

---

# Wetenschappelijke relevantie en irrelevantie van genetische vatbaarheid voor normstelling bij risicobeheersing.

Karel Van Damme, Alix Collard en Ludwine Casteleyn

Epidemiology and Community Medicine, University of Antwerp,

LAMBDA, FUNDP, Namur

Centrum voor Menselijke Erfelijkheid, KUL, Leuven

---

## INHOUD

---

<b>I</b>	<b>Inleiding</b>	<b>P 3</b>
<b>I.1</b>	<b>Context en algemeen kader waarin het onderzoek zich afspeelt</b>	<b>p 3</b>
<b>I.2</b>	<b>Doelstellingen van het onderzoek</b>	<b>P 6</b>
<b>II</b>	<b>Theoretisch kader</b>	<b>P 7</b>
<b>III</b>	<b>Methode</b>	<b>P 8</b>
<b>III.1</b>	<b>Werknemers blootgesteld aan benzeen</b>	<b>p 8</b>
<b>III.2</b>	<b>Patiënten die lijden aan Myelodysplasie/Leukemie</b>	<b>P 15</b>
<b>IV</b>	<b>Resultaten</b>	<b>p 16</b>
<b>V</b>	<b>Bespreking</b>	<b>p 19</b>
<b>VI</b>	<b>Referenties</b>	<b>p 24</b>

## I INLEIDING

### I.1 Context en algemeen kader waarin het onderzoek zich afspeelt

Al ons onderzoek binnen het wetenschappelijk ondersteuningsprogramma voor de gezondheidsbescherming van de werknemer moet beschouwd worden als een consistente voortzetting van eerdere onderzoeksactiviteiten. Hetzelfde team heeft in zijn opeenvolgende onderzoeksactiviteiten vanaf 1988 tot heden steeds zijn onderzoeksobjectieven en -methoden aangepast om aldus maximaal te kunnen antwoorden op de behoeften en de nieuwe mogelijkheden van de wetenschap als op de vraag tot preventie in de arbeidsgeneeskunde, vooral wat betreft het voorkomen van beroepsgerelateerde hematolymfopoietische aandoeningen. Snelle resultaten halen waren daarbij nooit een doelstelling bij het bepalen van de onderzoeksprioriteiten. De leden van het team zochten veeleer naar manieren om de gegevens waar zij vanwege hun dagelijkse inzet in de wereld van de arbeidsgeneeskunde toegang tot hadden - en die wereldwijd als uniek beschouwd worden – optimaal te gebruiken. Wat begon als een beschrijvend epidemiologisch onderzoek inzake beroepskanker en een studie van benzeen geïnduceerde effecten op het perifere bloedbeeld, is geëvolueerd tot een stap voor stap ontwikkelen van methoden en opzetten van studies die moeten uitmonden in een beter begrip van de relatie tussen arbeidsrisico's en genetische susceptibiliteit aan de ene kant en nadelige gezondheidseffecten en blootstellinggebonden specifieke genoom afwijkingen aan de andere kant.

De eerste studie over beroepsgebonden kanker was gebaseerd op individuele medische gegevens zoals bijgehouden door de arbeidsgeneesheren van verschillende bedrijven. Op dat ogenblik bestond in België geen kanker register. De studie toonde op unieke wijze aan hoe bestaande gegevens uit individuele medische dossiers kunnen gebruikt worden voor onderzoek, zelfs in afwezigheid van referentie gegevens. Deze zeer tijdrovende kankerstudie toonde een *excess* aan voor de ziekte van Hodgkin in de scheikundige en de petrochemische nijverheid. De studie was uiteindelijk een belangrijk argument om regionale kankerregisters op te richten in België, nog voor dit opgelegd werd op Europees niveau.

Tezelfdertijd werd, eveneens gebaseerd op medische gegevens bijgehouden door de bedrijfsarts, een studie opgezet die het effect onderzocht van blootstelling aan lage doses benzeen op het perifere bloedbeeld. Ook deze studie was bijzonder tijdrovend. Ze resulteerde wel in de (wereldwijd) grootste database ooit bestudeerd en toonde met een uitzonderlijke hoge betrouwbaarheid aan dat benzeen blootstelling boven 0.5 ppm nog kan leiden tot mogelijks nadelige effecten en dat sommige van die effecten (meer

bepaald de specifieke veranderingen in het perifere bloedbeeld) tenminste gedeeltelijk omkeerbaar zijn onder 0.5 ppm. Deze studie, en het daarbij horende rapport van het onderzoeksteam aan de *'Scientific Expert Group on Occupational Exposure Limit Values'* in de schoot van de Europese Commissie, liggen aan de basis van de Europese TLV waarde die geen beroepsblootstelling toelaat boven 1 ppm.

Tezelfdertijd zetten leden van het team ook Europees onderzoek op over de ethische, sociale en wetenschappelijke problemen van genetische *screening* en genetische *biomonitoring* praktijken in de arbeidsgeneeskunde, een thema dat hun bezorgdheid had gewekt omdat zowel de bescherming van de gezondheid als de toegang tot arbeid in het gedrang kon komen. Ze ondernamen ook een Europese studie over aangeboren leukemie, een ziekte die soms beschreven wordt als een door de natuur geleverd uniek experiment om blootstellinggebonden karakteristieke genoomveranderingen te bestuderen. Op deze manier kwam eerder epidemiologisch onderzoek van het team samen met genetische aspecten van arbeidsgezondheidszorg.

Overeenkomstig de vereisten van het volgende onderzoeksprogramma van het Belgisch wetenschapsbeleid, en omwille van de nog zeer controversiële en niet onderzochte wetenschappelijke hypothesen rond blootstellinggebonden karakteristieke genoomveranderingen, werd vervolgens een *case-referent* studie uitgevoerd over Myelodysplastisch Syndroom (MDS), een ziekte waarvoor causale factoren werden geïdentificeerd en de associatie met specifieke chromosomale afwijkingen werd bestudeerd en aangetoond.

Aanduidingen voor een verband tussen uitwendige blootstelling en clonale chromosomale anomalieën waren reeds lang voorhanden. De idee was een uitvloeisel van een publicatie van Prof. dr. H. Van den Berghe *et al* die reeds in 1974 verscheen in *Nature* met als titel: *Distinct haematological disorder with deletion of long arm of No. 5 chromosome*". Deze verworven structurele aantasting van het genoom die aangetroffen werd bij myelodysplasie/leukemie opende een gans onderzoeksveld: myeloïde leukemie als environmenteel geïnduceerd proces.

Dit onderzoek beoogde de studie van het verband tussen mogelijke environmentele oorzaken van kanker en specifieke genoomaantastingen in de kankercellen, alsook naar de mogelijke relevantie van zulke kennis met betrekking tot de preventie, de herkenning en de (medico-legale) erkenning van beroepsziekten

Het onderzoek bewoog zich tussen twee vragen, waarvan de eerste gedeeltelijk werd beantwoord en de tweede nauwelijks werd ontgonnen. De eerste vraag was of de aanwezigheid van bepaalde clonale chromosomale anomalieën een aanduiding kon vormen dat uitwendige blootstelling de majeure verklaring is voor het ontstaan van

leukemie. De tweede vraag luidde of bepaalde chromosomale anomalieën die bij sommige kankers worden vastgesteld in rechtstreeks verband kunnen gebracht worden met welbepaalde blootstellingfactoren.

Voor deze studie werd een nieuwe epidemiologische strategie ontwikkeld, *in casu* een nieuwe bevrachtingstrategie en een *a posteriori* opdeling in blootstellingcategorieën.

Dit was noodzakelijk om uiterst precieze blootstellinginformatie te bekomen, wat inderdaad essentieel is om associaties met chromosomale afwijkingen te onderzoeken en om in de statistische analyse rekening te kunnen houden met de latentietijd door alle verzamelde informatie op een tijdschaal uit te zetten en op consistentie te evalueren.

Met deze bevragingmethode werd voldoende statistische gevoeligheid bekomen ondanks het kleine aantal cases. De studie toonde onder meer een associatie aan tussen MDS, blootstelling aan pesticiden en verschillende chromosomale afwijkingen erkend als milieu-geïnduceerd.

Als bijkomende doelstelling en als een verlengstuk ervan werd in de loop van het onderzoek besloten tot het uitwerken van een onderzoeksopzet om de mogelijke betekenis te verkennen van genetische vatbaarheidfactoren, en meer bepaald van polymorfe genen die betrokken zijn bij het metabolisme van lichaamsvreemde scheikundige stoffen, in het ontstaan en de ontwikkeling van MDS en andere hematolymfopoïetische aandoeningen. Indien genetische susceptibiliteitsfactoren het antwoord op genotoxische agentia aanzienlijk kunnen beïnvloeden, dan is de identificatie van deze factoren belangrijk voor de studie van blootstellingspecifieke genoomwijzigingen.

Een dergelijk project over genetische susceptibiliteit werd noodzakelijk gevonden om nog onbeantwoorde vragen op te lossen inzake de mogelijke relatie tussen specifieke genetische polymorfismen en het risico voor hematologische kankers als gevolg van specifieke blootstellingen.

De fase I en II projecten van het onderzoeksnetwerk in het 'Wetenschappelijk ondersteuningsprogramma voor de Gezondheidsbescherming van de Werknemer' waren te beschouwen als een voortzetting van de bovenvermeldde projecten.

Vermits het onderzoeksproject over blootstellingspecifieke genoomafwijkingen en preventie en van beroepsgerelateerde kankers aantoonde dat blootstellingspecifieke letsels beter bestudeerd werden in relatie met mogelijks relevante genetische susceptibiliteitsfactoren, stelden we in fase I van het programma (1998-2003) een valorisatie project voor over genetische susceptibiliteit bij normstelling voor preventie van beroepsgerelateerde kanker en ander beroepsziekten. Dit sloot aan bij de groeiende maatschappelijke belangstelling en de nood aan discussie over de relevantie en

aanvaardbaarheid of niet-aanvaardbaarheid van het testen voor genetische susceptibiliteit.

De volgende objectieven werden weerhouden voor financiering onder fase I:

- (1) Opvolgen van het wetenschappelijk onderzoek inzake de genetische susceptibiliteit, met inbegrip van directe contacten en samenwerking met andere research groepen.
- (2) Creëren van een web-site voor informatie en contact betreffende genetische susceptibiliteit op het gebied van de beheersing van de gezondheidsrisico's bij de arbeid. De web-site moest toegankelijk zijn voor sociale partners, de overheid, arbeidsgeneesheren en andere professionelen inzake gezondheid bij de arbeid, wetenschappers, etc... met als doel het ter beschikking stellen van degelijke wetenschappelijke informatie en aldus het debat te verhelderen.

Het project kreeg als naam: 'Follow-up en verspreiding van informatie over de wetenschappelijke relevantie en irrelevantie van genetische susceptibiliteit voor normstelling bij risicobeheersing'.

## **I.2 Doelstellingen van het onderzoek**

In fase II van het programma werd een voorstel gefinancierd met de volgende doelstellingen:

- hypotheses genereren over de relatie tussen genetische gevoeligheidsfactoren, waarvan bekend is dat ze betrokken zijn in het metabolisme van xenobiotische agentia, en het effect van gematigde blootstelling aan benzeen op het perifere bloedbeeld van gezonde werknemers;
- bijdragen tot een beter begrip van de relatie tussen environmenteel geïnduceerde veranderingen in het perifere bloed en het risico voor ernstige hematolymfopoiëtische aandoeningen;

Het project kreeg de naam: 'Wetenschappelijke relevantie en irrelevantie van genetische susceptibiliteit bij normstelling voor risicobeheersing'

Dit project beoogde (1) de studie van de associatie tussen genetische susceptibiliteitsfactoren waarvan geweten is dat ze betrokken zijn bij het metabolisme van lichaamsvreemde scheikundige stoffen en het risico voor ernstige hematolymfopoiëtische aandoeningen, met als doel referentiemateriaal te produceren voor de studie - bij benzeenblootgestelde werknemers - van het verband tussen perifere

bloedbeeldafwijkingen en genetische susceptibiliteitfactoren en (2) het begrip van de mogelijke betekenis van perifere bloedbeelden en genetische factoren bij de preventie van ernstige hematolymfopoiëtische aandoeningen onder benzeenblootgestelde werknemers.

## II THEORETISCH KADER

Van een serie van polymorfe genen is reeds enige tijd bekend of wordt verondersteld dat zij interfereren met het metabolisme van genotoxische stoffen. Hun verdeling wordt bestudeerd en vergeleken worden bij werknemers die geen reactie vertonen na benzeen blootstelling, bij werknemers die verschillende reversiebele wijzigingen van het perifere bloedbeeld vertonen en bij personen die lijden aan ernstige hematolymfopoiëtische aandoeningen die mogelijk benzeen gerelateerd zijn.

Risico-evaluatie procedures en normstelling nemen impliciet of expliciet stelling met betrekking tot de vatbaarheid van individuen op wie deze normen van toepassing zullen zijn. Vele normen zoals blootstellingslimietwaarden op de arbeidsplaats zijn in het beste geval gebaseerd op epidemiologische gegevens. Extrapolatie van *no-observed-adverse-effect-levels* van één populatie naar een andere kan echter een valkuil zijn. Een van de voornaamste redenen hiervoor is dat de fractie van meer vatbare personen verschillend kan zijn tussen de studie populatie en de populatie waarop de norm wordt toegepast. Limietwaarden kunnen dan ook onvoldoende streng zijn om ook de meer vatbare personen te beschermen. Vanuit het objectief van het beschermen van zowel het recht op arbeid als de gezondheid is het belangrijk dat de normen aan elkeen voldoende bescherming bieden. Om de meer kwetsbare personen te beschermen is dan ook een betere kennis van vatbaarheid en een evaluatie van bestaande limieten noodzakelijk.

Onderzoek naar genetische gevoeligheidsfactoren kan tezelfdertijd een antwoord geven op een aantal nog niet opgeloste vragen omtrent de huidige niet genetische praktijken (ter preventie van ziekten) bij het medisch toezicht in de arbeidsgezondheidszorg.

Een van deze vragen gaat over de betekenis van duidelijke maar reversiebele wijzigingen in het perifere bloedbeeld bij werknemers die blootgesteld zijn aan benzeen. Ondanks dramatische verbeteringen van de arbeidsomstandigheden in veel van deze industrieën bestaat er op dit ogenblik geen garantie voor een volledige uitschakeling van het risico voor ernstige gezondheidseffecten. Daarom moet onderzoek van het perifere bloedbeeld

een onderdeel blijven van het periodisch medisch toezicht bij werknemers blootgesteld aan benzeen. Er bestaat echter nog onzekerheid over de mate waarin sommige - mogelijk benzeen gerelateerde – omkeerbare veranderingen in het bloedbeeld als indicator van een verhoogd risico voor ernstiger effecten kunnen beschouwd worden. Beter inzicht in genetische susceptibiliteitfactoren die elk van deze effecten mogelijk beïnvloeden kan ons begrip hiervan doen toenemen.

In de loop van het onderzoek over blootstellings specifieke genoomafwijkingen en preventie van beroepsgerelateerde kanker werd het duidelijk dat blootstellings specifieke genoomafwijkingen bestudeerd moesten worden samen met mogelijk relevante susceptibiliteitfactoren.

Enkele wetenschappelijke vragen dienen beantwoord te worden en dat vraagt onvermijdelijk een exploratie van aspecten van genetische susceptibiliteit:

- spelen een aantal specifieke polymorfe genen een rol in de gevoeligheid voor sommige types van leukemie, voor beenmerg aplasie, voor pathologisch wijzigingen in het perifere bloedbeeld, en voor veranderingen in het bloedbeeld bij gezonde werknemers die blootgesteld waren aan benzeen?
- vinden we een zelfde (of verschillende) verdelingspatronen van deze polymorfe genen voor al deze mogelijke effecten. Zijn deze verschillende effecten met andere woorden aan elkaar verwant of niet?
- wat betekenen veranderingen in het perifere bloedbeeld, vastgesteld bij het medisch toezicht van blootgestelde werknemers, voor het risico voor ernstige hematolymfopoiëtische aandoeningen?

Om een bijdrage te leveren tot het vinden van antwoorden op deze vragen werd het idee ontwikkeld om de relatie te onderzoeken tussen traditionele tests gebruikt bij het periodiek medisch onderzoek en genetische susceptibiliteits tests/factoren, dit bij werknemers blootgesteld aan stoffen die het risico voor hematolymfopoiëtische kankers en myelodysplastisch syndroom kunnen doen toenemen. Met het oog op de ontwikkeling van hypothesen werd de relatie tussen perifere bloedbeelden, benzeen blootstelling en welbepaalde genetische polymorfismen onderzocht. Ook de verdeling van dezelfde genetische polymorfismen bij patiënten met myelodysplastisch syndroom moet onderzocht worden.

Een focus op susceptibiliteit in relatie met normstelling voor preventie van beroepsgerelateerde kankers en andere beroepsziekten sloot aan bij de eerder vermelde groeiende maatschappelijke belangstelling en bij de nood aan discussie over de revantie



en aanvaardbaarheid of niet-aanvaardbaarheid van genetische susceptibiliteits tests voor werknemers blootgesteld aan toxische stoffen.

### **III METHODE**

De relatie tussen omkeerbare veranderingen in het perifere bloedbeeld van werknemers die blootgesteld zijn aan benzeen en het risico van ernstige hematolymfopoietische aandoeningen zal bestudeerd worden samen met de genetische susceptibiliteitsfactoren die deze beide effecten mogelijk beïnvloeden. Hiertoe worden 2 verschillende populaties bestudeerd: (1) werknemers blootgesteld aan benzeen en (2) patiënten die lijden aan Myelodysplastisch Syndroom en Leukemie.

#### **III. 1 Werknemers blootgesteld aan benzeen**

Voor dit onderzoek kon vertrokken worden van een bestaande database van perifere bloedbeelden die in het kader van een eerder onderzoek over ‘Kanker incidentie bij werknemers in scheikundige en petrochemische nijverheid’ (Impuls programma gezondheidsrisico’s - Contract NR HH/06/038) werd samengesteld.

De volgende informatie was beschikbaar:

- een database met 13.539 perifere bloedbeelden bij 360 werknemers in de petrochemische nijverheid;
- een historische reconstructie van de blootstellinggegevens van deze werknemers aan de hand van 3867 stationaire luchtmetingen;
- een database van 13.796 perifere bloedbeelden bij 2 589 werknemers uit de scheikundige nijverheid die geen noemenswaardige beroepsblootstelling aan benzene hadden.

De database van 13.539 perifere bloedbeelden bij 360 benzeen blootgestelde werknemers was geselecteerd uit de individuele medische dossiers die bewaard werden door de arbeidsgeneesheer van een petrochemisch bedrijf. De originele data omvatten 17.404 perifere bloedbeelden genomen van 1966 tot 1989 bij 457 mogelijk benzeen blootgestelde werknemers. Enkel personen die voor het eerst tewerkgesteld waren vóór 1978 werden opgenomen in het geselecteerde bestand. Personen met minder dan 5 bloedstalen werden niet opgenomen. Ook stalen die afgenomen werden ter controle van een abnormaal resultaat werden niet opgenomen. Van elk individu waren de volgende

gegevens beschikbaar: code nummer, geboortedatum, totaal aantal stalen, en de resultaten van elk staal : datum van staalafname, aantal maanden verlopen sinds eerste staalname en sinds vorige staalname, hemoglobine gehalte, hematocriet, aantal rode bloedcellen, aantal trombocyten, aantal witte bloedcellen, met meestal ook de verdeling in neutrofielen, granulocyten en lymfocyten;

De initiële database van benzeen blootgestelde werknemers werd aangevuld met de bloedbeeldgegevens van dezelfde werknemers tijdens meer recente jaren, *in casu* de jaren 1989 tot en met 2000. Deze gegevens waren beschikbaar in een elektronische database van de arbeidsgeneeskundige dienst vanaf 1992. Voor de jaren tussen 1989 en 1992 moesten ze nog manueel ingevoerd worden in de elektronische database. De andere data werden nagezien op overeenkomst met de geschreven documenten.

Aangezien de studiepopulatie samengesteld werd uit alle werknemers en gepensioneerden van een petrochemisch bedrijf die mogelijk blootgesteld waren aan benzeen en bij wie tenminste 5 bloedbeeld resultaten beschikbaar waren voor het einde van 1989 en ook omdat in dit bedrijf geen traditie bestond om mensen uit te sluiten voor redenen die in deze studie van belang zijn, noch een traditie om werknemers te selecteren op basis van genetische polymorfismen of op basis van gezondheidsproblemen in relatie met benzeen blootstelling, konden we deze populatie beschouwen als niet geselecteerd wat betreft de genetische polymorfismen die we bestudeerden.

Om de individuen uit de populatie te selecteren werd een procedure ontwikkeld gebaseerd op 2 complementaire benaderingen: een subjectieve interpretatie van gegevens door experts (1) enerzijds en een wiskundige benadering (2) anderzijds. De ontwikkeling van deze procedure bestond uit de confrontatie van beide benaderingen die moet uitmonden in een verbetering van de onderlinge consistentie.

De aldus gerealiseerde maximalisatie van de betrouwbaarheid waarmee de leden van de studiebasis worden ingedeeld in verschillende effect categorieën in functie van de blootstellinggeschiedenis werd als cruciaal beschouwd om de relatie te bestuderen tussen genetische polymorfismen en gevoeligheid aan benzeen geïnduceerde effecten. Dit is echter een complex proces. Een beperking van het aantal leden die opgenomen worden in elke categorie tot diegenen die het duidelijkst aan de indelingscriteria beantwoorden vergroot het contrast tussen de effect categorieën en de sensitiviteit van de vergelijking. Om de frequentie van genetische polymorfismen in een referentie populatie in te schatten werden gegevens verzameld bij alle actuele werknemers die bloed afstonden voor genetische analyse. De grootte van die steekproef moest – voor zover mogelijk – in verhouding zijn met de verwachte frequentie van voorkomen van elk bestudeerd polymorfisme.

De susceptibiliteit die verband kan houden met de genetische polymorfismen moet vergeleken worden tussen de categorieën door middel van een Fisher's exact test voor de hypothese dat iedere categorie van benzeeneffecten zoals gedefinieerd door de arbeidsgeneeskundigen zou kunnen geassocieerd zijn met een specifiek polymorfisme of een combinatie van polymorfismen.

Het verband tussen perifere bloedbeeldtellingen, blootstelling aan benzeen en specifieke genetische polymorfismen moet dus bestudeerd worden vertrekkende van de bovenvermelde benadering. Deze werd als de meest geschikte aangezien om hypothesen te genereren. Vervolgens kunnen deze hypothesen getoetst worden. De complexiteit van het probleem en de natuurlijke variabiliteit en onzekerheid van de biologische gegevens waarmee gewerkt wordt vereisen een strategie die toelaat om duidelijke hypothesen te genereren vooraleer tot een statistisch model kan besloten worden dat toelaat om correct met de complexiteit van de gegevens om te gaan en dus de hypothese te testen. Zulke cascade benadering laat toe het aantal personen dat moet getest worden voor genetische susceptibiliteitsfactoren bij elke stap van de beslissingsboom te beperken. Hypothesen bekomen uit deze benadering kunnen getest worden op grotere groepen van zorgvuldig geselecteerde personen uit de database. De gehele procedure wordt aangeduid als een 'explorerende cascade benadering'. Het volledige onderzoeksteam overweegt alle bevindingen en beslist vervolgens over de volgende stappen. Dit kan een uitbreiding van de studiepopulatie en van het bestand van bloedstalen inhouden.

Op deze manier kunnen genetische polymorfismen geïdentificeerd worden die als relevant kunnen worden beschouwd voor de gevoeligheid voor bepaalde types van omkeerbare wijzigingen in het perifere bloedbeeld.

De frequentie van voorkomen van deze polymorfismen, alleen of in combinatie, in de verschillende categorieën van benzeen blootgestelde werknemers kan vergeleken worden met hun frequentie in de populatie van patiënten met MDS/Leukemie, via zowel een klassieke als een *Bayesian* statistische benadering. Subgroepen van MDS/Leukemie kunnen onderscheiden worden in de analyse.

Het mogelijks verband tussen bepaalde types van veranderingen in het perifeer bloedbeeld en het risico voor ernstige hematolymfopoiëtische aandoeningen kan vervolgens ingeschat worden.

## **Indeling van de werknemers blootgesteld aan benzeen**

Het maximaliseren van de betrouwbaarheid waarmee de leden van de studiebasis worden ingedeeld in verschillende effect categorieën in functie van hun blootstellingsgeschiedenis werd als cruciaal beschouwd om de relatie te bestuderen tussen genetische polymorfismen en gevoeligheid aan benzeen geïnduceerde effecten. Het aantal van de leden die opgenomen worden in elke categorie beperken tot diegenen die het duidelijkst aan de indelingscriteria beantwoorden moet toelaten het contrast tussen de effect categorieën en de sensitiviteit van de vergelijking te vergroten.

Om de populatie in effect categorieën in te delen werd een procedure ontwikkeld, gebaseerd op 2 complementaire benaderingen: een subjectieve interpretatie door experts (1) enerzijds en een wiskundige benadering (2) anderzijds. De procedure wordt verder ontwikkeld door de confrontatie van de beide benaderingen die moet uitmonden in een verbetering van de onderlinge consistentie.

### *(1) Subjectieve interpretatie door experts*

Voor elke persoon in de database werd de evolutie van de bloedbeeldbepalingen geïnterpreteerd door onderzoekers, getraind in arbeidsgeneeskunde en door de arbeidsgeneesheer die de gegevens verzamelde en de dossiers bijhield. Op die manier werd een onderscheid gemaakt worden tussen verschillende types/patronen van veranderingen in het perifeer bloedbeeld in functie van de vermoedelijke individuele benzeenblootstelling.

Voor de blootstellingsgeschiedenis warden volgende discontinue perioden van benzeenblootstelling beschouwd:

1. De late zestiger jaren en de vroege jaren zeventig, toen het bedrijf werd opgestart en de blootstelling aan benzeen relatief hoog was. In deze periode werd benzeen ook nog frequent gebruikt om de handen te wassen, met huidabsorptie als het waarschijnlijke gevolg (periode1);
2. De midden en late jaren zeventig, toen de benzeenblootstelling lager was dan tijdens de vroege fase en het wassen van de handen met benzeen een minder gebruikelijk fenomeen was (periode2).
3. Het midden van de jaren tachtig<sup>1</sup>, toen de blootstelling aan benzeen snel terugviel tot zeer lage tijdgewogen gemiddelden en benzeen niet meer werd gebruikt om de handen te wassen (periode3);

Om de individuen in te delen werd deze algemene inschatting van de blootstelling volgens de periode aangevuld met een inschatting van de individuele blootstelling afgaande op de resultaten van luchtmetingen van het departement waar gewerkt werd en de uitgeoefende activiteit, evenals andere mogelijk relevante gegevens waarvan de arbeidsgeneesheer op de hoogte was, zoals ziektegeschiedenis en medicatie. Dit laatste kon een mogelijke *confounder* zijn bij de interpretatie van de relatie tussen bloedbeeldtellingen en benzeenblootstelling.

De individuen werden - in een eerste fase - op de volgende manier verder ingedeeld naargelang hun bloedbeeldtellingen en in vergelijking met een referentiepopulatie:

- Individuen die consistent een laag aantal witte bloedcellen vertonen in periode 1 en/of 2, maar in periode 3 overgaan naar hogere waarden, die als gemiddelde waarden kunnen beschouwd worden;
- Individuen die consistent een hoog aantal witte bloedcellen vertonen in periode 1 en/of 2, maar in periode 3 overgaan naar lagere waarden, die als gemiddelde waarden kunnen beschouwd worden
- Individuen die consistent een hoog aantal witte bloedcellen vertonen in periode 1 en/of 2, maar in periode 3 overgaan naar lagere waarden, die als gemiddelde waarden kunnen beschouwd worden;
- Individuen die nauwelijks enige variabiliteit vertonen in het aantal witte bloedcellen gedurende de periodes 1, 2 en 3.
- Individuen die een grote variabiliteit vertonen in het aantal witte bloedcellen zonder een duidelijk verband met de blootstellingsperiodes;
- Individuen die consistent een laag aantal lymfocyten vertonen in periode 1 en/of 2, maar in periode 3 overgaan naar hogere waarden, die als gemiddelde waarden kunnen beschouwd worden;
- Individuen die consistent een hoog aantal lymfocyten vertonen in periode 1 en/of 2, maar in periode 3 overgaan naar hogere waarden, die als gemiddelde waarden kunnen beschouwd worden;
- Individuen die vooral in de vroege periodes wijzigingen vertonen van andere dan de witte bloedcellen.

## (2) *Mathematische benadering*

De resultaten van deze selectie en indeling in effectcategorieën door medische en arbeidsgezondheidkundige experts werd dan getoetst aan een wiskundige benadering van dezelfde gegevens. Een *trial and error* proces werd aangewend waarbij, vertrekkend van een wiskundige vertaling van de oorspronkelijke omschrijving van de categorieën, een vergelijking werd gemaakt tussen de werknemers die in de categorie hadden moeten

ingedeeld worden en deze die er werkelijk in ingedeeld waren. Dit liet toe oorzaken van discrepanties te begrijpen en criteria voor indeling aan te passen. Dit proces werd afgerond van zodra de mogelijke discrepantie tussen de lijst bepaald door de medische experts en de lijst opgesteld volgens de vastgestelde criteria als verwaarloosbaar werd beschouwd door de arbeidsgeneeskundigen.

### **Selectie van genetische tests**

Aangezien in de gegevensbank geen informatie beschikbaar was over polymorfismen, zullen resultaten van genetische tests voor een reeks polymorfismen moeten verzameld worden via bloedstalen van geselecteerde personen uit de studiepopulatie die hiermee instemmen. De analyse van de stalen vond plaats in het Finnish Institute of Occupational Health (laboratorium van Dr. A. Hirvonen).

De volgende polymorfe genen werden aanvankelijk weerhouden voor de studie:

- GSTM1 en GSTT1 coderen voor glutathione S-transferases M1 en T1, een familie van isoenzymes die de conjugation van reaktieve species met glutathione catalyseren. Individuen met GSTT1 null genotype zouden een verhoogde susceptibiliteit voor MDS hebben (Chen et al, 1996);
- CYP 2E1 coderend voor P450 2E1, een enzym betrokken bij het metabolisme van verscheidene stoffen waaronder benzeen.
- NQO1 coderend voor het NQO1 enzyme dat benzoquinones (dit zijn krachtige hematotoxische en genotoxische benzeenmetabolieten) omvormt tot hun minder toxische metabolieten. Een hogere frequentie van NQO1 inactiverende polymorfismen werd geïdentificeerd in subjecten die hematotoxiciteit vertoonden na benzeen blootstelling.

In aansluiting met de meest recente literatuur gegevens over dit onderwerp werden ook andere polymorfismen toegevoegd aan de lijst tijdens dit project, wegens mogelijke interferentie met het metabolisme van stoffen die toxisch kunnen zijn voor het hematolymfopoïetisch systeem en voor de DNA repair mechanismen in het algemeen. Uiteindelijk werden voor de volgende genotypes getest: GSTM1, GSTM3, GSTT1, GSTP1, CYP2E1, CYP2A6, CYP1A1, NQO1, NAT2, XRCC1, XRCC3, XPD.

## **Staalname bij geselecteerde individuen uit de studie populatie die hun instemming verleenden**

Voor de geselecteerde werknemers die nog in het bedrijf actief waren gebeurde de staalname door de arbeidsgeneesheer ter gelegenheid van het periodiek medisch onderzoek, dat plaatsvindt overeenkomstig de wettelijke voorschriften. De arbeidsgeneesheer gaf bij die gelegenheid informatie aan elke geselecteerde werknemer en vroeg om hun schriftelijke instemming (dit bovenop de voorafgaande algemene instemming van het Comité).

Een aantal van de geselecteerde werknemers was al met pensioen op het ogenblik van het onderzoek. Zij werden gecontacteerd via de vereniging van de gepensioneerde werknemers van het bedrijf, en uitgenodigd op een vergadering waarin de onderzoekers zo helder mogelijk de aard van het onderzoeksproject, het waarom van hun selectie, de wijze waarop het onderzoek verloopt, en de maatregelen ter vrijwaring van de vertrouwelijkheid uiteenzetten. Alle vrijwilligers gaven een bloedstaal na schriftelijk *'informed consent'*. Opvallend was dat alle personen die uitgenodigd waren en fysisch in staat waren om er te zijn er effectief waren en dat iedereen graag heeft deelgenomen.

Alle stalen (5 cc bloed in EDTA tube) werden onmiddellijk gecodeerd. De code is enkel bekend aan de arbeidsgeneesheer, de verpleegkundige die assisteerde bij de staalname, en de artsen onderzoekers.

De gecodeerde stalen werden bewaard bij  $-20^{\circ}\text{C}$  in de arbeidsgeneeskundige dienst in overeenstemming met alle Belgische regels inzake vertrouwelijkheid hun transport naar het Finse laboratorium.

### **III.2 Patiënten die lijden aan Myelodysplasie /Leukemie**

Deze onderzoeksgroep moet bestaan uit alle volwassen patiënten die lijden aan myelodysplasie of aan een type van mogelijks benzeen gerelateerde leukemie die gedurende een bepaalde periode gediagnosticeerd of behandeld werden in het hematologie departement van één van de ziekenhuizen die deel uitmaakten van een netwerk uit een vroegere studie over 'Exposure specific genomic lesions in Myelodysplastic Syndromes'- (Programma ter wetenschappelijke ondersteuning van de bescherming van de gezondheid van werknemers, contract nr. ST/03/23). Aan deze

patiënten werd gevraagd om te participeren. Zij die aanvaarden vormen de studie populatie.

#### IV. RESULTATEN

##### Beschrijving van de genotypes voor de 56 subjecten:

##### CYP1A1:

Wild type (code 0)	49 (87.5%) subjects
MspI variant only (Ile/val = 0 & Msp1=2)	6 (10.7%) subjects (I suppose the 22 in column MspI should be read 2, please check)
exon 7 and MspI variants together (Ile/val = 1 & Msp1=2)	1 (1.8%) subject

##### CYP2E1

Wild type (code Rsa I = 0 & Dra I = 0)	53 (94.6%) subjects
Dra1 variant only (code Rsa I = 0 & Dra I = 1)	2 (3.6%) subjects
Rsa1 and Dra1 variants (code Rsa I = 1 & Dra I = 1)	1 (1.8%) subject

##### GSTM1/T1

Null (code 0)	25 (44.6%) subjects
+-/++ (code 1)	31 (55.4%) subjects



GSMT3	
Both alleles wild type (coded 0)	33 (58.9%) subjects
One variant allele (coded 1)	21 (37.5%) subjects
Both alleles variant (coded 11)	2 (3.6%) subject

GSTP1	
Both alleles wild type (coded 0)	27 (48.2%) subjects
One variant allele (coded 1)	25 (44.6%) subjects
Both alleles variant (coded 11)	4 (7.1%) subjects

NAT2	
NAT2*4 (code 0)	5 (8.9%) subjects
NAT2*5 (code 1)	13 (23.2%) subjects
NAT2*6 (code 3)	6 (10.7%) subjects
NAT2*7 (code 2)	1 (1.8%) subject
?? (code 11)	10 (17.9%) subjects
?? (code 12)	15 (26.8%) subjects
?? (code 13)	2 (3.6%) subjects
?? (code 22)	4 (7.1%) subjects

XRCC1-194	
T/T (code 0)	0 (0%) subjects
A/T (code 1)	8 (14.3%) subjects
A/A (code 11)	48 (85.7%)

XRCC1-280	
A/A (code 0)	1 (1.8%) subject
A/G (code 2)	6 (10.7%) subjects

G/G (code 22)	49 (87.5%) subjects
---------------	---------------------

XRCC1-399
-----------

G/G (code 0)	8 (14.3%) subjects
A/G (code 3)	25 (44.6%) subjects
A/A (code 33)	23 (41.1%) subjects

XRCC2-188
-----------

A/A (code 0)	0 (0%) subject
A/G (code 1)	10 (17.9%) subjects
G/G (code 11)	46 (82.1%) subjects

XRCC3-241
-----------

C/C (code 0)	18 (32.1%) subjects
C/T (code 1)	26 (46.4%) subjects
T/T (code 11)	12 (21.4%) subjects

XPD-exon 6
------------

C/C (code 0)	15 (26.8%) subjects
A/C (code 1)	31 (55.4%) subjects
A/A (code 11)	10(17.8%) subjects

XPD-exon 23
-------------

A/A (code 0)	22 (39.3%) subjects
A/C (code 2)	26 (46.4%) subjects
C/C (code 22)	8 (14.3%) subjects

NQO1	
Wild type (code 0)	39 (69.6%) subjects
Variant allele (code 1)	17 (30.4%)

Van bij de eerste pogingen tot analyse van de bekomen gegevens werd duidelijk dat het correleren van de individuele resultaten qua genetische make-up met de effect categorieën van benzeen geïnduceerde perifere bloedbeeldwijzigingen géén associaties zou aantonen.

## V.      **BESPREKING**

Met het voorhanden zijnde aantal subjecten in elke effect categorie zou het slechts mogelijk geweest zijn om een associatie aan te tonen indien deze zéér sterk zou zijn. De genetische tests toonden een uitgesproken variabiliteit. Reeds op het eerste gezicht was duidelijk dat er geen sprake was van een verband tussen een bepaalde effect categorie en een bepaalde genetische variante of combinatie van genetische eigenschappen. Aangezien er in elke effect categorie slechts een beperkt aantal personen waren, was het hoogst onwaarschijnlijk dat er enige associatie zou kunnen aangetoond worden tussen een bepaalde effect categorie en een bepaalde genetische eigenschap of combinatie van eigenschappen. Bijgevolg zou ook een vergelijking van de genetische eigenschappen van effect categorieën met de genetische eigenschappen van myelodysplastisch syndroom patiënten bvb niet tot enig relevant resultaat kunnen leiden. De vele inspanningen voor dat deel van het onderzoek werden dan ook opgeschort.

Onderzoek naar genetische eigenschappen van MDS patiënten kan erg interessant zijn voor andere redenen, maar in dit onderzoek, had het geen bijdrage meer kunnen leveren tot het beantwoorden van de onderzoeksvraag.

Uit het voorgaande mag men concluderen dat met het oog op het bestuderen van het verband tussen genetisch gemedieerde bijzondere benzeen geïnduceerde wijzigingen in het perifere bloed (concentratie cellen) en het mogelijke risico op ernstige hematolymfopoïetische aandoeningen, er veel meer subjecten moeten bestudeerd worden. Het probleem dat zich daarbij stelt is dat -in zoverre wij op de hoogte zijn van bestaande databases, een groter aantal individuen synoniem is van een veel geringer aantal bloedstalen per individu. Dit maakt een indeling in effect categorieën heel wat

minder accuraat. Daarbij komt nog dat bij de huidige blootstellingsniveaus de effecten minder uitgesproken zullen zijn dan in de door ons bijeengebrachte historische gegevens.

De uitkomst van het onderzoek is eigenlijk illustratief voor het feit dat genetische vatbaarheid een erg complex fenomeen is, en dat het in zeer vele gevallen erg moeilijk zal zijn om een verband aan te tonen. Bijgevolg is het ook erg onwaarschijnlijk dat menselijke epidemiologische studies in de nabije toekomst het antwoord zullen kunnen opleveren op de vraag in welke mate bijzondere benzeen geïnduceerde effecten op het perifere bloedbeeld (of het ontbreken ervan) een verhoogde vatbaarheid zou kunnen verraden aan myelodysplastisch syndroom of hematolymfopoïetische kankers door benzeen blootstelling. Om dezelfde redenen bieden genetische tests in combinatie met perifere bloedbeeldbepalingen (nog) geen toegevoegde waarde voor het identificeren van personen die een merkelijk verhoogd risico zouden hebben op myelodysplastisch syndroom of hematolymfopoïetische kanker ingevolge benzeenblootstelling.

Ons onderzoeksteam heeft dan ook tijdens de laatste maanden zijn inspanningen verlegd naar het voorbereiden van Europese onderzoeksprojecten in samenwerking met vele andere partners met een gemeenschappelijke belangstelling, in de hoop om met onze ervaring te kunne bijdragen tot het bijeenbrengen van gegevensbanken.

Het blijft een permanente zorg van het onderzoeksteam dat de inspanningen worden voortgezet om een beter inzicht te verkrijgen in de relatie tussen risicofactoren in het beroep en genetische vatbaarheidfactoren enerzijds, en nadelige gezondheidseffecten en blootstellingspecifieke genoomaantastingen anderzijds. Een beter inzicht daarin kan op termijn bijdrage tot:

- het ontwikkelen van procedures voor het observeren van populaties voor ongekende of verdachte door de leef- of arbeidsomgeving geïnduceerde kankerrisico's
- het ontwikkelen voor sociale zekerheidssystemen en in het bijzonder voor de compensatie van beroepsgebonden kankers, van wetenschappelijk, onderbouwde criteria voor het onderscheiden van beroepsmatig en niet beroepsmatig geïnduceerde kankers, met het oog op de specifieke vergoeding van wellicht beroepsmatig geïnduceerde kankers
- het opzetten van accurate procedures voor risico-evaluatie van nieuwe en bestaande chemische stoffen, in het bijzonder voor het risico op hematolymfopoïetische kankers, hetgeen moet toelaten om nuttige dierexperimenten te doen waarbij heel wat minder

proefdieren moeten gebruikt worden dan vandaag het geval is, omdat stammen kunnen geselecteerd waarvan de polymorfismen overeenstemmen met deze van mensen met een verhoogde vatbaarheid.

### **Enkele bedenkingen inzake socio-economische, ethische, en wettelijke consequenties van de onderzoekstopic en pistes voor validatie**

De voorwaarden en de context voor het wetenschappelijk onderzoek inzake gezondheid bij de arbeid ondergingen en ondergaan verschuivingen.

De toenemende industriële machtsconcentratie in wereldwijd actieve ondernemingen lijkt gepaard te gaan met een toenemende greep van diezelfde ondernemingen op het wetenschappelijk onderzoek inzake gezondheidsbedreigende factoren bij de arbeid. Epidemiologen worden ingehuurd door deze ondernemingen om op de werknemerspopulatie onderzoek te verrichten, dat bij voorkeur niet zou leiden tot resultaten die het economische belang van de onderneming kunnen schaden.

Hiervoor zijn een aantal redenen aan te halen.

- De identificatie van gevaarlijke eigenschappen van producten is het voorwerp van internationale regelgeving (in het kader van het opheffen van handelsbelemmeringen). Deze procedures kunnen aanleiding geven tot een officiële klassering van een product, b.v. als kankerverwekkend of mutageen, met directe commerciële gevolgen.
- In een deel van de geïndustrialiseerde wereld is het mogelijk dat reusachtige schadeclaims worden ingediend ten aanzien van bedrijven door eventuele slachtoffers van blootstelling. Dit kunnen zowel werknemers zijn als andere burgers.
- De inschatting van het blootstellingsniveau waarbij zich bepaalde effecten voordoen, kan aanleiding geven tot strengere blootstellinggrenswaarden, hetgeen de productiekost kan verhogen.

Maar ook: bedrijven die investeren in de ontwikkeling of de marketing van genetische tests kunnen een belang hebben in het overschatten van de relevantie ervan.

Als gevolg van deze tendens ontstaat er ook een ongelijke toegang tot onderzoeksgegevens tussen mogelijk partijdige en onpartijdige onderzoekers. Zodoende worden gegevens, die na onderzoek tot belangrijke kennis kunnen leiden voor de bescherming van mensen, steeds minder tot een publiek goed. Onverminderd deze tendens, hebben we de indruk dat er in het algemeen relatief meer goede wil is om onderzoeksgegevens ter beschikking te stellen in landen met een stevig uitgebouwd

systeem van sociale bescherming, waaronder sociale zekerheid en een sociaal gecontroleerde en gestuurde arbeidsgeneeskunde.

De grote financiële belangen die met de commercialisering van genetische tests gepaard gaan, zullen leiden tot het uitbreiden van de toepassingen van deze tests naar domeinen waarin zij vanuit het oogpunt van sociale bescherming veelal zinloos of onaanvaardbaar zijn. Het selecteren van werknemers op grond van genetische tests is zo'n domein. Bij de terbeschikkingstelling ervan zal men ze de potentiële gebruikers aanpraten met een 'wetenschappelijk' discours dat al dan niet op wetenschappelijk verdedigbare gronden berust, maar dat allicht in zeer veel gevallen speculeert op een onwetenschappelijk deterministisch denken.

De kans dat een aantal problemen die dringend een wetenschappelijke analyse behoeven, ook effectief het voorwerp zal uitmaken van een systematisch wetenschappelijk onderzoek lijkt niet erg groot. We denken dan bijvoorbeeld aan de merkkelijk geringere levensverwachting bij minder geschoolden. Het feit dat er omvangrijke en gereputeerde onderzoeksinstituten bestaan in Europa, die veelal op tripartiete basis worden bestuurd, lijkt daaraan weinig te veranderen. Alhoewel dergelijke vaststellingen mede aan de basis lagen van de verantwoording van het bestaan en de uitbouw van deze instituten, lijkt er een zekere schroom te bestaan om dit soort thema's aan te boren.

Een flexibele arbeidsmarkt staat gelijk met onstabiele onderzoekspopulaties. De beste manier om effecten van agentia op mensen te ontdekken bestaat erin deze effecten te bestuderen bij populaties die een hoge blootstelling hebben ondergaan. Het feit dat diegenen die de grootste beroepsrisico's hebben, zich meer en meer in onstabiele arbeidssituaties bevinden, zal epidemiologisch onderzoek naar effecten van agentia op mensen om velerlei praktische redenen moeilijker maken. Hetzelfde geldt overigens voor de identificatie van beroepsziekten in deze categorieën van werknemers: zeer velen onder hen – en vaak de zwakkeren – worden niet systematisch teruggezien op periodiek medisch onderzoek, om de eenvoudige reden dat ze niet meer in hetzelfde bedrijf werken.

De afgelopen jaren maakte ook het concept van de bescherming van de persoonlijke levenssfeer opgang, en werd in wetten gegoten die het belang ervan onvoldoende afwegen tegen andere maatschappelijke belangen. Een pervers neveneffect daarvan is dat de toegang tot gegevens voor wetenschappelijk onderzoek erdoor wordt bemoeilijkt. Daarenboven dreigt de feitelijke ongelijkheid in toegang tot sommige gegevens tussen mogelijks partijdige en onpartijdige onderzoekers erdoor te worden aangescherpt. Het is betreurenswaardig dat de huidige wetgeving een al te ruime definitie geeft van wat als

wetenschappelijk onderzoek kan worden beschouwd. Puur marktonderzoek, uitgevoerd met directe commerciële bedoelingen, wordt als het ware gelijkgeschakeld met epidemiologisch onderzoek, dat naar oorzaken van kankers wil speuren.

We hebben méér publiek gefinancierd onderzoek naar genetische vatbaarheid voor beroepsziekten nodig om ons ervan te verzekeren dat genetische tests enkel gebruikt zullen worden wanneer ze zinvol en aanvaardbaar zijn. Het is niet ondenkbaar dat er commerciële dienstencentra gaan ontstaan, die aan werkgevers genetische tests en medische beeldvorming aanbieden voor hun kandidaat-werknemers. Het onpartijdig wetenschappelijk discours over de relevantie of irrelevantie van deze praktijken dreigt verstikt te worden door de grote commerciële belangen die met de inplanting van dergelijke centra gepaard zouden gaan. Wellicht zal men voortdurend moeten ingaan tegen een scheefgetrokken ‘wetenschappelijk’ discours over genetische vatbaarheid. Zonder een sterk uitgebouwd onpartijdig onderzoeksnetwerk zal men in een noodzakelijk democratisch debat géén repliek hebben ten aanzien van dergelijke initiatieven, waarvan we nochtans mogen vermoeden dat ze irrelevante en alleen al daarom onaanvaardbare praktijken zullen aanbieden én toepassen.

Publieke financiering is een middel ter bevordering van onpartijdig onderzoek. Ook onderzoek dat opgezet en gefinancierd wordt door de industrie zelf kan onpartijdig zijn, maar de aanwezigheid van een sterk ontwikkeld aanbod van zeer kwaliteitsvol onderzoek door de overheid gefinancierd zal een belangrijke stimulans zijn voor onpartijdig onderzoek, ook al komt de financiering uit andere bronnen. Publieke onderzoeksfondsen kunnen in het domein van gezondheid bij de arbeid bijdragen tot sociale bescherming. De cruciale vraag in dat verband is in welke richting we ons bewegen op de as tussen het aanpassen van de mens aan de arbeid –bvb door selectie -of het aanpassen van de arbeid aan de mens. Het wetenschappelijk onderzoek dat noodzakelijk is voor het onderbouwen van een sociale beschermingbenadering zal enkel uitgevoerd worden indien de overheid voldoende onderzoeksprogramma's opzet en middelen vrijmaakt voor onpartijdig onderzoek.

### **Enkele bijkomende ethische elementen**

Deze studie heeft toegelaten om verder zowel accurate als pragmatische benaderingen te ontwikkelen die moeten toelaten om aan ethische vereisten te voldoen

DE toegang tot de gegevens werd strikt georganiseerd. Personen met toegang tot de gegevensbank werden beperkt in overeenstemming met de vereisten tot hun rol in het onderzoek:

- de arbeidsgeneesheer van het bedrijf die gebonden zijn is door erg strikte arbeidsbeschermingwetgeving, en door de code van geneeskundige plichtenleer evenals de verpleegkundige onder zijn verantwoordelijkheid;
- de twee artsen onderzoekers die de code die naam van de persoon en staalnummer linkt delen met de arbeidsgeneesheer.
- the statisticus, in zoverre noodzakelijk

In akkoord en met de volle medewerking van de arbeidsgeneesheer, en met de instemming van de directie van het petrochemische bedrijf en met hun volle en loyale medewerking met dit onpartijdig onderzoek, waarvoor we hen zeer erkentelijk zijn, werd het wettelijke Comité voor Preventie en Bescherming, waarin vertegenwoordigers van de werknemers en de werkgever elkaar maandelijks ontmoeten, volledig geïnformeerd over de studie, het opzet ervan, de methodes en de mogelijke resultaten en consequenties. Ook de beschouwingen inzake de bescherming van de persoonlijke levenssfeer en de procedure van geïnformeerde individuele instemming werd besproken. Het Comité heeft unaniem ingestemd met deelname aan het onderzoek.

## **VI Referenties**

Aksov M (1985) Malignancies due to occupational exposure to benzene, *Am F Ind Med*, 2:217-245.

Arruda VR, Lima CS, Grignoli CR, de Melo MB, Lorand-Metze I, Alberto FL, Saad ST, Costa FF, (2001) Increased risk for acute myeloid leukaemia in individuals with glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) and theta 1 (GSTT1) gene defects. *Eur J Haematol*. 66(6):383-8.

Aul C, Gattermann N, Schneider W (1994) Epidemiological and etiological aspects of MDS, Leukemia and Lymphoma, 16:247-262.

Bennet JM, Catovski D, Daniel MT et al (1982) Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes, *British Journal of Haematology*, 51:189-199.

Boogaard PJ, van Sittert NJ, (1995) Biological monitoring of exposure to benzene: a comparison between S-phenylmercapturic acid, trans,trans-muconic acid, and phenol. *Occup Environ Med*. 52(9):611-20.

Brandt L (1992) Exposure to organic solvents and risk of haematological malignancies, *Leukemia Res*, 16:67-70.



Brown LM et al (1990) Pesticide exposures and other risk factors for leukemia among men in Iowa and Minnesota, *Cancer Res*, 50:6585-6591.

Cartwright RA (1992) Incidence and epidemiology of the myelodysplastic syndromes, in: Mufti G, Galton D (eds). *The Myelodysplastic syndromes*. Churchill Livingstone, London, 23-32.

Chen H, Sandler DP, Taylor JA, Shore DL, Liu E, Bloomfield CD, Bell DA, (1996) Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. *Lancet*. 347(8997):295-7.

Chen H, Eastmond DA, (1995) Topoisomerase inhibition by phenolic metabolites: a potential mechanism for benzene's clastogenic effects, *Carcinogenesis*, Oct; 16(10): 2301-7.

Davies SM, Robison LL, Buckley JD, Radloff GA, Ross JA, Perentesis JP, (2000) Glutathione S-transferase polymorphisms in children with myeloid leukemia: a Children's Cancer Group study, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 9(6):563-6.

Davies SM, Robison LL, Buckley JD, Tjoa T, Woods WG, Radloff GA, Ross JA, Perentesis JP, (2001) Glutathione S-transferase polymorphisms and outcome of chemotherapy in childhood acute myeloid leukemia, *J Clin Oncol*. 19(5):1279-87.

Delore P, Borgomano ,(1928) Leucémie aiguë au cours de l'intoxication benzénique. Sur l'origine toxique de certains leucémies aiguës et leur relation avec les anémies graves, *J Med Lyon* 9: 227-33.

Farrow A, Jacobs A, West RR (1989) Myelodysplasia, chemical exposure, and other environmental factors, *Leukemia*, 3:33-35.

Goldberg H et al (1990) Survey of exposure to genotoxic agents in primary myelodysplastic syndrome: correlation with chromosome patterns and data on patients without hematological disease, *Cancer research*, 50:6876-6881.

Greaves M. (1997) Aetiology of acute leukemia, *The Lancet*, 349: 344-9

Greaves M. (1996) Infant Leukaemia biology, aetiology and treatment, *Leukemia* 10: 372-7.

Hirai H, (2003) Molecular mechanisms of myelodysplastic syndrome, *Jpn J Clin Oncol*. 33(4):153-60. Review.

Hirai H, (2002) Molecular pathogenesis of MDS, *Int J Hematol*. 76 Suppl 2:213-21. Review.

Landi S, (2000) Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review, *Mutat Res*. 463(3):247-83. Review.

Mecucci C and Van den Berghe H (1992) Myelodysplastic syndromes, *Cytogenetics*, 6;3:523-541.

Melikian AA, Qu Q, Shore R, Li G, Li H, Jin X, Cohen B, Chen L, Li Y, Yin S, Mu R, Zhang X, Wang Y, (2002) Personal exposure to different levels of benzene and its relationships to the urinary metabolites S-phenylmercapturic acid and trans,trans-muconic acid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 5;778(1-2):211-21.

- Moran JL, Siegel D, Ross D, (1996) A potential mechanism underlying the increased susceptibility of individuals with a polymorphism in NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) to benzene toxicity, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 96(14):8150-5.
- Morgan GJ, Smith MT, (2002) Metabolic enzyme polymorphisms and susceptibility to acute leukemia in adults, *Am J Pharmacogenomics.* 2(2):79-92. Review.
- Nebert DW, Roe AL, Vandale SE, Bingham E, Oakley GG, NAD(P)H (2002) Quinone oxidoreductase (NQO1) polymorphism, exposure to benzene, and predisposition to disease: a HuGE review, *Genet Med.* 4(2):62-70. Review.
- Nisse C, Haguenuer JM et alii (2001) Occupational and environmental risk factors for the myelodysplastic syndromes in the north of France, *British Journal of Haematology,* 112(4), 927-935.
- Paoletti P, (1995) Application of biomarkers in population studies for respiratory non-malignant diseases, *Toxicology* 101(1-2):99-105. Review.
- Pedersen-Bjergaard J et al (1990) Chromosome aberrations and prognostic factors in therapy-related myelodysplasia and acute nonlymphocytic leukemia, *Blood,* 76:1083-1091.
- Qu Q, Melikian AA, Li G, Shore R, Chen L, Cohen B, Yin S, Kagan MR, Li H, Meng M, Jin X, Winnik W, Li Y, Mu R, Li K, (2000) Validation of biomarkers in humans exposed to benzene: urine metabolites, *Am J Ind Med.* 37(5):522-31.
- Qu Q, Shore R, Li G, Jin X, Chen LC, Cohen B, Melikian AA, Eastmond D, Rappaport S, Li H, Rupa D, Waidyanatha S, Yin S, Yan H, Meng M, Winnik W, Kwok ES, Li Y, Mu R, Xu B, Zhang X, Li K, (2003) Validation and evaluation of biomarkers in workers exposed to benzene in China, *Res Rep Health Eff Inst.* (115):1-72; discussion 73-87.
- Padua RA, McGlynn A, McGlynn H, (2001) Molecular, cytogenetic and genetic abnormalities in MDS and secondary AML, *Cancer Treat Res.* 108:111-57. Review.
- Pavanello S, Clonfero E, (2000) Biological indicators of genotoxic risk and metabolic polymorphisms, *Mutat Res.* 463(3):285-308. Review.
- Perera FP, (2000) Molecular epidemiology: on the path to prevention?, *J Natl Cancer Inst.* 92(8):602-12. Review.
- Preisler HD, (2001) Evolution of secondary hematologic disorders: preMDS-->MDS-->sAML, *Cancer Treat Res.* 108:185-230. Review.
- Preudhomme C, Nisse C, Hebbar M, Vanrumbeke M, Brizard A, Lai JL, Fenaux P, (1997) Glutathione S transferase theta 1 gene defects in myelodysplastic syndromes and their correlation with karyotype and exposure to potential carcinogens, *Leukemia;* 11(9):1580-2.
- Richardson S et al (1992) Occupational risk factors for acute leukemia: a case-control study, *Int J Epidemiol,* 21:1063-1072
- Rodella S et al (1993) Cytogenetics and occupational exposure in acute non-lymphocytic leukemia and MDS, *Scand J Work Environ Health,* 19:369-374.
- Schulte PA, (1991) Contribution of biological markers to occupational health, *Am J Ind Med.* 20(4):435-46. Review.

Shen M, Hung RJ, Brennan P, Malaveille C, Donato F, Placidi D, Carta A, Hautefeuille A, Boffetta P, Porru S, (2003) Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1, XRCC3, XPD, interaction with environmental exposures, and bladder cancer risk in a case-control study in northern Italy, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 12(11 Pt 1):1234-40.

Smith MT, (1999) Benzene, NQO1, and genetic susceptibility to cancer, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 96(14):7624-6. Review.

Snyder R; Witz G; Goldstein BD. (1993) The toxicology of benzene, *Environ Health Perspect.* 100: 293- 306.

Snyder R, (2000) Recent developments in the understanding of benzene toxicity and leukemogenesis, *Drug Chem Toxicol.* 23(1):13-25. Review.

Sørensen M, Autrup H, Møller P, Hertel O, Jensen SS, Vinzents P, Knudsen LE, Loft S (2003) Linking exposure to environmental pollutants with biological effects, *Mutat Res.* 544(2-3):255-71. Review.

Thier R, Brüning T, Roos PH, Rihs HP, Golka K, Ko Y, Bolt HM, (2003) Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes, *Int J Hyg Environ Health.* 206(3):149-71. Review.

Third MIC Cooperative group 1987 (1988) Morphologic, Immunologic and Cytogenetic (MIC) working classification of the primary MDS and therapy-related MDS and leukemia, *Cancer Genet Cytogenet,* 32:1-10.

Van Damme K, Casteleyn L and Collard A (1999) Final report to the Belgian Ministry of Science on the Inter-university project on "Correlations between specific genomic lesions and occupation related environmental factors" .

Van Damme K, Casteleyn L, Chellini E. et alii (1992) Report to the Scientific Expert Group on exposure limit values of the European Commission on 'White blood cell counts in benzene exposed workers' .

Van Damme K, (1998) Blootstellingslimietwaarden voor scheikundige stoffen op de arbeidsplaats: van wetenschap naar wetgeving, *Problemen van arbeidsgeneeskunde*, nr. 33, pp.201-216.

Van Damme K, (1996) Benzene: Analysis of the Use of Leucocyte Counts to Detect Effects in Exposed Workers S6-S9 *Int J Occup Environ Health*, vol 2/No3, S6-S9, suppl. on Current Medical Surveillance and Pre-employment testing practices.

Van Damme K, Van der Auwera J.Cl., Cramm M., Casteleyn L. (1991) Bloedbeeldwijzigingen bij blootstelling aan lage concentraties benzeen: een epidemiologisch onderzoek, *Problemen van arbeidsgeneeskunde*, V.W.V.A., 1991, pp. 195-205.

Van Damme K, Casteleyn L, (1999) La susceptibilité individuelle et la prévention des maladies professionnelles, *Annales de l'Association belge de Radioprotection*, Vol. 24, nr. 1, pp. 21-45.

Van Damme K, Casteleyn L, (1999) Ethique et Santé au travail. Quelles sont les grandes questions?, *Annales de l'Association belge de Radioprotection*, Vol. 24, nr. 1, pp. 47-75.

Van Damme K et Casteleyn L (1999) Questions socio-éthiques liées aux nouvelles approches de la santé au travail, *Medecine du Travail et Ergonomie*, vol XXXVI, N°2.

Van den Berghe H and Michaux L, (1997) 5q-, twenty-five years later: a synopsis, *Cancer Genet Cytogenet*, 94:1-7.

Wan J, Shi J, Hui L, Wu D, Jin X, Zhao N, Huang W, Xia Z, Hu G, (2002) Association of genetic polymorphisms in CYP2E1, MPO, NQO1, GSTM1, and GSTT1 genes with benzene poisoning, *Environ Health Perspect*. 110(12):1213-8.

West RR et al (1995) Occupational and environmental exposures and myelodysplasia: a case-control study, *leukemia research*, 19;2:127-139.