

ORIGINALES

## Actividades enzimáticas de hexosaminidasa sérica y urinaria en alcohólicos crónicos durante el tratamiento de desintoxicación

Alexis Vidal Novoa\*, Paivi Karkkainen\*\*,  
Mikko Salaspuro\*\*, Ricardo González Menéndez\*\*\*

(\*) Departamento de Bioquímica de la Facultad de Biología, Universidad de La Habana (Cuba);

(\*\*) Research Unit of Alcohol Diseases, Universidad de Helsinki (Finlandia);

(\*\*\*) Hospital Psiquiátrico de La Habana (Cuba)

**Resumen:** Las actividades enzimáticas de la hexosaminidasa en suero y orina se determinaron en 21 alcohólicos (ocho mujeres y 13 hombres) en la admisión y durante el tratamiento de desintoxicación alcohólica por 16 días. En la admisión las actividades de la enzima resultaron altas en ambos fluidos; y al final del tratamiento se observaron valores normales de la hexosaminidasa sérica. La actividad enzimática de la hexosaminidasa urinaria decreció durante el tratamiento, pero estos valores no difieren estadísticamente con respecto al inicio. Se concluye que las actividades de la hexosaminidasa sérica y urinaria pueden ser empleadas al controlar la evolución de los alcohólicos durante el tratamiento de desintoxicación, aunque la hexosaminidasa urinaria resultaría más útil debido a un retorno más lento a los valores normales, reflejando más acertadamente la recuperación del paciente.

**Palabras clave:** Alcoholismo. Marcadores biológicos. Hexosaminidasa sérica. Hexosaminidasa urinaria. Tratamiento de desintoxicación.

**CORRESPONDENCIA A:**

Dr. Alexis Vidal  
Depto. de Bioquímica. Facultad de Biología  
Universidad de La Habana  
Calle 25 # 455 entre J e I, Vedado  
La Habana (Cuba)  
Fax: 537-321321

**Summary:** The levels of serum and urinary beta-hexosaminidase (HEX) was determined in 21 alcoholics (eight women and 13 men) at admission and during treatment of alcoholic detoxification for 16 days. At admission the activities of serum and urinary HEX were high. At the end of treatment serum HEX returned to normal levels. Urinary HEX decrease during the treatment but its levels did not differ statistically significant versus admission values. It is concluded that urinary HEX may be better biological marker than serum HEX because it may reflect the healing of the hepatic damage in the alcoholic.

**Key words:** Alcoholism. Alcohol markers. Serum hexosaminidase. Urinary hexosaminidase. Detoxification treatment.

**Résumé:** Les activités enzymatiques de l'hexosaminidase dans le sérum et l'urine ont été déterminés chez 21 alcooliques (8 femmes et 13 hommes) lors de l'admission et pendant le traitement de désintoxication alcoolique dans une durée de 16 jours. A l'admission, les activités de l'enzyme étaient élevées pour les deux fluides; à la fin du traitement, le taux de l'hexosaminidase sérique était normal. L'activité enzymatique de l'hexosaminidase urinaire a diminué pendant le traitement, mais ces taux ne varient pas de la statistique initiale. On conclut que les activités de l'hexosaminidase sérique et urinaire peuvent être utilisés pour contrôler l'évolution du patient alcoolique lors du traitement de désintoxication, quoique l'hexosaminidase urinaire est plus utile en raison d'une récupération plus lente aux valeurs normales, traduisant de façon plus précise la récupération du malade.

**Mots clé:** Alcoolisme. Marqueurs biologiques. Hexosaminidase sérique. Hexosaminidase urinaire. Traitement de désintoxication.

## 1. Introducción

El incremento de las actividades de algunas enzimas está asociado a la ingestión de alcohol etílico, lo que ha permitido establecer algunos marcadores biológicos para el alcoholismo (Salaspuro, 1986).

Estos marcadores han demostrado su utilidad en el diagnóstico del abuso de alcohol, en la determinación de daños orgánicos producidos por el alcohol (Salaspuro, 1986, 1989) y en los estudios de patologías específicas relacionadas con la ingestión de esta sustancia (Schnitzler et al., 1988), pero en general los inconvenientes que presentan son la poca sensibilidad y especificidad, sobre todo en pacientes con

tratamiento de desintoxicación (Clark et al., 1983; Cushman et al., 1984; Keso y Salaspuro, 1989).

La hexosaminidasa (N-acetil-beta-D-glucosaminidasa; EC 3.2.1.30) es una enzima enlazada a las biomembranas, que se encuentra en altas concentraciones en la sangre y en los lisosomas del hígado y los riñones (Le Hir et al., 1979). Aunque la actividad enzimática puede estar incrementada en el plasma y la orina, no parecen tener el mismo origen. El incremento de actividad en suero se debe a un daño histológico hepático (Mezey et al., 1976; Antonello et al., 1989; Nystrom et al., 1991); sin embargo, el peso molecular de la enzima así como la pérdida de correlación

de las actividades en estos dos fluidos, sugieren que el incremento en orina sea debido a un daño en los lisosomas del túbulo proximal (Paigen y Peterson, 1978).

La influencia del sexo sobre la actividad enzimática ha sido estudiada en pacientes con diferentes patologías, pero no se han encontrado diferencias significativas (Houser, 1986). La actividad de la hexosaminidasa sérica está incrementada en el embarazo (Hultberg e Isaksson, 1983) y en las enfermedades hepáticas (Hultberg et al., 1988); mientras que la excreción urinaria de hexosaminidasa puede estar incrementada en varios tipos de enfermedades y daños renales (Kunin et al., 1978; Horak et al., 1981). Se ha demostrado que la intoxicación aguda y crónica de alcohol incrementa las actividades de hexosaminidasa en suero (Hultberg et al., 1980; Faber et al., 1984; Joelsson et al., 1984; Isaksson et al., 1985) y en orina (Mock et al., 1987), lo que ha motivado que sean estudiadas como marcadores biológicos del alcoholismo (Martines et al., 1989; Karkkainen, 1990; Karkkainen et al., 1990a, 1990b; Wher et al., 1991).

El objetivo de este trabajo consiste en evaluar las actividades de hexosaminidasa sérica y urinaria como marcadores biológicos que indiquen la evolución de alcohólicos durante el tratamiento de destoxicación.

## 2. Materiales y método

El grupo de estudio consistió en ocho mujeres y 13 hombres con edades promedio de 36,5 años (24-49 años) y 44,6 años (33-62 años) respectivamente, admitidos como pacientes en la Unidad de Investigaciones de Enfermedades Alcohólicas del Hospital Central de la Universidad de Helsinki (Finlandia). El consumo promedio de alcohol fue  $211,8 \pm 68,2$  gramos (144-323 g.) en las mujeres y  $199,2 \pm 89,6$  g. (52-343 g.) en el caso de los hombres.

Las muestras de sangre y de orina fueron recogidas en las primeras horas de la mañana en el primer día de desintoxicación y a los dos, tres-cuatro, cinco-seis, ocho-nueve y 15-16 días de tratamiento. Todas las muestras fueron conservadas congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Previo al ensayo de actividad, una alícuota de orina fue centrifugada a 5.000 g. durante 10 minutos, determinándose la actividad enzimática de la hexosaminidasa y la creatinina tanto en el sobrenadante obtenido como en la orina (sin centrifugar).

La actividad de la hexosaminidasa fue determinada por una técnica espectrofotométrica, usando como sustrato el p-nitro-fenil-n-acetil-beta-glucosamina (sigma) en buffer citrato pH 4,5. La actividad fue expresada en U/L que se define como "mmoles de sustrato transformado por minuto por litro de suero u orina" (Pitkanen et al., 1980). La actividad de hexosaminidasa urinaria se relacionó con la creatinina en orina, que fue determinada por el método cinético del picrato en un analizador automático *Hitachi 705*.

Las determinaciones de los indicadores bioquímicos en suero (la aspartato aminotransferasa, AST; la alanina aminotransferasa, ALT; y la gamma-glutamyl-transpeptidasa, GGT) se realizaron en la admisión y al final del tratamiento, siguiendo las recomendaciones del *Scandinavian Society for Chemical and Clinical Physiology* (1974, 1976). El Volumen Medio Corpuscular (VMC) fue determinado utilizando un contador automático de células, modelo *Coulter S*.

Todos los resultados están expresados como media  $\pm$  error estándar de la media ( $X \pm \text{EEM}$ ). La prueba t de Student para muestras no pareadas fue utilizada para comparar las medias de las actividades de la hexosaminidasa por sexo, y la prueba t de Student para muestras pareadas se aplicó

en la comparación de la hexosaminidasa de la orina con y sin centrifugación. Las comparaciones por día de tratamiento se realizaron por un análisis de varianza simple y la prueba de Bonferroni. La correlación entre las variables se hizo mediante un estudio de regresión lineal simple.

### 3. Resultados

Los valores de actividad enzimática de la hexosaminidasa sérica disminuyen significativamente durante el tratamiento de desintoxicación alcohólica (**Figura 1**). En la admisión al tratamiento, el valor promedio de actividad fue  $42,43 \pm 7,05$  U/L; y después del tratamiento, los niveles disminuyen aproximadamente a la mitad ( $24,90 \pm 2,14$  U/L), valores que resultan estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ). La comparación de la hexosaminidasa sérica por sexo no demostró diferencias significativas durante el tratamiento ( $59,80 \pm 21,63$  y  $37,39 \pm 3,04$  U/L para mujeres y hombres, respectivamente).

Los resultados de los indicadores bioquímicos estudiados se muestran en la **Tabla 1**. En este trabajo no se encontró correlación entre la ingestión promedio diaria de alcohol y las actividades de hexosaminidasa sérica y urinaria en la fase de admisión. Tampoco se observó correlación entre este parámetro y los indicadores bioquímicos AST, ALT, GGT y VMC.

La actividad enzimática de hexosaminidasa sérica se correlaciona significativamente con la AST ( $r=0,79$ ,  $p < 0,001$ ), ALT

( $r=0,49$ ,  $p < 0,05$ ) y GGT ( $r=0,54$ ,  $p < 0,05$ ) en la fase de admisión; y al final del tratamiento sólo se correlaciona con la actividad de la GGT ( $r=0,52$ ,  $p < 0,05$ ). Los resultados de actividad enzimática de la hexosaminidasa en orina demuestran un decremento lento con el tratamiento de desintoxicación hasta aproximadamente la mitad, en comparación con los valores iniciales ( $1,49 \pm 0,25$  U/mmoles de creatinina), pero estos valores no difieren estadísticamente (**Figura 2**).

La centrifugación de la orina no influye sobre la actividad enzimática. Los niveles de hexosaminidasa urinaria sin centrifugación en los diferentes días de tratamiento son mayores que en la orina centrifugada, pero no son diferentes estadísticamente (**Figura 2**). La correlación entre estas dos actividades de la hexosaminidasa urinaria (con y sin centrifugación) fue satisfactoria ( $r=0,88$ ,  $p < 0,01$ ).

La hexosaminidasa urinaria se correlaciona con el VMC ( $r=0,43$ ,  $p < 0,05$ ) en la fase de admisión, pero al final del tratamiento sólo se correlaciona con la actividad de la GGT ( $r=0,56$ ,  $p < 0,01$ ). En este trabajo se encontró una pobre correlación entre la hexosaminidasa sérica y urinaria durante el tratamiento de desintoxicación ( $r=0,22$ ,  $p < 0,01$ ).

### 4. Discusión

Las actividades de la hexosaminidasa sérica y urinaria se incrementan con la ingestión

	Admisión	Final del tratamiento
ALT (UI/L)	$103,4 \pm 28,9$	$55,1 \pm 23,4$
AST (UI/L)	$144,5 \pm 43,0$	$48,5 \pm 16,1$
GGT (UI/L)	$378,3 \pm 188,7$	$143,8 \pm 51,4$
VMC	$97,6 \pm 2,2$	$98,5 \pm 2,0$

Tabla 1: Valores promedios ( $X \pm EEM$ ) de los indicadores bioquímicos ALT, AST y GGT, y del VMC en el grupo de alcohólicos ( $n=21$ ) al inicio y al final del tratamiento de desintoxicación (16 días).

de alcohol (Hultberg et al., 1980; Faber et al., 1984; Joelsson et al., 1984; Isaksson et al., 1985; Mock et al., 1984) y decrecen con la abstinencia (Martines et al., 1989; Karkkainen et al., 1990a; Wher et al., 1991).

La hexosaminidasa ha sido utilizada con resultados alentadores como marcador biológico de alcohólicos crónicos (Martines et al., 1989; Karkkainen, 1990; Karkkainen et al., 1990b; Wher et al., 1991); no así en individuos con poco tiempo de ingestión de bebidas alcohólicas (Nystrom et al., 1991). En la muestra estudiada -pacientes previamente clasificados como alcohólicos-, todos los individuos tenían elevadas las actividades enzimáticas de la hexosaminidasa sérica y urinaria.

Algunos investigadores (Mezey et al., 1976; Antonello et al., 1989) plantean que el incremento de la hexosaminidasa sérica no está ligado exactamente al consumo de alcohol sino más bien a los cambios histológicos en el hígado producidos por el alcohol. En este estudio, los pacientes consumían diariamente altas dosis de alcohol, con el consecuente daño hepático, lo que se refleja en los valores elevados de las actividades enzimáticas de la AST, ALT y GGT al inicio del tratamiento. Esto se confirma al analizar los resultados de Nystrom et al. (1991) que observaron en jóvenes universitarios con un alto consumo de alcohol pero con poco tiempo ingiriendo bebidas, que no presentaban incrementada la actividad de esta enzima.

La actividad de la hexosaminidasa sérica disminuye significativamente al final del tratamiento de desintoxicación, resultados comparables a los obtenidos por Karkkainen et al. (1990a) y Wehr et al. (1991), quienes observaron este decremento en un periodo de tiempo corto (siete días); mientras Hultberg et al. (1980) plantean que en este tiempo aún son altos los valores de actividad.

En este estudio no se encontraron diferencias estadísticas en las actividades enzimáticas por sexo durante el tratamiento, aspecto ya señalado en 1986 por Houser.

A pesar de encontrarse valores altos de actividad enzimática de hexosaminidasa y de los otros indicadores bioquímicos al inicio del tratamiento, no se encontró correlación con el consumo de alcohol; resultados similares a los obtenidos por Keso y Salaspuro (1989). Sin embargo, Karkkainen et al. (1990a) informaron de una buena correlación entre la hexosaminidasa sérica y el promedio de ingestión diaria de alcohol, en cierta medida explicado por una muestra mayor.

Al inicio del tratamiento se encontró correlación entre la hexosaminidasa sérica y las actividades de AST, ALT y GGT. Si consideramos que estos indicadores son buenos marcadores biológicos del alcoholismo, puede valorarse a esta enzima para esa función.

No se encontró correlación entre la hexosaminidasa sérica y la urinaria, resultados lógicos y similares a los de otros autores (Karkkainen et al., 1990a). La ingestión de alcohol produce un efecto dañino en ambos órganos (hígado y riñones) pero el incremento de la hexosaminidasa en el suero y en la orina se producen por diferentes mecanismos (Paigen y Peterson, 1978).

Se plantea que las actividades de hexosaminidasa urinaria disminuyen en un periodo de abstinencia de siete a 28 días (Martines et al., 1989; Karkkainen et al., 1990a). En este trabajo se observó una tendencia a la disminución de la actividad de hexosaminidasa urinaria durante el tratamiento pero no significativa estadísticamente, aunque el periodo de tiempo fue menor (16 días), a diferencia de la hexosaminidasa sérica que decreció rápidamente a valores normales. Estos resultados de la

hexosaminidasa urinaria en cierta medida pudieran justificar la aplicación de este parámetro para la evaluación de pacientes en tratamientos de desintoxicación, ya que reflejarían más acertadamente la recuperación orgánica del alcohólico.

## Bibliografía

- Antonello, S.; Auletta, M.; Vatierno, V.; Nigro, C.; Cacciatore, L.** (1989) Beta-hexosaminidase activity in alcoholic fatty liver and in CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis of the rat. *Enzyme*, 42: 68-72.
- Clark, P.M.S.; Holder, R.; Mullet, M.; Whitehead, T.P.** (1983) Sensivity and specificity of laboratory tests for alcohol abuse. *Alcohol and Alcoholism*, 18 (3): 261-269.
- Cushman, P.; Jacobson, G.; Barboriak, J.; Anderson, A.J.** (1984) Biochemical markers for alcoholism: sensitivity problems. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 8(3): 253-259.
- Faber, C.N.; Glew, R.H.; Stanko, R.T.** (1984) Serum mannosidase in patients with alcoholic liver disease. *Enzyme*, 31: 1-10.
- Horak, E.; Hopfer, S.M.; Sunderman, F.W.** (1981) Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity. *Clinical Chemistry*, 27 (7): 1180-1184.
- Houser, M.T.** (1986) The effect of hydropenia and oral water loading on renal lysozyme handling and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase excretion in man. *Annals of Clinical Biochemistry*, 23: 453-457.
- Hultberg, B.; Isaksson, A.** (1983) Isoenzyme pattern of serum beta-hexosaminidase in liver disease, alcohol intoxication, and pregnancy. *Enzyme*, 30: 166-171.
- Hultberg, B.; Hagerstrand, I.; Isaksson, A.; Joelsson, B.; Melen, K.; Elsafi, M.** (1988) Source of increased serum beta-hexosaminidase in rat liver cirrhosis. *Enzyme*, 40: 18-24.
- Hultberg, B.; Isaksson, A.; Tiderstrom, G.** (1980) Beta-hexosaminidase, leucine aminopeptidase, cystidyl-aminopeptidase, hepatic enzymes and bilirrubine in serum of chronic alcoholics with acute ethanol detoxification. *Clinica Chimica Acta*, 105: 317-323.
- Isaksson, A.; Blanche, C.; Hultberg, B.; Joelsson, B.** (1985) Influence of ethanol on the human serum level of beta-hexosaminidase. *Enzyme*, 33: 162-166.
- Joelsson, B.; Hultberg, B.; Isaksson, A.; Alwmark, A.; Gullstrand, P.; Bengmark, S.** (1984) Total fasting serum bile acids and beta-hexosaminidase in alcoholic liver disease. *Clinica Chimica Acta*, 136: 203-220.
- Karkkainen, P.** (1990) Serum and urinary beta-hexosaminidase as markers of heavy drinking. *Alcohol and Alcoholism*, 25 (4): 365-369.
- Karkkainen, P.; Jokelainen, K.; Roine, R.; Suokas, A.; Salaspuro, M.** (1990a) The effects of moderate drinking and abstinence on serum and urinary beta-hexosaminidase levels. *Drug and Alcohol Dependence*, 25: 35-38.
- Karkkainen, P.; Poikolainen, P.; Salaspuro, M.** (1990b) Serum beta-hexosaminidase as a marker of heavy drinking. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 14 (2): 187-190.
- Keso, L.; Salaspuro, M.** (1989) Laboratory markers as compared to drinking measures before and after inpatient treatment for alcoholism. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 13 (3): 449-452.
- Kunin, C.M.; Chesney, R.W.; Craig, W.A.; England, A.C.; De Angelis, C.** (1978) Enzymuria as a marker of renal injury and disease. Study of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics*, 62: 751-760.
- Le Hir, M.; Dubach, U.C.; Schmidt, U.** (1979) Quantitative distribution of lysosomal hydrolases in the rat nephron. *Histochemistry*, 63.
- Martines, D.; Morris, A.I.; Gilmore, I.T.; Ansari, M.A.; Patel, A.; Quayle, J.A.**

- Billington, D.** (1989) Urinary enzyme output detoxification of chronic alcoholic patients. *Alcohol and Alcoholism*, 24 (2): 113-120.
- Mezey, E.; Potter, J.J.; Ammon, R.A.** (1976) Effect of ethanol administration on the activity of hepatic lysosomal enzymes. *Biochemical Pharmacology*, 25: 2663-2667.
- Mock, D.M.; Grendell, J.H.; Cello, J.; Morris, R.C.** (1987) Pancreatitis and alcoholism disorder the renal tubule and impair reclamation of some low molecular weight proteins. *Gastroenterology*, 92: 161-170.
- Nystrom, M.; Perasalo, J.; Salaspuro, M.** (1991) Serum beta-hexosaminidase in young university students. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 15 (5): 877-880.
- Paigen, K.; Peterson, J.** (1978) Coordnancy of lysosomal enzyme excretion in human urine. *Journal of Clinical Investigation*, 61: 751-762.
- Pitkanen, E.; Kyllastinen, M.; Koivula, T.; Hormila, P.** (1980) Beta-N-acetylglucosaminidase and beta-glucosaminidase activities in insulin-dependent diabetic subjects with retinopathy. *Diabetologica*, 18: 275-278.
- Salaspuro, M.** (1986) Conventional and coming laboratory markers of alcoholism and heavy drinking. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 10 (6): 5S-12S.
- Salaspuro, M.** (1989) Characteristics of laboratory markers in alcohol-related organ damage. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 24: 769-780.
- Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Committee on Enzymes.** (1974) Recommended methods for the determination of four enzymes in blood. *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation*, 33: 291-306.
- Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Committee on Enzymes.** (1976) Recommended methods for the determination of gamma-glutamyl-trans-ferase in blood. *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation*, 36: 119-125.
- Schnitzler, C.M.; Menashe, L.; Sutton, C.G.; Sweet, M.B.E.** (1988) Serum biochemical and haematological markers of alcohol abuse in patients with femoral neck and intertrochanteric fractures. *Alcohol and Alcoholism*, 23 (2): 127-132.
- Wher, H.; Czartoryska, B.; Gorska, D.; Matsumoto, H.** (1991) Serum beta-hexosaminidase and alpha-mannosidase activities as markers of alcohol abuse. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 15 (1): 13-15.

Actividades enzimáticas de hexosaminidasa sérica y urinaria en alcohólicos crónicos

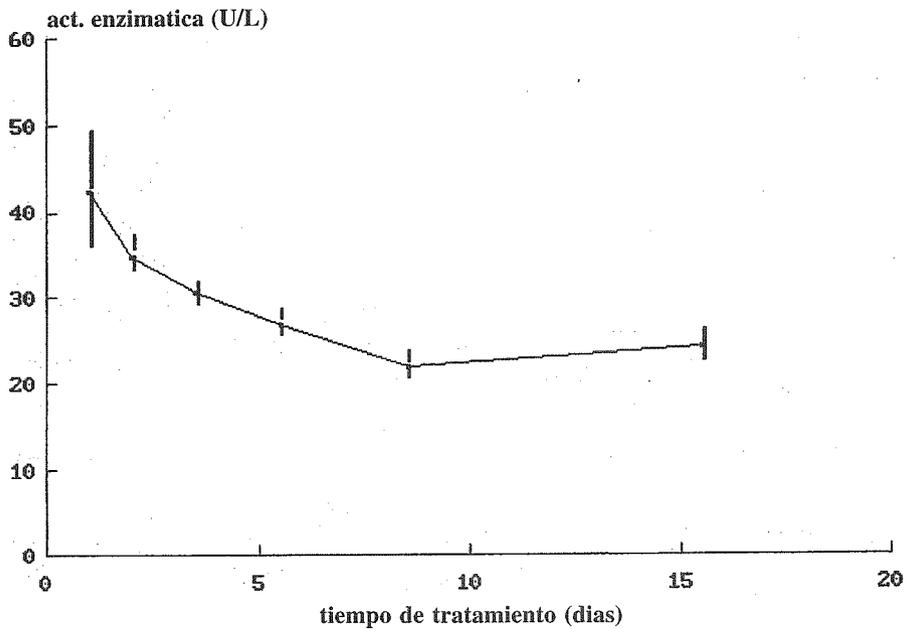


Figura 1: Valores promedios ( $X \pm EEM$ ) de la actividad enzimática de hexosaminidasa sérica durante el tratamiento de desintoxicación alcohólica. En cada punto  $n=21$  (ocho mujeres y 13 hombres). La actividad está expresada en U/L, equivalente a  $\text{mmoles de sustrato transformado por minuto}^{-1}$  por  $\text{litro}^{-1}$ .

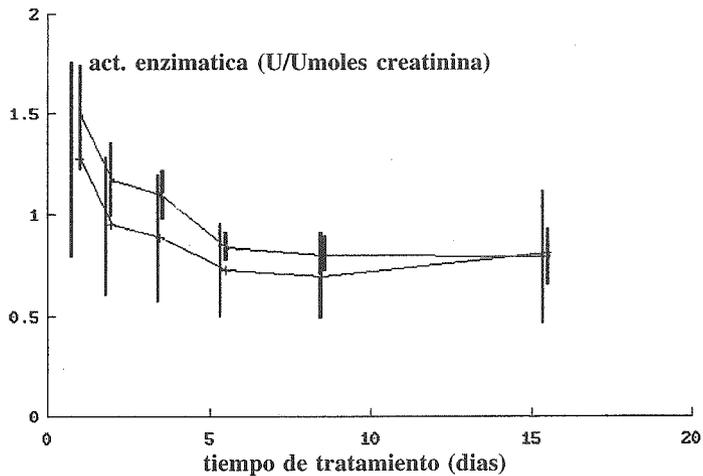


Figura 2: Valores promedios ( $X \pm EEM$ ) de la actividad enzimática de hexosaminidasa en orina no centrifugada y centrifugada durante el tratamiento de destoxicación alcohólica. En cada punto  $n=21$  (ocho mujeres y 13 hombres). La actividad está expresada en  $\text{U/mmoles de creatinina}$ , equivalente a  $\text{mmoles de sustrato transformado por minuto}^{-1}$  por  $\text{mmoles de creatinina}^{-1}$ .