

Uromodulina: um novo biomarcador de função renal fetal?

Uromodulin: a new biomarker of fetal renal function?

Autores

Thais Emanuelle Faria Botelho¹

Alamanda Kfoury Pereira¹

Patrícia Gonçalves Teixeira¹

Eura Martins Lage¹

Gabriel Costa Osanan¹

Ana Cristina Simões e Silva¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais.

Data de submissão: 12/05/2016.

Data de aprovação: 08/08/2016.

Correspondência para:

Thais Emanuelle Faria Botelho.

Universidade Federal de Minas Gerais - Faculdade de Medicina. Av. Prof. Alfredo Balena, nº 190, Sala 213, Belo Horizonte, MG, Brazil.

CEP: 30130-100

E-mail: bthais.faria@gmail.com

DOI: 10.5935/0101-2800.20160068

RESUMO

Introdução: Uropatias obstrutivas estão entre as principais doenças que acometem o feto. O diagnóstico precoce destas doenças permite estabelecer a terapêutica adequada, visando minimizar os riscos de danos à função renal no nascimento. Os marcadores bioquímicos têm sido utilizados na predição do prognóstico da função renal em fetos. A uromodulina, também chamada de proteína de Tamm-Horsfall (THP), é produzida exclusivamente nos rins, e em condições normais, é a proteína excretada em maior volume na urina humana. Ela desempenha importantes funções nos rins e trato urinário. Participa dos processos de transporte de íons, interage com vários componentes do sistema imunológico e possui papel na defesa contra infecções do trato urinário. Além disso, se mostrou um bom biomarcador de função renal em adultos portadores de diversas doenças renais. **Objetivos:** Avaliar se a uromodulina é produzida e eliminada pelos rins durante a vida fetal através da análise de urina fetal e líquido amniótico, além de estabelecer correlação com o parâmetro bioquímico de função renal já utilizado no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG (CEMEFE/HC). **Métodos:** Entre 2013 e 2015, foram selecionados 29 fetos com indicação de exames invasivos para diagnóstico fetal em acompanhamento no CEMEFE/HC. **Resultados:** A dosagem da uromodulina foi possível e quantificável em todas as amostras e mostrou correlação significativa com a osmolaridade. **Conclusão:** A uromodulina mostrou uma tendência em apresentar valores reduzidos em fetos com grave comprometimento renal no pré-natal. Assim, valores elevados desta proteína em dosagens de urina fetal ou líquido amniótico podem significar uma função renal preservada.

Palavras-chave: anormalidades urogenitais; líquido amniótico; ultrassonografia pré-natal; urina.

ABSTRACT

Introduction: Obstructive uropathies are main diseases affecting the fetus. Early diagnosis allows to establish the appropriate therapy to minimize the risk of damage to kidney function at birth. Biochemical markers have been used to predict the prognosis of renal function in fetuses. Uromodulin, also known by Tamm-Horsfall protein (THP) is exclusively produced in the kidneys and in normal conditions is the protein excreted in larger amounts in human urine. It plays important roles in kidneys and urinary tract. Also it participates in ion transport processes, interact with various components of the immune system and has a role in defense against urinary tract infections. Moreover, this protein was proved to be a good marker of renal function in adult patients with several renal diseases. **Objective:** To evaluate if uromodulin is produced and eliminated by the kidneys during fetal life by analyzing fetal urine and amniotic fluid and to establish correlation with biochemical parameter of renal function already used in Fetal Medicine Center at the Clinic Hospital of UFMG (CEMEFE/HC). **Methods:** Between 2013 and 2015, were selected 29 fetuses with indication of invasive tests for fetal diagnosis in monitoring at the CEMEFE/HC. **Results:** The determination of uromodulin was possible and measurable in all samples and showed statistically significant correlation with the osmolarity. **Conclusion:** There was a tendency of lower levels of Uromodulin values in fetuses with severe renal impairment prenatally. Thus, high levels of this protein in fetal amniotic fluid or fetal urine dosages possibly mean kidney function preserved.

Keywords: amniotic fluid; ultrasonography, prenatal; urine; urogenital abnormalities.

INTRODUÇÃO

As malformações dos rins e trato urinário correspondem a 20% de todas as anomalias fetais identificadas pelo ultrassom pré-natal.¹ Dentre elas, as uropatias obstrutivas são as mais frequentes e representam a principal causa de doença renal crônica (DRC) na infância e adolescência.²

As uropatias obstrutivas são anomalias congênicas que resultam em obstrução parcial ou completa do fluxo de urina em algum nível do trato urinário. Caracterizam-se inicialmente pela dilatação das vias urinárias, a chamada hidronefrose, podendo ou não estar associada a outros achados ultrassonográficos, dependendo do tipo de obstrução.³ O diagnóstico pré-natal e tratamento precoces são capazes de prevenir ou adiar a perda crônica da função renal.^{4,5}

Segundo o censo de 2013 da Sociedade Brasileira de Nefrologia,⁶ há, no Brasil, cerca de aproximadamente 100.397 pacientes de DRC em estágio final, dos quais 90,8% estão em tratamento hemodialítico e 9,2% em diálise peritoneal. Destes pacientes, 6% tem idade inferior a 18 anos. Um estudo colaborativo realizado em 13 centros médicos buscou analisar os registros de Transplante Renal Pediátrico no Brasil entre os anos de 2004 a 2013. Os dados referentes a 1751 transplantes realizados em pacientes menores de 18 anos mostraram que a etiologia mais comum dos transplantes eram as uropatias obstrutivas, 31% dos casos.⁷

Os parâmetros ultrassonográficos usados isoladamente não são suficientes para a avaliação completa da capacidade funcional dos rins no período fetal.⁸ Análises bioquímicas obtidas da urina fetal permitem esta avaliação, possibilitando o manejo correto e intervenções oportunas.⁹

O equilíbrio hidroeletrolítico é mantido pela placenta, logo, o estudo do soro fetal não contribui para análise da função renal intrauterina. Já a concentração de eletrólitos na urina fetal correlaciona-se diretamente com a função renal,¹⁰ e pode ser avaliada bioquimicamente a partir da 15ª semana de gestação, momento em que os rins já se encontram funcionantes.

Acredita-se que tais dosagens podem ser também realizadas no líquido amniótico, considerando que grande parte de sua composição é de urina fetal.¹¹ A análise bioquímica da urina e do líquido amniótico tem sido realizada para avaliação intrauterina da função renal, entretanto, nenhum dos parâmetros

avaliados possui acurácia comprovada como marcador de função renal fetal.^{12,13}

UROMODULINA OU PROTEÍNA DE TAMM-HOSFALL

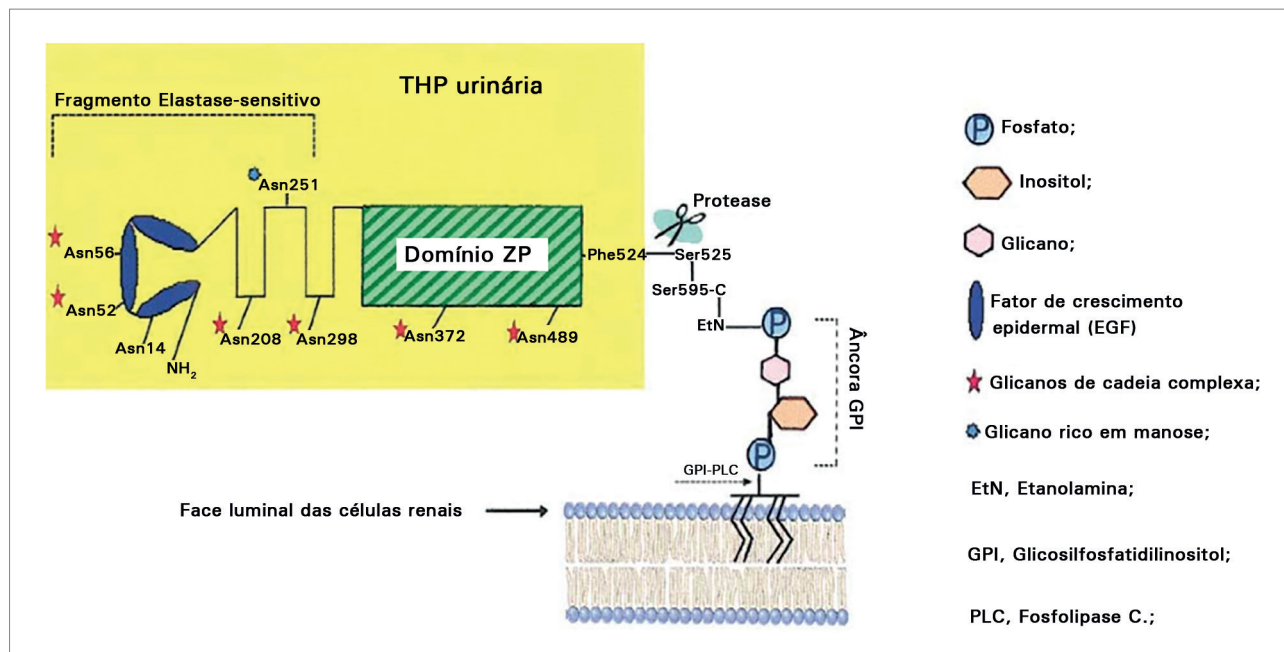
A proteína de Tamm-Hosfall (THP) foi descoberta em 1950 por Igor Tamm e Frank L. Horsfall Jr. e caracterizada como uma proteína presente na urina humana e de outros animais, capaz de inibir a hemoaglutinação viral.¹⁴ Em 1985, Muchmore & Decker¹⁵ isolaram uma proteína com a capacidade de inibir a proliferação de linfócitos T e monócitos. Por sua fonte de isolamento e atividade moduladora da resposta imune *in vitro*, denominaram-na de uromodulina. Dois anos depois, por meio de estudos com DNA complementar, pesquisadores identificaram a THP e a uromodulina como sendo proteínas idênticas.¹⁶

Rindler *et al.*¹⁷ mostraram que a uromodulina é uma proteína que possui uma âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI). A proteína madura contém 616 aminoácidos, incluindo 48 resíduos de cisteína que envolvem 24 pontes dissulfeto, importantes para a sua conformação (Figura 1).

Oito potenciais sítios de N-glicosilação também estão presentes. A estrutura da uromodulina contém ainda três fatores de crescimento epidérmico (EGF), além de um domínio de zona pelúcida (ZP). A região C-terminal da proteína inclui um estiramento de aminoácidos hidrofóbicos, que atuam como um sinal para a transpeptidase no retículo endoplasmático das células do segmento espesso do ramo ascendente da alça de Henle (TAL) - onde a uromodulina é produzida - fixar a âncora GPI pré-formada à proteína.

Após a adição, a proteína ligada à âncora é transportada para o complexo de Golgi, onde seus glicanos são processados, e, em seguida, a proteína é entregue à superfície luminal da célula e liberada na urina por clivagem proteolítica.¹⁸ Estudos ontogenéticos indicaram que a presença da uromodulina é intimamente relacionada com o desenvolvimento e maturação funcional da alça de Henle.¹⁹ Em condições normais, a uromodulina é a proteína excretada pelos rins em maiores volumes, a uma taxa de ~50 mg/dia, podendo este valor ser influenciado por muitos fatores, como o volume de urina, dieta e exercício.²⁰

Estudos apontam as várias funções biológicas da uromodulina no sistema urinário. Acredita-se que, devido à sua produção nas células do TAL, a

Figura 1. Modelo estrutural da uromodulina urinária (área amarela) e sua âncora GPI (Fonte: Serafini-Cessi *et al.*, 2003).

uromodulina desempenha papel nos processos de transporte de íons.^{21,22} Ela é também reconhecida por sua capacidade imunoreguladora ao interagir com diversos componentes do sistema imunológico²³⁻²⁵ e possui grande importância na defesa contra infecções do trato urinário, em especial as causadas por *Escherichia coli*.²⁶⁻²⁸ Além disso, atua na prevenção da formação de cálculos nos rins, reduzindo a agregação de cristais de cálcio.²⁹

Mutações no gene que codifica a uromodulina (UMOD) têm sido associadas a várias doenças renais autossômicas dominantes.^{30,31} Cinquenta e oito mutações do gene UMOD já foram descritas na literatura.³² Presume-se que, nestas doenças, são produzidas proteínas defeituosas, que não serão liberadas na membrana celular. Estudos *in vitro* em células renais UMOD mutantes mostraram que a uromodulina fica retida intracelularmente,^{33,34} causando, posteriormente, danos às células do TAL.

Segundo Prajczar *et al.*³⁵, a dosagem de uromodulina urinária apresentou valores reduzidos em pacientes com DRC, comparados a indivíduos saudáveis, e foi positivamente correlacionada com a taxa de filtração glomerular (TFG).

Zhou *et al.*³⁶ verificaram correlação entre as dosagens da uromodulina urinária e a TFG em um *follow-up* em pacientes com nefropatia por IgA, com diminuição nos níveis de uromodulina de acordo com a progressão da doença. Estes achados estão de

acordo com estudos anteriores, em que a proteína mostrou-se reduzida em várias doenças que afetam a função/integridade renal.³⁷⁻⁴⁰

Diante destas evidências, e a falta de estudos sobre a produção e liberação da uromodulina na vida fetal, este estudo teve por finalidade comprovar se a uromodulina é produzida durante a vida fetal e se esta proteína pode ser um biomarcador de função renal em fetos com malformações renais.

OBJETIVOS

Verificar se a proteína uromodulina é produzida e eliminada pelos rins durante a vida fetal, analisando amostras de urina fetal e líquido amniótico, coletadas de fetos acompanhados pela equipe do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG (CEMEFE/HC) e estabelecer correlações entre a dosagem de uromodulina e a osmolaridade, o marcador bioquímico de função renal utilizado pelo serviço.

PACIENTES E MÉTODOS

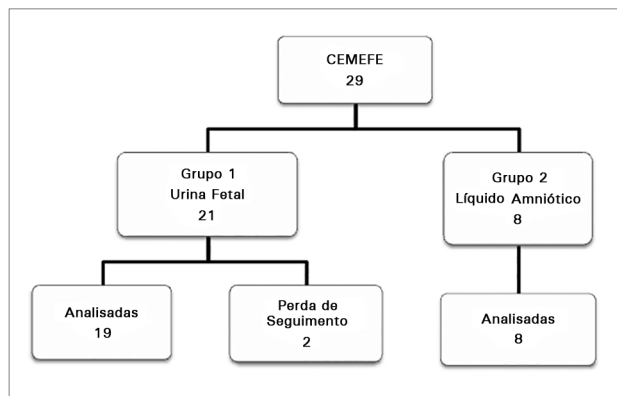
PACIENTES

No período de março de 2013 a março de 2015, foram selecionados 29 fetos portadores de doenças, entre 17 e 34 semanas de gestação, acompanhadas no CEMEF/HC, os quais, de acordo com o protocolo

do serviço, apresentavam indicação para realização de procedimentos invasivos sob visão ultrassonográfica.

Vinte e um fetos eram portadores de uropatia obstrutiva (Grupo 1) com indicação de coleta de urina para análise bioquímica da função renal (Figura 2). Oito fetos (Grupo 2) apresentavam anormalidades não nefrourinárias, com indicação, pelo protocolo do serviço, de coleta de líquido amniótico para fins de propedêutica genética ou infecciosa (Figura 2).

Figura 2. Fluxograma de acompanhamento do estudo.



No grupo 1, o volume de líquido amniótico reduzido justificou a coleta apenas da urina fetal. No grupo 2, optou-se pela coleta do líquido amniótico por já ser esta amostra a utilizada no protocolo de acompanhamento desses fetos. O objetivo destas coletas foi não expor a paciente e o feto a riscos adicionais de procedimentos invasivos, além dos inerentes aos procedimentos sugeridos pelo protocolo de acompanhamento do serviço. No momento de cada procedimento, parte da amostra foi armazenada para a realização da dosagem da uromodulina.

ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, e aprovado sob o CAAE 35559214.1.0000.5149. As gestantes foram informadas sobre o protocolo do estudo e as que aceitaram participar voluntariamente assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Elas foram acompanhadas até o parto e puerpério, conforme o protocolo habitual do CEMEFE, e foi resguardado o direito de recusa às gestantes em participar do estudo.

Os recém-nascidos com uropatias foram acompanhados na Unidade Neonatal do Hospital das Clínicas da UFMG e pela Unidade de Nefrologia Pediátrica da mesma instituição. Das 29 gestantes

inicialmente incluídas no estudo, houve perda de acompanhamento de apenas duas, sendo estas excluídas da análise final.

PROTOCOLO DO ESTUDO

As amostras de urina fetal (grupo 1) e de líquido amniótico (grupo 2) obtidas nos procedimentos foram centrifugadas a 4°C, 300 g, durante 20 minutos e, posteriormente, congeladas em freezer a -80°C, sendo encaminhadas para a análise no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica da Faculdade de Medicina da UFMG. Os parâmetros bioquímicos analisados foram a determinação da osmolaridade e as dosagens de uromodulina e creatinina.

A dosagem de creatinina foi realizada com o objetivo de ajustar a concentração urinária de uromodulina à excreção urinária de creatinina, conforme recomendado para mensuração de marcadores em amostras de urina.⁴¹ Os resultados da concentração de uromodulina foram expressos em nanogramas de uromodulina por ml de urina ou líquido amniótico (ng de uromodulina/ml) ou em nanogramas de uromodulina por micrograma de creatinina urinária (ng de uromodulina/ μ g de creatinina). Os resultados da concentração de creatinina foram expressos em micrograma de creatinina por ml de urina (μ g de creatinina/ml de urina).

Para análise da osmolaridade nas amostras de urina fetal, foi utilizado Osmômetro modelo OSMOMAT 030 (AUTOMATIC CRYOSCOPIC OSMOMETER), calibrado com o padrão de 300 mOsm/Kg, do fabricante Gonatec GmbH. Foram considerados alteradas as amostras com valores acima de 210 mOsm/l,⁴² como já descrito no protocolo habitual do serviço.

A uromodulina foi dosada em amostras de urina fetal e líquido amniótico, utilizando-se kit ELISA para medição quantitativa de uromodulina humana. Foi utilizado o kit BioVendor RD191163200R Human Uromodulin ELISA, da empresa BioVendor - Research and Diagnostic Products.

Uma curva padrão foi construída plotando os valores de absorbância contra os valores de uromodulina nos padrões, e as concentrações das amostras não conhecidas foram determinadas usando esta curva padrão. A leitura da absorbância foi feita em leitor de ELISA (MOLECULAR DEVICES, USA). Por uma equação de reta foi feito o cálculo da concentração de uromodulina em cada amostra.

As concentrações de creatinina foram medidas nas amostras de urina fetal, com o uso do método de Jaffe modificado com Kit comercial da empresa Bioclin, conforme orientações do fabricante. Este método consiste em uma reação colorimétrica entre a creatinina e o ácido pícrico, cujo produto é amarelo-avermelhado. A absorbância do composto formado foi lida em leitor de ELISA (MOLECULAR DEVICES, USA) em comprimento de onda de 510 nm.

Os valores obtidos nas amostras foram relacionados aos valores obtidos no padrão, calculando-se, então, a equação da reta. De posse dela, interpolamos os valores de absorbância encontrados em cada amostra à equação, obtendo a quantidade de creatinina em determinado volume de urina.

Ressalta-se ainda que a determinação da osmolaridade na urina fetal é o exame realizado rotineiramente no CEMEFE para, em conjunto com os achados ultrassonográficos, volume de líquido amniótico e o aspecto do parênquima renal, auxiliar na definição do prognóstico da função renal fetal. Dessa forma, os resultados das análises bioquímicas da uromodulina e da creatinina foram comparadas entre dois grupos: fetos que tinham osmolaridade normal e fetos que tinham a osmolaridade alterada.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição das variáveis foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis paramétricas foram expressas como média e erro padrão da média, enquanto as variáveis não paramétricas foram expressas como medianas e intervalo interquartil (Percentil 25 - Percentil 75).

Para as variáveis com distribuição paramétrica, foi usado o teste *t de Student* para dados não pareados e para as variáveis de distribuição não paramétrica utilizou-se o teste de *Mann Whitney* para comparação de medianas. O Teste de Correlação de Pearson foi utilizado para testar as correlações entre as seguintes variáveis:

Concentração de uromodulina x osmolaridade;

Concentração de uromodulina x concentração de creatinina;

Concentração de uromodulina corrigida pela creatinina x osmolaridade.

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

0,70 positivo ou negativo indicou uma forte correlação;

0,30 a 0,70 positivo ou negativo indicou correlação moderada;

0 a 0,30 indicou fraca correlação.

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

RESULTADOS

Foram estudados 21 fetos, com idade gestacional de $24,4 \pm 1,2$ semanas e portadores de uropatia obstrutiva (grupo 1) e oito fetos, com idade gestacional de $26,4 \pm 1,5$ semanas e que não apresentavam uropatia obstrutiva (grupo 2). Não houve diferença significativa entre as idades gestacionais dos grupos 1 e 2.

Dezesseis dos 21 fetos portadores de uropatia obstrutiva (76%) tinham volume moderada ou acentuadamente reduzido do líquido amniótico. Apenas em cinco fetos do grupo 1 (24%) foi observado volume adequado de líquido amniótico. Em contrapartida, todos os fetos do grupo 2 possuíam volume normal de líquido amniótico.

Óbito durante o período neonatal ocorreu em cinco recém-nascidos do grupo 1 em decorrência de hipoplasia pulmonar. Nenhum recém-nascido do grupo 2 foi a óbito. A principal causa de uropatia obstrutiva no grupo 1 foi a válvula de uretra posterior (VUP), detectada em 19 dos 21 casos (90%).

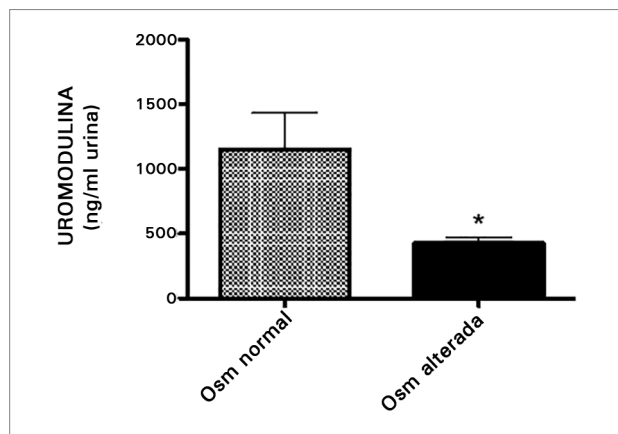
As concentrações urinárias de uromodulina nos fetos do grupo 1 foram, em valores absolutos, de $399,4$ (intervalo interquartil $319,4$ a 1139) ng/ml de urina fetal e em relação à creatinina dosada na mesma amostra de urina de $11,35$ (intervalo interquartil $7,1$ a $35,7$) ng/ μ g de creatinina urinária.

A osmolaridade da urina fetal foi medida em 19 dos 21 fetos do grupo 1, sendo de $206,7 \pm 23,4$ mOsm/l. Ao serem subdivididos em relação ao ponto de corte da osmolaridade urinária de 210 mOsm/l, ou seja, valores abaixo desse ponto são considerados normais, observou-se que dentre as 19 amostras de urina analisadas, a osmolaridade estava dentro dos valores de referência em 10 casos (52,6%) e alterada em 9 casos (47,4%).

A Figura 3 compara as concentrações urinárias de uromodulina, expressas em nanogramas (ng)/mililitros (ml) de urina, dos fetos com uropatias obstrutivas que apresentavam osmolaridade urinária

abaixo de 210 mOsm/l (normal) *versus* os que possuíam valores alterados deste parâmetro. Houve diferença significativa nas concentrações urinárias absolutas de uromodulina nos dois subgrupos (1152 \pm 282,1 ng/ml de urina nos fetos com osmolaridade normal *versus* 428,1 \pm 44,1 ng/ml de urina nos fetos com osmolaridade alterada $p = 0,01$, Figura 3).

Figura 3. Comparação das concentrações de uromodulina nos fetos com osmolaridade (osm) urinária normal e alterada. * $p = 0,01$, teste *T* para dados não pareados.



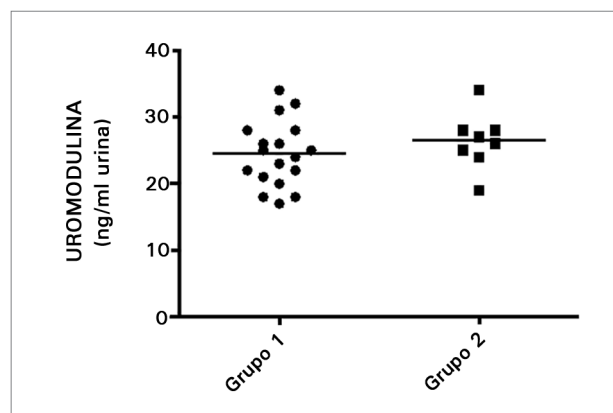
A mesma comparação utilizando as concentrações de uromodulina relacionadas à creatinina urinária nos dois subgrupos (osmolaridade normal *versus* osmolaridade alterada) não mostrou diferença estatisticamente significativa [11,3 (intervalo interquartilício 5,7 a 23,3) *versus* 13,3 (intervalo interquartilício 7,9 a 25,3) ng de uromodulina/ μ g de creatinina urinária, $p = 0,77$, teste de Mann Whitney].

Foi encontrada uma correlação inversa, de intensidade moderada e significativa, entre a dosagem de uromodulina e a osmolaridade (Correlação de Pearson $r = -0,675$, $p = 0,02$). As correlações entre uromodulina *versus* creatinina e uromodulina corrigida pela creatinina *versus* osmolaridade não obtiveram valores estatisticamente significativos (dados não mostrados).

Por outro lado, as concentrações de uromodulina nas amostras de líquido amniótico (Grupo 2), provenientes dos fetos que não apresentavam comprometimento renal, apresentavam mediana de 1164 (intervalo interquartilício: 528,5 a 1348) ng/ml de líquido amniótico, enquanto a mediana na dosagem de uromodulina na urina fetal dos fetos com uropatia obstrutiva (Grupo 1) foi de 399,4 (intervalo interquartilício 319,4 a 1139) ng/ml de urina fetal.

Considerando que a composição do líquido amniótico é bastante semelhante à da urina fetal, foram comparadas as concentrações de uromodulina nestes dois fluidos. Apesar de os valores de uromodulina serem mais elevados nos fetos do grupo 2 em relação às concentrações urina dos fetos do grupo 1, tal diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0,23$, teste de Mann Whitney, Figura 4).

Figura 4. Comparação das concentrações de uromodulina na urina de fetos com uropatia obstrutiva (grupo 1) e no líquido amniótico de fetos sem uropatia obstrutiva (grupo 2). $p = 0,23$, teste de Mann Whitney.



DISCUSSÃO

Um dos principais desafios na abordagem pré-natal das uropatias obstrutivas é encontrar marcadores capazes de prever com acuidade a função renal dos fetos. Esta informação permite estabelecer junto aos pais um plano terapêutico mais adequado, visando preservar a função renal até o momento do nascimento. Essas doenças se destacam pela prevalência e possibilidades de tratamento. Até o momento, não se encontrou um biomarcador que determine de forma eficaz e precoce a função renal pré-natal.

Neste estudo, a uromodulina foi dosada e quantificada em líquido amniótico e urina fetal, indicando que esta proteína é produzida e eliminada pelos rins desde a vida intrauterina. Batchelder *et al.*,⁴³ em um estudo utilizando fetos de macacos Rhesus, encontraram a uromodulina sendo expressa nas células do TAL a partir do segundo trimestre de gestação.

O estudo da proteína de Tamm-Horsfall, ou uromodulina, apresenta dados desde a época de sua descoberta de que esta proteína possui inúmeras funções na fisiologia renal, proteção contra infecções do trato urinário e associação com doenças renais

de origem genética. Sua dosagem na urina apresenta valores diminutos em indivíduos adultos com várias doenças nas quais há comprometimento da função renal.

A uromodulina foi também utilizada como um biomarcador em neonatos com injúria renal aguda (AKI). Ela apresentou níveis menores em pacientes com AKI em comparação com neonatos que não apresentavam lesão.⁴⁴

De posse destas informações, o presente estudo comparou as dosagens de uromodulina em fetos com comprometimento renal (grupo 1) e fetos sem comprometimento renal (grupo 2). No grupo 2, os valores de uromodulina encontrados por ml de líquido amniótico foram maiores em relação aos do grupo 1, o que corrobora com os achados em adultos e neonatos em vários estudos da literatura atual, de que indivíduos com provável perda de função renal apresentam baixas dosagens de uromodulina.

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

O grupo cujas dosagens de uromodulina foram obtidas de urina fetal foram separadas de acordo com a osmolaridade encontrada em cada indivíduo, normal ou alterada, e a correlação entre estes dois marcadores foi inversa e estatisticamente significativa. Estes resultados mostram que a uromodulina se assemelhou à osmolaridade na determinação do diagnóstico da função renal dos fetos.

Os resultados obtidos mostram que a uromodulina apresentou valores reduzidos naqueles fetos que apresentavam grave comprometimento renal no período pré-natal, indicando possível lesão celular, comprometendo sua atividade excretora. A dosagem da uromodulina poderia se apresentar como um possível biomarcador químico de função renal nos fetos com uropatias obstrutivas graves, contribuindo para o diagnóstico precoce e melhor manejo em cada caso. Sua dosagem é possível não só na urina fetal, como em amostras de líquido amniótico.

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

CONCLUSÕES

A dosagem da uromodulina se mostrou possível e quantificável em amostras de urina fetal e em líquido amniótico, obtida com o uso de um teste ELISA para uromodulina humana. Todas as amostras submetidas ao teste foram lidas e dosadas quantitativamente pelo cálculo de absorvância da uromodulina.

Os níveis de uromodulina apresentaram correlação inversa significativa moderada com a dosagem da osmolaridade, e tal correlação se mostrou estatisticamente significativa.

Além disso, ocorreu uma tendência de redução dos valores urinários de uromodulina em fetos em que há comprometimento renal no pré-natal. Assim, valores elevados de uromodulina nas dosagens de urina fetal ou líquido amniótico podem significar uma função renal preservada.

REFERÊNCIAS

1. Elder JS. Antenatal hydronephrosis. Fetal and neonatal management. *Pediatr Clin North Am* 1997;44:1299-321. PMID: 9326963
2. Soares CM, Diniz JS, Lima EM, Oliveira GR, Canhestro MR, Colosimo EA, *et al.* Predictive factors of progression to chronic kidney disease stage 5 in a predialysis interdisciplinary programme. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:848-55. DOI:http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfn547
3. Callen PW. Ultrassonografia em Ginecologia e Obstetrícia, 5 ed. Rio de Janeiro: Saunders-Elsevier; 2009.
4. Pereira AK, Oliveira EA, Leite HV, Cabral ACV. Correlação entre o diagnóstico morfológico pré e pós-natal das nefrouropatias fetais. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2000;22:365-71. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0100-7203200000600007
5. Melo BF, Aguiar MB, Bouzada MC, Aguiar RL, Pereira AK, Paixão GM, *et al.* Early risk factors for neonatal mortality in CAKUT: analysis of 524 affected newborns. *Pediatr Nephrol* 2012;27:965-72. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s00467-012-2107-y
6. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Censo de diálise SBN 2013. [Cited 2016 Oct 7]. Disponível em: http://arquivos.sbn.org.br/pdf/censo_2013-14-05.pdf
7. 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
8. Grupe WE. The dilemma of intrauterine diagnosis of congenital renal disease. *Pediatr Clin North Am* 1987;34:629-38. PMID: 3295720 DOI:http://dx.doi.org/10.1016/S0031-3955(16)36259-9
9. Muller F, Dommergues M, Bussières L, Lortat-Jacob S, Loirat C, Oury JF, *et al.* Development of human renal function: reference intervals for 10 biochemical markers in fetal urine. *Clin Chem* 1996;42:1855-60. PMID: 8906088
10. Ekblom P. Embryology and Prenatal development. In: Holliday MA, Barratt TM, Avner ED, eds. *Pediatric Nephrology*. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. p. 2-20.
11. Grannum PA, Copel JA. Invasive fetal procedures. *Radiol Clin North Am* 1990;28:217-26.
12. Oliveira FRD. Líquido amniótico: Perfil Bioquímico do desenvolvimento Renal Fetal [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2001.

13. Morris RK, Quinlan-Jones E, Kilby MD, Khan KS. Systematic review of accuracy of fetal urine analysis to predict poor postnatal renal function in cases of congenital urinary tract obstruction. *Prenat Diagn* 2007;27:900-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pd.1810>
14. Tamm I, Horsfall FL Jr. Characterization and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1950;74:106-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.3181/00379727-74-17825>
15. Muchmore AV, Decker JM. Uromodulin: A unique 85-kilodalton immunosuppressive glycoprotein isolated from urine of pregnant women. *Science* 1985;229:479-81. PMID: 2409603 DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.2409603>
16. Pennica D, Kohr WJ, Kuang WJ, Glaister D, Aggarwal BB, Chen EY, et al. Identification of human uromodulin as the Tamm-Horsfall urinary glycoprotein. *Science* 1987;236:83-8. PMID: 3453112 DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.3453112>
17. Rindler MJ, Naik SS, Li N, Hoops TC, Peraldi MN. Uromodulin (Tamm-Horsfall glycoprotein/uromucoid) is a phosphatidylinositol-linked membrane protein. *J Biol Chem* 1990;265:20784-9.
18. Serafini-Cessi F, Malagolini N, Cavallone D. Tamm-Horsfall glycoprotein: biology and clinical relevance. *Am J Kidney Dis* 2003;42:658-76. PMID: 14520616 DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0272-6386\(03\)00829-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0272-6386(03)00829-1)
19. Hoyer JR, Resnick JS, Michael AF, Vernier RL. Ontogeny of Tamm-Horsfall urinary glycoprotein. *Lab Invest* 1974;30:757-61. PMID: 4209495
20. Kobayashi K, Fukuoka S. Conditions for solubilization of Tamm-Horsfall protein/uromodulin in human urine and establishment of a sensitive and accurate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. *Arch Biochem Biophys* 2001;388:113-20. PMID: 11361126 DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/abbi.2000.2265>
21. Ying WZ, Sanders PW. Dietary salt regulates expression of Tamm-Horsfall glycoprotein in rats. *Kidney Int* 1998;54:1150-6. PMID: 9767530 DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00117.x>
22. Mutig K, Kahl T, Saritas T, Godes M, Persson P, Bates J, et al. Activation of the bumetanide-sensitive Na⁺,K⁺,2Cl⁻ Cotransporter (NKCC2) is facilitated by Tamm-Horsfall protein in a chloride-sensitive manner. *J Biol Chem* 2011;286:30200-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M111.222968>
23. Cavallone D, Malagolini N, Serafini-Cessi F. Binding of human neutrophils to cell-surface anchored Tamm-Horsfall glycoprotein in tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* 1999;55:1787-99. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.1999.00439.x>
24. Rhodes DC. Binding of Tamm-Horsfall protein to complement 1q measured by ELISA and resonant mirror biosensor techniques under various ionic-strength conditions. *Immunol Cell Biol* 2000;78:474-82. PMID: 11050529 DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1711.2000.t01-3-.x>
25. Säemann MD, Weichhart T, Zeyda M, Staffler G, Schunn M, Stuhlmeier KM, et al. Tamm-Horsfall glycoprotein links innate immune cell activation with adaptive immunity via a Toll-like receptor-4-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2005;115:468-75. DOI: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI200522720>
26. Pak J, Pu Y, Zhang ZT, Hasty DL, Wu XR. Tamm-Horsfall protein binds to type 1 fimbriated *Escherichia coli* and prevents *E coli* from binding to uroplakin Ia and Ib receptors. *J Biol Chem* 2001;276:9924-30. PMID: 11134021 DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M008610200>
27. Mo L, Zhu XH, Huang HY, Shapiro E, Hasty DL, Wu XR. Ablation of the Tamm-Horsfall protein gene increases susceptibility of mice to bladder colonization by type 1-fimbriated *Escherichia coli*. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:F795-802. PMID: 14665435
28. Raffi HS, Bates JM Jr, Laszik Z et al. Tamm-Horsfall protein acts as a general host-defense factor against bacterial cystitis. *Am J Nephrol*. 2005 Nov-Dec;25(6):570-8. PMID: 16244464 DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000088990>
29. Mo L, Huang HY, Zhu XH, Hasty DL, Wu XR. Tamm-Horsfall protein is a critical renal defense factor protecting against calcium oxalate crystal formation. *Kidney Int* 2004;66:1159-66. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00867.x>
30. Hart TC, Gorry MC, Hart OS, Woodard AS, Shihabi Z, Sandhu J, et al. Mutations of the UMOD gene are responsible for medullary cystic kidney disease 2 and familial juvenile hyperuricaemic nephropathy. *J Med Genet* 2002;39:882-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.39.12.882>
31. Rampoldi L, Caridi G, Santon D, Boaretto F, Bernascone I, Lamorte G, et al. Allelism of MCKD, FJHN and GCKD caused by impairment of uromodulin export dynamics. *Hum Mol Genet* 2003;12:3369-84. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddg353>
32. Vyletal P, Bleyer AJ, Kmoch S. Uromodulin biology and pathophysiology - an update. *Kidney Blood Press Res* 2010;33:456-475. doi: 10.1159/000321013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000321013>
33. Choi SW, Ryu OH, Choi SJ, Song IS, Bleyer AJ, Hart TC. Mutant Tamm-Horsfall glycoprotein accumulation in endoplasmic reticulum induces apoptosis reversed by colchicine and sodium 4-phenylbutyrate. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3006-14 DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2005050461>
34. Vyletal P, Kublová M, Kalbáčová M, Hodanová K, Baresová V, Stibůrková B, et al. Alterations of uromodulin biology: a common denominator of the genetically heterogeneous FJHN/MCKD syndrome. *Kidney Int* 2006;70:1155-69. PMID: 16883323 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5001728>
35. Prajczcer S, Heidenreich U, Pfaller W, Kotanko P, Lhotta K, Jennings P. Evidence for a role of uromodulin in chronic kidney disease progression. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:1896-903. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp748>
36. Zhou J, Chen Y, Liu Y, Shi S, Wang S, Li X, et al. Urinary uromodulin excretion predicts progression of chronic kidney disease resulting from IgA nephropathy. *PLoS One* 2013;8:e71023. doi: 10.1371/journal.pone.0071023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0071023>
37. Lynn KL, Marshall RD. Excretion of Tamm-Horsfall glycoprotein in renal disease. *Clin Nephrol* 1984;22:253-7. PMID: 6518675
38. Thornley C, Dawnay A, Cattell WR. Human Tamm-Horsfall glycoprotein: urinary and plasma levels in normal subjects and patients with renal disease determined by a fully validated radioimmunoassay. *Clin Sci (Lond)* 1985;68:529-35.
39. Torffvit O, Jørgensen PE, Kamper AL, Holstein-Rathlou NH, Leyssac PP, Poulsen SS, et al. Urinary excretion of Tamm-Horsfall protein and epidermal growth factor in chronic nephropathy. *Nephron* 1998;79:167-72. PMID: 9647496 DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000045020>
40. Chakraborty J, Below AA, Solaiman D. Tamm-Horsfall protein in patients with kidney damage and diabetes. *Urol Res* 2004;32:79-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00240-003-0374-6>
41. Vasconcelos MA, Bouzada MC, Silveira KD, Moura LR, Santos FF, Oliveira JM, et al. Urinary levels of TGF-β-1 and of cytokines in patients with prenatally detected nephrouropathies. *Pediatr Nephrol* 2011;26:739-47. doi: 10.1007/s00467-011-1802-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-011-1802-4>
42. Crombleholme TM, Harrison MR, Golbus MS, Longaker MT, Langer JC, Callen PW, et al. Fetal intervention in obstructive uropathy: prognostic indicators and efficacy of intervention. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:1239-44 PMID: 2187354 DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378\(90\)90026-4](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(90)90026-4)
43. Batchelder CA, Keyser JL, Lee CCI, Taranta AF. Characterization of growth, glomerular number, and tubular proteins in the developing rhesus monkey kidney. *The Anat Rec (Hoboken)* 2013;296:1747-57. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ar.22756>
44. Askenazi DJ, Koralkar R, Hundley HE, Montesanti A, Parwar P, Sonjara S, et al. Urine biomarkers predict acute kidney injury in newborns. *J Pediatr* 2012;161:270-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.02.007>