

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

ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C URINÁRIA, COMO BIOMARCADOR DA FUNÇÃO  
RENAL, EM FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA BAIXA

ÉRICA BARCALA BAPTISTA RODRIGUES  
BELO HORIZONTE  
2017

ÉRICA BARCALA BAPTISTA RODRIGUES

ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C URINÁRIA, COMO BIOMARCADOR DA FUNÇÃO RENAL, EM FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA BAIXA

Tese 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 Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Alamanda Kfoury Pereira

Coorientadora: Profa. Dra. Eura Martins Lage

Belo Horizonte

2017

R696e Rodrigues, Érica Barcala Baptista.  
Estudo da dosagem da cistina C urinária, como biomarcador da função renal, em fetos portadores de uropatia obstrutiva baixa [manuscrito]. / Érica Barcala Baptista Rodrigues. - - Belo Horizonte: 2017.  
122f.: il.  
Orientador: Alamanda Kfoury Pereira.  
Coorientador: Eura Martins Lage.  
Área de concentração: Saúde da Mulher.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.  
1. Obstrução Uretral. 2. Feto/anormalidades. 3. Nefropatias. 4. Cistacina C. 5. Amniocentese. 6. Biomarcadores. 7. Estudos Transversais. 8. Dissertações Acadêmicas. I. Pereira, Alamanda Kfoury. II. Lage, Eura Martins. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WQ 210



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO SAÚDE DA MULHER

## **AUTORIDADES**

### **Reitor:**

Jaime Arturo Ramírez

### **Vice-Reitora:**

Sandra Regina Goulart Almeida

### **Pró-Reitor de Pós-Graduação:**

Denise Maria Trombert de Oliveira

### **Pró-Reitor de Pesquisa:**

Prof. Ado Jório de Vasconcelos

### **Diretor da Faculdade de Medicina:**

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

### **Vice-Diretor da Faculdade de Medicina:**

Humberto José Alves

### **Coordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

### **Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Selmo Geber

### **Chefe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia:**

Prof. Agnaldo Lopes da Silva

### **Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher:**

Prof. Selmo Geber

### **Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher:**

Fernando Marcos dos Reis



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

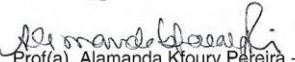
## FOLHA DE APROVAÇÃO

### ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C, COMO BIOMARCADOR DA FUNÇÃO RENAL, EM FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA BILATERAL

#### ERICA BARCALA BAPTISTA RODRIGUES

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

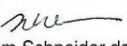
Aprovada em 28 de junho de 2017, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Alamanda Kfoury Pereira - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Eura Martins Lage  
UFMG

  
Prof(a). Henrique Vitor Leite  
UFMG

  
Prof(a). Maria Candida Ferrarez Bouzada Viana  
UFMG

  
Prof(a). William Schneider da Cruz Krettli  
HC-UFMG/SOGIMIG

  
Prof(a). Guilherme de Castro Rezende  
FASEH

Belo Horizonte, 28 de junho de 2017.

A minha família querida e estimada, que sempre me deu apoio e incentivo para continuar, mesmo que isto resultasse em menos horas de deleite ao brincar livremente com meus amados filhos, Bruno e André; além da restrição de tempo dedicado ao meu esposo. E aos meus pais aos quais lembro sempre de agradecer minha existência.

## AGRADECIMENTOS

Grandes foram aqueles que me incentivaram a persistir nos meus intuitos originais, e a eles agradeço sinceramente.

A minha brilhante e exemplar orientadora, Professora e Doutora Alamanda Kfoury Pereira, que além de excepcional e afetiva como profissional da especialidade da obstetrícia e ginecologia, ainda consegue se esmerar com louvor no ensino da graduação e pós-graduação, sempre nos guiando de forma flexível e sem perder a objetividade em direção à concretização de grandes metas, que muitos chamamos de sonhos.

Ao genial Professor e Doutor Antônio Carlos Vieira Cabral, sem o qual eu não estaria aqui, obrigada por abrir as portas das Sessões de Medicina Fetal, onde este processo da tese se iniciou, assim como os debates memoráveis sobre os primórdios da vida de todos nós.

Ao ilustre Professor e Doutor Henrique Vitor Leite que com sua modéstia, sempre nos traz grandes ensinamentos, inclusive de gratidão e amizade frente aqueles que sempre nos apoiam, obrigada pelo incentivo e intervenções essenciais, muitas das vezes nem nominadas, porém jamais esquecidas.

A querida Professora e Doutora Eura Martins Lage, coorientadora e amiga por todo o percurso, nos auxiliando e dando luz quando tudo parecia se obscurecer.

Ao colega e amigo Professor e Doutor Márcio Requeijo, que sem interesse algum foi o primeiro no incentivo ao doutorado e, nos incluiu ao nos reconhecer como “estrangeiro”, que também o foi, no doutorado na faculdade de São Paulo, nos guiando os primeiros passos na faculdade de Medicina da UFMG.

A Professora e Doutora Ana Cristina Simões e Silva pela colaboração essencial, no armazenamento das amostras, conselhos e críticas sempre positivas.

As Professoras e Doutoradas Silvia e Paula Peixoto Campos do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, pelo valoroso e meticuloso trabalho na dosagem das amostras, além de dicas inestimáveis, obrigada.

Aos professores Gabriel Costa Osanan e Patrícia Gonçalves Teixeira, sempre presentes nas reuniões do CEMEFE, me estimulando nos momentos de questionamento.

Ao apoio das bibliotecárias na busca das últimas novidades em termos de bibliografia na área, representadas pelas excepcionais Mariza Talim e

Monalisa, que indicou a primeira, sempre gentil e extremamente receptivas, muito obrigada.

Aos queridos alunos da graduação de medicina, que estão sempre nos incentivando com seus questionamentos e, fazendo de nós profissionais melhores.

A todos os amigos e familiares, que me apoiaram e compreenderam minha ausência, em função de meus estudos.

Aos professores, alunos, amigos e funcionários do CEMEFÉ e GOB, onde todos neste sistema multidisciplinar de ensino contribuíram de alguma forma para finalização deste projeto de tese de doutorado, o meu: MUITO OBRIGADA!

Um agradecimento especial aos pacientes que participaram deste estudo, sem os quais nada disso seria possível.

“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo.”

Nelson Mandela

## RESUMO

ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C URINÁRIA, COMO BIOMARCADOR DA FUNÇÃO RENAL, EM FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA BAIXA

O avanço das técnicas de imagem tem melhorado a capacidade de diagnóstico e tratamento pré-natal de fetos portadores de uropatia obstrutiva baixa. O tratamento intrauterino depende da adequada seleção dos fetos com função renal ainda preservada, que se beneficiem deste procedimento. Vários biomarcadores tem sido estudados para predição pré-natal da função renal com eficácia variável. A cistatina C surge como um biomarcador urinário fetal promissor. Em condições fisiológicas, sua concentração não varia com a idade gestacional e independe de massa muscular, dieta, estado nutricional, inflamação, gênero ou etnia. **Objetivo:** Dosar a cistatina C na vida fetal em amostras de urina fetal e líquido amniótico para avaliar sua eficácia como biomarcador da função renal, em fetos portadores de uropatia obstrutiva baixa. **Métodos:** Estudo transversal e prospectivo. Entre 2013 e 2016, 45 gestantes no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, 38 fetos (grupo 1) portadores de uropatia obstrutiva baixa, com indicação de punção vesical para coleta de urina e análise bioquímica, como critério de seleção para tratamento intrauterino e, 07 fetos (grupo 2) sem anomalias estruturais, com indicação para amniocentese para diagnóstico pré-natal, dos quais acompanhamos 28 casos do grupo 1 (grupo de estudo) e 6 casos do grupo 2 (grupo controle). Foram colhidas amostras para dosar cistatina C. Utilizados os métodos estatísticos de Anderson Darling, teste-t, teste de Mann Whitney, teste de Kruskal Wallis e coeficiente de Spearman. Para a sensibilidade e especificidade da cistatina C foi utilizada curva ROC. **Resultados:** A Cistatina C foi identificada nas 28 amostras de urina fetal (grupo 1) e 6 amostras de líquido amniótico (grupo 2), apresentando concentração significativamente diferente nos dois grupos, maior no grupo 1 em relação ao grupo 2 ( $p=0,021$ ). Nos fetos do grupo 1 comparou-se a dosagem de cistatina C com a osmolaridade normal e alterada, não se observando diferença significativa. Na curva ROC com ponto de corte de 1379,50, obteve-se uma sensibilidade de 50% e uma especificidade de 88,2%, com valor de área sob a curva de 0,657 considerada satisfatória. Em amostras urinárias de 6 fetos do grupo 1 realizou-se além da dosagem da cistatina C a da creatinina e da uromodulina verificando através de uma segunda curva ROC a eficácia da cistatina C na predição da gravidade da doença. **Conclusão:** Os níveis de cistatina C não apresentaram correlação estatisticamente significativa com a dosagem da osmolaridade na urina fetal. No entanto, mostrou-se um biomarcador eficaz de função renal no período pré-natal quando comparado os fetos com e sem uropatia ( $p=0,021$ ). Todos os fetos do grupo sem uropatia (6 fetos) e os com uropatia que sobreviveram com função renal preservada (5 fetos) apresentaram valores inferiores ao ponto de corte escolhido no estudo de 1379,50, sugerindo ser satisfatória para detecção ou exclusão da falência renal. Comparando-se com outros marcadores urinários, somente a cistatina C demonstrou capacidade de identificar a função renal fetal, com valor de área sob esta segunda curva ROC de 0,750. Novos estudos são necessários, com amostras maiores, para comparar a cistatina C com outros biomarcadores e com a função renal pós-natal em longo prazo. **Palavras-chave:** Uropatia obstrutiva; urina fetal; líquido amniótico; cistatina C; função renal; curva ROC; amniocentese.

## ABSTRACT

### ANALYSIS OF URINARY CYSTATIN C, AS A BIOMARKER OF THE RENAL FUNCTION, IN FETUS WITH LOW OBSTRUCTIVE UROPATHY

The advancement of imaging techniques in recent years has substantially improved the ability of prenatal diagnosis and treatment of fetuses with low obstructive uropathies. Intrauterine treatment depends on the proper selection of fetuses that benefit from this procedure. Several biomarkers have been studied for prenatal prediction of renal function with varying efficacy. Cystatin C appears as a promising urinary biomarker. Under physiological conditions, it does not vary with gestational age and is unaffected by diet, nutritional status, inflammation, gender or ethnicity. **Objective:** Dose cystatin C protein in fetal urine and amniotic fluid samples to evaluate its efficacy as a biomarker of renal function in fetuses with low obstructive uropathy. **Methods:** It is a cross-sectional and prospective study. Between March 2013 and March 2016, 45 pregnant women were being monitored at the Fetal Medicine Center of the UFMG Clinical Hospital, which 38 fetuses (group 1) with low obstructive uropathy, with indication of urine puncture and biochemical analysis, as a selection criterion for intrauterine treatment, and 07 fetuses (group 2) without structural abnormalities, with indication for amniocentesis for prenatal diagnosis, which we have follow-up in 28 cases of group 1 (study group) and 6 cases of group 2 (control group) from whom were collected Cystatin C for dosing. The statistical methods used were Anderson Darling, t-test, Mann Whitney test, Kruskal Wallis test and the Coefficient of Sperman. To assess the sensitivity and specificity of cystatin C the ROC curve was used. **Results:** Cystatin C was identified in the 28 samples obtained from fetal urine (group 1) and in the 6 amniotic fluid samples (group 2), showing a significantly different concentration in both groups, higher in group 1 compared to group 2 ( $p = 0.021$ ). In the fetuses of group 1 the cystatin C dosage was compared with normal and altered osmolarity, with no significant difference being observed. In the ROC curve with a cut-off point of 1379.50, a sensitivity of 50% and a specificity of 88.2%, with an area value under the curve of 0.657, could be considered satisfactory for detection or exclusion of the disease studied and its severity. In urinary samples from 6 fetuses of group 1 in addition to the cystatin C dosage, creatinine and uromodulin were also measured, the analysis of a second ROC curve was used and demonstrated efficacy in predicting disease severity with cystatin C alone. **Conclusion:** Cystatin C levels did not present a statistically significant correlation with the osmolarity in the fetal urine of patients with lower urinary tract obstruction. However, it was shown to be an effective biomarker of renal function in the prenatal period when compared to fetuses with and without uropathy ( $p = 0.021$ ). All fetuses in the group without uropathy (6 fetuses) and those with uropathy that survived with preserved renal function (5 fetuses) presented values lower than the cutoff point of the ROC curve of 1379.50 proving to be satisfactory for detection or exclusion of renal failure. Compared with other urinary markers, only cystatin C demonstrated the ability to identify the fetal renal function, with an area value under this second ROC curve of 0.750. New studies are needed, with larger samples, to compare cystatin C with other biomarkers and with long-term postnatal renal function. **Keywords:** obstructive nephropathies, fetal urine, amniotic fluid, cystatin C, biomarker of kidney function, ROC curve, amniocentesis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Figuras

- Figura 1: Desenho esquemático do Broto Uretérico: que origina: a pelve renal, cálices maiores e menores e túbulos coletores, além do ureter. 25
- Figura 2: Esquema ilustrativo do desenvolvimento dos néfrons, ou seja, Blastema metanefrogênico que origina o néfron. 25
- Figura 3: Desenho esquemático do Metanefro (rim permanente) com suas origens: Broto uretérico e Blastema Metanefrogênico. 27
- Figura 4: Esquema ilustrativo da ascensão dos rins, formação dos ureteres e modificação das artérias renais. 27
- Figura 5: Desenho esquemático do rim e sua unidade funcional, o néfron. 28
- Figura 6: Esquema ilustrativo do pronefro, mesonefro e metanefro durante a 5ª semana do desenvolvimento embrionário do sistema renal. 29
- Figura 7: Esquema ilustrativo do desenvolvimento do rim permanente. 29
- Figura 8: Esquema ilustrativo do estiramento mecânico que ocorre na fisiologia da nefropatia obstrutiva. 33
- Figura 9: Esquema ilustrativo da fisiologia da progressão da nefropatia obstrutiva. 34

Figura 10: Esquema ilustrativo e classificação da hidronefrose de acordo com The Oscites of Fetal Urology (SFU).	39
Figura 11: Esquema ultrassonográfico e classificação da hidronefrose neonatal de acordo com a Sociedade de Urologia Fetal (KOGAN, 2006, p.82), The Society of Fetal Urology (SFU).	40
Figura 12: Modelo estrutural da Cistatina C	53
Figura 13: Fluxograma de acompanhamento do estudo	65
Figura 14: Curva padrão de absorbância da uromodulina	69

## LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1: Caracterização dos grupos estudados em relação à idade gestação	73
Tabela 2: Resultados das dosagens bioquímicas da cistatina C em urina fetal no grupo 1	73
Tabela 3: Resultados das dosagens bioquímicas da cistatina C em urina fetal no grupo 2	74
Tabela 4: Características das pacientes do grupo 1 de acordo com os resultados da osmolaridade na urina fetal	74
Tabela 5: Avaliação da Idade Gestacional (IG) e Cistatina C no grupo 1 em relação aos grupos da Osmolaridade Normal e Alterada	74
Gráfico 1: Comparação entre as dosagens de cistatina C na urina fetal com osmolaridade normal (<210) e alterada (>210)	75
Tabela 6: Avaliação da Idade Gestacional (IG), Cistatina C e Osmolaridade em relação aos grupos 1 (urina fetal, com uropatia), e 2 (Líquido Amniótico, sem uropatia)	76
Gráfico 2: CURVA ROC 1, dosagem de cistatina C em urina de fetos com uropatia obstrutiva bilateral	76 e 87
Gráfico 3: Curva ROC 2, comparando três marcadores de urina fetal: Cistatina C, Creatinina e Uromodulina	77
Gráfico 4: Curva ROC 3, estudo de Askezanazi et al., 2012	86
Gráfico 5: Curva ROC 4, do Estudo de Parvex et al., 2012	87
Gráfico 6: Curva ROC 5, dosagem da Cistatina C, na urina fetal de pacientes onde foram colhidas amostras de outros biomarcadores urinários e, onde se sabia o desfecho final	88

Gráfico 7: Curva ROC 6, dosagem da Creatinina, na urina fetal de 88  
pacientes onde foram colhidas amostras de outros biomarcadores  
urinários e, onde se sabia o desfecho final

Gráfico 8: Curva ROC 7, da dosagem da Uromodulina, na urina fetal 89  
de pacientes onde foram colhidas amostras de outros biomarcadores  
urinários e, onde se sabia o desfecho final

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKI	“Acute Kidney Injury” (Injúria Renal Aguda)
$\beta$ 2M	$\beta$ 2-microglobulina
CAKUT	“Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract” (Anomalias congênitas do rim e do trato urinário)
CBR	Colégio Brasileiro de Radiologia
CEMEFE HC/UFMG	Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG
Curva ROC	Curvas de Características de Operação do Receptor ou “ <i>Receiver Operating Characteristic</i> ”
DAP	Diâmetro Ântero-Posterior
DAPPR	Diâmetro Ântero-Posterior da Pelve Renal
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DRC	Doença Renal Crônica
EGF	“Epidermal Growth Factor” (Fator de Crescimento Epidérmico ou Epitelial)
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
JUP	Junção Uretero Pélvica
JUV	Junção Ureterovesical ou Vesicoureteral
GPI	Glicosilfosfatidilinositol
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
IFF	Instituto Fernandes Figueira
ILA	Índice de Líquido Amniótico

IRC	Insuficiência Renal Crônica
LA	Líquido Amniótico
LRA	Lesões Renais Agudas
LUTO	Lower Urinary Tract Obstruction, Obstrução do Trato Urinário Baixo
RE	Retículo Endoplasmático
SBN	Sociedade Brasileira de Nefrologia
SFU	<i>"Society of Fetal Urology"</i> (Sociedade de Urologia Fetal)
SUS	Sistema Único de Saúde
TAL	Thin Ascending Limb (Segmento espesso do ramo ascendente da alça de Henle)
TEGO	Título de Especialidade em Ginecologia e Obstetrícia
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
THP	Tamm-Horsfall Protein (Proteína de Tamm-Horsfall)
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TRS	Terapia Renal Substitutiva
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UMOD	Uromodulina
VFG	Velocidade de Filtração Glomerular
VUP	Válvula de Uretra Posterior

## SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	18
2 – REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 – Nefrouropatias – conceitos	22
2.2- Sistema Nefrourinário: desenvolvimento embrionário	23
2.3- Formação do âmnio e líquido amniótico	23
2.4- Uropatias Obstrutivas: mecanismos patogênicos	32
2.4.1 - Válvula de uretra posterior (VUP)	35
2.5 – Nefrouropatias Obstrutivas: diagnóstico funcional não invasivo (ultrassonográfico)	36
2.5.1 - Avaliação do volume do líquido amniótico	36
2.5.2 - Avaliação do aspecto do rim fetal	38
2.5.3- Avaliação do aspecto da bexiga fetal	42
2.5.4- Avaliação do aspecto do ureter fetal	42
2.6 – Nefrouropatias Obstrutivas: Diagnóstico Funcional Invasivo (Marcadores Bioquímicos)	43
2.6.1 – Sódio	44
2.6.2 – Potássio	45
2.6.3 – Cloro	46
2.6.4 - Creatinina	47
2.6.5 - $\beta$ 2-microglobulina	48
2.6.6 – Osmolaridade	49
2.6.7 – A Uromodulina ou Proteína de Tamm-Horsfall (THP)	49
2.6.8 – Alguns outros Biomarcadores precoces de injúria renal	51
2.6.9 – A Cistatina C	52
2.6.9.1 – Aspectos históricos: A descoberta da Cistatina C	52
2.6.9.2 – Estrutura e localização	52
2.6.9.3 – Papel da Cistatina C	53
2.6.9.4 – Produção da cistatina C na Vida Fetal	58
3 – OBJETIVOS	60
1. Objetivo principal	61

2. Objetivos específicos	61
4 – PACIENTES E MÉTODO	62
4.1 – Pacientes	63
4.2 – Critérios de inclusão	64
4.3 – Critérios de exclusão	65
4.4. Métodos:	66
4.4.1 Amniocentese	66
4.4.2 Punção vesical para coleta de urina fetal	66
4.4.3-Dosagem de cistatina C	67
4.4.4 – Osmolaridade	67
4.4.5 – Dosagem de Creatinina	68
4.4.6 – Dosagem de Uromodulina	68
4.5 – Métodos estatísticos	70
4.6 – Curva ROC	70
4.7 – Parecer ético	71
5 – RESULTADOS	72
6 – DISCUSSÃO	78
6.1- Importância do Estudo	79
6.2- Seleção dos Pacientes	80
6.3- Cistatina C como biomarcador de função renal	81
6.4- Confecção da Curva ROC X Resultados	85
7 – CONCLUSÃO	91
8 – REFERÊNCIAS	93
9 – APÊNDICES	117
10- ANEXOS	120



## 1 - INTRODUÇÃO

A origem da vida foi um dos principais fatores que me trouxeram a este momento ímpar, de me aprofundar em uma pesquisa em Medicina Fetal.

Iniciei a minha formação médica, voltada para compreensão do paciente, primeiramente sendo monitora em cirurgia geral e técnica operatória, aprendendo a dissecar seres já inanimados, que cediam seus corpos indigentes para a nossa compressão da anatomia humana, e participando de atos cirúrgicos onde se buscava a cura através do tratamento de inflamações (como a apendicite), corpos estranhos ou tumores, ou mesmo através da reconstrução do que antes a natureza havia feito com perfeição, e que nós, ao nos acidentarmos, acabamos por necessitar de correção. Mas não satisfeita com o processo de cura e restauração me interessei pela prevenção e, através da ginecologia e obstetrícia, vislumbrei um meio de me inserir e, porque não dizer tentar ser proativa, desde os primórdios da vida quando inicia sua jornada ao nascimento, e por melhor dizer, em sua concepção, pois através de seus gens e de sua trajetória, logo após a fecundação, começa a ter seu “destino” delineado, o que podemos chamar de epigenética, nos meios científicos atuais, onde a importância capital de cada detalhe (mesmo na vida intrauterina) tem um papel fundamental em nossas vidas futuras e, mesmo em nosso bem estar como embriões e fetos, primórdios do que seremos após o parto.

Resolvi então estudar ultrassonografia, para visibilizar as primeiras transformações nos embriões, fetos, vislumbrando todo o maravilhoso processo da embriogênese e culminando com a formação de um novo ser, que neste trajeto apresenta um caminho singular, já que cada vida é única e não passível de reprodução, pois mesmo em gêmeos e clones, com extrema similaridade, os percursos e consequências serão distintos, apresentando cada ser sua própria história de vida.

Este fato, da singularidade, nos dá o valor de cada vida gerada e nos alerta para necessidade da manutenção e garantia da qualidade de vida (e morte) de cada indivíduo em si.

Sim, me referi à morte, é verdade, pois neste momento reflexivo, percebo que esta é inevitável a todos nós (por mais que, às vezes, queiramos esquecer este detalhe fatal de extrema importância), e para lembrarmos que

uma morte digna é o ideal, com respeito, serenidade, com o mínimo de sofrimento e no momento de cada um.

Após a formação e residência médica na Universidade Federal Fluminense (UFF), eu me inscrevi nas provas de titulação em ginecologia e obstetrícia (TEGO) e ultrassonografia (membro titular do CBC, Colégio Brasileiro de Radiologia) e resolvi fazer pós-graduação em infertilidade (no Instituto Fernandes Figueira, IFF, da Fundação Oswaldo Cruz, FGV), para auxiliar casais em dificuldades a gerar uma nova vida, além de pós-graduação na UFF em Doenças Sexualmente Transmissíveis (uma das principais causas de esterilidade no casal) e Gestão Hospitalar (na Faculdade Álvares Penteado, para gerenciar melhor os custos de forma salutar).

Mas sentia que faltava algo e, era a continuidade da vida acadêmica, que o doutorado da UFMG me proporcionou, através deste estudo, o acompanhamento da equipe multidisciplinar de Medicina Fetal no Hospital das Clínicas e, da experiência que obtive com os últimos dois anos como professora substituta no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, onde aprendi muito com os colegas, alunos e pacientes.

O Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEMEFE HC/UFMG) é referência do Sistema Único de Saúde (SUS), sendo referência 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, inclusive fetos com diagnóstico pré-natal de alterações renais, principalmente os com quadros obstrutivos. 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, específica e precoce. Semanalmente, também é realizada uma reunião da equipe, conduzida por obstetras, fetólogos, neonatologistas, geneticistas, psicólogos, biólogos, residentes e outros profissionais da área da saúde. São discutidos os casos encaminhados para o centro, comentadas as evoluções dos quadros clínicos, resultados de exames de imagem, cirurgias e intervenções, além de rediscutidas condutas de acordo com cada circunstância, ocorre então o acompanhamento por toda a equipe sendo noticiados os resultados de pós-natal das pacientes acompanhadas. Além de

ser um centro de pesquisa e formação profissional, na graduação, pós-graduação e residência médica. Pelo fato de serem realizadas avaliações seriadas de ultrassonografia, verifica-se desde o início a possibilidade de tratamento intrauterino, com o objetivo de preservar a anatomia e função renal até que o tratamento neonatal após o nascimento possa ser debatido e realizado, melhorando significativamente a evolução perinatal destes fetos.

Este estudo visa contribuir para o avanço no conhecimento das doenças obstrutivas baixas como as anomalias congênitas com obstruções do trato urinário baixo (LUTO) através da análise da glicoproteína cistatina C na urina fetal como biomarcador pré-natal de função renal.



## 2 – REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – Nefrouropatias – conceitos

As anomalias congênitas do rim e do trato urinário fetal (CAKUT) representam um importante, complexo e heterogêneo grupo de doenças que podem acometer o feto e o indivíduo, sendo as obstrutivas do trato urinário baixo (LUTO) o principal foco deste estudo. Representam 30% do total de anomalias diagnosticadas no pré-natal (SANNA-CHERCHI S et al., 2009), das quais 20% terão importância clínica, e segundo Parvex et al. (2012) torna-se um motivo frequente para se referenciar ao aconselhamento no pré-natal de alto risco e especializado (nefrologista). Dentre as malformações do trato urinário, as uropatias obstrutivas são as mais frequentes e constituem as principais causas de falência renal antes do segundo ano de vida (DICKE et al, 2006). Essas 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).

Conforme consta no texto do Presidente da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), Dr Daniel Rinaldi dos Santos, e do secretário geral da SBN, Dr Roberto Requião Moura, no dia mundial do rim no ano de 2014, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem considerado as Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) com um dos principais desafios em saúde pública para as próximas décadas. Nesse contexto, a OMS traçou estratégias para a redução da mortalidade por essas doenças até 2022. O Brasil foi um dos primeiros países a aderir oficialmente a esse programa. Através das ações da SBN junto ao Ministério da Saúde, a Doença Renal Crônica (DRC) passou a ser considerada um dos pilares do Plano de Enfrentamento das DCNT no território brasileiro. A DRC é caracterizada pela perda progressiva e irreversível das funções renais. Os desfechos mais alarmantes da DRC são a mortalidade por doença cardiovascular e a necessidade de Terapia Renal Substitutiva (TRS). A TRS consiste de hemodiálise, diálise peritoneal e transplante. De acordo com dados da SBN, em 2012 havia cerca de 100 mil brasileiros em diálise. Ainda de acordo com dados da SBN, em torno de 90% dos pacientes

em diálise são tratados pela modalidade hemodiálise, sendo 85% desse tratamento financiado pelo Sistema Único de Saúde, com um gasto anual estimado em R\$ 2,2 bilhões. Apesar do tratamento substitutivo através da diálise, a mortalidade desses indivíduos é em torno de 15% ao ano, sendo maior no início da terapia, por conta do diagnóstico tardio. Um fato que contribui para essa mortalidade é que cerca de 70% dos pacientes que iniciam diálise desconheciam ser portadores da doença. Por esses motivos, o diagnóstico precoce é fundamental (SANTOS & MOURA, 2014).

Além do estudo colaborativo de Garcia et al., 2015, onde foram obtidos dados de 13 centros médicos brasileiros, houve um registro de 1751 procedimentos de Transplante Renal Pediátrico no Brasil (abaixo de 18 anos) entre os anos de 2004 e 2013, sendo a uropatia obstrutiva (31%) a etiologia mais comum.

## 2.2- Sistema Nefrourinário: desenvolvimento embrionário

É oportuna, desta forma, uma breve revisão da embriologia renal e suas inter-relações com os demais órgãos no desenvolvimento fetal, para melhor compreensão do LUTO.

O sistema urogenital é composto por dois componentes diferentes, o urinário e o genital que, sob o ponto de vista embriológico e anatômico, estão intimamente relacionados, sendo a origem de ambos o mesoderma intermediário. Este mesoderma forma uma proeminência em cada lado na parede dorsal do corpo do embrião chamadas de cristas urogenitais. A porção lateral dessas cristas forma o blastema nefrogênico que originará a maior parte do sistema urinário, enquanto as gônadas terão origem a partir de sua parte medial (GARCIA & GARCIA FERNÁNDEZ, 2012).

Três conjuntos de órgãos excretores são formados durante o período embrionário: o pronefro, o mesonefro e o metanefro.

O pronefro é rudimentar e não funcionante; surge na segunda metade da terceira semana e está completamente degenerado ao início da quinta semana de vida uterina (QUEIROZ e SILVA, 2004). É um acúmulo de células tubulares na porção cefálica do blastema nefrogênico, migram em sentido caudal e se abrem na cloaca, esse ducto serve de veículo ao produto de secreção dos três

rins que se sucedem, recebendo o nome de ducto pronéfrico, na porção cranial, e ducto mesonéfrico, ou de Wolff, na sua porção média e caudal. O pronefro se degenera, porém a maioria de seus ductos pronéfricos é aproveitada pelo conjunto de rins que segue o desenvolvimento (EKBLÖM, 1994).

O mesonefro desenvolve-se no final da 4ª semana, à custa do blastema da região média da saliência urinária. Graças à proliferação e diferenciação do mesoderma, forma-se uma série de cordões celulares sólidos que adquirem uma luz, constituindo túbulos irregulares e sinuosos, os túbulos mesonéfricos. Estes estabelecem comunicações laterais com o ducto mesonéfrico ou de Wolff. Na sua extremidade medial os túbulos mesonéfricos invaginam-se, assumindo o aspecto de cálice, e no seu interior forma-se um glomérulo resultante da capilarização do mesênquima local. O mesonefro que surge em posição caudal ao pronefro rudimentar, funciona como rim temporário até que o rim permanente esteja formado e funcionando (BURGHARD; LEITITIS; BRANDIS, 1988; MOORE, K. L., 2013).

À medida que esses processos vão ocorrendo, o rim migra cranialmente; a porção inicial do seu ducto se alonga, formando assim o ureter.

O metanefro, ou rim permanente, é formado a partir de duas origens: o divertículo metanéfrico (broto uretérico que originará: a pelve renal, cálices maiores e menores e túbulos coletores) e o mesoderma metanéfrico (blastema metanéfrico que originará: o néfron), ambos de origem mesodérmica. Assim é que ureter, bacinetes, cálices e ductos coletores derivam de um divertículo da porção caudal do ducto mesonéfrico. O broto uretérico, como o próprio nome indica, é um órgão tubular, que vai dar origem ao ureter. Ele penetra no mesoderma metanéfrico e começa 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 o 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 formado de dois componentes embriologicamente diversos: o néfron (advindo do mesoderma metanéfrico) e os túbulos coletores (advindo do divertículo metanéfrico) (QUINTERO, 1996). Ilustra-se nas figuras 1, 2 e 3.

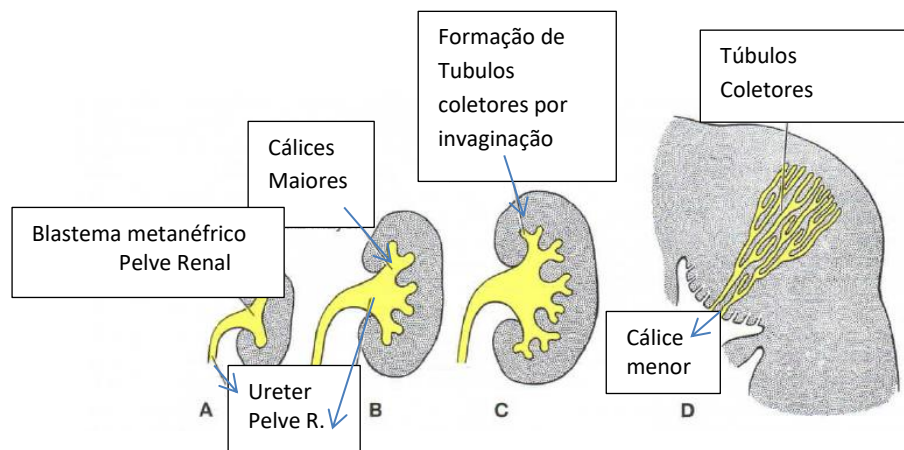


Figura 1: Desenho esquemático do Broto Uretérico: que origina: a pelve renal, cálices maiores e menores e túbulos coletores, além do ureter (Fonte: Sandler & Langman, 1996)

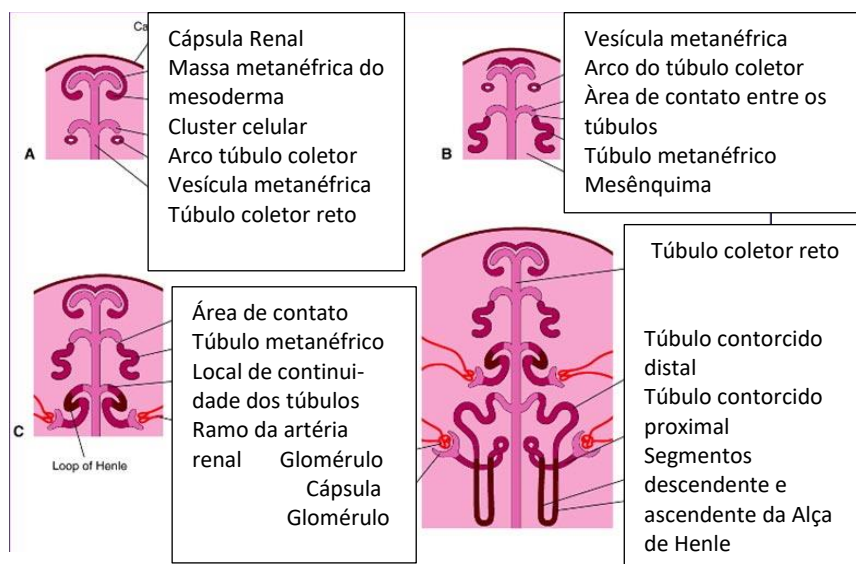


Figura 2: Esquema ilustrativo do Blastema metanefrogênico que origina os néfrons (Fonte: MOORE & PERSAUD, 2013)

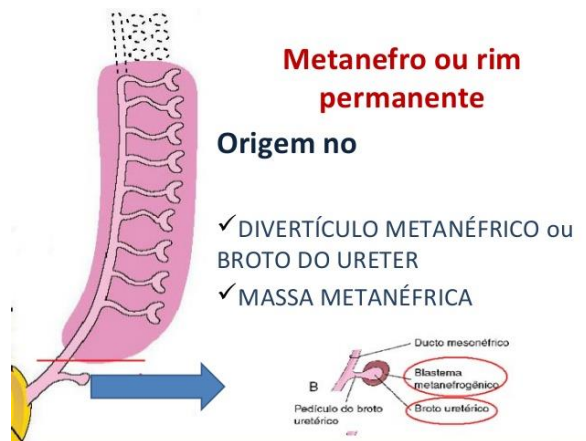


Figura 3: Desenho esquemático do Metanefro (rim permanente) com suas origens: Broto uretérico e Blastema Metanefrogênico (Fonte: MOORE & PERSAUD, 2013)

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° ficando em uma posição anteromedial (MOORE, 1988). Ao migrar cranialmente a porção inicial do seu ducto se alonga, formando assim o ureter. Esquematiza-se na figura 4.

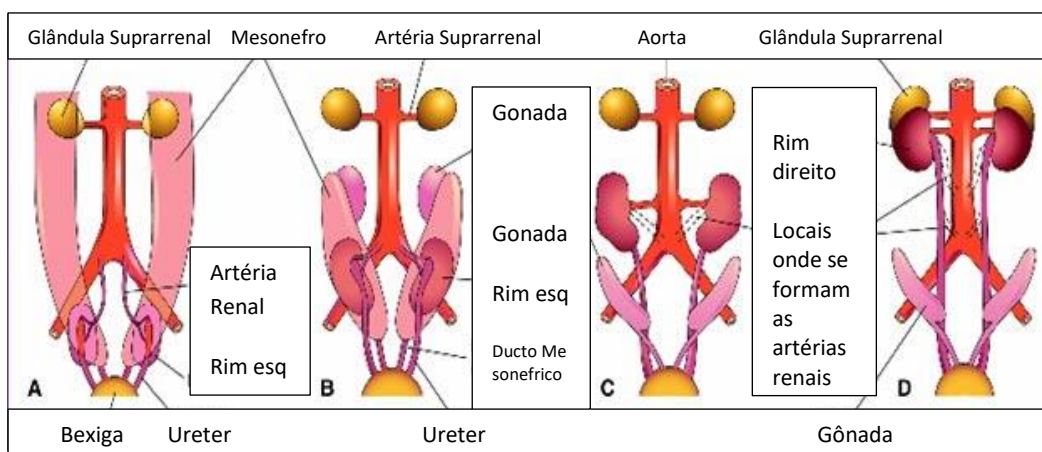


Figura 4: Esquema ilustrativo da ascensão dos rins, formação dos ureteres e modificação das artérias renais, entre 6ª e 9ª semanas (Fonte: MOORE & PERSAUD, 2013)

O processo de desenvolvimento renal não se completa com o nascimento. Após esse período, ainda ocorre à formação de néfrons a partir de mesênquima indiferenciado na camada cortical externa ao longo de vários meses após o nascimento. Além de ocorre também o crescimento dos néfrons por hipertrofia celular (LEESON et al., 1988). Conforme ilustra a figura 5.

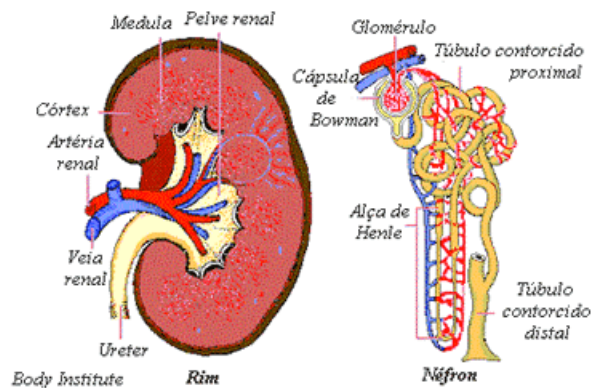


Figura 5: Desenho esquemático do rim e sua unidade funcional, o néfron (Fonte: Body Institute, NOGUEIRA J, Medicina/Saúde, 2010)

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

As figuras 6 e 7 mostram desenhos esquemáticos de um embrião com os diversos elementos do desenvolvimento renal.

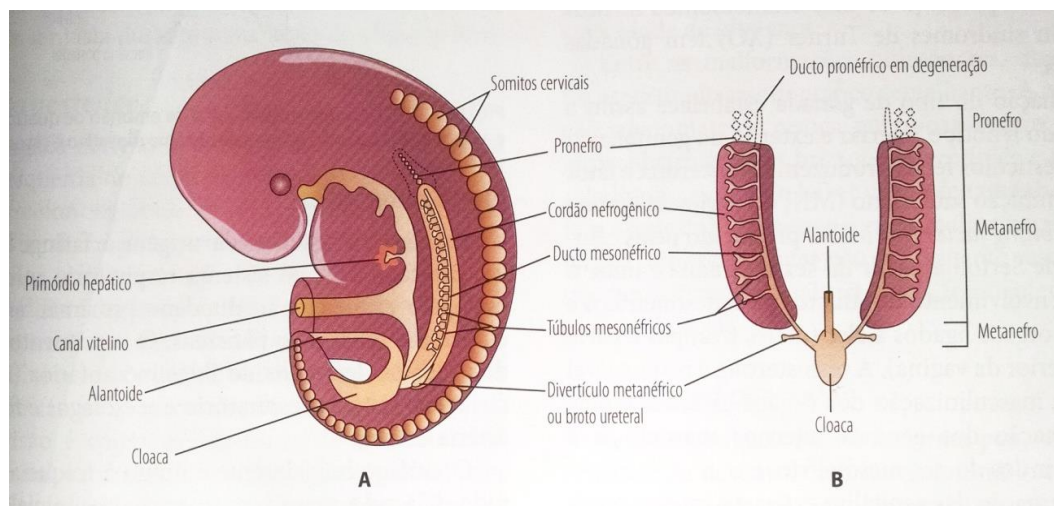


Figura 6: Esquema ilustrativo do pronefro, mesonefro e metanefro durante a 5ª semana do desenvolvimento embrionário do sistema renal (Fonte: ZUGAIB, 2012)

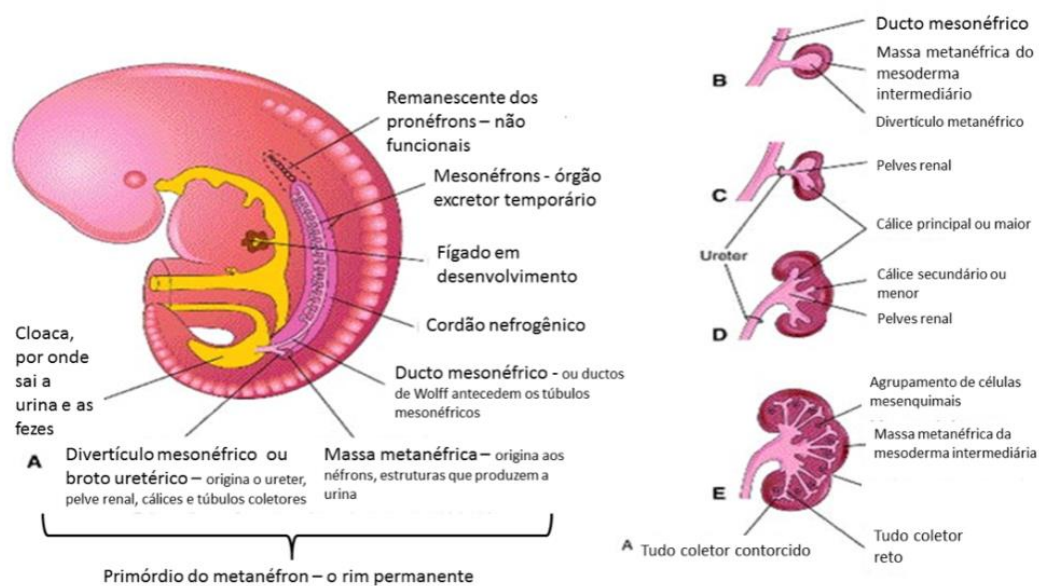


Figura 7: Esquema ilustrativo do embrião e do desenvolvimento do rim permanente (Fonte: MOORE & PERSAUD, 2013)

### 2.3 – Formação do âmnio e líquido amniótico

O líquido amniótico é um produto do córion e do cordão umbilical com contribuição da urina fetal e do 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. 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, composição dependem da idade gestacional (CALLEN, 1994).

A principal fonte de líquido amniótico no primeiro trimestre é a membrana amniótica, a água atravessa a membrana sem nenhum mecanismo de transporte ativo (BRACE, 1995). Já durante o final do primeiro trimestre e início do segundo trimestre à medida que a placenta e o feto se diferenciam, novas vias surgem, incluem movimento de fluido através do córion frondoso e pele fetal, débito urinário, mecanismos de deglutição e absorção intestinal (BRENNER; RECTOR; LEVINE, 2004).

A produção fetal de urina e deglutição inicia-se entre a 8<sup>o</sup> e a 11<sup>o</sup> semana de gestação e torna-se a principal fonte de produção e consumo a partir do 2<sup>o</sup> trimestre. A formação de urina continua ao longo da vida fetal. É excretada para a cavidade amniótica e forma a maior parte do líquido amniótico. Este líquido, quando deglutido pelo feto, 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).

Por volta da nona semana de gestação inicia-se a função tubular renal no rim metanéfrico humano e, pela décima quarta semana a alça de Henle é ativada sendo iniciada a reabsorção glomerular (PITKIN & ZWIREK, 1967). Apesar de a produção de urina começar na nona semana, sua contribuição para o volume de líquido amniótico começa no segundo trimestre. Em torno da

vigésima semana de gestação, 90% do líquido amniótico constituído de urina fetal. Fato este que explica o achado quantitativo de líquido amniótico normal em fetos com agenesia renal bilateral no primeiro trimestre de gestação e cursando com anidrâmnio a partir do segundo trimestre, geralmente após a 17ª semana de gestação. (LEIBOVITCH et al., 2012; VANDERHEYDEN; KUMAR; FISK, 2003).

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).

Estudos comprovam que o mecanismo de produção do líquido amniótico sofrem modificações no decorrer da gestação, sendo que no primeiro e início do 2º trimestre dependente basicamente do fluxo passivo de água através das membranas e pele fetal, desta forma a composição e osmolaridade do fluido assemelha-se ao soro materno e fetal. Após esse período inicial, o líquido torna-se cada vez mais hipotônico em relação ao soro materno e fetal, assemelhando-se a urina fetal (BRACE, 1995; CALLEN, 2011).

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 ou excretado através de capilares alveolares e também pela traqueia. Algumas destas trocas de fluido alveolar ocorrem através da presença de fosfolipídios pulmonares no líquido amniótico, ocorrendo aumento das concentrações à medida que a gestação evolui.

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 ml entre a 7ª e 20ª 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 1º trimestre o volume normal é em torno de 60 ml. Em torno da 16ª semana quando se realiza a maioria dos procedimentos de amniocentese o volume é de aproximadamente 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).

O desenvolvimento normal do pulmão fetal depende de volume de líquido amniótico normal. Sendo assim, casos graves de oligodrâmnio ou anidrâmnio secundários a disfunção renal, no segundo trimestre, podem resultar em hipoplasia pulmonar, condição potencialmente fatal (MEHLER et al., 2011).

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).

#### 2.4- Uropatias Obstrutivas: mecanismos patogênicos

Para que haja um desenvolvimento adequado do sistema renal é necessário que o sistema coletor (divertículo metanéfrico) entre em contato com o mesoderma metanéfrico e induza sua diferenciação. Quando isso não ocorre, não há formação adequada dos néfrons, resultando na sua substituição por tecido fibroso. Nesses casos, o estudo histopatológico mostra hipoplasia e displasia renal, e pode haver insuficiência renal pós-natal (BECK, 1971).

Segundo Miranda (2016), a resposta renal a uma obstrução do trato urinário é complexa e apenas parcialmente elucidada. As alterações incluem a inflamação intersticial, apoptose tubular e fibrose intersticial (MIRANDA, 2016). Pelo que foi demonstrado a lesão tubular renal é a consequência de estiramento mecânico das células tubulares. O aumento da pressão hidrostática reduz o fluxo sanguíneo tubular, resultando em hipóxia e liberação de radicais livres de oxigênio. Isso gera uma resposta inflamatória intersticial

que é inicialmente caracterizada por infiltração de macrófagos, dilatação tubular e apoptose tubular renal, levando à atrofia tubular e fibrose intersticial com a perda de néfrons (CHEVALIER RL, 2006). Em resumo, a ativação de todos esses processos, como a via final comum, levam ao desenvolvimento de fibrose intersticial devido ao aumento da deposição da matriz extracelular (MEC), a infiltração celular, apoptose tubular, e a indução da transformação epitelial-mesenquimal (TEM), como demonstrado na figura 8 e 9

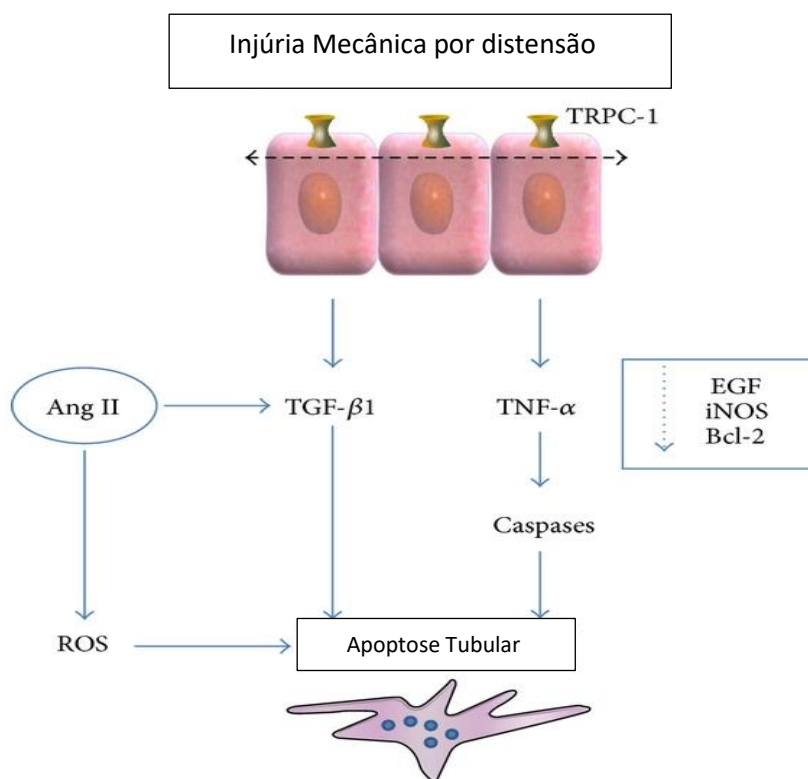


Figura 8: Estiramento mecânico que ocorre na fisiopatologia da apoptose renal tubular da nefropatia obstrutiva. Ang II = angiotensina II; EGF = Fator de Crescimento Epitelial; iNOS = NO sintase induzível; ROS = espécies reativas de oxigênio; TRPC-1 = Potencial receptor catiônico transitório-1. (Fonte: LUCARELLI, 2014)

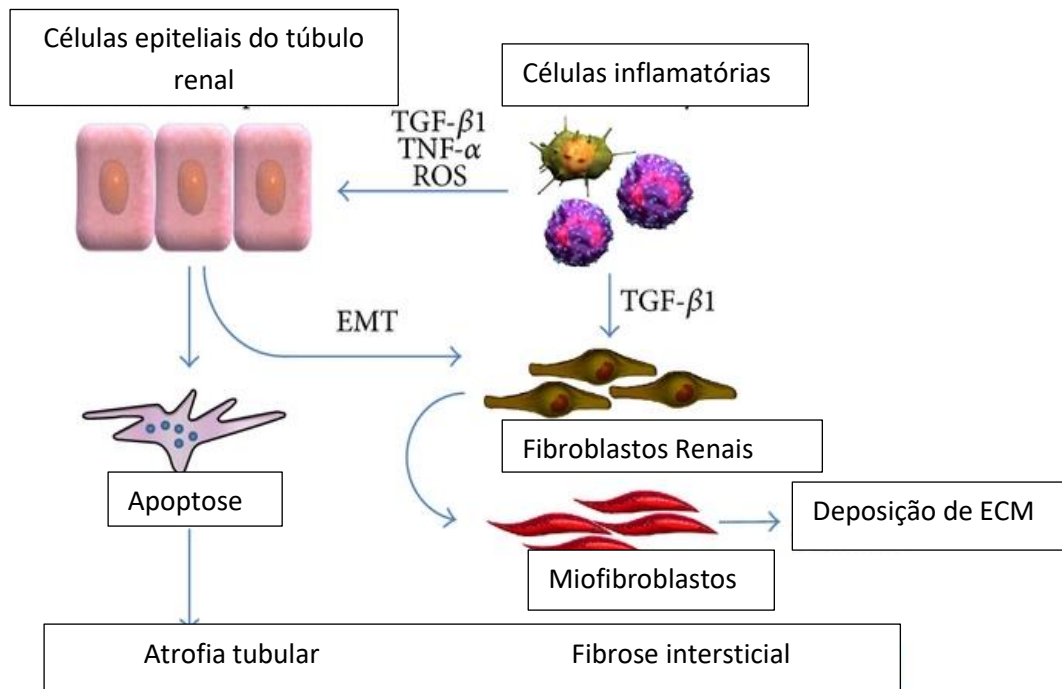


Figura 9: Esquema representando a fisiopatologia e progressão da nefropatia obstrutiva ECM = matriz extra-celular, EMT = TEM = transformação epitelial-mesenquimal, TGF- $\beta$ 1 = Fator de Crescimento Transformante  $\beta$ 1, TNF- $\alpha$  = Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$ , ROS = espécies reativas de oxigênio (Fonte: LUCARELLI, 2014)

As nefropatias fetais obstrutivas podem ser classificadas como altas (mais frequentes, junção ureteropélvicas, JUP), médias (na junção vesicoureteral, JUV), ou baixas (junção vesicouretral, como ao nível da uretra posterior, VUP) de acordo com a altura da obstrução no trato urinário. (Rumack, 2006). Contudo, precisar o nível exato de tais obstruções pode ser difícil, pois nem sempre há uma obstrução anatômica, como nos casos de refluxo isolado, porém como ocorre à dilatação das vias urinárias, considera-se lesão obstrutiva, pois o mecanismo fisiopatológico é semelhante. Nosso estudo baseou-se nas uropatias obstrutivas baixas (LUTO).

Através do estudo detalhado com a ultrassonografia pré-natal morfológico, do segundo semestre, é possível identificar o nível e a gravidade da lesão.

#### 2.4.1 - 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). A VUP é a principal causa de obstrução do trato urinário em neonatos do sexo masculino, além de ser a principal causa de doença renal obstrutiva em crianças (WARSHAW et al., 1980). As válvulas da uretra são folhetos de tecido que se abrem em leque, em posição distal a 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).

A patogênese da VUP parece ser devido à persistência da membrana urogenital que gera obstrução. Várias disrupções na embriogênese (entre 9-14 semanas de gestação) da uretra posterior podem resultar em VUP, assim como a persistência da membrana urogenital com canalização anormal da uretra, crescimento excessivo das dobras uretrovaginais e integração anormal dos ductos de Wolff na uretra posterior (KRISHNAN et al., 2006).

O diagnóstico no pré-natal antes da 24ª semana de gestação apresenta hidronefrose bilateral grave, e sinais como elevação de sódio, cloro e  $\beta$ -2 microglobulina urinária fetal, ou oligoidrâmnio, sendo estes 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 desta uropatia, o percentual de mau prognóstico, em termos de função renal e sobrevida, mantém-se ainda elevado, 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.

## 2.5 – Nefrouropatias Obstrutivas: diagnóstico funcional não invasivo (ultrassonográfico)

### 2.5.1 - Avaliação do volume do líquido amniótico

Durante o primeiro trimestre, a placenta é a principal responsável pela produção do líquido amniótico e, após a 17ª semana de gestação, a produção urinária dos rins fetais torna-se o principal componente do líquido amniótico. Sendo assim, o volume normal de líquido amniótico após 15 semanas de gestação e o desenvolvimento pulmonar normal, podem ser considerados, sinais indiretos de bom funcionamento renal. A urina fetal constitui 90% do líquido amniótico e sua contribuição aumenta progressivamente de 16 a 20 semanas de gestação, segundo Coelho (2007).

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).

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).

É necessário ter cautela, quando a avaliação subjetiva do líquido amniótico depende da experiência do examinador em classifica-lo como: normal, aumentado ou diminuído (LOCATELLI et al., 2004). Também pode ser avaliado através da medida isolada do maior bolsão de líquido, mensurando-se sua profundidade vertical máxima. Nesse caso, considera-se oligodrâmnio

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 a forma mais utilizada para avaliar o volume do líquido amniótico consiste na determinação do índice de líquido amniótico (ILA), originalmente descrito por Phelan et al., 1987, 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 oligodrâmnio 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 presença de oligodrâmnio é sinal de mau prognóstico, sobretudo em fetos com CAKUT (OLIVEIRA, 2002) e LUTO. A idade gestacional no momento do diagnóstico de oligodrâmnio é essencial, principalmente a partir da 17<sup>a</sup> semanas gestacionais, quando o rim torna-se o principal responsável pela produção de líquido amniótico (SAITO; CABRAL; ISFER, 1996).

Foi considerada oligoâmnio grave a redução na quantidade de líquido amniótico, em que o índice deste fosse menor do que 5 cm (MOORE, 1990, JOHNSON, 2007, PERALTA, 2009). Em casos de uropatias obstrutivas baixas, alguns autores sugerem que o oligoâmnio grave é o melhor preditor de resultados adversos (HOBBINS et al., 1984, REZNIK et al., 1989).

A idade gestacional em que o oligoâmnio se instala é crucial para o desfecho da gravidez, pois influencia em maior ou menor grau o desenvolvimento dos pulmões fetais, principais determinantes da sobrevivência. A mortalidade neonatal por hipoplasia pulmonar pode variar de 13%, quando o oligoâmnio se instala no terceiro trimestre, até 100% dos casos, quando o oligoâmnio se manifesta no segundo trimestre (WIGGLESWORTH et al., 1982, MANDEL et al., 1992).

Em uma análise multivariada demonstrou-se 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. (OLIVEIRA et al., 1999)

### 2.5.2 - Avaliação do aspecto do rim fetal

As características que devem ser sempre analisadas nas ultrassonografias seriadas do sistema urinário, durante o período gestacional são: parênquima renal (ecogenicidade, presença de cistos, afinamento, diferenciação córtico-medular, tamanho dos rins), pelve renal (diâmetros anteroposterior maior que 10-15 mm é altamente preditivo de obstrução do trato urinário), grau de hidronefrose (classificado segundo a sociedade fetal de urologia), ureteres (dilatação, tortuosidade, implantação na bexiga), bexiga (espessamento de parede vesical, presença de ureteroceles, volume vesical, esvaziamento, formato vesical), uretra (verificar se existe imagem sugestiva de dilatação da uretra posterior), genitália (sexo, criptorquidia, tamanho peniano quando do sexo masculino) (MOURA, 2017). É importante observar o sexo fetal, pois muitas anormalidades congênitas responsáveis pela hidronefrose estão associadas a ele, como, por exemplo, a maior ocorrência de anomalia obstrutiva no sexo masculino. Por outro lado, anomalias de duplicação e ureterocele são mais comuns no sexo feminino (REDDY; MANDELL, 1998).

O avanço e a modernização nos aparelhos de ultrassonografia resultaram na maior detecção de hidronefrose fetal. A obstrução pode ser definida clinicamente como uma condição de drenagem urinária prejudicada que, não corrigida, poderá limitar a capacidade de reserva funcional renal (PETERS, 1995).

The Society of Fetal Urology (SFU), em 1993, propõe que a gravidade da dilatação renal também pode ser classificada (Figura 10 e 11) 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.

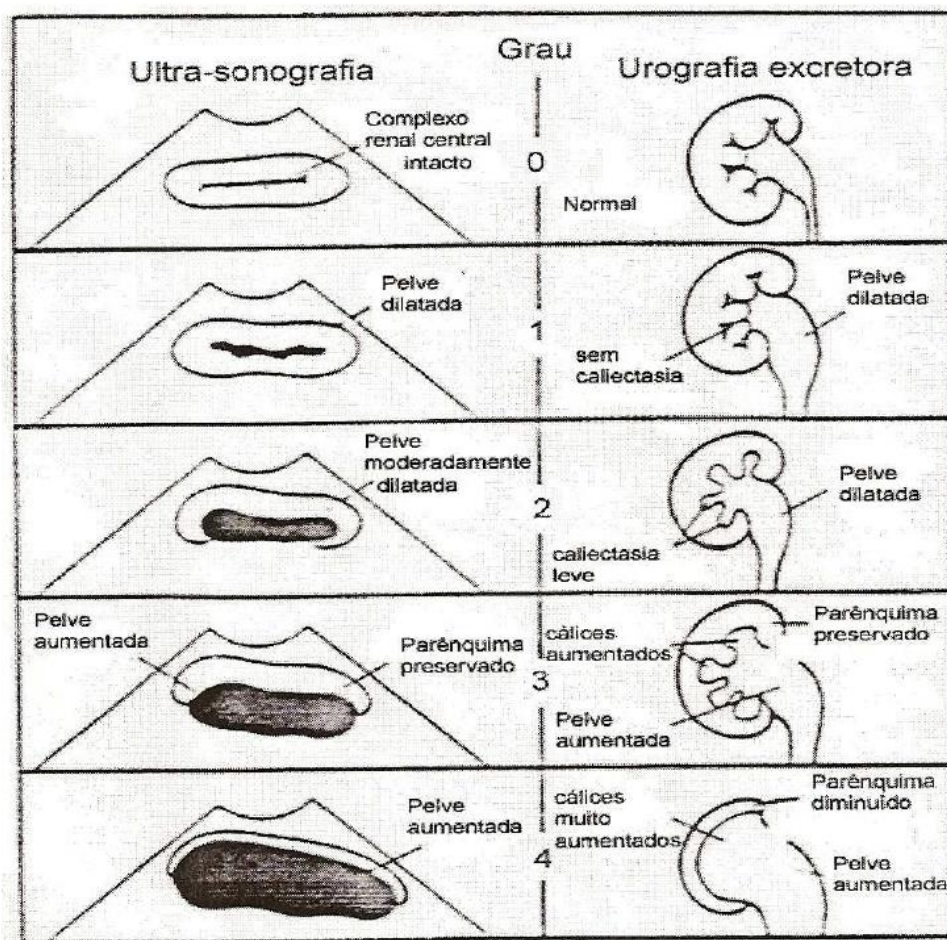
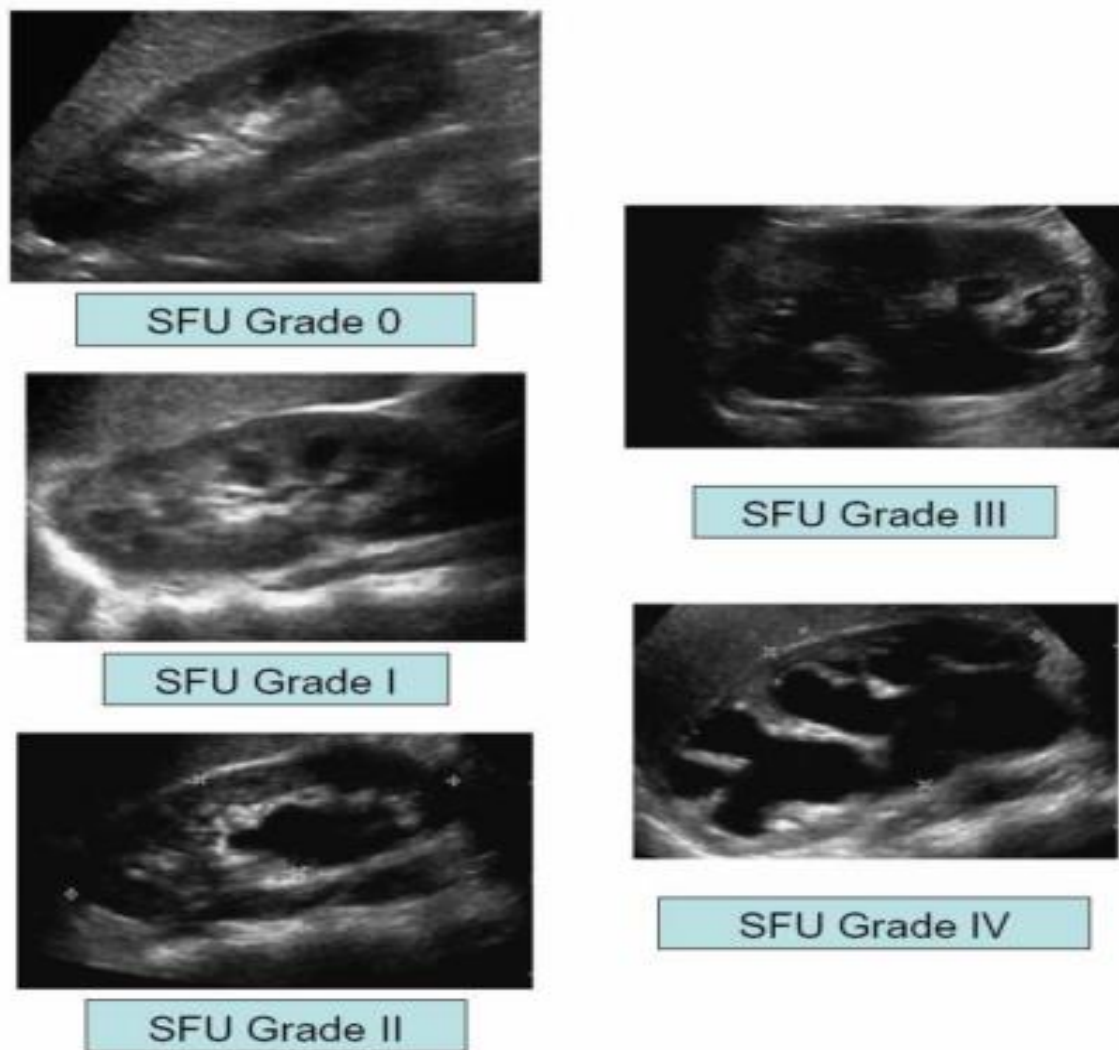


Figura 10 - Classificação da hidronefrose de acordo com *The Society of Fetal Urology (SFU)*. Esquema ilustrativo.



Classificação da hidronefrose neonatal de acordo com a *Society of Fetal Urology* (BERLAMINO; KOGAN, 2006, p.82).

Figura 11- Classificação da hidronefrose neonatal de acordo com a Sociedade de Urologia Fetal (KOGAN, 2006, p.82), *Society of Fetal Urology* (SFU). Esquema ultrassonográfico.

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).

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). Foram considerados parênquimas renais com ecogenicidade alterada aqueles com perda da diferenciação córtico-medular e/ou aumento da ecogenicidade, avaliados de forma subjetiva (PERALTA, 2009). 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 oligodrâmnio 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).

Segundo artigo de Peralta, 2009, considera-se fetos com uropatias obstrutivas bilaterais, aqueles com acometimento bilateral dos rins por uma ou mais das seguintes alterações ecográficas: diâmetro anteroposterior da pelve renal com 5 mm ou mais antes da 20ª semana de gravidez e mais de 10 mm após esta idade gestacional (IG) (GRIGNON et al., 1986, LEE RS et al., 2006, KEAYS et al., 2008); sinais de comprometimento renal, como alterações em ecogenicidade do parênquima ou a presença de cistos em associação a processo obstrutivo.

Segundo Moura (2017), apesar da frequente identificação das malformações urinárias durante a gestação, a intervenção intra-útero ainda é extremamente controversa, estando indicada em apenas raros e muito selecionados casos que cursam com hidronefrose bilateral, oligoâmnio, marcadores prognósticos (sódio, cloro, osmolaridade,  $\beta$ 2 microglobulina, cálcio) normais, cariótipo normal e com rins sem alterações displásicas evidentes.

### 2.5.3 – Avaliação do aspecto da bexiga fetal

A bexiga normal pode ser visibilizada no início da produção urinária, que ocorre em torno da nona à 10ª semana de gestação, como estrutura anecóica na pelve, variável de acordo com a repleção vesical fetal durante o exame. Durante avaliação de rotina entre 18 e 20 semanas, a bexiga deve ser identificada em 100% dos casos durante os 15 a 20 minutos de exame. A bexiga fetal normal torna-se repleta e esvazia-se a cada 30 a 45 minutos. A observação ecográfica seriada da bexiga fetal é importante na avaliação da função renal, já que permite acompanhar um padrão de repleção/esvaziamento constante e uma atividade periódica de micção. A visibilização desse padrão é um sinal de que a produção urinária está ocorrendo de forma satisfatória (MANNING, 1989).

A presença de urina na bexiga implica no funcionamento de pelo menos um dos rins. O espessamento da parede da bexiga fetal sugere obstrução uretral, como válvula de uretra posterior em fetos masculinos, pois ela em seu estado habitual é delgada. Se a bexiga não é visualizada, diagnósticos como agenesia renal bilateral ou extrofia vesical, devem ser suspeitados (COHEN et al., 2004).

A bexiga arredondada e centralizada pode ser indício de megabexiga, especialmente quando seu eixo longitudinal se torna maior que 5 cm por período de 60 minutos de observação intermitente. A parede vesical não deve ser mais espessa que 2-3 mm (McHUGO; WHITTLE, 2001; TWINING et al., 2003). Em presença de obstrução uretral, as paredes podem tornar-se espessas e hipertróficas, podendo atingir até 12 mm (PATTEN et al., 1990). Em suma, a bexiga deve ser avaliada na sua espessura, distensão e habilidade para esvaziar-se (COELHO, 2007).

### 2.5.4 – Avaliação do aspecto dos ureteres fetais

Os ureteres fetais normais não são visualizados ao exame ultrassonográficos.

Os ureteres, mesmo em casos de obstrução, não são em geral visíveis, a bexiga fetal é normal e a quantidade de líquido amniótico não se altera,

principalmente, quando o rim contralateral é normal, caso tenhamos a presença de oligodrômio, isso acarreta um mau prognóstico (BASTOS, 2007).

Entretanto, na presença de megaureter, este é visualizado e pode ser indicativo de obstrução ureteral, vesical ou refluxo vesicoureteral (DUVAL et al., 1985).

## 2.6 – Nefrouropatias Obstrutivas: Diagnóstico Funcional Invasivo (Marcadores Bioquímicos)

A maioria dos marcadores tem ampla gama de valores que se sobrepõem em indivíduos saudáveis, o que torna a identificação de um biomarcador ideal uma tarefa desafiadora, uma vez que o mesmo tem de ser altamente sensível, específico, e possuir um alto valor preditivo. Além disso, para ser inserido na prática clínica, o teste para o biomarcador deve ser de fácil acesso e estar amplamente disponível, com baixo custo e de fácil utilização, bem como apresentar resultados reproduzíveis, segundo Chevalier (2004).

Proteínas urinárias são capazes de fornecer informações da situação fisiológica e tem o potencial para ser utilizadas como ferramentas para a detecção precoce da doença, bem como para a escolha do tratamento e monitorização adequados (LUCARELLI et al., 2014).

As uropatias obstrutivas possuem lenta evolução e possível degradação da função renal. O equilíbrio hidroeletrólítico 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 (EKBLUM, 1994). Ela pode ser avaliada bioquimicamente a partir da 15<sup>a</sup> 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).

Os marcadores urinários podem evidenciar estágios iniciais de lesão renal, apontando a necessidade de intervenção cirúrgica precoce (CAUBET et al., 2010). Podem ainda servir como ferramenta de monitoramento, permitindo controle evolutivo (MADSEN et al., 2011). Através da análise bioquímica da urina fetal, vários eletrólitos e proteínas têm sido dosados na urina fetal com

objetivo de se determinar aquele que melhor se correlaciona com a real função renal (JOHNSON et al., 1994).

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.

Diversos estudos têm se empenhado na tentativa de determinar o grau de acometimento da função renal intraútero. Através da análise bioquímica, vários eletrólitos e proteínas têm sido dosados com intuito de se determinar aquele que melhor se correlaciona com a real função renal (OLIVEIRA, 2001).

A seguir, alguns marcadores bioquímicos utilizados para avaliar a função renal no feto:

#### 2.6.1 – Sódio

O sódio é o maior cátion extracelular. Há muitos mecanismos envolvidos na regulação do sódio. Há componentes neurais, endócrinos e mesmo renais que controlam sua função (BRACE, 1995). Na IRA do adulto, a excreção fracionada de sódio é o teste de triagem mais preciso para diferenciar entre origem pré-renal da intrarrenal. Um valor abaixo de 1% sugere doença pré-renal. Em contrapartida, entre pacientes com doença renal crônica, uma doença pré-renal coexistente pode não resultar em uma baixa concentração de sódio urinário ou excreção fracionada de sódio (PERES, 2013). Já na gestação, à medida que esta 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 túbulos proximais de responderem a angiotensina II. A reabsorção de sódio pelo rim fetal, no final da gestação, varia entre 85-95% da carga filtrada. A medida do sódio na urina fetal diminui com a evolução da gestação (NICOLINI et al., 1992).

Segundo Glick et al., em 1985, em uma avaliação retrospectiva da urina de 20 fetos, onde havia sido introduzido cateter vesico-amniótico, encontraram

níveis de sódio mais altos nos que evoluíram com insuficiência renal no período pós-natal.

Nicolini et al. (1992), também verificaram a diminuição progressiva do nível de sódio durante a gestação. Porém, em fetos com displasia renal, mostrou-se uma elevada concentração de sódio urinário.

Fato este também verificado por Nicolaides que referiu, em um estudo retrospectivo em 1992, fetos que apresentam dano tubular decorrente de displasia renal com obstrução, possuem elevada concentração de sódio urinário (NICOLAIDES et al., 1992). Ainda relatou uma correlação direta entre os níveis de maturação da função renal fetal com a avaliação bioquímica da urina, pois com a 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 da urina, observando que a presença de urina fetal hipotônica sugere função glomerular e tubular normais.

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

Na avaliação, dos níveis de sódio, em 19 fetos com diagnóstico pré-natal de obstrução urinária baixa e, que sobreviveram, nove deles apresentaram insuficiência renal e 10 evoluíram com função renal normal, demonstrando que a medida do sódio apresentou sensibilidade de 44% e especificidade de 100% para detecção de insuficiência renal (MIGUELEZ et al., 2006).

### 2.6.2 – Potássio

À semelhança de outros eletrólitos, o potássio é filtrado pelo glomérulo junto aos túbulos proximais, e também no ramo ascendente da alça de Henle. A taxa de secreção do potássio é induzida diretamente pela de sódio, pois os mecanismos que influenciam a reabsorção do sódio são responsáveis também pela secreção de potássio (BRACE, 1995).

Segundo o estudo de Daffos et al. (1988) as concentrações de potássio na urina fetal são constantes ao longo da gestação e apresentaram uma concentração média de 4,2 mEq/L. Assim como no de Bauk et al. (1996) onde as concentrações de potássio não variaram significativamente no decorrer da

gestação. Diferente do achado de Nicolini et al. (1992), mostraram que as concentrações de potássio em gestações normais apresentavam concentrações decrescentes ao longo da gestação.

Segundo alguns autores, como relatado na tese de Bernardes (2010), questionam o uso da avaliação dos eletrólitos da urina fetal na predição de insuficiência renal pós-natal, uma vez que os diferentes estudos sobre o tema apresentam resultados variáveis.

### 2.6.3 – Cloro

Os rins são os principais reguladores da concentração plasmática do cloro, sendo a excreção urinária influenciada pela concentração plasmática. Os cloretos são reabsorvidos através do epitélio tubular, sendo que 3/4 do filtrado é reabsorvido a partir dos túbulos proximais, 1/5 na porção ascendente da alça de Henle e o restante nos sistemas coletores (BRACE, 1995).

No estudo de Daffos et al., 1988, há redução das concentrações do cloro de 105 para 100 mEq/L, comparando-se do início da gestação ao termo.

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

As concentrações de cloro menores que 90 mEq/ml estão relacionadas com boa evolução perinatal, principalmente quando associado a outros parâmetros bioquímicos e ultrassonográficos (SANTOS, 2008).

Com a mesma tendência que o sódio, segundo Glick et al., em 1985, o cloro demonstrou níveis mais elevados nos fetos que evoluíram para insuficiência renal no período pós-natal, em seu estudo retrospectivo onde havia sido introduzido cateter vesico-amniótico durante a gestação. Níveis elevados de cloro também foram observados em fetos com displasia renal e obstrução, no estudo de Nicolaidis et al. (1992), havendo correlação com altos valores deste eletrólito e a presença de insuficiência renal após um ano de vida.

Ainda no estudo de Miguelez et al. (2006), observou-se que dos 19 fetos com diagnóstico pré-natal de obstrução urinária baixa que sobreviveram, nove

com insuficiência renal e 10 com funcionalidade renal preservada, que o cloro teve sensibilidade de 56% e especificidade de 76%.

#### 2.6.4 – Creatinina

A creatinina é derivada principalmente do metabolismo da creatina muscular e a sua produção é diretamente proporcional à massa muscular. Assim, é de se esperar que, em geral, a produção de creatinina seja maior nos homens do que nas mulheres e nos jovens comparados aos idosos (KIMMEL et al., 1996). A influência da raça no nível de creatinina é importante em alguns grupos étnicos e raças, como, por exemplo, o negro americano, que possui maior massa muscular do que o branco (BASTOS, 2007).

Apesar da depuração da creatinina apresentar boa correlação com a determinação da TFG pela inulina, ter excreção relativamente constante durante o dia e ser reproduzível e realizável na maioria dos laboratórios de análise clínicas, segundo Bastos (2007), é importante reconhecer, que a creatinina per se não é um bom marcador da TFG, pois o ensaio tradicional mede além da creatinina o picrato alcalino, adicionalmente é importante lembrar que a excreção urinária de creatinina decorre da filtração glomerular (via principal) mais também por secreção tubular (túbulo contorcido proximal), assim a depuração da creatinina superestima a TFG (STEVENS et al., 2006).

Sua dosagem depende da idade, do sexo, estado nutricional e massa muscular, além da dieta, pois dietas hipoprotéicas levam a queda da creatinina e a ingestão de carne cozida leva a conversão da creatina em creatinina, além da influência do uso de certos medicamentos como o uso do Trimetropim e Cimetidina (BASTOS, 2007, K/DOKI GUIDELINES, 2002, STEVENS, 2006).

Os níveis de creatinina aumentam gradativamente ao longo da gestação, entre a 20ª e 32ª semanas. Na primeira metade da gestação a concentração de creatinina materno e no soro fetal são semelhantes. Após a 32ª semana de gestação os níveis de creatinina fetal medida no líquido amniótico alcançam 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 a maturidade renal, estudos mostram que a

concentração de creatinina se correlaciona melhor com a maturidade renal, quando comparados os dois fatores (MUSSAP et al., 1995).

#### 2.6.5 - $\beta$ 2-microglobulina

A  $\beta$ 2 microglobulina ( $\beta$ 2M) é uma proteína pequena (12 kDA) filtrada através do glomérulo e quase completamente reabsorvida pelas células tubulares proximais de modo que apenas 0,3% da  $\beta$ 2-M filtrada são encontrados na urina (BARTOLI et al., 2000).

Sua função ainda não é totalmente conhecida.

Disfunções glomerulares ou tubulares podem elevar a concentração urinária  $\beta$ 2M até centenas de vezes. Lesões glomerulares geram escape de proteínas de alto peso molecular, resultando em uma elevada carga de proteínas nos túbulos, que competem com a absorção tubular da  $\beta$ 2M e, por conseguinte, aumenta a sua excreção na urina. Lesões tubulares podem comprometer de forma direta a reabsorção tubular, igualmente causando elevação nas concentrações urinárias (DIETERLE et al., 2010).

Desta forma,  $\beta$ 2M é considerada como um marcador confiável da função tubular proximal quando a sua produção e a filtração glomerular são normais e proteinúria está ausente ou limitada a valores mínimos (MIRANDA, 2016).

Por causa do baixo peso molecular, a  $\beta$ 2-M é filtrada pelos túbulos 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 estudos com fetos, os níveis séricos de  $\beta$ 2-M são detectados a partir da 11ª semana. A reabsorção prejudicada é visto em fetos com displasia renal bilateral ou uropatia obstrutiva bilateral grave, ocasionando níveis anormais urinários de eletrólitos,  $\beta$ 2-microglobulina e osmolaridade (MULLER et al., 1993).

Segundo relato de estudo de Nicolaidis (1992) amostras de urina fetal com concentrações de  $\beta$ 2-microglobulina inferior a 6 mg/L indicam boa função renal fetal.

### 2.6.6 – Osmolaridade

Os mecanismos de concentração urinária são avaliados pela osmolaridade. Para ajustar a osmolaridade, o rim deve ser capaz de separar a reabsorção de íons, como o sódio, da reabsorção de água. Quando há ingestão excessiva de água, o rim deve eliminar a quantidade extra de líquido sem perda de íons, não havendo secreção do hormônio antidiurético e tornando os ductos excretórios impermeáveis à água. No entanto, se há escassez de água, os ductos se tornam permeáveis, ocasionando a reabsorção passiva da água. A permeabilidade dos ductos coletores é controlada pelo hormônio antidiurético (SAUDAN, 1998).

No estudo de Daffos, 1988, os valores da osmolaridade reduzem de 280 para 260 mOsm/kg se comparados no início e final da gestação.

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

As dosagens da osmolaridade são de suma importância para avaliar a função renal dos fetos com algum comprometimento renal (HARRISON & FILLY, 1988).

Os valores da osmolaridade urinária fetal abaixo de 210 mOsm/l são considerados normais, segundo Pereira (2005). Este é um dos principais parâmetros utilizados no CEMEFE para definir a conduta pré-natal nos fetos com alterações renais suspeitas ao exame de ultrassonografia, sendo este um dos indicadores da preservação da função renal, tornando-se candidatos a inserção de derivação vesico-amniótica ou outros procedimentos no pré-natal, para preservação da função renal, conforme esclarecimento e autorização dos genitores.

### 2.6.7 – A Uromodulina ou Proteína de Tamm-Horsfall (THP)

Igor Tamm e Frank L. Horsfall (1950) denominaram-na de proteína de Tamm-Horsfall (THP), determinando que possuía excreção urinária estimada em valores de até 17 mg/L . Tem peso molecular de 80-90 kDa, ancorada a

glicosilfosfatidilinositol (GPI), produzida pelo ramo espesso ascendente da alça de Henle e codificada pelo gene UMOD (SCHMITZ, 2012).

É uma glicoproteína presente na urina humana e de outros animais, capaz de inibir a hemaglutinação viral.

A atuação da uromodulina na lesão renal aguda, doença renal crônica e inflamação renal tem suscitado interesse em vários autores. Estudos recentes, ao contrário da visão convencional, que acreditava ser o papel da uromodulina compatível com um modulador da lesão renal, demonstram em camundongos, que esta glicoproteína parece apresentar um papel protetor na lesão renal aguda, provavelmente através da regulação da inflamação intersticial, retardando o processo inflamatório (EL-ACHKAR; WU, 2012).

Observou-se que o aumento na produção e secreção de THP coincide com a maturação celular, ou seja, com a evolução da gestação. Após a 20ª semana de gestação, a concentração de THP começou a se elevar, com um aumento exponencial após a 30ª semana. Além de sua concentração no líquido amniótico ter como fonte única o rim fetal, não sofrendo influência de outros fatores, como, por exemplo, os maternos. As dosagens detectadas no líquido amniótico a partir da 20ª semana até o final da gestação variaram entre 0,4 mg/l e 4,0 mg/l. Sendo sugerido por Zimmerhackl (1996) que concentrações de THP acima de 0,4 mg/l representa adequado funcionamento do sistema tubular renal.

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).

Segundo Botelho (2016) a dosagem da uromodulina se mostrou possível e quantificável em amostras de urina fetal e em líquido amniótico, demonstrando uma tendência de redução dos valores urinários em fetos em que há comprometimento renal no pré-natal. Concluindo-se em seu estudo que valores elevados de uromodulina nas dosagens de urina fetal ou líquido amniótico podem significar uma função renal preservada.

### 2.6.8 – Alguns outros Biomarcadores precoces de injúria renal

Esforços para prevenir a nefrotoxicidade foram prejudicados pelo atraso no diagnóstico da insuficiência renal aguda (IRA) por critérios utilizando somente a creatinina como marcador, havendo, por isso, grande interesse em identificar mais precocemente biomarcadores confiáveis (SIROTA et al., 2011). A identificação de pacientes que apresentam elevado risco de desenvolver IRA pode estimular uma abordagem mais precoce e os novos biomarcadores podem estratificar melhor os riscos e reduzir a ocorrência da doença renal crônica (DRC) (SIEW et al., 2012). Um biomarcador ideal seria aquele que fosse facilmente mensurável, sem intercorrência de outras variáveis biológicas e capazes tanto de detectar precocemente uma lesão renal, quanto de estratificar seu risco. (CULLEN et al., 2012).

Desta forma estão sendo propostos, em trabalhos atuais, os seguintes biomarcadores: Cistatina C,  $\beta$ 2- microglobulina, NGAL (Lipoproteína associada com gelatinase de neutrófilos humanos), NAG (N-acetil B-D-glucosaminidase), KIM-1 (molécula de injúria renal tipo 1 ou kidney Injury Molecule-1), IL-18 (Interleucina-18 ou Interleucina-18), Netrina 1, MCP-1 (Peptídeo-1 quimiotático para monócitos), FABP (Proteínas de ligação de ácidos graxos), Vanina-1, CA19-9 (Antígeno de carboidrato 19-9).

Neste contexto observa-se, por exemplo, que: KIM-1 pode elevar-se na urina por lesão tubular proximal, NGAL por lesão no túbulo proximal, distal ou alça de Henle, CA-19-9 por produção excessiva no túbulo obstruído e  $\beta$ 2-microglobulina ( $\beta$ 2M) por injúria ao glomérulo ou ao túbulo proximal (MIRANDA, 2016), CA19-9 (elevada na hidronefrose benigna, como na nefropatia obstrutiva congênita) (KAJBAFZADEH et al., 2010).

Dentre os biomarcadores emergentes mais estudados estão: NGAL, interleucina-18, KIM-1, cistatina-C, L-FABP, NAG, netrina-1, vanina-1 e MCP-1 (Peres et al., 2013). Destes biomarcadores, NGAL é o mais utilizado em estudos clínicos, NGAL e L-FABP são os mais precoces, sendo KIM-1 e IL-18 tardiamente detectados com melhor especificidade. Combinação de marcadores metabólicos mostra-se promissora devido à sua estabilidade superior em comparação à maioria das proteínas e a disponibilidade de melhores métodos de validação e quantificação. Neste momento de

desenvolvimento de novos marcadores, os biomarcadores proteicos da função renal devem trazer um maior impacto na prática clínica do que as estratégias de novos marcadores metabólicos. (Sirota et al., 2011, Slocum et al., 2012, Tesch et al., 2010).

## 2.6.9 – A Cistatina C

### 2.6.9.1 – Aspectos históricos: A descoberta da Cistatina C

A Cistatina C foi descoberta em 1961 e se sugeriu em 1985 que a mesma poderia ser utilizada como marcador renal, porém foi só em 1999 que ela começou a ser realmente utilizada para tal propósito (PRATES et al., 2007, GUYTON, 2005, MARTINS et al., 2003).

### 2.6.9.2 – Estrutura e localização

A cistatina é uma proteína de baixo peso molecular, 13,3 kDa, da família das cistino-proteases, produzida pelos lisossomos de células nucleadas, presente em diversos fluidos biológicos e seu nível sanguíneo é constante e independe da massa muscular (FILLER et al., 2005). Embora filtrada livremente através do glomérulo, a cistatina C, semelhantemente a outras moléculas de baixo peso molecular, é reabsorvida e totalmente metabolizada nos túbulos proximais (GRUBB, 2000, TENSTAD et al., 1996).

Estruturalmente é composta por 120 aminoácidos e sintetizada pelo gene CST3, localizado no braço curto do cromossomo 20. Como este gene é expresso em todas as células nucleadas o ritmo de produção é constante. Tem um ponto isoelétrico de 9,3 e é carregada positivamente em todos os líquidos corporais onde foi encontrada.

Além do seu alto ponto isoelétrico, o baixo peso molecular de 13,3 KDa, permite que seja livremente filtrada pelos glomérulos e totalmente reabsorvida e catabolizada nos túbulos proximais, semelhantemente a outras moléculas de baixo peso molecular, não retornando à corrente sanguínea na sua forma intacta, mas pode retornar em seus aminoácidos constituintes, (SALGADO, 2009, PRATES et al., 2007, RAMOS et al., 2010, CANEVESE, 2008) sendo

assim sua concentração sérica depende do ritmo de filtração glomerular (CANEVESE, 2008). Praticamente a cistatina C não é excretada na urina (SODRÉ et al., 2007, SALGADO, 2009), em condições normais.

A cistatina C tem uma estrutura tridimensional como demonstrado na figura 12.

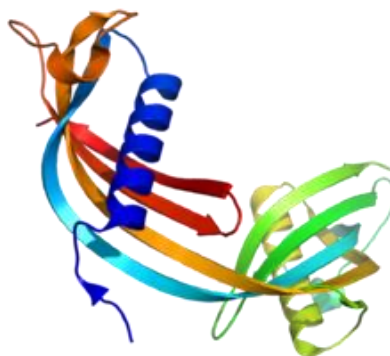


Figura 12: Estrutura da Cistatina C (Fonte: Wikipedia, site imagens tridimensionais da cistatina C, acesso em: jan. 2017)

#### 2.6.9.3 – Papel da Cistatina C

Pertence à família dos inibidores da cisteína proteases que são enzimas envolvidas em processos patológicos como estado de inflamação, doenças neurológicas, invasão tumoral e formação de metástases (OKAY, 2002). Sabe-se que a cistatina C tem como função inibir as proteases da cisteína quando estas vertem dos lisossomos das células doentes ou rompidas preservando o tecido conjuntivo (PRATES, 2005).

Durante processos infecciosos, inflamatórios ou febre parece não ocorrer alterações na concentração sérica da cistatina C (CANEVESE, 2008, PRATES, 2005) e também não sofre influência de outras proteínas de baixo peso molecular como proteína ligadora ao retinol e  $\beta 2$  microglobulina durante processos inflamatórios ou infecciosos e de desnutrição grave. Porém em algumas doenças malignas pode ocorrer aumento dos níveis de cistatina C mesmo quando não há doença renal, isto é, os níveis podem ser influenciados por determinados processos patológicos (CANEVESE, 2008). A estabilidade no

soro é de 7 dias em temperatura ambiente, podendo ser congelado e estocado por meses, pois resiste a vários ciclos de congelamento e descongelamento (RAMOS et al., 2010). Os níveis séricos entre homens, mulheres e crianças tem pouca variação devido à sua produção constante ao contrário da creatinina que é dependente da massa muscular do indivíduo (PRATES, 2005, FILHO, 2009). Em crianças os níveis de cistatina C são estáveis após 1 ano de idade e independem da massa corporal, sexo, altura e níveis de bilirrubina, mas podem ser influenciados por cetonúria em crianças diabéticas ou nos casos de administração de drogas como ciclosporina A e metilprednisolona superestimando ou subestimando respectivamente os níveis séricos de cistatina C (ZAFFANELLO et al., 2007). Outros interferentes que podem atuar sobre a cistatina C são corticóides, aumentando sua produção e concentração sérica, também os hormônios tireoidianos que atuam aumentando a produção celular da cistatina C, sendo mais baixos nos casos de hipotireoidismo e elevados no hipertireoidismo (CAMARGO, 2011). Os valores de referência variam de acordo com o método analítico utilizado.

Adicionalmente, a menor variabilidade nas determinações sanguíneas da cistatina C, sua meia-vida mais curta e o seu menor volume de distribuição tornam a cistatina C um marcador de função glomerular com maior sensibilidade para detectar diminuições leves da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) na Doença Renal Crônica (DRC) do que a creatinina e outras moléculas de baixo peso molecular (ARONSON et al., 2004).

Digna de nota é a observação do aumento da cistatina C na vigência de leve diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) da ordem de 70 a 90 ml/min, ou seja, naquela em que a creatinina ainda não é detectada (ARONSON et al., 2004, SCHRIER, 2008). Além disso, estudos recentes mostraram que a cistatina C se eleva precocemente na insuficiência renal aguda em pacientes internados em unidades de tratamento intensivo (KLEIN et al., 2008), após transplante hepático (HEWITT et al., 2004), cirurgia cardíaca (HAN et al., 2008), quimioterapia com cisplatina (HIMMELFARB et al., 2008), angiografia cardíaca (BAGSHAW et al., 2008, PARIKH et al., 2005), após nefrectomia unilateral (COCA et al., 2008) e na progressão da nefropatia diabética (SONI et al., 2009).

Medidas da cistatina C podem também ser úteis na detecção precoce de doenças renais quando outros exames ainda estão normais e a pessoa tem pouco ou nenhum sintoma. Além de disfunção renal, estudos recentes sugerem que níveis aumentados de cistatina C podem indicar um risco aumentado de doença cardíaca, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral e morte (SHLIPAK et al., 2013, Lab tests on line, Cistatina C, acesso 2015).

Em transplantes renais as taxas de cistatina C foram, em alguns estudos, similares ao nível de creatinina, em contraste com outros marcadores inflamatórios estudados (níveis de IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$  no soro), tanto nos pacientes com biópsia quanto naqueles sem biópsia. Quando comparados com estes outros biomarcadores inflamatórios, a creatinina sérica e a cistatina C demonstrarem serem bons preditores de disfunção precoce dos enxertos dos pacientes nefro-transplantados e puderam ser utilizados para ação precoce na prevenção da perda funcional do enxerto (SALGADO et al., 2011).

Além do fato da validade e acessibilidade do teste com cistatina C ter sido bastante melhorado com a liberação de certificação de material referenciado em estudos para calibragem laboratorial segundo Grubb e Blirup-Jensen (GRUBB et al., 2010, BLIRUP-JESEN et al., 2008), acrescido do desenvolvimento de novos e menos dispendiosos métodos para análise automática (LEVEY et al., 2012).

O estudo de Andrew Levey (LEVEY et al., 2012) ainda desenvolveu e validou duas novas equações para estimar o ritmo de filtração glomerular (RFG), um utilizando somente a cistatina C padronizada e outra combinando cistatina C com creatinina padronizada em diversas populações. Estes autores ainda avaliaram suas novas equações em comparação com outras já existentes, como dos autores Levey AS et al., 2009, Levey AS et al., 2011 e Stevens LA et al., 2008 e testaram sua utilidade na melhoria da classificação de pacientes com doença renal crônica.

Uma equipe internacional que participa do Consórcio de Prognóstico da Doença Renal Crônica, da Universidade de Johns Hopkins Bloomberg (Escola de Saúde Pública), nos EUA, analisou os resultados de 11 estudos feitos com 90.750 pessoas dos EUA, Europa e Austrália, além de mais de cinco estudos com 2.960 pacientes com doença renal crônica (DRC) que eram monitoradas pelos níveis de creatinina sérica e cistatina C (SHLIPAK et al., 2013).

Segundo, Michael Shlipak, é evidente que a cistatina C define um importante período pré-clínico da função renal reduzida antes de doença renal crônica poder ser diagnosticada com creatinina sozinha, e este período pode durar 1-2 anos (SHLIPAK, et al., 2013).

Em saúde pública, segundo Salgado (2013) a cistatina C pode ser utilizada como marcador confiável para detectar tanto disfunções renais iniciais quanto para prevenir a morbidade e letalidade dos riscos cardiovasculares (SALGADO et al., 2013).

Estudo que realiza estimativa da filtração glomerular em crianças foi sugerido à realização de provas adicionais a dosagem da creatinina, como a concentração sérica da cistatina C, em casos de dúvidas, e nos casos em que as equações baseadas na creatinina não se demonstrarem adequadas (como em indivíduos com cirrose hepática, obesos extremos, em desnutridos ou com massa muscular reduzida). Foi recomendado ainda que as concentrações séricas da cistatina C deveriam ser expressas em mg/L com uma aproximação de 2 decimais, além de sugerido que os laboratórios informem o método utilizado para a medida da concentração sérica da cistatina C (BERMÚDEZA et al., 2014).

A equação atualmente mais utilizada para o cálculo da taxa de filtração glomerular estimada é a chamada equação MDRD (estudo "*Modification of Diet in Renal Disease*") recomendada pela "*National Kidney Foundation*". Uma versão simplificada da equação do MDRD original foi apresentada, utilizando apenas dados de idade, sexo, etnia e creatinina sérica (ROSENTHAL et al., 2007, POGGIO et al., 2006, LUPOVITCH, 2002).

Até o momento, apenas substâncias exógenas têm sido consideradas como marcadores ideais para a determinação da TFG, entre elas destacam-se a inulina, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), o ácido etilenodiaminopentacético (DTPA), o iotalamato e, recentemente, o iohexol. Entretanto, o uso de tais substâncias é limitado a alguns protocolos ou situações em que a informação precisa sobre a função renal é mandatória, uma vez que as técnicas são caras, requerem tempo prolongado para sua realização e não são práticas para uso rotineiro (HOJS et al., 2006, MARTINEZ et al., 2003, DEINUM et al., 2000, DHARNIDHARKA et al., 2002).

O método considerado mais específico para determinar a taxa de filtração glomerular é o “*clearance*” de inulina. Inicia-se pela infusão intravenosa de inulina e realiza colheita de amostras de urina seriada durante algumas horas. Os volumes são anotados e a inulina é medida em cada amostra para determinação da taxa de filtração glomerular. Outros métodos de determinação da taxa de filtração glomerular, como os que usam isótopos radioativos, não são exames de rotina, e sim utilizados em ambientes de pesquisa. Não estando acessíveis nos laboratórios clínicos disponíveis ao público em geral (LAB TESTS ON LINE, acesso 2015).

Hipótese de viés seria que: o emprego mais frequente da cistatina C tem mostrado algumas limitações para o seu uso como marcador da Taxa de Filtração Glomerular (TFG): hipertireoidismo não tratado se associa com leve aumento e o hipotireoidismo com leve redução dos níveis sanguíneos da cistatina C, alterações que normalizam na restauração do estado eutireoideo (ROYAKKERS et al., 2011). Também se observou que altas doses de corticosteroides aumentam as concentrações sanguíneas da cistatina C em pacientes submetidos a transplante de órgãos sólidos, sendo associados à hiper-homocisteinúria, que é observada com frequência em pacientes que foram submetidos a transplantes renais, e na progressão de doenças hepáticas, além de doenças reumáticas e em certos tipos de câncer, sendo suas taxas diminuídas no uso de ciclosporina (SCHMIDT-OTT et al., 2006).

A doença renal crônica afeta mais do que 10% dos adultos no mundo. Os pesquisadores observam que, ao contrário da creatinina, a cistatina C não é afetada pela massa muscular, e, portanto, requer menos o ajuste para fatores como idade e sexo. Além disso, a cistatina C funciona de forma semelhante como um marcador da função renal em negros e brancos (SHLIPAK et al., 2013), ou seja, as concentrações de cistatina C não são afetadas por gênero, idade ou etnia, infecção, dieta, inflamação nem pela maioria dos medicamentos.

Estudo comparativo entre a creatinina e a cistatina C plasmática foi submetido à revisão sistemática e meta-análise, sendo a hipótese confirmada, ou seja, a cistatina C ( $r=0,816$ ; 95% de intervalo de confiança, 0,804 a 0,826) teve desempenho melhor do que a creatinina sérica ( $r=0,742$ , 95% de intervalo de confiança, 0,726 a 0,7580,  $P<0,001$ ) na avaliação do ritmo de filtração

glomerular (RFG). Concluiu-se que, como os dados disponíveis na literatura, a cistatina C é claramente superior à creatinina na avaliação da função renal (DHARNIDHARKA et al., 2002).

#### 2.6.9.4 – Produção da cistatina C na Vida Fetal

É interessante lembrar que mesmo na vida intrauterina as malformações do trato urinário fetal representam cerca de 20-30% do total das anomalias estruturais diagnosticáveis durante o pré-natal (PERALTA et al., 2009). Dentre elas, as uropatias obstrutivas são as mais frequentes e constituem as principais causas de falência renal antes do segundo ano de vida. (DICKE et al., 2006).

Alguns autores, tem pesquisado este biomarcador em urina fetal, dosando a cistatina C retrospectivamente em urina de 3 grupos de fetos com uropatias obstrutivas crônicas, com diagnóstico confirmado no pós-natal, separando-os pela gravidade da patologia renal, ou seja, pela gradação de sua funcionalidade classificando-os em: grave, moderada e leve (está última apesar da uropatia bilateral, com volume de líquido amniótico normal ou oligodrâmnia moderado e sem alterações maiores na estrutura do parênquima renal), sendo mais difícil prever o prognóstico da doença apenas pela ultrassonografia que permite determinar o local específico da obstrução, o volume de líquido amniótico e a estrutura do parênquima renal). Além de compararem com a creatinina sérica dessas mesmas crianças, no caso das que sobreviveram, com 1 ano de idade. Nas crianças com creatinina sérica normal com 1 ano de idade, mesmo com a uropatia obstrutiva bilateral diagnosticadas pela ultrassonografia pré-natal, foram consideradas evolutivamente como pacientes normais. Estes mesmos autores encontraram valores estatisticamente significativos em relação aos grupos com falência renal grave, onde as taxas de cistatina C se encontravam bastante elevados, quando comparados com os outros dois grupos, além de diferenças estatísticas também significativas entre os grupos moderado e o considerado normal ao final de 1 ano. Concluíram, ao final do estudo, que a ultrassonografia, o sódio urinário, a Beta-2microglobulina e a cistatina C, tem a mesma especificidade para distinguir a falência renal severa, confirmando ser a ultrassonografia um exame confiável na definição do prognóstico reservado. No entanto, também concluíram que para distinguir

entre a falência renal pós-natal e o bom funcionamento renal, tanto os sinais ultrassonográficos quanto o sódio urinário fetal eram ineficientes, enquanto a Beta-2microglobulina e a cistatina C eram igualmente confiáveis e ambas se correlacionavam de forma satisfatória com a creatinina sérica 1 ano após o nascimento (MULLER et al., 1999).

Na busca atual da cistatina C na curva ROC em fetos, não foram encontrados trabalhos científicos, apenas em recém-natos como no estudo de Askenazi et al. de 2012, onde verificou-se que a cistatina C em comparação com outros 7 biomarcadores da urina neonatal, demonstrou estar entre os 3 melhores biomarcadores com a área sob a curva ROC (AUC = "area under the receiver operating characteristic curve", ou seja, área sob a curva ROC) = 0.82 (assim como o uso isolado do Fator de Crescimento Epitelial (EGF) onde o AUC = 0.18 e a Uromodulina (UMOD) onde o AUC = 0.23), sendo testado os três biomarcadores em conjunto com AUC de 0.81, sem melhora estatística, em relação ao uso isolado da cistatina C utilizado separadamente para detecção de injúria renal aguda (AKI= acute kidney injury) neste estudo, que demonstrou o melhor desempenho. Além do estudo de Parvex et al. (2012) que demonstrou aumento estatístico significativo da cistatina C em sangue colhido do cordão umbilical de neonatos apresentando malformação renal bilateral quando comparado com neonatos nascidos a termo com malformação renal unilateral ou controles sem uropatia, demonstrado em uma curva ROC com os controles uma sensibilidade de 69% e especificidade de 86%.

### 3 – OBJETIVOS

### 3 – OBJETIVOS

1) Objetivo principal:

1.1) Verificar se há ou não diferença entre as concentrações da proteína cistatina C em fetos com e sem uropatia obstrutiva baixa;

2) Objetivos específicos:

2.1) Verificar se há ou não diferença significativa entre as concentrações de cistatina C na urina de fetos com uropatia obstrutiva baixa e osmolaridade normal e alterada;

2.2) Verificar a acurácia da cistatina C como biomarcador pré-natal da função renal pós-natal;

2.3) Comparar a dosagem da cistatina C com outros biomarcadores pré-natais de função renal em fetos onde se saiba o desfecho pós-natal.



## 4 – PACIENTES E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal realizado no período de março de 2013 a março de 2016. Foram selecionadas 45 gestantes cujos fetos estavam em acompanhamento no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG portadores de anormalidades e com indicação de coleta de material fetal diagnóstico pré-natal.

### 4.1 – Pacientes:

Foram convidadas a participar do estudo dois grupos de pacientes: o grupo 1 (grupo de estudo), constituído de pacientes cujos fetos apresentavam diagnóstico de uropatia obstrutiva baixa, e o grupo 2 (grupo controle), constituído de fetos acompanhados no CEMEFE com outras condições que não uropatias (com toxoplasmose materna), mas com indicação para realizar procedimentos invasivos para diagnóstico pré-natal.

**Grupo 1 (grupo de estudo):** Constituído por 38 fetos portadores de uropatia obstrutiva baixa, bilateral, com indicação para avaliação bioquímica da urina fetal como um dos critérios de seleção utilizados para tratamento intrauterino.

Essas pacientes foram convidadas para que, no momento da coleta da urina, permitissem que parte da urina coletada (5 a 10 ml) fosse destinada para a dosagem de cistatina C.

Esses fetos foram submetidos à punção vesical sob visão ultrassonográfica e coleta de 5 a 10 ml de urina fetal para análise bioquímica da urina. Parte deste material foi para a dosagem de cistatina C.

**Grupo 2 (grupo controle):** Constituído de 7 fetos acompanhados no Centro de Medicina Fetal sem anormalidades estruturais, e por outras situações que não uropatias, com indicação para realizar procedimentos invasivos (amniocentese) para diagnóstico pré-natal. O grupo 2 (controle) foi constituído exclusivamente por gestantes com suspeita de toxoplasmose aguda na gestação, com indicação para amniocentese para diagnóstico de contaminação fetal ou não. Esses fetos não apresentavam anomalias estruturais a ultrassonografia.

As pacientes foram convidadas para que, no momento do procedimento, permitissem a coleta de parte do líquido amniótico obtido (cerca de 5 a 10 ml) para a realização da dosagem de cistatina C. Após autorização, foi realizada amniocentese sob visão ultrassonográfica, onde além do líquido coletado para diagnóstico de toxoplasmose congênita, foram colhidos cerca de 5 a 10 ml de líquido amniótico para dosagem de cistatina C. Considerou-se pertinente utilizar o líquido amniótico, uma vez que reflete diretamente a diurese fetal, evitando uma infração ética se colher urina de fetos sem uropatia, portanto sem indicação de punção vesical para coleta de urina.

Foram comparadas as dosagens de cistatina C nos grupos 1 e 2, respectivamente, em urina fetal e em líquido amniótico.

Para os dois grupos, não houve aumento de exposição a riscos além dos já determinados pelos respectivos protocolos de acompanhamento dos casos.

As pacientes foram informadas sobre o estudo e as que aceitaram participar voluntariamente assinaram o TCLE (Apêndice I e II). Elas foram acompanhadas até o momento do parto, conforme o protocolo habitual do CEMEFE. 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, quando autorizada pela família.

Foram excluídas gestações múltiplas e fetos com outras malformações, além de pacientes com diagnóstico de uropatia obstrutiva baixa em que não foi possível a coleta da urina fetal, parâmetro essencial sugerido no projeto de pesquisa.

#### 4.2 - Critérios de inclusão

- Gestação única
- Fetos com achados ecográficos sugestivos de uropatia obstrutiva baixa, com indicação para análise bioquímica da urina fetal pelo protocolo do CEMEFE ou fetos com outros tipos de anormalidades,

sem malformações estruturais, acompanhados no CEMEFE com indicação para procedimento invasivo para diagnóstico pré-natal.

- Ausência de outras malformações associadas
- Aceite em participar do estudo assinando o TCLE

#### 4.3 - 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.

Das 45 gestantes participantes do estudo, houve a perda de acompanhamento de 11 (10 do grupo 1 e, 1 do grupo 2), sendo estas excluídas da análise final, conforme estabelecido na figura 13:

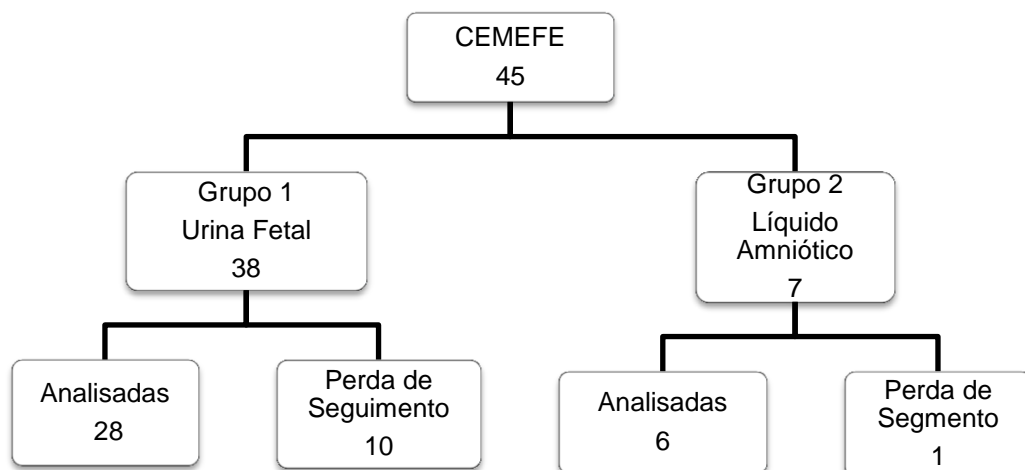


Figura 13: Fluxograma de acompanhamento dos grupos estudados

#### 4.4. Métodos:

As pacientes selecionadas para o estudo foram acompanhadas no CEMEFE durante todo o pré-natal, parto e período neonatal.

Durante o pré-natal, além dos exames de rotina de acompanhamento, foram submetidos a ultrassom seriado com intervalos variáveis de acordo com a gravidade do caso. Além desses exames, os fetos do grupo 1 foram submetidos à punção vesical para coleta de urina e os do grupo 2 foram submetidos a amniocentese, como parte da propedêutica pré-natal, sendo então obtidos também o material para a dosagem de cistatina C.

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.

##### 4.4.1 Amniocentese:

Posicionou-se a paciente em decúbito dorsal, realizando-se ultrassonografia para determinação do local de implantação da placenta, posição fetal e definir o local da punção. Os cuidados de antisepsia do abdome materno. Praticou-se anestesia local com xylocaína (sem vasoconstritor) no local determinado para a punção, distante da placenta e do feto. Introduziu-se agulha longa, até atingir a cavidade amniótica. Assim que atingido o bolsão de líquido amniótico, retirou-se o mandril e adaptou-se seringa para aspiração do líquido (Cabral ACV & Reis ZN, 2008). Foi colhido cerca de 5 a 10 ml de líquido amniótico para análise bioquímica, e armazenada com identificação, em freezer a  $-70^{\circ}$  C.

##### 4.4.2 Punção vesical para coleta de urina fetal:

Foram seguidos os seguintes passos, sob visão ultrassonográfica:

- Paciente em decúbito dorsal, cabeceira elevada a  $30^{\circ}$
- Antissepsia da parede abdominal no local da punção
- Aplicação de anestésico no local da punção com xylocaína (sem vasoconstritor)

- Punção vesical fetal com introdução de agulha guiada pelo ultrassom
- Coleta de cerca de 5 a 10 ml urina fetal para análise bioquímica
- Após coleta da amostra e retirada da agulha a paciente foi mantida em observação
- Armazenamento da urina em seringa identificada, em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Os procedimentos 5.4.1 e 5.4.2 foram realizados por equipe treinada do CEMEFE.

#### 4.4.3-Dosagem de cistatina C:

- Realizada pelo método ELISA, com o kit “Human Cystatin C Duo Set, 1S Plate, DY 1196, do fornecedor R&D Systems”.
- Após coleta das amostras (de urina e líquido amniótico) fetais, estas foram identificadas e armazenadas em freezer do Centro de Medicina Fetal (CEMEFE) a uma temperatura de  $70^{\circ}\text{C}$  negativos.
- A aferição da cistatina C na urina fetal e líquido amniótico foi medida com o kit “Human Cystatin C Duo Set, 1S Plate, DY 1196, do fornecedor R&D Systems”, e foi realizada no laboratório do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).
- Os dados clínicos e evolutivos de cada paciente foram armazenados em banco de dados, bem como as dosagens obtidas de ambos os grupos (estudo e controle).
- Os resultados da concentração de cistatina C foram expressos em picogramas de cistatina C por mililitros de urina fetal ou líquido amniótico (pg/ml).

#### 4.4.4 – 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.

Após o nascimento, os neonatos foram recebidos e acompanhados na unidade neonatal e pelo setor de nefrologia pediátrica do Hospital das Clínicas/UFMG.

#### 4.4.5 – Dosagem de Creatinina:

Os valores de creatinina, realizados nas amostras de urina fetal, foram medidos no laboratório de pesquisa do Hospital das Clínicas da UFMG, 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.

#### 4.4.6 -. Dosagem de Uromodulina

A uromodulina foi dosada no laboratório de pesquisa do Hospital das Clínicas da UFMG, em amostras de urina fetal, 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 14) 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 (Figura14, em amarelo), podemos fazer a acurácia da curva, cálculo da concentração de uromodulina.

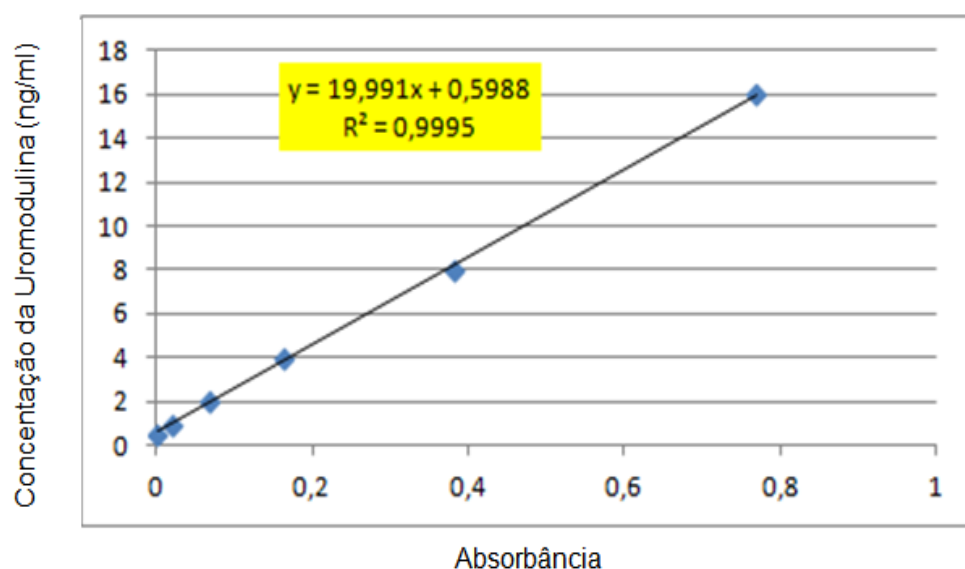


Figura 14: Curva padrão de absorbância da uromodulina

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

#### 4.5 – Métodos estatísticos

Os dados foram analisados em termos de média e desvio padrão ou ainda mediana e valores máximos e mínimos, conforme a característica da variável. O Teste para normalidade de *Anderson Darling* verificou a normalidade das variáveis contínuas numéricas. Para os testes de hipóteses, o nível de significância  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

A análise estatística utilizada foi o teste-*t* de médias para comparação de variáveis de distribuição paramétrica e teste de *Mann Whitney* nas comparações entre dois grupos e na comparação entre três grupos utilizamos o teste de *Kruskal Wallis*, para as variáveis não paramétricas.

Para avaliar a correlação foi utilizado o coeficiente de *Spearman*, entre as seguintes variáveis:

- Concentração de cistatina C e osmolaridade, com a confecção da curva ROC.
- Concentração de cistatina C na urina dos 28 fetos com uropatia obstrutiva baixa em relação aos 06 fetos sem uropatia no líquido amniótico.
- Comparação entre os marcadores urinários: cistatina C, creatinina e uromodulina, na urina dos fetos com uropatia, onde se sabia o desfecho final (parto realizado na maternidade da UFMG), para certificar significância estatística ou não, após a confecção da curva ROC.

Para avaliar a sensibilidade e especificidade da dosagem da cistatina C no diagnóstico das uropatias obstrutivas foi utilizada a curva ROC.

As análises foram realizadas no software SPSS versão 20.0 considerando um nível de significância de 5%.

#### 4.6 - Curva ROC

A curva ROC, segundo Margotto PR (2010, acesso em 2016) é uma ferramenta poderosa para medir e especificar problemas no desempenho do diagnóstico em medicina por permitir estudar a variação da sensibilidade e

especificidade para diferentes valores de corte. Permite evidenciar os valores para os quais existe maior otimização da sensibilidade em função da especificidade que corresponde ao ponto em que se encontra mais próxima do canto superior esquerdo do diagrama, uma vez que o índice de positivos verdadeiros é 1 e o de falsos positivos é zero.

A medida que o teste torna-se mais rigoroso, o ponto da curva correspondente a sensibilidade e a especificidade movimenta-se para baixo e para esquerda (sensibilidade menor e especificidade maior), enquanto se adotarmos um critério menos evidente o ponto da curva movimenta-se para cima e para a direita (sensibilidade maior e especificidade menor).

O ponto de corte é definido como um valor que pode ser selecionado arbitrariamente pelo pesquisador entre os valores possíveis para a variável em decisão. Um classificador perfeito corresponderia a uma linha horizontal no topo do gráfico, porém esta dificilmente será alcançada. Na prática curvas consideradas boas estarão entre a linha diagonal e a linha perfeita, onde quanto maior a distância da linha diagonal, melhor o sistema.

#### 4.7 - Parecer ético

O Comitê Ético em Pesquisa da UFMG aprovou o estudo sob o número CAAE 43415014.0.0000.5149 e as gestantes foram esclarecidas e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A: TCLE 1 e ANEXO B: TCLE 2) antes de serem avaliadas.



## 5 – RESULTADOS

São apresentados neste estudo os resultados referentes à análise de 28 fetos do grupo 1 (grupo de estudo, com suspeita de uropatia obstrutiva baixa) e 6 fetos do grupo 2 (grupo controle, outras situações que não uropatias), com indicação para realizar procedimentos invasivos, com suspeita de toxoplasmose aguda na gestação (coleta de líquido amniótico).

A tabela 1 demonstra média e mediana da idade gestacional nos grupos estudados.

**Tabela 1** – Caracterização dos grupos estudados em relação à idade gestação

Grupo	CARACTERÍSTICA	n	N	Média ± DP	MEDIANA	MÍNIMO-MÁXIMO
1	IG do procedimento (semanas)	28	28	22,3± 4,4	22	16-32
2	IG do procedimento (semanas)	06	06	...	25	19-28

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.

Nas tabelas 2 são apresentadas as dosagens bioquímicas da Cistatina C e osmolaridade no grupo 1 e, na tabela 3 a dosagem da cistatina C no grupo 2.

**Tabela 2** – Resultados das dosagens bioquímicas da cistatina C e osmolaridade em urina fetal no grupo 1 (grupo de estudo)

CARACTERÍSTICA	n	N	Média ± DP	MEDIANA	MÍNIMO-MÁXIMO
Cistatina C (pg/ml)	28	28	...	1321,9	318,1- 2368,6
Osmolaridade	28	28	169,5 ± 80,6	167,6	56,0 – 324,0

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

**Tabela 3** – Resultados das dosagens bioquímicas da cistatina C em líq. amniótico no grupo 2 (grupo controle)

CARACTERÍSTICA	N	N	Média +/- DP	MEDIANA	MÍNIMO-MÁXIMO
Cistatina C (pg/ml)	06	06	...	1228	1167,1-1289,9

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

Na tabela 4 é apresentada a dosagem de osmolaridade realizada no grupo 1. Foi considerada alterada em 42,9% dos casos.

**Tabela 4** – Características das pacientes do grupo 1 de acordo com os resultados da osmolaridade na urina fetal

CARACTERÍSTICA	N	Osmolaridade normal n=16	%	Osmolaridade alterada n=12	%	P
IG (semanas)	28	22,4±4,2	57,2	22,5±4,8	42,8	---
Cistatina C (pg/ml)	28	1255	57,1	1411	42,9	0,174

n = número de casos com a característica avaliada; N= número de casos que contém informação sobre a característica avaliada; \*= Teste de médias; \*\*= Teste de Mann-Whitney; <sup>a</sup>= Mediana.

Verifica-se que a Cistatina C nos grupos 1 e 2 tem distribuição anormal com o valor de  $P < 0,05$ , sendo necessária a utilização da mediana e testes não paramétricos para se comparar as variáveis, conforme demonstrado.

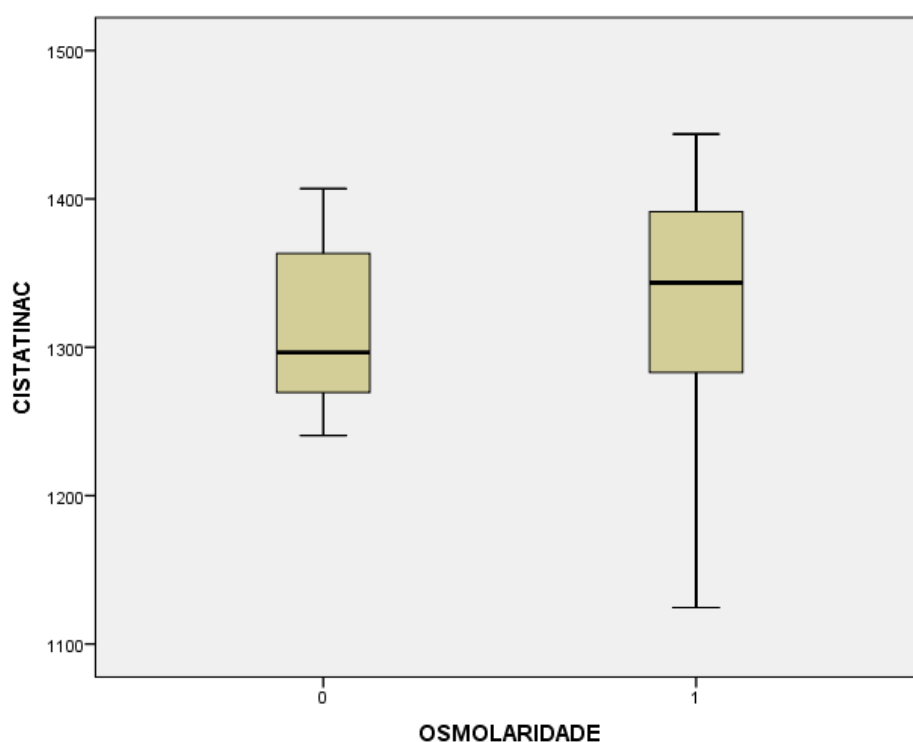
Em relação aos grupos de Osmolaridade não foi possível encontrar diferença significativa a 5%, conforme mostra a tabela 5 e o gráfico 1:

**Tabela 5:** Avaliação da IG e Cistatina C no grupo 1 em relação grupos da Osmolaridade Normal e Alterada

Variáveis	Osmolaridade										p
	Normal					Alterada					
	n	Média	DP	Mediana	Mín-Máx	n	Média	DP	Mediana	Mín-Máx	
IG	16	22.29412	4.19471	22	16.0-31.0	12	22.5833	4.85158	21	17.0-32.0	0.982
Cistatina C	16	1254.157	8	3	318.0-1406.8	12	1410.82	314.223	2	1124.5-2368.6	0.227

No gráfico 1 comparamos as dosagens de cistatina C nos fetos com osmolaridades normais e alteradas. Foram retiramos os valores extremos, ou discrepantes, para melhor visualização gráfica e, conseqüentemente, melhor interpretação. Para os cálculos estatísticos foram utilizados os 28 resultados obtidos.

No gráfico 1 comparamos as dosagens de cistatina C com osmolaridade normal (<210) e alterada (>210).



**Gráfico 1:** Comparação no grupo 1 entre as dosagens de cistatina C nos fetos com osmolaridade normal e alterada: Osmolaridade: normal =0 e alterada= 1.

Observa-se o valor de  $P=0,174$ , na tabela 4, ou seja, demonstrando que a diferença do valor da cistatina C em urina de pacientes com uropatia e com osmolaridade normal e, a cistatina C em pacientes com uropatia e osmolaridade alterada, não foi estatisticamente significativa.

Na tabela 6 temos a comparação entre as variáveis IG, Cistatina e Osmolaridade em relação aos grupos 1 (urina fetal, com uropatia) e 2 (líquido amniótico, sem uropatia). Apenas a Cistatina C apresentou diferença estatisticamente significativa, sendo maior nos indivíduos da uropatia ( $p=0,021$ ).

Tabela 6: Avaliação da IG, Cistatina C e Osmolaridade em relação aos grupos 1 (urina fetal, com uropatia), e 2 (Líquido Amniótico, sem uropatia)

Variáveis	Grupo										p
	Urina Fetal (Uropatia)					Líquido Amniótico (sem uropatia)					
	n	Média	DP	Mediana	Mín-Máx	n	Média	DP	Mediana	Mín-Máx	
IG	28	22.4	4.4	22.0	16.0-32.	6	25.3	3.1	26.0	19.0-28.0	0.081
Cistatina C	28	...	...	1321.9	318.1-2368.6	6			1248.2	1167.1-1290.0	0.021*
Osmolaridade	28	187.3	78.1	181.0	56.0-324.0	0	-	-	-	-	-

\* Teste de Mann Whitney significativo a 5%.

No gráfico 2, apresentamos a Curva ROC 1, onde demonstra-se a dosagem de cistatina C em urina de fetos com uropatia obstrutiva baixa.

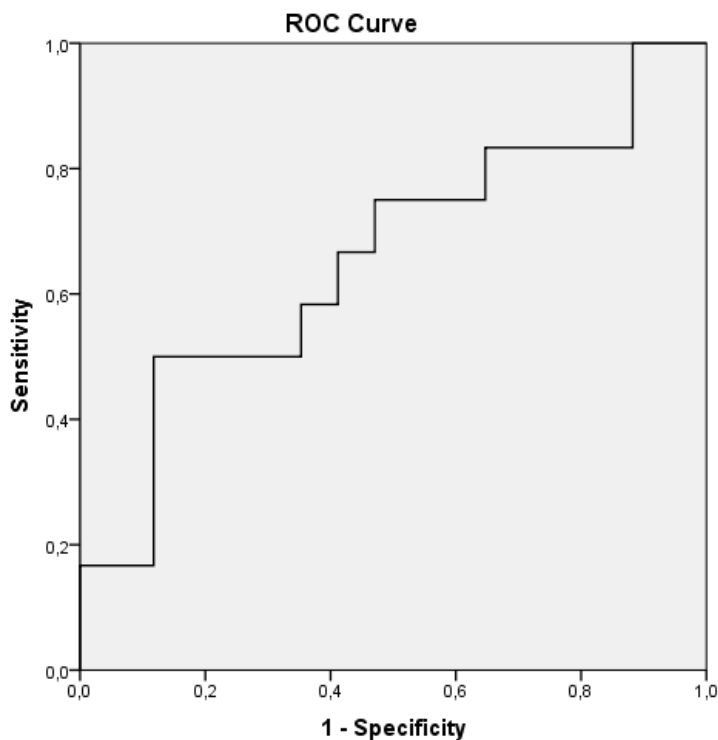


Gráfico 2: CURVA ROC 1, dosagem de cistatina C em urina de fetos com uropatia obstrutiva baixa

Nesta curva ROC 1 observa-se que a dosagem da cistatina C tem acurácia, por ter área sob a curva de 0,657 (desempenho satisfatório).

Considerando 1379,50 como ponto de corte da cistina C da urina fetal do grupo 1, na curva ROC, que corresponde a uma sensibilidade de 50% e uma especificidade de 88,2%, podemos detectar 71% dos casos de maior gravidade, neste grupo.

Na segunda curva ROC, utilizando-se também a osmolaridade como parâmetro básico pareado, para os três biomarcadores testados (cistatina C, creatinina e uromodulina) na urina fetal do grupo 1 (com uropatia), e, nos quais se sabia o desfecho final (natimorto, neomorto ou vivo ao nascimento), em um grupo de 6 fetos, dos quais 3 sobreviveram e 3 foram natimortos, obteve-se um gráfico como o mostrado a seguir:

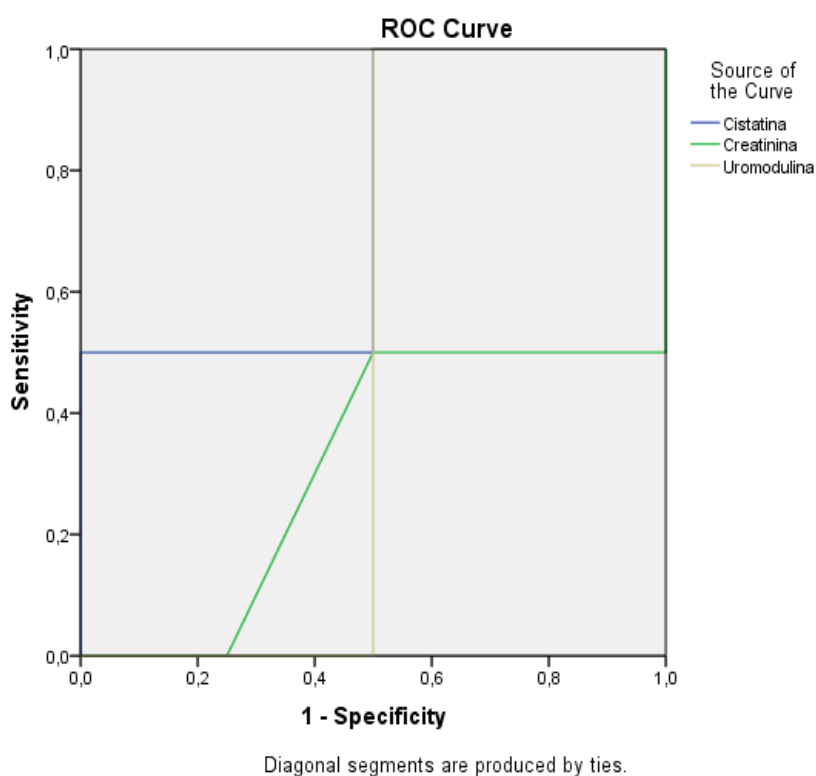


Gráfico 3: Curva ROC 2, comparando três marcadores de urina fetal : Cistatina C, Creatinina e Uromodulina

A área sob a curva ROC da cistatina C foi de 0,750, enquanto da creatinina para os mesmos pacientes foi de 0,313 e da uromodulina de 0,500.



## 6- DISCUSSÃO

### 6.1- Importância do Estudo

A doença renal crônica (DRC) é um grupo heterogêneo de condições que afetam a estrutura e função do rim, tem na sua abordagem precoce a principal arma para modificar a evolução destes indivíduos. Pode-se afirmar que 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 até por toda uma vida. O diagnóstico precoce dos achados que indicam a obstrução renal são de extrema importância para definir o prognóstico e buscar as melhores condutas no acompanhamento de cada caso. O conjunto de avanços tecnológicos através de aparelhos de ultrassom mais potentes e eficientes, avaliando de forma mais precisa os aspectos do parênquima renal, o volume estimado de líquido amniótico, os diferentes graus de hidronefrose, de dilatação dos ureteres e visibilização ou não da bexiga fetal, auxiliam enormemente no diagnóstico estrutural, no prognóstico da doença, além de permitir exames invasivos com maior segurança. O estágio evolutivo pode ser estimado por meio da dosagem de marcadores sanguíneos e urinários.

Segundo a tese de doutorado de Selistre em 2012, as orientações internacionais e nacionais recomendam a aferição da taxa de filtração glomerular como preditor de doença renal na população geral, com uso de creatinina plasmática, entretanto, na pediatria existe uma alta prevalência de fatores que interferem nesta dosagem, dentre os quais a taxa de crescimento, sendo que as equações mais empregadas são as derivadas da fórmula de Schwartz abreviada (“bedside”). Ou seja, na vida fetal e neonatal, não se tem um marcador validado. Segundo Parvex, 2012, para esta população, não existe um marcador validado devido à necessidade de se correlacionar com um padrão ouro de “clearance”, o que implicaria em amostras seriadas de sangue ou urina coletada a intervalos programados, tornando o processo um verdadeiro desafio no caso de neonatos. Potencializado ainda mais na vida intrauterina dos fetos. No entanto, alguns estudos têm mostrado vantagens na

dosagem de cistatina C como marcador precoce de alterações na estrutura renal e sua funcionalidade. Bokenkamp A e Cataldi L, em estudos de 2001 e 1999 respectivamente, propõe a cistatina C como um potencial marcador renal na vida neonatal, devido ao fato deste não atravessar a placenta.

Outros autores, como Bahar A et al, em 2003, também reconhecem que a Cistatina C é um dosador específico para o feto, implicando seu uso como um marcador renal valoroso em neonatos (BOKENKAMP A et al., 2001; CATALDI L et al., 1999; BAHAR A et al., 2003).

No caso das obstruções renais, verificou-se que quanto mais baixas pior o prognóstico, devendo-se avaliar a necessidade de intervenção mais precoce em alguns destes casos. Observou-se ainda que quando associados à diminuição acentuada do líquido amniótico ao nascimento há risco de insuficiência respiratória por hipoplasia pulmonar, decorrente da repercussão do oligohidrânio sobre o desenvolvimento pulmonar fetal, que depende de um volume de líquido amniótico satisfatório para o seu desenvolvimento.

## 6.2- Seleção dos Pacientes

As pacientes foram encaminhadas pela rede do SUS, provenientes de Belo Horizonte e de outras cidades do estado de Minas Gerais ao pré-natal do Centro de Medicina Fetal da Universidade Federal de Minas Gerais (CEMEFE da UFMG), com suspeita ultrassonográfica de uropatia.

A idade gestacional média das pacientes do grupo 1 foi de 22 semanas e, do grupo 2, de 25 semanas.

Acredita-se que houve perda de segmento em 11 casos devido ao fato de algumas terem sido referenciadas de outros municípios de Minas Gerais e, por se tratar de gestações de alto risco, com maior chance de parto prematuro, natimortalidade, entre outras urgências obstétricas, além da questão geográfica e socioeconômica, com as longas distâncias e gastos financeiros necessários em casos de imprevistos, justificando à procura provável, de outros serviços obstétricos mais próximos nestas circunstâncias, sendo estes alguns dos motivos e justificativas para perda de segmento adequado das mesmas.

### 6.3- Cistatina C como biomarcador de função renal

Um dos principais desafios no acompanhamento dos fetos com uropatia obstrutiva baixa e precoce é a adequada seleção dos fetos que realmente possam se beneficiar de medidas terapêuticas oportunas, como o tratamento intrauterino ou mesmo de antecipação do parto para tratamento neonatal. Marcadores ultrassonográficos e bioquímicos tem sido bastante estudados para esta finalidade, seja isolado ou associado. Como no estudo de mestrado realizado por Bastos FM et al, em 2014, onde foi comparado diversos marcadores urinários em líquido amniótico de fetos com uropatia (creatinina, uromodulina, B2-microglobulina, osmolaridade, cálcio), detectados a ultrassonografia em outros serviços e, encaminhados para acompanhamento na maternidade da UFMG, onde nenhum dos parâmetros analisados mostrou-se capaz de prever a função renal pós-natal e a mortalidade dos fetos acometidos pela obstrução do trato urinário baixo. Observa-se que neste estudo, realizado em nosso serviço, não estava sendo avaliada ainda a cistatina C.

Estudos que mostraram a ausência de variação circadiana nas amostras de cistatina C na urina, como o estudo de Conti M., 2004, onde é descrito que: com apenas uma única dosagem deste marcador substitui-se satisfatoriamente a coleta de creatinina em 24 horas, na avaliação da função renal, tanto em pacientes hospitalizados quanto na emergência (onde há necessidade de seleridade para classificação do paciente). Tendo sido este um estímulo a mais para o constante estudo deste marcador.

Segundo Cabarkapa, 2015, cistatina C é um marcador de função renal superior a creatinina, especialmente nos primeiros anos da doença renal crônica, podendo ser utilizado como marcador da taxa de filtração glomerular e, sua principal vantagem é como marcadora da função renal na “faixa cega” da creatinina, principalmente em pediatria e geriatria.

Esta “faixa cega” no diagnóstico da DRC, ocorre particularmente nos seus estágios iniciais, quando é frequentemente assintomática, baseia-se em alterações da taxa de filtração glomerular (TFG) e em marcadores de lesão da estrutura renal (K/DOQI , 2002). As dosagens plasmáticas de creatinina e/ou a

determinação da sua depuração têm sido utilizadas para estimar a taxa de filtração glomerular tanto na doença renal crônica (DRC) quanto nas lesões renais agudas (LRA). No entanto, diversos estudos já mostraram que a creatinina se eleva tardiamente no sangue de pacientes portadores destas condições clínicas (PERALTA et al., 2011; PERALTA et al., 2011; WAHEED et al., 2012; BIOMEDICINA PADRÃO, 2013). Isso significa que é necessário que haja comprometimento superior a 50% do parênquima renal para que as concentrações plasmáticas de creatinina comecem a se elevar (BIOMEDICINA PADRÃO, 2013). Dessa forma, embora de fácil dosagem e muito utilizada na prática clínica, tanto a mensuração dos níveis plasmáticos de creatinina quanto à determinação de sua depuração renal apresentam limitações importantes como marcadores de função renal.

Os valores de cistatina C sérica (ou plasmática) média normal é de 0,7mg/ml e aumenta proporcionalmente com a diminuição da velocidade de filtração glomerular (VFG), e tem demonstrado que os riscos associados com a diminuição da função renal surgem quando a velocidade de filtração glomerular atinge cerca de 85 ml por minuto por 1,73 m<sup>2</sup>, muito mais cedo do que o limiar de doença renal crônica (por exemplo, 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>). Já com as estimativas da função renal baseada na creatinina, esses danos da velocidade da filtração glomerular podem apenas ser notados quando a creatinina é inferior a 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, ou seja, no momento em que a doença renal crônica já se desenvolveu. As etapas da função renal classificadas pela cistatina C foram muito melhores para refletir o risco futuro do que aquelas estimativas da função renal baseadas somente na creatinina (SHLIPAK et al., 2013).

Muller e cols, desde seu estudo de 1999, tem pesquisado este biomarcador em urina fetal, dosando a cistatina C retrospectivamente em urina de 3 grupos de fetos com uropatias obstrutivas crônicas, com diagnóstico confirmado no pós-natal que sobreviveram até 1 ano de idade, comparando estes valores com a dosagem de creatinina sérica. Foram divididos em três grupos, conforme a gravidade da falência renal: grave (grupo 1: 19 fetos), moderada (grupo 2: 19 fetos) e leve (grupo 3: 33 fetos).

Os autores compararam-na com a creatinina sérica dessas mesmas crianças, no caso das que sobreviveram, com 1 ano de idade. Nas 33 crianças com creatinina sérica normal com 1 ano de idade, mesmo com a uropatia

obstrutiva bilateral diagnosticadas pela ultrassonografia pré-natal, foram consideradas evolutivamente como pacientes normais. Estes mesmos autores encontraram valores de cistatina C muito elevados e estatisticamente significativos no grupo com falência renal grave (grupo 1: 19 fetos) quando comparados com os outros dois grupos (grupos 2 e 3), além de diferenças estatísticas significativas entre os grupos moderado (grupo 2: 19 fetos) e o considerado normal (grupo 1) ao final de 1 ano. Concluíram, ao final do estudo, que a ultrassonografia, o sódio urinário, a Beta-2microglobulina e a cistatina C, tem a mesma especificidade e sensibilidade para distinguir a falência renal grave, confirmando ser a ultrassonografia um exame confiável na definição do prognóstico reservado. No entanto, também concluíram que para distinguir entre a falência renal pós-natal e o bom funcionamento renal, tanto os sinais ultrassonográficos quanto o sódio urinário fetal eram ineficientes, enquanto a Beta-2microglobulina e a cistatina C eram igualmente confiáveis e ambas se correlacionavam de forma satisfatória com a creatinina sérica 1 ano após o nascimento. Neste estudo, ainda, foi verificado que a cistatina C tinha uma vantagem sobre a Beta-2microglobulina: não variava conforme a idade gestacional.

Como este autor, foram comparados a cistatina C em fetos com uropatia (doença renal crônica), neste estudo, a urina fetal com o líquido amniótico de fetos com e sem uropatia obstrutiva baixa respectivamente, diferente do autor acima, que o fez apenas em urina de fetos com diferentes graus de uropatia obstrutiva bilateral (grave, moderada e leve, que após um ano, este último grupo, foi inclusive classificada como normais), mas em ambos os casos a cistatina C demonstrou sua aparente superioridade como marcador, em relação a creatinina.

No estudo de Mussap et al., 2002, foi dosada a cistatina C e a creatinina no líquido amniótico de 15 fetos com uropatia obstrutiva bilateral que o autor denominou grupo D, com idade gestacional entre 22 e 35 semanas e, formou outro grupo como controle, com 81 fetos, divididos em 3 grupos também pela idade gestacional, sendo estes: grupo A com 39 fetos com IG entre 15 e 21 semanas, grupo B com 16 fetos entre 22 e 35 semanas que utilizou para comparar com o grupo de estudo e, grupo C com 26 semanas entre 35 e 40 semanas. Como no estudo atual foi possível dosar e quantificar a cistatina C,

além da creatinina, tanto nos fetos com uropatia quanto nos controles (sem uropatia), inclusive nos grupos D (de estudo) e B (controle) ambos com a mesma idade gestacional, porém houve diferença estatisticamente significativa em ambos os grupos, sendo maior no grupo de estudo com uropatia, como ocorreu também em nosso estudo atual, demonstrando a cistatina C sua maior sensibilidade como marcador de obstrução urinária fetal. Mussap et al., ainda sugerem que a cistatina C é mais apropriada para definir os fetos que se beneficiarão com intervenção intrauterina, diferentemente da creatinina, que por atravessar a barreira placentária, sendo parcialmente metabolizada pela mãe, não sendo sua dosagem adequada para este propósito.

No estudo atual, verificou-se que, apesar de terem sido apresentados os números das amostras, o percentual, as médias com os desvios padrões e medianas, como a média da Cistatina C no grupo 1 e 2, tem distribuição anormal, com o valor de  $P < 0,05$ , foi necessária a utilização da mediana e testes não paramétricos para se comparar as variáveis.

Observou-se, no gráfico 1 (“*box plot*”) que a osmolaridade normal (57%) comparada com aqueles com osmolaridade alterada (43%), não demonstraram diferença significativa, confirmado pela tabela 5, mesmo sabendo-se que todos esses pacientes apresentavam uropatia obstrutiva, provavelmente devido a variabilidade de desfechos finais mesmo com um aparente diagnóstico inicial comum.

Neste estudo verificou-se que: comparando-se a idade gestacional, a cistatina C e a osmolaridade nos dois grupos, grupo 1 na urina fetal (com uropatia) e, grupo 2 no líquido amniótico (sem uropatia), apenas a cistatina C demonstrou diferença estatisticamente significativa, com valor de  $p = 0,021$ , ou seja,  $p < 0,05$ , sugerindo que a cistatina C possa ser um bom biomarcador para detectar a presença ou ausência da uropatia obstrutiva baixa. Assim como no relato de caso, descrito por Lautmann K et al., em 2007, onde o feto apresentando obstrução de válvula de uretra posterior, com estudo da urina fetal, foi concluído que a concentração de cistatina C na urina fetal tem correlação direta com a capacidade funcional do rim na fase pós-natal.

No estudo de Ömer Acar et al., em 2009, na Turquia, foram avaliados 14 fetos com obstrução de válvula posterior e dosagem da cistatina C na urina fetal (3 amostras, com intervalo de 48 horas entre elas, ou seja, realizadas 3

punções vesicais fetais) e em líquido amniótico (1 amostra por amniocentese simultânea a da coleta da urina fetal nos 14 fetos do grupo de estudo e, nos 25 fetos do grupo controle sem alterações urinárias). Verificou-se diferença estatisticamente significativa na concentração da cistatina C nas 3 amostras de urina no grupo de estudo com uropatia obstrutiva baixa (com Válvula de Uretra Posterior), além de no líquido amniótico, entre os grupos de estudo e controle, sendo maior as dosagens no grupo da uropatia, assim como aconteceu em nosso estudo atual. O autor ainda referiu excelente correlação da 2ª e 3ª amostras de urina fetal com o líquido amniótico dos fetos com uropatia obstrutiva baixa (VUP), sugerindo a substituição das três punções vesicais fetais, por uma amostra do líquido amniótico, devido à redução de riscos para o feto com resultados equivalentes. Acar Ö et al., 2009, ainda descreve ser possível a coleta de líquido amniótico com auxílio da ultrassonografia em pacientes com diagnóstico aparente de anidrâmnio.

#### 6.4- Confecção da Curva ROC X Resultados

Para a determinação se duas ou mais Curvas ROC são significativamente diferentes, a avaliação é feita através da determinação da área sob a curva, usando uma modificação do teste da soma de ordens de Wilcoxon para esta comparação. Assim é possível quantificar a exatidão de um teste diagnóstico (proporcional à área sob a curva), além da possibilidade de comparar testes diagnósticos.

Como é o caso do estudo realizado por David J. Askezanazi et al., 2012, publicado no J Pediatr., onde verificou-se que a cistatina C em urina de recém nascidos, avaliados em seus primeiros 3 dias de vida, era o melhor marcador para detecção da injúria renal aguda (AKI= "*acute kidney injury*") de forma isolada, e que apresentava valores melhores apesar de estatisticamente similares a testes com seu uso em associação com a uromodulina e o fator de crescimento epitelial, conforme ilustra o gráfico 4, onde a área sob a curva ROC da cistatina C isolada foi de 0.82, enquanto em associação com a uromodulina (que isolada foi de 0.23 para a presença da doença e 0.77 para ausência da doença) e ao fator de crescimento epitelial (que isolado foi de 0.18

para a doença e 0.82 para negação da doença), juntos foi de 0.81, ou seja, sem valor estatístico diferente da cistatina C isolada, conforme pode ser observado no gráfico 4. Neste o grupo de estudo é composto por 9 recém-natos com uropatia obstrutiva bilateral e o grupo controle por 24 recém-natos sem uropatia.

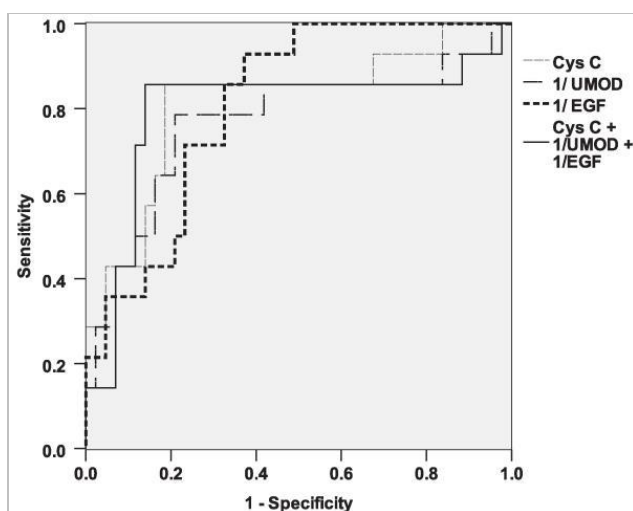


Gráfico 4 : Curva ROC 3 (Fonte: estudo de ASKEZANAZI et al., 2012)

O estudo de Parvex (PARVEX P et al., 2012) com 13 recém-natos com diagnóstico de uropatia obstrutiva bilateral antenatal, 20 recém-natos com diagnóstico antenatal de obstrução unilateral e 100 recém-natos do grupo controle, mostrou aumento estatisticamente significativo da dosagem da cistatina C em sangue do cordão umbilical dos que apresentavam o diagnóstico antenatal de uropatia obstrutiva bilateral quando comparado com neonatos com obstrução unilateral ou controles sem uropatia, demonstrado em uma curva ROC com os controles uma sensibilidade de 69% e especificidade de 86%, no ponto de corte 2,34 mg/L, em recém nascidos. Área sob a curva de 0,777. Como demonstra a curva ROC, no gráfico 5.

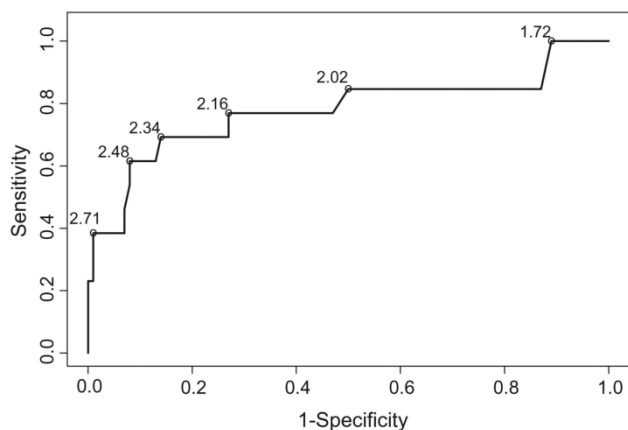


Gráfico 5: Curva ROC 4 (Fonte: estudo de PARVEX et al., 2012)

A curva ROC 1 deste estudo, considerando 1379,50 como ponto de corte da cistina C da urina fetal do grupo 1, corresponde a uma sensibilidade de 50% e uma especificidade de 88,2%, podemos detectar 71% dos casos de maior gravidade, neste grupo.

Para fins comparativo entre os dois estudos anteriores e o presente estudo, é apresentado abaixo o gráfico 2.

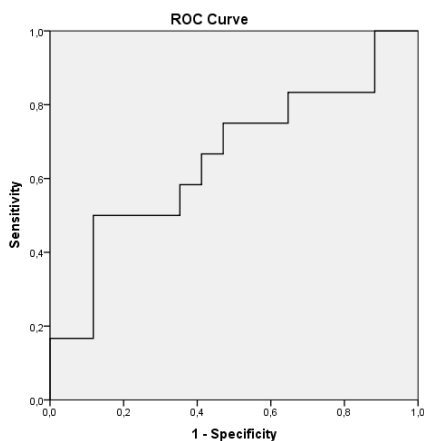


Gráfico 2: CURVA ROC 1, dosagem de cistatina C em urina de fetos com uropatia obstrutiva bilateral

A curva ROC 1 deste estudo, gráfico 2, apresentou área abaixo da curva de 0,657, demonstrando ser satisfatória para detecção da patologia e sua gravidade.

A curva ROC 1 deste estudo serve como possível preditora de sobrevivência em pacientes com uropatia obstrutiva bilateral, pois todos os sobreviventes do grupo 1 (com uropatia) e do grupo 2 (sem uropatia), ficaram abaixo do ponto de corte escolhido, 1379,50; afirmativa esta que poderá ou não ser confirmada com um novo estudo com amostra maior.

No caso da comparação entre 3 biomarcadores da urina fetal decidimos individualizar as curvas ROC, para melhor visualização, como demonstramos a seguir através dos gráficos 6, 7, 8:

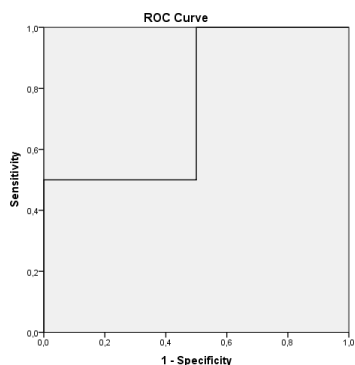


Gráfico 6: Curva ROC 5, da Cistatina C na urina fetal

No gráfico 7, demonstra-se a dosagem da creatinina nos mesmos fetos onde foram dosados outros biomarcadores urinários, fazendo-se a curva ROC 6 isolada pra melhor apreciação visual.

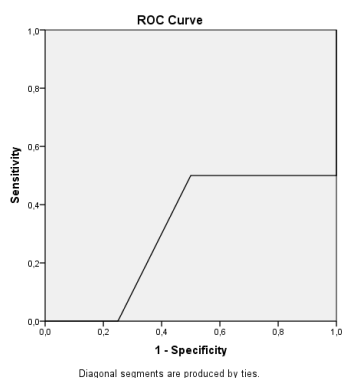


Gráfico 7: Curva ROC 6, da Creatinina na urina fetal

No gráfico 8, apresenta-se a Curva ROC 7, a dosagem da uromodulina nos mesmos fetos onde foram dosados outros biomarcadores urinários, fazendo-se a curva ROC 7 isolada pra melhor apreciação visual da mesma.

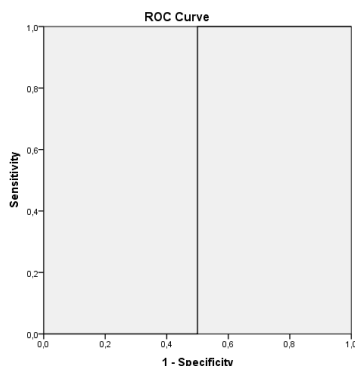


Gráfico 8: Curva ROC 7, da Uromodulina na urina fetal

A área sob a curva ROC da cistatina C foi de 0,750, enquanto da creatinina para os mesmos pacientes foi de 0,313 e da uromodulina de 0,500, significando, segundo Azkenazi et al, 2012, que os valores de 0,5 não são melhores que uma moeda jogada para o alto para predizer a doença ou gravidade em questão. Valores próximos de 1 ser considerados com habilidade excelente para predição positiva, enquanto os próximos a 0 com excelente habilidade para a predição negativa.

A área sob a curva ROC é também considerada como uma medida de desempenho do teste, também conhecido com índice de exatidão do teste, segundo Professor Margotto P.R. (Professor do Curso de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde do Distrito Federal).

Segundo o Instituto Nacional de Saúde Norte Americano, biomarcadores são definidos como indicadores quantitativos de processos biológicos ou patológicos empregados para fins de diagnóstico ou de monitoração da terapêutica. Nesse contexto, a cistatina C, uma proteína de baixo peso molecular, tem sido muito estudada nos últimos anos e parece ser uma alternativa promissora para substituir a creatinina sérica como marcador de função renal (STEVENS et al., 2008). Em nosso estudo demonstrou ser também uma alternativa melhor na urina fetal.

Podemos também nos reportar ao estudo de Muller et al em 1999, quando este conclui que a cistatina C deveria ser considerada um index da função tubular no rim fetal, que muda sua excreção urinária com a maturação da capacidade tubular de reabsorção, complementando este autor ainda, que isto parece ser confirmado pelo fato das amostras de líquido amniótico obtidos em gestantes com uropatia fetal conter níveis mais elevados de cistatina C quando comparados com as gestantes sem esta complicação, como foi o caso das pacientes de nosso estudo, onde foi colhido o líquido amniótico em pacientes sem uropatia, e estas apresentaram taxas consideradas normais, baseando-se pelo ponto de corte escolhido em nosso estudo.

Na curva ROC, comparando os diferentes marcadores em nosso estudo, apesar dos valores numéricos, e os indícios de que a cistatina C seria o marcador com melhor habilidade para detecção da patologia e sua severidade, não podemos deixar de notar que graficamente, as figuras não ficaram ideais para avaliação, provavelmente devido ao reduzido número de amostras (6 casos) que tínhamos de urina fetal, com os três biomarcadores urinários e sabendo-se o desfecho final (natimorto, neomorto ou vivo ao nascimento), dos quais 3 sobreviveram e 3 foram neomortos. Sugerimos, desta forma, um novo trabalho para este estudo comparativo, com um número maior na amostra, para desta forma, com maior responsabilidade e credibilidade, podermos afirmar que a cistatina C é ou não um melhor marcador e preditor da sobrevida neonatal. Salientamos, no entanto, que em outros estudos com neonatos, como o de Askenazi de 2012 e o de Parvex também de 2012, já demonstraram a superioridade deste marcador na fase neonatal (recém-nascidos), sugerindo, o último estudo, este marcador como ideal na fase de vida intrauterina (fetal).

Enquanto Muller et al.(1999) e Lautmann K et al. (2007) na urina fetal, Mussap et al. (2002-Curva ROC) no líquido amniótico, Ömer Acar et al. (2009) em urina fetal e líquido amniótico sugerem também a superioridade da cistatina C sobre a creatinina como marcador em fetos com uropatia obstrutiva baixa.



## 7 - CONCLUSÃO:

Este estudo permite concluir que:

- 1) Ao compararmos a cistatina C em relação aos grupos 1 (urina fetal, com uropatia) e 2 (líquido amniótico, sem uropatia), esta apresentou diferença significativa, sendo maior nos indivíduos da uropatia, o que sugere que pode ser utilizada como biomarcador da função renal pós-natal;
- 2) Comparando-se a cistatina C da urina de fetos com uropatia obstrutiva baixa a osmolaridade, normal e alterada, verificou-se não haver diferença significativa;
- 3) A cistatina C apresentou boa acurácia em predizer a função renal com a sensibilidade de 50% e uma especificidade de 88,2%, utilizando-se o ponto de corte de 1379,5 pela curva ROC. Todos os 5 casos de fetos com uropatia, que sobreviveram (grupo 1) e todos sem uropatia que na totalidade sobreviveram (grupo 2), apresentaram cistatina C abaixo deste ponto de corte;
- 4) Comparando-se a cistatina C com outros biomarcadores de função renal (creatinina e uromodulina), pela curva ROC, observou-se que apenas a cistatina C demonstrou boa acurácia em predizer a função renal pós-natal.

## 8- REFERÊNCIAS

1. ACAR Ö, ULUOCAK N, ZIYLAN O, KALELIOGLU I, YÜSEF A, ANDER H, Is cystatin C a promising parameter to determine postnatal outcome of prenatally diagnosed infravesical obstruction? *The Journal of Urology*. Vol.182, 1542-1547, 2009.
2. APOCALYPSE GT, RABELO EAS, DINIZ JSS, MARINO VSP, SIMAL CJR, RODRIGUES AM, FAGUNDES LA, OLIVEIRA EA. Abordagem da obstrução de junção ureteropélvica identificada na investigação de hidronefrose fetal. *Rev Med Minas Gerais*. 2003;13 (4): 285-9.
3. ARONSON, D. et al. Elevated blood urea nitrogen level as a predictor of mortality in patients admitted for decompensated heart failure. *Am J Med.*, v. 116, n. 7, p. 466-73, 2004.
4. ASKENAZI D.J., KORALKAR R., HUNDLEY H. E., MONTESANTI A., PARWAR P., SONJARA S., AMBALAVANAN N. Urine biomarkers predict acute kidney injury in newborns. *J Pediatr*. 2012 Aug; 161 (2): 270-5, e1.
5. 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.
6. BAGSHAW, S.M. et al. Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med.*, v. 36, n.4 Suppl, p. S152-8, 2008.
7. BAHAR A, YILMAZ Y, UNVER S, GOCMEN I, KARADEMIR F. Reference values of umbilical cord and third-day cystatin C levels for determining glomerular filtration rates in newborns, *J Int Med Res* 2003; 31: 231-5.

8. BARTOLI F, GESUALDO L, PARADIES G, CALDARULO E INFANTE B, GRANDALIANO G. Renal expression. Of monocyte chemotactec protein-1 and epidermal growth fator in children with obstructive hydronephrosis. J Pediatr Surg. 2000; 35 (4): 569-72.
9. BASTOS F.M., PEREIRA A.K., (Orientadora), LAGE E.M. (coorientadora). Comparação entre parâmetros bioquímicos e ultrassonográficos de avaliação pré-natal de função renal, em fetos portadores de uropatia obstrutivas. Dissertação de mestrado da Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.
10. BASTOS, G.A., LAURINO, DM, KASHIWABUCH MK, AGOSTINI PAO, PLOCH RSR. Estenose Ureteropélvico Fetal. Cadernos UniFOA, dezembro 2007. Ed. nº 05, 80-3.
11. BAUK, F. A., MORON, A. F, NOVO, N. F., JULIANO, Y, RODRIGUES E.B., KULAY, L. JR. A comparative study of the sodium, potassium, urea, creatinine, and uric acid concentrations in the human amniotic fluid between weeks 15-20 and 38-42. Rev Assoc Med Bras, v. 42, n. 1, p. 7-10, Jan-Mar 1996.
12. BECK A.D. The effect of intra-uterine urinary obstruction upon the development of the fetal kidney. J Urol.1971;105: 784-9.
13. BELARMINO J.M., KOGAN B.A. Management of neonatal hydronephrosis. Early Hum Dev 2006;82:9-14.
14. BERMÚDEZA, R.M., et al. hy miembros de la Comisión de Función Renal de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) Documento de consenso: recomendaciones sobre la utilización deecuaciones para la estimación del filtrado glomerular en niños 1ª An Pediatr (Barc)., v. 80. n.5, p. 326.e139, 2014.

15. BERNARDES L.S., RUANO R. (orientador), Dissertação de Doutorado da Universidade de São Paulo, Análise da vascularização renal ao Power Doppler tridimensional em fetos com dilatação de vias urinárias: correlação com prognóstico renal pós-natal. 2010.
16. BLIRUP-JESEN, S., GRUBB, A., LINDSTROM, V., SCHMIDT, C., ALTHAUS, H. Standardization of cystatin C: development of primary and secondary reference preparations. *Scan J Clin Lab Invest suppl*, v. 241, p. 67-70, 2008.
17. BOKEMKAMP A, DIETERICH C, DRESSLER F et al. Fetal serum concentrations of cystatin C and beta 2-microglobulin as predictors of postnatal kidney function. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:468-475.
18. BOTELHO EFB, PEREIRA AK, TEIXEIRA PG, LAGE EM, OSANAN GC, SILVA ACSS. Uromodulina: um novo biomarcador de função renal fetal? *J Bras Nefrol* 2016;38(4):427-434.
19. BRACE, R. A. Progress toward understanding the regulation of amniotic fluid volume: water and solute fluxes in and through the fetal membranes. *Placenta*, v. 16, n. 1, p. 1-18, Jan 1995.
20. BRENNER, B. M.; RECTOR, F. C.; LEVINE, S. A. *Brenner & Rector's the kidney*. Saunders, 2004.
21. BURGHARD, R.; LEITITIS, J. U.; BRANDIS, M. Studies on fetal renal function. Comparison of microproteins in amniotic fluid and fetal urine. *Contrib Nephrol*, v. 67, p. 193-9, 1988.
22. CABARKAPA, V. Cystatin C - more than the marker of the glomerular filtration rate. *Med Pregl*. 2015 May-fJun; 68 (5-6): 173-9.

23. CABRAL A.C.V., VITRAL REIS Z.N. Manual de Rotinas em Obstetrícia e Medicina Fetal, Coopmed ed. Médica, 2008.
24. CALLEN P.W. Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology. Third edition, 1994.
25. CALLEN PW *et al.* Ultrassonografia em Ginecologia e Obstetrícia, 5 edição, 2008.
26. CALLEN, P. W. Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology. Elsevier Health Sciences, 2011. ISBN 9781455726745.
27. CÂMARA B., Dosagem da Cistatina C na avaliação da função renal. Biomedicina Padrão, 09 de dez 2013, acesso em: novembro de 2015, <http://www.biomedicinapadrao.com.br/2013/12/dosagem-de-cistatina-c-na-avaliacao-da.html>
28. CAMARGO, EG. Estimativa da taxa de filtração glomerular com equações baseadas na creatinina e cistatina c séricas em pacientes com diabete melito tipo 2 [tese doutorado]. Porto Alegre (RS): Programa de pós-graduação em ciências médicas: endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2011.
29. CANEVESE P. Cistatina C e creatinina: marcadores de avaliação as função renal [monografia]. Novo Hamburgo (SC): Instituto de Ciências da Saúde, Centro Universitário Feevale; 2008.
30. CATALDI I, MUSSAP M, BERTELLI L et al. Cystatin C in healthy women at tem pregnancy and in their infant newborn: relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinatol* 1999;16:287-295.

31. CAUBET C, LACROIX C, DECRAMER S, DRUBE J, EHRICH JH, MISCHAK H, et al. Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery in pediatric renal disease. *Pediatr Nephrol*. 2010; 25 (1): 27-35.
32. CHAMBERLAIN, P. F. 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.
33. CHEVALIER R.L. Biomarkers of congenital obstructive nephropathy: past, presente and future. *The Journal of urology*. 2004; 172 (3): 852-7.
34. CHEVALIER R.L. Obstructive nephropathy: towards biomarker discovery and gene therapy. *Nature clinical practice Nephrology*. 2006; 2 (3): 157-68.
35. COCA, S.G. et al. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int.*, v. 73, n.9, p. 1008-16, 2008.
36. COELHO G.M., OLIVEIRA E.A. (orientador), VIANA M.C.F.B. (coorientadora), Curso Clínico da hidronefrose fetal isolada: estudo de coorte prospectivo. Dissertação de Tese de Mestrado, no Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
37. COHEN, H. L. et al. Congenital abnormalities of the genitourinary system. *Semin Roentgenol*, v. 39, n. 2, p. 282-303, Apr 2004.
38. CONTI M., ZATER M. LALLALI K. DURRBACH A., MOUTEREAU S., MANIVET P., ESCHWÈGE P., LORIC S. Absence of circadian variations

in urine cystatin C allows its use on urinary samples. *Clinical Chemistry* 2004. DOI: 10.1373/clinchem.2004.039123 Published December 2004.

39. CULLEN MR, MURRAY PT, FITZGIBBON MC. Establishment of a reference interval for urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Ann Clin Biochem* 2012;49:190-3.
40. DAFFOS F, FORESTIER F. *Médecine et biologie du foetus humain*. Molaine Paris, 1988.
41. DEINUM, J. et al. Cystatin for estimation of glomerular filtration rate? *Lancet*, v.6, p. 1624-5, 2000.
42. DHARNIDHARKA, V.R. et al. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis. *Am J Kidney Dis*, v. 40, p. 221-6, 2002.
43. DICKE J.M., BLANCO V.M., YAN Y., COPLEN D.E. The type and frequency of fetal renal disorders and management of renal pelvis dilatation. *J Ultrasound Med*. Aug 2006; 25 (8): 973-7.
44. DIETERLE F, PERENTES E, CODIER A, ROTH DR, VERDES P, GRENET O, et al. Urinary clusterin, cystatin C, beta2-microglobulin and total protein as marders to detect drug-induced kidney injury. *Nature biotechnology*. 2010; 28 (5): 463-9.
45. DUDLEY, J. A. et al. Clinical relevance and implications of antenatal hydronephrosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, v. 76, n. 1, p. F31-4, Jan 1997.
46. DUVAL, J. M. et al. Ultrasonographic anatomy and physiology of the fetal kidney. *Anat Clin*, v. 7, n. 2, p. 107-23, 1985.

47. EKBLUM P. Embryology and Prenatal development. In: Holliday MA, Barratt TM, Avner ED. Pediatric Nephrology. Third edition, 1994;2.
48. EL-ACHKAR, T. M.; WU, X. R. Uromodulin in kidney injury: an instigator, bystander, or protector? *Am J Kidney Dis*, v. 59, n. 3, p. 452-61, Mar 2012.
49. FERNBACH, S. K.; MAIZELS, M.; CONWAY, J. J. 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.
50. FILHO EM. Comparação entre marcadores de lesão renal em crianças gravemente doentes: necessitamos reavaliar a dosagem de creatinina? *Ver Assoc Med Bras* 2009; 55(1): 1-11.
51. FILLER, G. et al. Cystatin C as a marker of GFR—history, indications, and future research. *ClinBiochem*, v. 38, p.1-8, 2005.
52. GARCIA C, PESTANA JM, MARTINS S, NOGUEIRA P, BARROS V, ROHDE R et al. Collaborative Brazilian Pediatric Renal Transplant Registry (CoBrazPed-RTx): A Report From 2004 to 2013. *Transplant Proc* 2015; 47:950-3. doi: 0.1016/j.transproceed.2015.03.020. DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2015.03.020>
53. GARCIA, S M. L de, GARCIA FERNÁNDEZ, C.. Capítulo 38, Sistema Urogenital. *Embriologia*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.
54. GLICK PL, HARRISON MR, GOLBUS MS, ADZICK NS, FILLY RA, CALLEN PW, et al. Management of the fetus with congenital hydronephrosis II: Prognostic criteria and selection for treatment. *J Pediatr Surg* 1985 Aug; 20 (4): 376-87.

55. GRANNUM PA, COPEL JA. Invasive fetal procedures. *Radiol Clin North Am*, Washington, v.28: p.217-26, 1990.
56. GRIGNON, A., FILION R, FILIATRAULT D, ROBITAILLE P, HOMSY Y, BOUTIN H. Urinary tract dilatation in utero: classification and clinical applications. *Radiology*, v. 160, n. 3, p. 645-7, Sep 1986.
57. GRUBB, A.O. Cystatin C-properties and use as diagnostic marker. *AdvClinChem*, v. 35, p. 63–99, 2000.
58. GRUBB, A. et al. First certified reference material for cystatin C in human sérum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med*, v. 48, p. 1619-21, 2010.
59. GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Textbook of Medical Physiology*, 11. ed. Pennsylvania: Elsevier Inc., 1104 p., 2005.
60. HAN, W.K. et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int.*, v. 73, n.7, p. 863-9, 2008.
61. HARRISON MR, FILLY RA. The fetus with obstructive uropathy: Pathophysiologic, natural history, selection and treatment. *Fetal Diseases and Management*. 1988 31:328-393.
62. HEWITT, S.M.; DEAR, J.; STAR, R.A. Discovery of protein biomarkers for renal diseases. *J Am Soc Nephrol*, v. 15, p. 1677-89, 2004.
63. HIMMELFARB, J. et al. Evaluation and initial management of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol.*, v.3, n.4, p. 962-7, 2008.
64. HOBBS JC, ROMERO R, GRANNUM P, BERKOWITZ RL, CULLEN M, MAHONEY M. Antenatal diagnosis of renal anomalies with

- ultrasound. I. Obstructive uropathy. *Am J Obstet Gynecol.* 1984;148(7):868-77.
65. HOJS, R. et al. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with mild to moderate impairment of kidney function. *Nephrol Dial Transplant* v. 21, p.1855-62, 2006.
  66. HOLMES, N.; HARRISON, M. R.; BASKIN, L. S. Fetal surgery for posterior urethral valves: long-term postnatal outcomes. *Pediatrics*, v. 108, n. 1, p. E7, Jul 2001.
  67. HOMSL YL. et al. Wilms tumor and multicystic dysplastic kidney disease. *J Urol*, New York, v.158: p.2259-60, 1997.
  68. 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.
  69. 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.
  70. 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
  71. JOHNSON, M. P. et al. In utero surgical treatment of fetal obstructive uropathy: a new comprehensive approach to identify appropriate candidates for vesicoamniotic shunt therapy. *Am J Obstet Gynecol*, v. 170, n. 6, p. 1770-6; discussion 1776-9, Jun 1994.

72. JOHNSON J.M., CHAUHAN S.P., ENNEN C.S., NIEDERHAUSER A., MAGANN E.F. A comparison of 3 criteria of oligohydramnios in identifying peripartum complications: a secondary analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(2):207.e1-7; discussion 207.e7-8.
73. KAJBAFZADEH AM, ELMI A, TALLAB SS, EMAMI H, ESFAHANI AS, SAIIDI LY, et al. Urinary and serum carbohydrate 19-9 as a biomarker in ureteropelvic junction obstruction in children. *The Journal of urology.* 2010; 183 (6): 2353-60.
74. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J KidneyDis* 2002;39:Suppl 2:S1-S246.
75. KEAYS M.A., GUERRA L.A., MIHILL J., RAJU G., AL-ASHEERI N., GEIER P., et al. Reliability assessment of Society for Fetal Urology ultrasound grading system for hydronephrosis. *J Urol.* 2008;180(4 Suppl): 1680-2.
76. KIMMEL PL, LEW SQ, BOSCH P. Nutrition, ageing and GFR: is age-associated decline inevitable? *Nephrol Dial transplant* 1996;11(Suppl 9):85-8810.
77. KLEIN, L. et al. Admission or changes in renal function during hospitalization for worsening heart failure predict post discharge survival: results from the Outcomes of a Prospective Trial of Intravenous Milrinone for Exacerbations of Chronic Heart Failure (OPTIME-CHF). *Circ Heart Fail*, v.1, n.1, p. 25-33, 2008.
78. 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 BiochemBiophys* 2001; 388: 113–120.

79. KRISHNAN, A. et al. The anatomy and embryology of posterior urethral valves. *J Urol*, v. 175, n. 4, p. 1214-20, Apr 2006.
80. KULLENDORFF CM, LARSSON LT, JORGENSSON C. The advantage of antenatal diagnosis of intestinal and urinary tract malformations. *Br J Obstet Gynecol*. 1984; 91:144-7.
81. LAB TESTS ON LINE, Cistatina C. Disponível em: <http://www.labtestsonline.org.br/understanding/analytes/cystatin-c/tab/faq>  
Acesso em: 10 Abr 2015
82. LAB TEST ON LINE. Disponível em: [www.labtestsonline.org.br](http://www.labtestsonline.org.br) Acesso em: 01 abr. 2015.
83. LAUTMANN K., STABOULIDOU I., SCHIPPERT C., HILLEMANN S., WÜSTEMANN M. Feto-amniotic shunting for lower urinary tract obstruction (LUTO)-- a case report. *Z. Geburtshilfe Neonatol*. 2007 Dec; 211 (6): 250-3. doi: 10.1055/s-2007-981408.
84. LEE, R. S. CENDRON M., KINNAMON D.D., NGUYEN H.T. Antenatal hydronephrosis as a predictor of postnatal outcome: a meta-analysis. *Pediatrics*, v. 118, n. 2, p. 586-93, Aug 2006.
85. LEIBOVITCH, L. et al. Short-term outcome among term singleton infants with intrapartum oligohydramnios. *Acta Paediatr*, v. 101, n. 7, p. 727-30, Jul 2012.
86. LEESON CR, LEESON TS, PAPARO AA. *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1988.
87. LEVEY AS, STEVENS LA, SCHMID CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150:604-12.
88. LEVEY, A.S. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*, v. 155, p. 408, 2011.

89. LEVEY, A.S., et al. Chronic kidney disease. *Lancet*, v. 379: p.165–80, 2012.
90. LEVEY, A.S. et al. Estimating Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine and Cystatin C. *New Engl J Med*, v. 367, p.20-9, 2012.
91. LIU, Y.; GONG, G. L. 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.
92. LOCATELLI, A. et al. Serial assessment of amniotic fluid index in uncomplicated term pregnancies: prognostic value of amniotic fluid reduction. *J Matern Fetal Neonatal Med*, v. 15, n. 4, p. 233-6, Apr 2004.
93. LUCARELLI G, MANCINI V, GALLEGGIANTE V, RUTIGLIANO M, VAVALLO A, BATTAGLIA M, et al. Emerging urinary markers of renal injury in obstructive nephropathy. *BioMed research international*. 2014; 2014: 303298.
94. LUPOVITCH, A. More accurate alternatives to serum creatinine for evaluating glomerular filtration rate. *Clin Chem*, v. 48, p. 2297-8, 2002.
95. MADSEN MG, NORREGAARD R, FROKEAER J, JORGENSEN TM. Urinary biomarkers in prenatally diagnosed unilateral hydronephrosis. *J Pediatr Urol*. 2011; 7 (2): 105-12.
96. MAHONY, B. S. et al. Fetal renal dysplasia: sonographic evaluation. *Radiology*, v. 152, n. 1, p. 143-6, Jul 1984.
97. MANDELL J, PETERS CA, ESTROFF JA, BENACERRAF BR. Late onset severe oligohydramnios associated with genitourinary abnormalities. *J Urol*. 1992; 148 (2 Pt 2):515-8.

98. MANNING, F.A. Common fetal urinary tract anomalies. In: Diagnosis and therapy of fetal anomalies. HOBBS, J.C.; BENACERRAF, B.R. New York, Churchill Livingstone: p.139-161, 1989.
99. MARTINEZ, I.K.H. et al. Utilidad clínica de la cistatina C como marcador de función renal. *An Med Asoc Med Hosp ABC*, v. 48, p. 216-22, 2003.
100. MARTINS T. R. et al. Cistatina C: um novo marcador para filtração glomerular comparada ao clearance de creatinina e a creatinina sérica. *Revista Brasileira de análises clínicas*, v. 35, n. 4, p. 207-213, 2003.
101. McHUGO, J.; WHITTLE, M. Enlarged fetal bladders: aetiology, management and outcome. *Prenat Diagn*, Chichester, v.21: p.958-63, 2001.
102. MEHLER, K. et al. Respiratory and general outcome in neonates with renal oligohydramnios--a single-centre experience. *Nephrol Dial Transplant*, v. 26, n. 11, p. 3514-22, Nov 2011.
103. MIGUELEZ J, BUNDUKI V, YOSHIZAKI CT, SADEK L DOS S, KOCH V, PERALTA CF, et al. Fetal obstructive uropathy: is urine sampling useful for prenatal counselling? *Prenat Diagn* 2006 Jan; 26 (1): 81-4.
104. MIRANDA, ED, orientador DUARTE, RJ. Avaliação dos biomarcadores urinários no controle do tratamento de estenose de junção ureteropélvica em adultos. Tese de Doutorado da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2016.
105. MOORE K.L. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology* 1982, WB Saunders, Philadelphia.

106. MOORE KL. Urogenital system. In: The developing huma. Clinically oriented embryology. Philadelphia: WB Sauders Company, 1988.
107. MOORE TR, CAYLE JE. The amniotic fluid index in normal human pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1990;162(5):1168-73.
108. MOORE, K. L. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. Elsevier/Saunders, 2013. ISBN 9781437720020.
109. MOORE, K. L. & PERSAUD, TVN, Embriologia Clínica, 8ª Edição, 2013.
110. MOURA, J.M.M., Capítulo do livro Assistência ao Recém-Nascido de Risco, editado por Paulo R. Margotto, 3ª Edição, em preparação, Capítulo: Hidronefrose - Conduta no período neonatal, autora Jaisa Maria M. Moura, disponível on-line, acesso em 18 de março de 2017, [www.paulomargotto.com.br](http://www.paulomargotto.com.br).
111. MULLER, F. et al. Fetal urinary biochemistry predicts postnatal renal function in children with bilateral obstructive uropathies. Obstet Gynecol, v. 82, n. 5, p. 813-20, Nov 1993.
112. MULLER, F. et al. Fetal Urine Cystatin C as a Predictor of Postnatal Renal Function in Bilateral Uropathies. Clinical Chemistry v. 45, n. 12, p. 2292-2293, 1999.
113. 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, v. 29, n. 1, p. 51-6, Feb 1996.
114. MUSSAP, M., FANOS, V., PIZZINI, C., MARCOLONGO, A., CHIAFFONI, G., PLEBANI. Predictive value of amniotic fluid cystatin C

- levels for the early identification of fetuses with obstructive uropathies. BJOG, v.109, n. 7, p. 778-783, 2002.
115. NICOLAIDES, K. H. et al. Fetal urine biochemistry in the assessment of obstructive uropathy. Am J Obstet Gynecol, v. 166, n. 3, p. 932-7, Mar 1992.
116. 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.
117. NOGUEIRA, J. Body Institute, J. Medicina/Saúde, 2010, disponível em: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Corpo/excrecao2.php>, acesso dezembro de 2016.
118. OKAY, T. S. Cistatina C: um novo marcador de função renal em crianças. Revista da Associação Médica Brasileira, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 112-113, 2002.
119. OLIVEIRA, E.A. et al. Prognostic factors in fetal hydronephrosis: a multivariate analysis. Pediatr Nephrol, Nova Scotia, v.13: p.859-64, 1999.
120. OLIVEIRA, F. R.; BARROS, E. G.; MAGALHAES, J. A. Biochemical profile of amniotic fluid for the assessment of fetal and renal development. Braz J Med Biol Res, v. 35, n. 2, p. 215-22, Feb 2002.
121. OLIVEIRA, F. R. D. [dissertação de tese] Líquido amniótico: Perfil Bioquímico do desenvolvimento Renal Fetal. 2001. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
122. PASTORE A.R., CERRI G. C. Ultrassonografia: Obstetricia e Ginecologia,. Editora Sarvier, 1997.

123. PARIKH, C.R. et al. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol.*, v.16, n.10, p.3046-52, 2005.
124. PARVEX P., COMBESCURE C., RODRIGUEZ M., GIRARDINI E. Is Cystatin C a promising marker of renal function, at birth, in neonates prenatally diagnosed with congenital kidney anomalies? Published by Oxford University Press on behalf of ERA-EDTA. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27 (9):3477-3482 doi: 101093/ndt/gfs 051
125. PATTEN, R.M. et al. The fetal genitourinary tract. *Radiol Clin North Am*, Washington, v.28: p.115-30, 1990.
126. PERALTA, C. F., NETO M.F., MARUSSI S.E.F., BARINI R., HIDALGO R., NETO L.S., ROSA I.R.M. Uropatias obstrutivas bilaterais fetais: sinais ultrassonográficos durante a gravidez e evolução pós-natal. [Fetal bilateral obstructive uropathies: ultrasound findings during pregnancy and postnatal outcomes]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, v. 31, n. 11, p. 540-6, Nov 2009.
127. PERALTA CA, KATZ R, SARNAK MJ, IX J, FRIED LF, DE BOER I, et al. Cystatin C identifies chronic kidney disease patients at higher risk for complications. *J AM Soc Nephrol.* 2001; 22:147-55.
128. PERALTA CA, SHLIPAK MG, JUDD S, et al. Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albuminuria-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality. *JAMA* 2011;305:1545-52.

129. PEREIRA, A. K. Uropatias fetais: avaliação dos critérios de diagnóstico morfológico e funcional. Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, 1999.
130. 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.
131. PEREIRA, A. K. 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.
132. PERES LAB, JÚNIOR ADC, SCHÄFER AJ, SILVA AL, GASPARI AD, SCARPARI DF, ALVES JBF, NETO RG, OLIVEIRA TFT. Biomarcadores da injúria renal aguda. *J. Bras. Nefrol.* vol.35 no.3 São Paulo July/Sept.2013
133. PETERS C. A. Urinary tract obstruction in children. *The Journal of Urology.* 1995; 154 (5): 1874-83; discussion 83-4.
134. PHELAN JP, AHN MO, SMITH CV *et al.* Amniotic fluid index measurements during pregnancy. *J Reprod Med.* 1987;32(8):601-4.
135. PITKIN, R. M.; ZWIREK, S. J. Amniotic fluid creatinine. *Am J Obstet Gynecol*, v. 98, n. 8, p. 1135-9, Aug 15 1967.
136. POGGIO, E.D. et al. Estimation of glomerular filtration rate by creatinine - based formulas: any room for improvement? *Nephrol Self-Assessment Program*, v. 5, p.131-40, 2006.

137. PRATES AB. Avaliação da medida da cistatina C e das equações do estudo MDRD para estimar a taxa de filtração glomerular em indivíduos normais [dissertação mestrado]. Porto Alegre (RS): Programa de pós-graduação em ciências médicas: endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.
138. PRATES AB, AMARAL FB, VACARO MZ, GROSS JL, CAMARGO JL, SILVEIRO SP. Avaliação da filtração glomerular através da medida da cistatina C sérica. *J Bras Nefrol* 2007; 29(1): 48-65.
139. QUEIROZ E SILVA FA. Organogênese Urogenital. In: Macedo Junior A, Lima SVC, Streit D Barroso Junior U. *Urologia pediátrica*. 2ª edição. São Paulo: Roca; 2004, p. 01-20.
140. QUINTERO R.A. Advances in diagnostic and treatment technology. In: Ehrlich RM, Freedman A, eds. *Advances in fetal therapy for obstructive uropathy*. *Dialog Pediatr Urol*. 1996;19:4-5.
141. RAMOS, R. C. Cistatina c: um novo marcador de filtração glomerular. 2010. 30 f. Monografia (Especialização em Terapia Intensiva Pediátrica) - Hospital Regional da Asa Sul, Secretaria de Estado de Saúde do Governo do Distrito Federal, Brasília, 2010.
142. REDDY, P.; MANDELL, J. Prenatal diagnosis: therapeutic implications. *Urol Clin North Am*, Bethesda, v.25: p.171-180, 1998.
143. REZNIK VM, MURPHY JL, MENDOZA SA, GRISWOLD WR, PACKER MG, KAPLAN GW. Follow-up of infants with obstructive uropathy detected in utero and treated surgically postnatally. *J Pediatr Surg*. 1989;24(12):1289-92.
144. ROSENTHAL, S.H. et al. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations? *Clin Biochem*, v. 4, p.153-61, 2007.

145. ROYAKKERS, A.A. et al. Serum and urine cystatin C are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. *Intensive Care Med.*, v. 37, n.3, p.493-501, 2011.
146. RUMACK, C. M. Tratado de Ultra-sonografia Diagnostica, 2v. ELSEVIER (MEDICINA), 2006. ISBN 9788535217117.
147. SAITO, M.; CABRAL, A. C.; ISFER, E. V. Sistema Urogenital. In: (Ed.). Diagnóstico pré-natal e Contuda. 1. São Paulo: Revinter, 1996. p.166-218.
148. SALGADO JVL. Avaliação da cistatina c como marcador de função renal de pacientes com hipertensão arterial primária [dissertação mestrado]. Brasília (DF): Faculdade de ciências da saúde, Universidade de Brasília; 2009.
149. SALGADO, J.V. et al. Cystatin C and inflammatory markers in kidney transplant recipients. *Rev Assoc Med Bras*, v. 57, n.3, p.347-352, 2011.
150. SALGADO, J.V. et al. Cystatin C, kidney function, and cardiovascular risk factors in primary hypertension. *REV ASSOC MED BRAS*. v. 59, n.1, p. 21-27, 2013.
151. SANDLER, TW & LANGMAN, The Embriologia Medica – Con Orientacion Clinica, 8b\* Ed (Espanhol), 8ªed, jul 1996.
152. SANNA-CHERCHI S, RAVANI P, CORBANI V, et al. Renal outcome in patients with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney Int* 2009; 76: 528-533.

153. SANTOS DR, MOURA RR, Texto Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), no dia Internacional do Rim em 2014. Acesso a internet em novembro de 2016.
154. SANTOS, L. C. MEDICINA FETAL. Rio de Janeiro: MEDBOOK, 2008. 568 ISBN 9788599977194.
155. SAUDAN PJ, FARREL TJ, BROWN MA. B2-microglobulin in hypertensive pregnancies. Am J Kidney Dis 1998, 31(2):308-312.
156. SELISTE L.S., SAITOVITCH D. (orientador), ANTONELLO I.C.F. (orientador). Avaliação da estimativa da taxa de filtração glomerular com cistatina C em pacientes pediátricos. Tese de Doutorado, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2012
157. SCHMIDT-OTT, K.M. et al. C-kit delineates a distinct domain of progenitors in the developing kidney. Dev Biol., v. 299, n.1, p.238-49, 2006.
158. SCHMITZ, P. G. **Rins**. McGraw Hill Brasil, 2012. ISBN 9788580551426.
159. SCHRIER, R. Blood urea nitrogen and serum creatinine: not married in heart failure. Circ Heart Fail, v. 1, n.1, p. 2-5, 2008.
160. SHLIPAK, M.G. et al. CKD Prognosis Consortium\* Cystatin C versus Creatinine in Determining Risk Based on Kidney Function. N Engl J Med, v. 369, p. 932-43, 2013.

161. SIEW ED, PETERSON JF, EDEN SK, HUNG AM, SPEROFF T, IKIZLER TA, et al. Outpatient nephrology referral rates after acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:305-12.
162. SIROTA JC, KLAWITTER J, EDELSTEIN CL. Biomarkers of acute kidney injury. *J Toxicol* 2011;2011:328120. PMID: 22131986
163. SLOCUM JL, HEUNG M, PENNATHUR S. Marking renal injury: can we move beyond serum creatinine? *Transl Res* 2012;159:277-89.
164. SMITH G. H. 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.
165. SODRÉ FL, COSTA JCB, LIMA JCC. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* vol 43 no. 5 Rio de Janeiro Sept./Oct. 2007. On line version ISSN 1678-4774.
166. SONI, S.S. et al. Cardiorenal syndrome: biomarkers linking kidney damage with heart failure. *Biomark Med.*, v.3, n.5, p. 549-60, 2009.
167. STEVENS LA, CORESH J, GREENE T, LEVEY AS. Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006; 354:2473-83.
168. STEVENS, L.A. et al. Estimating GRF using serum cystatin alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney dis*, v. 51, p. 395-406, 2008.

169. 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.
170. TESCH G.H. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective. *Nephrology (Carlton)* 2010;15:609-16.
171. TENSTAD O. et al. Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. *Scand J Clin Lab Invest*, v. 56, p. 409–414, 1996.
172. TRINKA, P. et al. Congenital urinary tract obstruction: defining markers of developmental kidney injury. *Pediatr Res*, v. 72, n. 5, p. 446-54, Nov 2012.
173. TWINING, P. et al. Genitourinary malformations. *Diagn imag fetal anom*, [s.l.], p.603-60, 2003.
174. VANDERHEYDEN, T.; KUMAR, S.; FISK, N. M. Fetal renal impairment. *Semin Neonatol*, v. 8, n. 4, p. 279-89, Aug 2003.
175. WAHEED S, MATSUSHITA K, SANG Y, HOOGEVEEN R, BALLANTYNE C, CORESH J, et al. Combined association of albuminuria and cystatin C-based estimated GFR with mortality, coronary heart disease, and heart failure outcomes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Kidney Dis*. 2012; 60: 207-16
176. WARSHAW, B. L. et al. Renal transplantation in children with obstructive uropathy. *J Urol*, v. 123, n. 5, p. 737-41, May 1980.
177. WIGGLESWORTH JS, DESAI R. Is fetal respiratory function a major determinant of perinatal survival? *Lancet*. 1982;1(8266):264-7.

178. WIKIPEDIA® ist eine eingetragene Marke der Wikimedia Foundation Inc., imagem da cistatina C tridimensional, acesso site em Jan. 2007.
179. WOODWARD M, FRANK D. Postnatal management of antenatal hydronephrosis. *BJU Int*, New York, v.89, n.2: p.149-56, 2002.
180. ZAFFANELLO M, FRANCHINI M, FANOS V. Is serum cystatin-C a suitable marker of renal function in children. *Annals of clinical e laboratory science* 2007; 37(3): 233-240.
181. ZIMMERHACKL, L. B. et al. Tamm-Horsfall protein as a marker of tubular maturation. *Pediatr Nephrol*, v. 10, n. 4, p. 448-52, Aug 1996.
182. ZUGAIB M, LIAO AW, BRIZOT ML, CARVALHO MHB, BUNDUKI V. *Medicina Fetal*. Editora Atheneu, 3° Ed, 2012.



## APÊNDICE 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO I

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezada paciente,

O seu bebê apresenta um quadro de obstrução do trato urinário, quer dizer que a urina que ele produz através dos seus rins fica retida no canal e não é eliminada. Esta obstrução é progressiva e pode prejudicar de forma definitiva a capacidade dos rins dele de funcionar.

Por isso, é preciso coletar uma amostra de urina do bebê e do líquido amniótico (da bolsa d'água) para fazer algumas dosagens e com isso verificar se os rins dele estão funcionando. Este resultado vai definir se é preciso fazer algum tratamento no bebê ainda dentro do útero.

Estes procedimentos apresentam um risco de 0,5 a 1,5%, podendo ocorrer à perda de líquido amniótico, infecção, ou alguma lesão no feto. Porém, este procedimento poderá definir as possibilidades para o tratamento do bebê ainda na sua barriga.

Esta pesquisa é intitulada **ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C EM URINA FETAL E EM LÍQUIDO AMNIÓTICO DE FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA, COMO MARCADOR DE FUNÇÃO RENAL PÓS-NATAL.**

Pretendemos dosar várias substâncias na urina e no líquido amniótico, para avaliar a eficácia deles em identificar se os rins do bebê estão funcionando ou não.

Se você aceitar em participar desta pesquisa, comprometemos em manter seu nome em sigilo.

Além disto, você e seu bebê serão acompanhados neste serviço, mesmo se optarem em não participar desta pesquisa.

Eu,

---

\_\_\_\_\_ aceito participar da pesquisa **ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C EM URINA FETAL E EM LÍQUIDO AMNIÓTICO DE FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA, COMO MARCADOR DE FUNÇÃO RENAL PÓS-NATAL.**

**Assinatura da paciente:**

---

**Contato com os pesquisadores:**

**Alamanda Kfoury Pereira: fone (31) 3409-9764**

**Érica Barcala Baptista Rodrigues: (31) 3377-9811**

## APÊNDICE 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO II

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezada paciente,

O seu bebê apresenta um quadro patológico fetal que justifica a realização de procedimentos invasivos de pesquisa do líquido amniótico, e como estamos realizando um estudo de obstrução do trato urinário em fetos com uropatia obstrutiva bilateral (quer dizer que a urina que ele produz através dos seus rins fica retida no canal e não é eliminada e esta obstrução é progressiva e pode prejudicar de forma definitiva a capacidade dos rins dele de funcionar) e que precisamos comparar com fetos sem esta suspeita, solicitamos sua autorização para utilizar pequena fração do material obtido, para outros fins que não de lesão renal, para o estudo comparativo em nossa pesquisa.

É importante frisarmos que tal doação de material, uma vez que os senhores pais, já autorizaram o procedimento para outros fins, em nada acrescentará para prejudicar os seus fetos, e em muito contribuirá para a ciência e a evolução das pesquisas fetais, de forma que possamos somar para a melhoria do atendimento pré-natal dando uma melhor chance de sobrevivência para os nossos fetos e filhos no futuro.

Esta pesquisa é intitulada **ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C EM URINA FETAL E EM LÍQUIDO AMNIÓTICO DE FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA, COMO MARCADOR DE FUNÇÃO RENAL PÓS NATAL.**

Pretendemos dosar várias substâncias no líquido amniótico, para avaliar a eficácia deles em identificar se os rins do bebê estão funcionando ou não.

Se você aceitar em participar desta pesquisa, comprometemos em manter seu nome em sigilo.

Além disto, você e seu bebê serão acompanhados neste serviço, mesmo se optarem em não participar desta pesquisa.

Eu,

---

\_\_\_\_\_ aceito participar da pesquisa **ESTUDO DA DOSAGEM DA CISTATINA C EM URINA FETAL E EM LÍQUIDO AMNIÓTICO DE FETOS PORTADORES DE UROPATIA OBSTRUTIVA, COMO MARCADOR DE FUNÇÃO RENAL PÓS-NATAL.**

**Assinatura da paciente:**

---

**Contato com os pesquisadores:**

**Alamanda Kfoury Pereira: fone (31) 3409-9764**

**Érica Barcala Baptista Rodrigues: (31) 3377-9811**



## ANEXO 1: CARTA DE APROVAÇÃO DO COEP



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

Projeto: CAAE – 43415014.0.0000.5149

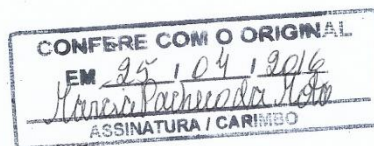
Interessado(a): **Profa. Alamanda Kfoury Pereira**  
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia  
Faculdade de Medicina- UFMG

### DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 25 de maio de 2015, o projeto de pesquisa intitulado "Estudo da dosagem da Cistatina C em urina fetal e em líquido amniótico de fetos portadores de Uropatia obstrutiva, como marcador de função renal pós-natal" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

Profa. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz  
Coordenadora do COEP-UFMG



ANEXO 2: TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PESQUISA EM PRONTUÁRIOS, NOS ARQUIVOS DO SAME, PARA COLETA E CONFIRMAÇÃO DE DADOS



Universidade Federal de Minas Gerais  
Hospital das Clínicas  
Gerência de Ensino e Pesquisa



**MEMORANDO**

Belo Horizonte, 25 de abril de 2016.

**DE:** GEP-HC/UFMG

**PARA:** Coordenação Administrativa/Arquivo SAME

**PESQUISA GEP**

**Processo 159/14:** "Estudo da dosagem da Cistatina c em urina fetal e em líquido amniótico de fetos portadores de uropatia obstrutiva, como marcador de função renal pós natal."

De ordem do Gerente de Ensino e Pesquisa do HC/UFMG, a pesquisa citada de autoria da Profª Alamanda Kfoury Pereira está aprovada nesta Gerência, ficando autorizada a colaboradora Érica Barcala Baptista Rodrigues a consultar prontuários para coleta de dados no SAME, com agendamento prévio.

Atenciosamente,

  
Márcia Pacheco da Mota

Secretária – Diretoria do HC/UFMG

UM MOSQUITO NÃO É MAIS FORTE  
QUE UM PAÍS INTEIRO.  
#ZikaZero

**EBSERH**  
HOSPITAIS UNIVERSITÁRIOS FEDERAIS

CGC: 17.217.985/0034-72-Av. Prof. Alfredo Balena, 110 – 1º andar  
Bairro Santa Efigênia – CEP 30130-100 – Belo Horizonte - MG  
Telefone: (31) 3409-9379 – 3409-9612 – 3409-9613 – FAX: (31) 3409-9380 – depe@hc.ufmg.br