

## Excreción Urinaria de Caliceína en Recién Nacidos

Dr. Fernando Olavarría U.<sup>1</sup>; Dr. Carlos Vío L.<sup>2</sup>; Dr. Sergio Krause H.<sup>1</sup>;  
Dr. Fernando Hermann H.<sup>1</sup>; E.U. Gema Santander M.<sup>3</sup>

### Kallikrein Excretion in Newborn Infants

Kallikrein excretion and some parameters of renal function were studied on 20, one day old, newborn infants (12 preterm and 8 term infants). Preterm infants excreted less kallikrein ( $p < 0.05$ ), had lower creatinine clearance ( $p < 0.02$ ) and urinary osmolality ( $p < 0.03$ ) and they showed also higher values of urinary volume ( $p < 0.01$ ),  $Fe_{Na}^+$  ( $p < 0.01$ ),  $Fe_{K}^+$  ( $p < 0.05$ ), and free water clearance ( $p < 0.02$ ) than infants born at term. Kallikrein excretion related directly with gestational age ( $p < 0.01$ ) and body weight ( $p < 0.03$ ) and inversely with  $Fe_{Na}^+$  ( $p < 0.04$ ) and urinary volume ( $p < 0.01$ ). When urinary kallikrein excretion was corrected to body surface these relations lost statistical significance, except with gestational age ( $p < 0.04$ ). The values of kallikrein excretion in newborns were very low as compared to those of a young adult population. As kallikrein is synthesized in the distal nephron, we have advanced as an hypothesis that this could be a reflection of immature distal tubular mass and/or be caused by relative unresponsiveness of the distal nephron of newborn infants to hormones known to stimulate kallikrein in adults, such as aldosterone and antidiuretic hormone.

(Key words: Kallikrein excretion. Newborn infants. Term and preterm).

En los mecanismos de regulación de la función renal se reconoce la participación de al menos tres sistemas hormonales vasoactivos, tales como el sistema renina-angiotensina-aldosterona, las prostaglandinas renales y el sistema caliceína-

cinina<sup>1,2</sup>.

El estudio de estos sistemas en el riñón en vías de desarrollo ha despertado gran interés recientemente<sup>3</sup>, así, se han establecido altos niveles de aldosterona circulante y excreción urinaria aumentada de prostaglandinas en el período neonatal<sup>4,5</sup>. No obstante, existe escasa información respecto al sistema caliceína-cinina en recién nacidos de diferente edad gestacional<sup>6,7,8</sup>.

El presente estudio fue diseñado para evaluar la excreción renal de caliceína en recién nacidos de término y pretérmino durante las primeras horas de vida, y a través de sus relaciones con otros parámetros de la función renal, lograr un mejor conocimiento de la ontogenia del sistema caliceína y su participación en la fisiología del riñón en desarrollo.

1. Instituto de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.
2. Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.
3. Servicio de Pediatría, Unidad de Neonatología, Hospital Regional de Valdivia.

Trabajo realizado con apoyo de la Dirección de Investigación y Desarrollo, Univ. Austral de Chile, Proyectos S-83-11 y S-85-38 y Proyectos 1050/85 de FONDECYT.

## MATERIAL Y METODO

El estudio se efectuó en recién nacidos de diferente edad gestacional y de sexo masculino por la mayor facilidad para recolección de orina. La edad gestacional fue asignada de acuerdo a historia menstrual y evaluación pediátrica según pauta de Dubowitz y Dubowitz<sup>9</sup>.

Las determinaciones se realizaron entre las 24 y 48 horas de vida. Durante ese período se aportó un volumen mínimo de 80 ml x kg x día como leche maternizada (NAN<sup>®</sup>, Nestlé) vía oral y/o solución glucosalina 1/4 normal por vía endovenosa. Para la evaluación de la función renal, se utilizó el método descrito previamente<sup>10</sup>.

Una alícuota del volumen urinario de 24 horas de cada recién nacido fue dializada durante la noche contra agua corriente y guardada en frío a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

La actividad de calicreína fue medida por hidrólisis del sustrato sintético D-val-Leu-Arg-p- nitroanilida (S-2266, Kabi, Sweden) de acuerdo a la técnica descrita por Amundsen y col.<sup>11</sup>. La actividad enzimática se expresó como unidades de calicreína amidasa (KUA) siendo una KUA la actividad enzimática capaz de hidrolizar 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato por ml, por minuto, a  $37^{\circ}\text{C}$ , pH 8,2. Cada muestra individual fue confrontada contra su propio blanco urinario conteniendo aprotinin (trasyloil, Bayer) 1000 KIU/ml.

Los resultados fueron expresados como mKUA x día y también estandarizados a  $1,73 \text{ m}^2$  (mKUA x día x  $1,73 \text{ m}^2$ ). La calicreína urinaria fue además individualizada por su comportamiento en columna de cromatografía DEAE-Sephadex y su perfil de inhibición con inhibidores de tripsina<sup>12</sup>.

El análisis estadístico fue practicado en un computador Digital 2020, usando el programa S.P.S.S. Se utilizó la prueba T de Student para muestras independientes y el análisis de correlación de Parson, fijándose la probabilidad de error en menos de un 5%.

Se solicitó la autorización materna para la incorporación de cada recién nacido a este estudio.

## RESULTADOS

Los 20 recién nacidos que comprenden este estudio, tenían una edad gestacional ( $\bar{x} \pm \text{D.E.}$ ) de  $35,7 \pm 4,0$  semanas (rango 26 a 41 semanas) todos adecuados a edad gestacional, con un peso de  $2.364,5 \pm 1.031,1$  g (rango 840 a 4.080 g), 8 eran recién nacidos de término (RNT) y 12 eran de pretérmino (RNPT). Para este último grupo, la edad gestacional fue de  $33,3 \pm 3,1$  semanas.

El volumen aportado durante el periodo de estudio fue de  $95,1 \pm 23,0$  ml x kg x día para los RNPT y de  $95,6 \pm 13,3$  ml x kg x día para los RNT, sin existir diferencias significativas entre ambos grupos.

En el grupo de los RNPT, 5 desarrollaron síndrome de dificultad respiratoria de moderada intensidad durante el periodo de estudio. No hubo diferencias significativas en los parámetros funcionales estudiados entre éstos y los que no evidenciaron trastorno respiratorio, y por ende fueron considerados como un sólo grupo.

Con excepción de la señalada, no hubo otras enfermedades o malformaciones evidentes que pudieran interferir los resultados de este estudio.

En la Tabla 1 se resumen los resultados del estudio de función renal y excreción urinaria de calicreína para los grupos RNT y RNPT.

Tabla 1  
Función Renal y Excreción Urinaria de Calicreína en Recién Nacidos de Pretérmino y Término

	Pretérmino	Término	p
n	12	8	
Peso (g)	1.650 $\pm$ 415*	3.443 $\pm$ 788	<0,001
Volumen urinario (ml x kg x h)	3,34 $\pm$ 1,0	1,13 $\pm$ 0,4	<0,01
Depuración creatinina (ml x min)	1,68 $\pm$ 0,63	3,55 $\pm$ 1,60	<0,02
FeNa <sup>+</sup> (%)	0,96 $\pm$ 0,82	0,13 $\pm$ 0,10	<0,01
FeK <sup>+</sup> (%)	15,2 $\pm$ 7,3	9,1 $\pm$ 4,2	<0,05
Osmolaridad urinaria mOSN x kg - H <sub>2</sub> O	117,1 $\pm$ 31,7	194,8 $\pm$ 78,8	<0,03
Calicreína urinaria	2,88 $\pm$ 1,07	9,49 $\pm$ 5,73	<0,02
mKAU x día x $1,73 \text{ m}^2$	37,35 $\pm$ 13,01	82,72 $\pm$ 52,78	<0,05
Depuración agua libre ml x min.	0,048 $\pm$ 0,02	0,022 $\pm$ 0,02	<0,02

\*  $\bar{x} \pm \text{D.E.}$

Tabla 2

Correlación entre Excreción Urinaria de Caliceína y Edad Gestacional, Peso Corporal y algunos Parámetros de Función Renal.

Excreción urinaria de caliceína M x KAU x día	Versus	r	p
	Edad gestacional	0,565	<0,01
	Peso	0,433	<0,03
	Depuración creatinina (m/min)	0,382	0,05
	Volumen urinario (ml x kg x h)	- 0,509	<0,01
	FeNa <sup>+</sup>	- 0,420	<0,04
	FeK <sup>+</sup>	- 0,376	n.s.
	Depuración agua libre (ml x min)	- 0,016	n.s.

n.s. = no significativo.

En comparación con el grupo de término, los RNPT tuvieron una depuración de creatinina significativamente menor y valores más bajos de osmolaridad urinaria. Referente a volumen urinario, excreción fraccional de sodio y potasio, y depuración de agua libre, los RNPT presentaron valores significativamente más altos que los RNT.

En cuanto a excreción urinaria de caliceína, los valores fueron significativamente más bajos en el grupo de RNPT, aún corregido por superficie corporal.

La excreción urinaria de caliceína se correlacionó directa y significativamente con edad gestacional, peso corporal y en forma negativa con volumen urinario y excreción fraccional de sodio (FeNa<sup>+</sup>). No se demostró correlación con excreción fraccional de potasio (FeK<sup>+</sup>) ni con depuración de agua libre; observándose una correlación directa, pero en el límite de lo significativo, con depuración de creatinina (Tabla 2).

Al corregir la excreción urinaria por superficie corporal (mKAU x día x 1,73 m<sup>2</sup>) estas correlaciones pierden significación estadística, a excepción de aquella establecida con edad gestacional (r 0,421; p < 0,04).

## DISCUSION

La inmadurez del riñón al nacimiento se expresa fundamentalmente a través de una menor velocidad de filtración glomerular<sup>10,13,14</sup>, una limitada capacidad para reabsorber el sodio ultrafiltrado<sup>15-17</sup> y una reducida habilidad para concentrar la orina<sup>18</sup>.

El proceso de maduración renal es dependiente de la edad gestacional, como lo demuestra el hecho de una capacidad funcional renal más limitada en el RNPT en comparación con el RNT.

Nuestros resultados, con respecto a función renal, son concordantes con investigaciones previas en RNT y RNPT en período similar de la vida extrauterina<sup>3, 10, 18, 19</sup>.

Poco se conoce sobre la excreción urinaria de caliceína en el recién nacido y de su participación en el proceso de maduración funcional renal. Recientemente, en este país, Saieh y col.<sup>20</sup> estudiaron la excreción urinaria de caliceína en niños de diferentes edades, demostrando un ascenso progresivo de ella a partir de los seis meses de edad, para estabilizarse alrededor de los 2 años, lo que estaría señalando que la edad es un determinante del proceso madurativo de este sistema hormonal. En el mismo sentido apuntan nuestros resultados al demostrar una menor excreción urinaria en el grupo de RNPT en comparación con los RNP, lo que asociado a la buena correlación observada entre excreción urinaria de caliceína estandarizada a superficie corporal vs edad gestacional, estaría indicando que dicha excreción es un reflejo del proceso de crecimiento y maduración del riñón.

Los valores de excreción urinaria de caliceína

Tabla 3

Comparación de Excreción Urinaria de Caliceína entre Recién Nacido de Pretérmino, Término y Adulto Joven.

	R.N.P.T.	R.N.T.	Adulto Joven*
n	12	8	14
Caliceína urinaria m x KAU x día x 1,73 m <sup>2</sup>	37,35 ± 13,01**	82,72 ± 52,78	1.680 ± 140

\* Valores obtenidos en adultos jóvenes voluntarios participando en un estudio en el Instituto de Fisiología de la Universidad Austral de Chile.

\*\*  $\bar{x} \pm D.E.$

en población adulta son veinte a cuarenta veces superiores a los encontrados en recién nacidos, aún corregidos por superficie corporal (Tabla 3), contrastando con los altos niveles de otras hormonas vasoactivas, tales como el sistema renina-angiotensina-aldosterona y la excreción aumentada de prostaglandinas renales en el período neonatal<sup>3, 4, 5, 7, 21</sup>.

Por lo general estos sistemas vasoactivos renales se modifican en un mismo sentido en variadas condiciones clínicas y experimentales, entre ellas, el síndrome de Bartter<sup>2</sup>, el embarazo normal<sup>23</sup>, dieta baja en sodio<sup>24</sup>, hipoaldosteronismo hiporeninémico<sup>25</sup> etc. Sin embargo, en el período neonatal esta tendencia estaría ausente, no quedando claro su significado según nuestros resultados. Sólo se podría aventurar la hipótesis de que tal vez, en el momento de nacer, estos tres sistemas pudieran encontrarse en diferente estado de maduración.

Recientemente Vío y col., han postulado que la síntesis de caliceína renal ocurre en el del túbulo de conexión del nefrón distal<sup>26</sup> y de acuerdo a lo señalado por Sprago<sup>27</sup>, su excreción es un reflejo de masa tubular funcional del túbulo distal. Se sabe además que en su control participa un sistema multihormonal<sup>28</sup>. Entre las hormonas conocidas que estimulan la excreción de caliceína urinaria y que en parte podrían ser responsables de los bajos niveles observados en el recién nacido, deberían mencionarse a la aldosterona y la hormona antidiurética, que han demostrado tener un efecto estimulante de dicha excreción en ratas adultas<sup>29,30</sup>.

Numerosos estudios han establecido la discreta respuesta del nefrón distal a aldosterona en el riñón en desarrollo<sup>16, 17, 21, 31</sup>, lo que de acuerdo a los trabajos de Robillard<sup>6</sup> también se manifestaría en el estímulo de excreción de caliceína. Este autor, basado en estudios hechos en fetos de ovejas y ovejas recién nacidas, demostró que la excreción urinaria aumenta en el último período de gestación y más aún durante la vida extrauterina, indicando que el rango de excreción de caliceína es dependiente de los niveles de aldosterona y que la edad concepcional podría modular la sensibilidad renal a aldosterona.

Referente a hormona antidiurética, se ha demostrado que las ratas recién nacidas tienen menor concentración de receptores para dicha hormona en el nefrón distal en comparación con ratas adultas<sup>32</sup>, y recientemente Aperia y col.<sup>33</sup> han demostrado convincentemente que los RNT pueden incrementar su excreción acuosa frente a una ingesta aumentada de agua, a través de un mecanismo independiente de hormona antidiurética.

Entonces, es muy probable que siendo el nefrón distal el sitio de síntesis de caliceína, como lo han demostrado los estudios ultraestructurales<sup>26</sup>, los bajos niveles de excreción observados, pudieran ser un efecto de pobre respuesta del nefrón a aldosterona y hormona antidiurética y un reflejo de masa tubular funcional del túbulo conector del nefrón distal.

## RESUMEN

Se estudió la excreción urinaria de caliceína y algunos parámetros de función renal en 20 recién nacidos (12 RNPT y 8 RNT) de sexo masculino, durante las 24 y 48 horas de vida. Con respecto a los RNT, los RNPT tuvieron excreción urinaria de caliceína más baja ( $p < 0,05$ ), menor depuración de creatinina ( $p < 0,02$ ) y más baja osmolaridad urinaria ( $p < 0,03$ ). Los RNPT tuvieron un volumen urinario más alto ( $p < 0,01$ ), mayor excreción fraccional de sodio ( $p < 0,01$ ), menor excreción fraccional de potasio ( $p < 0,05$ ) y mayor depuración de agua libre ( $p < 0,02$ ). La excreción urinaria de caliceína se correlacionó directamente con edad gestacional ( $p < 0,01$ ) y peso corporal ( $p < 0,03$ ), e inversamente con excreción fraccional de sodio ( $p < 0,04$ ) y volumen urinario ( $p < 0,01$ ). Al corregir la excreción de caliceína a superficie corporal, las relaciones pierden significación estadística, excepto con edad gestacional ( $p < 0,04$ ).

Los valores de caliceína urinaria en recién nacido fueron bajos comparados con los de población adulta. Dado que la síntesis de caliceína ocurre en el túbulo distal, se plantea la hipótesis que esta menor excreción en la edad neonatal está relacionada con inmadurez funcional del túbulo, o menor respuesta del nefrón distal a hormonas que se sabe estimulan la excreción de caliceína en el adulto, como aldosterona y hormona antidiurética, o ambas.

## REFERENCIAS

1. *Mayfield, R.K.; Margolis H.S.*: Renal kallikrein-kinin system. Relation renal function and blood pressure. *Am. J. J. Nephrol.* 3: 145, 1983.
2. *McGiff, J.C.; Vío, C.P.*: Vasoactive peptides, prostaglandins and the kidney. *NZJ. Med.* 96: 883, 1983.
3. *Spitzer, A., editor*: The Kidney during Development. Morphology and Function. Proceedings of the First International Workshop on Developmental Renal Physiology. October 1980. Masson Publishing USA, New York 1982.
4. *Dillon, M.J.; Gillon, M.E.A.; Kyness, J.M.; de Swiet, M.*: Plasma renin activity and aldosterone concentration in the human newborn. *Arch. Dis. Child.* 51: 537, 1976.

5. Scherer, B.; Joppich, R.; Krauss, H.; Wever, P.C.: Postnatal Development on the renal prostaglandins system as followed by urinary excretion in human neonates. En: Spitzer, A. (editor): *The Kidney during Development*, New York 1982; Masson Publishing USA; pg. 151-157.
6. Robillard, J.E.; Lawton, W.J.; Weisman, A.; Sessions, C.: Developmental aspect of the renal kallikrein-like activity in fetal and newborn lambs. *Kidney Int.* 22: 594, 1982.
7. Godard, C.; Valloton, M.B.; Favre, L.: Urinary prostaglandins, vasopressin and kallikrein excretion in healthy children from birth to adolescence. *J. Pediatr.* 100: 898, 1982.
8. Betkerur, M.V.; Yeh, T.F.; Müller, K.; Glasser, R.J.; Pildes, R.S.: Indomethacin and its effect on renal function and urinary kallikrein excretion in premature infants with patent ductus arteriosus. *Pediatrics* 68: 99, 1981.
9. Dubowitz, L.M.; Dubowitz, V.; Goldberg, C.: Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J. Pediatr.* 77: 1, 1970.
10. Olavarria, F.; Krause, S.; Barranco, L.; Harding, C.; López, M.I.: Función renal en recién nacidos de término y pretérmino durante el segundo día de vida. *Rev. Chil. Pediatr.* 57: 39, 1986.
11. Amundsen, E.; Putter, J.; Friberger, P.; Know, M.; Larsbraten, M.; Cleason, G.: Methods for the determination of glandular kallikrein by means of a chromogenic tripeptide substrate. *Adv. Exp. Med. Biol.* 120: 83, 1979.
12. Vio, C.P.; Churchill, L.; Rabito, S.F.; Terragno, A.; Carretero, O.A.; Terragno, N.A.: Renal kallikrein in venous effluent of filtering and non-filtering isolated kidneys. *Adv. Exp. Med. Biol.* 156: 897, 1983.
13. Guignard, J.P.; Torrado, A.; Da Cunha, O.; Gautier, E.: Glomerular filtration rate in the first three weeks of life. *J. Pediatr.* 87: 268, 1975.
14. Sertel, H.; Scopes, J.: Rates of creatinine clearance in babies less than one week of age. *Arch. Dis. Child.* 48: 717, 1973.
15. Aperia, A.; Broberger, O.; Thodenius, K.; Zetterström, R.: Development of renal control of salt and fluid homeostasis during the first year of life. *Acta Paediatr. Scand.* 64: 393, 1975.
16. Sulyok, E.; Varga, F.; Jobst, K.; Csaba, I.F.: On the mechanism of renal sodium handling in newborn infants. *Biol. Neonate* 37: 75, 1980.
17. Spitzer, A.: The role of the kidney in sodium homeostasis during maturation. *Kidney Int.* 21: 539, 1982.
18. Guignard, J.P.: Renal function in the newborn infant. *Pediatr. Clin. North Am.* 29: 777, 1982.
19. Aperia, A.; Broberger, O.; Elinder, G.; Thodenius, K.; Zetterström, R.: Postnatal changes in glomerular filtration rate in preterm and fullterm infants. En: Spitzer, A. (editor): *The Kidney during Development*, New York, 1982; Masson Publishing USA; pag. 133-137.
20. Saieh, C.; Valdés, G.; Tobar, M.; Chacón, C.; Croxatto, H.: Excreción de caliceína urinaria en niños sanos a distintas edades. *Rev. Chil. Pediatr.* 56: 345, 1985.
21. Sulyok, E.; Nemeth, M.; Teny, I.; Csaba, I.F.; Györy, E.; Ertl, T.; Varga, F.: Postnatal development of Renin-Angiotensin Aldosterone System (RAAS), in relation to electrolyte balance in premature infants. *Pediatr. Res.* 13: 817, 1979.
22. Hallushka, P.V.; Wohltmann, M.; Privitera, P.J.; Hurwitz, G.; Margolius, H.S.: Barter's syndrome; Urinary prostaglandin E-like material and kallikrein: Indomethacin effects. *Ann. Intern. Med.* 87: 281, 1977.
23. Valdés, G.; Espinoza, P.; Moore, R.; Croxatto, H.R.: Urinary kallikrein and plasma renin activity in normal human pregnancy. *Hypertension* 3 (Suppl 11): 55, 1981.
24. Margolius, H.S.; Horwitz, D.; Geller, R.G.; Alexander, R.W.; Gill, J.R.; Pisano, J.J.; Keiser, H.R.: Urinary kallikrein excretion in normal man: Relationships to sodium intake retining steroids. *Circulation Res.* 35: 812, 1974.
25. Mezzano, S.; González, J.; Hott, H.; Vio, C.P.: Urinary kallikrein activity in the hiporeninemic hypoaldosteronism syndrome. *Rev. Med. Chil.* 112: 364, 1984.
26. Vio, C.P.; Figueroa, C.D.: Subcellular localization of renal kallikrein by ultrastructural immunocytochemistry. *Kidney Int.* 28: 36, 1985.
27. Spragg, J.; Denney, D.L.; Tilney, N.L.; Austen, K.F.: Kallikrein excretion in renal trasplant recipients and in uninephrectomized donors. *Kidney Int.* 28: 75, 1985.
28. Marin-Grez, M.: Multihormonal regulation of renal kallikrein. *Biochem. Pharmacol.* 31: 3941, 1982.
29. Margolius, H.S.; Chao, J.; Kaizu, T.: The effects of aldosterone and spironolactone on renal kallikrein in the rat. *Clin. Sci.* 51: 279s, 1976.
30. Fejes-Toth, G.; Zahajszky, T.; Filep, J.: Effect of vasopressin on renal kallikrein excretion. *Am. J. Physiol.* 239: F 388, 1980.
31. Rodríguez-Soriano, J.; Vallo, A.; Oliveros, R. et al.: Renal handling of sodium in premature and fullterm neonates: a study using clearance methods during water diuresis. *Pediatr. Res.* 17: 1013, 1983.
32. Rajerison, R.B.; Bullen, D.; Jard, S.: Ontogenic development of antidiuretic hormone receptors in rat kidney. comparison of hormonal binding and adenylate cyclase activation. *Mol. Cell. Endocrinol.* 4: 271, 1976.
33. Aperia, A.; Herin, P.; Lundin, S.; Melin, P.; Zetterström, R.: Regulation of renal water excretion in newborn fullterm infants. *Acta Pediatr. Scand.* 73: 717, 1984.