

J.L. Gallo

Actividad urinaria del N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG) durante la gestación normal

69

Servicio de Obstetricia y Ginecología.
Hospital de Motril. Granada.

Urinary activity of N-acetyl-beta-glucosaminidase in normal pregnancy

Correspondencia:
Dr. J.L. Gallo Vallejo.
Alhamar, 33, 4.º B.
18004 Granada.

Fecha de recepción: 1/2/00
Aceptado para su publicación: 4/1/01

J.L. Gallo. Actividad urinaria del N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG) durante la gestación normal. *Prog Obstet Ginecol* 2001;44:69-74.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la excreción urinaria de N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG) en mujeres con gestación normal, a fin de conocer su actividad en los diferentes trimestres del embarazo. Comparar los cambios ocurridos en esta enzima tubular con otros parámetros de función renal.

Población: Un total de 96 mujeres, 26 de ellas no gestantes tomadas como grupo control y 70 gestantes con embarazo normal.

Principales determinaciones: Actividad de la NAG en orina de 24 h siguiendo el método espectrofotométrico de Horak. También, determinación de otros parámetros de función renal.

Resultados: La excreción urinaria de la NAG en el grupo control (mujeres no embarazadas) fue de $11,24 \pm 7,33$ U/g de creatinina; en las gestantes, sus valores fueron $8,76 \pm 3,43$ (primer trimestre), $15,75 \pm 6,73$ (segundo trimestre) y $23,90 \pm 6,64$ (tercer trimestre), sin encontrarse diferencias significativas entre los grupos de mujeres no embarazadas y embarazadas de primer y segundo

trimestre y sí entre los grupos de mujeres no gestantes y gestantes del tercer trimestre ($p < 0,01$). Igualmente, hay diferencias significativas entre embarazadas de primer y tercer trimestre ($p < 0,01$). Por otra parte, no se observa correlación significativa de la NAG con el aclaramiento de creatinina y creatinina urinaria, pero sí con el ácido úrico sérico y con la calicreína.

Conclusiones: El ascenso de la actividad urinaria de la NAG en la última fase de la gestación nos indica que es en este momento cuando se producen los mayores cambios en la función tubular.

PALABRAS CLAVE:

N-acetil-beta-glucosaminidasa urinaria. Gestación.

URINARY ACTIVITY OF N-ACETYL-BETA-GLUCOSAMINIDASE IN NORMAL PREGNANCY

Aim: To determine urinary excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase in women with uncomplicated pregnancies in order to determine

70 its activity in different trimesters. We also compare the changes in this tubular enzyme with other classical parameters of renal function.

Population: We studied 96 women, 70 with normal pregnancy and 26 non-pregnant women as control group.

Main outcome measures: Urinary excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase was measured using the spectrophotometric method developed by Horak. Other parameters of renal function were also determined.

Results: Urinary excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase was 11.24 ± 7.33 U/g creatinine in the control group and 8.76 ± 3.43 U/g creatinine in pregnant women in the first trimester, 15.75 ± 6.73 U/g creatinine in the second and 23.90 ± 6.64 U/g creatinine in the third. No significant differences in urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase were found between pregnant and nonpregnant women in the first trimester but differences between groups were significant ($p < 0.01$) in the third trimester. Significant differences ($p < 0.01$) were found between the first and third trimester in pregnant women. No significant differences in urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase were found between creatinine clearance and urinary creatinine but significant differences were found between serum uric acid and urinary kallikrein.

Conclusions: The results suggest that the increase in N-acetyl-beta-glucosaminidase during the third trimester coincides with greater changes in tubular function.

KEY WORDS:

N-acetyl-beta-glucosaminidase. Pregnancy.

INTRODUCCIÓN

Durante el embarazo normal se producen modificaciones notables en el riñón, tanto estructurales como funcionales^{1,2}. Los cambios del funcionalismo renal que más llaman la atención son el incremento del índice de filtración glomerular³ y del flujo plasmático renal efectivo⁴.

Tabla 1 Semanas de gestación en el grupo de mujeres embarazadas

	N.º	Md	R
Primer trimestre	21		
Segundo trimestre	28		
Tercer trimestre	21	28	7

N.º: número de casos; Md: mediana; R: rango.

Por otra parte, se sabe el importante papel que ejercen algunos sistemas enzimáticos en la regulación del flujo renal y en la reabsorción tubular. Uno de ellos es el sistema calicreína-cinina, que tiene una acción vasodilatadora y cuya acción, a nivel glomerular, se realiza fundamentalmente a través de la enzima yuxtaglomerular, ya estudiada por nuestro grupo⁵, denominado calicreína.

Existen otras enzimas que se segregan fundamentalmente en el túbulo y su excreción urinaria es fiel reflejo de la función tubular. Una de las más importantes es la N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG).

En este trabajo se estudia el comportamiento de la excreción urinaria de la NAG en los diferentes períodos de la gestación en mujeres con embarazo normal. También se compara los cambios ocurridos en esta enzima tubular con otros parámetros clásicos de función renal, como el aclaramiento de creatinina, valores de ácido úrico sérico y creatinina urinaria. Finalmente, se estudia la correlación de la NAG con la calicreína.

SUJETOS Y MÉTODOS

Nuestro estudio, de diseño transversal, comprende a un total de 96 mujeres, 26 de ellas no embarazadas sanas tomadas como grupo control y 70 gestantes con embarazo evolutivo normal, en diferentes períodos de la gestación y divididas por trimestres (tabla 1). Se catalogaron como mujeres con embarazo normal a todas aquellas gestantes en las que, tras anamnesis y exploración obstétrica y ecográfica básicas, no fue posible identificar ningún factor de riesgo.

A cada una de las mujeres de los grupos de embarazadas se les determinó algunos de los parámetros clásicos de función renal, como el aclaramiento de creatinina, ácido úrico sérico y creatinina. A la to-

talidad de las gestantes (70) se les determinó la enzima objeto de este estudio, la NAG, y a una gran mayoría de las mismas (60) se les determinó también la caliceína urinaria. A las 26 pacientes no embarazadas del grupo control se les determinó ambas enzimas urinarias.

Como ya quedó referido⁵, para la determinación de la actividad de caliceína en orina de 24 h seguimos el método de Admunsen⁶. Para la determinación de la actividad de la NAG también en orina de 24 h, hemos seguido el método espectrofotométrico de Horak⁷ que, someramente, pasamos a describir:

La NAG es separada de los inhibidores urinarios por filtración en columna cromatográfica de Sepehadex G-25. Posteriormente, se utiliza el sustrato p-nitrofenil-N-acetil-beta-D-glucosaminidasa y el citrato sódico a pH 4,4. Tras un período de incubación de 15 min a 37 °C, se produce la hidrólisis enzimática y la liberación del ion p-nitrofenolato. Se para la reacción al añadir 2-amino-2-metil 1-propanol (pH 10,25) y el producto de la reacción es medido por espectrofotometría a 405 nm, siendo la actividad urinaria de la NAG proporcional a la absorbencia del ion p-nitrofenolato liberado. La actividad de la NAG es expresada en U/g de creatinina eliminado.

En cuanto al método estadístico empleado, comprobamos la normalidad de las variables cuantitativas con el test de Kolgomorov-Smirnoff. Una vez confirmada, se realizó el test de comparación de medias mediante el análisis de la variancia (ANOVA simple). En el caso de variables cualitativas, se utilizó el estadístico χ^2 ; durante todo el estudio se aceptó que había significación estadística con un valor de $p < 0,05$. También se hizo un estudio de correlación entre las diferentes variables cuantitativas a partir de los coeficientes de correlación de Pearson, declarándolos significativos para un valor absoluto de 0,35.

RESULTADOS

En la tabla 2 se esquematiza la excreción urinaria de NAG en los diferentes grupos del estudio. La excreción urinaria de NAG en las mujeres no embarazadas tomadas como control fue de $11,24 \pm 7,33$ U/g de creatinina. En el primer trimestre de la gestación, estos niveles fueron de $8,76 \pm 3,43$, en el segundo trimestre de $15,75 \pm 6,73$, y en el tercer trimestre de $23,90 \pm 6,64$ U/g de creatinina.

Tabla 2 Estudio de la excreción urinaria de NAG* en los diferentes grupos

	Embarazo			
	Sin embarazo	Primer trimestre	Segundo trimestre	Tercer trimestre
N.º	26	21	28	21
M	11,24	8,76	15,75	23,90
DE	7,33	3,46	6,73	6,64

*Expresada en U/g de creatinina. N.º: número de casos; M: media; DE: desviación estándar.

Tabla 3 Comparación de la excreción urinaria de NAG* entre mujeres no embarazadas y con embarazo en el primer y segundo trimestre

	M	DE	p
Sin embarazo (n = 26)	11,24	7,33	
Primer trimestre (n = 21)	8,76	3,46	NS
Segundo trimestre (n = 28)	15,75	6,73	NS

*Expresada en U/g de creatinina. n: número de casos; M: media; DE: desviación estándar; p: nivel de significación; NS: no significativo.

Tabla 4 Comparación de la excreción urinaria de NAG* entre mujeres no embarazadas y con embarazo en el tercer trimestre

	M	DE	p
Sin embarazo (n = 26)	11,24	7,33	
Tercer trimestre (n = 21)	23,90	6,64	< 0,01

*Expresada en U/g de creatinina. n: número de casos; M: media; DE: desviación estándar; p: nivel de significación.

No encontramos diferencias significativas entre los grupos de mujeres no embarazadas y embarazadas de primer y segundo trimestre (tabla 3) y sí entre los grupos de mujeres no embarazadas y embarazadas del tercer trimestre ($p < 0,01$) (tabla 4).

También comparamos la actividad urinaria de la NAG entre los diferentes trimestres de la gestación (tabla 5), sin encontrar diferencias significativas en las embarazadas en el primer y segundo trimestre ni entre embarazadas del segundo y tercer trimestre, pero sí hay diferencias significativas entre embarazadas de primer y tercer trimestre ($p < 0,01$) (tabla 6).

Tabla 5 Comparación de la excreción urinaria de NAG* entre mujeres embarazadas en el primer y segundo trimestre, y segundo y tercer trimestre

	M	DE	p
Primer trimestre (n = 21)	8,76	3,46	
Segundo trimestre (n = 28)	15,75	6,73	NS
Tercer trimestre (n = 21)	23,90	6,64	NS

*Expresada en U/g de creatinina. n: número de casos; M: media; DE: desviación estándar; p: nivel de significación; NS: no significativo.

Tabla 6 Comparación de la excreción urinaria de NAG* entre mujeres embarazadas en el primer y tercer trimestre

	M	DE	p
Primer trimestre (n = 21)	8,76	3,46	
Tercer trimestre (n = 21)	23,90	6,64	< 0,01

*Expresada en U/g de creatinina. n: número de casos; M: media; DE: desviación estándar; p: nivel de significación.

Tabla 7 Correlación de la edad de las mujeres y semanas de gestación con la NAG urinaria estudiada durante el embarazo (n = 70)

	Coefficiente de correlación	Significación*
Edad	0,23901	No
Semanas	0,74603	Sí

*Significación: $r > 0,35$.

Tabla 8 Correlación del aclaramiento de creatinina, ácido úrico sérico y creatinina urinaria con la NAG urinaria (n = 70)

	Coefficiente de correlación	Significación*
Aclaramiento de creatinina	0,20341	No
Ácido úrico sérico	0,36708	Sí
Creatinina urinaria	0,30263	No

*Significación: $r > 0,35$.

También estudiamos la correlación de esta enzima urinaria con otros parámetros (edad de las mujeres, semanas de gestación y parámetros de función

Tabla 9 Correlación entre las dos enzimas urinarias estudiadas durante el embarazo

	N.º de casos	Coefficiente de correlación	Significación*
Calicreína/NAG	59	0,35570	Sí

*Significación: $r > 0,35$.

renal) (tablas 7 y 8), y encontramos correlación significativa ($r < 0,35$) de la NAG urinaria sólo con la edad gestacional y con el ácido úrico sérico.

Finalmente, observamos también que existía una correlación significativa ($r = 0,35570$) entre las dos enzimas estudiadas (calicreína y NAG) (tabla 9).

DISCUSIÓN

La principal fuente de enzimas urinarias es el riñón. Por técnicas de disección microscópica y ultra-microanálisis^{8,9}, se han podido localizar las diferentes enzimas en las estructuras de la nefrona. Así, las células tubulares son ricas en enzimas y su recambio fisiológico ocasiona su presencia en orina. Éste es el principal origen de la actividad normal en orina de las enzimas fosfatasa alcalina, leucinamino-peptidasa, betaglucoronidasa o NAG.

El papel de las enzimas urinarias durante la gestación es importante, aunque aún hay muchas lagunas en el conocimiento de sus mecanismos de acción. Con el fin de aclarar el comportamiento de algunas de estas enzimas urinarias durante la gestación, ya estudiamos la acción de una enzima yuxtaglomerular (calicreína)⁵, presentando aquí el estudio de otra enzima, ésta tubular (NAG).

Encontramos diferencias significativas ($p < 0,01$) entre los grupos de mujeres no embarazadas y embarazadas de tercer trimestre y entre embarazadas de primer y tercer trimestre. A la vista de estos resultados, podemos decir que, al comienzo del embarazo, descienden los valores urinarios de NAG y que, aunque posteriormente se elevan, sólo al final de la gestación es cuando la actividad urinaria de esta enzima es más llamativa.

La NAG es una enzima hidrolítica de peso molecular que oscila entre 130.000 y 140.000 daltons, por lo que normalmente no se filtra por el glomérulo.

lo. Es una enzima lisosómica que se sintetiza a nivel renal en las células tubulares proximales renales¹⁰ y se excreta por la orina¹¹. Ellis et al¹² han estudiado la proporción y distribución de las diferentes isoenzimas de la NAG; así, señalan que, además del riñón, la NAG está presente también en el hígado, fundamentalmente en sus isoenzimas A y B. Se ha encontrado un componente A en el suero, que se puede diferenciar del hepático por técnicas cromatográficas, y en el líquido cefalorraquídeo, que se ha denominado As (cromatografía de intercambio iónico).

En orina, el 85% de la NAG es del componente A, y el resto del B, aunque este último aumenta su proporción en determinadas enfermedades parenquimatosas y tubulares renales.

En la mujer embarazada se ha detectado otra isoenzima de la NAG diferente a las anteriores y que se identifica con la letra p. Otras isoenzimas que existen en pequeña proporción se han denominado I₁ e I₂ y se encuentran en el hígado, riñón, suero y orina, y son formas intermedias. En sujetos sanos, la excreción urinaria de NAG sigue un ritmo variable a lo largo del día, descendiendo ligeramente durante el día y aumentando durante la noche. En relación a la edad, también se ha comprobado que existen variaciones¹³. En adultos de ambos sexos no se han encontrado diferencias en los valores séricos de NAG. Las variaciones a lo largo del ciclo menstrual en la mujer no son significativas¹⁴.

La importancia de la enzima NAG durante el embarazo se conoce desde los trabajos iniciales de Walker¹⁵ en 1960. Conforme avanza la gestación, se ha observado ascenso de la NAG en suero y en otros tejidos orgánicos¹⁶, incluso indicando que este ascenso se hace de forma logarítmica, siendo aproximadamente el doble en cada trimestre. En otros tejidos orgánicos también se ha comprobado el aumento de la actividad de la NAG (placenta, amnios, cordón umbilical)¹⁷.

Los estudios en orina son escasos; en enfermedades renales agudas y crónicas los resultados son muy significativos^{18,19}. Se sabe que la NAG se encuentra en gran proporción en los lisosomas de los túbulos renales. Su excreción por la orina es un fiel reflejo de su actividad tubular, de modo que su estudio durante la gestación (objetivo de este trabajo) puede poner de manifiesto los cambios ocurridos en los túbulos renales a lo largo de los diferentes perio-

dos del embarazo. En embarazos normales se ha descrito que los valores máximos de NAG se alcanzan entre las semanas 32 y 36 de gestación²⁰, datos que coinciden plenamente con nuestros resultados.

El ascenso de la actividad urinaria de la NAG en la última fase de la gestación nos indica que es en este momento cuando se producen los mayores cambios en la función tubular, condicionados por el aumento del volumen circulante, cambios en la presión oncótica y alteraciones en la reabsorción de glucosa, ácido úrico y aminoácidos²¹. No obstante, debemos reconocer que la mayor utilidad del estudio de la NAG urinaria durante la gestación viene corroborado por los trabajos que determinan esta enzima en diferentes enfermedades sistémicas con afección renal, como son la hipertensión renal y la diabetes mellitus²²⁻²⁴. En casos de preeclampsia²⁴, la excreción urinaria de NAG tiende a ser más alta que en el embarazo normal. Esta excreción enzimática se normaliza al año después de un embarazo normal, pero permanece elevada en pacientes que desarrollaron preeclampsia. Este hallazgo sugiere que pudiera haber un daño renal persistente durante la preeclampsia.

Finalmente, estudiamos la correlación de esta enzima urinaria con otros parámetros. No observamos correlación significativa de la edad de las mujeres, motivo de nuestro trabajo, con los niveles de NAG. Sin embargo, sí la encontramos para con la edad gestacional. Este hecho nos confirma que la elevación de la NAG, al igual que ocurría con la elevación de calicreína⁵, se hace más evidente conforme avanza el embarazo, que es cuando las modificaciones renales (glomerulares y tubulares) son más significativas.

El aclaramiento de creatinina no guarda relación con la NAG, ya que ésta no nos mide la función renal global sino parcelas muy concretas de la función tubular. Sin embargo, la enzima tubular NAG sí se correlacionó con los valores séricos de ácido úrico, siendo obvia esta concordancia ya que la NAG interviene en la depuración tubular de ácido úrico. La creatinina urinaria no se correlacionó con la enzima estudiada, ya que la excreción urinaria de creatinina no se modifica durante la gestación.

Por último, quisimos relacionar la actividad urinaria de la enzima yuxtaglomerular ya estudiada en otro trabajo⁵, la calicreína, con la enzima tubular objeto de este trabajo, la NAG. Como se observa en

74 la tabla 9, existía una correlación significativa ($r = 0,35570$) entre las dos enzimas, lo cual nos indica que los cambios en las funciones glomerulares y tubulares durante el embarazo normal van paralelos.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa su agradecimiento al Departamento de Medicina, Departamento de Obstetricia y Ginecología y personal auxiliar del Laboratorio de Investigaciones Médicas Mora Lara de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, cuya colaboración ha sido imprescindible en esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beydoun SN. Cambios morfológicos en las vías urinarias durante el embarazo. *Clin Obstet Ginecol* (ed. esp.) 1985; 2: 307-316.
2. Davison JM. Fisiología de vías urinarias durante el embarazo. *Clin Obstet Ginecol* (ed. esp.) 1985; 2: 317-328.
3. Lindheimer MD, Katz AI. The renal response to pregnancy. En: Brenner BM, Rector FC, editores. *The kidney* (2.^a ed). Filadelfia: Saunders Co., 1981; 1762-1815.
4. Davison JM, Dunlop W. Renal hemodynamics and tubular function in normal human pregnancy. *Kidney Int* 1980; 18: 152-157.
5. Gallo JL. Estudio de la excreción urinaria de calicreína durante el embarazo normal. *Prog Obstet Ginecol* 1999; 42: 495-500.
6. Amundsen E, Gallimore MJ, Aasen AO, Larsbraaten M, Lyngaas K. Activation of human plasma the prekallikrein: influence of the activators, activation time and temperature and inhibitor. *Thromb Res* 1978; 13: 625-631.
7. Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW Jr. Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity. *Clin Chem* 1981; 27: 1180-1185.
8. Dubach UC, Schmidt U. Enzymology of human kidney. A review with special consideration of the quantitative histochemistry. *Enzym Biol Clin* 1970; 11: 32-37.
9. Mattenheimer H. Enzymology of kidney tissue. *Curr Probl Clin Biochem* 1968; 2: 119-145.
10. Hayashi M. Comparative histochemical localization of lysosomal enzymes in rat tissue. *J Histochem Cytochem* 1967; 15: 83-92.
11. Pugh D, Leabach DH, Walker PG. Studies on glucosaminidase: N-acetyl-beta-glucosaminidase in rat kidney. *Biochem J* 1957; 65: 464-469.
12. Ellis BG, Tucker SM, Thompson AE, Price RG. Presence of serum and tissue forms of N-acetyl-beta-glucosaminidase in urine from patients with renal disease. *Clin Chim Acta* 1975; 64: 195-202.
13. Jung K, Hempel A, Gruzmann KD, Hempel RD, Schreiber G. Age dependent excretion of alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in human urine. *Enzyme* 1990; 43: 50-56.
14. Wellwood JM, Price RG, Ellis BG, Thompson AE. A note on the practical aspects of the assay of N-acetyl-beta-glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976; 69: 85-91.
15. Walker PG, Woollen ME, Pugh D. N-acetyl-beta-glucosaminidase activity in serum during pregnancy. *J Clin Pathol* 1960; 13: 353-357.
16. Strigini F, Melis GB, Gasperini M, Ronca G, Palmieri L, Fioretti P. Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and alanine-aminopeptidase during pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 1989; 28: 9-12.
17. Goi G, Burlina AB, Bairati C, Bordugo A, Zanardo V, Zanchello F. Enzymes of lysosomal origin in plasma of twin neonates. *Clin Chim Acta* 1993; 214: 61-71.
18. Jung K, Schulze BD, Sydow K. Diagnostic significance of different urinary enzymes in patients suffering from chronic renal diseases. *Clin Chim Acta* 1987; 168: 287-295.
19. Hultberg B, Ravnsskov U. The excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase in glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1981; 15: 33-38.
20. Yoshida M, Furiya K, Takakuwa H. Urinary excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase during normal pregnancy. *Clin Chim Acta* 1995; 235: 113-115.
21. Lindheimer MD, Katz AI. Renal function and disease in pregnancy. Filadelfia: Lea & Febiger, 1977.
22. Hultberg B, Isaksson A, Krutzen E, Nilsson-Ehle P. Urinary excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase in normal and complicated pregnancy. *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27: 487-489.
23. Pérez-Blanco FJ, Huertas JM, Moreno G, Rodríguez A. Urinary excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase in slight arterial hypertension during pregnancy. *Clin Investig* 1994; 72: 799-803.
24. Skra J, Perusicova J, Sperl M, Bendl J, Stolba P. N-acetyl-beta-glucosaminidase and albuminuria in normal and diabetic pregnancies. *Clin Chim Acta* 1989; 182: 281-287.