

Plomo y nefropatía. Biomarcadores urinarios en la detección de daño renal precoz

WALTER E. CABRERA¹, GEERT BEHETS^{2,a},
LUDWIG LAMBERTS^{2,b}, PATRICK D'HAESE^{2,a}

¹Cátedra de Fisiología y

Fisiopatología. Universidad
Católica Nuestra Señora de la
Asunción. Asunción, Paraguay.

²Departamento de Fisiopatología.
Facultad de Medicina y Ciencias
de la Salud. Universidad de
Amberes. Amberes, Bélgica.

^aPhD.

^bTécnico de laboratorio.

Recibido el 9 de julio de 2015,
aceptado el 19 de abril de 2016.

Correspondencia a:

Walter E. Cabrera

Cátedra de Fisiología y
Fisiopatología. Universidad
Católica Nuestra Señora de la
Asunción. Asunción, Paraguay.
walter_cabrera@uca.edu.py

Blood lead levels and markers of renal dysfunction among mechanical workshop workers

Background: The role of lead (Pb) as an environmental cause of nephropathy is difficult to ascertain due to the difficulty to determine clinically its exposure.

Aim: To assess lead levels and renal function in a group of males working in mechanical workshops. **Material and Methods:** Blood and urine samples were obtained from 100 mechanical workshop workers aged 38 ± 16 years and 95 non-exposed office clerks aged 37 ± 17 years. Blood lead and creatinine levels were determined. In exposed workers, urinary excretion of intestinal alkaline phosphatases (IAP) and N-acetyl-glucosaminidase (NAG) were measured as early markers of renal failure. **Results:** Blood lead levels were 66.4 ± 43 and $33.6 \pm 18 \mu\text{g/L}$ among mechanical workshop workers and non-exposed controls, respectively, $p < 0.01$. The figures for serum creatinine were 0.9 ± 0.1 and 0.9 ± 0.1 respectively, $p = \text{NS}$. Among exposed workers urinary excretion of IAP was $0.47 \pm 0.6 \text{ U/L}$ and of NAG, $0.92 \pm 1.1 \text{ U/L}$. There was a positive correlation between blood lead levels and NAG excretion ($r = 0.284$) and IAP excretion ($r = 0.346$). **Conclusions:** Exposed workers had higher blood lead levels and there was a weak positive association between these levels and the urinary excretion of NAG and IAP.

(Rev Med Chile 2016; 144: 704-709)

Key words: Biomarkers; Environmental Exposure; Kidney Failure, Chronic; Lead.

La prevención a las enfermedades renales que pudieran ocasionar los agentes químicos industriales o ambientales, se basaría en detectar efectos tóxicos tempranos y reversibles sobre el riñón, cuando la función renal no está aún comprometida^{1,2}. El plomo (Pb) podría tener un rol causal en el desarrollo de enfermedad renal crónica, sin embargo, es difícil atribuir a este elemento las alteraciones renales que pudieran aparecer en un individuo, debido al desconocimiento de la exposición que pudieran tener determinadas personas. Además, la situación se

torna más confusa debido a que las complicaciones ocurridas por una excesiva absorción de Pb, tales como la gota y la hipertensión arterial, pueden por sí solas producir daño renal y no estar relacionados directamente al Pb³.

La exposición aguda al plomo, que actualmente es escasa en los países desarrollados, puede sin embargo, estar presente tanto en niños como en adultos en países menos desarrollados y pueden estar expresados con la aparición de encefalopatías y, a nivel renal, por un defecto en la reabsorción a nivel de los túbulos renales proximales, cuadro

clínico conocido como síndrome de Fanconi⁴. Estos efectos son rápidamente reversibles con la terapia de quelación (ej: EDTA)⁵. Histológicamente, la intoxicación aguda está asociada con defectos morfológicos y funcionales a nivel mitocondrial en la células epiteliales⁶. La nefropatía crónica inducida por Pb, descrita en pacientes con una moderada y prolongada exposición al elemento, se caracteriza por un lento y progresivo desarrollo de una nefritis intersticial. Además, se constata una reducción del índice de filtración glomerular y proteinuria leve, frecuentemente asociada con hipertensión arterial⁶. Los hallazgos de creatinina elevada y de hipertensión arterial encontrados en casi 4 millones de ciudadanos de los Estados Unidos de Norteamérica podrían ser debidos al Pb⁶.

Los niveles bajos de plomo podrían conducir a daño vascular renal que precede y posibilita la aparición del aumento de la presión arterial⁷. El incremento de la concentración sanguínea del plomo estaría relacionado con la disminución del aclaramiento de creatinina, que incluso podría ser independiente al aumento de la presión arterial. Consecuencias adversas de la hipertensión arterial, tales como: mortalidad por enfermedades cardiovasculares, infarto miocárdico y accidente cerebrovascular fueron encontradas en pacientes con concentraciones sanguíneas de Pb superior a 100 µg/L⁶. Desafortunadamente, la mayoría de los estudios utilizaron la concentración sérica de urea y creatinina y el aclaramiento de la creatinina para medición de la funcionalidad renal, en personas expuestas a bajas concentraciones de Pb. Dichas técnicas son poco sensitivas para detectar trastornos renales incipientes. La enfermedad renal crónica reportada en estos estudios es de sólo 1,5%. Esta prevalencia es casi idéntica a la encontrada en ciudadanos de los Estados Unidos de Norteamérica entre 40 y 59 años de edad, (1,4%) con enfermedad renal crónica grado 3⁸. Estudios longitudinales no muestran una directa evidencia del rol del Pb en el desarrollo de enfermedad renal crónica⁹. Sin embargo, Lin y cols. encontraron que en individuos con nefritis crónica, índice de filtración glomerular < 60 ml/min y con baja a moderada exposición al Pb, experimentaron un deterioro acelerado de la funcionalidad renal. Estos pacientes recibieron EDTA y luego se constató el incremento en la eliminación de plomo a través de la orina (entre 80 y 600 µg/24 h), evidenciando la acumulación corporal del elemento¹⁰. Es eviden-

te la necesidad de encontrar un método fidedigno que detecte la disfunción renal incipiente producida por el Pb, a fin de prevenir deterioros en la funcionalidad renal y de su integridad estructural.

Los marcadores de nefrotoxicidad se clasifican dentro de tres categorías arbitrariamente definidas: i) marcadores funcionales (en sangre: creatinina y B₂ - microglobulina y proteínas urinarias de bajo y alto peso molecular); ii) marcadores citotóxicos (antígenos tubulares y enzimas urinarias); iii) marcadores bioquímicos (eicosanoides, fibronectina, actividad de la kaliceína, ácido siálico y glucosaminoglucanos en orina)¹¹.

El objetivo del estudio fue analizar la asociación de los niveles de plomo en la sangre con probables alteraciones de la función renal, evaluados por biomarcadores urinarios y la presión arterial.

Método

Fueron incluidos 195 personas del sexo masculino. El grupo expuesto al Pb estuvo compuesto por 100 personas, en tanto que el grupo control o no expuesto al Pb, con 95 sujetos. Las personas pertenecientes al grupo expuesto al Pb fueron trabajadores en los talleres de reparación de automóviles y deberían estar trabajando en el mismo lugar por al menos 12 meses. Los sujetos pertenecientes al grupo control, eran del mismo grupo etario, estuvieron trabajando en diferentes tipos de actividades (empleados de oficina) y con la suposición de no estar expuestos al Pb.

En ambos grupos se procedió a la medición de la presión arterial, además, se registraron los valores del peso y altura, a fin de obtener el índice de masa corporal (IMC). Además, se tomaron muestras de sangre y orina, las cuales fueron enviadas al Departamento de Fisiopatología de la Universidad de Amberes, Bélgica, para la determinación de Pb en sangre y en orina, fosfatasa alcalina intestinal (IAP), N-acetyl-glucosaminidasa (NAG) y creatinina. Como no hemos colectado orina de 24 h, los valores urinarios son expresados en g/creatinina de IAP y NAG.

La medición de creatinina fue hecha por el método colorimétrico de Jaffé. El cálculo de ClCr (aclaramiento de creatinina) fue efectuado por CKI-EPI¹². Las mediciones de Pb en sangre fueron llevadas a cabo por espectrometría de absorción atómica electrotermal con corrección Zeeman,

usando un aparato SIMAA 6000 (Perkin-Elmer) dilución de 1:4 en una solución de Triton X-100-HNO₃-NH₄H₂PO₄. Las concentraciones fueron medidas contra una curva de calibración. La variabilidad del método fue < 5%, y la detección en sangre 4 µg/L. Las condiciones instrumentales fueron establecidas de acuerdo a métodos previamente publicados¹³.

IAP (una enzima del borde en cepillo del segmento tubular S3) en orina fue medida usando un inmunoensayo desarrollado enzima-antígeno, con un nivel de detección límite de 0,02 U/L¹⁴.

NAG (enzima lisosomal del tubulo proximal) en orina fue determinada por ensayos calorimétricos (Roche) con una detección límite de 0,1 U/L¹⁵.

Estadística

Los datos son expresados en media ± ED. Para comparación de grupos se utilizó la prueba t de Student. Un valor de $p > 0,05$ fue considerado significativo. Para correlaciones, la prueba de Pearson fue efectuada. Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo utilizando SPSS.

Resultados

No ha habido diferencia de edad entre los individuos pertenecientes a uno y otro grupo. La media ± ED de edad del grupo expuesto al Pb fue: 38,35 ± 11,64 años, en tanto que en el grupo no expuesto fue: 37,65 ± 16,9 años de edad (Tabla 1). Con respecto al IMC, tampoco se han encontrado diferencias entre los grupos, la media ± ED del

grupo expuesto fue: 25,59 ± 3,79 y del grupo no expuesto: 26,24 ± 3,63 (Tabla 1). Sin embargo, las concentraciones de Pb en sangre difirieron significativamente entre los grupos. En el grupo expuesto al Pb se halló concentraciones sanguíneas de: 66,39 ± 43,16 µg/L, en tanto que en el grupo no expuesto, los valores fueron: 33,61 ± 18,12 µg/L. En otras palabras, las personas que trabajan en los talleres mecánicos de reparación de automóviles presentaron niveles sanguíneos de Pb dos veces superior, comparados con los sujetos que pertenecieron al grupo control ($p < 0,001$) (Figura 1).

Además, el grupo expuesto al Pb presentó niveles de presión arterial tanto sistólica como diastólica más elevadas que las del grupo de individuos no expuestos al elemento. Presión arterial sistólica (PAS) en el grupo expuesto fue: 132,5 ± 16,59 mmHg versus 123,79 ± 13,22 mmHg en el grupo no expuesto ($p < 0,001$). En cuanto a la presión arterial diastólica, en el grupo expuesto fue: 85,1 ± 11,67 mmHg, comparados al no expuesto: 79,68 ± 12,54 mmHg ($p < 0,001$) (Figura 2).

En el grupo expuesto hemos encontrado una correlación positiva entre el tiempo de exposición al Pb y la presión arterial sistólica ($r: 0,23$). Por otro lado, la correlación fue negativa con el peso ($r: -0,26$), y con la altura ($r: -0,39$), induciendo pensar que la acumulación corporal de Pb está favorecida por una disminución del IMC. Tomando en consideración los marcadores renales, hemos encontrado una correlación positiva entre Pb y NAG ($r: 0,284$) (Figura 3) y entre Pb e IAP ($r: 0,346$) (Figura 4). Debido a que no hemos

Tabla 1. Datos analizados en el estudio

	Expuestos	No expuestos	p
Edad (en años)	38,5 ± 11,64	37,65 ± 16,9	N/s
IMC	25,59 ± 3,79	26,24 ± 3,63	N/s
PAS (en mmHg)	123,5 ± 16,59	123,79 ± 13,22	$p < 0,001$
PAD (en mmHg)	85,1 ± 11,67	79,68 ± 12,54	$p < 0,001$
Plomo (en sangre en µg/L)	66,39 ± 43,16	33,61 ± 18,12	$p < 0,001$
Creatinina (mg/dl)	0,903 ± 0,12	0,856 ± 0,13	$p < 0,106$
Cl Cr (CKD-EPI)	104,92 ± 20,72	109,40 ± 21,85	$p < 0,071$
Plomo y NAG (U/L)	r: 0,284		
Plomo e IAP	r: 0,346		
Plomo y NAG/cr 24 h	No correlacionado		
Plomo e IAP/cr 24 h	r: 0,228		

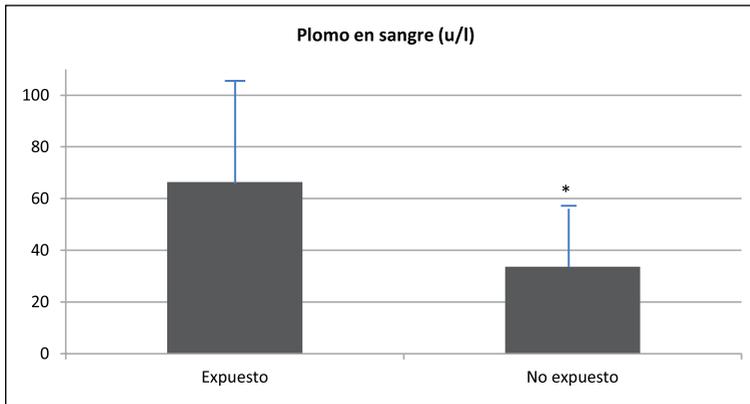


Figura 1. Niveles de plomo en sangre entre las personas con exposición laboral al metal y aquellas del grupo control. * $p \leq 0,001$ entre grupo expuesto y no expuesto.

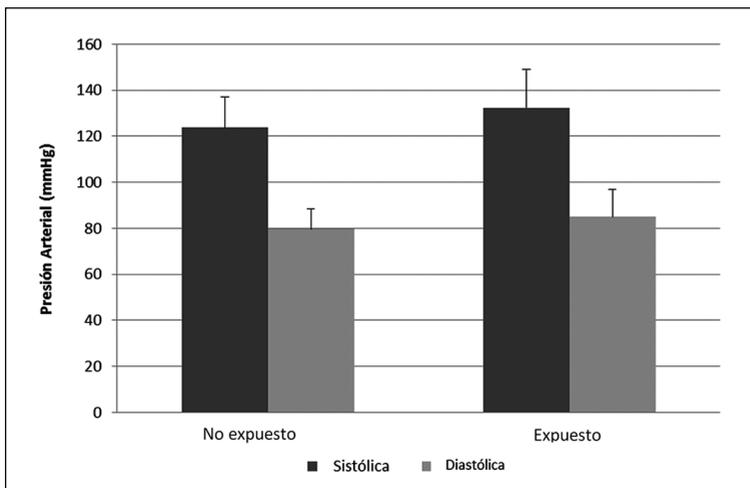


Figura 2. Niveles de presión arterial entre personas con exposición laboral al plomo y las del grupo control.

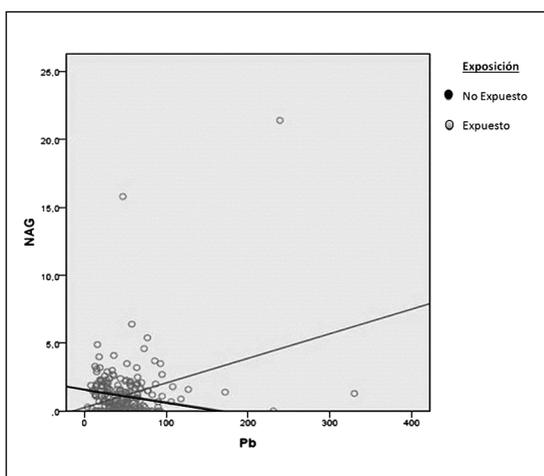


Figura 3. Niveles de NAG (enzima lisozomal del túbulo proximal), en personas con exposición laboral al plomo y los del grupo control.

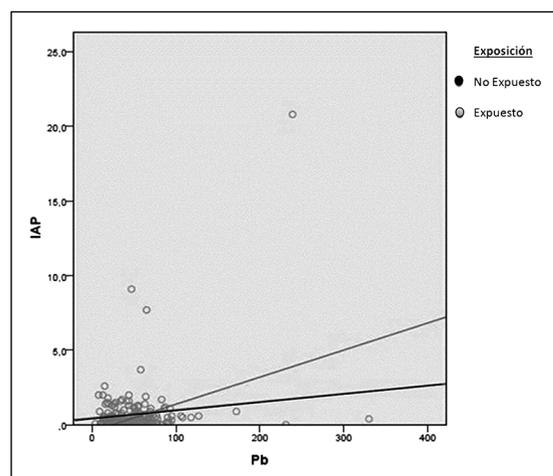


Figura 4. Niveles de IAP (enzima del borde en cepillo del segmento S3 del túbulo proximal), en las personas con exposición laboral del plomo y aquellos del grupo control.

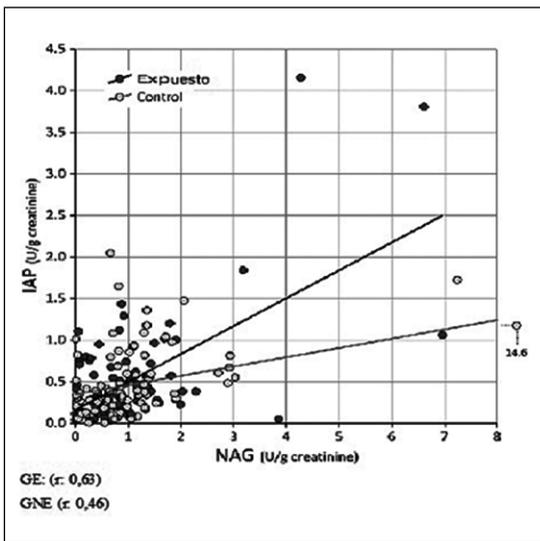


Figura 5. Correlación entre IAP y NAG corregidos por excreción de creatinina del grupo expuesto y grupo control.

tomado orina de 24 h, hemos realizado una correlación entre IAP y NAG, corregidos por excreción de creatinina. En el grupo expuesto la correlación fue: 0,63 ($r: 0,63$), en tanto que en el grupo no expuesto: 0,46 ($r: 0,46$) (Figura 5).

Discusión

Los niveles sanguíneos de Pb estuvieron significativamente más elevados en el grupo expuesto laboralmente (personas de sexo masculino trabajando en los talleres mecánicos de reparación de automóviles), comparados con el grupo, en principio, no expuesto o con exposición ambiental al elemento. Además, ellos presentaron, a su vez, niveles significativamente más elevados de presión arterial comparados al grupo control. Es importante recalcar que no hubo diferencias de edad ni de IMC entre ambos grupos. Estos hallazgos claramente indican una asociación entre presión arterial y Pb en sangre. En estudios epidemiológicos llevados a cabo en poblaciones con una concentración media de Pb $> 100 \mu\text{g/L}$, la alta prevalencia de hipertensión arterial fue atribuida a los elevados niveles séricos de Pb⁶. La correlación positiva entre Pb y presión arterial fue significativa, incluso cuando ambas mediciones (la del plomo en sangre y la presión arterial) estuvieron dentro de los rangos acepta-

dos como normales¹¹. Algunos sostienen que el daño renal producido por el Pb causa hipertensión arterial⁶. Este último concepto está basado en que la hipertensión arterial en pacientes con nefropatía por Pb se desarrolló de manera más rápida que en aquellos pacientes hipertensos, pero sin falla renal, sugiriendo que los daños vasculares renales inducidos por el Pb preceden y causan hipertensión arterial⁷. Existen otros factores no evaluados en este trabajo que podrían influir en el comportamiento de la presión arterial tales como, estatus socioeconómico, ingesta de sal, agrupación familiar.

Evans y Elinder, mostraron que en la mayoría de los estudios que evalúa la relación del plomo con la función renal, se ha usado la creatinina sérica. Aunque en muchos de ellos no se ha encontrado una correlación inversa, el daño renal podría estar presente debido a que la creatinina no es un indicador temprano de la disfunción renal¹⁶.

Teniendo el conocimiento que la creatinina no es un indicador fidedigno de la función renal, en este estudio hemos utilizado marcadores prematuros renales (IAP y NAG), que sugieren daño tubular. En el grupo expuesto hemos encontrado niveles sanguíneos de plomo de $66 \mu\text{g/L}$, valor inferior al considerado de intoxicación ($100 \mu\text{g/L}$). Sin embargo, la exposición crónica al Pb puede conducir a alteraciones arteriales y renales, sin que se alcancen niveles de intoxicación¹⁵.

La nefropatía crónica inducida por el Pb es una enfermedad renal irreversible, que se desarrolla luego de meses o años de exposición al metal y puede estar asociado a hipertensión arterial. En los adultos expuestos crónicamente, la nefropatía por plomo se presenta como una nefritis túbulo-intersticial progresiva, que en los estadios tempranos es difícil de diagnosticar. Además, la nefropatía incipiente relacionada al Pb no presenta anomalías urinarias fácilmente identificadas. Fueron usados varios exámenes que evalúan el índice de filtración glomerular, para detectar efectos renales causados por la exposición ocupacional por Pb, pero cuando estos tests son anormales (disfunción renal), la nefropatía ya pudo haber estado en la fase irreversible y conducir a la insuficiencia renal³. Podrían ser de utilidad la determinación de marcadores más sensibles para determinar si la función renal está en riesgo debido a la exposición ocupacional del Pb.

En este estudio hemos encontrado una correla-

ción positiva entre el Pb y los marcadores renales incipientes. Los utilizados fueron IAP y NAG. Como no hemos colectado orina de 24 h, correlacionamos los valores de IAP y NAG, corregidos por excreción de creatinina, encontrando una correlación positiva ($r: 0,63$), evidenciando daño tubular (citotoxicidad).

Conclusión

Los individuos que trabajan en los talleres mecánicos de reparación de automóviles (grupo expuesto), presentaron niveles séricos de Pb más elevados que aquellos sujetos que desempeñaban sus actividades laborales en otras actividades (grupo no-expuesto). Ellos también presentaron niveles de presión arterial más elevados en comparación al grupo no-expuesto. Es importante remarcar que no se registraron diferencias significativas de edad ni de IMC entre ambos grupos. Una correlación positiva se ha encontrado entre presión arterial sistólica y Pb. La incrementada cantidad de marcadores renales: IAP y NAG en la orina de los sujetos con niveles de Pb más elevados, sugieren daño tubular renal (citotoxicidad), tal vez no irreversible, producida por el Pb, como factor independiente de riesgo.

Agradecimientos: A los colegas: María Carolina Acosta, Susana Barreto, Enrique Cabrera, Pablo Jara, María Magdalena Mayor, Deidamia Franco y Roger Ayala, por sus aportes en la lectura del manuscrito. A los estudiantes de Medicina: Alfredo Riveros, Miguel Arroyo, Carolina Rojas, Selene Rojas, Paola Ramirez, Talía Torres, Nilda Bobadilla, Gladys Molinas y Lourdes Méndez, quienes extrajeron las muestras de sangre a ser analizadas y midieron la presión arterial de los sujetos que formaron parte del estudio.

Referencias

1. Lauwerys R, Bernard A. Preclinical detection of nephrotoxicity: description of the tests and appraisal of their significance. *Toxicol Lett* 1989; 46: 13-29.
2. Mutti A. Detection of renal diseases in humans: developing markers and methods. *Toxicol Lett* 1989; 46: 177-91.
3. Cárdenas A, Roels H, Bernard AM, Barbón R, Buchet JP, Lauwerys R, et al. Markers of early renal changes induced by industrial pollutants. I Applications to workers exposed to mercury vapour. *Br J Ind Med* 1993; 50: 17-27.
4. Ritz E, Mann J, Stoeppler M. Lead and the kidney. *Adv Nephrol* 1988; 17: 241-74.
5. Bennet WM. Lead nephropathy. *Kidney Int* 1985; 28: 212-20.
6. Weede R. Lead nephropathy. In *Clinical Nephrotoxins. Renal Injury from drugs and chemicals*. De Broe M and Porter G (editors). Springer Press. New York. USA 2008; pp: 773-83.
7. Staessen J, Lauwerys RR, Buchet JP, Bulpitt CJ, Rondia D, Vanrenterghem Y, et al. Impairment of renal function with increasing blood lead concentration in the general population. The Cadmibel study group. *N Eng J Med* 1994; 327: 151-6.
8. Hallan SI, Coresh J, Astor BC, Asberg BC, Powe N, Romundstad S, et al. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2275-84.
9. Weaver VM, Griswold M, Todd AC, Jaar B, Ahn KD, Thompson C, et al. Longitudinal associations between lead dose and renal function in lead workers. *Environ Res* 2009; 109: 101-7.
10. Lin J, Lin-Tan D, Yu C-C, Li Y-J, Huang Y-Y, Li K-L. Environmental exposure to lead and progressive diabetic nephropathy in patients with type II diabetes. *Kidney International* 2006; 69: 2049-56.
11. Cárdenas A, Roels H, Bernard AM, Barbón R, Buchet JP, Lauwerys R, et al. Markers of early renal changes induced by industrial pollutants. II Applications to workers exposed to lead. *Br J Ind Med* 1992; 50: 28-36.
12. Montañés R, Bover J, Oliver A, Ballarin JA, Gracia S. Valoración de la nueva ecuación CDK-EPI para la estimación del Filtrado Glomerular. *Nefrología* 2010; 30 (2): 185-94.
13. D'Haese, PC, Lamberts, LV, Liang L, Van der Vyver FL, De Broe ME. Elimination of matrix and spectral interferences in the measurements of lead and cadmium in urine and blood by electrothermal atomic absorption spectrometry with deuterium background correction. *Clinical Chemistry* 1991; 37: 1583-8.
14. Verpooten G, Nuyts G, Hoylaerts M, Nouwen E, Vasanylova Z, Dhlopolek P, et al. Immunoassay in urine of a specific marker for proximal tubular S3 segment. *Clinical Chemistry* 1992; 38: 642-7.
15. Bernard A, Lauwerys R. Continuous-flow system for automation of latex immunoassay by particle counting. *Clinical Chemistry* 1983; 29: 1007-11.
16. Evans M, Elinder C. Chronic renal failure from lead: myth or evidence-based fact? *Kidney Int* 2011; 79: 272-9.