanine aminopeptidase activity in urine. *Clin Chem* 1980;26:125-1-1254

Kanfer A. The role of coagulation in glomerular injury. *Toxicol Lett* 1989;46:83-92

Kaplan NM. Microalbuminuria: a risk factor for vascular and renal complications of hypertension. *Am J Med* 1992;92-suppl 4B:8S-12S

Kriz W, Bankir L. A standard nomenclature for structures of the kidney. *Am J Physiol* 1988;254:F1-F8

Landrigan PJ, Goyer RA, Clarkson TW, Sandler DP, Smith JH, Thun MJ, Wedene RP. The work-relatedness of renal disease. *Arch Environ Health* 1984;39:225-230

- Lauwerys R, Bernard A, Viau C, Buchet J-P. Kidney disorders and hematotoxicity from organic solvent exposure. *Scand J Work Environ Health* 1985;11 suppl 1:83-90.
- Lauwerys R, Bernard A. Preclinical detection of nephrotoxicity: description of the tests and appraisal of their health significance. *Toxicol Lett* 1989;46:13-29
- Levey AS, Madaio MP, Perrone RD. Laboratory assessment of renal disease: clearance, urinalysis, and renal biopsy. In: Brenner BM, Rector FC (eds.) *The kidney*. WB Saunders Co, Philadelphia, USA, 1991:919-968
- Lindberg E, Vesterberg O. Urinary excretion of proteins in chromeplaters, ex-chromeplaters and referents. *Scand J Work Environ Health* 1983;9:505-510
- Maruhn D. Rapid colorimetric assay of  $\beta$ -galactosidase and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976;73:453-461
- Meyer, BR, Fischbein A, Rosenman K, Lerman Y, Drayer DE, Reidenberg MM. Increased urinary enzyme excretion in workers exposed to nephrotoxic chemicals. *Am J Med* 1984;76:989-998
- Mueller PW, Smith SJ, Steinberg KK, Thun M. Chronic renal tubular effects in relation to urine cadmium levels. *Nephron* 1989;52:45-54
- Mutti A, Cavatorta A, Pedroni C, Borghi A, Giaroli C, Franchini I. The role of chromium accumulation in the relationship between airborne and urinary chromium in welders. *Int Arch Occup Environ Health* 1979;43:123-133
- Mutti A, Lucertini S, Falzoi M, Cavatorta A, Franchini I. Organic solvents and chronic glomerulonephritis: a cross-sectional study with negative findings for aliphatic and alicyclic C5-C7 hydrocarbons. *J Appl Toxicol* 1981;1:224-226
- Mutti A, Lucertini S, Valcavi P et al. Urinary excretion of brush border antigen revealed by monoclonal antibody: early indicator of toxic nephropathy. *Lancet* 1985;ii:914-916
- Mutti A. Detection of renal disease in humans: developing markers and methods. *Toxicol Lett* 1989;46:177-192
- Mutti A, Alinovi R, Bergamaschi E, Biagini C, Cavazzini S, Franchini I, Lauwerys RR, Bernard AM, Roels H, Gelpi E, Rosello J, Ramis I, Price RG, Taylor SA, De Broe M, Nuyts GD, Stolte H, Fels LM, Herbert C. Nephropathies and exposure to perchloroethylene in dry-cleaners. *Lancet* 1992;340:189-193
- Ng TP, Ong SG, Lam WK, Jones MG, Cheung CK, Ong CN. Urinary levels of proteins and metabolites in workers exposed to toluene. *Int Arch Occup Environ Health* 1990;62:43-46
- Ng TP, Ng YL, Lee HS, Chia KS, Ong HY. A study of silica nephrotoxicity in exposed silicotic and non-silicotic workers. *Br J Ind Med* 1992;49:35-37
- Nuyts GD, Roels HA, Verpooten GF, Bernard AM, Lauwerys RR De Broe ME. Intestinal-type alkaline phosphatase in urine as an indicator of mercury induced effects on the S3 segment of the proximal tubule. *Nephrol Dial Transplant* 1992;7:225-229
- Osterloh JD, Wang R, Schneider F, Maddy K. Biological monitoring of dichloropropene: air concentrations, urinary metabolite, and renal enzyme excretion. *Arch Environ Health* 1989;44:207-213
- Osterloh JD, Feldman BJ. Urinary markers in pesticide applicators during a chlorinated hydrocarbon exposure. *Environ Res* 1993;63:171-181
- Porro A, Lomonte C, Coratelli P, Passavanti G, Ferri GM, Assassinato G. Chronic glomerulonephritis and



- exposure to solvents: a case-referent study. *Br J Ind Med* 1992;49:738-742
- Porter GA. Risk factors for toxic nephropathies. *Toxicol Lett* 1989;46:269-279.
- Radovanovic Z, Danilovic V, Velimirovic D, Naumovic T, Jevremovic I, Jankovic S, Vacca C, Hall PW 3d. Beta 2 microglobulinuria as a predictor of death in a population exposed to Balkan endemic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 1991;40-S34 S32-34
- Rocskay AZ, Robins TG, Schork MA, Echeverria D, Proctor SP, White RF. Renal effects of naphtha exposure among automotive workers. *J Occup Med* 1993;35:617-622
- Roels H, Bernard AM, Cardenas A, Buchet JP, Lauwerys RR, Hotter G, Ramis I, Mutti A, Franchini I, Bundschuh I, Stolte H, De Broe ME, Nuyts GD, Taylor SA, Price RG. Markers of early changes induced by industrial pollutants. III Application to workers exposed to cadmium. *Br J Ind Med* 1993;50:37-48
- Roels H, Lauwerys RR, Buchet JP, Bernard AM, Vos A, Oversteyns M. Health significance of cadmium induced renal function: a five year follow up. *Br J Ind Med* 1989;46:755-764
- Roy AT, Brautbar N, Lee DBN. Hydrocarbon and renal failure. *Nephron* 1991;58: 385-392
- Sandler D.P. Epidemiology in the assessment of nephrotoxicity. In: Bach PH & Lock E.A. (eds). Nephrotoxicity in the experimental and clinical situation. Part 2. Dordrecht, The Netherlands M. Nijhoff Publishers 1987. pp 847-883
- Schaap GH, Bilo HJG. Clinical aspects in renal functional damage. In: Creatinine and renal function. Eds. Bilo HJG, Idink-Mecking CAM, Miedema K. De Weezenlanden Series no. 1, Zwolle, Nederland, 1994. pp 32-44
- Schardijn GHC. B<sub>2</sub>-Microglobulin: its significance in the diagnosis of proximal tubular disorders. Thesis, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam, Nederland, 1986: pp 54
- Sittert, NJ van, Ribbens, PH, Huisman, B, Lugtenburg, D. A nine year follow up study of renal effects in workers exposed to cadmium in a zinc ore refinery. *Br J Ind Med* 1993;50:603-612
- Stijkel A. Een reprotox instrument. Hulpmiddel voor bedrijfsgezondheidsdiensten ter advisering van werkgevers en werknemers inzake het beheersen en voorkomen van reprotoxisis's in arbeidssituaties. Arbeidsinspectie, Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid, Den Haag, S138-2, 1992:pp 46.
- Sunderman Jr FW, Dingle B, Hopfer SM, Swift T. Acute nickel toxicity in electroplating workers who accidentally ingested a solution of nickel sulfate and nickel chloride. *Am J Ind Med* 1988;14:257-66
- Sunderman Jr FW, Horak E. Biochemical indices of nephrotoxicity exemplified by studies of nickel nephropathy. In: Brown SS and Davies DS (eds). Organ-directed toxicity: Chemical indices and mechanisms. Pergamon Press, Oxford, 1981:55-67
- Thompson RE, Piper DJ, Galberg C, Chan TH, Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH. Adenosine deaminase binding protein, a new diagnostic marker for kidney disease. *Clin Chem* 1985;31:679-683
- Thun MJ, Baker DB, Steenland K, Smith AB, Halperin W, Berl TB. Renal toxicity in uranium mill workers. *Scand J Work Environ Health* 1985;11:83-90
- Verplanke, AJW, Herber, RFM, Wit, R de, Veenhof, CHN. Comparison of renal function parameters in the assessment of cis-platin induced nephrotoxicity. *Nephron* 1993;66:267-272
- Verschoor, MA, Wibowo, AAE, Herber, RFM, Hemmen, J van, Zielhuis, RL. Influence of occupational low-level lead exposure on renal parameters. *Am J Ind Med* 1987a;12:341-351

- Verschoor MA, Herber RFM, Van Hemmen J, Wibowo AAE, Zielhuis RL. Renal function of workers with low-level cadmium exposure. *Scand J Work Environ Health* 1987b;13:232-238
- Verschoor, MA, Herber, RFM, Zielhuis, RL. Urinary levels and early changes in kidney functions in dentists and dental assistants. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1988a;16:148-152
- Verschoor, MA, Bragt, PC, Herber, RFM, Zielhuis, RL, Zwennis,WCM. Renal function of chrome-plating workers and welders. *Int Arch Occup Environ Health* 1988b;60:67-70
- Viau C, Bernard A, Lauwerys R, Buchet J-P, Quaegebeur L, Cornu ME, Phillips SC, Mutti A, Lucertini S, Franchini I. A cross-sectional survey of kidney function in refinery employees. *Am J Ind Med* 1987;11:177-187
- Vyskocil A, Emminger S, Tějral J, Fiola Z, Eitlerova E, Cermanova A. Study on kidney function in female workers exposed to perchlorethylene. *Hum Exp Toxicol* 1990;9:377-380
- Wibell L, Evrin PE, Berggard I. Serum  $\beta_2$ -microglobulin in renal disease. *Nephron* 1973;10:320-321
- Wing AJ, Brunner FP, Geelings W, Broyer M, Brynger H, Fassbinder W, Rissoni G, Selwood NH, Tufeson G. Contribution of toxic nephropathies to end-stage renal failure in Europe: a report from the EDTA-ERA registry. *Toxicol Lett* 1989;46:281-292
- WHO Collaborating centre for the histological classification of renal diseases. *Renal disease: classification and atlas*. New York, Igaku-shoin, 1987, pp 291
- WHO. Principles and methods for the assessment of nephrotoxicity associated with exposure to chemicals. IPCS-CEC: Environmental health criteria 119. WHO, Geneva, Switzerland, 1991;pp 266.
- WHO. Cadmium. IPCS: Environmental health criteria 134. WHO, Geneva, Switzerland, 1992;pp 280.
- Yaqoob M, Bell GM, Stevenson A, Mason H, Percy DF. Renal impairment with chronic hydrocarbon exposure. *Q J Med* 1993;86:165-174.
- Zielhuis RL, Henderson PTH. Definitions of monitoring activities and their relevance for the practice of occupational health. *Int Arch Occup Environ Health* 1986;57:249-257
- Zschiesche W, Triebig G. Untersuchung von nierenfunktionsparametern bei langjährig lösungsmittlexponierten Malern und Spritzlackierern. *Arbeitsmed Sozialmed Präventivmed* 1990;25:259-263

## Appendix 1. Nefrotoxische stoffen

### *Elementen*

cadmium  
kwik  
lood  
chrom  
nikkel  
bismut  
telluur  
thallium  
uranium  
vanadium  
goud  
lithium  
arseen  
germanium

### *alifatische koolwaterstoffen*

lichte ketens (C10-C11 isoparaffines)  
benzine

### *aromatische koolwaterstoffen*

styreen  
tolueen  
xylenen  
tetraline  
naftaleen

### *gehalogeneerde koolwaterstoffen*

1,2-dichloorpropaan  
1,2-dichloorethaan  
1,1-dichlooretheen  
trichlooretheen  
chloroform  
tetrachloorkoolstof  
tetrachlooretheen  
vinylideenchloride  
epichloorhydrine

*gehalogeneerde koolwaterstoffen (vervolg)*

hexachloor-1,3-butadien  
1,2-dibroomethaan  
broombenzeen  
chloortrifluoretheen  
tetrafluoretheen  
hexafluoropropen  
1,1-dichloor-2,2-difluoretheen  
3,3,3-trifluor-1,1,2-trichloorpropen

*Bestrijdingsmiddelen*

paraquat  
diquat  
 $\alpha$ -chloorhydrine  
N-(3,5-dichlorophenyl)-succinimide  
1,2-dibroomethaan  
1,2-dibroom-3-chloorpropaan  
1,3-dichloorpropen  
tetradifon  
kelevan

*Intermediairen bij de productie van bestrijdingsmiddelen*

monochloorbenzeen  
dichloorbenzeen  
hexachloorcyclopentadien

*Overige*

ethyleenglycol  
2-methoxyethanol  
2-ethoxyethanol  
fosfine  
metaalfosfides  
dimethylsulfaat  
ochratoxin A  
kristallijn SiO<sub>2</sub>  
waterstoffluoride  
s-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine  
tris (2,3-dibroompropyl)fosfaat  
heroïne

## Appendix 2. Geneesmiddelen met nefrotoxische bijwerkingen

### *Analgetica en prostaglandinesynthaseremmers*

(non-steroid anti-inflammatory drugs = NSAID's)

- acetylsalicylzuur
- paracetamol
- floctafenine
- glafenine
- sulfinpyrazon
- fenylbutazon
- oxyfenbutazon
- ibuprofen
- diclofenac
- indometacine
- piroxicam
- fenoprofen
- alclofenac
- naprofen

### *antibiotica*

aminoglycosides

- neomycine
- gentamicine
- kanamycine
- tobramycine
- netilmicine
- streptomycine

cefalosporinen

- cefalotine
- cefalozine
- cefradine

penicilline-derivaten

- amoxilline
- ampicilline
- meticilline
- penicillin G

tetracyclinen

- tetracycline
- tetracycline/amfotericine B

*antibiotica (vervolg)*

- overigen
- erythromycin
- rifampicine
- vancomycine

*radiologische contrastmedia*

*middelen bij maligne aandoeningen*

- cisplatina
- methotrexaat
- interferon

*overige geneesmiddelen*

- cyclosporine A
- penicillamine
- sulphasalazine
- methoxyfluoraan
- hydralazine
- captopril
- allopurinol
- probenecide
- carbamazepine
- goud
- lithium

### *Appendix 3. Beschrijving van de vroege effect parameters.*

#### *Albumine*

Albumine is een HMM-eiwit met een molecuulmassa 66,5 kDa; de normale concentratie in serum is 35-50 g/L. Alhoewel ALB nauwelijks de glomerulaire basaalmembraan kan passeren wordt door de hoge concentratie in serum nog ongeveer 1,5 g ALB per dag gefiltreerd en grotendeels geresorbeerd.

Albumine is momenteel de meest gebruikte parameter voor glomerulaire proteïnurie. Een kleine verandering in de concentratie van albumine kan echter ook wijzen op een tubulair effect: De effectiviteit van resorptie in de proximale tubuli bedraagt 99.13%. Dit betekent dat bij een daling van de resorptie van 0.1% een normale uitscheiding van 10 mg/L verhoogt tot 11.6 mg/L.

De bepaling van albumine kan gedaan worden met een latex-immunoassay (Herber et al, in druk), turbidimetrische of nefelometrische methoden. Een detectiegrens van circa 1 mg/L is aan te bevelen. Albumine in urine is stabiel bij -20 °C gedurende langere periode. Na circa een half jaar kan een lichte teruggang in concentratie optreden.

#### *RBP*

RBP is een LMM-eiwit met een moleculaire massa van 21,4 kDa. In plasma komt RBP in vrije vorm en complex gebonden voor; alleen de vrije vorm wordt door de glomeruli gefiltreerd. De gefiltreerde fractie bedraagt circa 430 mg per dag. RBP wordt in de proximale tubuli voor 99.98 % geresorbeerd. Een daling in de resorptie van 0.1% leidt ten opzichte van een gemiddelde normale uitscheiding van 100 µg/L tot een vijf-voudige uitscheiding van RBP in urine (Beetham and Cattel, 1993). RBP is stabiel in urine met normale pH-waarden (circa 5 - 7.5). De bepaling geschiedt met behulp van latex immunoassay (Herber et al, in druk) of met ELISA. RBP is stabiel bij -20 °C gedurende tenminste 6 maanden.

#### *β<sub>2</sub>M*

De molecuulmassa van het eiwit β<sub>2</sub>M is 11,8 kDa. Dagelijks wordt circa 260 mg β<sub>2</sub>M door de glomeruli gefiltreerd en voor 99,92% (Beetham and Cattel, 1993) teruggeresorbeerd in de proximale tubuli. De uitscheiding van β<sub>2</sub>M is onder normale omstandigheden minder dan 200 µg/L. Een daling van de resorptie van 0.1% leidt tot een verdubbeling in de β<sub>2</sub>M-excretie. Hierdoor is ook β<sub>2</sub>M een zeer gevoelige parameter voor veranderingen in de proximale tubuli. De bepaling geschiedt met behulp van latex immunoassay (Herber et al, in druk) of met ELISA.

β<sub>2</sub>M wordt in urine met pH lager dan 6 snel afgebroken. Daardoor is dit eiwit niet geschikt voor bepalingen in urine met pH lager dan 6.

### *$\alpha_1$ -microglobuline ( $\alpha_1M$ )*

$\alpha_1M$  is een LMM-eiwit met een molecuulmassa van circa 33 kDa.  $\alpha_1M$  is stabiel in urine bij pH-waarden van 4 - 8. Urine kan enkele maanden bewaard worden bij -20 °C zonder verlies van  $\alpha_1M$ . De bepaling kan geschieden met latex immunoassay, (Straub et al, in voorbereiding) nefelometrie, ELISA of turbidimetrie.

### *NAG*

NAG is een lysosomaal enzym met een molecuulmassa van 160 kDa. NAG in plasma kan de glomerulaire basaal membraan niet passeren en een verhoogde NAG-activiteit in urine wijst op een effect op de tubuli. NAG is gelokaliseerd in de lysosomen en speelt een rol in de afbraak van glycoproteïnes. NAG is in urine aanwezig tot circa 5 U/L door de normale exocytose van de epiteelcellen (Mellman et al, 1986). NAG is stabiel bij normale pH-waarden en kan na ontzouting (gelfiltratie) ingevroren worden bij -20 °C. Van NAG zijn isoenzymen beschreven. Er zijn aanwijzingen dat de A-vorm voornamelijk vrij komt gedurende normale exocytose en de B-vorm vooral vrijkomt bij schade aan de proximale tubulus-cellen. Dit is echter nog onvoldoende onderzocht. NAG kan bepaald worden met een colorometrische bepaling (Maruhn, 1976).

### *Alanine aminopeptidase (AAP)*

Alanine aminopeptidase is een borstelzooom-enzym dat meer voorkomt in het S3-segment dan in de S1- en S2-segmenten. De activiteit in urine is bij mannen hoger dan bij vrouwen. Voor de bepaling dient het enzym ontzout te worden door middel van gelfiltratie. Kortdurend (2 weken) kan AAP bewaard worden bij 4 °C of tot 6 maanden na toevoeging van glycerol bij -20 °C. AAP kan bepaald worden volgens de methode van Jung en Scholtz (1980).

### *$\beta$ -galactosidase ( $\beta$ GAL)*

$\beta$ GAL is een lysosomaal enzym met een molecuulmassa van 130 kDa.  $\beta$ GAL in plasma kan de glomerulaire basaal membraan niet passeren en een verhoogde  $\beta$ GAL in urine wijst op een effect op de proximale tubuli.  $\beta$ GAL komt meer voor in de S1- en S2-segmenten van de proximale tubulus dan in het S3-segment. De activiteit van  $\beta$ GAL is hoger in urine van mannen dan van vrouwen.  $\beta$ GAL kan bepaald worden volgens de methode van Maruhn (1976). Voorbehandeling van de urine is niet noodzakelijk.  $\beta$ GAL is een week houdbaar bij 4 °C.



### *Tamm-Horsfall glycoproteine* (THG)

Tamm-Horsfall glycoproteine (uromucoïd) is een eiwit dat wordt uitgescheiden door de epitheelcellen van het stijgende deel van de lis van Henle en de distale tubulus. Het wordt in de urine uitgescheiden tot circa 100 mg per dag. Dit eiwit is vanwege zijn localisatie in de tubuli mogelijk geschikt als parameter voor effecten op de genoemde delen van het nefron. THG kan bepaald worden volgens de methode van Dawnay et al. (1982).

