

Estudio de la eliminación urinaria de N-acetilglucosaminidasa y β_2 -microglobulina en la infancia. Trastorno de su excreción en la diabetes mellitus y en patología renal

V. García Nieto *, M. Muros **, C. León **, J. Duque ***, C. Oliva ****, R. Duque **** y L. Ortigosa ****

* Unidad de Nefrología Pediátrica. Centro Médico del Sur.

** Servicio de Laboratorio. Hospital Nuestra Señora de Candelaria.

*** Hospital de Niños.

**** Servicio de Pediatría. Hospital Nuestra Señora de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife.

RESUMEN

La determinación de la excreción urinaria de N-acetilglucosaminidasa (NAG) y β_2 -microglobulina (β_2M) está considerada como uno de los marcadores más fiables de lesión tubular proximal, así como uno de los que más precozmente se alteran.

Hemos querido con este trabajo hallar los valores de referencia de las dos proteínas en la infancia a través del cálculo de su cociente con respecto a la creatinina urinaria e investigar el comportamiento de la excreción de estos marcadores de lesión tubular en la diabetes mellitus y varios trastornos renales: hipercalciuria, glomerulonefritis crónica y pielonefritis aguda.

Para ello hemos estudiado un grupo control de 157 niños con edades que oscilan de un mes a catorce años y un grupo patológico de 50 pacientes. Los valores de normalidad para el grupo de dos-catorce años de edad son $3,82 \pm 2,32$ U/g para el cociente NAG/creatinina y $141,78 \pm 93,11$ μ g/g para el cociente β_2M /creatinina. No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas al dividir la muestra según el sexo.

En los pacientes con hipercalciuria hemos hallado valores dentro del rango de la normalidad, excepto un paciente que recientemente había padecido un episodio de litiasis.

En el grupo de glomerulonefritis crónica y pielonefritis aguda hemos observado un incremento en la eliminación urinaria de ambas sustancias, siendo mayor proporcionalmente la eliminación de NAG en las glomerulonefritis y de β_2M en las pielonefritis.

Por último, en los pacientes diabéticos hemos encontrado tasas más elevadas de los marcadores de lesión tubular en los niños ingresados por descompensación de su enfermedad que en los controlados adecuadamente, corroborando el hecho de que el inadecuado control de la enfermedad puede repercutir en el funcionalismo tubular proximal.

Palabras clave: **N-acetilglucosaminidasa. β_2 -microglobulina. Lesión tubular proximal. Hipercalciuria. Diabetes mellitus.**

URINARY EXCRETION OF N-ACETYLGUCOSAMINIDASE AND β_2 -MICROGLOBULIN IN CHILDREN. IMPAIRED EXCRETION IN DIABETES MELLITUS AND RENAL DISEASES

SUMMARY

The determination of the urinary excretion of N-acetylglucosaminidase (NAG) and β_2 -Microglobulin is considered one of the most sensitive indicators of proximal tubular lesion as well as one of the first to manifest alteration.

In this study we have set out to find the reference values for these two proteins in childhood by calculating their with respect to urinary creatinin, and to investigate the behaviour of the excretion of these indicators of tubular lesion in diabetes mellitus and other renal diseases such as hypercalciuria, chronic glomerulonephritis and acute pyelonephritis.

To do this we studied a control group of 157 children ranging in age from 1 month to 14 years, and a pathological group of 50 patients. Normal values for the age group 2-14 years are 3.82 ± 2.32 U/g for the NAG/creatinine rate, and 141.78 ± 93.11 μ g/g for the β_2 M/creatinine rate. We found no statistically significant differences when our samples were divided according to sex.

Among the patients with hypercalciuria, we found values within the limits of normality, except in one patient who had recently suffered an episode of lithiasis.

In the group comparing chronic glomerulonephritis and acute pyelonephritis, we observed an increase in the urinary excretion of both substances: the elimination of NAG being greater in glomerulonephritis patients, while the elimination of β_2 M was greater in the patients with pyelonephritis.

Lastly, in our diabetic group we found higher rates of the indicators of tubular lesion in those children admitted for control of their disease than in those adequately controlled corroborating the fact inadequate control of the disease may have adverse repercussions on proximal tubular function.

Key words: N-acetylglucosaminidase. β_2 -Microglobulin. Proximal tubular damage. Hypercalciuria. Diabetes mellitus.

Introducción

Los trastornos tubulares de la reabsorción proximal renal se han diagnosticado clásicamente con la demostración de una pérdida excesiva de los principales solutos que se reabsorben a ese nivel, tales como glucosa, bicarbonato o aminoácidos.

No obstante, es conocido que trastornos discretos del funcionalismo tubular pueden mostrar escasas manifestaciones clínicas o analíticas, para cuyo diagnóstico se precisarían pruebas funcionales más sensibles.

El estudio de la eliminación urinaria de las proteínas de bajo peso molecular, como β_2 -microglobulina (β_2 M) y de las enzimas lisosomales, como la N-acetilglucosaminidasa (NAG), ha contribuido a diagnosticar trastornos incipientes de la reabsorción tubular proximal¹⁻¹⁴.

Hemos querido con este trabajo hallar los valores de referencia de estas dos proteínas en la infancia, a través del cálculo de su cociente con respecto a la creatinina.

Finalmente, hemos pretendido investigar el comportamiento de la excreción de estos marcadores de lesión tubular en la diabetes mellitus y en varios trastornos re-

nales, como la hipercalciuria, glomerulonefritis crónica y pielonefritis aguda.

Material y métodos

Se estudiaron un total de 207 pacientes, 118 varones y 89 hembras, de edades comprendidas entre un mes y catorce años, y que fueron divididos en dos grupos.

El primer grupo (grupo control) se constituyó con 157 pacientes, 90 varones y 67 hembras, y estaba formado por aquellos que en el momento de la realización del estudio presentaban las siguientes características:

1. Examen físico dentro de la normalidad, temperatura y tensión arterial normal y sin enfermedad actual al inicio del estudio.
2. No presentar antecedentes ni signos clínicos de enfermedad renal.
3. Ausencia de trastornos metabólicos y diabetes.
4. Tira reactiva urinaria y sedimento normal en el momento de la consulta.

El segundo grupo (grupo patológico) lo constituyeron

50 pacientes, 28 varones y 22 hembras, afectos de enfermedad renal: 16 con hipercalciuria idiopática, cinco con glomerulonefritis crónica y cuatro con pielonefritis aguda; igualmente se incluyeron 25 pacientes diabéticos, 19 compensados y seis descompensados.

A todos ellos se les recogió una muestra de orina aislada, matutina y postingesta; para su recogida se aleccionó convenientemente a los padres de los niños mayores de dos años, mientras que a los menores les fue recogida por la enfermera del servicio mediante la colocación de bolsa plástica colectora. Se determinó NAG, β_2 M y creatinina urinaria.

Los métodos de laboratorio utilizados han sido los siguientes:

Creatinina: La concentración de creatinina en suero y orina se determinó por un método de Jaffé cinético en un autoanalizador Astra (Beckman).

NAG: La determinación de los niveles de N-acetil β -D-glucosaminidasa (NAG) en orina se realizó mediante un ensayo colorimétrico, basado en la reacción de 3-cresol-sulfonftaleína-N-acetil- β -D-glucosaminidasa, sal sódica (Boehringer, Mannheim), en un autoanalizador Hitachi 704¹⁵.

β_2 -microglobulinas: Se determinó por enzimoimmunoensayo con reactivos Behring¹⁶.

Anormales y sedimento urinario: Para el estudio de la orina se utilizó un analizador super Aution modelo SA-4220 Daiichi de Menarini. Los elementos celulares en el sedimento se observaron por microscopia óptica.

Métodos estadísticos: Se realizó la estadística básica de las diferentes variables. Para compararlas se hicieron estudios de regresión lineal y se obtuvo el coeficiente de correlación r de Pearson en un ordenador Olivetti M-19, con un paquete estadístico Sigma.

Resultados

1. **Grupo control:** La muestra de 157 pacientes (57,32 % varones y 42,67 hembras) fue dividida en tres grupos según su edad:

Subgrupo I (hasta dos años), 49 pacientes (31,21 %).

Subgrupo II (de dos a seis años), 55 pacientes (35,03 %).

Subgrupo III (mayores de seis años), 53 pacientes (33,75 %).

En la tabla I podemos ver los valores medios y 1 DS encontrados en cada uno de los grupos de edad. Si bien estos parámetros por sí solos no dicen nada por la característica de la muestra, se observa cómo al aumentar la edad de los pacientes la eliminación de creatinina urinaria es significativamente mayor ($p < 0,001$).

Con los parámetros que se acaban de exponer se procedió al cálculo de los cocientes NAG/creatinina urinaria y β_2 M/creatinina urinaria. La tabla I además refleja el valor medio y 1 DS de estos cocientes en cada uno de los grupos de edad, observándose cómo ambos disminuyen a medida que aumenta la edad del paciente, consecuencia del aumento en la eliminación de creatinina ya comentada y que se refleja gráficamente en la figura 1.

Al dividir los distintos grupos según el sexo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

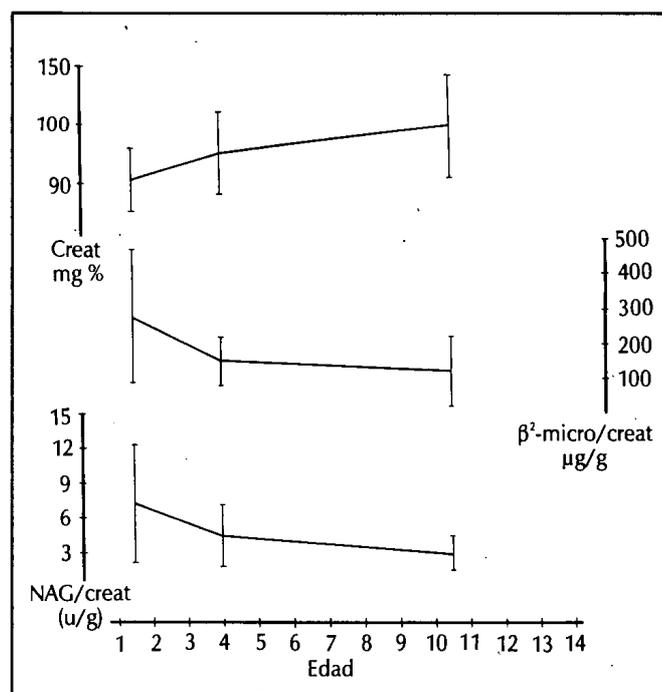


Fig. 1.—Concentración de creatinina y cocientes NAG/creatinina y β_2 -microglobulina/creatinina por edades. Creat: Creatinina. NAG: N-acetilglucosaminidasa. β_2 -micro: β_2 -microglobulina.

Tabla I. Valores de referencia de β_2 -microglobulina y N-acetilglucosaminidasa en la infancia

	Grupo I (<2 años)	Grupo II (2-6 años)	Grupo III (>6 años)
NAG (U/l).....	3,05 ± 2,24	3,35 ± 2,76	2,88 ± 1,54
β_2 -microglobulina (μ g/l).....	134,43 ± 94,48	113,91 ± 66,78	113,47 ± 108,98
Creatinina (mg/dl).....	52,75 ± 27,04	76,61 ± 37,35	100,42 ± 44,20
NAG/creatinina (U/g).....	7,20 ± 5,21	4,44 ± 2,66	3,11 ± 1,62
β_2 -microglobulina/creatinina (μ g/g).....	280,61 ± 187,27	155,77 ± 77,08	125,67 ± 107,46

Se procedió al cálculo del coeficiente de correlación entre ambas variables, observándose un aceptable coeficiente en los pacientes de menor edad, grupo I ($r = 0,62$, $p < 0,001$); dicho coeficiente empeoró de forma inversa a la edad de los pacientes, grupo II ($r = 0,46$, $p < 0,001$) y grupo III ($r = 0,32$, $p < 0,05$).

Se procedió al cálculo de los percentiles 5 y 95 con el fin de averiguar entre qué valores se situaba el 90 % de cada uno de los grupos de edad con respecto a ambos cocientes; en la tabla II figuran dichos percentiles para ambos cocientes (NAG/creatinina y β_2 M/creatinina, respectivamente).

II. *Grupo patológico*: Todos los pacientes de este grupo presentaban edades superiores a los dos años. Los 50 pacientes incluidos en este grupo se clasificaron, según la patología que presentaban, de la siguiente forma:

Hipercalciuria idiopática, 16 pacientes.

Glomerulonefritis crónica, cinco pacientes.

Pielonefritis aguda, cuatro pacientes.

Diabetes mellitus, 25 pacientes (19 compensados y seis descompensados).

La tabla III refleja los valores medios de ambos cocientes para cada subgrupo.

Los cocientes urinarios del grupo de niños con hipercalciuria idiopática resultaron normales, salvo en uno, que había padecido un cólico nefrítico recientemente.

Dentro del grupo con glomerulonefritis crónica se encontraron cinco niños con el cociente NAG/creatinina elevado y dos con el cociente β_2 M/creatinina alterado. En el grupo de pielonefritis aguda, los cuatro niños estudiados tenían el cociente NAG/creatinina elevado y tres de ellos presentaban un cociente β_2 M/creatinina patológico.

Por último, de los 19 pacientes diabéticos compensados, solamente uno tenía alterado el cociente NAG/crea-

tinina y ninguno el β_2 M/creatinina, mientras que en los seis descompensados era patológico el cociente NAG/creatinina en todos y el cociente β_2 M/creatinina se encontraba alterado en tres de ellos.

III. *Comparación entre el grupo control y el grupo patológico*: Con el fin de unificar ambos grupos, y en vista de que el grupo patológico presentaba edades superiores a los dos años, se calcularon ambos cocientes en el grupo control uniendo los dos grupos de mayor edad; así, para el cociente NAG/creatinina se obtuvo una media de $3,82 \pm 2,32$ U/g, mientras que para el cociente β_2 M/creatinina fue de $141,78 \pm 93,11$ μ g/g.

La figura 2 representa gráficamente las diferencias entre el grupo control y los pacientes afectos de hipercalciuria, glomerulonefritis y pielonefritis para los cocientes NAG/creatinina y β_2 M/creatinina.

Por último, la figura 3 representa dichos cocientes en relación con los enfermos diabéticos estudiados.

No se realizó comprobación estadística de las diferencias observadas gráficamente debido a lo reducido de la muestra de enfermos patológicos.

Discusión

En el momento actual, la determinación de la excreción urinaria de NAG y β_2 M está considerada como uno de los parámetros más fiables de lesión tubular proximal, así como uno de los que más precozmente se alteran.

En nuestro estudio hemos determinado los valores de normalidad de ambos parámetros en la edad pediátrica, así como su comportamiento en la diabetes mellitus y en determinadas situaciones patológicas renales.

Tabla II. Percentiles de los cocientes urinarios en el grupo control

		Grupo I	Grupo II	Grupo III
Cociente NAG/creatinina	Percentil 5	1,66	1,07	0,90
	Percentil 95	17,77	10,00	6,37
Cociente β_2 -microglobulina/creatinina	Percentil 5	50,0	39,39	5,68
	Percentil 95	523,80	303,70	304,76

Tabla III. Cocientes urinarios en el grupo patológico

	NAG/creat. (U/l)	β_2 -microgl/creat. (μ g/l)
Diabéticos:		
– Compensados.....	$3,20 \pm 1,92$ (n = 19)	$89,52 \pm 76,68$ (n = 19)
– Descompensados.....	$6,45 \pm 2,80$ (n = 6)	$264,66 \pm 327,38$ (n = 6)
Hipercalciuria	$2,56 \pm 1,71$ (n = 16)	$96,66 \pm 76,26$ (n = 16)
Glomerulonefritis.....	$21,84 \pm 9,99$ (n = 5)	$371,20 \pm 357,19$ (n = 5)
Pielonefritis.....	$10,22 \pm 8,20$ (n = 4)	$548,50 \pm 396,47$ (n = 4)
Controles.....	$3,82 \pm 2,32$ (n = 108)	$141,78 \pm 93,11$ (n = 108)

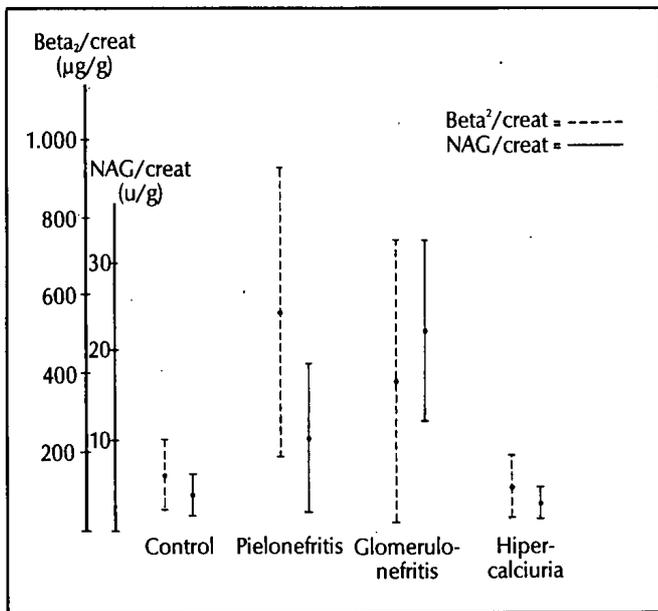


Fig. 2.—Cocientes NAG/creatinina y β_2 -microglobulina/creatinina en varios trastornos renales.
Creat: Creatinina.
NAG: N-acetilglucosaminidasa.
Beta₂: β_2 -microglobulina.

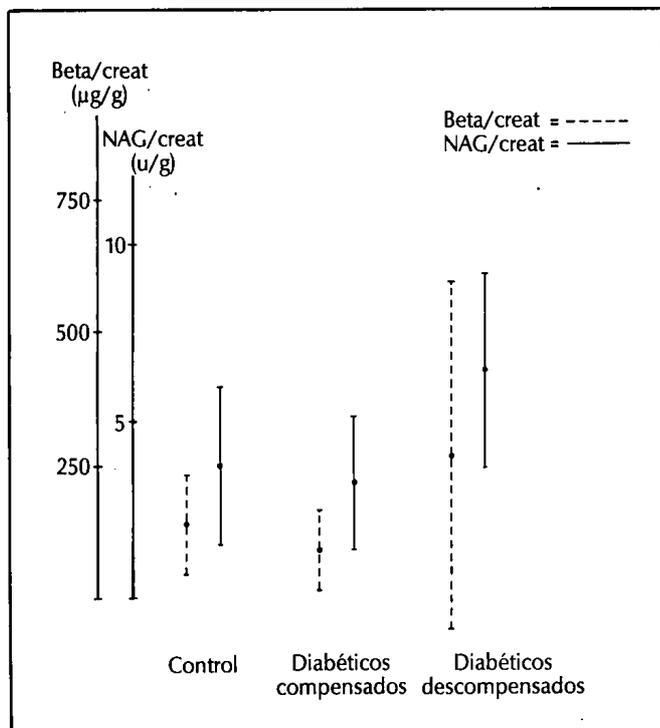


Fig. 3.—Cocientes NAG/creatinina y β_2 -microglobulina/creatinina en enfermos diabéticos.
Creat: Creatinina.
NAG: N-acetilglucosaminidasa.
Beta₂: β_2 -microglobulina.

Se ha elegido como forma de expresión de la eliminación de ambas sustancias el cociente entre su concentración con respecto a la creatinina urinaria en muestra de orina aislada. Si bien en determinados trabajos en la población adulta se ha empleado la eliminación en veinticuatro horas de estas sustancias^{11,12}, nosotros no lo hemos hecho así por ser en la población pediátrica más frecuente el empleo del cociente urinario en muestra de orina aislada, dada la dificultad en la recogida correcta de una orina minutada en esta edad, la facilidad del método y la fiabilidad demostrada del mismo en el estudio de la excreción de otras sustancias, como calcio, urato, citrato, etc.

En relación con la edad se ha observado un aumento del cociente urinario de NAG y β_2 -M por debajo de los dos años de edad, lo cual no indica seguramente un aumento en la excreción de esas proteínas a esa edad, sino un incremento del cociente, dada la menor eliminación de creatinina en orina en el período lactante. En un trabajo previo se había descrito este hallazgo y se comprobó que a partir de los dos años de edad los valores del cociente de la NAG se estabilizan hasta aproximadamente los cincuenta y seis años de edad, momento en que vuelve a elevarse¹³. En otro estudio realizado en adultos también se observó una tendencia a incrementarse los valores del cociente con la edad¹⁷, siendo coincidente la cifra media de sus valores para la NAG en los controles de hasta cincuenta años con los de los nuestros de más de dos años de edad.

Respecto al sexo, no se encontraron diferencias significativas para ambos parámetros. En adultos se ha descrito una tendencia a elevarse el cociente de la NAG en las hembras¹⁷. Por el contrario, en algunos animales de experimentación (perros) se ha descrito cómo la vasectomía bilateral o la castración disminuyen marcadamente la eliminación de NAG debido a la contribución de las secreciones gonadales, recomendando esos autores el empleo de hembras en estudios experimentales de nefrotoxicidad¹⁸.

Hemos comprobado correlación evidente entre la NAG y la β_2 -M sólo en los menores de dos años, perdiéndose significación con la edad. En otro estudio tampoco se encontró dicha correlación, explicándose por qué los mecanismos de excreción de ambas proteínas es diferente, es decir, en el caso de la NAG, por liberación o salida celular, y en el de la β_2 -M, por falta de reabsorción en las mismas células¹¹.

Para comparar los datos del grupo «patológico» con los controles se emplearon los valores de normalidad de los niños por encima de los dos años de edad.

En los niños con hipercalcemia idiopática, la mayoría con la forma absortiva, sólo se encontró elevación de ambas proteínas en un paciente que recientemente había padecido un episodio de litiasis. Baggio y cols. comprobaron eliminación incrementada de NAG, gammaglutamil transpeptidasa, enzima de conversión de la angiotensina I y betagalactosidasa en pacientes con litiasis de re-

petición por oxalato cálcico, así como el hecho de que la sobrecarga de oxalato en ratas produce incremento en la eliminación urinaria de dichas enzimas¹⁹.

En contra de nuestros hallazgos, Stapleton y cols. observaron en niños con ambos tipos de hipercalciuria, renal y absortiva, incremento en la eliminación urinaria de NAG, aunque más acusada en la forma renal, atribuyéndolo a daño tubular por la propia hipercalciuria, siendo además no reversible tras normalización de la calciuria con tratamiento con hidroclorotiazida¹⁴.

En el grupo con glomerulonefritis crónica con proteinuria y filtrado glomerular normal se observó incremento en la eliminación urinaria de ambas sustancias, como ya es conocido^{11, 12, 20}. Se halló proporcionalmente un mayor incremento en la eliminación de la NAG con respecto a la β_2 -M. Kim y cols. coinciden en esta observación, atribuyendo este hecho más a lesión tubular que a deterioro de la función de la membrana basal glomerular; el epitelio tubular es fácilmente influenciado por la isquemia renal y un descenso en el flujo sanguíneo puede causar degeneración del epitelio y liberación de NAG a la luz tubular¹¹.

La determinación de las enzimas lisomales y de las proteínas de bajo peso molecular se ha intentado utilizar para distinguir las infecciones de parénquima renal de las vías bajas. Existe controversia en la literatura sobre la utilidad de la NAG para esa finalidad^{21, 22}. En general, se considera más fiable la determinación de la β_2 -M, en especial cuando se utiliza en combinación con otras pruebas, como la medición de la fracción 5 de la LDH urinaria²¹ o la escintigrafía con galio-67²³.

Nuestros escasos pacientes fueron diagnosticados de pielonefritis aguda por los criterios de Jodal, que tienen en cuenta la temperatura corporal al diagnóstico de la infección la determinación de la velocidad de sedimentación y de los niveles de proteína C reactiva y el valor de la osmolalidad urinaria máxima en la prueba de concentración renal²⁴. En efecto, en nuestros casos con pielonefritis fue más elevada proporcionalmente la eliminación de β_2 -M que la de la NAG, al contrario de lo que ocurría en los niños con glomerulonefritis.

No obstante, la utilidad de la NAG o de la β_2 -M en el diagnóstico topográfico de la infección urinaria se ha puesto en duda cuando se demostró que la fiebre de origen no renal podía por sí misma producir aumento en la eliminación de esas dos sustancias, además de la α_1 -microglobulina y de la proteína ligada al retinol²⁵.

Finalmente, hemos comprobado el comportamiento de esos dos marcadores tubulares en la diabetes mellitus. Trabajos previos han demostrado que la NAG está elevada en pacientes con microangiopatía diabética, especialmente en los de mayor daño renal²⁶. Por el contrario, se ha comunicado que la β_2 -M no es un buen marcador de disfunción tubular precoz en niños con diabetes insulino dependiente, siendo más satisfactorio la determinación de α_1 -microglobulina y la excreción de cadenas ligeras²⁷. Por otra parte, se ha descrito correlación

entre la eliminación de NAG y la microalbuminuria o los niveles de hemoglobina glicosada, no hallándose relación con la duración de la enfermedad²⁸.

En nuestros pacientes diabéticos hemos observado claramente cómo presentan tasas más elevadas de los marcadores de lesión tubular los niños ingresados por descompensación de su enfermedad que los controlados adecuadamente.

Estos resultados denotan que el mal control de la glucemia no sólo favorece el desarrollo de la glomerulopatía diabética, sino también de una tubulopatía proximal dentro del contexto global conocido como nefropatía diabética.

Bibliografía

1. Berggard I y Bearn AG: Isolation and properties of a low molecular weight beta₂-globulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem*, 243:4095-4103, 1968.
2. Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, England AC y DeAngelis C: Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies of N-acetyl-beta-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics*, 62:751-760, 1978.
3. Adelman RD y Zakauddin S: Urinary enzyme activities in children and neonates receiving gentamicin therapy. *Dev Pharmacol Ther*, 1:325-332, 1980.
4. Ellis EN, Brouhard BH, Lagrone L y Travis LB: Urinary excretion of N-acetyl-Beta-D-glucosaminidase in children with Type I diabetes mellitus. *Diab Care*, 6:251-255, 1983.
5. Sherman RL, Drayer DE, Leyland-Jones BR y Reidenberg MM: N-acetyl-beta-glucosaminidase and beta₂-microglobulin. Their urinary excretion in patients with renal parenchymal disease. *Arch Intern Med*, 143:1183-1185, 1983.
6. Kim K, Akiyoshi R, Ohashi M y Nihonyanagi Y: Basic studies on the determination of urinary NAG activity, and changes of NAG activity in renal disease, diabetes mellitus and hepatic diseases. *Jap J Clin Path (suppl.)*, 56:102-110, 1983.
7. Suzuki M y Asano Y: Urinary enzyme determination and its clinical significance. C. Enzyme derived from the kidney tubular epithelium N-acetyl-beta-D-glucosaminidase. 9. Clinical study of urinary NAG activity in patients with various kidney diseases. *Jap J Clin Path (suppl.)*, 56:139-146, 1983.
8. Meyer BR, Fischbein A, Rosenman K, Lerman Y, Drayer DE y Reidenberg MM: Increased urinary enzyme excretion in workers exposed to nephrotoxic chemicals. *Am J Med*, 76:989-998, 1984.
9. Woo KT, Lee EJC, Lau YK y Lim CH: Beta₂-microglobulin in the assessment of renal function of the transplanted kidney. *Nephron*, 39:223-227, 1985.
10. Donta ST y Lembke LA: Comparative effects of gentamicin and tobramycin on excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase. *Antimicrob Agents Chemother*, 28:500-503, 1985.
11. Stapleton FB, Chesney RW, Behrman AT y Miller LA: Increased urinary excretion of renal N-acetyl-Beta-Glucosaminidase in hypercalciuria. *Am J Dis Child*, 139:950-952, 1985.
12. Gibey R, Dupond JL, Mallet H, Guerber F, Iehl-Robert M, Flausse-Parrot F y Becker M: Isoenzymes of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG): new method of evaluating the nephrotoxicity of aminosides. Our experience with dibekacin in geriatrics. *Nephrologie*, 7:51-55, 1986.
13. Ali MH, Bourbouze R, Bondiou MT y Percheron F: Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) and its isoenzyme B as a marker of the nephrotoxicity of gentamicin: re-test from a animal model. *Pathol Biol*, 36:240-244, 1988.
14. Kido T, Honda R, Tsuritani I, Yamaba H, Ishizaki M, Yamada Y y Nogawa K: Progress of renal dysfunction in habitants environmentally exposed to cadmium. *Arch Environ Health*, 43:213-217, 1988.

15. Yakata M, Sugita O, Sakai T, Uchiyama J y Wada K: Urinary enzyme determination and its clinical significance. C. Enzyme derived from the kidney tubular epithelium N-Acetyl-beta-D-glucosaminidase. 4. Preclinical evaluation of the urinary NAG activity and changes in renal diseases. *Jap J Clin Pathol* (suppl.), 56:90-101, 1983.
16. Grenner G y Dati F: Beta₂-microglobulin determination by a new enzyme immunoassay. *Clin Chem*, 29:1240, 1983.
17. Jimura Y, Shimada I, Ohnuki Y, Kawai T y Sakamoto Y: Basic evaluation of urinary NAG assay and changes in the level in patients with diabetes mellitus. *Jap J Clin Path* (suppl.), 56:79-90, 1983.
18. Higashiyama N, Nishiyama S, Itoh T y Nakamura M: Effect of castration on urinary N-Acetyl-beta-D-glucosaminidase levels in male beagles. *Renal Physiol*, 6:226-231, 1983.
19. Baggio B, Gambaro G, Ossi E, Favaro S y Borsatti A: Increased urinary excretion of renal enzymes in idiopathic calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol*, 129:1161-1162, 1982.
20. Yackovceková O, Dellak J, Tischler V, Matheova E, Beno P y Petrasová D: Beta₂-microglobulin in the diagnosis of renal disease in children. Abstracts XVI International Congress of Pediatrics. Barcelona, p. 325, 1981.
21. Mengoli C, Lechi A y Arosio E: Contribution of four markers of tubular proteinuria in detecting upper urinary tract infections. A multivariate analysis. *Nephron*, 32:234-238, 1982.
22. Principi N, Dalla Villa A, Assael BM, Gagliardi L, Ghezzi P, Chiccoli C, Viganò A y Salmons M: Urinary excretion of N-Acetyl-beta-glucosaminidase by children with upper or lower urinary tract infections. *Acta Paediatr Scand*, 71:1033-1034, 1982.
23. Hurwitz SR, Kessler WO, Alazraki P y Ashburn WK: Gallium-67 imaging to localized urinary tract infections. *Br J Radiol*, 49:156-160, 1976.
24. Jodal U, Lindberg U y Lincoln K: Level diagnosis of symptomatic urinary tract infections in childhood. *Acta Paediatr Scand*, 64:201-208, 1975.
25. Sandberg T, Cooper EH, Lidin-Janson G y Yu H: Fever and proximal tubular function in acute pyelonephritis. *Nephron*, 41:39-44, 1985.
26. Clemenzia G, Laterza G, Cottone G, Scibinetti F, Russo G, Persichetti S, Sagliaschi G, Re M, Gallo G y Gallo E: Urinary NAG activity and diabetic microangiopathy. *Minerva Med*, 78:1453-1455, 1987.
27. Walton C, Bodansky HJ, Wales JK, Forbes MA y Cooper EH: Tubular dysfunction and microalbuminuria in insulin dependent diabetes. *Arch Dis Child*, 63:244-249, 1988.
28. Whiting PH, Ros IS y Borthwick L: Serum and urine N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in diabetics on diagnosis and subsequent treatment, and stable insulin dependent diabetics. *Clin Chim Acta*, 92:459-463, 1979.