

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CLÍNICA MÉDICA

LÍQUIDO AMNIÓTICO: PERFIL BIOQUÍMICO
DO DESENVOLVIMENTO RENAL E FETAL

Autor: Fernando Rocha de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Magalhães

Co-Orientador: Prof. Dr. Elvino Guardão Barros

Dissertação de Mestrado

2001

Rocha de Oliveira, Fernando

Líquido amniótico: Perfil bioquímico do desenvolvimento renal e fetal.
Fernando Rocha de Oliveira; Orient. José Antonio Magalhães.
Co-orient. Elvino Guardão Barros – Porto Alegre: UFRGS, 2001.

Dissertação Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina:
Clínica Médica.

1. Maturação renal do feto; 2. Gravidez normal; 3. Líquido amniótico

DEDICATÓRIA

Aos meus familiares pelo constante incentivo, carinho e cumplicidade, e em especial ao meu filho Ramiro que é a minha maior fonte de inspiração.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Antônio Magalhães pela orientação e colaboração na coleta de dados que possibilitaram a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Elvino Guardão Barros pelos incentivos e apoio durante a execução deste trabalho.

Ao meu irmão Eng.Civil, Ph.D. Leonardo Rocha de Oliveira pelas orientações na composição desta dissertação.

À Dra. Adriana Schmidt pela colaboração na coleta dos dados.

Ao amigo Ricardo Lopes Gabardo pelo apoio na área de Informática.

Ao amigo Artista Plástico Walmor Bittencourt Correa pelas belas ilustrações.

Ao amigo Dr. Rafael Castilho Pinto pela colaboração na correção ortográfica.

Aos Laboratórios de Radioimunoensaio e Bioquímica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre que possibilitaram a execução dos resultados obtidos.

Aos pacientes que participaram deste trabalho e que viabilizaram sua realização.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	7
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1- Formação dos rins.....	13
2.2- Formação do âmnio e do líquido amniótico.....	17
2.3- Marcadores da função renal no líquido amniótico.....	21
2.3.1 Creatinina.....	23
2.3.2 N-acetyl- β -D-glucosaminidase.....	25
2.3.3 β 2-microglobulina.....	26
2.3.4 Glicose.....	30
2.3.5 Uréia	31
2.3.6 Sódio.....	30
2.3.7 Potássio.....	31
2.3.8 Cloro.....	32
2.3.9 Fósforo.....	32
2.3.10 Cálcio.....	33
2.3.11 Ácido úrico.....	34
2.3.12 Albumina.....	35
2.3.13 Osmolalidade.....	36
2.4 - Anomalias do desenvolvimento renal.....	37

3- OBJETIVOS.....	41
3.1- Objetivo Principal.....	42
3.2- Objetivos Secundários.....	42
4- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
5- ARTIGO REDIGIDO EM INGLÊS.....	49
6- ARTIGO REDIGIDO EM PORTUGUÊS.....	75

INTRODUÇÃO

Desde 1897 a composição do líquido amniótico vem sendo estudada, com as primeiras publicações de Prochownick⁵.

Inicialmente o volume do líquido amniótico fora considerado como o único índice do desenvolvimento renal durante a gestação⁴⁵.

Com a evolução dos métodos diagnósticos durante o pré-natal, principalmente através da ultra-sonografia, pôde-se avaliar anatomia, maturidade, bem-estar e uma gama de anormalidades fetais, dentre as quais a que acometem o sistema urinário.

A Medicina Fetal surgiu então como mais uma sub-especialidade médica, proporcionando melhores diagnósticos e uma melhor qualidade terapêutica, tanto durante como após a gestação.

Conforme estudo publicado por Lettgen *et al.* em 1993, 50% das anormalidades fetais visualizadas ao ultra-som apresentavam algum tipo de malformação que envolvia os rins e sistema urinário. De acordo com autores como Grupe *et al.* (1987) os achados ecográficos não seriam suficientes para a completa avaliação funcional dos rins.

Desta forma a função renal deveria também ser avaliada através de outros métodos diagnósticos como os marcadores bioquímicos medidos através do líquido amniótico.

Durante a década de 70 autores como Benzie *et al.* (1973) publicaram valores de normalidade de constituintes do líquido amniótico, mas não excluía pacientes com patologias próprias da gestação. Com o surgimento de novos marcadores bioquímicos e avanços tecnológicos fez-se necessário confirmar e atualizar esses valores.

As concentrações da creatinina no líquido amniótico foram inicialmente descritas por Pitkin and Zwirek em 1967 como marcador de maturidade renal no feto. Atualmente a creatinina representa o marcador de maior acurácia para função renal na gestação.

Os níveis de creatinina medidos no líquido amniótico também são adequados para o estabelecimento da maturidade fetal³⁵. Os valores da concentração da creatinina que determinaram a maturidade fetal variaram entre 1,5 a 2,0 mg/dl, dependendo do autor.

Bailão *et al.* (1975) estabeleceram em 1,8 mg/dl o valor de referência para maturidade fetal. A creatinina no líquido amniótico atinge valores de 2,0mg/100ml a partir da 37^a semana em 94% dos casos. Valores de 1,8 mg/100ml correspondem à maturidade fetal em 85% dos casos com uma especificidade de 78% e uma taxa de eficiência de 74%³⁸.

A determinação do sódio e da osmolalidade na urina fetal foram considerados como os marcadores adicionais mais confiáveis na avaliação de uropatias obstrutivas no feto⁷⁰.

A literatura ainda não dispõe de muitos trabalhos avaliando outros marcadores bioquímicos com perfil de comportamento e valores de normalidade ao longo de uma gestação normal no líquido amniótico. Recentemente outros marcadores como as proteínas de baixo peso molecular, dentre elas a β 2-microglobulina, e enzimas como o N-acetyl- β -D-glucosaminidase também foram relatadas como indicadores da função renal.

Em estudo publicado na Revista da Associação Médica Brasileira por Bauk *et al.* (1996) comparando dois grupos de gestantes: um no segundo trimestre (15 a 20 semanas) e outro no terceiro trimestre (38 a 42 semanas), os autores descreveram que os níveis de concentração no líquido amniótico da creatinina, uréia e ácido úrico aumentavam significativamente ao longo da gestação, enquanto que o sódio apresentava diminuição significativa no terceiro trimestre.

Os níveis de potássio não mostraram diferenças significativas nos dois períodos. Não houve interferências significativas dos cinco marcadores com a idade materna, raça, paridade e sexo dos conceptos.

No trabalho publicado por Mussap *et al.*(1995) a conclusão após a avaliação de marcadores da função renal em líquido amniótico em três períodos gestacionais foi que as concentrações de β 2-microglobulina e alanina aminopeptidase (AAP) diminuíam significativamente ao longo da gestação e o perfil do N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) fora inconclusivo. Não havia também interferência destes resultados quanto ao sexo dos recém-natos.

No trabalho de Padovani *et al.* (1994), avaliados também no segundo e terceiro trimestres gestacionais, houve aumento significativo das concentrações da creatinina e NAG ao longo da gestação, ao passo que alfa1 e beta2 microglobulinas e alanina aminopeptidase (AAP) apresentavam comportamento inverso. Foi relatado neste trabalho uma importante correlação entre as microglobulinas (alfa1 e beta2) e entre o NAG e a AAP.

A função renal do feto ainda é um desafio para quem muitas vezes necessita determinar a viabilidade fetal ou a interrupção de uma gestação.

À medida que a visualização fetal se aprimora, facilitando a identificação de malformações, a necessidade de decidir pelo futuro de um feto nos coloca em situações de extrema responsabilidade.

Diante desta difícil decisão de definir interrupções e tratamentos invasivos que possam colocar a vida de um feto em risco, junto a todo um contexto no qual uma malformação possa representar para cada casal ou família, submetem a nós médicos verdadeiros dilemas.

No Setor de Medicina Fetal do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), quando atendemos gestantes com fetos portadores de malformações do sistema urinário, a nossa preocupação de definirmos o real comprometimento deste feto depende também de uma melhor definição do papel dos marcadores bioquímicos que avaliam a função renal.

“Afinal a vida de um feto vale muito mais do que a simples arte de tomarmos decisões importantes, mas sim a de tomarmos as decisões corretas”.

REVISÃO DA LITERATURA

FORMAÇÃO DOS RINS

Durante a gestação a função renal do feto desenvolve-se através de uma série de sucessivas e interdependentes mudanças morfogênicas e fisiológicas⁴⁵.

A cavidade amniótica desenvolve-se durante a terceira semana de gestação a partir de uma massa de células implantadas do blastocisto¹⁸. Pela quinta semana os rins mesonéfricos são funcionais²⁷. Durante as primeiras doze semanas a cavidade amniótica é separada da placenta por uma cavidade coriônica que contém o saco vitelínico. Depois de 12 semanas o saco vitelínico degenera-se e esta cavidade coriônica é progressivamente obliterada por uma crescente cavidade amniótica⁴⁴.

A função tubular renal aparece no rim metanéfrico humano por volta da 9ª semana de gestação e pela 14ª semana a Alça de Henle é funcionante, sendo iniciada a reabsorção tubular⁵¹.

O conhecimento sobre o rim fetal é importante por inúmeras razões, pois produz a urina que é a principal fonte de líquido amniótico principalmente na última metade da gestação de um feto humano^{8,27}.

No trabalho de Gulbis *et al.* em 1996 foi feita uma investigação bioquímica da maturação renal numa fase inicial da gravidez, entre a 8ª e a 16ª semana de gestação no qual as concentrações da creatinina, β 2-microglobulina e γ -glutamilttransferase aumentavam abruptamente após a 10ª semana, o que refletia a incapacidade de reabsorção das células tubulares proximais, correspondendo ao desenvolvimento do rim mesonéfrico em metanéfrico.

Há muitas evidências mostrando que alterações no volume do líquido amniótico, tanto polidrâmnio como oligodrâmnio, podem resultar de alterações fisiopatológicas da função renal fetal. Sabe-se que a formação renal também envolve a produção de substâncias hormonais como renina, angiotensina, eritopoetina, entre outras.

Três conjuntos de órgãos excretores são formados no embrião humano: o pronefro, mesonefro e o metanefro (rins permanentes). O primeiro conjunto de “rins”, o pronefro, é rudimentar e não funcional, sendo análogo aos rins dos peixes primitivos. O segundo conjunto de rins (mesonefro) é análogo aos rins de peixes e anfíbios, e funciona por pouco tempo durante o início da vida fetal, sendo substituído por um terceiro conjunto de rins, o metanefro, que vai se tornar o par de rins permanente. Este começa a produzir urina no final do primeiro trimestre⁴⁴.

O pronefro é a estrutura não funcional que surge no embrião humano em princípios da 4^a semana gestacional, na forma de acúmulos de células de formato tubular na região cervical¹³.

Os ductos pronéfricos migram em sentido caudal e abrem-se na cloaca. O pronefro logo degenera, mas a maioria dos ductos pronéfricos é aproveitada pelo conjunto de rins que segue seu desenvolvimento^{23,44}.

O mesonefro é um órgão grande e alongado e aparece próximo ao final da 4^a semana, em posição caudal ao pronefro rudimentar, funcionando como rim temporário até que o rim permanente se forme e esteja em condições de funcionalidade.

O mesonefro degenera-se durante o 1^o trimestre, mas os seus túbulos se transformam nos ductos eferentes dos testículos. Os ductos mesonéfricos possuem vários derivados no adulto⁴⁴.

O metanefro ou rim permanente tem uma origem dupla. Ele começa a se formar cedo, por volta da quinta semana, e inicia a funcionar cerca de quatro semanas após. Desenvolve-se a partir de duas fontes: o divertículo metanéfrico, ou broto uretérico, e o mesoderma metanéfrico, ou blastema metanéfrico. Ambos os primórdios do metanefro são de origem mesodérmica^{23,44}.

O broto uretérico que começa a se formar próximo à entrada da cloaca é o primórdio do ureter, da pelve renal, dos cálices e dos tubos coletores²⁷.

O pedúnculo do divertículo metanéfrico transforma-se no ureter e a sua extremidade cefálica expandida forma a pelve renal. Cada túbulo coletor sofre repetidas ramificações, produzindo sucessivas gerações de túbulos coletores⁴⁴.

À medida que os túbulos se desenvolvem, suas extremidades proximais são invaginadas por glomérulos. O corpúsculo renal (glomérulos e cápsula de Bowmann) e seu túbulo contorcido proximal, alça de Henle e túbulo contorcido distal constituem um néfron. Os rins fetais subdividem-se em lobos que são visíveis externamente. Essa lobação geralmente desaparece durante a infância com o crescimento dos néfrons.

No feto a termo cada rim contém cerca de 800 mil a 1 milhão de néfrons, e o aumento de tamanho do rim após o nascimento decorre principalmente do alongamento dos túbulos contorcidos proximais e alça de Henle, bem como do aumento do tecido intersticial⁹. A filtração glomerular inicia-se por volta da 9ª semana, mas a taxa de filtração cresce após o nascimento²⁷.

Inicialmente os rins permanentes situam-se próximos um do outro, mas com o crescimento da pelve e do abdômen os rins vão aos poucos se distanciando. Eles assumem sua posição adulta por volta da 9ª semana.

Os rins recebem suprimento sanguíneo inicialmente de ramos das artérias ilíacas comuns. Ao ascender, os rins recebem ramos da extremidade distal da aorta e ao atingirem um nível mais alto recebem novos ramos da aorta⁴⁴.

No homem a arquitetura histológica do rim tem a sua formação por volta da 32^a a 36^a semana de gestação e nenhuma unidade de néfrons se forma após este período. Entretanto, a maturação fisiológica ainda ocorre no final da gestação e após o nascimento²³.

FORMAÇÃO DO ÂMNIO E DO LÍQUIDO AMNIÓTICO

O líquido amniótico é um produto do córion e do cordão umbilical com contribuição da urina fetal e do fluido tráqueo-brônquico. Essas transformações anatômicas podem ser acompanhadas pela ultra-sonografia⁴⁵.

O âmnio forma o saco amniótico que apresenta uma consistência membranosa e líquida no seu interior, envolvendo o embrião e mais tarde o feto. Como o âmnio está junto às margens do disco embrionário sua junção com o embrião (futuro umbigo) se localiza na superfície ventral após o dobramento do embrião. À medida que o âmnio aumenta de tamanho ele oblitera gradualmente a cavidade coriônica e envolve o cordão umbilical⁴⁴.

No início um pouco de líquido pode ser secretado pelas células amnióticas, mas a maior parte provém do líquido tecidual materno que se difunde através da membrana amniocoriônica, originária da decídua parietal⁹.

Mais tarde ocorre difusão de líquido através da placa coriônica proveniente do sangue do espaço interviloso da placenta. Antes da pele sofrer a queratinização, uma importante via para a passagem de água e solutos do líquido tecidual do feto para a cavidade amniótica é a própria pele, logo o líquido amniótico é semelhante ao líquido tecidual fetal²³.

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 permite também a maturação pulmonar³⁸.

O fluido amniótico ajuda a manter a temperatura corporal além do papel na homeostase de fluidos e eletrólitos. Os mecanismos de produção e consumo do líquido amniótico bem como volume e composição dependem da idade gestacional¹⁴.

Durante o primeiro trimestre a maior fonte de líquido amniótico é a membrana amniótica, uma fina camada constituída de uma camada única de células epiteliais. A água atravessa a membrana livremente sem nenhum mecanismo de transporte ativo⁹.

Assim a produção do fluido na cavidade amniótica é mais comumente acompanhada por transporte ativo de eletrólitos e outros solutos pelo âmnio com difusão passiva de água em resposta a mudanças de pressão osmótica. O âmnio pode também sintetizar proteínas para a secreção na cavidade⁷.

Durante o final do primeiro e início do segundo trimestre à medida que a placenta e o feto se diferenciam novas vias de produção e consumos surgem. Esses incluem movimento de fluido através do córion frondoso e pele fetal, débito urinário, mecanismos de deglutição e absorção intestinal⁸.

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 queratinização⁹.

A produção fetal de urina e deglutição inicia-se entre a 8ª e 11ª semana de gestação e torna-se a principal fonte de produção e consumo a partir do 2º trimestre²⁷. A deglutição fetal acarreta consumo do líquido à medida que é absorvida pelo trato gastro-intestinal⁹.

A formação da urina continua ao longo da vida fetal. É excretada para a cavidade amniótica e forma a maior parte do líquido amniótico. Um feto maduro engole várias centenas de mililitros de fluido amniótico por dia. Esse líquido é absorvido pelo intestino, e os produtos de excreção são transferidos através da placenta para o sangue materno, a fim de serem eliminados⁹.

O líquido amniótico renova-se entre 4 a 6 horas, e sua secreção atinge cerca de 4 a 8 litros por dia⁵⁹.

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 27ml por hora a termo⁵⁹.

O trato respiratório também apresenta mecanismos de produção e consumo do líquido amniótico, embora a exata contribuição não é bem entendida. Sabe-se que o fluido pode ser absorvido e excretado através de capilares alveolares ou pela traquéia. Algumas trocas de fluido alveolar ocorrem através da presença de fosfolípidos pulmonares no líquido amniótico, ocorrendo aumento das concentrações à medida que a gestação evolui.

Observa-se também que os mecanismos de produção do líquido amniótico vão se modificando à medida que a idade gestacional progride. No primeiro e início do 2º trimestre a produção envolve primariamente fluxo passivo de água através das membranas e pele fetal, desta forma a composição e osmolalidade do fluído assemelha-se ao soro materno e fetal¹⁴.

Posteriormente o líquido vai se assemelhando a urina fetal, tornando-se cada vez mais hipotônico em relação ao soro materno e fetal⁹.

Durante as primeiras 20 semanas de idade gestacional o volume do líquido amniótico está correlacionado com o peso fetal e aumenta rapidamente com a idade gestacional, passando de 20 ml a 500 ml entre a 7^a e a 20^a semana²⁰.

O volume total de líquido amniótico aumenta durante a gestação até 38 a 40 semanas, diminuído após. Por volta do final do 1^o trimestre o volume normal é em torno de 60 ml.

Em torno da 16^a semana quando se realiza a maioria das amniocenteses o volume é aproximadamente 200 ml¹⁴.

No 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. O mesmo ocorrendo em fetos de baixo peso que se correlacionam com volume menor de líquido amniótico e volumes maiores para fetos grandes para idade gestacional¹⁴.

Existem também fatores maternos que influenciam maiores ou menores produções de líquido amniótico como volume plasmático, hidratação, permeabilidade à placenta, entre outros menores⁹.

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 amniótico⁴⁴.

MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL NO LÍQUIDO AMNIÓTICO

Inicialmente o volume do líquido amniótico era o único índice de desenvolvimento do rim fetal³⁶. Sabemos, entretanto, que o volume do líquido amniótico é preditivo somente nos casos extremos²⁹.

Normodramnia no final da gestação sugere adequada função renal e oligodramnia no início sugere grave comprometimento do desenvolvimento do trato urinário²⁹.

A visualização sonográfica dos rins fetais permite adequada informação se o parênquima renal mostra aumentada ecogenicidade ou a presença de cistos. Na sua ausência seu valor preditivo é baixo¹⁴.

Medidas do débito urinário fetal avaliados através de ecografias ou por uso de cateteres após uso de furosemide, infelizmente, só trouxeram bons resultados em casos severos²⁹.

Em estudo publicado por Harrison MR, *et al.* (1988) que comparava alguns marcadores bioquímicos na urina fetal de pacientes com boa e pobre função renal mostrou aumento das concentrações urinárias de creatinina em pacientes com pobre função renal e diminuição das concentrações urinárias de sódio, cloro, potássio e osmolaridade nos que apresentavam boa função renal²⁹.

A análise bioquímica dos componentes celômicos e do fluido amniótico sugerem que durante o primeiro trimestre há uma seletividade dos mecanismos de transferências de muitas proteínas através da membrana amniótica³².

Estas moléculas podem difundir-se através da pele fetal, orofaringe e membranas cloacais. Atualmente vários marcadores bioquímicos têm sido utilizados na avaliação da função renal. Dentre eles destacam-se a creatinina fetal, uréia, osmolalidade, β 2-microglobulina, NAG (*N*-acetyl- β -D glucosaminidase), entre outras.

A maturidade fetal pode ser avaliada através da determinação de vários componentes fosfolipídeos presentes no líquido amniótico. Os testes mais aceitos continuam sendo a relação lecitina/ esfingomelina e o fosfatidilglicerol. Durante o desenvolvimento fetal, a maturidade dos vários órgãos ocorre simultaneamente. Neste aspecto a avaliação da maturidade renal também poderá dar uma idéia da maturidade fetal^{32,72}.

Creatinina:

A creatinina constitui cerca de 2,5% dos compostos azotados na urina. A creatinina deriva dos fosfatos de creatina existentes nos músculos estriados.

Os exercícios musculares intensos e certas doenças aumentam a sua produção⁵³. A creatinina, ao contrário da uréia, não é afetada pela alimentação. É quase totalmente um produto do metabolismo endógeno. A creatinina é uma substância azotada, sintetizada no fígado e pâncreas a partir de ácidos aminados.

A creatinina uma vez formada é transportada pela corrente sangüínea e captada pelas células musculares, sob a influência da enzima creatina fosfoquinase (CPK) sendo aí fosforilada, resultando o fosfato de creatinina⁵².

A creatinina é produzida no organismo durante o metabolismo do tecido muscular. São os rins os únicos excretores, que regulam a sua concentração no sangue. Quando há insuficiência renal as concentrações séricas da creatinina e da uréia aumentam. A concentração sérica de creatinina é o parâmetro mais seguro da função renal. Quanto mais grave é a insuficiência renal, maior é o valor da creatinina no soro. Os valores da creatinina variam também apresentando um valor mais elevado nos indivíduos muito musculosos. Podem ter uma ligeira alteração se houver esforço físico intenso.

A creatinina revela a gravidade de uma insuficiência renal. Mesmo apresentando valores normais, a função pode já estar diminuída. A concentração normal indica apenas que o doente mantém ainda uma função renal igual ou superior a 50%⁴⁷.

A creatinina só estará muito aumentada quando a concentração da uréia no sangue também estiver muito elevada⁴⁷.

Conforme descrito anteriormente, os níveis de creatinina medidos no líquido amniótico deram sustentação para a maturidade fetal. Os valores variaram entre 1,5 a 2,0 mg/dl. A creatinina medida no líquido amniótico mostra correlação com idade gestacional e maturidade fetal. Alguns trabalhos também mostraram uma provável correlação da creatinina com predição para Síndrome da Membrana Hialina²⁷.

Na primeira metade da gestação os níveis de creatinina materno e no soro fetal são praticamente os mesmos. A concentração de creatinina no líquido amniótico aumenta gradativamente entre a 20^a e 32^a semana de gestação, aumentando mais rapidamente após este período, alcançando 2 a 4 vezes maior que a da mãe³⁶.

Durante a primeira metade da gestação o líquido amniótico passa por difusão através da pele. Quando a idade gestacional avança a principal rota de entrada da creatinina no líquido amniótico passa ser o rim. Apesar do aumento da creatinina no decorrer da gestação poder ser atribuído tanto ao aumento da massa muscular do feto como da maturidade renal, parece estar relacionado principalmente com o último⁴⁵.

Quando o tamanho do feto e a creatinina são discrepantes, a creatinina parece se relacionar melhor com a maturidade fetal⁴². Como já descrito a creatinina no líquido amniótico atinge valores de 2,0mg/100ml a partir da 37^a semana em 94% dos casos. E valores de 1,8 mg/100ml correspondem à maturidade fetal em 85% dos casos com uma especificidade de 78% e uma taxa de eficiência de 74%³⁸.

A creatinina ainda sustenta-se como o melhor marcador bioquímico do desenvolvimento do rim fetal ao longo de uma gestação normal.

***N*-acetyl β -D-glucosaminidase (NAG)**

O *N*-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) é uma enzima lisossomal presente em células tubulares proximais. Devido ao seu alto peso molecular não é filtrada no glomérulo, mas é rapidamente metabolizada na circulação pelo fígado. Aumentada excreção urinária é uma consequência da função de quebra de glicoproteínas⁴⁰.

Normalmente só pequenas quantidades de NAG são excretadas na urina resultante da atividade de células epiteliais. A taxa de excreção não é afetada pela concentração sérica, não sendo filtrado pelo glomérulo. Na verdade a concentração de NAG no fluido amniótico é produzida a partir de muitos tecidos como decídua, córion e células tubulares renais⁴³.

A excreção urinária fetal de NAG parece ser estável depois da 16ª semana de gestação, quando o equilíbrio é alcançado na homeostase lisossomal renal⁴¹.

Em estudo de Ring et al (1991) que determinava níveis de NAG em líquido amniótico demonstrou que valores entre a 17ª e 19ª semana de gestação não diferiam da 28ª a 31ª semana. O valor de 105 unidades de NAG/mmol era o limite superior da normalidade. Níveis aumentados sugeriam fetos com alguma lesão renal ou malformação associada⁴³.

No estudo de Padovani et al. publicado em 1994 as concentrações de NAG avaliadas em apenas dois períodos gestacionais houve um aumento significativo ao longo da gestação. Evidenciou-se que em gestantes que fumavam ativamente a atividade de NAG era aumentada tanto no líquido amniótico como no leite materno, quando comparadas com fumantes passivas³⁵.

NAG urinário também mostrou aumento em gestantes e principalmente em pacientes com pré-eclâmpsia quando comparadas com não gestantes, o que se poderia supor ser uma medida de predição de pré-eclâmpsia⁴³.

Beta2-microglobulina (β 2-M)

A beta2-microglobulina (β 2M) é um polipeptídeo com um peso molecular de 11,815 kDa da cadeia leve do complexo antigênico da classe I do HLA. É liberada para o fluido extracelular como um monômero livre depois de ser dissociado da cadeia pesada de HLA 3. Em humanos é sintetizada e liberada na circulação principalmente pelo “pool” de linfócitos⁴.

Foi inicialmente isolada em 1968 a partir da urina de pacientes com doença de Wilson e intoxicação por cádmio. A β 2M ocorre na superfície de células nucleadas principalmente em linfócitos, monócitos e algumas células tumorais¹⁵.

Sua função é desconhecida, mas pode controlar a expressão e biossíntese de antígenos na superfície celular. Devido ao seu baixo peso molecular é filtrada livremente no túbulo proximal renal. Apenas uma pequena fração aparece na urina porque mais de 99% da beta2-microglobulina é normalmente reabsorvida e degradada no túbulo proximal do rim maduro⁴.

Neonatos também têm concentração urinária de beta2-microglobulina maior do que adultos. Fetos produzem β 2M, e os níveis séricos são detectados a partir da 11^a semana de gestação⁵³.

A β 2-microglobulina no trabalho de Mussap *et al.* (1995) diminuía significativamente no líquido amniótico em torno da 32^a semana em gestantes normais.

Inúmeras alterações têm sido associadas com aumento da β 2M urinária, como doenças do tecido conjuntivo, exposição a metais pesados, infecções do trato urinário superior, transplante renal, nefrotoxicidade por ciclosporina, aminoglicosídeos e cisplatina, além de muitas outras¹⁶.

Elevada concentração sérica na presença de uma taxa normal de filtração glomerular sugere aumento da produção ou liberação da β 2M. Isto pode ser observado em situações como doenças linfoproliferativas como mieloma múltiplo, leucemias, linfomas, Hodgkin e não Hodgkin, lúpus, infecções virais, entre outras. A β 2M é um marcador sensível para diagnóstico de disfunção tubular proximal glomerular⁴.

Medidas de beta2-microglobulina em líquido amniótico parecem ser de valor limitado para avaliação de idade gestacional, mas podem ser úteis para estimar maturidade renal fetal⁴¹.

Em um outro estudo que avaliava índices de beta2-microglobulina em gestações com hipertensão mostrou que pré-eclâmpticas apresentavam índices de β 2M sérica maior que as hipertensas e controles, sugerindo que beta2-microglobulina pudesse ser um marcador de severidade no manejo da hipertensão gestacional⁴⁵.

Em um estudo de caso-controle, comparando recém-nascidos asfisiados e controles pode-se correlacionar índices de β 2M e NAG com aumento significativo nas 24-48 horas após o parto e do 4º ao 6º dia nas crianças asfisiadas. O aumento dos valores de NAG foi mais significativo que os de β 2M quando medidos na urina⁴⁸.

No trabalho de Zimmerhackl et al. (1996) que avaliaram a proteína de Tamm-Horsfall como marcador de maturação tubular a concentração de β 2M diminuía significativamente ao longo da gestação.

Glicose:

A glicose é reabsorvida nas porções iniciais dos túbulos proximais por um processo que envolve transporte ativo. A reabsorção da glicose requer a presença de sódio. À medida que o rim fetal amadurece e a taxa de filtração glomerular aumenta a capacidade reabsortiva da glicose também aumenta⁹.

A glicose normalmente não aparece na urina, mas isto pode ocorrer quando a capacidade dos túbulos começa apresentar saturação³¹.

Desta forma a glicose poderia ser utilizada como marcador de função renal. Não há dados conclusivos disponíveis na literatura sobre as concentrações e o perfil de comportamento da glicose no líquido amniótico avaliando a função renal.

No estudo de Odibo AO, *et al.* em 1999 as concentrações de glicose inferiores a 20 mg/dl foram os melhores indicadores de coriamnionite em gestantes pré-termo com membranas intactas Segundo estudo de Dashe J.S, *et al.* (2000) as concentrações da glicose no líquido amniótico em gestantes com diabetes está elevada, o que poderia explicar o aumento da incidência de hidramnia nestas gestantes.

Uréia:

A uréia é um constituinte do produto final do metabolismo protéico, sendo o mais abundante na urina normal.

A maior parte da ureia é de origem exógena, formada no fígado a partir da amônia e esta por sua vez provém da desaminação dos ácidos aminados da alimentação. Uma menor parte é de origem endógena, sendo formada no fígado da mesma maneira, mas a partir dos aminoácidos corporais e por destruição tecidual⁴⁷.

Uma vez na corrente sanguínea a ureia é rapidamente eliminada pelos rins. Quando os rins produzem grandes volumes de urina diluída 1/3 da uréia é reabsorvida e 2/3 são excretados. Quando, porém, a urina é escassa e concentrada essa proporção se inverte⁴².

Há aumento da uréia no sangue em várias situações além da insuficiência renal, como na alimentação hiperproteica e nas doenças infecciosas em que há aumento de desintegração de proteínas. A concentração da uréia no sangue assim como a depuração da uréia reflete o estado funcional do rim. Fisiologicamente a uréia varia com a idade, com o sexo e com a alimentação, sendo menor nas crianças e maior nos homens⁹.

Em fetos saudáveis a excreção de uréia é realizada proporcionalmente a sua produção.

Nos trabalhos de Mandelbaun B, Evans TN. (1969) e Bauk, *et al.* (1996) mostrou-se um aumento significativo da uréia ao longo da gestação.

No estudo de Daniel SS, *et al.* (1999) houve aumento das concentrações no líquido amniótico em gestações de ovelhas com retardo de crescimento intra-uterino e hipoxemia leve.

Sódio:

O sódio é o maior cátion extracelular. A quantidade de sódio perdida ou retida pelo corpo influencia o tamanho do componente extracelular. Há muitos mecanismos envolvidos na sua regulação. Há componentes neurais, endócrinos e mesmo renais que controlam sua função⁹.

Mudanças no volume sanguíneo sensibilizam baroreceptores localizados em grandes veias e nas câmaras atriais do coração. Mudanças na pressão arterial sensibilizam baroreceptores no seio carotídeo e arco aórtico. O sistema renina-angiotensina-aldosterona também está diretamente ligado a regulação do sódio.

À medida que a gestação evolui há um aumento da atividade dos túbulos proximais e um aumento da taxa de filtração glomerular elevando a capacidade de reabsorção deste soluto. Isto também se deve a maior capacidade dos túbulos proximais responderem a angiotensina II.

A reabsorção de sódio pelo rim fetal, no final da gestação, varia entre 85 a 95% da carga filtrada. No entanto a urina fetal é geralmente hipotônica em relação ao plasma, indicando uma capacidade reabsortiva muito eficiente também no tubo coletor distal⁵⁷. Ao longo da gestação à medida que o rim fetal amadurece as concentrações de sódio vão diminuindo^{5,46}.

No trabalho de Daffos F. *et al* (1988) as concentrações de sódio diminuíram de 135 para 120 mEq/L do início para o fim da gestação.

No trabalho de Nicoloni U. *et al*. (1992) mostrou-se uma diminuição progressiva das concentrações do sódio ao longo da gestação humana, mas a urina de fetos com displasia renal, comparados a fetos com alguma uropatia obstrutiva, com clínica e histologias normais, as concentrações de sódio foram significativamente maiores.

No estudo de Erkadius E, *et al.* (1995) as concentrações de sódio não apresentaram diferenças significativas no líquido amniótico de ratas com doença hipertensiva na gestação e controles.

No trabalho de Bauk *et al.* (1996) houve uma diminuição significativa na concentração do sódio no terceiro trimestre quando comparado ao segundo.

O sódio é um dos marcadores mais importantes quando avaliado na urina em pacientes com uropatia obstrutiva, pois seu aumento está diretamente relacionado ao prognóstico fetal.

Potássio:

Da mesma forma que outros íons o potássio é livremente filtrado pelo glomérulo, sendo reabsorvido junto aos túbulos proximais e na porção ascendente da alça de Henle. A taxa de secreção de potássio é diretamente afetada pela do sódio. Os mesmos mecanismos que controlam a regulação de reabsorção do sódio agem para secreção do potássio⁹.

A aldosterona estimula a excreção do potássio porque aumenta a permeabilidade da membrana do lúmen. A secreção de aldosterona é dependente das concentrações séricas de potássio. Concentrações plasmáticas de potássio, tanto altas como baixas, podem ser fatais, pois controlam a excitabilidade das células cardíacas.

No estudo de Daffos F. *et al* (1988) as concentrações de potássio não variaram ao longo da gestação e apresentaram uma concentração média de 4,2 mEq/L.

No estudo de Nicolini U, *et al.* (1992) as concentrações de potássio na urina fetal de gestações normais apresentaram concentrações decrescentes ao longo da gestação.

No trabalho de Bauk *et al* (1996) as concentrações de potássio não variaram significativamente ao longo da gestação.

No estudo de Erkadius E. *et al.* (1995) as concentrações do potássio no líquido amniótico foram significativamente menor nas ratas com doença hipertensiva na gestação.

Cloro:

Os rins desempenham o papel principal na regulação das concentrações plasmáticas dos cloretos. A excreção urinária estará intimamente relacionada às concentrações do plasma. 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 coletores⁹.

Os cloretos, junto com o bicarbonato, são os principais ânions no líquido extracelular, sendo que a maior parte do sódio é reabsorvida com esses ânions. O sistema renal de regulação ácido-base também regula a proporção dos íons cloreto para íons bicarbonato no líquido extracelular.

No trabalho de Daffos F. *et al*, 1988 há descrição de redução das concentrações do cloro de 105 para 100 mEq/L do início da gestação para o termo.

Fósforo:

O fósforo é essencial para o crescimento ósseo. Seus valores séricos estão aumentados na insuficiência renal crônica e sua regulação está intimamente relacionada ao cálcio⁹.

A capacidade de reabsorção de fósforo pelo rim imaturo ou no recém-nascido é maior que no rim de um adulto. As possíveis razões para este aumento incluem uma maior afinidade ao transporte do fósforo, insensibilidade aos hormônios paratireoideos.

No trabalho de Daffos F. *et al* (1988) as concentrações de fósforo não se modificaram ao longo da gestação e apresentaram uma concentração média de 15mg/L.

Cálcio:

O cálcio é um metal diretamente relacionado com funções hormonais, neoplasias, crescimento e também como marcador de função renal. Pacientes com insuficiência renal crônica podem apresentar níveis séricos diminuídos devido à diminuição da absorção intestinal, pela diminuição dos níveis de albumina e pelo aumento dos níveis de fósforo.

O cálcio tem sido implicado em alguns estudos realizados no líquido amniótico que seus níveis diminuídos podem ser indicadores de predição de defeitos do tubo neural e pré-eclâmpsia⁵⁴.

Não há dados consensuais na literatura a respeito do seu perfil e valores de normalidade no líquido amniótico.

No trabalho de Daffos F. *et al* (1988), as concentrações de cálcio não variaram ao longo da gestação com uma concentração média de 3,5 mEq/L.

No estudo de Nicolini U. *et al*. (1992) as concentrações do cálcio na urina fetal estavam aumentadas nas gestantes com displasia renal.

Ácido úrico:

O ácido úrico representa o principal produto final do metabolismo das purinas, sendo que o ácido úrico representa o excretado também na urina. Depois da hidrólise dos ácidos nucleicos, as bases púricas livres, são convertidas principalmente no fígado em uratos⁵².

No organismo podemos considerar a formação de duas frações distintas do ácido úrico: a endógena e a exógena. A primeira resulta dos ácidos nucleicos que são desintegrados normalmente por destruição celular permanente e inevitável. A segunda, a exógena, aumenta conforme a quantidade de purinas na alimentação, havendo proporcionalmente um aumento na produção e excreção do ácido úrico⁴².

Amplamente estudado em gestantes com doença hipertensiva, o ácido úrico é o primeiro exame laboratorial a aumentar durante a gestação de pacientes com pré-eclâmpsia. Sabe-se também que está aumentado no sangue de recém-nascidos com Síndrome de Down e de Lesh-Nyhan. No líquido amniótico a concentração de ácido úrico e a relação com a Síndrome de Down ainda são indefinidas⁵.

No estudo de Bauk *et al.* (1996) os níveis de ácido úrico eram significativamente maior no final da gestação, o mesmo demonstrado em outros trabalhos²⁰.

Albumina:

É quantitativamente a proteína sérica mais importante sintetizada pelo fígado. A albumina possui uma meia vida longa (14 a 20 dias), não sendo, portanto, um bom indicador para lesões agudas. É o maior componente protéico na urina de gestantes. Cerca de 30 a 40% da proteinúria total é composta por albumina⁴⁷.

Normalmente é encontrada em pequenas quantidades, mas devido a alterações na permeabilidade capilar, na capacidade absorptiva tubular, ou na produção sérica aumentada, maiores níveis de albumina podem aparecer na urina⁹.

Muito utilizada sua dosagem na avaliação de proteinúrias no intuito de detectar pré-eclâmpsia. Sabe-se que valores aumentados associados ao aumento da pressão arterial selam o diagnóstico de doença hipertensiva – pré-eclâmpsia na gestação.

Em estudo realizado por Smolarczyk *et al.* (1996) concluiu-se que em gestações complicadas por hipertensão a maturidade dos rins era semelhante à de gestantes normais com a mesma idade gestacional. Neste estudo as concentrações de albumina no líquido amniótico estava diminuídas nas gestantes com doença hipertensiva quando comparadas às gestantes saudáveis.

No trabalho de Zimmerhackl *et al.* (1996) a concentração de albumina no líquido amniótico não variou significativamente durante toda a gestação.

Osmolalidade:

A osmolalidade avalia mecanismos de concentração urinária. Para regular a osmolalidade o rim deve estar apto a separar a reabsorção do sódio e outros íons da reabsorção de água. Quando a ingesta de água é excessiva, o rim deve eliminar esta quantidade extra de água sem a perda dos íons. Neste estado de equilíbrio não há secreção do hormônio antidiurético e os ductos excretores tornam-se impermeáveis à água⁵⁹.

No entanto se o aporte de água for escasso a permeabilidade dos ductos coletores aumenta e a água é passivamente reabsorvida. A permeabilidade dos ductos coletores é influenciada pelo hormônio antidiurético. A urina fetal é normalmente hipotônica desde que o feto esteja bem hidratado. A água difunde-se muito facilmente através da placenta e o hormônio antidiurético é suprimido. A osmolalidade por suas características pode também indicar maturação renal⁹.

No trabalho de Daffos *et al*, (1988) as concentrações da osmolalidade diminuam de 280 para 260 mosm/Kg do início para o fim da gestação.

No estudo de Daniel SS, *et al*. (1999) as concentrações da osmolalidade no líquido amniótico de ovelhas com crescimento intra-uterino restrito e hipoxemia as concentrações não apresentaram diminuição dos seus valores ao longo da gestação ao contrário das gestantes normais.

Da mesma forma que o sódio os valores da osmolalidade na urina fetal são de extrema importância quando avaliam a função renal em fetos com algum grau de displasia renal²⁹.

Anomalias do Desenvolvimento Renal

As malformações congênitas do trato urinário ocorrem com frequência devido ao intrincado desenvolvimento embriológico deste sistema.

As anormalidades do sistema gênito-urinário estão presentes em 1 entre 300 a 500 fetos²³.

A ultra-sonografia tem papel importante na detecção, localização, e na identificação dos graus de severidade que elas possam implicar em termos de prognóstico e possíveis manejo no perinatal. São vários os indicadores que possam sugerir estas anormalidades, como a quantidade de líquido amniótico, a visualização da bexiga, anatomia dos órgãos envolvidos, simetrismo, entre tantos outros.

A determinação do sódio e da osmolalidade na urina fetal são aceitos como os exames secundários mais confiáveis na avaliação de uma anormalidade renal⁵⁵.

As anomalias no desenvolvimento do sistema urinário estão relacionadas com posicionamento anormal, duplicação do trato-urinário superior ou com variações no suprimento sangüíneo⁴⁴.

Os defeitos que o sistema urogenital possam apresentar são inúmeros. Destacamos entre eles os rins policísticos, agenesia renal, uropatias obstrutivas que são resultantes de um desenvolvimento embrionário defeituoso.

Doença Renal Policística:

A doença renal policística ocorre provavelmente durante a embriogênese, resultante de uma atresia do sistema ureteral ao nível do 1/3 superior com concomitante atresia da pelve renal e infundíbulo. As porções excretoras e coletoras têm origem embriológica diferentes do blastema metanéfrico e do broto ureteral, respectivamente. Durante o desenvolvimento perfeitas conexões ocorrem entre as duas unidades, permitindo um fluxo de urina do glomérulo à pelve renal. Se estas junções não ocorrem serão formados cistos de pequenos a grandes diâmetros, determinando uma grave insuficiência renal¹⁴.

Esta malformação pode ser decorrente da falta de união da porção distal do néfron com os túbulos coletores; ou de um desenvolvimento anormal do sistema coletor, quando os túbulos coletores deixam de se ramificar normalmente, sofrendo dilatação cística, resultando na ausência de quantidade suficiente de nefros que se formam do blastema metanéfrico. Outra hipótese menos consistente seria que os cistos seriam originários de néfrons rudimentares que normalmente degeneram²³.

Agenesia Renal:

Pode ser uni ou bilateral e provavelmente seja resultado de uma falha do broto uretérico na indução de um desenvolvimento do blastema metanéfrico. Isso pode dever-se de um defeito tanto do broto uretérico ou do próprio blastema metanéfrico⁴⁴.

Esta malformação ocorre em decorrência da não formação do broto uretérico ou de sua degeneração. Na falta deste broto, não haverá indução do blastema metanéfrico para a formação dos nefros²³.

A ausência de um rim pode não causar sintomas, uma vez que o outro rim pode desempenhar as funções do rim ausente. A agenesia bilateral é rara e incompatível com a vida. A incidência de agenesia unilateral é em torno de 1:1500 gestações. O diagnóstico diferencial deve ser feito com rins displásicos multicísticos e rim ectópico. As associações de anomalias urogenitais são comuns com agenesias unilaterais. O ureter ipsilateral é ausente ou parcialmente atrésico em todos os casos. O rim contralateral pode ser tanto malrotado ou ectópico em 15% e 37% dos casos respectivamente⁴⁴.

A agenesia renal bilateral tem uma incidência de 1: 4000 gestações. Descrita por Potter em 1965 esta malformação recebe o nome também de Síndrome de Potter.

A agenesia bilateral é mais comum em fetos do sexo masculino e em integrantes da mesma família sugerindo componentes genéticos. A aparência dos recém-nascidos com esta patologia é muito semelhante entre os afetados e a aparência facial é bastante característica¹⁴.

Estas crianças morrem logo após o nascimento principalmente por insuficiência respiratória. O diagnóstico normalmente é feito através de ecografias que evidenciam oligodrâmnio, ausência de rins e a não visualização da bexiga¹⁴.

Rins Ectópicos:

Os rins têm sua formação na região pélvica, mas normalmente sobem e passam a localizar-se na região lombar. O rim pélvico e outras formas de rim baixo são resultado da falta de ascensão do órgão. A posição anômala pode ser de um ou dos dois rins. Quando os dois rins não sobem podem resultar fusionados, formando uma massa arredondada conhecida como rim em ferradura⁴⁴. A fusão dos dois rins ocorre quando eles ainda estão na pelve renal. A ascensão de um deles para a posição normal acaba acarretando ascensão do contralateral²³.

Uropatias Obstrutivas:

As lesões obstrutivas do trato urinário são as anomalias renais mais comumente relatadas. As lesões obstrutivas leves sem maiores comprometimento a função renal são observadas em torno de 1 para cada 100 fetos. As lesões obstrutivas significantes estão presentes em torno de 1 para cada 500 fetos⁴⁴.

Cerca de 80% das dilatações diagnosticadas no pré-natal podem ser resolvidas com o nascimento. As uropatias obstrutivas podem ocorrer em qualquer nível do trato urinário e podem afetar um ou os dois lados. As causas mais comuns são anomalias da junção pieloureteral, da junção vesicoureteral, ureteroceles, e válvulas ureterais posteriores¹⁴.

A obstrução usualmente é de origem mecânica, mas eventualmente podem ser de natureza funcional (20% dos casos)^{1,29}.

Independente da etiologia, os defeitos do fluxo urinário levam invariavelmente à resultados anatômicos e fisiológicos semelhantes.

A hidronefrose fetal tem sido na última década um paradigma em termos de tratamento fetal.

Até a pouco tempo algum tratamento só era possível após o nascimento. Cada vez mais novas técnicas permitem com segurança e eficácia alterar o prognóstico fetal, como a colocação de cateteres de drenagem vésico-amniótico (derivação ou "shunt")²⁹.

Foi inicialmente definido que o grau de severidade da obstrução do trato urinário poderia interferir no prognóstico. Há necessidade, no entanto, de definir em quais fetos se deveria interferir a fim de preservar a função renal ou minimizar o dano, com o propósito de prevenção de insuficiência renal. A identificação de marcadores da função renal do feto são para estes casos os balizadores do tratamento pré-natal.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Traçar um perfil dos marcadores bioquímicos que avaliam o desenvolvimento fetal e renal no líquido amniótico, durante a evolução de uma gestação humana normal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Avaliar a função e maturidade do rim fetal através de marcadores bioquímicos, coletados no líquido amniótico, correlacionando com a creatinina e a idade gestacional.

2) Avaliar a distribuição dos valores e o perfil evolutivo da creatinina, β_2 -microglobulina e (N-acetyl- β -D-glucosaminidase) em três períodos gestacionais.

3) Avaliar a distribuição dos valores de normalidade e o perfil evolutivo da glicose, uréia, sódio, potássio, cloro, fósforo, cálcio, ácido úrico, albumina e osmolalidade em três períodos gestacionais.

4) Correlacionar os marcadores bioquímicos que avaliam o desenvolvimento do rim fetal entre si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbott JF, Levine D, Wapner R. Posterior urethral valves: Inaccuracy of prenatal diagnosis. *Fetal Diagn Ther* 1988;13:179-183.
2. Adzick NS, Harrison MR, Flake AW, et al. Development of a fetal renal function test using endogenous creatinine clearance. *Journal of Pediatric Surgery* 1985; 20(6): 602-607.
3. Almeida OD Jr, Kitay DZ. Amniotic fluid urea nitrogen in the prediction of respiratory distress syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159(2): 465-8.
4. Backman L, Ringden O, Bjorkhem I et al. Increased serum β 2-M during rejection ciclosporin-induced nephrotoxicity and cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. *Transplantation* 1986; 42: 368-71.
5. Bauk FA, Moron AF, Novo Y, et al. Estudo comparativo das dosagens de sódio, potássio, uréia, creatinina e ácido úrico no líquido amniótico entre 15-20 semanas e 38-42 semanas. *Rev Assoc Med Brasil* 1996; 42 (1): 7-10.
6. Bailão LA, Cunha SP, Martinez AR. O valor da creatinina no líquido amniótico como índice de maturidade fetal. *J Bras Ginec* 1975; 79 (6): 247-9.
7. Benzie RJ, Doran TA, Harkins JL, et al. Composition of the amniotic fluid and maternal serum in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 119 (6): 798-810.
8. Boim MA, Ho K, Brenner BM, Herbert SC. *J Am Soc Nephrol* 1983, 4(3): 893.
9. Brace, R.A. (1995). Current topic: progress toward understanding the regulation of amniotic fluid volume: water and solute fluxes in and through the fetal membranes. *Placenta* 16, 1-18.
10. Brans YW, Kuehl TJ, Hayashi RH, et al. Amniotic fluid composition in normal baboon pregnancies. *J.Reprod.Med* 1984, 29(2): 129-32.
11. Brenner BM. Determinant of differentiation during early nephrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 127-30.
12. Bulbis B, Jauniaux E, Jurkovic D, et al. Biochemical investigation of fetal renal maturation in Early pregnancy. *Ped. Research* 1995, 39:731-735.
13. Burghard R, Leititis J, Brandis M, et al. Studies on fetal renal function. Comparison of microproteins in amniotic fluid and fetal urine. *Contrib. Nephrol.* 1988; 67:193-9.
14. Callen PW. *Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology*. Third edition, 1994.

15. Cobet G, Gummelt T, Bollmann C, et al. Assessment of serum levels of alfa - microglobulin, β 2 microglobulin, and retinol binding protein in the fetal blood. A method for prenatal evaluation of renal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16: 299-305.
16. Cooper E, Forbes M, Hambling M. Serum Beta 2-microglobulin and C-reactive protein concentrations in viral infections. *J Clin Path* 1984; 37:1140-43.
17. Cruikshank DP. Amniocentesis for determination of fetal maturity. *Clin Obstet Gynecol* 1982, 25(4): 773-85.
18. Daniel SS, Stark RI, Troper PJ, et al. Amniotic fluid composition in the fetal lamb with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1999 Mar; 180 (3 Pt 1): 703-10.
19. Dashe JS, Nathan L, Mc Intire DD, et al. Correlation between amniotic fluid glucose concentration and amniotic fluid in pregnancy complicated by diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(4) 901-4.
20. Daffos F, Forestier F. *Médecine et biologie du foetus humain*. Maloine Paris 1988.
21. Darling RE, Zlatnik FJ. Comparison of amniotic fluid optical density, L/S ratio and creatinine concentration in predicting fetal pulmonary maturity. *J Reprod Med* 1985; 30(6): 460-4.
22. Delpire E, Reauchman MI, Beier DR et al. Molecular cloning and chromosome localization of a putative basolateral Na-K-2Cl cotransporter from mouse inner medullary collecting duct (mIMCD-3) cells. *J Biol Biochem* 1994; 269(41): 25677-83.
23. Ekblom P. Embryology and Prenatal development. In: Holliday MA, Barratt TM, Avner ED. *Pediatric Nephrology*. Third edition, 1994;2.
24. Erkadius E, Morgan TO, DiNicolantonio R. Amniotic fluid composition and fetal and placental growth rates in genetically hypertensive and normotensive rats. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7(6):1563-7.
25. Gamba G, Myanoshita A, Lombardi M et al. Molecular cloning, primary structure, and characterization of two members of the mammalian electroneutral sodium,potassium, chloride cotransporter family expressed in kidney. *J Biol Biochem* 1994; 269(26): 17713-722.
26. Garcia MV, Martin-Barrientos J, Medina JM. Maternal fetal relationship in ammonia metabolism during late gestation in the rat. *Biol Neonate* 1988; 53(5): 315-20.
27. Grupe WE. The dilemma of intrauterine diagnosis of congenital renal disease. *Pediatr Clin North Am*, 34,629-638.
28. Gulbis B, Jauniaux E, Jurkovic D et al. Biochemical investigation of fetal renal maturation in early pregnancy. *Ped Research* 1996; 731-35.
29. Harrison MR, Filly RA. The fetus with obstructive uropathy: Pathophysiology, natural history, selection, and treatment. *Fetal Diseases and Management* 1988 31: 328-393.
30. Imbert-Teboul M, Charbarés D, Clique A. Ontogenesis of hormone dependent adenylate cyclase in isolated rat nephron segments. *Am J Physiol* 1984; 247: F316.

31. Iyengar LR, Rao VA, Kumar S. Significance of amniotic fluid glucose in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 1982; 20(1): 57-63.
32. Jauniaux E, Gulbis B, Hyett J, et al. Biochemical analyses of mesenchymal fluid in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998, 78: 765-769.
33. Koski KG, Fergusson MA. Amniotic fluid composition responds to changes in maternal dietary carbohydrate and is related to metabolism status in term fetal rats. *J Nutr* 1992; 122(2): 385-92.
34. Lam BCC, Wong S, Yeung S et al. Outcome and management of babies with prenatal ultrasonographic renal abnormalities. *Am J Perinatol* 1993; 10:263.
35. Lettgen B, Meyer-Schwickerath M, Bedow W. Die antenatale ultraschalldiagnostik der Nieren und der ableitenden Harnwege, *Monatsschr Kinderheilkd.* 141, 462-467.
36. Liu-Y; Gong-GL. Clinical observation of amniotic fluid creatinine as an index of fetal maturity. *Chin-Med-J-Engl.* 1982 Sep;95(9):697-702.
37. Lumbers ER. A brief review of fetal renal function. *J Dev Physiol* 1993; 6:1.
38. Manual de Orientação- Assistência Pré-Natal, Febrasgo 2000:58-59.
39. Mandelbaun B, Evans TN. Life in the amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 104(3): 365-77.
40. Marhun D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chimica Acta* 1976, 73: 453-461.
42. Marhun D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chimica Acta* 1976, 73: 453-461.
43. Milnerowicz H. Concentrations of metals, ceruloplasmin, metalothionein, and the activity of NAG and gamma-glutamyltransferase in pregnant women who smoke and in those environmentally exposed to tobacco and their infants. *Int J Occup Med Environ Health*, 1997, 10:3,273-82
44. Moore KL. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology* 1982, WB Saunders, Philadelphia.
45. Mussap M, Fanos V, Piccoli A, et al. Low molecular mass proteins and urinary enzymes in Amniotic Fluid of healthy pregnant women at progressive stages of gestation. *Clin Biochem* 1995;29:51-56.
46. Nicolini U, Fisk NM, Rodeck CH et al. Fetal urine biochemistry na index of renal maturation and dysfunction. *Br J Obstet Gynaecol* 1992 Jan; 99(1) 46-50.
47. Nigam SK, Aperia AC, Brenner BM. Development and maturation of the kidney. In Brenner BM (ed) *Brenner & Rector's The Kidney*, fifth edition, WB Saunders, Philadelphia 1996, ca 72-98.

48. Odibo AO, Rodis JF, Sanders MM, et al. Relationships of amniotic fluid markers of intra-amniotic infection with histopathology in cases of preterm labor with intact membranes. *J Perinatol* 1999 Sep; 19(6 Pt1): 407-12.
49. Padovani EM, Fanos V, Mussap M, Plebani M, et al. Tubular proteins and enzyme content in the amniotic fluid. *Eur.J. Obstet Gynecol. Reprod. Biol.* 55:129-33.(1994).
50. Pérez-Blanco FJ, Sanabria MC, Huertas JM, et al. Urinary NAG in the prediction of preeclampsia. *Clin Nephrol*,50: 3 1998 169-171.
51. Pitkin RM, Zwirek SJ. Amniotic fluid creatinine. *Am J Obst Gynec* 1967; 98: 1135-8.
52. Porter EL. Normal and abnormal development of the Kidney. Yearbook medical publishers, Chicago, 1972.
53. Puolaka J, Ylostalo P, Tuimala R, et al. Amniotic fluid Beta2-microglobulin in normal and complicated pregnancies. *Gynecol Obstet Invest.* 13:129-134(1982).
54. Raghav M, Vijay G, Chowdhary DR, et al. Amniotic fluid amino acids, urea, creatinine in normal and toxemic pregnancies. *Indian J Med Sci* 1985; 39(12): 291-3.
55. Ring E, Hofmann H, Erwa W, et al. Amniotic fluid *N*-acetyl- β -D-glucosaminidase activity and renal abnormalities. *Arch Dis Child* 1991; 66: 1147-49.
56. Robillard JE, Matson JR. Development aspects of renal tubular reabsorption of water in the lamb fetus. *Pediatr Res* 1979; 13: 1172.
57. Robillard JE, Nakamura KT, Matherne JP. Renal hemodynamics and functional adjustments to postnatal life. *Semin Perinatol* 1988; 12: 143.
58. Satlin LM. Maturation of renal potassium transport. *Pediatr Nephrol* 1991; 5:260.
59. Saudan PJ, Farrel TJ, Brown MA. β 2-microglobulin in hypertensive pregnancies. *Am J Kidney Dis* 1998,31(2):308-312.
60. Scharz GJ, Evan AP. Development of solute transport in rabbit proximal tubule. *Am, J Physiol* 1984; 246: F 845.
61. Seeds AE. Current concepts on amniotic fluid dynamics. *Am J Obst Gynec*1980;1:11-6.
62. Scherer DM, Thompson Ho, Armstrong B et al. Prenatal sonographic diagnosis of unilateral fetal agenesis. *J Ultrasound* 1990, 18: 648-51.
63. Schlondorff D, Weber H, Trizna W et al. Vasopressin responsiveness of renal adenylate cyclase in newborn rats and rabbits. *Am J Physiol* 1978; 234: F 16.
64. Schmidt U, Horster M. Na-K activated ATPase: Activity maturation in rabbit nephron segments dissected in vitro. *Am J Physiol* 1977; 233: F 55.

65. Shardijin G, Stadius van Epps L. β 2-Microglobulin: it's significance in the evaluation of renal function. *Kidney Int* 1987; 32: 365-41.
66. Siegel SR. Renal function as a marker of human fetal maturation. *Acta Pediatr Scand* 1976; 65: 481-85.
67. Szaflik K, Kozarzewski M, Adamczewski D. Fetal bladder catheterization in severe obstructive uropathy before the 24th week of pregnancy. *Fetal Diagn Ther* 1988;13:133-35.
68. Strassner HT, Nochimson DJ. Determination of fetal maturity. *Clinics Perinatol* 1982; 9(2): 297-312.
69. Takkiedine F, Tabbara M, Hall P et al. Fetal renal maturation Studies on urinary beta 2 microglobulin the neonate. *Acta Obstet Gynecol* 1983; 62(4): 311-14.
70. Thomas DFM, Gordon AC. Management of prenatally diagnosed urophaties. *Arch Dis Child* 1989;64:58-63.
71. Thomas DFM. Beta2 microglobulin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) have a limited role in the prediction of postnatal renal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16: 1087-1093.
72. Troccoli R, Stella C, Pachi A et al. Hydroxiprolin and creatinine levels in normal amniotic fluid. *Ric Clin Lab* 1986; 16(1): 37-41.
73. Tyden O, Erikson U, Hagren H, et al. Estimation of fetal maturity by Amniotic fluid cytology, creatinine, L/S Ratio and phosphatidylglycerol. *Gynecol Obstet Invest*, 16: 317-326 (1983).
74. Willis F, Summers J, Minutillo C, Hewitt I. Indices of renal tubular function in perinatal asphyxia. *Arch Dis Child* 1997,77:57-60.
75. Tassis B, Trespidi L, Tirelli A, et al. In fetuses with isolated hydronephrosis, urinary β 2 microglobulin and N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase (NAG) have a limited role in the prediction of postnatalrenal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:1087-1093.
76. Zimmerhackl LB, Rostasy K, Wiegele G, et al. Tamm Horsfall protein as a marker of tubular maturation. *Pediatr Nephrol* 1996; 10: 448-452.

ARTIGO REDIGIDO EM INGLÊS

Amniotic Fluid: Biochemical profile of fetal and renal development.

Fernando Rocha de Oliveira, Elvino Guardão Barros, José Antônio Magalhães.

Department of Obstetrics & Gynecology and Department of Internal Medicine-Nephrology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Abstract

Context: Creatinine plays a key role in the function and maturation of fetal kidneys throughout pregnancy. It is important to determine other markers that may help in the diagnosis of renal dysfunction. Medical literature still lacks normal values and profiles for any possible markers.

Objectives: To determine profile and correlation among biochemical markers that will assess renal function and maturation of the human fetus in the amniotic fluid during pregnancy. To determine distribution of values for creatinine, N-acetyl- β -D-glucosaminase (NAG), β 2-microglobulina, glucose, urea, sodium, potassium, chloride, phosphorus, calcium, uric acid, albumin and osmolality in three gestational groups.

Methods: A cross-section study assessed 115 samples of amniotic fluid during three different periods of normal human pregnancy that covered from 13 to 20 weeks, 27 to 34 weeks, and from 36 to 42 weeks. All samples were drawn at Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Results: Values of creatinine, NAG, urea, potassium and uric acid showed increasing growth profiles during the course of pregnancy ($p < 0,05$). β 2-microglobulin, glucose, sodium and calcium, on the other hand, showed decreasing growth profiles ($p < 0,05$); β 2-microglobulin, glucose and uric acid presented Pearson correlations ($r > 0,6$) with gestational age and creatinine, respectively, and also in the three gestational groups ($p < 0,05$). NAG did not show significant correlations.

Conclusions: Tests confirm creatinine's role of important correlation with gestational age. β 2-microglobulin, glucose and uric acid showed significant results as markers of function and maturation of fetal kidneys. NAG did not demonstrate a useful role for renal maturation.

Key words: Fetal renal maturation, Normal pregnancy, Amniotic fluid

INTRODUCTION

Homeostatic regulation of fetal fluids and electrolytes is carried out mainly by the placenta. The homeostatic role of fetal kidneys is still not well defined, but it is absolutely critical, once in its lack can lead important intrauterine growth restriction^{9,23}.

After many advances of diagnosis methods during prenatal period, mainly by the sonography, it was possible to evaluate fetal anatomy, maturity, well being, and a great deal of fetal abnormalities, including urinary system.

Lettgen *et al.* (1993) related that about 50% of all sonographic abnormalities in the fetus were malformations of the kidneys and urinary tract.

According to Grupe (1987) and Shackelford *et al.* (1992) the sonographic findings were not enough to assess renal function.

The analysis of electrolytes of amniotic fluid such as creatinine and urea can give us a good evaluation of renal maturation and functionality throughout pregnancy^{5, 42,53}.

Creatinine values in the amniotic fluid that better represent fetal maturity are between 1,5 and 2,0 mg/dl (Bailão *et al* 1975). Values above 2,0mg/100ml are obtained in 94% of patients from 37th weeks gestation³⁸. Other biochemical markers as β 2-microglobulina and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) have been used as index of renal maturity^{53, 54,68}.

When cases of malformations as obstructive uropathy, the concentrations of sodium, β 2-microglobulin and osmolality in the fetal urine are important to evaluate fetal compromising and the necessity of catheters placement²⁹.

Our aim in this work was to determine amniotic fluid changes evaluated by biochemical renal markers in three gestational groups.

PATIENTS AND METHODS

A cross-section study selected 115 pregnant from Hospital de Clínicas de Porto Alegre during January 1998 to December 1999. Pregnant were divided in three different periods of pregnancy that covered from 13 to 20 weeks (Group 1), 27 to 34 weeks (Group 2) and from 36 weeks (Group 3). Gestational age was determined from the last menstrual period and timing sonograms.

Amniotic fluid samples of Group 1 were drawn by amniocentesis in pregnant that consulted at Hospital de Clínicas de Porto Alegre for cytogenetic evaluation. Group 2 and 3 samples were drawn by amniocentesis in pregnant that presented fetal risk or through cesarean section indicated only for obstetric reasons.

The exclusion criteria were as follow: Pregnant with serum creatinine $> 0,9$ mg/dl, oligodramnios, corioamnionites, chromosomal abnormalities, congenital defects, use of nephrotoxic drug during the pregnancy, pregnant with unreliable gestational age, hypertension, diabetes, Rh-sensitized and pregnant from C-section with newborns after fetal stress or Apgar less than 7 in the first minute. If afterwards cytogenetic study presented any anomaly patients were also excluded.

Maternal blood was also drawn at the same time of amniotic sample by venopunction without anticoagulants. Amniocenteses were all performed by transabdominal route using a number 22-gauge spinal needle or during a C-section after hysterotomy with approximately 10 to 20 ml of amniotic fluid. Samples containing blood or meconium were discarded. Amniotic fluid and maternal blood samples if not analyzed in the same day they were stored at -20° C and reading was carried out within 2 weeks in the Biochemistry and Radio immunoassay Laboratories of Hospital de Clinicas de Porto Alegre.

It was determined in the amniotic fluid and maternal serum concentrations of creatinine, N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), β_2 -microglobulin, glucose, sodium, potassium, urea, chloride, phosphorus, calcium, uric acid, albumin, and osmolality.

Creatinina, urea, uric acid, calcium, glucose, phosphorus and albumin were all analyzed in mg/dl; osmolality in mOsm/l and sodium, chloride and potassium in mEq/l.

Values of creatinine, urea, uric acid, glucose, calcium, phosphorus, albumin and osmolality were all obtained from automatic analyzer ("Mega Kits Merck Diagnostic").

NAG analysis was performed in UL/min through colorimetry in substrates as 4-phenil-N-acetyl-glucosamine (pm 342,3) and nitrate buffer. B2-microglobulin reading was performed in ng/ml through Immulite technique.

Our study was approved by the Ethical Committee of Hospital de Clinicas de Porto Alegre. All samples were obtained after written consentment about potential risks and the objectives of the study.

Statistical Analysis:

Data basis was created at Epi-Info 6,04 Program (CDC-Atlanta-USA). Statistical analysis was carried out in the SPSS 8 Program. All data are presented as mean \pm SD and range of measured levels. Differences in mean concentrations of the variables between the three selected amniotic fluid periods were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA). Tests nonparametric Kruskall-Wallis when variables did not adjust to the normality.

Duncan test was used every time ANOVA or Kruskall-Wallis identified any difference in the 3 gestational periods. We used a formula based in confidence interval of 95% and standard error to determine normal values of our results.

Pearson's correlation coefficient (r) was used to find significant relationships between the biochemical variables. Statistic significance was established at $p < 0,05$.

RESULTS

Of total of 115 pregnant selected to our study 37 samples (32,2%) were drawn in the first period, 18 (15,5%) samples in the second and 60 (52,2%) in the third.

Table I shows frequency of gestational period, Mean \pm SD and median of each group.

Table 1- Results of the 3 different study groups (weeks).

Gestacional Age	n	$\mu \pm SD$	Median
13 to 20 weeks	37	16,92 \pm 1,62	17,00
27 to 34 weeks	18	31,28 \pm 2,19	31,50
36 to 42 weeks	60	39,97 \pm 1,48	40,00
Total	115		

$\mu \pm SD$ = Mean \pm Standard Deviation

In the first period the age mean of the pregnant were 34 years old significantly higher ($p < 0,05$) than the second (27yrs) and the third (26 yrs).

Of total of 115 samples of amniotic fluid we obtained 109 for creatinine, 92 for NAG, 99 for β 2-microglobulina, 106 for glucose, 105 for urea, 106 for sodium, 104 for potassium, 65 for chloride, 96 for phosphorus, 108 for calcium, 101 for uric acid, 95 for albumin and 93 for osmolality. All losses were due to scanty samples of amniotic fluid.

Except chloride all studied biochemical markers showed any difference significant at least between 2 out of 3 gestational periods when we applied ANOVA or Kruskal-Wallis. Duncan test identified where were these differences.

Creatinine showed an increasing growth profile throughout gestation ($p < 0,05$). This increasing growth profile was also demonstrated by NAG, urea, potassium and uric acid ($p < 0,05$). In the other hand β 2-microglobulina, glucose, calcium and sodium demonstrated decreasing growth profiles ($p < 0,05$) throughout pregnancy.

Phosphorus had a decreasing growth profile between first and third periods ($p < 0,05$), but not showed a significant increasing growth profile between second and third periods.

Albumin showed a significant ($p < 0,05$) decreasing growth profile between first and third periods but not between second and third. Osmolality showed a decreasing growth profile ($p < 0,05$) between third period and the two formers but not between both of them.

We observed important correlations ($r > 0,6$) between gestational age with creatinine ($r > 0,85$) ($p < 0,05$), β 2-microglobulin ($r > -0,68$) ($p < 0,05$), glucose ($r > 0,65$) ($p < 0,05$), uric acid ($r > 0,78$) ($p < 0,05$). We also observed important correlations between creatinine with β 2-microglobulin ($r > -0,68$) ($p < 0,05$), uric acid ($r > 0,80$) ($p < 0,05$), glucose ($r > -0,60$) ($p < 0,05$), potassium ($r > 0,60$) ($p < 0,05$) and urea ($r > 0,54$) ($p < 0,05$).

Besides them we could observe significant correlations between sodium and chloride ($r > 0,65$) ($p < 0,05$), and osmolality ($r > 0,63$) ($p < 0,05$), and also between uric acid and β 2-microglobulina ($r > -0,61$) ($p < 0,05$). Our study not identifies any influence of maternal age, race, parity, and fetal sex with our results and maternal blood also did not show any influence with amniotic fluid results.

Table 2. Pearson's correlation coefficient of creatinine and gestational age with biochemical markers.

	Gestational age	p	Creatinine	p
Creatinine	$r = 0,85$	0,00		
NAG	$r = 0,39$	0,00	0,26	0,00
β 2-microglobulin	$r = -0,73$	0,00	-0,68	0,00
Glucose	$r = -0,65$	0,00	-0,60	0,00
Urea	$r = 0,36$	0,00	0,54	0,00
Sodium	$r = -0,46$	0,00	-0,26	0,00
Potassium	$r = 0,49$	0,00	0,62	0,00
Chloride	$r = -0,06$	0,13	-0,15	0,23
Phosphorus	$r = -0,51$	0,00	-0,39	0,00
Calcium	$r = -0,27$	0,00	-0,14	0,00
Uric acid	$r = 0,78$	0,00	0,80	0,00
Albumin	$r = -0,37$	0,00	-0,29	0,00
Osmolality	$r = -0,45$	0,00	-0,31	0,00

Tables 3 to 9 show the biochemical marker values throughout gestation.

Table 3. Creatinine (mg/dl) and NAG (UL/min) values throughout gestation.

	Creatinine			NAG		
	13 -20 wks	27-34 wks	36-42 wks	13-20 wks	27-34 wks	36-42 wks
N	35	17	57	29	18	45
Mean	0,60	1,28	1,83	14,56	20,62	27,32
SD	0,07	0,34	0,42	1,18	11,75	17,57
Median	0,60	1,40	1,80	14,10	19,90	23,30
CI 95%	0,57-0,62	1,10-1,46	1,72-1,94	12,13-16,99	14,77-26-46	22,04-32,60

Table 4. β 2-microglobulin (ng/ml) and glucose (mg/dl) values throughout gestation.

	β 2-microglobulin			Glucose		
	13 -20 wks	27-34 wks	36-42 wks	13-20 wks	27-34 wks	36-42 wks
N	29	18	52	34	17	55
Mean	8,10	5,12	2,28	46,88	29,11	17,94
SD	3,34	2,32	1,04	13,57	21,66	13,53
Median	7,77	4,80	2,20	46,00	29,00	13,00
CI 95%	6,83-9,38	3,96-6,27	1,99-2,57	42,14-51,61	17,97-40,25	14,28-21,60

Table 5. Urea (mg/dl) and sodium (mEq/l) values throughout gestation.

	Urea			Sodium		
	13 -20 wks	27-34 wks	36-42 wks	13-20 wks	27-34 wks	36-42 wks
N	33	17	55	35	17	54
Mean	23,03	29,41	31,52	134,08	128,35	122,53
SD	6,34	7,12	11,57	3,75	5,47	13,40
Median	22,00	28,00	31,00	133,00	127,00	122,00
CI 95%	20,77-25,28	25,74-33,07	28,39-34,65	132,79-135,37	125,53-131,16	118,87-126,19

Table 6. Potassium (mEq/l) and chloride (mEq/l) values throughout gestation.

	Potassium			Chloride		
	13 -20 wks	27-34 wks	36-42 wks	13-20 wks	27-34 wks	36-42 wks
N	34	16	53	18	6	41
Mean	3,79	4,25	4,62	102,27	105,16	100,78
SD	0,52	0,42	0,82	5,22	4,70	11,61
Median	3,70	4,20	4,50	104,00	108,00	102,00
CI 95%	3,61-3,97	4,03-4,48	4,39-4,85	99,68-104,87	100,22-110,10	97,11-104,44

Table 7. Phosphorus (mg/dl) and calcium (mg/dl) values throughout gestation.

	Phosphorus			Calcium		
	13 -20 wks	27-34 wks	36-42 wks	13-20 wks	27-34 wks	36-42 wks
N	34	12	50	35	17	56
Mean	3,09	1,44	1,83	6,68	6,31	6,04
SD	1,10	0,61	0,81	0,95	1,03	0,95
Median	3,00	1,30	1,90	6,90	6,20	5,90
CI 95%	2,70-3,47	1,04-1,83	1,60-2,06	6,35-7,00	5,78-6,84	5,78-6,29

Table 8. Uric acid (mg/dl) and albumin (mg/dl) values throughout gestation.

	Uric acid			Albumin		
	13 -20 wks	27-34 wks	36-42 wks	13-20 wks	27-34 wks	36-42 wks
N	35	17	49	32	11	52
Mean	3,11	5,45	7,64	0,35	0,28	0,23
SD	1,07	2,43	1,59	0,12	0,16	0,14
Median	3,20	6,20	7,60	0,30	0,20	0,20
CI 95%	2,74-3,48	4,20-6,70	7,18-8,10	0,31-0,40	0,17-0,39	0,19-0,28

Table 9. Osmolality (mOsm/l) values throughout gestation.

	Osmolality		
	13 -20 wks	27-34 wks	36-42 wks
N	33	16	44
Mean	264,81	259,62	237,54
SD	9,54	15,34	31,42
Median	265,00	264,00	242,00
CI 95%	261,43-268,20	251,44-267,80	227,99-247,09

Figures 1 to 13 depict creatinin, NAG, β 2-M, glucose, urea, potassium, sodium, chloride, phosphorus, calcium, uric acid, albumin and osmolality throughout the gestation.

Figure1. Creatinine x Gestational age

F=140,21 p=0,000

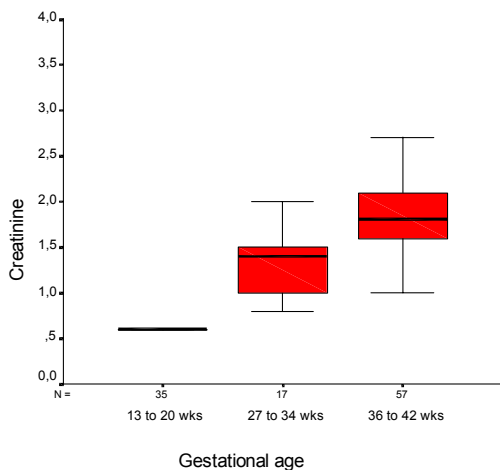


Figure2. NAG x Gestational age

F=7,58 p=0,000

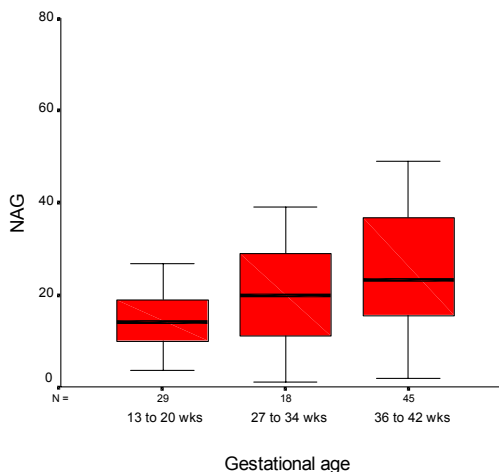


Figure 3. β 2-microglobulin x Gestational age

F=66,88 p=0,000

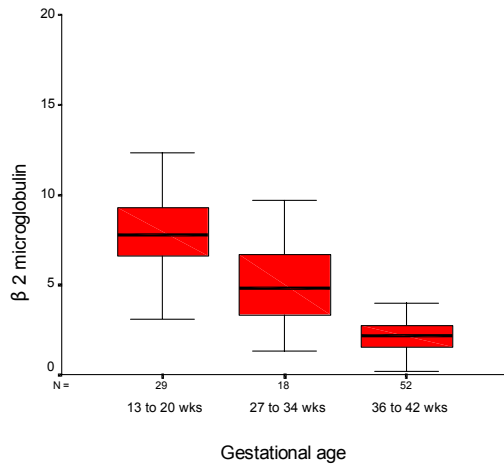


Figure 4. Glucose x Gestational age

F=38,58 p=0,000

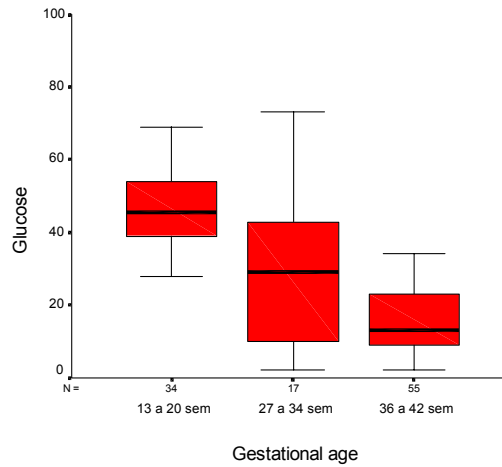


Figure 5. Urea x Gestational age

F=8,22 p=0,000

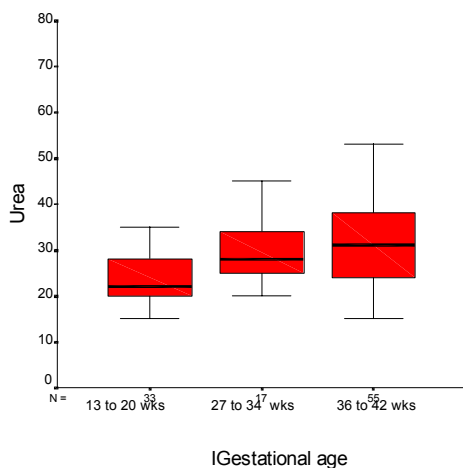


Figure 6. Sodium x Gestational age

F=14,03 p=0,000

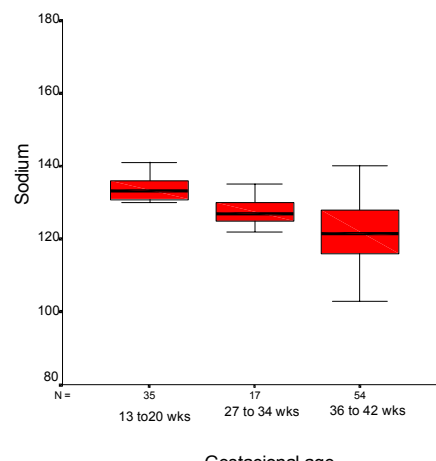


Figure7. Potassium x Gestational age

F=15,30 p=0,000

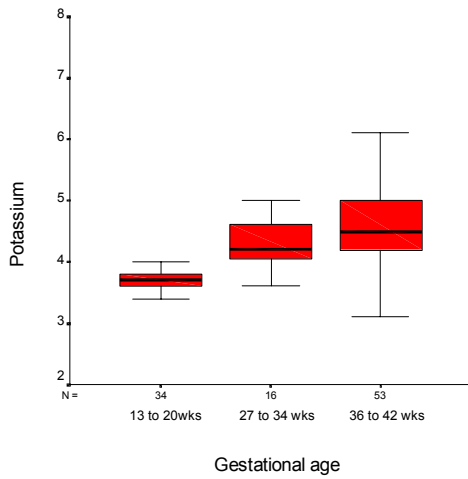


Figure 8. Chloride x Gestational age

F=0,58 p=0,56

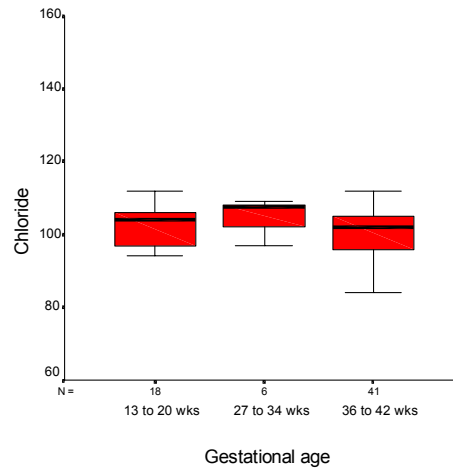


Figure 9. Phosphorus x Gestational age

F=24,48 p= 0,000

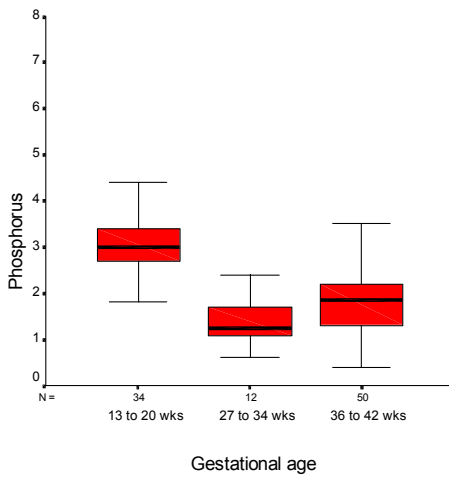


Figure10. Calcium x Gestational age

F=4,71 p= 0,011

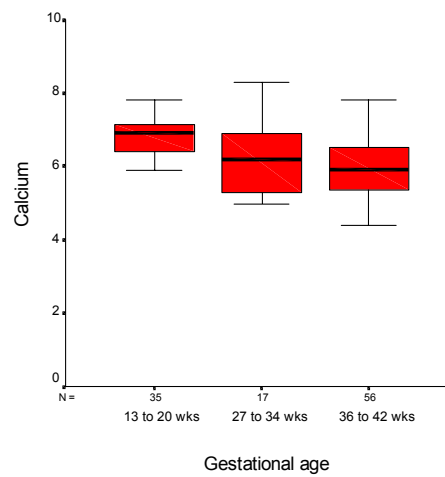


Figure11.Uric acid x Gestational age
F=80,36 p=0,00

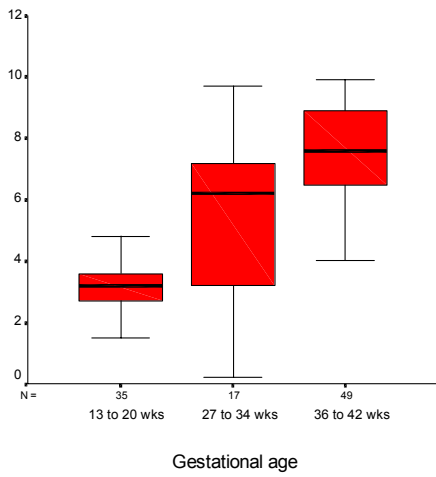


Figure12. Albumin.x Gestational age
F=14,22 p=0,001

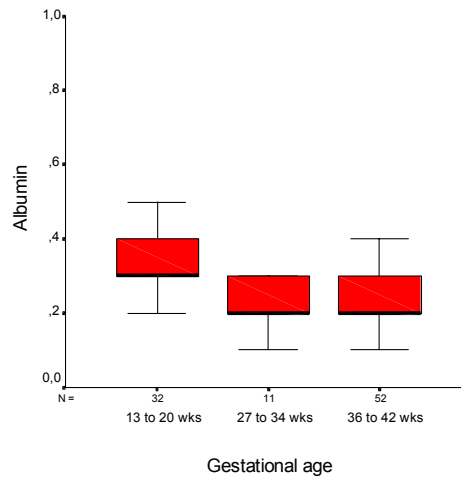
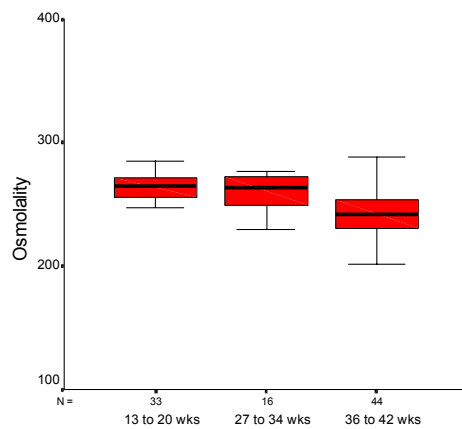


Figure 13.Osmolality

F=14,22 p=0,000



DISCUSSION

The fetal kidneys develop from 4th and 5th week of gestation and begin to excrete substances into the amniotic fluid at the 13th to 15th week. At the 20th week the fetal kidneys produce most of the amniotic fluid. Therefore are expectable important changes in the composition of amniotic fluid as gestation progress and developing of fetal maturation occurs.

As new diagnosis methods and new treatments advance the possibility to solve fetal anomalies or even a betterment of quality of life becomes a reality, thus becomes necessary a multidisciplinary team to decide for continuity or interruption of a pregnancy.

The sodium reabsorption by the fetal kidneys in the end of a pregnancy is about 85 to 95% of filtered charge. Therefore the fetal urine is usually hypotonic related to plasma, indicating a reabsorption capacity very efficient also in the collecting duct⁵⁶.

Our results are compatible with a larger reabsorption of sodium and lower concentrations in the amniotic fluid in the third trimester of a pregnancy already demonstrated by other authors^{5,20,46}.

It was also possible to demonstrate lower concentrations of osmolality in the amniotic fluid at third trimester of gestation and a good correlation between sodium with osmolality and chloride what would be expectable due to intimate physiology among them.

In fact would be also expectable in the third trimester a developing almost complete of fetal kidneys with adequate functioning of all receptors that carry out transportation in renal cells. For example, the Na-K-ATPase protein present in all tubular segments has a main role in the sodium reabsorption. There is a crescent growth of this protein during renal developing and it is also followed for a larger capacity of renal tubules to transport sodium and water^{59,62,63,72}.

Potassium demonstrated a slight increasing growth profile throughout gestation confirming authors as Benzie et al. (1973). These results are accord to maturation of distal and collecting tubules that are the most important responsible of potassium manipulation by the fetal kidneys.

Uric acid presented higher concentrations in the end of gestation similar to authors as Bauk et al. (1996).

Our results showed a decreasing growth profile of glucose throughout gestation. This decreasing profile and a good correlation with creatinine and gestational age suggest glucose as a good indicator of renal maturation.

Calcium, phosphorus and chloride all ions manipulated for different segments of renal tubules did not show significant differences in the three gestational groups, similar data found with other authors^{20,46}.

The function of renal tubular system specifically proximal tubules can also be assessed by the concentrations of β 2-microglobulin and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) in the third trimester of gestation^{53, 54,68}.

β 2-microglobulin, a polypeptide of the light chain of the HLA class I antigen complex. It was first isolated in 1968 from the urine of patients with Wilson's disease and cadmium poisoning. Its function is unknown, but it may control the expression and biosynthesis of antigens on the cell surface. Because of its low molecular weight 95% of all free β 2-M is rapidly eliminated by glomerular filtration^{4,15}.

In primary diseases of renal tubules where occurs tubular damage and tubular acidosis the urinary excretion of β 2-microglobulin can increase due to a reduced reabsorption of this molecule^{68,71}. Fetuses produce β 2-microglobulin and serum levels are detectable from 11th week gestation.

β 2-microglobulin produced by the fetus is filtered and reabsorbed by proximal tubules, then is expectable a reduction of its concentrations at 36th week in normal pregnancies. This reduction can be considered as index of renal tubular maturation^{68,71,72}.

β 2-M showed a significant decreasing growth profile ($p < 0,05$). This behavior was already related for some authors as Zimmerhackl *et al.* (1996). Theories can explain it as a reduced transference of maternal blood, dilutions mechanism or even reduced production in the third trimester but there are no proved evidences. β 2-M presented good correlations with creatinine, gestational age and uric acid suggesting its importance as a renal marker.

N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) is a lisosomal enzyme presents in renal tubular cells and due to low molecular weight eases its glomerular filtration despite hepatic consumption^{40,43}. NAG in our study showed a significant decreasing growth profile between first and third gestational groups.

Renal maturity is defined by the increasing of glomerular filtration and by the maturity of tubular renal cells that begin to express various tubular transporters through gestational months^{8,22,25,30,72}.

Glomerular filtration of fetal kidney can be assessed by the concentrations of creatinine and urea in the amniotic fluid^{36,37}. The evaluation of renal maturity can also indicate fetal maturity^{42,53}.

In non-pregnant women creatinine, urea, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, β 2-microglobulin besides other biochemical markers evaluate the complexity functioning human kidneys.

Fetal kidneys as gestation progress follow the same principles of adult kidneys. In man, the basic histoarchitecture of the kidney has formed by 32 to 36 weeks gestation, and no new nephric units form after this period²³.

In the first half of pregnancy concentrations of maternal serum creatinine and in the amniotic fluid are similars^{7,65,67}

Our data confirmed these findings. Pregnant in the first gestational group had a creatinine mean concentration of 0,6 mg/dl in the amniotic fluid, similar found in maternal serum.

Creatinine concentrations increased gradually between 20 to 32 weeks gestation and thereafter more rapidly when is 2 to 4 times higher than maternal serum^{17,54,58,72}. Creatinine concentrations of 2 mg/dl represent at least 37 weeks gestation^{17,54,58,72}.

We observed an increasing growth of creatinine and urea in the third trimester. It seems evident that origin of these two markers is a function of filtration of fetal kidneys, once creatinine of maternal serum was lower than 1,0 mg/dl in all pregnant.

Creatinine demonstrated an increasing growth profile throughout pregnancy with all 3 gestational periods with significant differences. Creatinine values from 36 weeks gestation (1,72-1,95 mg/dl) were absolutely in accordance with former publications what confirmed renal maturation³⁸.

The increasing growth profile of creatinine and urea throughout normal pregnancy is due to glomerular filtration and maturation of tubular function.

As creatinine represents the most accurate renal marker we considered as good indicators of maturation and renal function all markers that presented Pearson's correlation ($r > 0,6$) with gestational age and creatinine simultaneously.

The profile throughout gestation of biochemical markers regardless of Pearson correlations demonstrates the physiology of amniotic fluid as fetal kidneys mature.

β 2-microglobulin, glucose and uric acid presented important correlations with creatinine and gestational age. Potassium presentation only with creatinine.

NAG showed weak correlation with both what suggest not being a good indicator of renal maturation. Similar results were seen with urea, sodium, chloride, phosphorus, calcium, albumin and osmolality.

The heterogeneity of our patients is a limitation of our study but would not be ethical to get samples of amniotic fluid not properly, without a real indication.

Patients selected in the first period showed a significant older age (34 years old) compared to the other 2 periods. This it was expectable because most of these patients had advanced maternal age as one of indications for amniocentesis.

The precise understanding of structural, molecular and cellular aspects during nephrogenesis just recently began to be studied. The process of undifferentiated cells become proximal tubules, loops of Henle, distal tubules, and collecting urinary system besides all system of transportation of water and solutes make a vast field of investigation^{8,11,47}.

There are a great deal of renal syndromes such as aplasia, hypoplasia, dysplasia, neoplasm and cystogenesis that are resulting from abnormal nephrogenesis.

Therefore the study of fetal kidneys developing during embryogenesis as well the knowledge of functioning of various cellular transporters during gestation can bring us important information of physiology and phisiopathology of many syndromes that occurs during gestational period.

CONCLUSIONS

- Creatinine confirms significant correlation with gestational age.

- β 2-microglobulin presents significant correlation with gestational age and creatinine what suggests being a good indicator of renal development during gestation.

- Glucose presents significant correlation with gestational age and creatinine what suggests being a good indicator of renal development during gestation.

- Uric acid presents significant correlation with gestational age and creatinine what suggests being a good indicator of renal development during gestation.

- N-acetyl- β -D-glucosaminidase does not show any significant correlation with gestational age and creatinine. NAG does not seem to be a good indicator of renal development during gestation.

- Urea, sodium, potassium, chloride, phosphorus, calcium, albumin and osmolality does not show significant correlations with creatinine and gestational age what suggest not to be good indicators of renal development during gestation.

REFERENCES

1. Abbott JF, Levine D, Wapner R. Posterior urethral valves: Inaccuracy of prenatal diagnosis. *Fetal Diagn Ther* 1988;13:179-183.

2. Adzick NS, Harrison MR, Flake AW, et al. Development of a fetal renal function test using endogenous creatinine clearance. *Journal of Pediatric Surgery*, 20(6):602-607, 1985.
3. Almeida-OD Jr; Kitay-DZ; Amniotic fluid urea nitrogen in the prediction of respiratory distress syndrome. *Am-J-Obstet-Gynecol*. 1988 Aug; 159(2): 465-8
4. Backman L, Ringden O, Bjorkhem I et al. Increased serum β 2-M during rejection ciclosporin-induced nephrotoxicity and cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. *Transplantation* 1986; 42: 368-71.
5. Bauk FA, Moron AF, Novo Y, et al. Estudo comparativo das dosagens de sódio, potássio, uréia, creatinina e ácido úrico no líquido amniótico entre 15-20 semanas e 38-42 semanas. *Rev Assoc Med Brasil* 1996; 42 (1): 7-10.
6. Bailão LA, Cunha SP, Martinez AR. O valor da creatinina no líquido amniótico como índice de maturidade fetal. *J Bras Ginec* 1975; 79 (6): 247-9
7. Benzie RJ, Doran TA, Harkins JL, et al. Composition of the amniotic fluid and maternal serum in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 119 (6): 798-810
8. Boim MA, Ho K, Brenner BM, Hebert SC. *J. Am. Soc. Nephrol.* 4(3):893, 1993
9. Brace, R.A. (1995). Current topic: progress toward understanding the regulation of amniotic fluid volume: water and solute fluxes and through the fetal membranes. *Placenta* 16, 1-18
10. Brans-YW; Kuehl-TJ; Hayashi-RH, et al. Amniotic fluid composition in normal baboon pregnancies. *J-Reprod-Med.* 1984 Feb; 29(2): 129-32
11. Brenner BM. Determinant of differentiation during early nephrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 1: 127-130. 1990
12. Bulbis B, Jauniaux E, Jurkovic D, et al. Biochemical investigation of fetal renal maturation in early pregnancy. *Ped Research* 1995, 39:731-735.
13. Burghard R, Leititis J, Brandis M, et al. Studies on fetal renal function. Comparison of microproteins in amniotic fluid and fetal urine. *Contrib Nephrol* 1988; 67:193-9.
14. Callen PW. *Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology*. Third edition, 199
15. Cobet G, Gummelt T, Bollmann C, et al. Assessment of serum levels of alfa microglobulin, β 2 microglobulin, and retinol binding protein in the fetal blood. A method for prenatal evaluation of renal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16: 299-305
16. Cooper E, Forbes M, Hambling M. Serum B2-microglobulin and C-reactive protein concentrations in viral infections. *J Clin Path* 1984; 37:1140-43

17. Cruikshank-DP ;Amniocentesis for determination of fetal maturity. *Clin-Obstet-Gynecol*. 1982 Dec; 25(4): 773-85
18. Daniel SS, Stark RI, Troper PJ, et al. Amniotic fluid composition in the fetal lamb with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1999 Mar; 180 (3 Pt 1): 703-10
19. Dashe JS, Nathan L, Mc Intire DD, et al. Correlation between amniotic fluid glucose concentration and amniotic fluid in pregnancy complicated by diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 2000 Apr; 182(4) 901-4
20. Daffos F, Forestier F. *Médecine et biologie du fœtus humain*. Maloine Paris 1988.

21. Darling-RE; Zlatnik-FJ; Comparison of amniotic fluid optical density, L/S ratio and creatinine concentration in predicting fetal pulmonary maturity. *J-Reprod-Med.* 1985, 30(6): 460-4
22. Delpire E, Rauchman MI, Beier DR, et al. Molecular Cloning and Chromosome Localization of a Putative Basolateral Na-K-2Cl Co transporter from Mouse Inner Medullary Collecting Duct (mIMCD-3) Cells. *J.Biol.Bioch.* 269(41): 25677-25683, 1994
23. Ekblom P. Embryology and Prenatal development. In: Holliday MA, Barratt TM, Avner ED. *Pediatric Nephrology.* Third edition, 1994;2
24. Erkadius E, Morgan TO, DiNicolantonio R. Amniotic fluid composition and fetal and placental growth rates in genetically hypertensive and normotensive rats. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7(6):1563-7
25. Gamba G, Miyanoshita A, Lombardi M, et al. Molecular Cloning, Primary Structure, and Characterization of two Members of the Mammalian Electroneutral Sodium- (Potassium)-Chloride Co transporter Family Expressed in Kidney. *J. Biol. Bioch.* 269(26):17713-17722, 1994.
26. Garcia-MV; Martin-Barrientos-J; Medina-JM ;Maternal-fetal relationship in ammonia metabolism during late gestation in the rat. *Biol-Neonate.* 1988; 53(5): 315-20
27. Grupe WE. The dilemma of intrauterine diagnosis of congenital renal disease. *Pediatr Clin North Am,* 34,629-638
28. Gulbis B, Jauniaux E, Jurkovic D et al. Biochemical investigation of fetal renal maturation in early pregnancy. *Ped Research* 1996; 731-35
29. Harrison MR, Filly RA. The fetus with obstructive uropathy: Pathophysiology, natural history, selection, and treatment. *Fetal Diseases and Management* 1988 31: 328-393.
30. Imbert-Teboul M, Charbarés D, Clique A. Ontogenesis of hormone-dependent adenylate cyclase in isolated rat nephron segments. *AM. J.Physiol.* 247:F316, 1984.
31. Iyengar-LR; Rao-VA; Kumar-S; Significance of amniotic fluid glucose in pregnancy. *Int-J-Gynaecol-Obstet.* 1982 Feb; 20(1): 57-63
32. Jauniaux E, Gulbis B, Hyett J, et al. Biochemical analyses of mesenchymal fluid in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998, 78: 765-769.

33. Koski-KG; Fergusson-MA Amniotic fluid composition responds to changes in maternal dietary carbohydrate and is related to metabolic status in term fetal rats. *J-Nutr.* 1992 Feb; 122(2): 385-92
34. Lam BCC, Wong S, Yeung S et al. Outcome and management of babies with prenatal ultra sonographic renal abnormalities. *Am J Perinatol* 1993; 10:263
35. Lettgen B, Meyer-Schwickerath M, Bedow W. Die antenatale ultraschalldiagnostik der Nieren und der ableitenden Harnwege, *Monatsschr Kinderheilkd.* 141, 462-46
36. Liu-Y; Gong-GL. Clinical observation of amniotic fluid creatinine as an index of fetal maturity. *Chin-Med-J-Engl.* 1982 Sep;95(9):697-702
37. Lumbers ER. A brief review of fetal renal function. *J.Dev.Physiol.* 6:1, 1993.
38. Manual de Orientação- Assistência Pré-Natal, Febrasgo 2000:58-59.

39. Mandelbaun B, Evans TN. Life in the amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 104(3): 365-77
40. Marhun, D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin. Chim. Acta.* 1976; 73: 453–461.
41. Marhun D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chimica Acta* 1976, 73: 453-461
42. Matysek-P; Ungerova-A; Buzkova-J; Klabensova-I; Amniotic uric acid and urea in the last trimester of pregnancy. *Cesk-Gynekol.* 1985 Dec; 50(10): 739-41
43. Milnerowicz H. Concentrations of metals, ceruloplasmin, metallothionein, and the activity of NAG and gamma-glutamyltransferase in pregnant women who smoke and in those environmentally exposed to tobacco and their infants. *Int J Occup Med Environ Health*, 1997, 10:3,273-82
44. Moore KL, 1982 *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. WB Saunders, Philadelphia.
45. Mussap M, Fanos V, Piccoli A, et al. Low molecular mass proteins and urinary enzymes in Amniotic Fluid of healthy pregnant women at progressive stages of gestation. *Clin Biochem* 1995;29:51-56
46. Nicolini U, Fisk NM, Rodeck CH et al. Fetal urine biochemistry an index of renal maturation and dysfunction. *Br J Obstet Gynaecol* 1992 Jan; 99(1) 46-50
47. Nigam SK, Aperia AC, Brenner BM. Development and maturation of the kidney. In Brenner BM(ed) *Brenner & Rector's The Kidney*, fifth edition, W.B.Saunders, Philadelphia, 1996, ca72-98.
48. Odibo AO, Rodis JF, Sanders MM, et al. Relationships of amniotic fluid markers of intra-amniotic infection with histopathology in cases of preterm labor with intact membranes. *J Perinatol* 1999 Sep; 19(6 Pt1): 407-12
49. Padovani EM, Fanos V, Mussap M, Plebani M, et al. Tubular proteins and enzyme content in the amniotic fluid. *Eur.J. Obstet Gynecol. Reprod. Biol.* 55 129-33.(1994).
50. Pérez-Blanco FJ, Sanabria MC, Huertas JM, et al. Urinary NAG in the prediction of preeclampsia. *Clin Nephrol*,50: 3 1998 169-171
51. Pitkin RM, Zwirek SJ. Amniotic fluid creatinine. *Am J Obst Gynec* 1967; 98: 1135-8.
52. Porter, EL. *Normal and Abnormal Development of the Kidney*. Year Book Medical Publishers, Chicago. 1972.
53. Puolaka J, Ylostalo P, Tuimala R, et al. Amniotic fluid beta2-microglobulin in normal and complicated pregnancies. *Gynecol Obstet Invest.* 13:129-134(1982)
54. Raghav-M; Vijay-G; Chowdhary-DR; et al. Amniotic fluid amino acids, urea, creatinine in normal and toxemic pregnancies. *Indian-J-Med-Sci.* 1985 Dec; 39(12): 291-3
55. Ring E, Hofmann H, Erwa W, et al. Amniotic fluid N- acetyl- β -D-glucosaminidase activity and renal abnormalities. *Arch Dis Child* 1991; 66: 1147-49.
56. Robillard, JE Matson, JR, Sessions, et al. Developmental aspects of renal tubular reabsorption of water in the lamb fetus. *Pediatr. Res.* 13:1172, 1979. Saudan PJ, Farrel TJ, Brown MA. β 2-microglobulin in hypertensive pregnancies. *Am J Kidney Dis* 1998,31(2):308-312.

57. Robillard JE, Nakamura KT, Matherne GP. Renal hemodynamics and functional adjustments to postnatal life. *Semin. Perinatol.* 12:143, 1988
58. Satlin LM. Maturation of renal potassium transport. *Pediatr. Nephrol* 5:260, 1991.
59. Saudan PJ, Farrel TJ, Brown MA. B₂-microglobulin in hypertensive pregnancies. *Am J Kidney Dis* 1998, 31(2):308-12
60. Scharz GJ and Evan AP. Development of solute transport in rabbit proximal tubule. *Am. J. Physiol.* 246:F845, 1984:36.
61. Seeds AE. Current concepts on amniotic fluid dynamics. *Am J Obst Gynecol* 1980;1:11-6
62. Scherer DM, Thompson HO, Armstrong B, Woods JR. Prenatal sonographic diagnosis of unilateral fetal agenesis. *J Ultrasound*, 18:648-651, 1990.
63. Schlondorff D, Weber H, Trizna W and Fine L. Vasopressin responsiveness of renal adenylate cyclase in newborn rats and rabbits. *Am. J. Physiol.* 234:F16, 1978.
64. Schmidt U and Horster M. Na-K activated ATPase: Activity maturation in rabbit nephron segments dissected in vitro. *Am. J. Physiol.* 233: F55, 1977.
65. Shardijin G, Statius van Epps L. β 2-Microglobulin: its significance in the evaluation of renal function. *Kidney Int* 1987; 32: 365-41
66. Siegel SR, Oh W. Renal function as a marker of human fetal maturation. *Acta Paediatr Scand* 65:481-485, 1976.
67. Szaflik K, Kozarzewski M, Adamczewski D. Fetal bladder catheterization in severe obstructive uropathy before the 24th week of pregnancy. *Fetal Diagn Ther* 1988;13:133-35
68. Strassner HT, Nochimson DJ. Determination of fetal maturity. *Clinics in Perinatology* 9(2):297-312, 1982
69. Takeddine-F; Tabbara-M; Hall-P; Sokol-RJ; King-KC Fetal renal maturation. Studies on urinary beta 2 microglobulin in the neonate. *Acta-Obstet-Gynecol-Scand.* 1983; 62(4): 311-4
70. microglobulin and N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase (NAG) have a limited role in the prediction of postnatal renal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:1087-1093.
71. Thomas DFM, Gordon AC. Management of prenatal diagnosed uropathies. *Arch Dis Child* 1989;64:58-63
72. Troccoli-R; Stella-C; Pachi-A et al. Hydroxyproline and creatinine levels in normal amniotic fluid. *Ric-Clin-Lab.* 1986 Jan-Mar; 16(1): 37-41
73. Tyden-O; Eriksson-U; Agren-H; Berne-C; Estimation of fetal maturity by amniotic fluid cytology, creatinine, lecithin/sphingomyelin ratio and phosphatidylglycerol. *Gynecol-Obstet-Invest.* 1983; 16(6): 317-2640.
74. Willis F, Summers J, Minutillo C, Hewitt I. Indices of renal tubular function in perinatal asphyxia. *Arch Dis Child* 1997,77:57-60
75. Tassis B, Trespidi L, Tirelli A, et al. In fetuses with isolated hydronephrosis, urinary β 2 microglobulin and NAG have a limited role in the prediction of postnatal renal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:1087-1093.
76. Zimmerhackl LB, Rostasy K, Wiegele G, et al. Tamm Horsfall protein as a marker of tubular maturation. *Pediatr Nephrol* 1996,10: 448-452.

ARTIGO REDIGIDO EM PORTUGUÊS

Líquido Amniótico: Perfil bioquímico do desenvolvimento renal e fetal

Armando Rocha de Oliveira, Elvino Guardão Barros, José Antônio Magalhães.

Departamento de Ginecologia & Obstetrícia e Departamento de Medicina Interna, Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Resumo

Base Teórica: A creatinina vem ao longo dos anos representando a função e maturação dos rins fetais. Há uma necessidade de determinar outros marcadores que possam auxiliar em diagnósticos de distúrbios renais. A literatura carece de valores de normalidade e do perfil de novos marcadores que possam exercer este papel.

Objetivos: Determinar um perfil e correlacionar marcadores bioquímicos que avaliam função e maturação renal do feto humano no líquido amniótico durante a evolução da gestação. Avaliar a distribuição de valores para creatinina, N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), β_2 -microglobulina, glicose, uréia, sódio, potássio, cloro, fósforo, cálcio, ácido úrico, albumina e osmolalidade em três períodos gestacionais.

Delineamento: Estudo transversal que avaliou 115 amostras de líquido amniótico em três diferentes períodos de gestacionais que consistiam da 13^a a 20^a semana, 27^a a 34^a e da 36^a a 42^a semana. As coletas foram realizadas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Resultados: Os valores da creatinina, NAG, uréia, potássio e ácido úrico apresentaram perfil de crescimento ao longo da gestação ($p < 0,05$). A β 2-microglobulina, glicose, sódio, e cálcio, ao contrário, apresentaram perfil de decréscimo ($p < 0,05$). β 2-microglobulina, glicose e ácido úrico apresentaram correlações de Pearson $r > 0,6$ com a idade gestacional e a creatinina respectivamente. O NAG não demonstrou resultados significativos

Conclusões: A creatinina confirma seu papel de boa correlação com a idade gestacional. A β 2-microglobulina, glicose e ácido úrico apresentaram bons resultados como marcadores de função e maturação renal e o NAG não mostrou ser útil na avaliação da maturação renal.

Palavras Chave: Maturação renal do feto, Gravidez normal, Líquido amniótico

INTRODUÇÃO

A regulação homeostática de líquidos e eletrólitos no feto é realizada principalmente pela placenta. O papel homeostático do rim fetal não é muito bem definido, mas é absolutamente crítico, já que na sua ausência ocorre marcada restrição de crescimento intra-uterino^{9,23}.

Com a evolução dos métodos diagnósticos durante o pré-natal, principalmente através da ultra-sonografia, tem sido possível avaliar aspectos anatômicos, bem como maturidade e bem-estar fetal. Além disso, é um importante instrumento no diagnóstico de anormalidades fetais, como as que acometem o sistema urinário.

Lettgen *et al.* (1993) observaram que 50% das anormalidades fetais, visualizadas ao ultra-som, apresentavam algum tipo de malformação que envolvia os rins e sistema urinário. No entanto, os achados ecográficos não são suficientes para uma completa avaliação funcional dos rins no período gestacional (Grupe *et al.*, 1987 e Shackelford *et al.*, 1992).

Desta forma, a análise de eletrólitos, bem como a dosagem de uréia e creatinina no líquido amniótico, pode dar uma boa avaliação da maturação renal e de sua função durante a evolução da gestação^{5,42,53}.

Os níveis de creatinina no líquido amniótico que melhor representam a maturidade fetal variaram entre 1,5 e 2,0 mg/dl (Bailão *et al* 1975). Valores acima de 2,0mg/100ml são observados a partir da 37^a semana em 94% das gestantes³⁸. Outros indicadores de maturidade renal também têm sido utilizados, entre eles, a β 2-microglobulina e o N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)^{53,54,68}.

Em casos de malformação do sistema urinário, como a uropatia obstrutiva, os valores de sódio, β 2-microglobulina e osmolalidade na urina fetal são importantes na avaliação do comprometimento fetal e na indicação do uso de cateteres²⁹.

Nosso objetivo neste trabalho foi o de avaliar a modificação do líquido amniótico, através da dosagem de várias substâncias, manipuladas pelo rim, durante o desenvolvimento renal do feto em três diferentes períodos gestacionais.

PACIENTES E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal em 115 gestantes provenientes do ambulatório, centro obstétrico e internação hospitalar do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de janeiro de 1998 a dezembro de 1999.

As pacientes foram divididas em três diferentes grupos de acordo com o período gestacional. Grupo 1: 13^a a 20^a semanas de gestação; Grupo 2: 27^a a 34^a semanas de gestação e Grupo 3: a partir da 36^a semana. A idade gestacional foi determinada pela data da última menstruação e por ultra-sonografias seriadas.

As coletas do líquido amniótico nas gestantes do Grupo 1 foram realizadas através de amniocenteses em pacientes referenciadas ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre para estudo citogenético. No Grupo 2 e 3 as coletas do líquido amniótico foram realizadas através de amniocenteses nas gestantes que apresentavam alguma suspeita de risco fetal ou durante a realização de cesarianas indicadas por motivos obstétricos.

Foram excluídas as gestantes que apresentaram insuficiência renal, definida como níveis de creatinina sérica acima de 0,9 mg/dl, presença de oligodramnias, corioamnionites, anomalias cromossômicas, defeitos congênitos, uso de drogas nefrotóxicas durante a gestação, grávidas que não apresentavam a idade gestacional confiável, hipertensas, diabéticas ou isoimunizadas. As cesáreas indicadas por sofrimento fetal agudo e recém-nascidos com Apgar menor que 7 no primeiro minuto também foram excluídas.

Após as coletas para estudo citogenético, se o resultado do cariótipo fosse alterado as gestantes também eram excluídas do trabalho. Junto às coletas de líquido amniótico houve sempre uma amostra do sangue materno obtido através de venopunção sem uso de anticoagulantes.

A coleta para amniocentese foi realizada via transabdominal com agulhas número 22 de punção lombar e foi coletado em torno de 10 a 20 ml de líquido amniótico.

Amostras contendo sangue ou mecônio no líquido amniótico foram excluídas. Na cesariana a coleta foi realizada durante o ato cirúrgico com seringas de 10 ml logo após a histerotomia.

Tanto o líquido amniótico como o sangue materno se não analisados no dia foram centrifugados, e o soro congelado para serem analisados até 2 semanas nos laboratórios de Bioquímica e Radioimunoensaio do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Foram determinadas, no líquido amniótico e no sangue, as concentrações da creatinina, N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), β_2 -microglobulina, glicose, sódio, potássio, uréia, cloro, fósforo, cálcio, ácido úrico, albumina, e osmolalidade.

A creatinina, uréia, ácido úrico, cálcio, glicose, fósforo e albumina foram todos dosados em mg/dl e a osmolalidade em mOsm/l. O sódio, cloro e o potássio foram dosados em mEq/l.

Os valores da creatinina, uréia, ácido úrico, cálcio, glicose, fósforo, albumina e osmolalidade foram obtidos através de um analisador automático (“Mega Kits Merck Diagnostic”).

As leituras do NAG foram feitas através de métodos de colorimetria usando substratos como 4-fenil-N-acetil- β -glicosamina (pm 342,3) e tampão citrato e analisadas em UL/ min.

As análises de β_2 -microglobulina foram determinadas através da técnica de Immulite e as leituras foram feitas em ng/ ml.

O estudo foi analisado e aprovado pela Comissão Científica e Comissão de pesquisa e ética em saúde do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todas as pacientes foram informadas do objetivo do trabalho e assinavam um consentimento livre e esclarecido.

Análise Estatística:

O banco de dados foi criado no programa Epi-Info versão 6.04 (CDC-Atlanta-EUA). A análise estatística foi feita através do programa SPSS 8. As variáveis foram analisadas e apresentadas nas formas de média, desvios padrões e medianas, quando necessárias.

A diferença das variáveis nos três diferentes períodos gestacionais foram feitas através de análise de variância (ANOVA) para as variáveis com distribuição homogênea e o Teste de Kruskal-Wallis para as análises de variâncias heterogêneas.

O teste de Duncan foi utilizado toda vez que ANOVA ou Kruskal-Wallis mostravam diferença significativa entre pelo menos dois grupos. O teste de Duncan localizava estas diferenças. Para as análises das correlações entre as variáveis foram utilizados os coeficientes de correlação de Pearson.

Criamos valores dentro de uma faixa de normalidade a partir de uma fórmula baseada em erro padrão e intervalo de confiança de 95%. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

RESULTADOS

Do total das 115 gestantes selecionadas foram coletadas 37 amostras no Grupo 1 (32,2%). No segundo grupo foram obtidas 18 amostras (15,7%) e no terceiro 60 amostras (52,2%). Na Tabela 1 representamos a frequência dos 3 períodos gestacionais e suas medidas de tendência central.

Tabela 1. Resultados dos 3 diferentes grupos gestacionais (semanas).

Idade Gestacional	n	$\mu \pm DP$	Mediana
13 a 20 semanas	37	16,92 \pm 1,62	17,00
27 a 34 semanas	18	31,28 \pm 2,19	31,50
36 a 42 semanas	60	39,97 \pm 1,48	40,00
Total	115		

$\mu \pm DP$ = Média + Desvio Padrão

No primeiro período gestacional a média de idade das pacientes foi de 34 anos, significativamente maior ($p < 0,05$), quando comparado ao segundo (27 anos) e terceiro períodos (26 anos).

Nas 115 amostras de líquido amniótico obtivemos 109 para estudo da creatinina, 92 para NAG, 99 para β 2-microglobulina, 106 para glicose, 105 para uréia, 106 para sódio, 104 para potássio, 65 para cloro, 96 para o fósforo, 108 para cálcio, 101 para ácido úrico, 95 para albumina e 93 para osmolalidade. As perdas foram referentes a insuficientes amostragens de líquido amniótico em algumas coletas, o que nos impossibilitou as dosagens. O mesmo ocorrendo com os outros marcadores.

À exceção do cloro todos os marcadores bioquímicos estudados demonstraram alguma diferença com significância estatística entre pelo menos dois dos três períodos gestacionais, quando utilizada a análise de variância múltipla (ANOVA) ou Kruskal-Wallis.

A creatinina apresentou um perfil de crescimento em relação à idade gestacional do primeiro ao terceiro período, o mesmo ocorrendo com o NAG, uréia, potássio e ácido úrico ($p < 0,05$). 95% dos valores da creatinina no terceiro período gestacional situavam-se entre 1,72 a 1,94mg/dl.

Apresentaram perfil de decréscimo do primeiro período gestacional ao terceiro a β 2-microglobulina, glicose, cálcio, e o sódio ($p < 0,05$). O fósforo teve um decréscimo significativo do primeiro ao terceiro período, mas houve um aumento não significativo entre o segundo e terceiro períodos. A albumina mostrou decréscimo significativo entre o primeiro e terceiro períodos, mas não entre os dois últimos. A osmolalidade demonstrou diminuição da concentração com diferença significativa entre o terceiro período com os dois primeiros, que não apresentaram diferença significativa entre si.

Através do coeficiente de correlação de Pearson como demonstra a tabela 2 observamos correlações importantes ($r > 0,6$), como as da idade gestacional com a creatinina ($r > 0,85$) ($p < 0,05$), β 2-microglobulina ($r > -0,73$) ($p < 0,05$), glicose ($r > 0,65$) ($p < 0,05$) e o ácido úrico ($r > 0,78$) ($p < 0,05$). Observamos também correlações importantes da creatinina com β 2-microglobulina ($r > -0,68$) ($p < 0,05$), ácido úrico ($r > 0,80$) ($p < 0,05$), glicose ($r > -0,60$) ($p < 0,05$), potássio ($r > 0,60$) ($p < 0,05$) e uréia ($r > 0,54$) ($p < 0,05$).

Além das correlações demonstradas na tabela 2 observamos outras correlações importantes entre alguns dos marcadores como as do sódio com o cloro ($r > 0,658$) ($p < 0,05$) e com a osmolalidade ($r > 0,633$) ($p < 0,05$), e a do ácido úrico com a β 2-microglobulina ($r > -0,617$) ($p < 0,05$).

No nosso trabalho não houve influência da idade materna, raça, paridade, e sexo dos fetos nos resultados, o mesmo ocorrendo entre as dosagens do sangue materno com o analisado no líquido amniótico.

Tabela 2. Correlações de Pearson (r) entre a idade gestacional e creatinina com os marcadores bioquímicos.

	Idade Gestacional	p	Creatinina	p
Creatinina	r= 0,85	0,00		
NAG	r= 0,39	0,00	0,26	0,00
β 2-microglobulina	r= -0,73	0,00	-0,68	0,00
Glicose	r= -0,65	0,00	-0,60	0,00

Uréia	r= 0,36	0,00	0,54	0,00
Sódio	r= -0,46	0,00	-0,26	0,00
Potássio	r= 0,49	0,00	0,62	0,00
Cloro	r= -0,06	0,13	-0,15	0,23
Fósforo	r= -0,51	0,00	-0,39	0,00
Cálcio	r= -0,27	0,00	-0,14	0,00
Ácido Úrico	r= 0,78	0,00	0,80	0,00
Albumina	r= -0,37	0,00	-0,29	0,00
Osmolalidade	r= -0,45	0,00	-0,31	0,00

Através da fórmula para determinar faixas de normalidade baseada nos valores do erro padrão e nas medidas de tendência central, podemos a partir dos nossos dados, extrapolar valores dentro da faixa de normalidade dos nossos marcadores com um intervalo de confiança de 95%. Nas tabelas de 3 a 9 apresentamos os valores de cada marcador bioquímico ao longo da idade gestacional.

Tabela 3. Valores da creatinina (mg/dl) e NAG (UL/min) ao longo da gestação.

	Creatinina			NAG		
	13 -20 sem	27-34 sem	36-42 sem	13-20 sem	27-34 sem	36-42 sem
N	35	17	57	29	18	45
Média	0,60	1,28	1,83	14,56	20,62	27,32
DP	0,07	0,34	0,42	1,18	11,75	17,57
Mediana	0,60	1,40	1,80	14,10	19,90	23,30
IC 95%	0,57-0,62	1,10-1,46	1,72-1,94	12,13-16,99	14,77-26,46	22,04-32,60

Tabela 4. Valores da β 2-microglobulina (ng/ml) e glicose (mg/dl) ao longo da gestação.

	β 2-microglobulina			Glicose		
	13 -20 sem	27-34 sem	36-42 sem	13-20 sem	27-34 sem	36-42 sem
N	29	18	52	34	17	55
Média	8,10	5,12	2,28	46,88	29,11	17,94

DP	3,34	2,32	1,04	13,57	21,66	13,53
Mediana	7,77	4,80	2,20	46,00	29,00	13,00
IC 95%	6,83-9,38	3,96-6,27	1,99-2,57	42,14-51,61	17,97-40,25	14,28-21,60

Tabela 5. Valores da uréia (mg/dl) e sódio (mEq/l) ao longo da gestação.

	Uréia			Sódio		
	13 -20 sem	27-34 sem	36-42 sem	13-20 sem	27-34 sem	36-42 sem
N	33	17	55	35	17	54
Média	23,03	29,41	31,52	134,08	128,35	122,53
DP	6,34	7,12	11,57	3,75	5,47	13,40
Mediana	22,00	28,00	31,00	133,00	127,00	122,00
IC 95%	20,77-25,28	25,74-33,07	28,39-34,65	132,79-135,37	125,53-131,16	118,87-126,19

Tabela 6. Valores do potássio (mEq/l) e cloro (mEq/l) ao longo da gestação.

	Potássio			Cloro		
	13 -20 sem	27-34 sem	36-42 sem	13-20 sem	27-34 sem	36-42 sem
N	34	16	53	18	6	41
Média	3,79	4,25	4,62	102,27	105,16	100,78
DP	0,52	0,42	0,82	5,22	4,70	11,61
Mediana	3,70	4,20	4,50	104,00	108,00	102,00
IC 95%	3,61-3,97	4,03-4,48	4,39-4,85	99,68-104,87	100,22-110,10	97,11-104,44

Tabela 7. Valores do fósforo (mg/dl) e cálcio (mg/dl) ao longo da gestação.

	Fósforo			Cálcio		
	13 -20 sem	27-34 sem	36-42 sem	13-20 sem	27-34 sem	36-42 sem
N	34	12	50	35	17	56

Média	3,09	1,44	1,83	6,68	6,31	6,04
DP	1,10	0,61	0,81	0,95	1,03	0,95
Mediana	3,00	1,30	1,90	6,90	6,20	5,90
IC 95%	2,70-3,47	1,04-1,83	1,60-2,06	6,35-7,00	5,78-6,84	5,78-6,29

Tabela 8. Valores do ácido úrico (mg/dl) e albumina (mg/dl) ao longo da gestação.

	Ácido úrico			Albumina		
	13 -20 sem	27-34 sem	36-42 sem	13-20 sem	27-34 sem	36-42 sem
N	35	17	49	32	11	52
Média	3,11	5,45	7,64	0,35	0,28	0,23
DP	1,07	2,43	1,59	0,12	0,16	0,14
Mediana	3,20	6,20	7,60	0,30	0,20	0,20
IC 95%	2,74-3,48	4,20-6,70	7,18-8,10	0,31-0,40	0,17-0,39	0,19-0,28

Tabela 9. Valores da osmolalidade (mOsm/l) ao longo da gestação.

	Osmolalidade		
	13 -20 sem	27-34 sem	36-42 sem
Média	264,81	259,62	237,54
DP	9,54	15,34	31,42
Mediana	265,00	264,00	242,00
IC 95%	261,43-268,20	251,44-267,80	227,99-247,09

Figuras 1 a 13 representam creatinina, NAG, β 2-M, glicose, uréia, potássio, sódio, cloro, fósforo, Cálcio, ácido úrico, albumina e osmolalidade ao longo da gestação.

Figura1. Creatinina x Idade gestacional

F=140,21 p=0,000

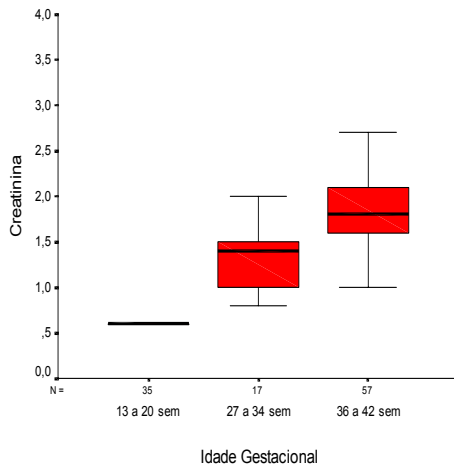


Figura2. β 2-microglobulina x Idade gestacional

F=66,88 p=0,000

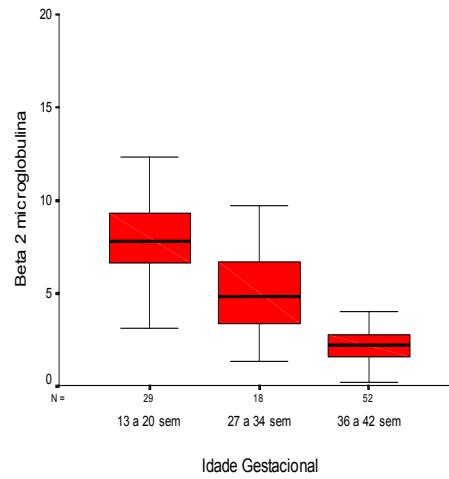


Figura 3. NAG x Idade gestacional

F=7,58 p=0,000

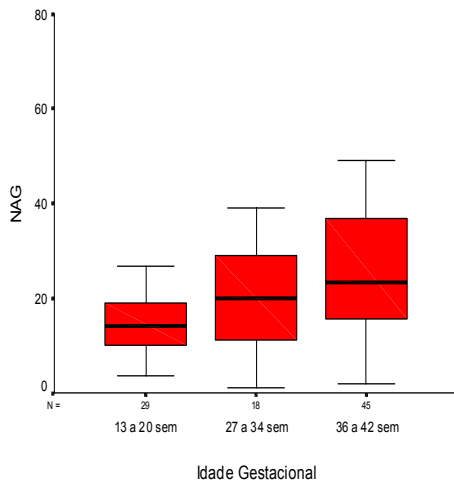


Figura 4. Glicose x Idade gestacional

F=38,58 p=0,000

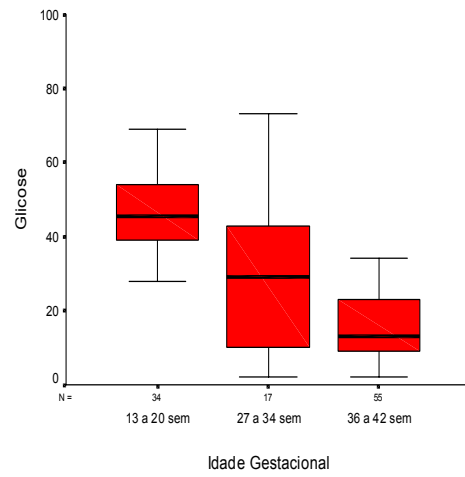


Figura 5. Uréia x Idade Gestacional

F= 8,22 p=0,000

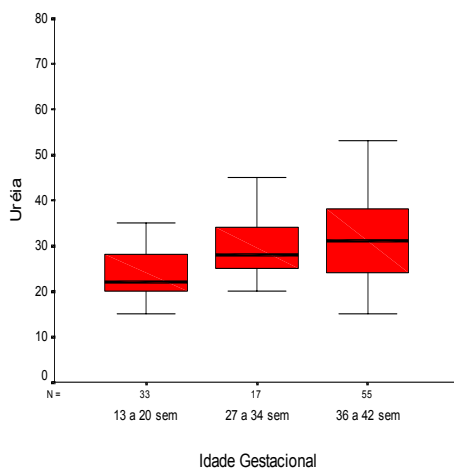


Figura 6. Sódio x Idade Gestacional

F=14,03 p=0,000

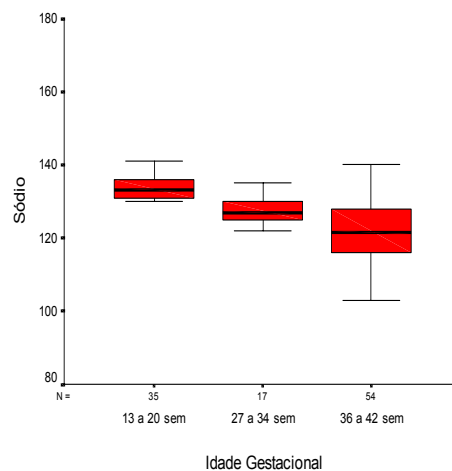


Figura7. Potássio x Idade gestacional

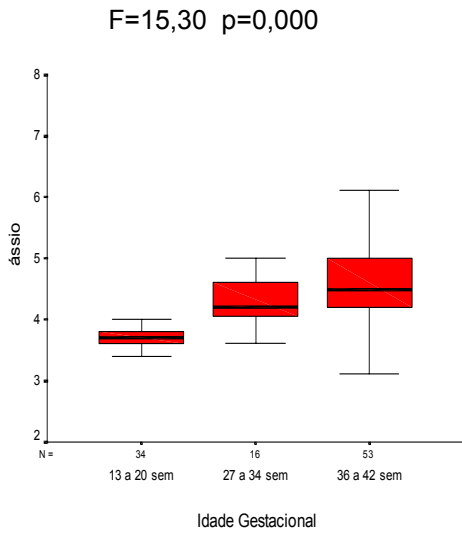


Figura 8. Cloro x Idade gestacional

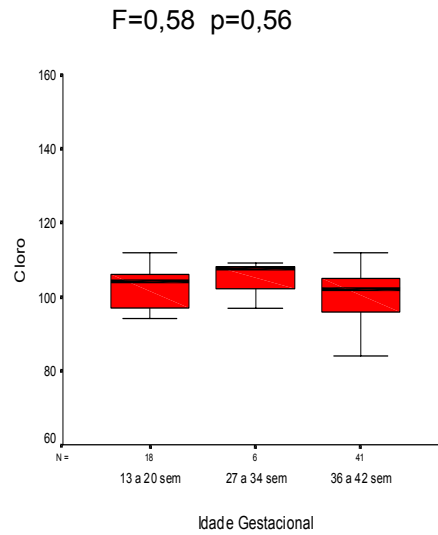


Figura 9. Fósforo x Idade gestacional
F=24,48 p=0,000

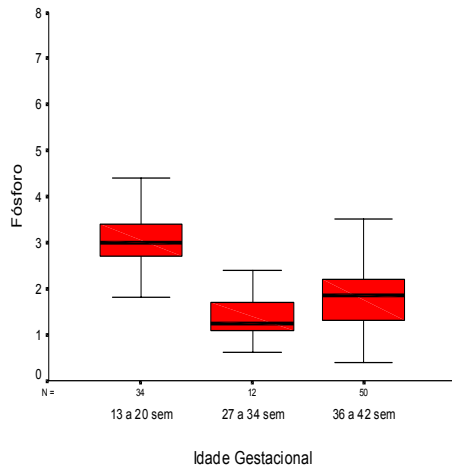


Figura10. Cálcio x Idade Gestacional
F=4,71 p= 0,011

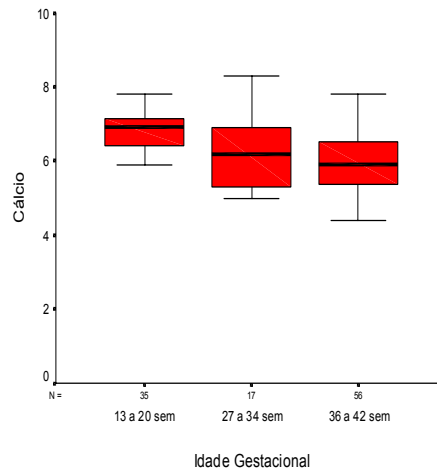


Figura11.Ácido.úrico xIdade.gestacional
F=80,36 p=0,000

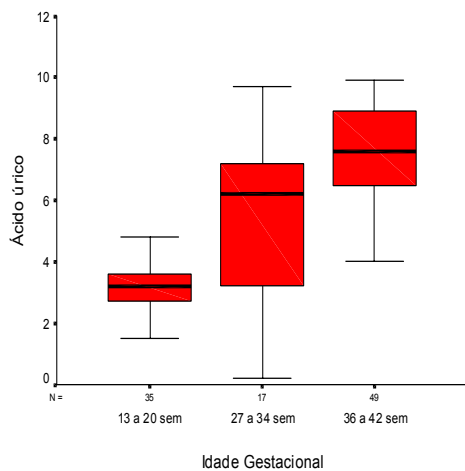


Figura12. Albumina.x.Idade.gestacional
F=14,22 p=0.001

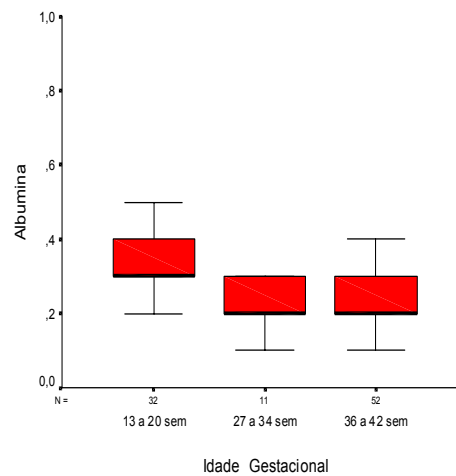
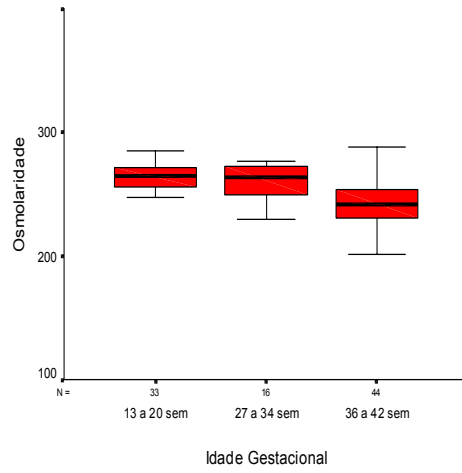


Figura13.Osmolalidade



DISCUSSÃO

O rim fetal humano começa a ser desenvolvido aproximadamente na quarta ou quinta semanas de gestação e inicia a excreção de substâncias para o líquido amniótico pela 13ª a 15ª semana^{11,47}. Pela 20ª semana a urina fetal passa a ser uma das principais fontes do fluido amniótico^{8,37,47}. Portanto, é esperada importante alteração da composição do líquido amniótico com o desenvolvimento da gestação e conseqüentemente do desenvolvimento e maturação renal.

Com a ampliação de métodos diagnósticos na avaliação da maturação e da funcionalidade dos rins é cada vez mais necessária a participação de uma equipe médica multidisciplinar para decidir pela continuidade ou interrupção de uma gestação. À medida que novos tratamentos intra-útero se desenvolvem, a possibilidade de resoluções ou melhora da qualidade de vida de fetos comprometidos, torna-se uma realidade.

A reabsorção de sódio pelo rim fetal, no final da gestação, varia entre 85 a 95% da carga filtrada. No entanto, a urina fetal é geralmente hipotônica em relação ao plasma, indicando uma capacidade reabsortiva muito eficiente também no túbulo coletor distal⁵⁶. Nossos resultados são compatíveis com uma maior reabsorção de sódio a nível tubular renal e conseqüentemente menor concentração no líquido amniótico no terceiro trimestre de gestação, da mesma forma que vários outros autores têm verificado^{5,20,46}.

Também foi possível demonstrar uma menor concentração da osmolalidade no líquido amniótico no terceiro trimestre de gestação. Demonstrou-se também uma boa correlação do sódio com a osmolalidade e o cloro. Esses dados eram esperados, devido à íntima relação destes marcadores na fisiologia de regulação do líquido amniótico.

De fato é esperado, no último trimestre de gestação, um desenvolvimento renal fetal quase completo com o adequado funcionamento de todos os receptores que realizam transporte nas células renais. Por exemplo, a Na-K-ATPase, proteína basolateral, está presente em todos os segmentos tubulares e tem um papel importante na reabsorção de sódio. Há um crescente aumento da atividade desta proteína durante o desenvolvimento renal que é acompanhado por uma maior capacidade dos túbulos renais de transportar sódio e água^{59,62,63,72}.

O potássio apresentou um padrão de discreto aumento ao longo da gestação confirmando dados descritos por autores como Benzie et al.(1973). Esses dados são compatíveis com a maturação do túbulo distal e coletor principal responsáveis pela manipulação do potássio pelo rim. Da mesma forma, o ácido úrico apresentou comportamento semelhante com maior concentração no líquido amniótico no final da gestação, dados semelhantes aos demonstrado por Bauk et al. (1996).

Nossos resultados demonstraram uma diminuição significativa da glicose no líquido amniótico durante o terceiro trimestre de gestação. Esse perfil de decréscimo ao longo da gestação e a boa correlação com a idade gestacional e creatinina, sugere a glicose como outro bom marcador do desenvolvimento renal. Em relação ao cálcio, fósforo, cloro, todos íons manipulados por diferentes segmentos dos túbulos renais não encontramos diferenças importantes nos diferentes grupos estudados, dados semelhantes são também já descritos por outros autores^{20,46}.

A funcionabilidade do sistema tubular renal, especificamente dos túbulos proximais, pode ser ainda avaliada pela observação das concentrações da β 2-microglobulina e do N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) no terceiro trimestre de gestação^{53,54,68}.

A beta 2-microglobulina ($\beta 2M$), um polipeptídeo de baixo peso molecular (11600 daltons), é um dos componentes do complexo antigênico da classe I do sistema HLA. Em humanos, é sintetizada e liberada na circulação principalmente pelo “pool” de linfócitos. Foi inicialmente isolada em 1968 a partir da urina de pacientes com Doença de Wilson e com envenenamento por cádmio^{4,15}. Sua função é desconhecida, mas pode controlar a expressão e biossíntese de antígenos na superfície celular. Devido ao seu baixo peso molecular é filtrada livremente pelo glomérulo. Apenas uma pequena fração aparece na urina, porque mais de 99% da $\beta 2$ -microglobulina é normalmente reabsorvida e degradada no túbulo proximal do rim maduro. Em doenças primárias dos túbulos renais onde ocorre dano tubular e acidose tubular renal, a excreção urinária de $\beta 2$ -microglobulina pode aumentar marcadamente em consequência de uma menor reabsorção tubular desta molécula^{68,71}. Fetos produzem $\beta 2$ -microglobulina, e os níveis séricos são detectados a partir da 11^a semana de gestação. A $\beta 2$ -microglobulina produzida pelo feto é filtrada e reabsorvida pelos túbulos proximais, com isto é esperado uma diminuição da sua concentração no líquido amniótico em torno da 36^a semana de gestação em gestações normais. Sua diminuição no líquido amniótico pode ser considerada um índice de maturidade tubular renal^{68,71,72}.

Nossos dados mostram que $\beta 2$ -microglobulina apresentou padrão de decréscimo ao longo da gestação nos 3 períodos gestacionais, confirmando o achado de trabalhos anteriores como o de Zimmerhackl et al.(1996). Há várias teorias que poderiam explicar este decréscimo, como menor transferência do sangue materno, mecanismos de diluição ou mesmo uma menor produção no terceiro trimestre. Observamos ainda uma boa correlação entre a $\beta 2$ -microglobulina e o ácido úrico indicando seu papel de bom marcador do desenvolvimento renal.

O N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) é uma enzima lisossomal presente em células tubulares proximais. Seu baixo peso molecular facilita a filtração no glomérulo, mas é rapidamente metabolizada da circulação pelo fígado^{40,43}. O NAG em nosso estudo apresentou um perfil de crescimento ao longo da

gestação com o primeiro período diferindo significativamente do terceiro, ao contrário dos poucos trabalhos apresentados na literatura no qual este comportamento havia sido inconclusivo⁵⁵.

A maturidade renal é definida tanto pelo aumento da filtração glomerular fetal como pela maturidade das células tubulares renais que começam a expressar os vários transportadores tubulares ao longo dos meses de gestação^{8,22,25,30,72}. A filtração glomerular do rim fetal pode ser inferida pela excreção no líquido amniótico da creatinina e uréia^{36,37}. Neste aspecto, a avaliação da maturidade renal também poderá nos dar uma idéia da maturidade fetal^{42,53}. Em pacientes não grávidas utiliza-se a creatinina, uréia, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, a β 2-microglobulina, além de muitos outros marcadores como indicadores da complexa funcionalidade do rim humano. O rim fetal à medida que evolui durante a gestação segue os mesmos princípios da fisiologia do rim adulto. Por volta da 32^a a 36^a semana de gestação o rim já completou sua arquitetura anatômica definitiva²³. Portanto a maturidade renal fetal pode ser avaliada através de vários marcadores no líquido amniótico. Na primeira metade da gestação os níveis de creatinina materno e no soro fetal são praticamente os mesmos^{7,65,67}. Nossos dados confirmam estes achados. As gestantes com menos de 27 semanas tiveram uma concentração média de creatinina de 0,6mg/dl semelhante à encontrada no plasma das mesmas pacientes.

A concentração de creatinina no líquido amniótico aumentou gradativamente entre 20 e 32 semanas e depois mais rapidamente, quando é duas a quatro vezes maior do que a creatinina sérica da mãe^{17,54,58,72}. O nível de creatinina de 2mg/dl ou mais indica idade fetal de pelo menos 37 semanas^{7,65,67}. Observamos um aumento significativo tanto da uréia

como da creatinina nas pacientes do terceiro trimestre de gravidez. Parece evidente que a origem destes dois elementos é uma função da filtração renal fetal, já que no sangue materno a creatinina sérica foi normal, abaixo de 1,0mg/dl em todas as pacientes.

O perfil evolutivo da creatinina, como seria de esperar, apresentou um comportamento crescente ao longo de toda a gestação, com os três grupos diferindo significativamente entre si. Os valores da creatinina a partir da 36^a semana de gestação estavam absolutamente de acordo com dados já encontrados na

literatura^{6, 7,65,67}. 95% dos valores da creatinina neste período gestacional encontravam-se entre 1,72 a 1,94mg/dl, o que confere maturidade renal deste período³⁸.

De acordo com nossos dados e vários outros autores o aumento ao longo da gestação da creatinina e da uréia deve-se ao aumento da taxa de filtração glomerular e da maturação da função tubular.

Desta forma estabelecemos a concentração da creatinina no líquido amniótico como padrão de maturidade renal. Os marcadores que apresentaram boas correlações (Pearson $r > 0,6$) com a creatinina e a idade gestacional simultaneamente sugerimos tratar-se de bons indicadores da função e maturidade renal.

A β 2-microglobulina, a glicose e o ácido úrico apresentaram correlações importantes com ambas. O potássio, no entanto, apresentou boa correlação apenas com a creatinina, limitando seu papel na representatividade da função renal.

O NAG apresentou baixa correlação com a creatinina e com a idade gestacional, o que para nós significa não ser um bom indicador para o desenvolvimento do rim fetal. O mesmo ocorreu com a uréia, sódio, cloro, fósforo, cálcio, albumina e osmolalidade.

O perfil evolutivo dos marcadores ao longo da gestação independente das correlações apresentadas reflete os mecanismos da fisiologia do líquido amniótico à medida que os rins tornam-se maduros.

É importante ressaltar que esse estudo apresenta como limitação à heterogeneidade das gestantes estudadas. Não seria ético obtermos coletas evolutivas das gestantes inapropriadamente, sem uma indicação adequada. Da mesma forma as gestantes selecionadas no primeiro grupo gestacional apresentaram idades maternas mais avançadas em relação aos outros dois grupos, uma vez que uma das indicações de coleta neste período era a própria idade materna avançada.

A complexidade estrutural e funcional do rim é refletida por uma série de eventos que levam ao seu completo desenvolvimento ao longo de meses no homem^{37,47}.

O preciso entendimento dos aspectos estruturais, moleculares e celulares, durante a nefrogênese, só agora começam a ser mais estudados. O processo pelo qual as células indiferenciadas tornam-se

glomérulo, túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e sistema coletor urinário, bem como o aparecimento de todo o sistema de transporte de água e eletrólitos, ao longo destas estruturas constituem-se num imenso campo de investigações^{8,11,47}. A nível molecular, a imaturidade das células renais é refletida na expressão das moléculas transportadoras, na regulação dos sistemas de transportes e na maneira pela qual diferentes segmentos tubulares interagem mutuamente^{21,26,58}. Há uma grande variedade de síndromes renais como aplasia, hipoplasia, displasia, neoplasias e cistogênese que são decorrentes de alterações da nefrogênese^{8,47,61}.

Por isto, o estudo do desenvolvimento renal na fase embrionária, bem como, o conhecimento do aparecimento e função dos vários transportadores celulares durante a gestação pode trazer informações úteis no entendimento da fisiologia e também da fisiopatologia das diversas síndromes renais que ocorrem durante o período gestacional.

CONCLUSÕES

- A creatinina confirma seu perfil de significativa correlação com a idade gestacional.
- A β 2-microglobulina apresenta significativa correlação com a idade gestacional e a creatinina, supondo ser um bom marcador do desenvolvimento renal do feto na gestação.
- A glicose apresenta significativa correlação com a idade gestacional e a creatinina, supondo ser um bom marcador do desenvolvimento renal do feto na gestação

- O ácido úrico apresenta significativa correlação com a idade gestacional e a creatinina, supondo ser um bom marcador do desenvolvimento renal do feto na gestação
- O N-acetyl- β -D-glucosaminidase não apresentou resultados significativos na avaliação do desenvolvimento renal do feto na gestação.
- A uréia, sódio, potássio, cloro, fósforo, cálcio, albumina e osmolalidade não apresentaram resultados significativos na avaliação do desenvolvimento renal do feto na gestação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbott JF, Levine D, Wapner R. Posterior urethral valves: Inaccuracy of prenatal diagnosis. *Fetal Diagn Ther* 1988;13:179-183.
2. Adzick NS, Harrison MR, Flake AW, et al. Development of a fetal renal function test using endogenous creatinine clearance. *Journal of Pediatric Surgery*, 20(6):602-607, 1985.
3. Almeida-OD Jr; Kitay-DZ; Amniotic fluid urea nitrogen in the prediction of respiratory distress syndrome. *Am-J-Obstet-Gynecol*. 1988 Aug; 159(2): 465-8
4. Backman L, Ringden O, Bjorkhem I et al. Increased serum β 2-M during rejection ciclosporin-induced nephrotoxicity and cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. *Transplantation* 1986; 42: 368-71.
5. Bauk FA, Moron AF, Novo Y, et al. Estudo comparativo das dosagens de sódio, potássio, uréia, creatinina e ácido úrico no líquido amniótico entre 15-20 semanas e 38-42 semanas. *Rev Assoc Med Brasil* 1996; 42 (1): 7-10.
6. Bailão LA, Cunha SP, Martinez AR. O valor da creatinina no líquido amniótico como índice de maturidade fetal. *J Bras Ginec* 1975; 79 (6): 247-9
7. Benzie RJ, Doran TA, Harkins JL, et al. Composition of the amniotic fluid and maternal serum in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 119 (6): 798-810
8. Boim MA, Ho K, Brenner BM, Hebert SC. *J. Am. Soc. Nephrol.* 4(3):893, 1993

9. Brace, R.A. (1995). Current topic: progress toward understanding the regulation of amniotic fluid volume: water and solute fluxes and through the fetal membranes. *Placenta* 16, 1-18
10. Brans-YW; Kuehl-TJ; Hayashi-RH, et al. Amniotic fluid composition in normal baboon pregnancies. *J-Reprod-Med.* 1984 Feb; 29(2): 129-32
11. Brenner BM. Determinant of differentiation during early nephrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 1: 127-130. 1990
12. Bulbis B, Jauniaux E, Jurkovic D, et al. Biochemical investigation of fetal renal maturation in Early pregnancy. *Ped Research* 1995, 39:731-735.
13. Burghard R, Leititis J, Brandis M, et al. Studies on fetal renal function. Comparison of microproteins in amniotic fluid and fetal urine. *Contrib Nephrol* 1988; 67:193-9.
14. Callen PW. *Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology*. Third edition, 1995
15. Cobet G, Gummelt T, Bollmann C, et al. Assessment of serum levels of alfa microglobulin, β 2 microglobulin, and retinol binding protein in the fetal blood. A method for prenatal evaluation of renal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16: 299-305
16. Cooper E, Forbes M, Hambling M. Serum B2-microglobulin and C-reactive protein concentrations in viral infections. *J Clin Path* 1984; 37:1140-43

17. Cruikshank-DP ;Amniocentesis for determination of fetal maturity. *Clin-Obstet-Gynecol.* 1982 Dec; 25(4): 773-85
18. Daniel SS, Stark RI, Troper PJ, et al. Amniotic fluid composition in the fetal lamb with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1999 Mar; 180 (3 Pt 1): 703-10
19. Dashe JS, Nathan L, McIntire DD, et al. Correlation between amniotic fluid glucose concentration and amniotic fluid in pregnancy complicated by diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 2000 Apr; 182(4) 901-4
20. Daffos F, Forestier F. *Médecine et biologie du foetus humain*. Maloine Paris 1988.
21. Darling-RE; Zlatnik-FJ; Comparison of amniotic fluid optical density, L/S ratio and creatinine concentration in predicting fetal pulmonary maturity. *J-Reprod-Med.* 1985, 30(6): 460-4
22. Delpire E, Rauchman MI, Beier DR, et al. Molecular Cloning and Chromosome Localization of a Putative Basolateral Na-K-2Cl Cotransporter from Mouse Inner Medullary Collecting Duct (mIMCD-3) Cells. *J.Biol.Bioch.* 269(41):25677-25683, 1994
23. Ekblom P. Embryology and Prenatal development. In: Holliday MA, Barratt TM, Avner ED. *Pediatric Nephrology*. Third edition, 1994;2
24. Erkadius E, Morgan TO, DiNicolantonio R. Amniotic fluid composition and fetal and placental growth rates in genetically hypertensive and normotensive rats. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7(6):1563-7
25. Gamba G, Miyanoshita A, Lombardi M, et al. Molecular Cloning, Primary Structure, and Characterization of two Members of the Mammalian Electroneutral Sodium-(Potassium)-Chloride Cotransporter Family Expressed in Kidney. *J. Biol. Bioch.* 269(26):17713-17722, 1994.
26. Garcia-MV; Martin-Barrientos-J; Medina-JM ;Maternal-fetal relationship in ammonia metabolism during late gestation in the rat. *Biol-Neonate.* 1988; 53(5): 315-20

27. Grupe WE. The dilemma of intrauterine diagnosis of congenital renal disease. *Pediatr Clin North Am*, 34,629-638
28. Gulbis B, Jauniaux E, Jurkovic D et al. Biochemical investigation of fetal renal maturation in early pregnancy. *Ped Research* 1996; 731-35
29. Harrison MR, Filly RA. The fetus with obstructive uropathy: Pathophysiology, natural history, selection, and treatment. *Fetal Diseases and Management* 1988 31: 328-393.
30. Imbert-Teboul M, Charbarés D, Clique A. Ontogenesis of hormone-dependent adenylate cyclase in isolated rat nephron segments. *AM. J.Physiol.* 247:F316, 1984.
31. Iyengar-LR; Rao-VA; Kumar-S; Significance of amniotic fluid glucose in pregnancy. *Int-J-Gynaecol-Obstet.* 1982 Feb; 20(1): 57-63
32. Jauniaux E, Gulbis B, Hyett J, et al. Biochemical analyses of mesenchymal fluid in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998, 78: 765-769.
33. Koski-KG; Fergusson-MA Amniotic fluid composition responds to changes in maternal dietary carbohydrate and is related to metabolic status in term fetal rats.;*J-Nutr.* 1992 Feb; 122(2): 385-92
34. Lam BCC, Wong S, Yeung S et al. Outcome and management of babies with prenatal ultrasonographic renal abnormalities. *Am J Perinatol* 1993; 10:263
35. Lettgen B, Meyer-Schwickerath M, Bedow W. Die antenatale ultraschalldiagnostik der Nieren und der ableitenden Harnwege, *Monatsschr Kinderheilkd.* 141, 462-46
36. Liu-Y; Gong-GL. Clinical observation of amniotic fluid creatinine as an index of fetal maturity.*Chin-Med-J-Engl.* 1982 Sep;95(9):697-702
37. Lumbers ER. A brief review of fetal renal function. *J.Dev.Physiol.* 6:1, 1993.
38. Manual de Orientação- Assistência Pré-Natal, Febrasgo 2000:58-59.
39. Mandelbaun B, Evans TN. Life in the amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 104(3): 365-77
40. Marhun, D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin. Chim. Acta.* 1976; 73: 453 –461.
41. Marhun D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chimica Acta* 1976, 73: 453-461
42. Matysek-P; Ungerova-A; Buzkova-J; Klabensova-I; Amniotic uric acid and urea in the last trimester of pregnancy. *Cesk-Gynekol.* 1985 Dec; 50(10): 739-41
43. Milnerowicz H. Concentrations of metals, ceruloplasmin, metallothionein, and the activity of NAG and gamma-glutamyltransferase in pregnant women who smoke and in those environmentally exposed to tobacco and their infants. *Int J Occup Med Environ Health*, 1997, 10:3,273-82
44. Moore KL, 1982 *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology.* WB Saunders, Philadelphia.
45. Mussap M, Fanos V, Piccoli A, et al. Low molecular mass proteins and urinary enzymes in Amniotic Fluid of healthy pregnant women at progressive stages of gestation. *Clin Biochem* 1995;29:51-56

46. Nicolini U, Fisk NM, Rodeck CH et al. Fetal urine biochemistry na index of renal maturation and dysfunction. *Br J Obstet Gynaecol* 1992 Jan; 99(1) 46-50
47. Nigam SK, Aperia AC, Brenner BM. Development and maturation of the kidney. In Brenner BM(ed) Brenner & Rector's *The Kidney*, fifth edition, W.B.Saunders, Philadelphia, 1996, ca72-98.
48. Odibo AO, Rodis JF, Sanders MM, et al. Relationships of amniotic fluid markers of intra-amniotic infection with histopathology in cases of preterm labor with intact membranes. *J Perinatol* 1999 Sep; 19(6 Pt1): 407-12
49. Padovani EM, Fanos V, Mussap M, Plebani M, et al. Tubular proteins and enzyme content in the amniotic fluid. *Eur.J. Obstet Gynecol. Reprod. Biol.* 55 129-33.(1994).
50. Pérez-Blanco FJ, Sanabria MC, Huertas JM, et al. Urinary NAG in the prediction of preeclampsia. *Clin Nephrol*, 50: 3 1998 169-171
51. Pitkin RM, Zwirek SJ. Amniotic fluid creatinine. *Am J Obst Gynec* 1967; 98: 1135-8.
52. Porter, EL. *Normal and Abnormal Development of the Kidney*. Year Book Medical Publishers, Chicago. 1972.
53. Puolaka J, Ylostalo P, Tuimala R, et al. Amniotic fluid Beta2-microglobulin in normal and complicated pregnancies. *Gynecol Obstet Invest.* 13:129-134(1982)
54. Raghav-M; Vijay-G; Chowdhary-DR; et al. Amniotic fluid aminoacids, urea, creatinine in normal and toxemic pregnancies. *Indian-J-Med-Sci.* 1985 Dec; 39(12): 291-3
55. Ring E, Hofmann H, Erwa W, et al. Amniotic fluid N- acetyl- β -D-glucosaminidase activity and renal abnormalities. *Arch Dis Child* 1991; 66: 1147-49.
56. Robillard, JE Matson, JR, Sessions, et al. Developmental aspects of renal tubular reabsorption of water in the lamb fetus. *Pediatr. Res.* 13:1172, 1979. Saudan PJ, Farrel TJ, Brown MA. β 2-microglobulin in hypertensive pregnancies. *Am J Kidney Dis* 1998, 31(2):308-312.
57. Robillard JE, Nakamura KT, Matherne GP. Renal hemodynamics and functional adjustments to post natal life. *Semin. Perinatol.* 12:143, 1988
58. Satlin LM. Maturation of renal potassium transport. *Pediatr. Nephrol* 5:260, 1991.
59. Saudan PJ, Farrel TJ, Brown MA. B2-microglobulin in hypertensive pregnancies. *Am J Kidney Dis* 1998, 31(2):308-12
60. Scharz GJ and Evan AP. Development of solute transport in rabbit proximal tubule. *Am.J.Physiol.* 246:F845, 1984.
61. Seeds AE. Current concepts on amniotic fluid dynamics. *Am J Obst Gynec* 1980; 1:11-6
62. Scherer DM, Thompson HO, Armstrong B, Woods JR. Prenatal sonographic diagnosis of unilateral fetal agenesis. *J Ultrasound*, 18:648-651, 1990.
63. Schlondorff D, Weber H, Trizna W and Fine L. Vasopressin responsiveness of renal adenylate cyclase in newborn rats and rabbits. *Am. J. Physiol.* 234:F16, 1978.
64. Schmidt U and Horster M. Na-K activated ATPase: Activity maturation in rabbit nephron segments dissected in vitro. *Am.J.Physiol.* 233: F55, 1977.

- XX. Shackelford GP, Kees-Folts D, Cole BR. Imaging the urinary tract. *Clin Perinatol*.1992 Mar;19(1): 85-119
- 65.Shardijin G, Status van Epps L. β 2-Microglobulin: it's significance in the evaluation of renal function. *Kidney Int* 1987; 32: 365-41
66. Siegel SR, Oh W. Renal function as a marker of human fetal maturation. *Acta Pediatr Scand* 65:481-485, 1976.
67. Szaflik K, Kozarzewski M, Adamczewski D. Fetal bladder catheterization in severe obstructive uropathy before the 24th week of pregnancy. *Fetal Diagn Ther* 1988;13:133-35
68. Strassner HT, Nochimson DJ. Determination of fetal maturity. *Clinics in Perinatology* 9(2):297-312,1982
- 69.Takieddine-F; Tabbara-M; Hall-P; Sokol-RJ; King-KC Fetal renal maturation. Studies on urinary beta 2 microglobulin the neonate.*Acta-Obstet-Gynecol-Scand*. 1983; 62(4): 311-4
- 70.microglobulin and N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase (NAG) have a limited role in the prediction of postnatalrenal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:1087-1093.
- 71.Thomas DFM, Gordon AC. Management of prenatally diagnosed uropathies. *Arch Dis Child* 1989;64:58-63
- 72.Troccoli-R; Stella-C; Pachi-A et al. Hydroxyproline and creatinine levels in normal amniotic fluid. *Ric-Clin-Lab*. 1986 Jan-Mar; 16(1): 37-41
- 73.Tyden-O; Eriksson-U; Agren-H; Berne-C; Estimation of fetal maturity by amniotic fluid cytology, creatinine, lecithin/sphingomyelin ratio and phosphatidylglycerol. *Gynecol-Obstet-Invest*. 1983; 16(6): 317-2640.
- 74.Willis F, Summers J, Minutillo C, Hewitt I. Indices of renal tubular function in perinatal asphyxia. *Arch Dis Child* 1997,77:57-60
- 75.Tassis B, Trespidi L, Tirelli A, et al. In fetuses with isolated hydronephrosis, urinary β 2 microglobulin and NAG have a limited role in the prediction of postnatal renal function. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:1087-1093.
- 76.Zimmerhackl LB, Rostasy K, Wiegele G, et al. Tamm Horsfall protein as a marker of tubular maturation. *Pediatr Nephrol* 1996,10: 448-452.