

Universidade Federal de Minas Gerais  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS URINÁRIOS E NO LÍQUIDO AMNÍOTICO DA PROTEÍNA  
UROMODULINA E SUA CORRELAÇÃO COM OUTROS PARÂMETROS  
BIOQUÍMICOS DE FUNÇÃO RENAL FETAL

THAIS EMANUELLE FARIA BOTELHO

BELO HORIZONTE

2015

THAIS EMANUELLE FARIA BOTELHO

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS URINÁRIOS E NO LÍQUIDO AMNÍOTICO DA PROTEÍNA  
UROMODULINA E SUA CORRELAÇÃO COM OUTROS PARÂMETROS  
BIOQUÍMICOS DE FUNÇÃO RENAL FETAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Alamanda Kfoury Pereira

Co-Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Gonçalves  
Teixeira

Belo Horizonte

2015

Botelho, Thaís Emanuelle Faria.

B748a Avaliação dos níveis urinários e no líquido amniótico da proteína Uromodulina e sua correlação com outros parâmetros bioquímicos de função renal fetal [manuscrito]. / Thaís Emanuelle Faria Botelho. - - Belo Horizonte: 2015.

85f.: il.

Orientador: Alamanda Kfoury Pereira.

Coorientador: Patrícia Gonçalves Teixeira.

Área de concentração: Perinatologia.

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Líquido Amniótico. 2. Urina. 3. Uromodulina. 4. Biomarcadores Farmacológicos. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Pereira, Alamanda Kfoury. II. Teixeira, Patrícia Gonçalves. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título

NLM : QU 55.7

Ao meu pai, **Gedeon Alves Botelho**, que no lugar em que estiver cuida de mim e torce pelo meu contínuo crescimento. À minha mãe **Márcia Maria Faria**, por servir sempre de grande inspiração em minha vida, pela ajuda e amor em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

Muitas foram às pessoas que me ajudaram a percorrer este caminho, e a chegar até aqui. A elas devo meus sinceros agradecimentos.

Em primeiro lugar, à minha orientadora, Profa. Dra. Alamanda Kfoury Pereira, pela oportunidade e pelo acolhimento durante todo este processo, por sua dedicação e empenho ao trabalho, pelos conselhos e correções.

À Profa. Dra. Eura Martins Lage, pelo carinho e por sempre ter se mostrado disposta a me ajudar no que precisei.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral, pelos valiosos ensinamentos, pelo grande exemplo de profissional que é e por ter aberto as portas do CEMEFE.

Ao Prof. Dr. Henrique Vitor Leite pelo exemplo de profissionalismo e por sua dedicação.

A toda a equipe do CEMEFE HC/UFMG que durante estes dois anos contribuíram para meu crescimento e permitiram que aprendesse muito com esta experiência.

À profa. Doutora Ana Cristina Simões e Silva pela colaboração, pela ajuda e pelos conselhos dados.

À amiga Elba Cristina Chaves, primeira pessoa a me incentivar e me ajudar a realizar este sonho.

A todos os meus amigos e familiares pela paciência nos meus momentos de estresse, e por terem me auxiliado e me apoiado nesta caminhada.

E, a todos os que torceram por mim e participaram de alguma forma para que este trabalho fosse concluído, MUITO OBRIGADA!

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.”  
(Friedrich Nietzsche).

## RESUMO

As nefropatias obstrutivas são um grupo heterogêneo de doenças que acometem o feto. O diagnóstico precoce da morfologia e da função renal tem grande relevância, pois permite estabelecer o nível e a gravidade da lesão, bem como o tratamento, seja ele: acompanhamento em Centro de Referência, tratamento intrauterino (alternativa para sobrevivência e preservação da função renal) ou antecipação do parto. O sucesso terapêutico depende da adequada seleção de fetos para cada procedimento. Entre os fatores de bom prognóstico, a idade gestacional (1º e 2º trimestres) e a ausência de malformações associadas se destacam. Entretanto, os critérios utilizados atualmente na avaliação da função renal não possuem a acurácia desejada. Por isso, a dosagem de marcadores bioquímicos na urina fetal ou no líquido amniótico são úteis em conjunto com a avaliação ultrassonográfica e o volume de líquido amniótico na predição da função renal do feto durante o período pré-natal. Uma nova proteína pode contribuir para o diagnóstico das uropatias obstrutivas. A uromodulina é produzida exclusivamente nos rins, e, em condições normais é a proteína excretada em maior volume na urina humana. Suas funções ainda são desconhecidas, mas há indícios de que esta auxilia os processos de transporte de íons e impermeabilidade à água nos rins, além de fornecer defesa contra infecções do trato urinário. Recentemente, algumas mutações desta proteína apresentaram papel em doenças genéticas além de bons resultados na detecção de Doença Renal Crônica em adultos. Diante da necessidade de prever a função renal dos fetos antes do nascimento para definir o plano terapêutico em cada caso, e os resultados controversos obtidos através de análises dos parâmetros bioquímicos já utilizados atualmente, o estudo da uromodulina em amostras de urina fetal e líquido amniótico pode apresentar um novo possível marcador de função renal fetal.

**Objetivos:** Avaliar se a proteína uromodulina é produzida durante a vida fetal e eliminada pelos rins, através de análise quantitativa desta proteína em urina fetal e líquido amniótico, além de comparar a dosagem da uromodulina com outros parâmetros bioquímicos já utilizados.

**Métodos:** Entre março de 2013 a março de 2015, foram selecionadas 29 gestantes cujos fetos estavam em acompanhamento no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG (CEMEFE/HC) e que tinham a indicação de exames invasivos para diagnóstico fetal. As amostras foram dosadas através da técnica ELISA utilizando o Kit BioVendor Human Uromodulin (RD19116320R).

**Resultados:** As amostras submetidas ao teste foram lidas e dosadas através do cálculo de absorbância da uromodulina. Na urina fetal, além da dosagem da uromodulina, realizou-se a dosagem de osmolaridade e creatinina, e os resultados foram correlacionados. Os níveis de uromodulina apresentaram correlação moderada com a dosagem da osmolaridade, e tal correlação se mostrou estatisticamente significativa. Não houve significância com os outros parâmetros analisados. Ademais, a uromodulina mostrou uma tendência em apresentar valores reduzidos em fetos com mal formações fetais diagnosticadas pelo ultrassom no período pré-natal.

**Conclusão:** A dosagem da uromodulina se mostrou possível e mensurável em amostras de urina fetal e em líquido amniótico em fetos portadores ou não portadores de uropatia obstrutiva.

**Palavras-chave:** Nefrouropatias obstrutivas, líquido amniótico, urina fetal, uromodulina, biomarcador de função renal.

## ABSTRACT

Obstructive nephropathys are a heterogeneous group of diseases that affect the fetus. Early diagnosis of morphology and renal function is very important because it allow establish the level and severity of the injury and treatment that could be: monitoring Reference Center, intrauterine treatment (alternative for survival and preservation of renal function) or anticipation of delivery. Therapeutic success depends on the adequate selection of fetuses for each procedure. Among the good prognostic factors, gestational age (1st and 2nd trimester) and the absence of associated malformations stand out. However, the current criteria used in the evaluation of renal function do not have the desired accuracy. Therefore, the dosage of biochemical markers in fetal urine or amniotic fluid are useful in conjunction with ultrasound and evaluation of amniotic fluid volume in the prediction of renal function of the fetus during the prenatal period. A new protein may contribute to the diagnosis of obstructive uropathy. Uromodulin is produced only in the kidney and in normal conditions the protein is secreted in larger amounts in human urine. Its functions are still unknown but there are evidences that this protein helps ion transport processes and waterproofing kidney and also provides defense against urinary tract infections. Recently, some mutations in this protein showed a role in genetic diseases and also, good results on detection of chronic kidney disease (CKD) in adults. Given the need to predict the kidney function of the fetus before birth to set up therapeutic in each case and the controversial results obtained through analysis of biochemical parameters already used, the study of uromodulin in samples of urine and fetal amniotic fluid may present a new possible biomarker of fetal kidney function.

**Objectives:** Evaluate if the uromodulin protein is produced during fetal life and eliminated by the kidneys, through quantitative analysis of this protein in fetal urine and amniotic fluid and to compare the dosage of uromodulin with other biochemical parameters already used.

**Methods:** From March 2013 to March 2015, 29 pregnant women were selected whose fetuses were followed up at the Fetal Medicine Center of Clinical Hospital (CEMEFE / HC) and had the indication of invasive tests for fetal diagnosis. The assay was made by ELISA using the kit BioVendor Human Uromodulin (RD19116320R).

**Results:** The samples submitted to test were read and assayed by absorbance calculation of uromodulin. In fetal urine besides the dosage of uromodulin was held the dosage of osmolality and creatinine and the results were correlated. Uromodulin levels showed moderately correlation with Osmolarity and this correlation was statistically significant. There was no significance with the other parameters analyzed. Moreover, uromodulin showed a tendency to present lower values in fetuses who had renal problems in prenatal care.

**Conclusion:** The analysis of uromodulin proved that is possible and measurable in fetal urine and amniotic fluid samples on fetuses who carries or noncarriers obstructive uropathy.

**Keywords:** obstructive fetal nephropathies, amniotic fluid, fetal urine, uromodulina, biomarker of kidney function.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Figuras

Figura 1: Desenho esquemático do embrião	21
Figura 2: Classificação da hidronefrose de acordo com The Society of Fetal Urology (SFU)	32
Figura 3: Modelo estrutural da Uromodulina urinária e sua âncora GPI	39
Figura 4: Esquema da biossíntese intracelular de uromodulina GPI-ancorada	40
Figura 5: Detecção da Uromodulina no rim humano e na urina	41
Figura 6: Fluxograma de acompanhamento do estudo	52
Figura 7: Curva-padrão da absorbância das amostras com concentrações de uromodulina	55

## LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1: Caracterização do grupo 1 em relação a idade gestacional	58
Tabela 2: Caracterização do grupo 2 em relação a idade gestacional	58
Tabela 3: Resultado das dosagens bioquímicas na urina fetal de fetos do grupo de estudo	59
Tabela 4: Resultados das dosagens de uromodulina em líquido amniótico de fetos do grupo controle	59
Gráfico 1: Dosagem da uromodulina em amostras de urina fetal e líquido amniótico nas pacientes do CEMEFE	60
Tabela 5: Características dos casos de acordo com os resultados da osmolaridade	61
Gráfico 2: Comparação entre as dosagens de uromodulina nos fetos com osmolaridade normal comparados e osmolaridade alterada.	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAKUT	Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract (Anomalias congênitas do rim e do trato urinário)
CEMEFE HC/UFMG	Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG
DAP	Diâmetro Ântero-posterior da Pelve Renal
DRC	Doença Renal Crônica
EGF	Epidermal Growth Factor (Fator de Crescimento Epidérmico)
FJHN	Familial Juvenile Hyperuricaemic Nephropathy (Nefropatia hiperuricêmica familiar juvenil)
GPI	Glicosilfosfatidilinositol
ILA	Índice de Líquido Amniótico
IRC	Insuficiência Renal Crônica
LA	Líquido Amniótico
MCKD	Medullary Cystic Kidney Disease (Doença renal medular cística)
OMS	Organização Mundial de Saúde
RE	Retículo Endoplasmático
SFU	Society of Fetal Urology (Sociedade de urologia fetal)
SUS	Sistema Único de Saúde
TAL	Thin Ascending Limb (Segmento espesso do ramo ascendente da alça de Henle)
THP	Tamm-Horsfall Protein (Proteína de Tamm-Horsfall)
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UMOD	Uromodulina
VUP	Válvula de Uretra Posterior

## SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	14
2 – REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 - SISTEMA URINÁRIO: DESENVOLVIMENTO	19
2.2 – FORMAÇÃO DO LÍQUIDO AMNIÓTICO	22
2.3 - NEFROUROPATIAS OBSTRUTIVAS: DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO	24
2.3.1 - Obstrução de junção ureteropélvica	25
2.3.2 - Rim displásico multicístico	25
2.3.3 - Refluxo vesicoureteral	26
2.3.4 - Megaureter primário	26
2.3.5 - Ureterocele e duplicação ureteral	27
2.3.6 - Válvula de uretra posterior (VUP)	28
2.4 – NEFROUROPATIAS OBSTRUTIVAS: DIAGNÓSTICO FUNCIONAL NÃO INVASIVO	29
2.4.1 - Avaliação do volume do líquido amniótico	29
2.4.2 - Avaliação do parênquima renal fetal	30
2.4.3 - Avaliação da pelve renal	30
2.4.4 - Avaliação ultrassonográfica do ureter	32
2.4.5 - Avaliação ultrassonográfica da bexiga fetal	32
2.5 – NEFROUROPATIAS OBSTRUTIVAS: DIAGNÓSTICO FUNCIONAL INVASIVO	33
2.5.1 – Sódio	34
2.5.2 – Potássio	34
2.5.3 – Cloro	34
2.5.4 – Creatinina	35
2.5.5 - $\beta$ 2-microglobulina	36
2.5.6 – Osmolaridade	36
2.6 – A UROMODULINA	37
2.6.1 – Aspectos históricos: A descoberta da Proteína de Tamm-Horsfall/Uromodulina	37

2.6.2 – Estrutura e localização	38
2.6.3 – Papel da Uromodulina	42
2.6.4 – A uromodulina no feto	44
3 – JUSTIFICATIVA	46
4 – OBJETIVOS	48
4.1 – OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	49
5 – PACIENTES E MÉTODOS	50
5.1 – PACIENTES	51
5.2 – CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	52
5.3 – CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	52
5.4 – METODOLOGIA	53
5.4.1 - Osmolaridade	53
5.4.2 – Uromodulina	54
5.4.3 - Creatinina	55
5.5 – MÉTODOS ESTATÍSTICOS	55
6 – RESULTADOS	57
7 – DISCUSSÃO	63
8 – CONCLUSÕES	67
9 – REFERÊNCIAS	69
10 – ANEXOS E APÊNDICES	80

## 1 – INTRODUÇÃO

## 1 - INTRODUÇÃO

Meu interesse pela Medicina Fetal se deu desde as aulas de Embriologia e Genética na faculdade durante a graduação. O modo como dois gametas se fundem e formam um embrião - que se desenvolve desde o zigoto até se tornar um pequeno feto em formação - sempre me encantou. Queria conhecer mais sobre o desenvolvimento embrionário dos seres humanos e o diagnóstico de possíveis anormalidades durante o período fetal, bem como sua propedêutica e tratamento.

No último ano da minha graduação em Ciências Biológicas, realizei um estágio administrativo no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG. Através do contato diário, aprendi um pouco mais sobre a rotina dos professores do departamento e aprofundi meus conhecimentos sobre Medicina Fetal.

Conheci muitos profissionais que lecionam na faculdade, entre eles a professora Alamanda. Ela participa do serviço de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG (CEMEFE HC/UFMG) e tem grande conhecimento e experiência sobre anomalias fetais do trato urinário. Conversando com a profa. Alamanda sobre o meu interesse em realizar uma pós-graduação na área de perinatologia, ela me convidou a conhecer um pouco mais sobre as anomalias do trato urinário. Fui aprovada na seleção de Mestrado e comecei o acompanhamento ao CEMEFÉ em Março de 2013, iniciando minha pesquisa na medicina fetal.

A Medicina Fetal surgiu como uma subespecialidade médica que possibilita uma melhor abordagem, tanto no período pré-natal quanto no pós-natal. A Organização Mundial de Saúde (OMS) já reconhece o diagnóstico intraútero como um procedimento do pré-natal (CARRERA, 1987). Desta forma, o feto passa a ser individualizado como um paciente, no qual as possibilidades de diagnóstico e tratamento prévio contribuem efetivamente para a sua evolução perinatal (PEREIRA *et al.*, 2000).

O CEMEFÉ HC/UFMG é referência do Sistema Único de Saúde (SUS) em todo o estado de Minas Gerais para o diagnóstico e acompanhamento dos casos de gravidez com malformações fetais, gerando grande fluxo de pacientes que necessitam de acompanhamento especializado, de todas as partes do estado. Desenvolve pesquisas com o intuito de compreender cada vez mais o contexto do diagnóstico de malformação fetal para que a assistência possa ser sempre

aprimorada e específica. Semanalmente, também é realizada uma reunião da equipe, conduzida por obstetras, neonatologistas, geneticistas, psicólogos, biólogos, e outros profissionais da área da saúde. São discutidos os casos encaminhados para o centro na semana, rediscutidos a evolução de casos onde já há o acompanhamento da equipe e noticiados os resultados de pós-natal das pacientes acompanhadas.

Inicialmente, o volume de líquido amniótico presente na cavidade uterina era considerado o único índice de desenvolvimento renal durante a gestação (MUSSAP *et al.*, 1995). Com o passar dos anos, o avanço dos métodos diagnósticos de pré-natal e com o desenvolvimento de aparelhos ultrassonográficos eficazes e com melhor resolução, pôde-se avaliar de forma minuciosa a anatomia, maturidade, bem-estar e possíveis anormalidades do feto, dentre as quais as anomalias do sistema urinário.

As nefrouropatias obstrutivas são um grupo heterogêneo entre as doenças que acometem o feto e cujo diagnóstico precoce tem grande relevância. Primeiro, porque essas anomalias são, quase sempre, assintomáticas ao nascimento. Nos estudos de recém-nascidos sabidamente portadores de malformações do trato urinário (pela ultrassonografia pré-natal), em apenas 10 a 30% dos casos os achados clínicos permitiriam a suspeita diagnóstica (THOMAS & GORDON, 1989). A doença frequentemente é reconhecida tardiamente na infância, na vigência de complicações tais como infecção do trato urinário, hipertensão, atraso no crescimento e, algumas vezes, uma silenciosa e progressiva deterioração da função renal. As uropatias são uma das causas mais frequentes de insuficiência renal na infância e adolescência, em todo o mundo, além de serem as únicas juntamente com as glomerulonefrites cujo tratamento precoce é capaz de prevenir ou adiar a perda crônica da função renal (PEREIRA *et al.*, 2000). Segundo o censo de 2007 da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN, 2007), há, no Brasil, cerca de aproximadamente 70.872 pacientes de Insuficiência Renal Crônica (IRC), dos quais 90,7% estão em tratamento hemodialítico e 9,3% em diálise peritoneal. Destes pacientes, 1,5% tem idade inferior a 18 anos. Entre as causas mais frequentes de IRC em crianças e adolescentes, estão as malformações congênitas do trato urinário. Outros dados, obtidos através de um estudo multicêntrico realizado no Brasil entre os anos de 2004 e 2013, mostraram que foram realizados 1751 transplantes renais em pacientes com menos de 18 anos nos 13 centros médicos

participantes do estudo. A média de idade dos transplantes foi de 12.4 anos e a etiologia mais comum dos procedimentos foram de uropatias obstrutivas, em 31% dos casos (GARCIA *et al.*, 2015). Apesar de uma incidência e de uma prevalência aparentemente baixas, essa população demanda extensivos cuidados de assistência e de materiais, além de medicamentos onerosos para o Estado, especialmente quando em doença renal crônica em tratamento dialítico ou após transplante renal (ZORZO, 2004).

Estudo de Soares *et al.* (2003) com crianças e adolescentes, evidenciou que dentre as causas básicas de IRC nas uropatias, predominaram a bexiga neurogênica, o refluxo vesicouretral e a válvula de uretra posterior.

Os fetos portadores de anomalias congênitas do sistema nefrourinário (*Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract – CAKUT*) representam a maioria dos atendimentos do serviço. Desde meados dos anos 90, a partir da integração do CEMEFE com a Unidade de Nefrologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da UFMG, tem sido possível aprimorar, além da assistência destes indivíduos desde a vida fetal, a busca por melhorias no tratamento dessas anomalias, através de pesquisas e publicações, contribuindo também para a formação multiprofissional em nível de pós-graduação.

Este trabalho busca contribuir para o diagnóstico das doenças nefrounárias no período pré-natal, apresentando um novo biomarcador químico para possível análise da função renal, diante da necessidade de prever, ainda no pré-natal, a função dos rins do feto no período pós-natal.

## 2 – REVISÃO DE LITERATURA

## 2 – REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - SISTEMA URINÁRIO: DESENVOLVIMENTO

Durante a gestação, o sistema nefrourinário do feto desenvolve-se através de uma série de sucessivas e interdependentes mudanças morfogênicas e fisiológicas (MUSSAP *et al.*, 1995).

A cavidade amniótica aparece durante a terceira semana de gestação a partir de uma massa de células implantadas do blastocisto. Pela quinta semana os rins mesonéfricos são funcionais. Durante as primeiras 12 semanas a cavidade amniótica é separada da placenta por uma cavidade coriônica que contém o saco vitelínico. Depois, o saco vitelínico se degenera e esta cavidade coriônica é progressivamente obliterada por uma crescente cavidade amniótica (MOORE, 1988). A função tubular renal aparece no rim metanéfrico humano por volta da nona semana de gestação e pela décima quarta semana a alça de Henle é funcionante, sendo iniciada a reabsorção glomerular (PITKIN & ZWIREK, 1967).

O conhecimento sobre o rim fetal é importante por inúmeras razões, pois produz a urina que é a principal fonte de líquido amniótico, principalmente na última metade da gestação do feto humano (BOIM *et al.*, 1995).

Três conjuntos de órgãos excretores são formados, em diferentes momentos e de forma independente, durante o período embrionário: o pronefro, o mesonefro e o metanefro.

O primeiro grupo de “rins” é rudimentar, sendo análogo aos rins de alguns peixes primitivos. Surge no início da quarta semana como um acúmulo de células tubulares em sua região cervical, com ductos que se abrem na cloaca. O pronefro não é funcionante no embrião humano. Ele se degenera, mas a maioria dos ductos pronefricos é aproveitada pelo conjunto de rins que segue o desenvolvimento (EKBLUM, 1994).

O mesonefro é análogo aos rins dos anfíbios, aparece no final da quarta semana, em posição caudal ao pronefro, e funciona como um rim temporário até o funcionamento do metanefro, o rim permanente. O mesonefro se degenera no primeiro trimestre, mas os seus túbulos se transformam nos ductos eferentes dos testículos (MOORE, 1988).

O metanefro, ou rim permanente, é formado a partir de duas fontes: o divertículo metanéfrico (ou broto uretérico) e o mesoderma metanéfrico (ou blastema metanéfrico), ambos de origem mesodérmica. O broto uretérico, como o próprio nome diz, é um órgão tubular, primórdio do ureter. Ele penetra no mesoderma metanéfrico e passa a se ramificar, formando, assim, a pelve renal, os cálices e os túbulos coletores. A extremidade de cada túbulo coletor induz à formação, no mesoderma metanéfrico circunjacente, do corpúsculo renal (cápsula de Bowman e glomérulo), do túbulo contorcido proximal, da alça de Henle e do túbulo contorcido distal, que, em seu conjunto, constituem um néfron. Os túbulos contorcidos distais entram em contato com os túbulos coletores, tornando-se confluentes e induzindo a diferenciação do néfron. Assim, o rim é constituído de dois componentes embriologicamente diversos: o néfron (originado do mesoderma metanéfrico) e os túbulos coletores (originados do divertículo metanéfrico) (QUINTERO, 1996). Para que haja um desenvolvimento adequado do sistema renal é necessário que o sistema coletor (divertículo metanéfrico) esteja em contato com o mesoderma metanéfrico e induza sua diferenciação. Quando isso não ocorre (como nos casos de obstruções urinárias precoces, nas quais existe pressão elevada desse sistema), não há formação adequada dos néfrons e há substituição por tecido fibroso. Nesses casos, o estudo histopatológico mostra hipoplasia e displasia renal, e pode haver insuficiência renal pós-natal (BECK, 1971).

No feto a termo cada rim contém cerca de 800 mil a 1 milhão de néfrons, e o aumento do tamanho do rim após o nascimento se deve principalmente ao alongamento dos túbulos contorcidos proximais e às alças de Henle, bem como o aumento do tecido intersticial. Ele começa a produzir urina quando o feto tem de 11 a 13 semanas de vida, sendo responsável pela composição do líquido amniótico, juntamente da placenta e secreções pulmonares. Presume-se que a urina fetal contenha fatores de crescimento necessários ao desenvolvimento pulmonar, o que, juntamente do fator mecânico, explicaria a grande incidência de hipoplasia pulmonar associada a fetos com uropatia e oligoidrâmnio (POTTER, 1965).

Além do desenvolvimento propriamente dito, os rins sofrem na vida intrauterina mudanças em sua posição: inicialmente intrapélvicos, sofrem uma ascensão resultante do crescimento da parte caudal do embrião. À medida que sobem, vão se afastando entre si, e seu hilo, de início ventral, faz uma rotação de quase 90° assumindo uma posição anteromedial (MOORE, 1988). O processo de

desenvolvimento renal não se completa com o nascimento. Após esse período, ainda ocorre a formação de néfrons a partir de mesênquima indiferenciado na camada cortical externa ao longo de vários meses após o nascimento. Ocorre também o crescimento dos néfrons por hipertrofia (LEESON *et al.*, 1988).

O rim de um recém-nascido é imaturo, não tendo a mesma capacidade funcional de um adulto. Possui atividade limitada, não tendo a mesma capacidade de concentração e diluição da urina (GUIGNARD, 1993). Além disso, seu parênquima é mais vulnerável a agressões infecciosas, formando cicatrizes corticais que levam a um comprometimento funcional com mais facilidade. Por serem mais comuns em crianças com anomalias nefrourológicas, as infecções das vias urinárias tendem a agravar ainda mais o prognóstico desses pacientes. Uma das finalidades do diagnóstico pré-natal dessas anomalias é permitir que seja introduzida nesses pacientes a profilaxia adequada e precoce (KULLENDORFF *et al.*, 1984).

A figura 1 mostra um desenho esquemático de um embrião com os diversos elementos do desenvolvimento renal.

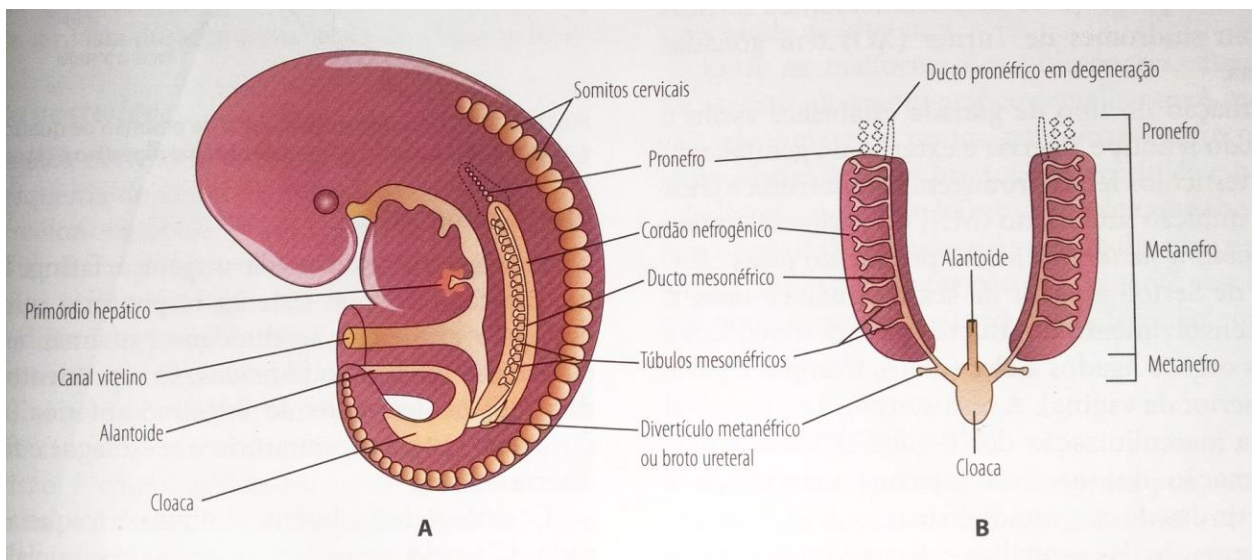


Figura 1: Desenho esquemático de embrião com os diversos elementos do desenvolvimento do sistema renal. (Fonte: ZUGAIB, 2012)

## 2.2 – FORMAÇÃO DO LÍQUIDO AMNIÓTICO

O líquido amniótico é produto do córion e do cordão umbilical em conjunto com a urina fetal e o fluido tráqueo-brônquico (MUSSAP *et al.*, 1995). O âmnio forma o saco amniótico que apresenta uma consistência membranosa e líquida em seu interior, envolvendo o embrião e mais tarde, o feto. Como o âmnio está junto às margens do disco embrionário, sua junção com o embrião (futuro umbigo) se localiza na superfície ventral após o dobramento do embrião. À medida que o âmnio aumenta de tamanho ele oblitera gradualmente a cavidade coriônica e envolve o cordão umbilical (MOORE, 1982).

O líquido amniótico envolve e protege o feto na cavidade amniótica. Serve de proteção a traumas externos, proporcionando espaço para movimento e crescimento do feto e permitindo também a maturação pulmonar. O fluido amniótico ajuda a manter a temperatura corporal, além do papel na homeostase de fluidos e eletrólitos. Os mecanismos de produção e consumo de líquido amniótico, bem como volume e composição, dependem da idade gestacional (CALLEN, 1994).

Durante o primeiro trimestre a maior fonte de líquido é a membrana amniótica, uma fina membrana composta de uma única camada de células epiteliais. A água atravessa a membrana livremente sem nenhum mecanismo de transporte ativo. Assim a produção de fluido na cavidade amniótica é comumente acompanhada por transporte ativo de eletrólitos e outros solutos pelo âmnio com difusão passiva de água em resposta a mudanças de pressão osmótica. O âmnio pode também sintetizar proteínas para a secreção na cavidade (BRACE, 1995).

Ao final do primeiro e início do segundo trimestre, à medida que a placenta e o feto se diferenciam, novas vias de produção e consumo surgem. Estas incluem movimento de fluido através do córion frondoso e pele fetal, débito urinário, mecanismos de deglutição e absorção intestinal (BOIM, 1995).

O córion frondoso, a porção do córion que se desenvolve para a porção fetal da placenta é o sítio no qual a água é trocada livremente entre o sangue fetal e o líquido amniótico através do âmnio. A pele fetal é permeável à água e alguns solutos permitem troca direta até a 26ª semana, quando ocorre a queratinização (BRACE, 1995).

A produção fetal de urina e deglutição inicia-se entre a 8ª e a 11ª semana de gestação e torna-se a principal fonte de produção e consumo a partir do 2º trimestre.

A deglutição fetal acarreta consumo de líquido à medida que é absorvida pelo trato gastro-intestinal (BRACE, 1995).

A formação de urina continua ao longo da vida fetal. É excretada para a cavidade amniótica e forma a maior parte do líquido amniótico. Um feto maduro engole várias centenas de mililitros de fluido amniótico por dia. Este líquido é absorvido pelo intestino, e os produtos de excreção são transferidos através da placenta para o sangue materno, a fim de serem eliminados (BRACE, 1995).

O líquido amniótico renova-se entre 4 e 6 horas, e a sua secreção atinge cerca de 4 a 8 litros por dia. A produção de urina aumenta com a idade gestacional e é estimada em 2,2 ml por hora com 22 semanas, 12 ml por hora com 32 semanas e 27 ml por hora no feto a termo (SAUDAN *et al.*, 1998).

O trato respiratório também apresenta mecanismos de produção e consumo do líquido amniótico, embora a exata constituição não seja bem entendida. Sabe-se que o fluido pode ser absorvido e excretado através de capilares alveolares ou pela traqueia. Algumas trocas de fluido alveolar ocorrem através da presença de fosfolípidios pulmonares no líquido amniótico, ocorrendo aumento das concentrações à medida que a gestação evolui. Observa-se também que os mecanismos de produção do líquido amniótico vão se modificando à medida que a idade gestacional progride. No primeiro e início do segundo trimestre a produção envolve primariamente fluxo passivo de água através das membranas e da pele fetal, desta forma a composição e osmolaridade do fluido assemelha-se ao soro materno e fetal (CALLEN, 1994).

Posteriormente o líquido vai se assemelhando a urina fetal, tornando-se cada vez mais hipotônico em relação ao soro materno e fetal (BRACE, 1995).

Durante as 20 primeiras semanas de idade gestacional o volume do líquido amniótico está correlacionado com o peso fetal e aumenta rapidamente com o passar do tempo, passando de 20 ml a 500 entre a 7<sup>o</sup> e a 20<sup>o</sup> semana (DAFFOS & FORESTIER, 1988).

O volume total de líquido amniótico aumenta durante a gestação até 38 a 40 semanas, diminuindo após. Aproximadamente no final do 1<sup>o</sup> trimestre o volume normal é em torno de 60 ml. Em torno da 16<sup>o</sup> semana quando se realiza a maioria das amniocenteses o volume aproximadamente é de 200 ml (CALLEN, 1994).

No feto a termo o volume aproximado é em torno de 900 ml com uma variação normal de 500 a 1200 ml. Na gestação pós-termo o declínio é em torno de

250 a 500 ml. Da mesma forma existe uma correlação entre a idade gestacional e o peso da placenta e do feto (CALLEN, 1994).

Existem também fatores maternos que influenciam maiores ou menores produções de líquido amniótico como volume plasmático, hidratação, permeabilidade à placenta, entre outros menores. Devido à urina fetal ser o componente mais importante do líquido amniótico o manejo durante gestações de alto risco e prevenção de insuficiência renal podem ser realizados através de marcadores bioquímicos contidos no fluido amniótico (MOORE, 1982).

### 2.3 - NEFROUROPATIAS OBSTRUTIVAS: DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO

A incidência de anomalias estruturais detectadas pela ultrassonografia fetal é de 1 a cada 100 gestações avaliadas. As malformações do trato urinário fetal correspondem a aproximadamente 20% do total das alterações diagnosticáveis durante o período pré-natal (CABRAL, 2005). Dentre elas, as uropatias obstrutivas são as mais frequentes.

A maioria das anormalidades do trato urinário são diagnosticadas durante o exame ultrassonográfico morfológico detalhado de segundo trimestre, ou no terceiro trimestre da gestação. Até a pouco tempo atrás o tratamento só era possível após o nascimento. Porém, cada vez mais, técnicas permitem alterar o prognóstico com segurança e eficácia, como a colocação de cateteres de drenagem vesico-amniótica (HARRISON & FILLY, 1988).

As uropatias obstrutivas são definidas como anomalias que cursam com dilatação das vias urinárias e que nem sempre apresentam real obstrução. Uma vez que a dilatação do sistema coletor tenha sido detectada – a chamada hidronefrose - a avaliação subsequente deve incluir três questões principais: a origem da dilatação, a coexistência de anomalias associadas e, finalmente, o prognóstico da malformação (CALLEN, 2008).

A controvérsia em relação ao achado de hidronefrose fetal se dá no grau de dilatação da pelve, pois muitas vezes, uma dilatação mínima da pelve pode ser um achado clínico comum na ultrassonografia. Estudos feitos na década de 1980 mostram como limiar indicativo de alteração patológica um diâmetro ântero-posterior da pelve renal (DAP) maior que 10 mm. Atualmente em nosso serviço, estabelece-se a presença de hidronefrose fetal com um DAP da pelve renal maior que 5.0 mm e

esta hidronefrose é classificada como: leve (de 5.0 a 9.9 mm), moderada (10.0 a 14.9 mm), ou severa ( $\geq 15.0$  mm) (BOUZADA *et al.*, 2004).

As obstruções podem ser altas, se encontradas na junção ureteropélvica, médias, se encontradas na junção vesicoureteral e baixas se encontradas na junção vesicouretral. Os achados ultrassonográficos pré-natais dependerão do nível e gravidade da obstrução.

### 2.3.1 - Obstrução de junção ureteropélvica

A obstrução de junção ureteropélvica é a uropatia mais freqüentemente associada à hidronefrose fetal, sendo responsável por cerca de 11% das causas de dilatação do trato urinário (ISMAILI *et al.*, 2003). Ocorre em aproximadamente uma em cada 2.000 crianças, com predomínio de 3:1 em crianças do sexo masculino sobre o sexo feminino, sendo bilateral em 20 a 25% dos casos. É usualmente causada por estenose intrínseca da porção proximal do ureter (75%), freqüentemente associada a uma inserção anômala alta do ureter na pelve renal, fibrose peripélvica ou vasos anômalos (20% dos casos são associados a uma artéria renal acessória) (WOODWARD & FRANK, 2002).

O diagnóstico é freqüentemente suspeitado no feto ou recém-nascido com dilatação da pelve renal e ectasia de cálices pela ultrassonografia, mas que apresentam espessamento e esvaziamento normal da bexiga e volume adequado de líquido amniótico. O grau de acometimento é proporcional à intensidade da obstrução. Dudley *et al.* (1997) mostraram que três quartos dos fetos com DAP maior ou igual a 15 mm tiveram diagnóstico pós-natal de obstrução da junção ureteropélvica e nenhum dos 70 fetos com DAP menor que 15 mm teve esse diagnóstico.

### 2.3.2 - Rim displásico multicístico

O rim displásico multicístico é uma anomalia do desenvolvimento renal na qual o parênquima é ocupado por múltiplos cistos múltiplos, arredondados, periféricos e não comunicantes, de tamanho variado, não sendo possível distinguir o córtex renal. A incidência é estimada em um a cada 4.300 nascimentos (GORDON *et al.*, 1988), com predominância de 2:1 do sexo masculino sobre o feminino. A

alteração não é genética, ao contrário da doença policística – com a qual é confundido - que é hereditária (recessiva ou dominante), sempre bilateral e, em geral, os cistos são vizibilizados em dimensões reduzidas ou não visualizados à ultra-sonografia inicial.

O diagnóstico do rim displásico multicístico é confirmado por ultrassonografia e cintilografia no período pós-natal. A avaliação do rim contralateral se faz necessária, pois, anormalidades renais podem ser detectadas em aproximadamente 10 a 25% dos pacientes, incluindo agenesia renal, obstrução da junção ureteropélvica e refluxo vesicoureteral (WOODWARD & FRANK, 2002).

### 2.3.3 - Refluxo vesicoureteral

Os achados ultrassonográficos que sugerem o refluxo são: hidronefrose com dilatação ureteral, sem espessamento da parede vesical, parênquima renal e líquido amniótico normal, especialmente em fetos masculinos. Todavia, a condição também pode ser observada mesmo em ultrassonografia pós-natal normal (JASWON *et al.*, 1999). Pode ser encontrado nos casos de hidronefrose leve, DAP entre 4 e 10 mm, mesmo sem dilatação ureteral (HOMSY *et al.*, 1997).

O refluxo vesicoureteral é diagnosticado à avaliação pós-natal em aproximadamente 10% dos recém-nascidos com hidronefrose fetal (WOODWARD & FRANK, 2002). A maioria dos estudos na literatura relata predominância dos casos de refluxo em crianças do sexo masculino (LEBOWITZ *et al.*, 1985).

Em recente estudo prospectivo, Ismaili *et al.* (2006) encontraram prevalência de refluxo em 9% dos casos de dilatação pélvica, com predominância do sexo masculino (2,4:1), 49% dos quais apresentando acometimento bilateral.

### 2.3.4 - Megaureter primário

É causado por um segmento aperistáltico do ureter distal, o qual não permite a propulsão normal da urina. Está presente em 4% dos casos de hidronefrose. O diagnóstico fetal é obtido pela observação da dilatação uretral pelo ultrassom, ou, às vezes, apenas a dilatação da pelve e/ou cálices renais pode ser identificada na ultrassonografia fetal, sendo o ureter dilatado diagnosticado na investigação pós-natal. O megaureter obstrutivo tem predominância de 4:1 do sexo masculino sobre o

feminino, é bilateral em 25% dos casos e o ureter esquerdo é mais comumente acometido (SHOKAIR & NIJMAN, 2000).

Antes dos avanços da ultrassonografia fetal, as crianças com megaureter frequentemente apresentavam infecção urinária, dor abdominal e hematuria. Naquela época, a abordagem de rotina do megaureter consistia em correção cirúrgica, uma vez que se presumia que houvesse uma obstrução ao fluxo urinário no ureter distal. Entretanto, a história natural do megaureter assintomático não era conhecida, e por isso, não havia controvérsias sobre a conduta cirúrgica. Mas esse contexto vem se alterando nos últimos tempos, com casos de regressão espontânea de neonatos com megaureter assintomático. A diferença entre a dilatação do trato urinário associada à obstrução significativa daquela que representa apenas variação anatômica permanece um problema desafiador. Tem se encontrado muita dificuldade para definir o que é uma obstrução do trato urinário e quais os pacientes se beneficiariam de conduta conservadora ou de tratamento cirúrgico mais precoce (WOODWARD & FRANK, 2002).

De todo modo, com o advento da ultrassonografia a abordagem tem sido mais conservadora, consistindo em exames clínicos, laboratoriais e ecografias periódicas. Estudos apontam que essa é uma opção segura, com maioria dos ureteres regredindo espontaneamente em um tempo de seguimento variável (OLIVEIRA, 2000).

### 2.3.5 - Ureterocele e duplicação ureteral

A ureterocele é uma duplicação cística da extremidade intravesical do ureter e ocorre em um em cada 5.000 recém-nascidos, acometendo mais o sexo feminino. É diagnosticada em cerca de 2% dos casos de hidronefrose (WOODWARD & FRANK, 2002).

Em um sistema duplo, o ureter ectópico drena o pólo superior entrando na parede vesical medial e inferior ao ureter responsável pela drenagem do pólo inferior e pode estar obstruído, resultando em hidronefrose do pólo superior. Uma grande ureterocele pode também obstruir o orifício uretérico contralateral, resultando em obstrução bilateral, sendo necessária urgente investigação neonatal (WOODWARD & FRANK, 2002).

É usualmente possível identificar a duplicação do sistema coletor e ureterocele pela ultrassonografia pós-natal. Além de aumentar o risco de infecções, a ureterocele pode ser causa de dificuldade no esvaziamento vesical, havendo assim, a indicação de intervenção para descompressão da unidade obstruída já nas primeiras semanas de vida neonatal (WOODWARD & FRANK, 2002).

### 2.3.6 - Válvula de uretra posterior (VUP)

É a causa mais comum de uropatia obstrutiva grave, ocorrendo em aproximadamente um em cada 8.000 recém-nascidos, responsável por cerca de 1% dos casos de hidronefrose, e ocorrendo em especial em fetos do sexo masculino (WOODWARD & FRANK, 2002). As válvulas da uretra são folhetos de tecido que se abrem em leque, distalmente, da uretra prostática para o esfíncter urinário externo. O diagnóstico pré-natal se dá ao observar hidronefrose bilateral progressiva associada à megaureter, megabexiga, e espessamento da parede vesical. Este diagnóstico pré-natal também é reforçado no exame físico, pela presença de tumoração hipogástrica (bexigoma) que se reduz um pouco com a micção. O diagnóstico definitivo no recém-nascido será obtido por meio da uretrocistografia miccional (WOODWARD & FRANK, 2002).

Diagnóstico no pré-natal antes da 24<sup>a</sup> semana de gestação, hidronefrose bilateral grave, e sinais como elevação de sódio, cloro e  $\beta$ -2 microglobulina urinária fetal, ou oligoidrâmnio, são reconhecidos como preditores de pior prognóstico no período pré-natal. No período pós-natal, os recém-nascidos com displasia renal bilateral grave podem evoluir com hipoplasia pulmonar. Infelizmente, apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento dessa uropatia, o percentual de mau prognóstico, em termos de função renal e sobrevida, é ainda alto, variando entre 30 e 60%. Um adequado manejo para essas crianças requer a identificação correta no pré-natal, para que a intervenção adequada seja realizada no feto ou logo após o nascimento (SMITH *et al.*, 1996).

Alguns autores, como Smith *et al.* (1996), sugerem que a imediata ablação das válvulas seria a terapêutica mais favorável em longo prazo em termos de função renal. Na unidade de Nefrologia Pediátrica do HC-UFMG, a vesicostomia cutânea tem sido realizada nos recém-nascidos, mas, parece que o prognóstico está mais associado aos danos renais intra-útero do que ao método inicial de tratamento.

## 2.4 – NEFROUROPATIAS OBSTRUTIVAS: DIAGNÓSTICO FUNCIONAL NÃO INVASIVO

### 2.4.1 - Avaliação do volume do líquido amniótico

Inicialmente o volume do líquido amniótico era o único índice de desenvolvimento do rim fetal. Entretanto, estudos indicam que o volume do líquido amniótico é preditivo somente nos casos graves. O volume de líquido amniótico normal no terceiro trimestre de gestação sugere adequada função renal e a redução desse líquido no início infere grave comprometimento do desenvolvimento do trato urinário (HOLMES *et al.*, 2001).

A acurácia da avaliação do volume de líquido amniótico (LA) por critérios subjetivos depende da experiência do operador do ultrassom. Até aproximadamente a 22ª semana de gestação o feto ocupa menos da metade do volume intrauterino. Só após este período, ele cresce progressivamente, ocupando a maior parte da cavidade uterina (ZUGAIB, 2012).

Diante da dificuldade de padronização dos métodos subjetivos, foram desenvolvidos métodos semiquantitativos que indicam o valor do LA. A técnica do maior bolsão de LA consiste na medida isolada do diâmetro vertical do maior bolsão de líquido. Nesse caso, considera-se oligidrâmnio acentuado quando esta medida for menor de 1 cm e polidrâmnio grave quando a medida for maior que 16 cm (CHAMBERLAIN *et al.*, 1984).

Atualmente, e em nosso serviço, a forma utilizada para avaliar o volume do líquido amniótico consiste na determinação do índice de líquido amniótico (ILA), originalmente descrito por PHELAN *et al.*, consiste na soma do diâmetro vertical do maior bolsão de LA nos quatro quadrantes do abdome materno. Considera-se normal quando o índice estiver entre os percentis 5 e 95 para a idade gestacional no momento da medida. É considerado oligidrâmnio quando o ILA é inferior ao percentil 5 e polidrâmnio quando o índice encontra-se acima do percentil 95 para a idade gestacional no momento do exame (RUMACK, 2006).

A quantidade de líquido amniótico está diretamente relacionada com a produção de urina pelo feto. A diminuição do líquido amniótico geralmente é consequência da diminuição da produção urinária fetal. OLIVEIRA *et al.* (1999) demonstraram, em uma análise multivariada, que a redução do líquido amniótico é o

fator prognóstico mais significativo na predição de óbito e/ou insuficiência renal durante o seguimento pós-natal.

#### 2.4.2 - Avaliação do parênquima renal fetal

As alterações renais em decorrência das obstruções do trato urinário implicam em danos irreversíveis da função renal fetal como consequência da pressão elevada no interior do trato urinário em desenvolvimento. A disfunção renal vai depender da extensão e da gravidade da displasia.

O parênquima renal nos rins displásicos tende a exibir aumento de ecogenicidade quando comparado a outras estruturas que o circundam, provavelmente em decorrência do tecido fibroso abundante (TRINKA *et al.*, 2012). Alguns estudos associaram esses achados ecográficos com displasia renal confirmada por histologia pós-natal. O achado de hiperecogenicidade à ultrassonografia associou-se ao achado histológico de displasia com sensibilidade de 73% e especificidade de 80%. Porém, o aumento da ecogenicidade renal pode ser encontrado em aproximadamente 20% dos fetos com rins normais e em 25% dos fetos com displasia renal não foi encontrada essa alteração ao exame (MAHONY *et al.*, 1984). É importante ressaltar que a determinação da ecogenicidade do parênquima renal pode ser influenciada por vários fatores, como a capacidade do equipamento, a subjetividade do examinador, presença de lesões císticas que podem aumentar a transmissão sônica e, principalmente na presença de oligoidrâmnio dificultando a visibilização dos rins. A presença de cistos corticais em fetos com uropatias obstrutivas também se correlaciona com a gravidade do comprometimento renal, inferindo significativo dano irreversível, mas não sempre letal (PEREIRA, 1999).

#### 2.4.3 - Avaliação da pelve renal

O avanço e a modernização nos aparelhos de ultrassonografia resultaram na maior detecção de hidronefrose fetal. Uma vez detectada a dilatação ao exame ultrassonográfico no pré-natal, o grau da hidronefrose é calculado pela medida do diâmetro anteroposterior (DAP) da pelve renal no plano transversal do rim. Essa

medida tem correlação com a idade gestacional em questão. Embora não exista consenso na definição de hidronefrose pré-natal, estudos descrevem anormalidades renais persistentes na avaliação pós-natal quando o DAP da pelve renal fetal mede mais de 6 mm antes da 20ª semana de gestação, mais de 8 mm entre 20 e 30 semanas e mais de 10 mm acima de 30 semanas de gestação (SIEMENS *et al.*, 1998).

A literatura considera normal um DAP menor que 5 mm, mas não há consenso sobre uma real medida preditiva de hidronefrose. Uma dilatação moderada, conhecida como pieloectasia, corresponde a DAP maior ou igual a 4 mm e menor que 10 mm, e geralmente possui um prognóstico favorável, podendo, entretanto, requerer intervenções pós-natais.

Existe um consenso em relação a duas situações:

- Antes de 24 semanas, o trato urinário fetal é normal se o DAP da pelve renal é de 4 mm ou menos, os cálices e os ureteres não são visíveis e a bexiga é normal.
- Depois de 24 semanas, o trato urinário é anormal se o DAP excede 10 mm, os cálices são visíveis, o ureter é dilatado, a bexiga está aumentada e/ou com parede espessada e a uretra está distendida (TOIVAINEN-SALO *et al.*, 2004).

A maioria dos autores concorda que a DAP maior que 15 mm é altamente preditivo de doença significativa do trato urinário (LEE *et al.*, 2006).

The Society of Fetal Urology (SFU), em 1993, propõe que a gravidade da dilatação renal também pode ser classificada (Figura 2) através de aspectos ecográficos, levando-se em consideração o grau de dilatação da pelve renal, o número de cálices observados, a presença e a gravidade da atrofia do parênquima renal (FERNBACH *et al.*, 1993).

Grau 0: sem dilatação;

Grau I: somente a pelve renal e visibilizada;

Grau II: visibilizada pelve renal e alguns cálices;

Grau III: hidronefrose com quase todos os cálices visibilizados;

Grau IV: hidronefrose com quase todos os cálices visibilizados, acompanhada de atrofia do parênquima renal.

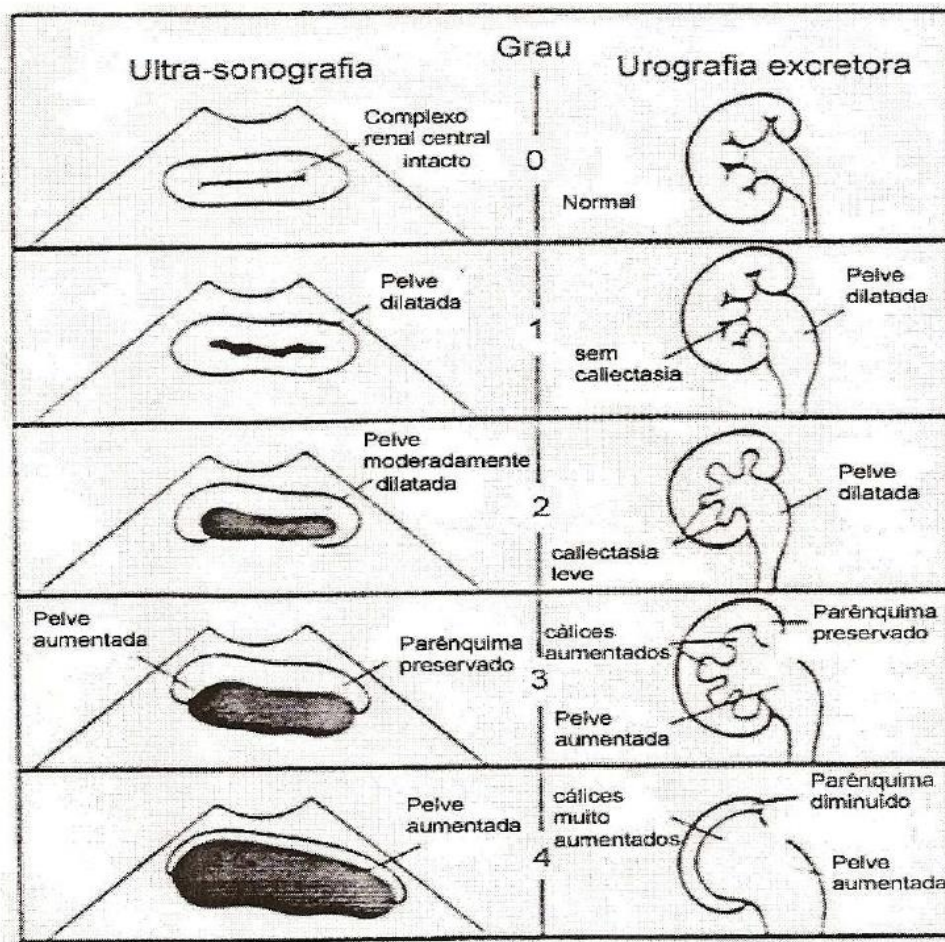


Figura 2 – Classificação da hidronefrose de acordo com The Society of Fetal Urology (SFU)

#### 2.4.4 - Avaliação ultrassonográfica do ureter

Os ureteres fetais normais não são visualizados ao exame ultrassonográficos. Entretanto, na presença de megaureter, este é visualizado e pode ser indicativo de obstrução ureteral, vesical ou refluxo vesicoureteral (DUVAL *et al.*, 1985).

#### 2.4.5 - Avaliação ultrassonográfica da bexiga fetal

A bexiga fetal preenchida por urina fetal é identificada entre 13-15 semanas de gestação. A presença de urina na bexiga implica no funcionamento de pelo menos um dos rins. A parede fetal normal é fina. O espessamento da parede da bexiga fetal sugere obstrução uretral, como válvula de uretra posterior em fetos

masculinos. Se a bexiga não é visualizada, diagnósticos como agenesia renal bilateral ou extrofia vesical devem ser considerados (COHEN *et al.*, 2004).

## 2.5 – NEFROUROPATIAS OBSTRUTIVAS: DIAGNÓSTICO FUNCIONAL INVASIVO

As uropatias obstrutivas possuem lenta evolução e possível degradação da função renal. Os parâmetros ultrassonográficos quando usados isoladamente, não são suficientes para a avaliação completa da viabilidade dos rins no período fetal. O equilíbrio hidroeletrolítico é mantido pela placenta, logo, o estudo do soro fetal não contribui para análise da função renal intrauterina. Entretanto, a concentração de eletrólitos na urina fetal correlaciona-se diretamente com a função renal (EKBLÖM, 1994). Ela pode ser avaliada bioquimicamente a partir da 15ª semana de gestação, onde os rins se encontram funcionando e produzindo urina. Acredita-se que tais dosagens podem ser também realizadas em líquido amniótico, já que grande parte de sua composição é de urina fetal (GRANNUM & COPEL, 1990).

HARRISON & FILLY, em 1988, compararam alguns marcadores bioquímicos na urina fetal, em pacientes com boa função renal e em pacientes com função renal comprometida. O estudo mostrou aumento das dosagens de creatinina em pacientes com função renal comprometida, e diminuição das concentrações de sódio, cloro, potássio e osmolaridade nos que apresentavam boa função renal.

Esforços têm sido feitos para a determinação do grau de acometimento da função renal intraútero. Através da análise bioquímica, vários eletrólitos e proteínas têm sido dosados com objetivo de se determinar aquele que melhor se correlaciona com a real função renal (OLIVEIRA, 2001).

Existe uma direta correlação entre os níveis de maturação da função renal fetal com a avaliação bioquímica. Com o evoluir da gestação, e conseqüentemente maturação dos sistemas de excreção e absorção do rim fetal associado ao aumento da taxa de filtração glomerular, ocorre modificação na excreção urinária de eletrólitos componentes da urina. A presença de urina fetal hipotônica sugere função glomerular e tubular normais (NICOLAIDES *et al.*, 1992).

Estes são alguns dos marcadores bioquímicos utilizados para avaliar a função renal no feto:

### 2.5.1 – Sódio

O sódio é o maior cátion extracelular. Há muitos mecanismos envolvidos na regulação do sódio. A medida que a gestação evolui e o rim se desenvolve, há aumento da taxa de filtração glomerular e conseqüente aumento da capacidade de reabsorção deste soluto. Isto também se deve à capacidade dos tubulos proximais de responderem a angiotensina II. A reabsorção de sódio pelo rim fetal, no final da gestação, varia entre 85-95% da carga filtrada. O valor do sódio na urina fetal diminui com a evolução da gestação (NICOLINI *et al.*, 1992).

NICOLINI *et al.*, também mostraram a diminuição progressiva do nível de sódio durante a gestação. Porém, em fetos com displasia renal, mostrou-se uma elevada concentração de sódio urinário.

O sódio é considerado um importante marcador de função renal avaliado na urina de pacientes com uropatias obstrutivas, pois seu aumento pode estar relacionado ao prognóstico fetal (OLIVEIRA, 2001).

### 2.5.2 – Potássio

Da mesma forma que outros ions, o potássio é filtrado pelo glomérulo junto aos tubulos proximais, e também no ramo ascendente da alça de Henle. A taxa de secreção do potássio é influenciada pela de sódio, pois os mecanismos que controlam a reabsorção do sódio são responsáveis também pela secreção de potássio (BRACE, 1995).

No estudo de DAFFOS *et al.*, em 1988, as concentrações de potássio na urina fetal não variaram no decorrer da gestação e apresentaram um concentração média de 4,2 mEq/L. Já NICOLINI *et al.*, em 1992, mostraram que as concentrações de potássio em gestações normais apresentavam concentrações decrescentes ao longo da gestação.

### 2.5.3 – Cloro

A concentração plasmática do cloro tem como principal regulador os rins, sendo a excreção urinária influenciada pela concentração plasmática. Os cloretos

são reabsorvidos através do epitélio tubular: túbulos proximais, alça de Henle e o restante nos sistemas coletores (BRACE, 1995).

O cloro e o bicarbonato são os principais ânions no líquido extracelular, sendo que parte do sódio é reabsorvido juntamente com esses ânions. O sistema renal de regulação ácido-base também regula a proporção dos íons cloreto para íons bicarbonatos no líquido extracelular.

Concentração de cloro inferior a 90mEq/ml está relacionado com boa evolução perinatal, principalmente quando associado a outros parâmetros bioquímicos e ultrassonográficos (SANTOS, 2008).

#### 2.5.4 - Creatinina

A creatinina é um produto produzido no organismo durante o metabolismo do tecido muscular, resultante da degradação da fosfocreatina (creatina fosforilada) no músculo, e é geralmente produzida em uma taxa praticamente constante pelo corpo, mas, exercícios musculares intensos e algumas doenças aumentam sua produção (OLIVEIRA, 2001).

A creatinina é excretada pelos rins, que regulam sua concentração no sangue. Quando há insuficiência renal, os índices de creatinina sérica aumentam. A avaliação da concentração sérica de creatinina é o parâmetro mais seguro para avaliar a função renal (OLIVEIRA, 2001).

A creatinina medida em líquido amniótico possui correlação com a maturidade fetal. Outro trabalho também sugeriu a correlação da creatinina com predição da Síndrome da Membrana Hialina (GRUPE, 1987). Valores de creatinina no líquido amniótico que melhor representam a maturidade fetal são 1,5 a 2,0 mg/dl (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

A concentração de creatinina aumenta gradativamente no decorrer da gestação, entre a 20ª e 32ª semanas. Na primeira metade da gestação os níveis de creatinina materno e no soro fetal são semelhantes. Após a 32ª semana de gestação a concentração de creatinina fetal medida no líquido amniótico alcança valores 2 a 4 vezes maiores que a da mãe (Liu & Gong, 1982). Apesar do aumento da creatinina poder ser atribuído tanto pelo aumento de massa muscular do feto como também da maturidade renal, estudos mostram que a concentração de creatinina correlaciona-

se melhor com a maturidade renal, quando comparados os dois fatores (MUSSAP *et al.*, 1995).

#### 2.5.5 - $\beta$ 2-microglobulina

A  $\beta$ 2-microglobulina é um polipeptídeo com peso molecular de 11,815 kDa da cadeia livre do complexo antigênico da classe I do HLA. É liberada para o fluido extracelular como um monômero livre depois de ser dissociado da cadeia pesada de HLA 3. Em humanos é sintetizada e liberada na circulação principalmente por um “pool” de linfócitos (BACKMAN *et al.*, 1986).

A função da  $\beta$ 2-microglobulina ainda é desconhecida, mas ela pode controlar a expressão e biossíntese de antígenos na superfície celular. Por causa do baixo peso molecular, a  $\beta$ 2-M é filtrada pelos tubulos proximais. 99% de toda  $\beta$ 2-M é reabsorvida e degradada nos túbulos proximais, por isso, a quantidade liberada na urina é mínima (BACKMAN *et al.*, 1986). O aumento da  $\beta$ 2-M na urina é evidência de disfunção tubular.

Em fetos, os níveis séricos de  $\beta$ 2-M são detectados a partir da 11<sup>a</sup> semana. Reabsorção prejudicada é visto em fetos com displasia renal bilateral ou uropatia obstrutiva bilateral grave, resultando em níveis anormais urinários de eletrólitos,  $\beta$ 2-microglobulina e osmolaridade (MULLER *et al.*, 1993).

Amostras de urina fetal com concentrações de  $\beta$ 2-microglobulina inferior a 6 mg/L indicam boa função renal fetal (NICOLAIDES *et al.*, 1992).

#### 2.5.6 – Osmolaridade

A osmolaridade avalia os mecanismos de concentração urinária. Para regular a osmolaridade, o rim deve separar a reabsorção de íons da reabsorção de água. Quando há ingestão excessiva de água, o rim deve eliminar a quantidade excessiva de água sem perda de íons, não havendo secreção do hormônio antidiurético e com os ductos excretores impermeáveis à água. No entanto se há falta escassez de água, os ductos se tornam permeáveis reabsorvendo a água. A permeabilidade é influenciada pela hormônio antidiurético (OLIVEIRA, 2001).

A urina fetal é hipotônica desde que o feto esteja bem hidratado. A água pode difundir-se muito facilmente através da placenta e o hormônio antidiurético é suprimido. A osmolaridade por esta característica pode indicar maturação renal (BRACE, 1995).

Da mesma forma que o sódio, os valores da osmolaridade são de extrema importância para avaliar a função renal dos fetos com algum comprometimento renal (HARRISON & FILLY, 1988).

A osmolaridade urinária fetal é o parâmetro utilizado no CEMEFE para definir quais fetos com problemas renais apresentam função renal preservada, permitindo, a inserção de derivação vesico-amniótica ou procedimentos no pré-natal, para preservação da função renal. Valores abaixo de 210 mOsm/l são considerados normais (PEREIRA *et al.*, 2005).

## 2.6 – A UROMODULINA

### 2.6.1 – Aspectos históricos: A descoberta da Proteína de Tamm-Horsfall/Uromodulina

Em 1950, Igor Tamm e Frank L. Horsfall Jr., trabalhando no Instituto Rockefeller em Nova York, separaram e caracterizaram, através de uma técnica de precipitação de sal, uma proteína presente na urina humana e de outros animais, capaz de inibir a hemaglutinação viral. Estes autores compreenderam a formação química da mucoproteína e a maneira pela qual ela inibia a hemoaglutinação induzida por gripe, caxumba, doença de Newcastle e outras viroses. Em seu artigo, denominaram-na de proteína de Tamm-Horsfall (THP), que possuía excreção urinária estimada em valores de até 17 mg/L (TAMM & HORSFALL, 1950).

Em 1964, BAYER utilizou microscopia eletrônica para confirmar a ligação do vírus da gripe com a mucoproteína urinária. THP foi visualizada como uma rede de filamentos compostos de pequenas fibrilas com um diâmetro de 4 a 24 nm, mas o comprimento não pôde ser detectado devido à sua tendência para formar agregados de ponta a ponta. Na década de 1970, um laboratório em Londres, mostrou que a THP migra por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) como uma unidade molecular única, de peso molecular de

aproximadamente 80 a 90 KDa. Cerca de 30% do seu peso molecular era constituído por carboidratos (FLETCHER *et al.*, 1970).

THP estava constantemente sob a atenção de investigadores que trabalhavam no campo das glicoproteínas ou por nefrologistas e urologistas. De acordo com o PubMed, de janeiro de 1967 a janeiro de 1985, quase 200 artigos relativos a glicoproteína Tamm-Horsfall foram publicados (SERAFINI-CESSI; MALAGOLINI; CAVALLONE, 2003). Posteriormente, Muchmore e Decker iniciaram uma pesquisa em mulheres grávidas, visando detectar proteínas com atividade imunossupressora na urina. Utilizou-se amostras de urina de gestantes no terceiro trimestre de gestação, entre a vigésima e a quadragésima semana. Após o processo de purificação, obtiveram uma glicoproteína de 85 KDa. Demonstrou-se que esta proteína tinha a capacidade de inibir a proliferação de linfócitos T e monócitos induzida por antígenos, como o toxóide tetânico e a fitohemaglutinina. Por sua fonte de isolamento e atividade moduladora da resposta imune *in vitro*, denominaram-na de uromodulina (MUCHMORE & DECKER, 1985). A proteína purificada apresentava 30% de carboidratos em sua composição, tendência para formar agregados e pontes dissulfídicas no interior da molécula.

Em 1987, PENNICA e colaboradores identificaram a THP e uromodulina (UMOD) como sendo proteínas idênticas. Isolaram e caracterizaram a uromodulina utilizando clones genômicos e DNA complementar. A sequência de aminoácidos, codificada por um dos éxons do gene da uromodulina, mostrou homologia com a proteína de Tamm-Horsfall. Outros estudos, assim como o realizado por Pennica também foram capazes de isolar a uromodulina na urina de mulheres não grávidas (MUCHMORE *et al.*, 1987).

### 2.6.2 – Estrutura e localização

O gene humano de UMOD foi atribuído ao cromossomo 16p12.3-16p13.11 (POOK *et al.*, 1993). O DNA que codifica UMOD no rato, camundongo, e bezerro também foi sequenciado (YU *et al.*, 1994) e o gene de UMOD foi relatado estar presente em todos as classes de vertebrados (BADGETT & KUMAR, 1998).

RINDLER *et al.*, transferiu cDNA da uromodulina para células HeLa e mostrou que ela é uma proteína com uma âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI) caracterizada por uma estrutura notável e propriedades únicas. Os ácidos graxos

ligados à âncora GPI permitem a inserção da uromodulina na membrana plasmática (Figura 3). A proteína madura contém 616 aminoácidos, incluindo 48 resíduos de cisteína que envolvem potencialmente 24 pontes dissulfeto, que são importantes para a sua conformação. Oito potenciais sítios de N-glicosilação também estão presentes, explicando o alto índice de carboidratos da molécula (MUCHMORE & DECKER, 1985). A estrutura da uromodulina (Figura 3) contém três fatores de crescimento epidérmico (EGF), domínios estes que mediam interações proteína-proteína, além de um domínio de zona pelúcida. A região C-terminal da proteína inclui um estiramento de aminoácidos hidrofóbicos, que atuam como um sinal para a transpeptidase no retículo endoplasmático (RE) fixar a âncora GPI pré-formada. Seguindo esta adição, a proteína ligada à âncora é transportada para o complexo de Golgi, onde glicanos são totalmente processados, e em seguida ela é entregue a superfície luminal da célula, e, finalmente, liberada na urina por clivagem proteolítica (SERAFINI-CESSI *et al.*, 2003).

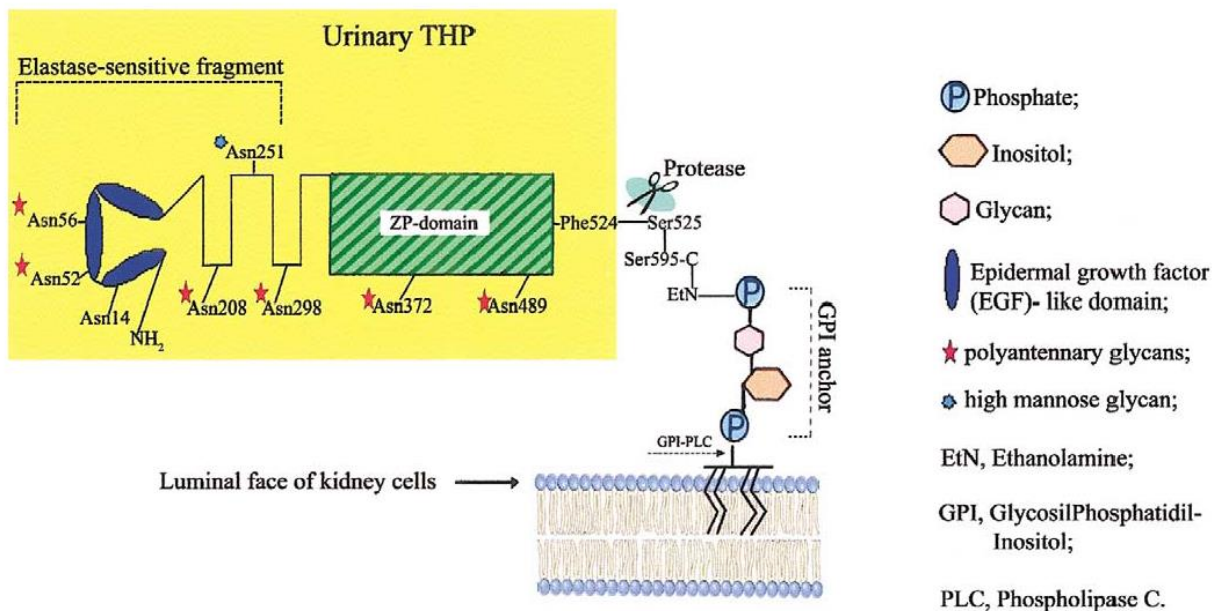


Figura 3: Modelo estrutural da uromodulina urinária (área amarela) e sua âncora GPI (Fonte: SERAFINI-CESSI *et al.*, 2003).

Quando células HeLa que expressam a uromodulina recombinante são tratadas com manosamina, um inibidor da biossíntese da âncora GPI, a proteína acumula intracelularmente e é significativamente menos exposta à superfície da célula, indicando que a adição de âncora GPI é necessária para entrega à membrana plasmática (MALAGOLINI *et al.*, 1997). Figura 4 mostra o encaminhamento da UMOD GPI-ancorada à superfície celular.

Aproximadamente 150 tecidos celulares diferentes foram analisados através de uma sonda de RNA de uromodulina, e somente o tecido de rim humano adulto deu sinal positivo, indicando que a produção e distribuição da uromodulina no organismo humano se dão exclusivamente nos rins (PENNICA *et al.*, 1987). É distribuída especificamente nas células epiteliais no segmento espesso ascendente (TAL) da alça de Henle e na porção mais proximal do túbulo contorcido distal. Estudos ontogenéticos indicam que a presença da uromodulina é intimamente relacionada com o desenvolvimento e maturação funcional da alça de Henle (HOYER *et al.*, 1974).

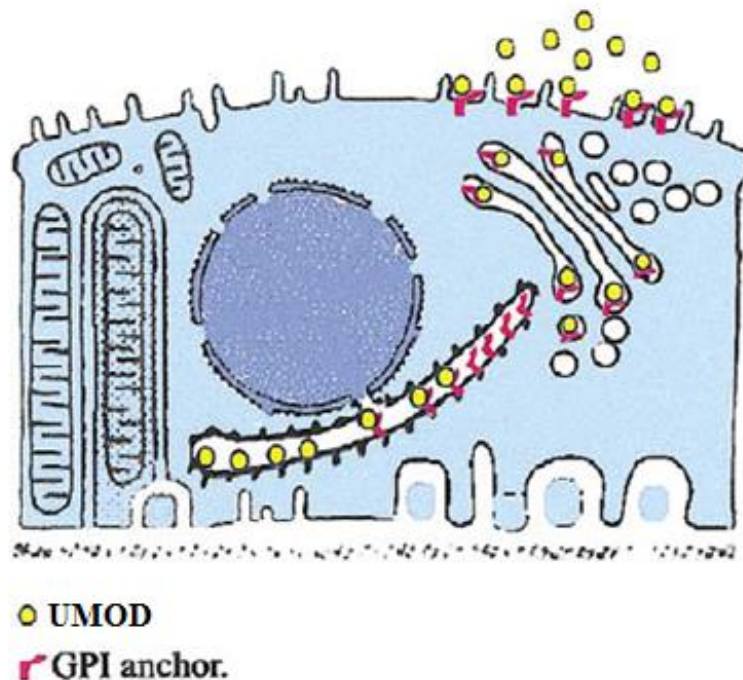


Figura 4. Diagrama esquemático da biossíntese e encaminhamento intracelular de uromodulina GPI-ancorada numa célula TAL. A adição da âncora GPI pré-formada a UMOD ocorre no RE: a forma ligada à membrana é transportada para o complexo de Golgi, onde glicanos são totalmente processados, entregues à superfície luminal da célula, e libertada na urina por uma clivagem proteolítica (Fig 3). Nota-se as largas mitocôndrias e interdigitações na membrana basolateral que são proeminentes em células TAL. (Fonte: SERAFINI-CESSI *et al.*, 2003).

Um fato importante da fisiologia renal é a ausência de UMOD na região da mácula densa, vizinha ao segmento espesso da alça de Henle. Isto permite o livre funcionamento do mecanismo de retroalimentação túbulo-glomerular, que é baseado na exposição à concentração eletrolítica do fluido tubular (YING & SANDERS, 1998). Evidências obtidas na luz aos níveis de microscópio eletrônico comprovam que a uromodulina é ordenada para a membrana apical de células epiteliais TAL (Figura 5), resultantes da adição de âncora GPI e/ou de N-glicanos ligados (DEVUYST et al., 2005).

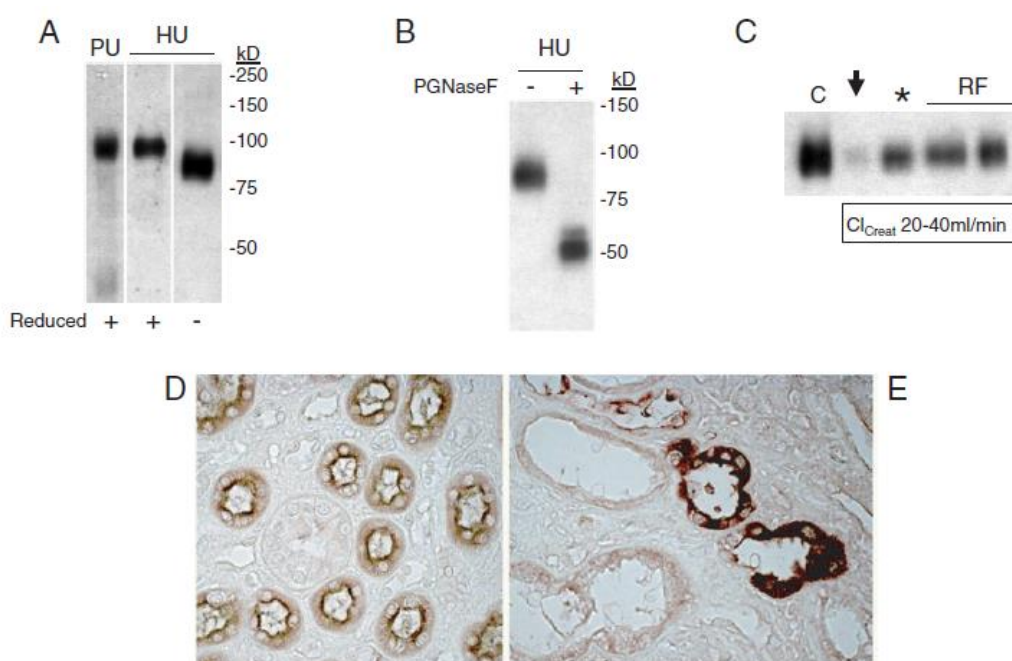


Fig. 5: Detecção de uromodulina no rim humano e na urina. (A) uromodulina purificada (PU, 0,5 mg) e de urina humana normal (HU, 4 ml) foram submetidos a 7,5% de SDS-PAGE, transferidas para nitrocelulose e sondadas com anticorpos policlonais de ovelha contra uromodulina. A banda larga de ~85-90 kDa corresponde ao tamanho previsto da uromodulina. Uromodulina migra mais rapidamente em amostras não-reduzidas do que em amostras reduzidas. (B) A análise qualitativa da migração de uromodulina seguinte a deglicosilação. As amostras de urina de controles normais (1 ml) foram incubadas com (+) ou sem (-) N-glicosidase F (PNGase F), separados em 7,5% PAGE e sondadas com anticorpos policlonais anti-uromodulina. O deslocamento da banda uromodulina para um peso molecular mais baixo confirma a existência de correntes ANS-glicano ligados. (C) A análise quantitativa da excreção de uromodulina na urina. As amostras de urina de um controle normal (C), dois pacientes FJHN com uma mutação sem sentido de UMOD (seta) ou sem mutação detectada UMOD (asterisco), e dois doentes com insuficiência renal relacionado para FJHN (RF) foram sondados com anticorpos policlonais contra uromodulina. A excreção urinária de uromodulina é significativamente menor no paciente FJHN abrigando uma mutação UMOD vs outros pacientes com insuficiência renal. O carregamento foi normalizado por creatinina urinária. (D e E) Imunocoloração por uromodulina no rim humano. No rim normal (D), a uromodulina é distribuída principalmente no TAL, com uma reatividade distinta na membrana apical. O padrão de expressão e coloração para uromodulina é significativamente modificada nos rins com mutações UMOD (E): uma coloração anormal de uromodulina é detectada num subconjunto nos perfis tubulares que são por vezes aumentada ou cística. A coloração para uromodulina é intensa, difusa na porção intracelular e heterogênea dentro das células tubulares. (Fonte: DEVUYST, *et al.*, 2005).

A uromodulina é excretada na urina a uma taxa de ~50 mg/dia, mas esse valor pode ser influenciado por muitos fatores, incluindo o volume de urina, dieta e exercício (KOBAYASHI & FUKUOKA, 2001).

### 2.6.3 – Papel da Uromodulina

Mesmo depois de diversos estudos, a função biológica da uromodulina ainda permanece um mistério. Uma das características mais peculiares de UMOD em solução é a sua tendência para a gelificação/agregação quando a concentração de cloreto de sódio está perto de 100 mmol/L ou cloreto de cálcio é de 1 mmol/L (STEVENSON *et al.*, 1971; WIGGINS, 1987). Ambas as condições geralmente ocorrem em condições normais da urina, e um método baseado nesta propriedade foi criado para purificar a uromodulina, utilizando um filtro de terra diatomácea (SERAFINI-CESSI *et al.*, 1989).

A proteína tende a formar grandes agregados em solução e, por intermédio de seus glicanos foi postulado que a UMOD interage com outras proteínas, como a imunoglobulina G (RHODES *et al.*, 1993). Estudos têm mostrado que UMOD urinária se liga e ativa leucócitos, incluindo neutrófilos polimorfonucleares, linfócitos e monócitos (HORTON *et al.*, 1990).

Além disso, a distribuição de uromodulina no TAL conduziu a sugestões que esta pode desempenhar papel nos processos de transporte de íons e a impermeabilidade à água nesta região (YING & SANDERS, 1998).

Outra linha de pesquisa diz respeito ao papel da uromodulina na defesa contra infecções do trato urinário, em especial as causadas por *Escherichia coli*. A colonização é mediada pela ligação de adesinas presentes em fímbrias de *E. coli* em glicoproteínas e glicolípídeos expostos na superfície da célula. Há evidências de que as cepas do tipo-1 de *E. coli* representam as variantes fenotípicas predominantes isoladas em pacientes com infecções do trato urinário (MARTINEZ *et al.*, 2000) e uroplaquinas Ia e Ib (as glicoproteínas mais abundantes da membrana da superfície luminal em células uroteliais) se comportam como receptores eficientes para o tipo-1 de *E. coli* (WU *et al.*, 1994). Foi mostrado que a uromodulina se liga as fímbrias de *E. coli in vitro* e eficientemente competem com as uroplaquinas Ia e Ib na ligação a esses agentes patogênicos, suportando a noção de que *in vivo*, a uromodulina

urinária representa um agente protetor contra infecções do trato urinário (PAK *et al.*, 2001).

A associação de mutações no gene da uromodulina com um tipo peculiar de nefrite intersticial crônica lançou uma nova luz sobre o papel fisiopatológico desempenhado por esta proteína nos rins. Nefropatia hiperuricêmica familiar juvenil (FJHN) é uma doença autossômica dominante caracterizada por hiperuricemia devido à excreção reduzida de ácido úrico, e o desenvolvimento de nefrite intersticial crônica levando à progressiva insuficiência renal (DAHAN *et al.*, 2001). O fenótipo de FJHN se assemelha à doença renal medular cística autossômica dominante (MCKD2), uma forma rara de nefrite intersticial crônica desenvolvida durante a idade adulta e caracterizada pelo desenvolvimento atrasado e não constante de cistos córtico-medulares. Estudos de mapeamento identificaram um locus para FJHN no cromossomo 16p11.2, muito próxima ao locus MCKD2 anteriormente localizado, o que levantou a hipótese de que as duas doenças se tratariam na verdade, de duas facetas de uma mesma doença. Esta hipótese foi confirmada por Hart *et al.*, em 2002, que foi o primeiro a relatar mutações do gene UMOD, que codifica a uromodulina em FJHN bem como em MCKD2. A associação de causalidade entre as mutações na UMOD em FJHN/MCKD2 foi confirmado por outro grupo (TURNER *et al.*, 2003). Depois disso, estudos estenderam também a participação de mutações da UMOD na variante autossômica dominante da Doença Renal Glomerulocística (GCKD), agrupando provisoriamente, estas doenças pela definição de doenças relacionadas com as mutações da UMOD (RAMPOLDI *et al.*, 2003). Mais de 58 mutações do gene UMOD já foram relatadas na literatura (VYLETAL *et al.*, 2010).

Estas doenças são em sua maioria mutações missense ou pequenas deleções que causam uma alteração dos aminoácidos nos resíduos de cisteína, responsáveis pelas ligações das pontes dissulfeto, que determinam a dobragem correta da proteína. Portanto, assume-se que nas mutações do gene UMOD são produzidas proteínas defeituosas. A uromodulina imatura e defeituosa é retida no retículo endoplasmático e não é liberada pela membrana celular apical. Em biópsias renais podem ser visualizados grandes e densos depósitos intracelulares de uromodulina em células do TAL (DAHAN *et al.*, 2003). Outros estudos *in vitro* utilizando microscopia eletrônica em células epiteliais renais transfectadas com cDNAC UMOD mutante mostrou efetivamente que a uromodulina fica retida intracelularmente (CHOI *et al.*, 2005; VYLETAL *et al.*, 2006). A acumulação de

proteínas deformadas no retículo endoplasmático causa stress, o que aumenta a síntese de foldases para que aja a degradação dessas proteínas. Quando a capacidade da célula para remover estas proteínas está em seu limite, pode-se desencadear apoptose e autofagia das células ou alternativamente, levar a célula à ativação via MAP de quinases e NF- $\kappa$ B. É altamente provável que estas vias, eventualmente, resultam em danos nas células TAL e em insuficiência renal progressiva.

Por fim, estudos (KOTTGEN *et al.*, 2009; GUDBJARTSSON *et al.*, 2010) sugerem ainda a participação da UMOD em Doença Renal Crônica (DRC), mas, ainda não se sabe o que causa esta associação. Outras pesquisas mostram que a dosagem da uromodulina pode funcionar como um biomarcador para o diagnóstico da DRC. Köttgen *et al.*, 2010 encontraram em um estudo de caso-controle de 242 pacientes com DRC, que a alta excreção urinária de uromodulina estava associada com o desenvolvimento de CKD 10 anos mais tarde. Este estudo sugeriu que a alta excreção urinária de uromodulina, pode ser um fator de risco para DRC. Contudo, a ligação patogênica entre a alta excreção de uromodulina e CKD é atualmente desconhecida (LHOTTA, 2010).

Até agora, os baixos níveis de uromodulina têm sido quase sempre considerados uma consequência de danos no TAL e correlacionam com função renal reduzida em várias nefropatias (LYNN & MARSHALL, 1984; THORNLEY *et al.*, 1985; TORFFVIT *et al.*, 1998; CHAKRABORTY *et al.*, 2004).

#### 2.6.4 – A uromodulina no feto

DAIKHA-DAHMANE *et al.*, em 1997, analisaram através de imunohistoquímica seções de rins de 34 fetos com uropatias obstrutivas, que, devido à severidade do diagnóstico havia sido indicada a interrupção da gestação ou onde houve óbito fetal intraútero. Foi encontrado um acúmulo de UMOD não apenas nos túbulos distais, mas também em partes proximais do néfron, sugerindo que em casos de nefropatias obstrutivas, há uma urodinâmica anormal implicada desde cedo, desenvolvendo mudanças renais.

Ademais, um estudo utilizando macacos Rhesus, buscou avaliar o tamanho e o peso dos rins durante o desenvolvimento fetal, além de quantificar o número total de glomérulos e tentar entender o comportamento de algumas proteínas renais

durante a vida fetal. Métodos imuno-histoquímicos foram incluídos para identificar os padrões de expressão de proteínas tubulares, entre elas a uromodulina. A uromodulina foi encontrada na vida fetal, sendo expressa em algumas estruturas tubulares semelhantes em desenvolvimento no final do primeiro trimestre, e somente no ramo ascendente da Alça de Henle a partir do segundo trimestre da gravidez (BATCHELDER *et al.*, 2013).

Diante das características físico-químicas da uromodulina, sua produção e excreção nos rins e de seu possível papel desempenhado em várias doenças do sistema renal, este trabalho se propõe a analisar como se dá a produção de uromodulina pelo feto, e se esta está presente não só na urina como no líquido amniótico. Além disso, a possibilidade da uromodulina ser um novo possível marcador bioquímico de função renal pré-natal, auxiliando e agilizando o diagnóstico fetal, permitindo assim, que as devidas medidas profiláticas sejam tomadas em cada caso.

### 3 – JUSTIFICATIVA

### 3 – JUSTIFICATIVA

As uropatias obstrutivas do trato urinário apresentam importância entre as anomalias congênitas que acometem os fetos durante o período pré-natal, pois, possuem lenta evolução e podem degradar e comprometer a função renal após o nascimento e durante a infância.

Foi inicialmente definido que o grau de acometimento e de severidade da obstrução poderia interferir no prognóstico. Porém, se faz necessário saber em quais fetos se deve interferir a fim de preservar a função renal ou diminuir o dano, evitando a insuficiência renal. Os parâmetros ultrassonográficos quando usados isoladamente, não são suficientes para a avaliação completa da viabilidade dos rins no período fetal. Por isso, a identificação de marcadores de função renal é de extrema importância no tratamento pré-natal.

Morris *et al.*, em 2007, após realizar uma Revisão Sistemática de 23 artigos sobre marcadores bioquímicos encontrados na urina fetal, concluiu que nenhum marcador analisado até o momento possui precisão clinicamente significativa para prever o mau funcionamento dos rins no período pós-natal.

A uromodulina possui papel desconhecido no organismo, mas estudos indicam sua participação em algumas doenças do sistema urinário. O conhecimento do comportamento e produção desta proteína durante a vida fetal pode apresentar futuramente um novo possível biomarcador de função renal fetal e assim, contribuir para o diagnóstico das uropatias obstrutivas.



## 4 – OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi verificar se a proteína uromodulina é produzida e eliminada pelos rins durante a vida fetal.

### 4.1 – OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

1. Identificar a proteína uromodulina em urina de fetos portadores de uropatia obstrutiva.
2. Identificar a presença da proteína uromodulina no líquido amniótico em fetos sem uropatia obstrutiva.
3. Comparar os níveis de uromodulina obtidos da urina fetal com outros parâmetros bioquímicos de função renal: osmolaridade e creatinina.
4. Comparar os níveis de uromodulina obtidos de urina de fetos portadores de uropatia obstrutiva com os níveis obtidos de líquido amniótico de fetos sem uropatia obstrutiva.

## 5 – PACIENTES E MÉTODOS

## 5 – PACIENTES E MÉTODOS

### 5.1 - PACIENTES

Trata-se de um estudo observacional descritivo. No período de março de 2013 a março de 2015, foram selecionadas 29 gestantes cujos fetos estavam em acompanhamento no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG (CEMEFE/HC).

**Grupo 1:** Fetos que apresentavam uropatia obstrutiva baixa, com indicação de coleta de urina fetal para análise bioquímica com a finalidade de indicar algum procedimento terapêutico ou avaliar o prognóstico fetal. Essas pacientes foram convidadas para que, no momento da coleta da urina, permitissem que parte da urina coletada (10ml) fosse destinada para a dosagem de uromodulina.

**Grupo 2:** Fetos que apresentavam suspeita de toxoplasmose, sem malformações detectadas ao ultrassom. Essas pacientes tinham a indicação de realização de amniocentese propedêutica. Foram convidadas para que, no momento do procedimento, permitissem a coleta de parte do líquido amniótico obtido (10ml) para a realização da dosagem de uromodulina.

As pacientes foram informadas sobre o estudo e as que aceitaram participar voluntariamente assinaram o TCLE (Apêndice I). Elas foram acompanhadas até o momento do parto, conforme o protocolo habitual do CEMEFÉ. Os neonatos foram acompanhados na Unidade Neonatal e pela Unidade de Nefrologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da UFMG, para avaliação da função renal pós-natal, de acordo com o protocolo do serviço. Os que evoluíram para o óbito foram analisados através de necropsia, se autorizada pela família.

Das 29 gestantes participantes do estudo, houve a perda de acompanhamento de duas, sendo estas excluídas da análise final, conforme mostra a figura 5.

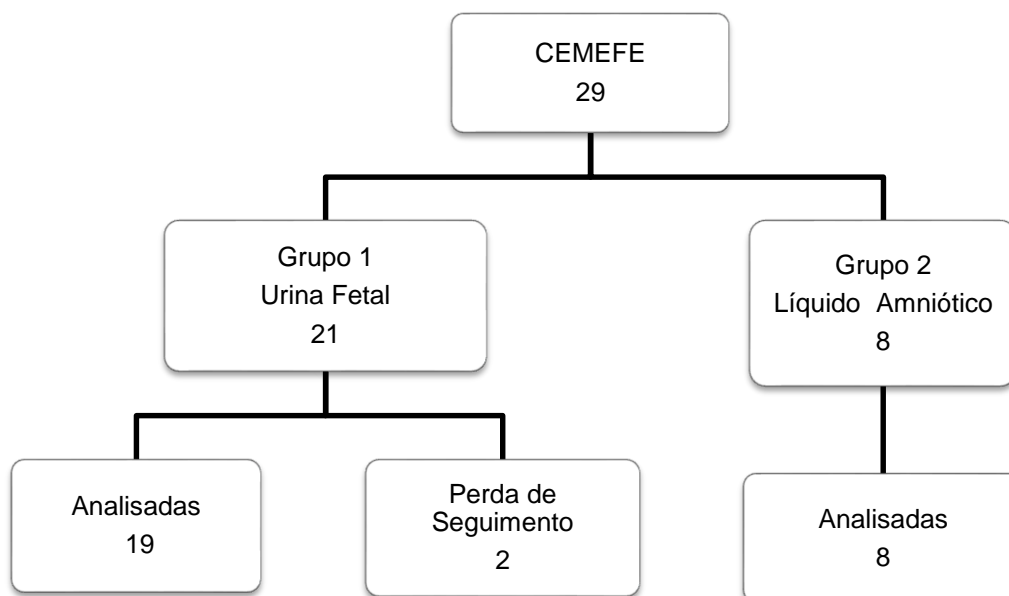


Figura 6: Fluxograma de acompanhamento do estudo

Este estudo foi enviado para aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, e foi aprovado sob o CAAE 35559214.1.0000.5149, conforme o Anexo I.

## 5.2 – CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Gestantes encaminhadas ao CEMEFE/HC para acompanhamento fetal, com a indicação para realização de amniocentese por suspeita de toxoplasmose ou para coleta de urina fetal por suspeita de uropatia obstrutiva baixa.

## 5.3 - CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão do estudo foram:

- Gestações gemelares.
- Gestantes com contraindicação de procedimentos invasivos.
- Fetos polimalformados ao exame ultrassonográfico.
- Pacientes que não aceitaram participar do estudo.
- Pacientes em que houve a perda do acompanhamento pelo CEMEFE.

## 5.4 – METODOLOGIA

As pacientes encaminhadas ao CEMEFE, cujos fetos apresentavam alterações do trato urinário com suspeita de uropatia obstrutiva baixa pela ultrassonografia obstétrica, ou as que apresentavam a suspeita de toxoplasmose pelo exame de sorologia, foram matriculadas no serviço para avaliação e acompanhamento especializados, sendo submetidas à ultrassonografia seriada. Os fetos que se enquadravam nos critérios de gravidades de acordo com o protocolo do serviço de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas foram submetidos à punção vesical fetal para análise bioquímica da urina fetal, ou amniocentese para a análise do líquido amniótico, após a assinatura do TCLE pela paciente.

Os exames, bem como os procedimentos, foram realizados pela equipe de ultrassonografistas do CEMEFE na Maternidade Otto Cirne do HC-UFMG. O intervalo entre os exames era definido por indicações clínico-obstétricas.

As amostras de urina fetal e líquido amniótico obtidas nos procedimentos foram congeladas em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  e posteriormente encaminhadas para a análise no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica da Faculdade de Medicina da UFMG. Os parâmetros bioquímicos analisados foram a avaliação da osmolaridade, a dosagem de uromodulina e a dosagem de creatinina.

Os resultados da concentração de uromodulina foram expressos em nanogramas de uromodulina por ml de urina ou líquido amniótico (ng uromodulina/ml) ou em nanogramas de uromodulina por micrograma de creatinina urinária (ng uromodulina/ $\mu\text{g}$  de creatinina).

Após o nascimento, os neonatos foram encaminhados para o berçário e foi realizado acompanhamento da função renal de acordo com o protocolo da unidade neonatal e o serviço de nefrologia do Hospital das Clínicas - UFMG.

### 5.4.1 - Osmolaridade

Para análise da osmolaridade nas amostras de urina fetal foi utilizado:

- Osmômetro modelo OSMOMAT 030 (AUTOMATIC CRYOSCOPIC OSMOMETER), calibrado com o padrão de 300 mOsmol/Kg, do fabricante Gonatec GmbH.

Foram considerados alteradas as amostras com valores acima de 210 mOsm/l, como já descrito no protocolo habitual do serviço.

#### 5.4.2 - Uromodulina

A uromodulina foi dosada em amostras de urina fetal e líquido amniótico, utilizando-se de:

- Kit ELISA para medição quantitativa de uromodulina humana. Foi utilizado o kit BioVendor RD191163200R Human Uromodulin ELISA, da empresa BioVendor – Research and Diagnostic Products.

O teste baseia-se em:

1. Incubar padrões, controles e amostras em uma placa de microtitulação com 96 poços já pré-revestida com o anticorpo policlonal uromodulina anti-humana.
2. Após incubação de 60 minutos, seguida por lavagem, o anticorpo policlonal uromodulina anti-humana marcado com biotina é adicionado e incubado juntamente à uromodulina ligada por 60 minutos.
3. Após outra lavagem, o conjugado de estreptavidina com HRP é adicionado.
4. Após incubação por 30 minutos e a última lavagem, o conjugado remanescente está apto para reagir com a solução do substrato (TMB).
5. A reação é parada pela adição de solução ácida e a absorbância do produto amarelo resultante é medida. A absorbância é proporcional à concentração de uromodulina.

Uma curva padrão (Figura 7) é construída plotando os valores de absorbância contra os valores de uromodulina nos padrões, e as concentrações das amostras não conhecidas são determinadas usando esta curva padrão. A leitura da absorbância foi feita em leitor de ELISA (MOLECULAR DEVICES, USA).

Através da equação da reta (Figura 7, em amarelo), podemos fazer o cálculo da concentração de uromodulina. O  $R^2$  indica a acurácia da curva.

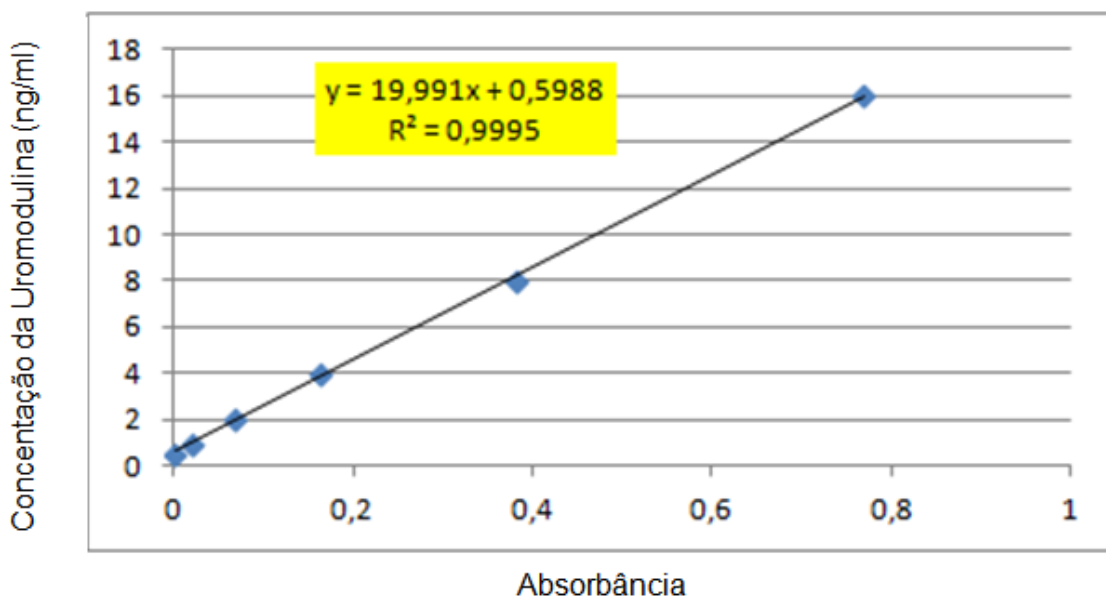


Figura 7: Curva-padrão da absorbância das amostras com concentrações de uromodulina

As instruções completas e o passo a passo do ensaio estão em um guia que vêm em conjunto com o kit.

#### 5.4.3 - Creatinina

Os valores de creatinina, realizados nas amostras de urina fetal, também foram medidos no laboratório de pesquisa, através do método de Jaffe modificado. Utilizou-se:

- Kit comercial da empresa Bioclin.

O método consiste em uma reação colorimétrica entre a creatinina e o ácido pícrico, cujo produto é amarelo-avermelhado. A absorbância do composto padrão e a absorbância das amostras foram lidas em leitor de ELISA (MOLECULAR DEVICES, USA) em comprimento de onda de 510nm, e, posteriormente, os níveis de creatinina foram calculados relacionando os valores encontrados nas amostras com os valores da curva padrão.

#### 5.5 – MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Os dados foram analisados em termos de frequência, média e desvio padrão ou ainda mediana e valores máximos e mínimos, conforme a característica da

variável. Levando em conta que a análise da osmolaridade na urina fetal é o exame realizado habitualmente no CEMEFE para a classificação do prognóstico fetal - em conjunto com os achados ultrassonográficos, volume de líquido amniótico e o aspecto do parênquima renal - os resultados das análises bioquímicas da uromodulina e da creatinina foram comparadas entre dois grupos: fetos que tinham osmolaridade normal e fetos que tinham a osmolaridade alterada. A análise estatística utilizada foi o teste-*t* de médias para comparação de variáveis de distribuição paramétrica e teste de *Mann Whitney* para as variáveis não paramétricas. O Teste de Correlação de Paerson foi utilizado para testar as correlações entre as seguintes variáveis:

- Concentração de uromodulina e osmolaridade.
- Concentração de uromodulina e concentração de creatinina.
- Concentração de uromodulina corrigida pela creatinina e osmolaridade.

Foram considerados os seguintes valores para definir a intensidade da correlação:

- I)  $> 0,70$  positivo ou negativo indicou uma forte correlação.
- II)  $0,30$  a  $0,70$  positivo ou negativo indicou correlação moderada.
- III)  $0$  a  $0,30$  indicou fraca correlação.

Para os testes de hipóteses, o nível de significância  $p < 0,05$  foi considerado significativo. As análises foram realizadas empregando-se o programa estatístico MINITAB versão 14.13 (MINITAB, STATE COLLEGE, PA, USA).



## 6 – RESULTADOS

No período de março de 2013 à março de 2015, 29 gestantes matriculadas no serviço de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas por complicações no pré-natal foram convidadas e aceitaram participar deste estudo. Foram analisadas ao total 27 amostras, sendo, 19 de urina fetal em pacientes com fetos que apresentavam suspeita de uropatia obstrutiva baixa pelo ultrassom, e oito de líquido amniótico, em pacientes que apresentavam suspeita de toxoplasmose pela sorologia. Houve perda de acompanhamento de 2 pacientes.

As tabelas 1 e 2 apresentam a média e mediana da idade gestacional nos grupos estudados.

Grupo 1: Pacientes com suspeita de uropatia obstrutiva (coleta de urina fetal).

Grupo 2: Pacientes com suspeita de toxoplasmose (coleta de líquido amniótico).

**Tabela 1** – Caracterização do grupo 1 em relação a idade gestacional

Característica	n	N	Média ± DP	Mediana	Mínimo-máximo
IG do procedimento (semanas)	19	19	24,1 ± 5,1	24	17-34

n= número de casos com a característica avaliada; N= número de casos que contém informação sobre a característica avaliada; DP: desvio padrão; IG: idade gestacional

**Tabela 2** – Caracterização do grupo 2 em relação a idade gestacional

Característica	n	N	Média ± DP	Mediana	Mínimo-máximo
IG do diagnóstico (semanas)	8	8	26,4 ± 4,2	27	19-34

n= número de casos com a característica avaliada; N= número de casos que contém informação sobre a característica avaliada; IG: idade gestacional.

Já as tabelas 3 e 4, apresentam as dosagens bioquímicas realizadas no grupo 1, e a dosagem da uromodulina no grupo 2.

**Tabela 3** – Resultado das dosagens bioquímicas na urina fetal de fetos do grupo de estudo

Característica	n	N	Média ± DP	Mediana	Mínimo-máximo
Uromodulina (ng/ml)	19	19	...	389	299-2189
Creatinina (µg/ml)	19	19	210 ± 85,4	42,2	1,0-120,6
Osmolaridade	17	19	24,1 ± 5,1	231,0	57-328
ng de UMOD por µg de Creatinina	19	19	...	11,4	4,4-299,4

n= número de casos com a característica avaliada; N= número de casos que contém informação sobre a característica avaliada; DP: desvio padrão.

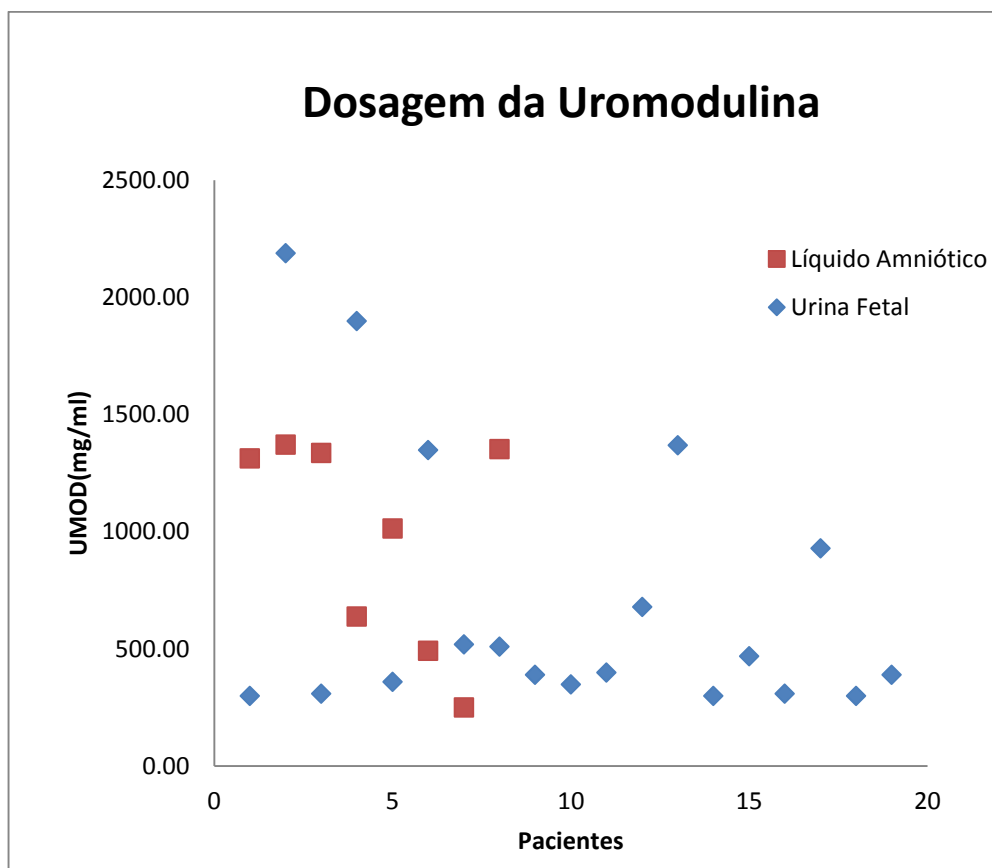
**Tabela 4** – Resultados das dosagens de uromodulina em líquido amniótico de fetos do grupo controle

Característica	n	N	Média ± DP	Mediana	Mínimo-máximo
Uromodulina (ng/ml)	8	8	971,1 ± 450,3	1164	250-1372

n= número de controles com a característica avaliada, N= número de controles que contém informação sobre a característica avaliada

Verifica-se que as medianas das dosagens de uromodulina nas duas tabelas são bem distintas, a mediana do grupo 1 é de 389 ng/ml, enquanto que a mediana do grupo 2 é 1164 ng/ml. Embora as amostras biológicas sejam distintas, isto é, urina fetal e líquido amniótico, é possível notar que as concentrações são diferentes entre fetos com suspeita de uropatia, ou seja, em fetos com possível comprometimento renal e fetos em que não há nenhum dano no sistema renal.

**Gráfico 1:** Dosagem da uromodulina em amostras de urina fetal e líquido amniótico nas pacientes do CEMEFE



A osmolaridade foi considerada alterada em 47,4% dos casos (Tabela 5). A mediana da dosagem de uromodulina foi mais baixa neste grupo do que no grupo com osmolaridade normal ( $p=0,002$ ), como mostra o gráfico 1. Não foram significativas as diferenças encontradas entre a idade gestacional, dosagem de creatinina urinária e dosagem de uromodulina corrigida por creatinina entre os grupos (Tabela 5).

**Tabela 5** – Características dos casos de acordo com os resultados da osmolaridade

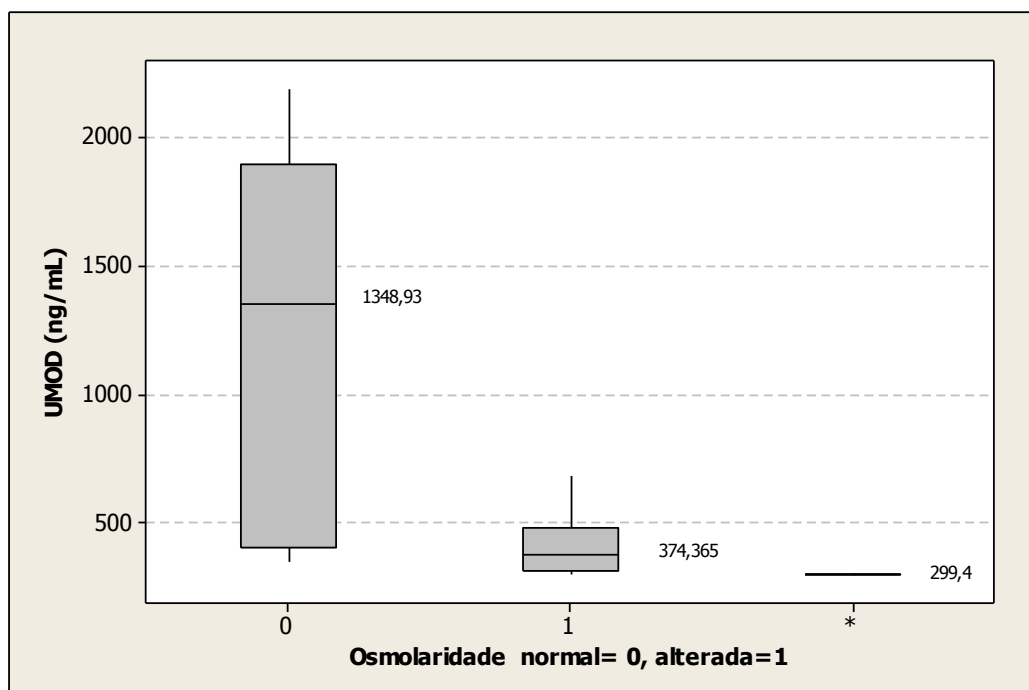
Características	N	Osmolaridade		Osmolaridade		P
		normal n= 10	%	alterada n= 9	%	
IG (semanas)	19	27 ± 4,8	52,6	22 ± 5,2	47,4	0,2*
Creatinina (µg/ml)	19	75,5 ± 27,7	...	33,6 ± 9,5	...	0,06 *
Uromodulina (ng/ml) <sup>a</sup>	19	1348,9	...	374,4	...	0,02**
ng de UMOD por µg de Creatinina <sup>a</sup>	19	16,7	...	11,4	...	0,5**

N= número de casos que contém a informação sobre a característica avaliada; IG: idade gestacional;

\*Teste t de médias;

\*\*Teste U de Mann-Whitney;

<sup>a</sup> Mediana;



**Gráfico 2:** Comparação entre as dosagens de uromodulina nos fetos com osmolaridade normal comparados e osmolaridade alterada.

Foram testadas as correlações entre a concentração de uromodulina na urina fetal e a osmolaridade. O coeficiente de Correlação de Pearson encontrado foi de  $r = -0,675$ , com valor  $p = 0,004$ , ou seja, a correlação é inversa, de intensidade moderada e estatisticamente significativa. Analisando a correlação entre a concentração de uromodulina e a concentração de creatinina, o coeficiente de Correlação de Pearson encontrado foi  $r = 0,479$ , com valor  $p = 0,054$ , ou seja, a correlação é direta, de intensidade moderada e não foi estatisticamente significativa. Já para a correlação entre a concentração de uromodulina corrigida pela creatinina e a de osmolaridade, o coeficiente de Correlação de Pearson encontrado, foi  $r = 0,097$ , com valor  $p = 0,71$ , ou seja, não foi estatisticamente significativa.



## 7 – DISCUSSÃO

As anomalias congênitas do sistema urinário constituem um grupo vasto de agressões em diferentes órgãos, níveis, graus, épocas de aparecimento e natureza de lesão. Entre elas, as uropatias obstrutivas se destacam pela grande incidência e mau prognóstico em algumas situações. Muitas vezes, as lesões obstrutivas podem ser graves o suficiente para comprometer o sistema urinário e fazer com que os rins se desenvolvam incorretamente, havendo comprometimento funcional. O diagnóstico precoce dos achados que indicam obstrução renal é de extrema importância para se definir o prognóstico fetal e buscar o manejo e acompanhamento correto da gestação em cada caso. A associação dos achados ultrassonográficos, de hidronefrose em diversos graus, volume do líquido amniótico, aspecto do parênquima renal e análise de dosagens bioquímicas contribuem para o diagnóstico de viabilidade fetal. Quanto mais baixa a obstrução, pior é o prognóstico fetal. Por isso, as uropatias obstrutivas baixas possuem acompanhamento mais reservado quando não há a realização de nenhuma intervenção fetal. Comumente, fetos com obstrução renal grave e níveis diminuídos de líquido amniótico apresentam quadro grave de insuficiência respiratória ao nascimento, em decorrência da hipoplasia pulmonar, já que é sabido que o líquido amniótico desempenha papel no desenvolvimento pulmonar.

Sabe-se que a uromodulina é a proteína excretada em maior quantidade nos rins em condições normais. Apesar do papel da uromodulina ainda ser desconhecido, diversos estudos desde a década de 50 - quando foi descoberta - apresentam possíveis funções desta proteína. A literatura propõe que a uromodulina possui atividade imunossupressora, interage com outras proteínas, participa do equilíbrio eletrolítico dos rins e ainda fornece proteção contra infecções do trato urinário. Ainda, descobertas de mutações no gene que codifica a uromodulina em associação com várias desordens genéticas lançou a questão sobre o possível papel desempenhado pela uromodulina em doenças renais. Estudos ainda apontam uma possível ligação entre as dosagens de uromodulina e a doença renal crônica, apontando que sua dosagem poderia ser eficaz na predição da DRC. Postula-se que em doenças com comprometimento renal, há a produção e confecção de UMOD defeituosa, devido a uma alteração dos aminoácidos nos resíduos de cisteína, responsáveis pelas ligações das pontes dissulfeto, que determinam a dobragem

correta da proteína. Portanto, a uromodulina imatura e defeituosa é retida no retículo endoplasmático e não é liberada pela célula.

Até agora, os baixos níveis de uromodulina em vários estudos têm sido quase sempre considerados uma consequência de danos nas células do TAL e se correlacionam com função renal reduzida.

Em nosso estudo, realizamos a dosagem da uromodulina em urina de fetos com comprometimento renal e de líquido amniótico em fetos com suspeita de toxoplasmose, sem nenhum comprometimento renal, para avaliar o comportamento desta proteína durante a vida fetal.

As pacientes que participaram do estudo eram acompanhadas no CEMEFE/HC e tinham a indicação de algum procedimento invasivo para avaliação do prognóstico fetal. Algumas dessas pacientes eram oriundas de diversas cidades distantes do estado de Minas Gerais, o que foi um fator limitador para o adequado seguimento. Por isso, das gestantes acompanhadas por mal-formação renal, 19 pacientes, houve perda de acompanhamento em 2 casos (10,5%). A escolha do material analisado se deu diante da limitação ética de se colher amostras de urina fetal sem indicação obstétrica (nos casos de fetos sem comprometimento renal), e das limitações para se colher líquido amniótico em fetos com comprometimento renal, devido ao oligohidrânio acentuado. Assim, optamos por observar o comportamento da uromodulina em urina fetal nos fetos com diagnóstico de mal-formação renal obstrutiva e líquido amniótico em fetos com sistema renal normal. A análise de marcadores bioquímicos contidas na urina ou mesmo no líquido amniótico pode ser utilizada para avaliar a função renal fetal.

Na urina fetal, as dosagens de uromodulina e creatitina foram correlacionadas com as de osmolaridade. As dosagens de uromodulina mostraram correlação com a osmolaridade (exame padrão do serviço), com valor  $p= 0,004$ . Os fetos do grupo com osmolaridade normal apresentaram concentrações maiores de uromodulina em suas dosagens quando comparados com os fetos do grupo em que a osmolaridade estava alterada.

Nas análises feitas no líquido amniótico, nota-se que a mediana das dosagens de uromodulina foi de 1164 ng/ml, enquanto que a mediana na dosagem de uromodulina na urina fetal foi de 389 ng/ml. Porém, decidimos por não comparar as dosagens estatisticamente por se tratarem de amostras de fluidos distintos.

Os resultados obtidos neste estudo mostram que, possivelmente, a uromodulina pode apresentar valores reduzidos em fetos com severo comprometimento renal no período pré-natal. Isto pode acontecer devido ao acúmulo dessa proteína nas células renais. As células renais, que, graças ao comprometimento dos rins provenientes da má formação obstrutiva, não desempenham adequadamente suas funções e produzem proteínas defeituosas, que não serão liberadas pela membrana celular e estarão em menor volume na urina.

Assim, a uromodulina futuramente pode se apresentar como um possível biomarcador químico das uropatias obstrutivas em fetos, contribuindo para o diagnóstico precoce e melhor manejo em cada caso. Sua dosagem é possível não só na urina fetal, como em amostras de líquido amniótico.

Contudo, outros estudos com metodologia diferente e casuística maior - em que as dosagens da uromodulina possam ser obtidas em um mesmo fluido - devem ser realizados para se comparar o grupo com função renal preservada e o grupo com uropatias obstrutivas, e, assim, observar o comportamento da uromodulina.

## 8 – CONCLUSÕES

## 8 – CONCLUSÕES

1. A dosagem da uromodulina se mostrou possível e quantificável em amostras de urina fetal e em líquido amniótico, obtida através de um teste ELISA para uromodulina humana. Todas as amostras submetidas ao teste foram lidas e dosadas quantitativamente através do cálculo de absorbância da uromodulina.
2. Os níveis de uromodulina apresentaram correlação moderada com a dosagem da osmolaridade, e tal correlação se mostrou estatisticamente significativa. Já os níveis de uromodulina apresentaram correlação moderada em relação aos níveis de creatinina obtidos de urina fetal de fetos portadores de uropatia, porém, tal correlação não foi estatisticamente significativa.
3. Além disso, a uromodulina mostrou uma tendência em apresentar valores reduzidos em fetos com mal formações renais diagnosticadas no período pré-natal. Assim, valores elevados de uromodulina nas dosagens de urina fetal ou líquido amniótico podem significar uma função renal preservada.

## 9 – REFERÊNCIAS

## 9 - REFERÊNCIAS

1. Backman L, Ringden O, Bjorkhem I *et al.* Increased serum  $\beta$ 2-M during rejection ciclosporin-induced nephrotoxicity na cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. *Transplantation* 1986; 42:368-71.
2. Badgett A, Kumar S. Phylogeny of Tamm-Horsfall protein. *Urol Int* 61:72-75, 1998.
3. Batchelder CA, Keyser JL, Lee CCI, Taranta AF. Characterization of Growth, Glomerular Number, and Tubular Proteins in the Developing Rhesus Monkey Kidney. *The Anatomical Record* 296:1747–1757 (2013).
4. Bayer ME. An electron microscope examination of urinary mucoprotein and its interaction with influenza virus. *J Cell Biol* 21:265-274, 1964.
5. Beck AD. The effect of intra-uterine urinary obstruction upon the development of the fetal kidney. *J Urol.* 1971;105:784-9.
6. Boim MA, Ho K, Schuck ME, Bienkowski MJ, Block JH, Slightom JL, Yang Y, Brenner BM, Hebert SC. The ROMK inwardly rectifying ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel: II. Cloning and intra-renal distribution of alternatively spliced forms. *American Journal of Physiology.* 1995; 268(6 Pt 2): F1132-1140.
7. Bouzada MCF, Oliveira EA, Pereira AK, *et al.* Diagnostic accuracy of fetal renal pelvis anteroposterior diameter as a predictor of uropathy: a prospective study. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.* 2004;24(7):745–749.
8. Brace RA. Current topic: progress toward understanding the regulation of amniotic fluid volume: water and solutes fluxes ind the through the fetal menbranes. 16, 1-18, 1995.
9. Brown D, Waneck GL. Glycosyl-phosphatidylinositol-anchored membrane proteins. *J Am Soc Nephrol*, v. 3, p. 895-906, 1992.
10. Cabral ACV. *Medicina Fetal. O feto como paciente.* Editora Coopmed, 2005.
11. Callen PW. *Ultrasonography in Obstetrics and Ginecology.* Third edition, 1994.
12. Carrera JM. *Diagnóstico pré-natal.* Barcelona: Salvat;1987. p.3-9.
13. Callen PW *et al.* *Ultrassonografia em Ginecologia e Obstetrícia,* 5 edição, 2008.

14. Chakraborty J, Below AA, Solaiman D: Tamm-Horsfall protein in patients with kidney damage and diabetes. *Urol Res* 2004; 32: 79–83.
15. Chamberlain PF *et al.* Ultrasound evaluation of amniotic fluid volume. I. The relationship of marginal and decreased amniotic fluid volumes to perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol*, v. 150, n. 3, p. 245-9, Oct 1 1984.
16. Choi SW, Ryu OH, Choi SJ, Song IS, Bleyer AJ, Hart TC: Mutant Tamm-Horsfall glycoprotein accumulation in endoplasmic reticulum induces apoptosis reversed by colchicine and sodium 4-phenylbutyrate. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3006-3014.
17. Cohen HL *et al.* Congenital abnormalities of the genitourinary system. *Semin Roentgenol*, v. 39, n. 2, p. 282-303, Apr 2004.
18. Daffos F, Forestier F. *Médecine et biologie du fœtus humain*. Molaine Paris, 1988.
19. Dahan K, Devuyst O, Smaers M, Vertommen D, Loute G, Poux JM, Viron B, Jacquot C, Gagnadoux MF, Chauveau D, Buchler M, Cochat P, Cosyns JP, Mougnot B, Rider MH, Antignac C, Verellen-Dumoulin C, Pirson Y: A cluster of mutations in the UMOD gene causes familial juvenile hyperuricemic nephropathy with abnormal expression of uromodulin. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2883–2893.
20. Dahan K, Fuchshuber A, Adamis S *et al.* Familial juvenile hyperuricemic nephropathy and autosomal dominant medullary cystic kidney disease type 2: two facets of the same disease? *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2348–2357.
21. Daikha-Dahrame F, Dommergues M, Muller F, Narcy F, Lacoste M, Beziau A, Dumez Y, Gubler MC. Development of human fetal kidney in obstructive uropathy: Correlations with ultrasonography and urine biochemistry. *Kidney International*, Vol. 52 (1997), pp 21-32.
22. Devuyst O, Dahan K, Pirson Y. Tamm–Horsfall protein or uromodulin: new ideas about an old molecule. *Nephrol Dial Transplant* (2005) 20: 1290–1294.
23. Diniz JSS. Insuficiência renal crônica na criança: relato de uma experiência no HC/UFMG. *Rev Med Minas Gerais* 1993; 3:127-33.
24. Dulawa J *et al.* Tamm-Horsfall glycoprotein interferes with bacterial adherence to human kidney cells. *Eur J Clin Invest*, v. 18, p. 87-92, 1988.

25. Dudley JA *et al.* Clinical relevance and implications of antenatal hydronephrosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, London, Ed v.76, n.1: p.F31-4, 1997.
26. Duval, JM *et al.* Ultrasonographic anatomy and physiology of the fetal kidney. *Anat Clin*, v. 7, n. 2, p. 107-23, 1985.
27. Ekblom P. Embryology and Prenatal development. In: Holliday MA, Barratt TM, Avner ED. *Pediatric Nephrology*. Third edition, 1994;2.
28. Fernbach SK, Maizels M, Conway JJ. Ultrasound grading of hydronephrosis: introduction to the system used by the Society for Fetal Urology. *Pediatr Radiol*, v. 23, n. 6, p. 478-80, 1993.
29. Fletcher AP, Neuberger A, Ratcliffe WA. Tamm-Horsfall urinary glycoprotein: The chemical composition. *Biochem J*, v. 120, p. 417-424, 1970.
30. Garcia C, Pestana JM, Martins S, Nogueira P, Barros V, Rohde R, Camargo M, Feltran L, Esmeraldo R, Carvalho R, Schvartsman B, Vaisbich M, Watanabe A, Cunha M, Meneses R, Prates L, Belangero V, Palma L, Carvalho D, Matuk T, Benini V, Laranjo S, Abbud-Filho M, Charpiot IM, Ramalho HJ, Lima E, Penido J, Andrade C, Gesteira M, Tavares M, Penido M, De Souza V, Wagner M. Collaborative Brazilian Pediatric Renal Transplant Registry (CoBrazPed-RTx): A Report From 2004 to 2013. *Transplant Proc*. 2015 May;47(4):950-3. doi: 0.1016/j.transproceed.2015.03.020.
31. Grannum PA, Copel JA. Invasive fetal procedures. *Radiol Clin North Am*, Washington, v.28: p.217-26, 1990.
32. Grupe WE. The dilemma of intrauterine diagnosis of congenital renal disease. *Pediatr Clin North Am*, 1987. 34,629-638.
33. Gudbjartsson DF, Holm H, Indridason OS, *et al.* Association of variants at UMOD with chronic kidney disease and kidney stones – role of age and comorbid diseases. *PLoS Genet*. 2010;6(7):e1001039.
34. Guignard JP. Le rein immature. *Médecine/Sciences*. 1993;9:289-96.

35. Harrison MR, Filly RA. The fetus with obstructive uropathy: Pathophysiologic, natural history, selection and treatment. *Fetal Diseases and Management*. 1988 31:328-393.
36. Hart TC, Gorry MC, Hart PS *et al*. Mutations of the UMOD gene are responsible for medullary cystic kidney disease 2 and familial juvenile hyperuricaemic nephropathy. *J Med Genet* 2002; 39: 882–892.
37. Holmes N, Harrison MR, Baskin LS. Fetal surgery for posterior urethral valves: long-term postnatal outcomes. *Pediatrics*, v. 108, n. 1, p. E7, Jul 2001.
38. Homsl YL. *et al*. Wilms tumor and multicystic dysplastic kidney disease. *J Urol*, New York, v.158: p.2259-60, 1997.
39. Horton JK, Davies M, Topley N, Thomas D, Williams JD. Activation of the inflammatory response of neutrophils by Tamm-Horsfall glycoprotein. *Kidney Int* 37:717-726, 1990.
40. Hoyer JR *et al*. Ontogeny of Tamm-Horsfall urinary glycoprotein. *Lab Invest*, v. 30, p. 757-761, 1974.
41. Ismaili, K. *et al*. Results of systematic screening for minor degrees of fetal renal pelvis dilatation in an unselected population. *Am J Obstet Gynecol*, Saint Louis, v.188, n.1: p.242-6, 2003.
42. Ismaili K. *et al*. Primary vesicoureteral reflux detected in neonates with a history of fetal renal pelvis dilatation: a prospective clinical and imaging study. *J Pediatr*, Springfield, v.148: p.222-7, 2006.
43. Jaswon MS *et al*. Prospective study of outcome in antenatally diagnosed renal pelvis dilatation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, London, v.80, n.2: p.F135-8, 1999
44. Karl Lhotta. Uromodulin and Chronic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Res* 2010;33:393–398 DOI: 10.1159/000320681.
45. Kottgen A, Glazer NL, Dehghan A *et al*., Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat Genet*. 2009; 41(6):712-717.
46. Köttgen A, Hwang SJ, Larson MG, Van Eyk JE, Fu Q, Benjamin EJ, Dehghan A, Glazer NL, Kao WH, Harris TB, Gudnason V, Shlipak MG, Yang Q, Coresh J, Levy D, Fox CS: Uromodulin levels associate with a common UMOD variant and risk for incident CKD. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 337–344.

47. Kobayashi K, Fukuoka S. Conditions for solubilization of Tamm–Horsfall protein/uromodulin in human urine and establishment of a sensitive and accurate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. *Arch Biochem Biophys* 2001; 388: 113–120.
48. Kullendorff CM, Larsson LT, Jorgenson C. The advantage of antenatal diagnosis of intestinal and urinary tract malformations. *Br J Obstet Gynecol.* 1984;91:144-7.
49. Lebowitz RL. *et al.* International system of radiographic grading of vesicoureteric reflux. *Int Reflux Stu Child Pediatr Radiol*, [s.l.], v.15: p.105-9, 1985.
50. Lee RS *et al.* Antenatal hydronephrosis as a predictor of postnatal outcome: a meta-analysis. *Pediatrics*, v. 118, n. 2, p. 586-93, Aug 2006.
51. Leeson CR, Leeson TS, Paparo AA. *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1988.
52. Liu Y, Gong GL. Clinical observation of amniotic fluid creatinine as an index of fetal maturity. *Chin Med J (Engl)*, v. 95, n. 9, p. 697-702, Sep 1982.
53. Lynn KL, Marshall RD. Excretion of Tamm-Horsfall glycoprotein in renal disease. *Clin Nephrol* 1984; 22: 253–257.
54. Mahony BS *et al.* Fetal renal dysplasia: sonographic evaluation. *Radiology*, v. 152, n. 1, p. 143-6, Jul 1984.
55. Malagolini N, Cavallone D, Serafini-Cessi F. Intracellular transport, cell-surface exposure and release of recombinant Tamm-Horsfall glycoprotein. *Kidney Int*, v. 52, p. 1340-1350, 1997.
56. Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, Pinkner JS, Hultgren SJ. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. *EMBO J* 19:2803-2812, 2000.
57. Moore KL. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology* 1982, WB Saunders, Philadelphia.
58. Moore KL. Urogenital system. In: *The developing huma. Clinically oriented embryology*. Philadelphia: WB Sauders Company, 1988.
59. Morin L *et al.* Minimal hydronephrosis in the fetus: clinical significance and implications for management. *J Urol*, v. 155, n. 6, p. 2047-9, Jun 1996.

60. Morris, R.K.; Quinlan-Jones, E; Kilby and Khen, S. Systematic review of accuracy of fetal urine analysis to predict poor postnatal renal function in cases of congenital urinary tract obstruction. *Prenat Diagn* 2007; **27**: 900–911.
61. Muchmore AV, Decker JM. Uromodulin: A unique 85-kd immunosuppressive glycoprotein isolated from urine of pregnant women. *Science*, v. 229, p. 479-481, 1985.
62. Muchmore AV, Shifrin S, Decker JM. In vitro evidence that carbohydrate moieties derived from uromodulin, na 85,000 dalton immunosuppressive glycoprotein isolated from pregnancy urine, are immunosuppressive in the absence of intact protein. *J Immunol*, v. 138, p. 2547-2553, 1987.
63. Muller F *et al.* Development of human renal function: reference intervals for 10 biochemical markers in fetal urine. *Clin Chem*, v. 42, n. 11, p. 1855-60, Nov 1996.
64. Mussap M, Fanos V, Piccoli A *et al.* Low molecular mass proteins and urinary enzymes in Amniotic Fluid of healthy pregnant women at progressive stages of gestation. *Clin Biochem* 1995;29:51-56.
65. Nicolaidis KH *et al.* Fetal urine biochemistry in the assessment of obstructive uropathy. *Am J Obstet Gynecol*, v. 166, n. 3, p. 932-7, Mar 1992.
66. Nicolini U *et al.* Fetal urine biochemistry: an index of renal maturation and dysfunction. *Br J Obstet Gynaecol*, v. 99, n. 1, p. 46-50, Jan 1992.
67. Oliveira EA. Estudo prospectivo das anomalias do trato urinário diagnosticadas no feto pelo ultrassom [dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 1992.
68. Oliveira, EA *et al.* Prognostic factors in fetal hydronephrosis: a multivariate analysis. *Pediatr Nephrol*, Nova Scotia, v.13: p.859-64, 1999.
69. Oliveira FRD. Líquido amniótico: Perfil Bioquímico do desenvolvimento Renal Fetal [dissertação]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2001.
70. Oliveira EA. *et al.* Primary megaureter detected by prenatal ultrasonography. Conservative management and prolonged follow-up. *Int Urol Nephrol*, [s.l.], v. 32: p.13-8, 2000b

71. Oliveira FR, Barros EG, Magalhães JA. Biochemical profile of amniotic fluid for the assessment of fetal and renal development. *Braz J Med Biol Res* 35(2) 2002.
72. Pak J, Pu Y, Zhang ZT, Hasty DL, Wu XR. Tamm- Horsfall protein binds to type 1 fimbriated *Escherichia coli* and prevents *E coli* from binding to uroplakin Ia and Ib receptors. *J Biol Chem* 276:9924-9930, 2001.
73. Pennica D *et al.* Identification of human uromodulin as the Tamm-Horsfall urinary glycoprotein. *Science*, v. 236, p. 83-88, 1987.
74. Pereira AK. Uropatias fetais: avaliação dos critérios de diagnóstico morfológico e funcional. 1999. Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte.
75. Pereira AK, Oliveira EA, Leite HV, Cabral AC. Correlação entre o diagnóstico morfológico pré e pós-natal das Nefrouropatias fetais. *RBGO-v.22, n6:365-371, 2000.*
76. Pereira AK *et al.* Derivação vésico-amniótica no tratamento intra-uterino das uropatias obstrutivas: revisão e análise crítica da experiência de um Centro de Medicina Fetal. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 27, 2005.
77. Phelan JP, Ahn MO, Smith CV *et al.* Amniotic fluid index measurements during pregnancy. *J Reprod Med.* 1987;32(8):601-4.
78. Pitkin RM, Zwirek SJ. Amniotic fluide creatinine. *Am J Obst Gynec* 1967;98:1135-8.
79. Pook MA, Jeremiah S, Scheinman SJ, Povey S, Thakker RV. Localization of the Tamm-Horsfall glycoprotein (uromodulin) gene to chromosome 16p12.3-16p13.11. *Ann Hum Genet* 57:285-290, 1993.
80. Potter EL. Bilateral absence of ureter and kidneys. *Obstet Gynecol.* 1965; 25:3-12.
81. Quintero RA. Advances in diagnostic and treatment technology. In: Ehrlich RM, Ffredman A, eds. *Advances in fetal therapy for obstructive uropathy.* *Dialog Pediatr Urol.* 1996;19:4-5.
82. Rampoldi L, Caridi G, Santon D *et al.* Allelism of MCKD, FJHN and GCKD caused by impairment of uromodulin export dynamics. *Hum Mol Genet* 12:3369-3384, 2003.

83. Rhodes DCJ, Hinsman EJ, Rodhes JA. Tamm- Horsfall glycoprotein binds IgG with high affinity. *Kidney Int* 44:1014-1021, 1993.
84. Rindler MJ, Naik SS, Li N, Hoops TC, Peraldi MN. Uromodulin (Tamm-Horsfall glycoprotein/uromuroid) is a phosphatidylinositol-linked membrane protein. *J Biol Chem* 265:20784-20789, 1990.
85. Rumack CM. *Tratado de Ultra-sonografia Diagnostica*, 2v. ELSEVIER (MEDICINA), 2006. ISBN 9788535217117.
86. Saito M, Cabral AC, Isfer EV. Sistema Urogenital. In: (Ed.). *Diagnóstico pré-natal e Contuda*. 1. São Paulo: Revinter, 1996. p.166 218.
87. Santos LC. *Medicina Fetal*. Rio de Janeiro: MEDBOOK, 2008. 568 ISBN 9788599977194.
88. Saudan PJ, Farrel TJ, Brown MA. B2-microglobulin in hypertensive pregnancies. *Am J Kidney Dis* 1998, 31(2):308-312.
89. Serafini-Cessi F, Bellabarba G, Malagolini N, Dall'Olio F. Rapid isolation of Tamm-Horsfall glycoprotein (uromodulin) from human urine. *J Immunol Methods* 120: 185-189, 1989.
90. Serafini-Cessi F, Malagolini N, Cavallone D. Tamm-Horsfall Glycoprotein: Biology and Clinical Relevance. *American Journal of Kidney Diseases*, Vol 42, No 4 (October), 2003: pp 658-676.
91. Siemens DR *et al.* Antenatal hydronephrosis: thresholds of renal pelvic diameter to predict insignificant postnatal pelviectasis. *Tech Urol*, v. 4, n. 4, p. 198-201, Dec 1998.
92. Smith GH. *et al.* The long-term outcome of posterior urethral valves treated with primary valve ablation and observation. *J Urol*, New York, v.155: p.1730-4, 1996.
93. Stevenson FK, Cleave AJ, Kent PW. The effect of ions on the viscometric and ultracentrifugal behaviour of Tamm-Horsfall glycoprotein. *Biochim Biophys Acta* 236:59- 66, 1971.
94. Soares, CMB, Diniz, JSS, Lima, EM, Vasconcelos MM, Oliveira GR, Canhesto MR, Moraes AA, Oliveira EA. Curso clínico da insuficiência renal crônica em crianças e adolescentes admitidos no programa interdisciplinar do HC-UFGM. *J Bras Nefrol* 2003; 25(3):117-25.
95. Sociedade Brasileira de Nefrologia – SBN, censo 2007. São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.sbn.org.br>>.

96. Tamm I, Horsfall FL. Characterization and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1950; 74: 108–114.
97. Thomas DB *et al.* Tamm-Horsfall protein binds to a single class of carbohydrate specific receptors on human neutrophils. *Kidney Int*, v. 44, p. 423-429, 1993.
98. Thomas DF, Gordon AC. Management of prenatally diagnosed uropathies. *Arch Dis Child* 1989; 64:58-63.
99. Thornley C, Dawnay A, Cattell WR. Human Tamm-Horsfall glycoprotein: urinary and plasma levels in normal subjects and patients with renal disease determined by a fully validated radioimmunoassay. *Clin Sci (Lond)* 1985; 68: 529–535.
100. Torffvit O, Jorgensen PE, Kamper AL, Holstein-Rathlou NH, Leyssac PP, Poulsen SS, Strandgaard S: Urinary excretion of TammHorsfall protein and epidermal growth factor in chronic nephropathy. *Nephron* 1998; 7 9: 1 67–172.
101. Trinká P *et al.* Congenital urinary tract obstruction: defining markers of developmental kidney injury. *Pediatr Res*, v. 72, n. 5, p. 446-54, Nov 2012.
102. Toiviainen-Salo S *et al.* Fetal Hydronephrosis: is there hope for consensus? *Pediatr Radiol*, New York, v.34: p.519-29, 2004.
103. Turner JJ, Stacey JM, Harding B *et al.* Uromodulin mutations cause familial juvenile hyperuricemic nephropathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1398–1401.
104. Vyletal P, Bleyer AJ, Knoch S. Uromodulin Biology and Pathophysiology – An Update. *Review Kidney Blood Press Res* 2010;33:456–475 DOI: 10.1159/000321013.
105. Vyletal P, Kublova M, Kalbacova M, Hodanova K, Baresova V, Stiburkova B, Sikora J, Hulkova H, Zivny J, Majewski J, Simmonds A, Fryns JP, Venkat-Raman G, Elleder M, Knoch S: Alterations of uromodulin biology: a common denominator of the genetically heterogeneous FJHN/MCKD syndrome. *Kidney Int* 2006; 7 0: 1 155–1169.
106. Wiggins RC. Uromucoid (Tamm-Horsfall glycoprotein) forms different polymeric arrangements on a filter surface under different physicochemical conditions. *Clin Chim Acta* 162:329-340, 1987.


107. Willians K, Wittman BK, Dansereau J. Correlation of subjective assessment of amniotic fluid with amniotic fluid index. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1992;46(1):1-5.
108. Woodward M, Frank D. Postnatal management of antenatal hydronephrosis. *BJU Int, New York*, v.89, n.2: p.149-56, 2002.
109. Wu XR, Lin JH, Walz T *et al.* Mammalian uroplakins: A group of highly conserved urothelial differentiation- related membrane proteins. *J Biol Chem* 269:13716- 13724, 1994.
110. Ying WZ, Sanders PW. Dietary salt regulates expression of Tamm-Horsfall glycoprotein in rats. *Kidney Int*, v. 54, p. 1150-1156, 1998.
111. Yu H, Papa F, Sukhatme VP. Bovine and rodent Tamm-Horsfall protein (THP) genes: Cloning, structural analysis, and promoter identification. *Gene Expr* 4:63-75, 1994.
112. ZORZO JCC. O processo de morte e morrer da criança e do adolescente: vivências dos profissionais de enfermagem. 2004, 126p. Dissertação [Mestrado]- Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.
113. Zugaib M, Liao AW, Brizot ML, Carvalho MHB, Bunduki V. *Medicina Fetal*. Editora Atheneu, 3° Ed, 2012.

## 10 – ANEXOS E APÊNDICES

## 1 – ANEXOS E APÊNDICES

### ANEXO I

### CARTA DE APROVAÇÃO DO COEP



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 35559214.1.0000.5149

Interessado(a): Prof<sup>a</sup>. Alamanda Kfoury Pereira  
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia  
Faculdade de Medicina - UFMG

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 19 de novembro de 2015, o projeto de pesquisa intitulado “**Comportamento da proteína uromodulina na vida fetal e sua correlação com a função renal**” bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Por se tratar de área temática especial, o projeto foi aprovado pela CONEP em 13 de setembro de 2015.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Telma Campos Medeiros Lorentz  
Coordenadora do COEP-UFMG

Av. Pádua Castanho Carlos, 4627 - Unidade Administrativa II - 2ª andar - Sala 2003 - Cep: 31270-901 - 010-340  
Telefone: (031) 3499-4592 - [comet@comet.ufmg.br](mailto:comet@comet.ufmg.br)

ANEXO II

ATA DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA  
THAIS EMANUELLE FARIA BOTELHO

Realizou-se, no dia 30 de junho de 2015, às 11:00 horas, Faculdade de Medicina, sala 062, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *COMPORTAMENTO DA PROTEÍNA UROMODULINA E SUA CORRELAÇÃO COM OUTROS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE FUNÇÃO RENAL FETAL*, apresentada por THAIS EMANUELLE FARIA BOTELHO, número de registro 2013659665, graduada no curso de CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Alamanda Kfoury Pereira - Orientador (UFMG), Prof(a). Patricia Goncalves Teixeira (UFMG), Prof(a). Ana Cristina Simões e Silva (UFMG), Prof(a). Eura Martins Lage (UFMG).

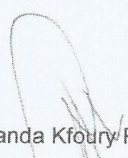
A Comissão considerou a dissertação:


Aprovada

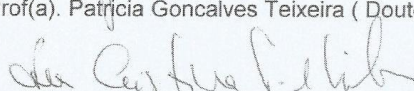
Reprovada


Finalizados os trabalhos, foi lavrada a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 30 de junho de 2015.

  
Prof(a). Alamanda Kfoury Pereira ( Doutora )

  
Prof(a). Patricia Goncalves Teixeira ( Doutora )

  
Prof(a). Ana Cristina Simões e Silva ( Doutora )

  
Prof(a). Eura Martins Lage ( Doutora )

ANEXO III

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

**COMPORTAMENTO DA PROTEÍNA UROMODULINA E SUA  
CORRELAÇÃO COM OUTROS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE  
FUNÇÃO RENAL FETAL**

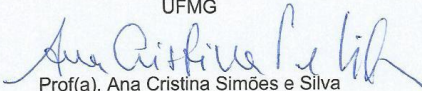
**THAIS EMANUELLE FARIA BOTELHO**

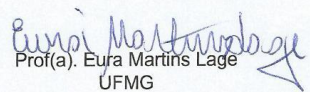
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PERINATOLOGIA.

Aprovada em 30 de junho de 2015, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Alameda Kfoury Pereira - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Patricia Goncalves Teixeira  
UFMG

  
Prof(a). Ana Cristina Simões e Silva  
UFMG

  
Prof(a). Eura Martins Lage  
UFMG

Belo Horizonte, 30 de junho de 2015.

## APÊNDICE I

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezada paciente,

O seu bebê apresenta um problema de saúde e por isso está sendo acompanhado pelo Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG (CEMEFE/HC). Como parte do seu acompanhamento, é preciso coletar uma amostra de material do feto para análise. Por isso, a Sra. está sendo convidada como voluntária a participar da pesquisa **“COMPORTAMENTO DA PROTEÍNA UROMODULINA E SUA CORRELAÇÃO COM OUTROS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS”**. Este estudo aproveitará o procedimento que já será realizado - amniocentese (coleta de líquido amniótico para análise e diagnóstico fetal) ou, coleta de urina fetal para análise e diagnóstico fetal - e, vai colher uma amostra para dosagem de uma proteína chamada Uromodulina. A uromodulina é a proteína excretada em maiores quantidades na urina humana em adultos.

Neste estudo pretendemos verificar o comportamento da uromodulina durante a vida do bebê antes do seu nascimento, e se a sua dosagem pode nos dizer as condições funcionais dos rins do bebê após o seu nascimento. O conhecimento da função renal antes do nascimento é fundamental para que se possa conduzir adequadamente a evolução dos casos e selecionar quais fetos se beneficiariam de um tratamento precoce ou alguma intervenção, visando preservar o funcionamento do sistema renal. Entretanto, ainda não foi identificado um teste capaz de prever com confiança a função renal antes do nascimento. Por isso, o estudo do comportamento da uromodulina durante a vida fetal pode apresentar uma nova opção de teste bioquímico, que auxiliará o diagnóstico da função renal antes do nascimento no futuro.

Estes procedimentos apresentam um risco de 0,5 a 1,5%, podendo ocorrer à rotura da bolsa, infecção, ou alguma lesão no feto. Porém, este procedimento poderá definir as possibilidades para o tratamento do bebê ainda na sua barriga. Para minimizar os riscos, os procedimentos são realizados sempre pelos médicos do CEMEFÉ, que possuem vasta experiência em Medicina Fetal. Além disso, todo o material utilizado é descartável e esterilizado.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Havendo dúvidas, você será esclarecida sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar, podendo retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma do tratamento realizado pelo CEMEFÉ. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo serviço. Sua identidade permanecerá em sigilo e não constará em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no CEMEFÉ, e a outra será fornecida a você.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, \_\_\_\_\_, portador do documento de Identidade \_\_\_\_\_ fui informada dos objetivos do estudo **“COMPORTAMENTO DA PROTEÍNA UROMODULINA E SUA CORRELAÇÃO COM OUTROS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS”** de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Assinatura da paciente:

---

Assinatura do pesquisador:

---

Contato com os pesquisadores:  
Alamanda Kfoury Pereira: (31) 8855-1906  
Thais Emanuelle Faria Botelho: (31) 9173-8036

CEMEFE – Centro de Medicina Fetal  
Hospital das Clínicas da UFMG  
Av. Prof. Alfredo Balena, 110 - Santa Efigênia  
Belo Horizonte, MG – Brasil  
Fone: (31) 3409-9388

COEP – Comitê de Ética em Pesquisa  
Av. Antônio Carlos, 6627  
Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 2005  
Campus Pampulha  
Belo Horizonte, MG – Brasil  
31270-901  
[coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br)  
Fone: (31) 3409-4592