

# Biomarcadores en el estudio de la nefrotoxicidad por diatrizoato de meglumina

Posleman Sara E.; Del Sanzio Elsa E.; Araujo Carmen R.; De la Cruz Rodriguez Lilia C.

Instituto de Bioquímica Aplicada, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán. Balcarce 747. San Miguel de Tucumán.

Autor para correspondencia: Dra. Lilia Cristina de la Cruz Rodríguez - Diagonal 9 nº 1025 (Bº Padilla) 4000 San Miguel de Tucumán. Telf. 081-345233. E-mail: 1 dantur @ unt.edu.ar

**RESUMEN:** La utilización de compuestos iodados usados como medio de contraste radiológico plantea un riesgo potencial de nefrotoxicidad. En este trabajo se estudiaron enzimas urinarias, la gamma glutamil transpeptidasa (GGTu) y la n-acetilglucosaminidasa (NAGu) para evaluar el efecto nefrotóxico tubular del diatrizoato de meglumina. Para ello se estudiaron 31 pacientes de ambos sexos, cuyas edades oscilaron entre los 25 y 58 años, sometidos a Tomografía Axial Computada (TAC) de encéfalo, cuello y tórax. Se usó como medio de contraste el diatrizoato de meglumina al 76%, administrado en una única dosis de 0,5 ml/kg de peso corporal por vía endovenosa y durante 20 minutos. De cada uno de ellos se tomaron un total de 8 muestras de orina y sangre obtenidas el día anterior de la inoculación de la sustancia de contraste (valor basal) y durante 7 días consecutivos después de la inoculación (Grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7). Por medio del análisis de la varianza, se encontró que existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,01$ ) entre la GGTu y la creatinina sérica en todos los días del ensayo realizado. Mientras que la GGTu aumentó significativamente su excreción ( $p < 0,01$ ) los 2 primeros días de la prueba (Grupos 1 y 2), la creatinina sérica se mantuvo en sus valores normales; a partir del 3er día los valores de GGTu fueron significativamente menores ( $p < 0,01$ ). La NAGu presentó en los grupos 1 y 2 un aumento significativo con respecto a su valor basal ( $p < 0,05$ ), sin embargo no se incluyó en la comparación de medias con GGTu y creatinina sérica por presentar un alto coeficiente de variabilidad  $CV\% = 27,01$  en relación a los coeficientes de GGTu = 8,50 % y creatinina sérica = 5,59%. Del análisis de la varianza con  $\alpha = 0,050$  para cada uno de los parámetros estudiados se encontró que la creatinina sérica se mantuvo dentro de los valores de referencia en los 7 días de la prueba. La GGTu mostró diferencias significativas con respecto a su basal en los 7 días de la prueba ( $p < 0,05$ ) la NAGu dio diferencias significativas  $p < 0,05$  en los días 1 y 2.

Con estos resultados se concluye que las sustancias de contraste iodadas como el diatrizoato de meglumina, tienen como primer sitio de acción a las células del túbulo cortoneado proximal, provocando cambios bioquímicos o lesiones mínimas reversibles que se manifiestan por la mayor excreción de las enzimas GGTu y NAGu sin que se manifieste cambios en la función renal. La GGTu sería un buen marcador en el diagnóstico temprano de nefrotoxicidad por estas drogas.

**SUMMARY:** The iodinated compound used as a radiocontrast media outlines a potential risk of nephrotoxicity. In this work urinary enzymes, such as Gamma glutamyl transpeptidase (GGTu) and N acetyl glucosaminidase (NAGu) were studied to evaluate the nephrototoxic tubular effect of the meglumine diatrizoate. The studied population consisted of 31 male and female patients aged between 25 and 58 subjected to Axial Computed Tomography (ACT) of brain, neck and thorax. The meglumine diatrizoate at 76 % was used as a contrast medium given in a sole dosis of 0,5 ml/kg of body weight in vain during 20 minutes. Eight blood and urine samples were taken from each patient done the day before the inoculation of the contrast substance ( basal value) and during 7 consecutive days after the inoculation (Groups 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7).

Through the variance analysis it was found that there are meaningful statistical differences ( $p < 0,01$ ) between the GGTu and the serum creatinine in all the tests. While the GGTu increased significantly its excretion ( $p < 0,01$ ) during the first two days of the test (Groups 1 and 2), the serum creatinine kept its normal values. The GGTu values were very low in the 3<sup>rd</sup> day ( $p < 0,01$ ). The NAGu showed a significant increase in groups 1 and 2 with regard to its basal value ( $p < 0,05$ ), but it was not included in the media comparison with GGTu and serum creatinine because it showed a high coefficient of variation ( $CV\% = 27,01$ ) in relation to the coefficients of GGTu = 8,50% and of serum creatinine = 5,59%. The serum creatinine was maintained in the reference values during the 7 days of the test found from the variance analysis with  $\alpha = 0,050$  for each one of the studied parameters. The GGTu showed significantly differences with respect to its basal value during the 7 days of the test ( $p < 0,05$ ). The NAGu showed significantly differences ( $p < 0,05$ ) during the first and second days.

The results showed that the contrast iodinated substances, such as the meglumine diatrizoate, produce biochemical changes or reversible minimum lesions mainly in the proximal tubular epithelium cells which are exhibited by a higher excretion of the GGTu and NAGu enzymes without any changes in the renal function. The GGTu would then be a good biomarker in the early diagnosis of nephrotoxicity produced by these drugs.

## Introducción

La utilización de medios de contraste iodados plantea una alta incidencia de reacciones anafilácticas como así también un riesgo potencial de nefrotoxicidad.

Los efectos adversos de los medios de con-

traste han sido relacionados con un deterioro transitorio y asintomático de la función renal, hasta una insuficiencia renal aguda oligúrica.

Los cambios funcionales vasculares se relacionan con la vasoconstricción de la arteriola aferente, disminución de la perfusión renal, y disminu-

ción de la filtración glomerular, lo que se traduce en un aumento de la creatinina y urea sérica.

Los mecanismos que ocasionarían estos cambios hemodinámicos incluyen estimulación nerviosa simpática, alteración del balance vasoconstricción-vasodilatación por las prostaglandinas, aumento de la sensibilidad a péptidos vasoactivos y liberación de endotelina por parte de las células endoteliales (1,2).

Otros autores (3-6) observaron un aumento en la excreción de ácido úrico y oxalato cuando se inyectó en la arteria renal la sustancia de contraste, incluso se incrementó la proteína de Tamm Horsfall. Sin embargo, no hay evidencias de que la obstrucción por cristales o el incremento de la precipitación de la proteína de Tamm Horsfall sean responsables de la nefrotoxicidad. Las alteraciones bioquímicas observadas a nivel tubular proximal por medios de contraste han sido poco estudiadas.

Estudios anatomopatológicos en modelos animales con altas dosis de sustancias de contraste iodadas revelan vacuolización de las células del epitelio del túbulo proximal (7,8). In vitro se encontró que el diatrizoato causa injuria dependiente de la concentración manifestada por cambios en los niveles de potasio y calcio celular como así también en el contenido de nucleótidos (9-11). La meglumina, compuesto catiónico combinado con el diatrizoato causa mayor injuria, debido a que potencia la hipoxia (7,12).

La nefrotoxicidad de estos compuestos ha sido motivo permanente de estudio no sólo desde el punto de vista médico-bioquímico, sino también desde su estructura química, ya que se trata de compuestos iodados altamente disociables, hiperosmolares con respecto al plasma y liposolubles.

Una de las sustancias usadas como medio de contraste en las tomografías axial computadas (TAC), el diatrizoato de meglumina, compuesto triyodado iónico, es potencialmente nefrotóxico, siendo el daño renal dependiente de su concentración y tiempo de acción.

Si bien algunos autores (13) han observado una mayor incidencia de nefropatía por sustancias de contraste iodadas en pacientes con diabetes mellitus con función renal conservada, no es menor en individuos sanos con función renal normal.

Para la detección de daño subclínico tubular por diferentes drogas (metales pesados, aminoglucósidos) algunos autores han estudiado enzimas presentes en orina y que son liberadas exclusivamente por las células tubulares del riñón (14, 15).

Nosotros, en un trabajo anterior (16), hemos

estudiado el efecto de un inmunosupresor, la ciclosporina A, sobre el túbulo contorneado proximal, encontrando un aumento en la excreción urinaria de la enzima gamma glutamil transpeptidasa, como un ensayo temprano de nefrotoxicidad.

Es por ello que en este trabajo, estudiamos la gamma glutamil transpeptidasa urinaria (GGTu), enzima localizada en el ribete en cepillo de las células del túbulo contorneado proximal (TCP) y la N-acetilglucosaminidasa (NAGu), enzima lisosomal de las células del túbulo proximal, con la finalidad de detectar cambios tubulares precoces producidos por el diatrizoato de meglumina antes que sean observadas alteraciones morfológicas y de la función renal. La creatinina sérica se usó para estudiar cambios en la funcionalidad renal.

## Materiales y Métodos

Sobre un total de 50 pacientes, se seleccionaron para estudiar el efecto nefrotóxico 31 pacientes sin antecedentes de disfunción renal ni diabetes.

Los pacientes estudiados fueron 20 varones y 11 mujeres cuyas edades oscilaron entre los 25 y 58 años, todos sometidos a TAC de encéfalo, cuello y tórax. Se usó como medio de contraste el diatrizoato de meglumina al 76 %, administrado en dosis de 0,5 ml/Kg de peso corporal por vía endovenosa y durante 20 minutos.

De cada uno de ellos se tomaron un total de 8 muestras de orina y sangre obtenidas en diferentes momentos a partir del día anterior a la inoculación de la sustancia de contraste (Valor basal) y durante 7 días consecutivos después de la inoculación (Grupos 1,2,3,4,5,6 y 7).

Se midió la concentración de creatinina en suero y la actividad enzimática de GGtu y NAGu en las muestras de orina. Estas muestras provenientes de la primera micción de la mañana fueron procesadas inmediatamente o conservadas a 4° C por un período no mayor de 6 horas.

## Métodos

La NAGu se midió con el Test-Combination  $\beta$ -NAG de Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica, determinándose su actividad en U/l.

La GGtu fue medida de acuerdo a la técnica descrita por Szasz (17) utilizando  $\gamma$ -G-test cinética de Wiener Lab. La actividad de la enzima se expresó en U/l.

La creatinina sérica fue determinada por la técnica de Jaffé modificada utilizando Creatinina de Wiener Lab.

### Estadística

Los resultados fueron expresados como media  $\pm$  SD. Diferencias estadísticas entre los valores basales y los valores de los días 1,2,3,4,5,6 y 7 tratados con el diatrizoato de meglumina fueron analizados por ANOVA aplicando el test de Sheffe.

### Resultados

En la Figura 1 y Tabla 1 se muestran la comparación de medias de los valores relativos de GGTu y creatinina sérica con respecto a sus basales considerados 100%. Por medio del análisis de la varianza (ANOVA) se encontró que existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,01$ ) entre GGTu y creatinina sérica en todos los días del ensayo, realizado a pacientes a quienes se practicó TAC utilizando diatrizoato de meglumina al 76%, en dosis única endovenosa de 0,5 mg/kg de peso. En la Figura 1 y Tabla 1 se observa que en el grupo 1 y 2 que corresponde a los días 1 y 2 de inculada la sustancia de contraste iodada la GGTu, enzima del ribete en cepillo del TCP aumenta significativamente

su excrección ( $p < 0,01$ ) permaneciendo la creatinina sérica en sus valores normales; a partir del 3er día (Grupo 3) los valores de GGTu fueron significativamente menores ( $p < 0,01$ ).

La NAGu presentó en los grupos 1 y 2 de la prueba diferencias significativas con respecto al valor basal (Tabla 2), sin embargo no se incluyó en la comparación de medias con GGTu y creatinina por presentar un valor alto de CV%.

	NAGu	GGTu	Creatinina sérica
CV%	27,01	8,50	5,59

Del análisis de la varianza con  $\alpha = 0,050$  para cada uno de los parámetros estudiados en los 7 días de la prueba (Tabla 2) se encontró que: la creatinina se mantiene dentro de los valores de referencia para el método de dosaje usado, presentando sin embargo una diferencia significativa en los grupos 1,4 y 5 ( $p < 0,05$ ). La GGTu mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con respecto al valor basal en los 7 días de la prueba y la NAGu dio diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) solo en los días 1 y 2.

Los pacientes seleccionados para este estudio no presentaron manifestaciones clínicas ni de laboratorio de insuficiencias renal aguda.

**Tabla 1.** Efecto del diatrizoato de meglumina en la excreción de la enzima urinaria gamma glutamil transpeptidasa (GGTu) y creatinina sérica en pacinetes sometidos a tomografía axial computada (TAC). Comparación de medias de los valores relativos de GGTu y creatinina sérica con respecto a sus basales considerados 100 % en los 7 días de la prueba y sus correspondientes CV%.

	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5	DIA 6	DIA 7
BASAL	100	100	100	100	100	100	100
CREATININA	94,35 <sup>b</sup>	98,42 <sup>b</sup>	100,38 <sup>a</sup>	90,22 <sup>a</sup>	94,91 <sup>a</sup>	96,47 <sup>a</sup>	96,40 <sup>a</sup>
GGTu	188,72 <sup>a</sup>	111,49 <sup>a</sup>	54,20 <sup>b</sup>	67,30 <sup>b</sup>	73,21 <sup>b</sup>	73,24 <sup>b</sup>	63,40 <sup>b</sup>
CV%	10,90	12,41	7,21	9,69	8,31	9,53	8,31
P	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

El diatrizoato de meglumina al 76% se administró en dosis única de 0,5 ml/kg de peso corporal por vía endovenosa. Las muestras de orina y sangre para medir GGTu y creatinina se explican en Materiales y Métodos.

Los valores de las columnas que no comparten la misma letra superescrita son significativamente diferentes ( $p < 0,01$ ) cuando cada una de las variables es analizada por el test de Sheffe.

**Tabla 2.** Comparación de medias de GGTu, NAGu y creatinina sérica obtenidas durante los 7 días de la prueba con diatrizoato de meglumina. Sheffe con  $\alpha = 0,05$ .

	GGTu	Creatinina	NAGu
Valor basal	55,712 ± 4,69 <sup>c</sup>	12,053 ± 0,62 <sup>a</sup>	3,224 ± 1,00 <sup>c</sup>
Día 1	104,168 ± 7,78 <sup>a</sup>	11,339 ± 0,72 <sup>b,c</sup>	5,835 ± 1,05 <sup>a</sup>
Día 2	61,375 ± 5,92 <sup>b</sup>	11,837 ± 0,78 <sup>a,b</sup>	4,970 ± 1,35 <sup>b</sup>
Día 3	29,967 ± 1,57 <sup>f</sup>	12,069 ± 0,60 <sup>a</sup>	3,367 ± 1,26 <sup>c</sup>
Día 4	37,135 ± 2,13 <sup>d,e</sup>	10,862 ± 0,76 <sup>c</sup>	3,199 ± 0,99 <sup>c</sup>
Día 5	40,338 ± 2,30 <sup>d</sup>	11,412 ± 0,50 <sup>b</sup>	3,188 ± 0,96 <sup>c</sup>
Día 6	40,412 ± 3,87 <sup>d</sup>	11,600 ± 0,60 <sup>a,b</sup>	3,111 ± 0,66 <sup>c</sup>
Día 7	34,991 ± 1,57 <sup>e</sup>	11,586 ± 0,55 <sup>a,b</sup>	3,020 ± 0,57 <sup>c</sup>
p	0,05	0,05	0,05

Los valores se expresaron como  $\bar{X} \pm SD$

GGTu y NAGu se expresaron en U/l

Creatinina sérica se expresó en mg/l

Los valores de las columnas que no comparten la misma letra superescrita son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) cuando cada una de las variables es analizada por el test de Sheffe.

## Discusión

El efecto nefrotóxico de los medios de contraste iodados han sido estudiado por diferentes investigadores (1-6). Fundamentalmente, estos grupos se han referido al efecto hemodinámico, vasoconstricción de la arteriola aferente, disminución de la perfusión renal y disminución de la filtración glomerular, lo que se manifiesta en aumento de creatinina y urea sérica. El efecto nefrotóxico tubular ha sido poco estudiado y se ha limitado en general a describir las lesiones de vacuolización tubular, que es un fenómeno de aparición tardía que se observa cuando ya hay deterioro de la función renal.

Diversos autores han estudiado el efecto nefrotóxico de diferentes drogas antiinflamatorios no esteroides, sales de oro, cadmio, vinplastin, cisplatin, clorambucilo y ciclosporina (15,16,18) utilizando enzimas de excrección urinaria como la gamma glutamiltranspeptidasa, alanina aminopeptidasa, N-acetil glucosaminidasa y alfa glucosidasa.

Estos autores concluyen que las enzimas serían marcadores de daño de las células tubulares proximales capaces de detectar lesiones leves de daño renal, en pacientes tratados con drogas nefrotóxicas. La mayor excrección urinaria de estas enzi-

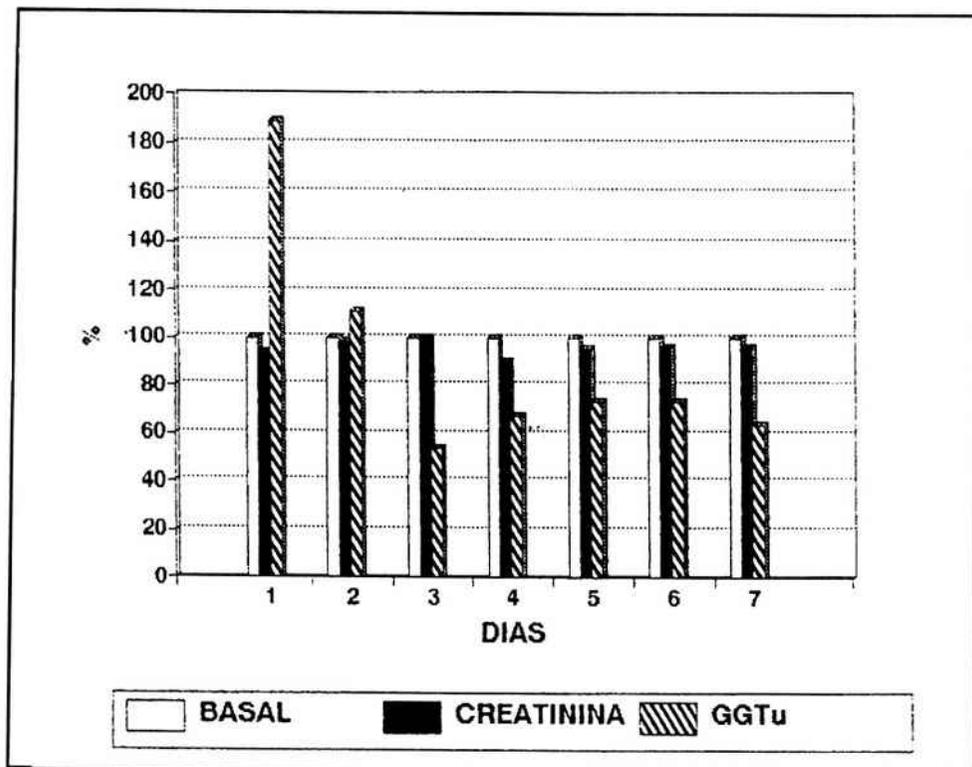
mas aparecería antes que se manifiesten lesiones más severas, pudiendo ser un parámetro importante para el diagnóstico temprano de la nefrotoxicidad.

En este trabajo se estudia el efecto del diatrizoato de meglumina sobre las células proximales renales utilizando la medida de excrección de las enzimas urinarias, la GGT y la NAG y los niveles de creatinina sérica.

Los valores de GGTu en los pacientes a los que se suministró diatrizoato de meglumina mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con respecto a los valores basales en los 7 días de estudio (Tabla 2). Los cambios en la excrección de GGTu mostrado en los diferentes días de la prueba (Fig. 1 y Tabla 2) se deberían a la acción de la sustancia de contraste iodada que al unirse covalentemente a través del yodo a las membranas de las células en ribete en cepillo del TCP provoca un deterioro de las células con pérdida de esta enzima de membrana.

El incremento de NAGu (Tabla 2) sería por efecto de la sustancia de contraste sobre los lisosomas de las células del túbulo renal. NAGu está localizada en los lisosomas ya que juega un rol importante en la ruptura de las glicoproteínas; el sistema lisosomal del túbulo es un sistema dinámico y los valores normales de NAG resultan del

**Figura 1:** Medias de los valores relativos de GGTu y creatinina sérica respecto al basal (100%) durante 7 días en pacientes sometidos a TAC. Se usó como medio de contraste diatrizoato de meglumina al 76 %, administrado en dosis única de 0,5 ml/kg de peso corporal por vía endovenosa en 20 minutos.



equilibrio de la actividad de la exocitosis y pinocitosis de las células epiteliales (19). Este cambio indica un mecanismo de respuesta celular ante la presencia de la droga.

La creatinina se mantuvo dentro de los valores de referencia del método durante el tratamiento con el diatrizoato de meglumina (Tabla 2) en todo los días de la prueba, esto indicaría que la funcionalidad renal, y más precisamente la filtración glomerular no se altera.

El aumento de las enzimas urinarias sin modificación de la creatinina sérica se debería a la acción directa del diatrizoato de meglumina, sobre las células del TCP, sin que exista un efecto tóxico vascular importante que modifique la concentración de creatinina sérica.

## Conclusiones

Se concluye que las sustancias de contraste iodadas como el diatrizoato de meglumina, tienen como primer sitio de acción a las células del túbulo contorneado proximal, provocando cambios bioquímicos o lesiones mínimas reversibles que se manifiestan por pérdida o mayor expresión de enzimas urinarias como la GGTu y NAGu sin que se manifiesten cambios en la funcionalidad renal.

La GGTu sería un buen biomarcador en el diagnóstico temprano y predictivo de nefrotoxicidad por estas drogas. Sin embargo el estudio de la NAGu como marcador de nefrotoxicidad no es recomendable por su alta variabilidad.

## Agradecimientos

Al Consejo de Ciencia y Técnica de Tucumán (COCYTUC) por los subsidios otorgados.

A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT) por los subsidios otorgados.

A Wiener Lab por los equipos donados.

Al Ing. Miguel Morandini de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes de Tucumán, por el estudio estadístico realizado.

## Presentación en Jornadas y Congresos

XII Jornadas Científicas de la Sociedad de Biología de Tucumán.

Tafí del Valle – Tucumán 12 al 14 de Octubre de 1995.

Congreso Nacional de Medicina y XII Jornadas Nacionales Interresidentes de Clínica Médica Rosario – Santa Fe 27 de Noviembre al 1 de Diciembre de 1995.

X Congreso Argentino de Nefrología. San Carlos de Bariloche 19 al 22 de Octubre de 1996.

## Referencias Bibliográficas

- 1- Moore R D, Steinberg E P, Powe N. (1992) Nephrotoxicity of high osmolality versus low osmolality contrast media: randomized clinical trial. *Radiology* **182**: 649-655.
- 2- Lautin E M, Freeman N J, Schoenfeld A H. (1991) Radiocontrast associated renal dysfunction: Incidence and risk factors. *AJR* **157**: 49-58.
- 3- Postlethwaite A E, Kelley W N. (1971) Uricosuric effect of radiocontrast agents. A study in man of four commonly used preparations. *Ann Intern Med* **74**: 845-852.
- 4- Dawnay A B St J, Thornley C, Nockler I, Webb Y A M, Cattell W R. (1985) Tamm Horsfall glycoprotein excretion and aggregation during intravenous urography. Relevance to acute renal failure. *Invest Radiol* **20**: 53-57.
- 5- Dowson P, Freedamn D B, Howell M J, Hine A L. (1984) Contrast medium induced acute renal failure and tamm Horsfall proteinuria. *Br J Radiol* **57**: 577-579.
- 6- Skovgaard N, Holm J, Hemmingsen O, Skaarup P. (1989) Urinary excretion following intravenously administered ionic and nonionic contrast media in man. *Acta Radiol* **30**: 517-519.
- 7- Heyman S N, Brezis M, Epstein F H, Spokes K, Silva P, Rosen S. (1991) Early renal medullary hypoxic injury from radiocontrast and indomethacin. *Kidney Int* **40**: 632-642.
- 8- Andersen K J, Vik H. (1991) Use of renal epithelial cell lines for testing cellular toxicity. *Contrib Nephrol* **101**: 227-234.

9- Bakris G L, Burnett J R. (1985) A role for calcium in radiocontrast induced reductions in renal hemodynamic. *Kidney Int* **27**: 465-468.

10- Humes D H, Hunt D A, White M D. (1987) Direct toxic effect of the radiocontrast agent diatrizoate on renal proximal tubule cells. *Am J Physiol* **252**: F 246- F 255.

11- Yuan Z F, Li S M. (1993) Role of increased cytosolic calcium in rabbit proximal tubule cell injury induced by diatrizoate and protection by chlorpromazine. *XII Int Congr Nephrol Abstr* 279.

12- Lund G, Einzig S, Rysavy J. (1984) Role of ischemia in contrast induced renal damage an experimental study. *Radiology* **69**: 783-789.

13- Teixeira R B, Kelly J, Alpert M, Prado V, Vaarmonde C A. (1982) Complete protection from gentamicin induced renal failure in the diabetes mellitus rat. *Kidney Int* 600-612.

14- Price R G. (1982) Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal diseases. *Toxicology* **23**: 99-134.

15- Redondo F L, Bergon E, Tinture T, Miravalles E M, Pascual T. (1987) Urinary enzyme activities in patients treated with gold and other anti-rheumatic drugs. *Clin Biochem* **20**: 343-347.

16- De la Cruz Rodríguez L C, del Sanzio E E, Poslerman S E, Semrik S M, Santos J C. (1996) Nefrotoxicidad por ciclosporina A evaluada mediante la gamma glutamil traspeptidasa urinaria. *Nefrología latinoamericana* **3**: 4,300-305.

17- Szasz G. (1969) A kinetic photometric method for gamma glutamyl traspeptidase activity in serum. *Clin Chem* **15**: 124-136.

18- Gatta A, Bazerler G, Amodio P, Menon F, Angeli P, Schiaffino E, Schmid C. (1989) Detection of the early steps of cadmium nephropathy comparison of light and electronmicroscopical patterns with the urinary enzymes excretion. *Nephron* **51**: 20-24.

19- Price R G. (1992) The role of NAG (N-acetyl B -D-glucosaminidase) in the diagnosis of kidney disease including the monitoring of nephrotoxicity. *Clin Nephrol* **38**: 1,514-519.