

Ana Carolina de Albuquerque Cavalcanti Ferreira Novo

Evolução dos níveis séricos de cistatina C em recém-nascidos de termo no primeiro mês de vida

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências

São Paulo

2009

Ana Carolina de Albuquerque Cavalcanti Ferreira Novo

Evolução dos níveis séricos de cistatina C em recém-nascidos de termo no primeiro mês de vida

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Pediatria

Orientadora: Profa. Dra. Cléa Rodrigues Leone

São Paulo

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Novo, Ana Carolina de Albuquerque Cavalcanti Ferreira

Evolução dos níveis séricos de cistatina C em recém-nascidos de termo no primeiro mês de vida / Ana Carolina de Albuquerque Cavalcanti Ferreira Novo. -- São Paulo, 2009.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Pediatria.

Área de concentração: Pediatria.

Orientadora: Cléa Rodrigues Leone.

Descritores: 1.Cistatinas 2.Recém-nascido 3.Taxa de filtração glomerular
4.Creatinina 5.Rim/fisiologia

USP/FM/SBD-034/09

Dedicatória



*A Fernando, Joaquim, Guilherme e Henrique,
que todos os dias iluminam minha vida.*

*A meus pais Alicita e Marcos e a minha irmã Paula,
pelo apoio incondicional.*

Agradecimentos

À Prof. Dra. Cléa Rodrigues Leone, por compartilhar comigo seus conhecimentos, por seu contínuo apoio e disponibilidade e por sua confiança em meu trabalho.

A todas as mães que aceitaram participar deste estudo, por confiarem em mim e na possibilidade de auxiliarem, no futuro, crianças não tão saudáveis quanto as suas.

A todos os recém-nascidos que, mesmo sem saber, contribuíram para este estudo.

A todos os que me apoiaram na execução deste trabalho, com seus ensinamentos, dedicação, apoio e amizade, em especial a

Dr. Fernando da Costa Ferreira Novo

Dra. Lilian Rodrigues Sadeck

Profa. Dra. Thelma Suely Okay

Prof. Dr. Claudio Leone

Dr. Ulysses Doria Filho

Dra. Naila de Oliveira Elias Barbosa

Dr. Renato Yamada

Enfermeira Edi Toma

Enfermagem do Berçário Anexo à Maternidade do HCFMUSP

Bióloga Karina Hatamoto Kawasato

Bibliotecária Mariza Kazue Umetsu

Profa. Dra. Cristina Moerbeck Casadei Pietraróia

Profa. Dra. Ruth Guinsburg

Profa. Dra. Sônia Regina Testa da Silva Ramos

Profa. Dra. Vera Hermina Kalika Koch

Dra. Clery Bernardi Gallacci.

A todos aqueles que, mesmo não citados, deixaram sua marca e seu esforço neste trabalho e em minha vida. Sem eles, a tarefa teria sido ainda mais árdua e o resultado final mais distante.

A todos, o meu muito obrigado.

Epígrafe

Brinquedo

Foi um sonho que eu tive:
Era uma grande estrela de papel,
Um cordel
E um menino de bibe.

O menino tinha lançado a estrela
Com ar de quem semeia uma ilusão;
E a estrela ia subindo, azul e amarela,
Presa pelo cordel à sua mão.

Mas tão alto subiu
Que deixou de ser estrela de papel.
E o menino, ao vê-la assim, sorriu
E cortou-lhe o cordel.

(Miguel Torga, 1941)

Normatização

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus* da *National Library of Medicine*.

Sumário

Lista de abreviaturas	
Resumo	
Summary	
Introdução	1
1. Função renal no recém-nascido	2
2. Ritmo de filtração glomerular	4
3. Cistatina C	8
4. Cistatina C como marcador do RFG	15
Objetivos	21
Métodos	23
1. Ética	24
2. Desenho do estudo	25
3. Casuística	26
4. Metodologia	28
5. Análise estatística	35
Resultados	36
Discussão	57
1. Análise do método	59
2. Análise dos resultados	73
3. Considerações finais	78
Conclusões	79
Anexos	81
Referências	99

Lista de abreviaturas

CIUR	Crescimento intra-uterino restrito
Cis	Cistatina C
ClCr	<i>Clearance</i> de creatinina
Cr	Creatinina
FSR	Fluxo sanguíneo renal
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IG	Idade gestacional
PA	Pressão arterial
RFG	Ritmo de filtração glomerular
RN	Recém-nascido
T4	Tiroxina
TSH	Hormônio estimulante da tireóide
USG	Ultrassonografia

Resumo

Novo ACACF. *Evolução dos níveis séricos de cistatina C em recém-nascidos de termo no primeiro mês de vida* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008. 111p.

INTRODUÇÃO: A cistatina C sérica apresenta boa correlação com o ritmo de filtração glomerular (RFG) e não é influenciada pela função renal materna, podendo ser um bom marcador da função renal, especialmente na 1ª semana de vida. Porém, não há valores normais definidos para o período neonatal. **OBJETIVO:** Determinar a evolução dos níveis séricos da cistatina C (Cis) em recém-nascidos (RN) de termo saudáveis ao longo do 1º mês de vida. **MÉTODOS:** Estudo prospectivo. Inclusão: idade gestacional (IG) entre 37 e 41 ⁶/₇ semanas; peso de nascimento adequado para a IG; Apgar 1º min > 7; mães sem insuficiência renal, hipertensão arterial ou uso de drogas que interferissem com a função renal do feto. Exclusão: má-formação *major* ou renal; ausência de diurese nas primeiras 12 horas de vida ou diurese no 2º ou 3º dia < 1mL/kg/h; perda de peso > 10% até o 3º dia; pressão arterial elevada; insuficiência cardíaca ou renal, fototerapia, infecção, alteração da função tireoidiana ou uso de drogas vasoativas ou diuréticos. Dosagens laboratoriais: Cis (mg/L) por imunonefelometria e creatinina sérica (Cr) (mg/dL) pelo método de Jaffé, da mãe e do RN, no cordão umbilical (d0) e com 3 (d3), 7 (d7) e 28 (d28) dias. O *clearance* de creatinina foi estimado pela fórmula de Schwartz (mL/min/1,73m²). Comparação de médias pelo teste ANOVA one way para medidas repetidas e teste de Tukey. Análise de correlação pelo coeficiente de correlação de Pearson. Nível de significância=0,05. **RESULTADOS:** Preencheram os

critérios de inclusão 35 RN e, destes, 14 foram excluídos. Foram analisados 21 RN. Mães: idade (média): 29,1 anos. Os RN apresentaram IG (mediana) de 39,4 sem e peso (média) de 3224 g; 57,1% eram do sexo masculino. A diurese (média) no 2° e no 3° dias foi 2,1 e 2,4 mL/kg/h, respectivamente, e a perda de peso máxima (média) foi 7,1% e ocorreu com 2 dias (mediana). Dos 21 RN, 17 (81%) receberam aleitamento materno exclusivo e 13 (61,9%) tiveram icterícia. Cis (média±dp): mãe: 1,00±0,20; RN: d0=1,70±0,26; d3=1,51±0,19; d7=1,54±0,15; d28=1,51±0,15. Cr (média±dp): mãe: 0,63±0,15; RN: d0=0,63±0,15; d3=0,48±0,16; d7=0,37±0,10; d28=0,26±0,05. Os valores de Cr não foram diferentes dos encontrados na literatura para RN de termo saudáveis. A Cr da mãe não foi diferente de d0, enquanto a Cis materna foi menor do que em d0 (p<0,001). A Cr no RN diminuiu com o tempo (d0xd3, p=0,007; d3xd7, p=0,002; d7xd28, p<0,001). A Cis diminuiu de d0 para d3 (p=0,004) e manteve-se estável após d3. A Cis e a Cr da mãe apresentaram correlação positiva. Houve correlação positiva entre Cis e Cr em d3 e d28. **CONCLUSÕES:** A Cis do RN, que ao nascimento foi maior do que a da mãe, reduziu-se até d3 e permaneceu estável até d28. A Cis e a Cr da mãe correlacionaram-se entre si. Em d3 e d28 houve correlação entre Cis e Cr do RN.

Descritores: 1.Cistatinas 2.Recém-nascido 3.Taxa de filtração glomerular
4.Creatinina 5.Rim/fisiologia

Summary

Novo ACACF. *Cystatin C serum levels in term newborns along the neonatal period* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008. 111p.

INTRODUCTION: Cystatin C (Cys) is a good marker of glomerular filtration rate (GFR), and is not affected by maternal renal function. **OBJECTIVE:** To determine the levels of Cys in healthy term newborns (NB), along the 1st month of life. **METHODS:** Cohort study. Inclusion: term NB with appropriate weight; 1st min Apgar > 7; mother without renal failure or drugs that could affect fetal GFR. Exclusion: malformations; hypertension; no diuresis in the first 12 hours of life or oliguria in the first three days; excessive weight loss until the third day; heart or kidney failure; thyroid dysfunction; use of diuretics, vasoactive drugs or any drug that could affect renal function. Cys (mg/L) and creatinine (Cr) (mg/dL) were determined in the mother (Mo) and in the NB at birth (d0), 3rd (d3), 7th (d7) and 28th (d28) days. Creatinine *clearance* was estimated in the NB using the Schwartz formula. Statistics: one way ANOVA and Pearson's correlation tests. Significance level=0.05. **RESULTS:** Data from 21 NB were obtained. Mothers: age (mean): 29.1 years. NB: gestational age (median): 39.4 weeks; birth weight (mean): 3224 g; 57.1% were male. Diuresis (mean) in the 2nd and 3rd days of life: 2.1±0.6 and 2.4±0.7 mL/kg/h, respectively. Maximum weight loss (mean): 7.1%; it occurred in the 2nd day (median). 81% of the NB were breastfed and 61.9% had jaundice. Cys (mean±sd): Mo: 1.00±0.20; NB: d0=1.70±0.26; d3=1.51±0.19; d7=1.54±0.15; d28=1.51±0.15. Cr (mean±sd): Mo: 0.63±0.15;

NB: $d0=0.63\pm0.15$; $d3=0.48\pm0.16$; $d7=0.37\pm0.10$; $d28=0.26\pm0.05$. These Cr values are similar to those found in the literature for healthy term NB. Mo Cr was not different from d0 Cr, while Mo Cys was lower than d0 Cys ($p<0.001$). NB Cr decreased ($d0xd3$, $p=0.007$; $d3xd7$, $p=0.002$; $d7xd28$, $p<0.001$) along the time, while Cys decreased from d0 to d3 ($p=0.004$). Correlations were obtained between Mo Cr and Mo Cys, as well as d3 Cr and d3 Cys, d28 Cr and d28 Cys. **CONCLUSIONS:** At birth, NB Cys values were higher than Mo Cys values. NB Cys decreased from d0 to d3 and remained stable from d3 to d28. Mo Cys correlated with Mo Cr and NB Cys correlated with NB Cr at d3 and d28.

Descriptors: 1.Cystatins 2.Infant, newborn 3.Glomerular filtration rate
4.Creatinine 5.Kidney/physiology

Introdução

O recém-nascido apresenta função renal peculiar e seu ritmo de filtração glomerular (RFG) pode variar conforme o grau de desenvolvimento renal ao nascimento.

Durante o período fetal, com 5 semanas de gestação surge o rim primitivo, enquanto os primeiros glomérulos, ainda indiferenciados, aparecem apenas com 9 semanas. Seu número vai aumentando gradualmente até a 36^a semana. Nessa fase, embora a formação do rim esteja completa quanto ao número de glomérulos, a função renal, medida pelo RFG, corresponde a apenas 5% do valor normal do adulto. Isso é decorrente em grande parte dos níveis mais baixos de pressão arterial sistêmica, característicos do feto, associados à resistência vascular renal elevada, determinada por vasoconstricção de sua microvasculatura¹.

1. Função renal no recém-nascido

Com o nascimento, a regulação da homeostase de fluidos e eletrólitos do organismo, até então realizada pela placenta, passa a ser desempenhada pelos rins. Estes são os responsáveis por remover da circulação a água em excesso e os metabólitos potencialmente deletérios, mantendo os solutos essenciais como sódio, cloro, bicarbonato, açúcares e aminoácidos. Este processo inicia-se no glomérulo, onde o plasma é ultrafiltrado sob pressão, sendo dependente diretamente do fluxo sanguíneo renal (FSR)².

No adulto, o FSR corresponde de 20 a 30% do débito cardíaco e depende da pressão de perfusão renal, que é muito próxima da pressão

arterial sistêmica, e da resistência vascular renal, a qual é determinada pelas arteríolas aferente e eferente. Ao nascimento, o FSR é baixo e, nas primeiras 2 semanas de vida, aumenta progressivamente, chegando a dobrar o seu valor. Isso ocorre em consequência da elevação do débito cardíaco e da intensa redução da resistência vascular renal, que faz com que uma maior fração do débito cardíaco seja direcionada aos rins².

Ao nascimento, o RFG é diretamente proporcional à idade gestacional. No recém-nascido de termo, alcança valores inferiores a 10% do valor de um adulto, mesmo quando considerado em relação à superfície corpórea ou ao peso renal. Contudo, o RFG aumenta progressivamente até atingir valores iguais aos do adulto, com 2 anos de idade².

Os recém-nascidos também apresentam imaturidade relativa dos mecanismos de transporte tubular. A fração de excreção de sódio é elevada ao nascimento, podendo chegar a até 5%. Diminui progressivamente a seguir e, com 2 a 3 semanas, o recém-nascido passa a apresentar balanço positivo de sódio. Já a reabsorção de bicarbonato está diminuída, levando a concentrações plasmáticas de bicarbonato mais baixas. No entanto, o maior limitante à adaptação pós-natal é a baixa filtração glomerular. Embora seja suficiente para o crescimento e desenvolvimento do recém-nascido em condições normais, o RFG baixo passa a ser um limitante à adaptação pós-natal na presença de intercorrências, como asfixia, instabilidade hemodinâmica ou uso de drogas nefrotóxicas³.

Para poder detectar adequadamente a presença de anormalidade da função renal, é fundamental o conhecimento do valor normal do RFG

esperado para cada idade gestacional e idade pós-natal, por meio de métodos confiáveis para sua avaliação.

2. Ritmo de filtração glomerular

O RFG é o volume de fluido plasmático filtrado para dentro da cápsula de Bowman por unidade de tempo. Pode ser estimado por meio da taxa de depuração plasmática (*clearance*) de determinadas substâncias. O *clearance* de um soluto corresponde ao volume virtual de sangue que seria totalmente depurado deste soluto por unidade de tempo. Para que o *clearance* de uma substância possa refletir o RFG, esta substância deve obedecer a alguns critérios:

- ser livremente filtrada nos glomérulos;
- não ser reabsorvida nem secretada pelos túbulos renais;
- não ser metabolizada nem sintetizada pelos rins;
- ser fisiologicamente inerte e não tóxica;
- não se ligar a proteínas plasmáticas^{4,5}.

Os métodos disponíveis para a determinação do RFG nem sempre preenchem todos estes requisitos, conforme será exposto a seguir.

2.1. *Clearance* de inulina

A inulina, um polímero de frutose de peso molecular de 5200 Da, extraído da raiz da dália, preenche todos os critérios do marcador ideal do RFG, sendo o seu *clearance* considerado padrão para a avaliação da função renal.

Estudos realizados em néfrons isolados de mamíferos mostraram que a concentração de inulina no fluido glomerular é igual à concentração plasmática, ou seja, ela é livremente filtrada. Por sua vez, perfundindo túbulos isolados com soluções com quantidades conhecidas de inulina marcada, foi possível demonstrar que a inulina não é nem secretada nem reabsorvida pelo túbulo. Além disso, considerando-se um RFG constante, a quantidade de inulina excretada é diretamente proporcional à sua concentração plasmática. O *clearance* de inulina não varia, nem com a sua concentração plasmática, nem com o débito urinário⁴.

No entanto, para medir o *clearance* de inulina é necessário fazer a infusão intravenosa contínua de inulina, de forma a atingir níveis plasmáticos adequados. O *clearance* deve ser realizado em jejum e pela manhã, com sobrecarga hídrica, para estimular a diurese. São necessárias múltiplas coletas de sangue e urina, com sondagem vesical. A dosagem de inulina é ainda muito trabalhosa, não sendo realizada rotineiramente nos laboratórios de análises clínicas. Desta forma, não é possível o seu uso na prática médica, sendo necessário encontrar outros marcadores para o RFG^{4,5}.

2.2. Clearance de creatinina

A creatinina apresenta propriedades semelhantes à inulina, de forma que seu *clearance* pode ser usado para a estimativa do RFG. Sendo endógena, não há necessidade de infusão intravenosa. Sua dosagem é realizada rotineiramente nos laboratórios de análises clínicas. Contudo, como a creatinina é produzida a partir da metabolização da creatina e da fosfocreatina, sua produção depende da massa muscular do indivíduo, a qual varia com a idade e com o sexo. Além disso, ela é influenciada pela ingestão de creatina (presente na carne), que também não é constante^{4,5}.

A creatinina é totalmente filtrada pelos glomérulos, mas é secretada ativamente por transportadores de cátions nos túbulos proximais. Quando o RFG é normal, 5 a 10% da creatinina urinária provém da secreção tubular, o que por si só poderia superestimar o RFG em 10 a 20 mL/min/1,73m². No entanto, como os métodos laboratoriais de dosagem da creatinina no plasma usualmente superestimam suas concentrações séricas, o *clearance* de creatinina calculado acaba por ser muito próximo do *clearance* de inulina, quando a função renal é normal. Contudo, quando o RFG diminui, a proporção de creatinina que é secretada em relação à filtrada aumenta e, portanto, o RFG é ainda mais superestimado. Por outro lado, alguns fármacos, como cimetidina e trimetoprin, são capazes de inibir a secreção tubular de creatinina^{4,5,6}.

A creatinina também pode ser eliminada do organismo pelo trato gastrointestinal, pois sofre degradação bacteriana quando presente nas

secreções intestinais. Em condições normais, a eliminação extrarrenal não é significativa. Porém, quando o RFG está muito diminuído, há um aumento na quantidade de creatinina nas secreções intestinais e a quantidade degradada no trato gastrointestinal pode corresponder a até 68% da produção diária⁶.

Estudos realizados em crianças mostraram que, quando o *clearance* de inulina está entre 3 a 192 mL/min/1,73m², a correlação entre o *clearance* de creatinina e o *clearance* de inulina é de 0,94. Contudo, na presença de disfunção renal, o *clearance* de creatinina tende a superestimar o RFG, uma vez que ocorre maior secreção tubular da mesma. Quando o RFG é menor do que 21 mL/min/1,73m², o *clearance* de creatinina é quase 20% maior do que o *clearance* de inulina^{7,8}.

2.3. Creatinina no período neonatal

No período neonatal, devido à dificuldade técnica para a realização de coleta de urina por período de algumas horas de forma não invasiva, utiliza-se a dosagem sérica da creatinina para a avaliação da função renal, seja por meio de dosagens seriadas, seja pela estimativa do RFG, com base na fórmula de Schwartz, onde o *clearance* depende do valor sérico de creatinina e da estatura⁷.

No entanto, ao nascimento, o valor sérico de creatinina depende não somente da sua produção e excreção, mas também é um reflexo da creatinina materna. No recém-nascido de termo, a creatinina sérica cai

progressivamente, atingindo na segunda semana valores estáveis em torno de 0,4 mg/dL. Contudo, em recém-nascidos muito prematuros, a creatinina sérica aumenta após o nascimento, com pico no quarto dia de vida, após o que diminui progressivamente, normalizando-se com 3 a 4 semanas. Esse aumento deve-se provavelmente à reabsorção tubular de creatinina por difusão passiva, que ocorre nos túbulos imaturos^{3,9}.

Apesar de a dosagem seriada da creatinina sérica ser, na prática clínica, a principal forma de estimar o RFG no período neonatal, seu valor deve ser interpretado conforme o contexto de cada recém-nascido. Por isso, com o intuito de se encontrar um marcador endógeno do RFG que seja mais preciso, tem sido estudada a cistatina C.

3. Cistatina C

A cistatina C é uma proteína identificada pela primeira vez em 1961 por Jorgen Clausen no líquido cefalorraquidiano humano. Como apresentava um padrão de migração em eletroforese na região γ (gama), foi denominada líquido cefalorraquidiano- γ (γ -cerebrospinal fluid)¹⁰. No mesmo ano, Butler e Flynn descreveram uma nova proteína presente na urina humana, também com migração para a região γ , denominada proteína pós- γ (post- γ -protein)¹⁰. Em 1962, Hochwald e Thornbecke isolaram em eletroforese uma proteína com a mesma característica de migração para a região γ no plasma, no líquido cefalorraquidiano, na urina e nos líquidos ascítico e pleural, chamando-a traço- γ (γ -trace)¹⁰. Nas duas décadas seguintes, esta proteína

foi isolada em diversos outros fluidos. Em 1981, Grubb e Löefberg isolaram a traço- γ na hipófise humana e conseguiram determinar sua sequência de aminoácidos¹¹. Contudo, ela somente passou a ser denominada cistatina C por Barrett, em 1984, após a determinação da sua função como inibidora da cisteína proteinase¹².

3.1. Classificação

Cistatinas são proteínas capazes de se ligar de forma reversível às cisteína proteinases, de modo a formar um complexo enzimaticamente inativo. Formam, portanto, um grupo de inibidores competitivos potentes das cisteína proteinases lisossômicas, presentes em animais, plantas e protozoários. Todas as cistatinas apresentam três porções que se conservam ao longo de toda a evolução, formando um sítio de ligação com a enzima. É esta característica que permite classificá-las todas em uma única superfamília, subdividida em quatro grandes grupos:

- tipo 1 - cistatinas A e B, predominantemente intracelulares;
- tipo 2 - cistatinas C, S, SN, SA, D, E/M e F, proteínas não glicosiladas extracelulares;
- tipo 3 - cininogênios, proteínas glicosiladas intravasculares;
- tipo 4 - fetuínas (*fetuins*), importantes na osteogênese e reabsorção óssea e na recuperação de processos inflamatórios^{10,13}.

3.2. Estrutura

A cistatina C humana, na sua forma ativa, é uma proteína não glicosilada, de cadeia única, formada por 120 aminoácidos, que tem baixo peso molecular (13.343 Da na forma não hidroxilada). Espacialmente, constitui-se de 5 folhas β paralelas, envolvendo uma longa α -hélice ($\alpha 1$). Apresenta ainda uma α -hélice curta ($\alpha 2$). As alças L1 (entre as folhas $\beta 2$ e $\beta 3$) e L2 (entre as folhas $\beta 4$ e $\beta 5$) e a extremidade N-terminal da folha $\beta 1$ ficam alinhadas na forma de uma cunha. Esta cunha, ao ligar-se ao sítio catalítico da enzima, inibe sua ação (figura 1)¹⁴.

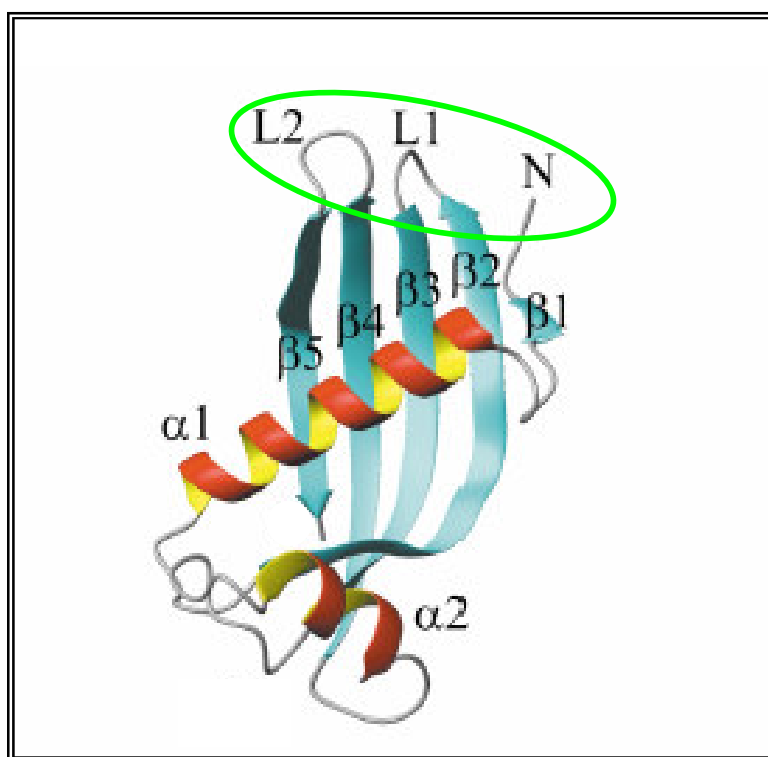


Figura 1 – Estrutura terciária da cistatina C humana. Em verde, está evidenciado o sítio de ligação. Modificado de Janowski R, 2001¹⁴.

3.3. Síntese, secreção e metabolização

A cistatina C é sintetizada e secretada de forma constante por todas as células nucleadas. Mesmo na vigência de processos infecciosos, a sua concentração sérica depende fundamentalmente do RFG, não variando nem com o sexo, nem com a massa muscular^{13,15}. No entanto, ela é influenciada pela função tireoidiana. De fato, o nível sérico da cistatina C é mais baixo no hipotireoidismo e mais elevado no hipertireoidismo, possivelmente por influência direta do hormônio tireoidiano na taxa de produção desta proteína^{16,17}.

No intracelular, a cistatina C fica predominantemente no retículo endoplasmático e nos corpúsculos de Golgi, na forma de dímeros, que são inativos. Os dímeros são formados a partir da troca de três subdomínios (a α -hélice $\alpha 1$ e as folhas $\beta 1$ e $\beta 2$) entre dois monômeros de cistatina C (figura 2). Como consequência, a alça L1 desaparece, o que explica porque o dímero não é capaz de inibir a ação de proteases. Nas vesículas secretoras, ocorre a dissociação dos dímeros, de forma que só são secretados monômeros ativos. No extracelular, a cistatina C apresenta-se na forma de monômeros. Apenas em condições patológicas ocorrem quantidades significantes de dímeros. A cistatina C está amplamente distribuída nos fluidos orgânicos, sendo sua concentração no líquido cefalorraquidiano cinco a seis vezes maior do que no plasma¹⁰.

A metabolização da cistatina C ocorre no rim. Seu peso molecular baixo

e sua carga positiva em pH fisiológico permitem que ela seja livremente filtrada pelos glomérulos, sendo quase completamente removida da circulação. Ocorre, então, a reabsorção pelas células tubulares de virtualmente toda a cistatina C filtrada, com posterior degradação enzimática dentro dos lisossomos. Assim, em condições fisiológicas, o conteúdo urinário de cistatina C é mínimo^{10,13}.

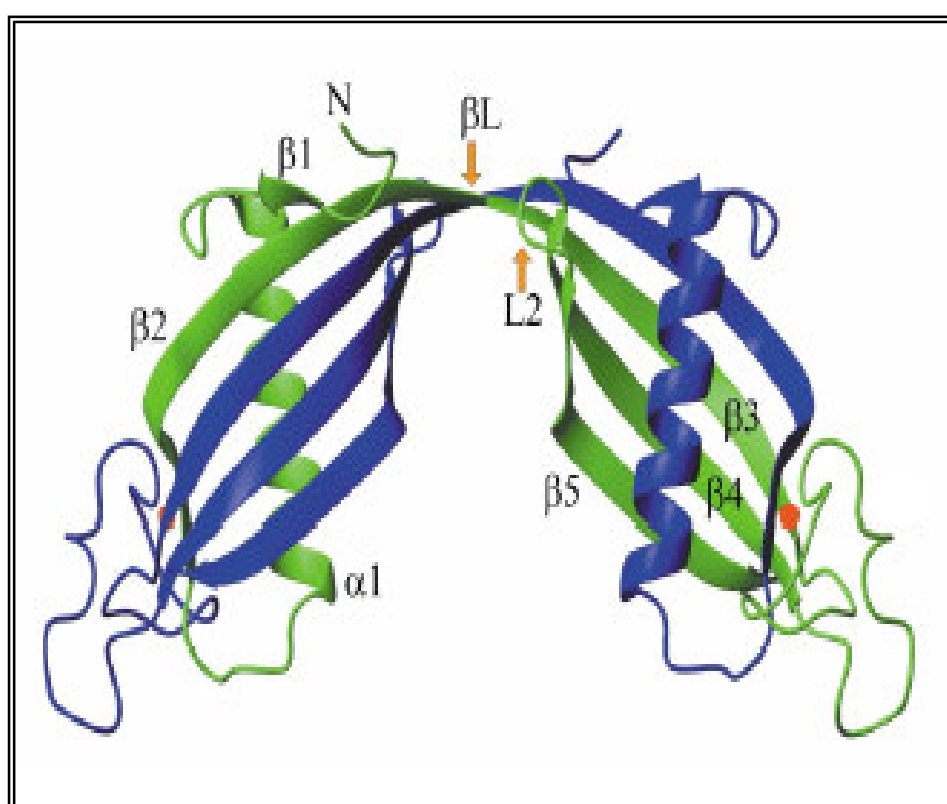


Figura 2 – Dímero da cistatina C. Modificado de Janowski R, 2001¹⁴.

3.4. Função biológica

Varias funções biológicas da cistatina são bem conhecidas. A principal é a inibição das cisteína peptidases endógenas e exógenas, modulando a

proteólise extracelular em diversas situações, como na manutenção da integridade dos vasos sanguíneos. Ela está presente nas células do músculo liso da parede de vasos normais, mas seus níveis encontram-se muito diminuídos na presença de lesões ateroscleróticas. Nos portadores de aneurisma de aorta, ela também está muito diminuída, existindo mesmo correlação inversa entre os níveis de cistatina C e a incidência de aneurisma de aorta abdominal^{10,12}.

A cistatina C também tem importância na modulação do sistema imune, uma vez que é secretada por monócitos e macrófagos, inibindo a atividade de neutrófilos. Essa secreção é diminuída pelo lipopolissacáride pró-inflamatório e pelo interferon γ . Além disso, apresenta atividade antiviral, por inibir as cisteína peptidases intracelulares necessárias para que ocorra a replicação viral. Ela é capaz particularmente de inibir a replicação do vírus *Herpes simplex* e do *Coronavirus*¹⁰.

Além disso, foi descrito que, quando há lesão cerebral, pode-se observar aumento dos níveis de cistatina C nas regiões lesadas. Porém, ainda não foi determinado se sua ação é realmente protetora¹⁰.

3.5. Determinação laboratorial

Apesar de se propor, desde 1985, o uso da dosagem sérica da cistatina C para inferir o RFG¹⁸, os métodos inicialmente disponíveis não eram suficientemente rápidos nem sensíveis para que pudessem ser incluídos na rotina dos laboratórios de análises clínicas. O primeiro imunoenensaio para a

quantificação da cistatina C em fluidos biológicos foi desenvolvido em 1979 por Løefberg e Grubb¹⁹. No entanto, era um método demorado (2 dias) e tinha baixa sensibilidade para a detecção de níveis baixos de cistatina C. Foram desenvolvidos vários outros testes, como RIA (radioimunoensaio) e ELISA (imunoensaio enzimático). Porém, apenas na década de 90 foram descritos imunossaios totalmente automatizados para dosagem da cistatina C. Em 1994, Kyshse-Andersen²⁰ descreveu o PETIA (*particle-enhanced turbidimetric immunoassay*), baseado na reação entre a cistatina C sérica e anticorpos de coelho anticistatina C humana, ligados covalentemente a partículas de látex. Com esta técnica, foi possível fazer determinações de até 0,15 mg/L, em não mais do que 7 minutos. Somente no final da década, foi desenvolvido um método de dosagem por nefelometria, denominado PENIA (*particle-enhanced nephelometric immunoassay*), que utiliza anticorpos de coelho anticistatina C humana, ligados covalentemente a partículas de clorometilestireno²¹. A capacidade de detecção é de 0,17 mg/L e o tempo de execução de 6 minutos. Estes dois métodos (PETIA e PENIA) são atualmente os de escolha para a dosagem da cistatina C em fluidos biológicos, pela sua precisão, simplicidade, automatismo e rapidez. Ambos sofrem pouca influência da presença de lípidos, fator reumatóide, bilirrubina ou hemoglobina, embora possam alterar-se na presença de hemólise intensa¹⁰. Estudos comparativos entre os dois métodos mostraram que, na dosagem por nefelometria (PENIA), a correlação entre o RFG e a cistatina C é significativamente mais forte do que na realizada por turbidimetria²².

4. Cistatina C como marcador do RFG

4.1. Adultos

Várias pesquisas foram realizadas com o intuito de avaliar a acurácia da dosagem de cistatina C para estimar o RFG.

Dharnidharka, em 2002, publicou uma metanálise na qual foram incluídos 54 estudos, com um total de 4492 indivíduos, que comparavam a acurácia da cistatina C e da creatinina séricas com métodos considerados como padrões de medida do RFG, como o *clearance* de inulina, ^{51}Cr -EDTA, ^{99}Tm -DTPA, iothalamato e iohexol. O autor concluiu que a correlação da cistatina C com o RFG ($r=0,816$) é superior à da creatinina com o RFG ($r=0,742$), de forma estatisticamente significativa²².

Por sua vez, Coll, em 2000, comparou a cistatina C sérica, a creatinina sérica e o *clearance* de creatinina como marcadores do RFG, considerando o *clearance* de iothalamato como padrão-ouro. Mostrou que a cistatina C sérica começa a elevar-se com um RFG menor do que $88 \text{ mL/min/1,73m}^2$, enquanto a creatinina sérica não se altera para RFG mantidos acima de $75 \text{ mL/min/1,73m}^2$. Portanto, a cistatina C permitiria a detecção de alterações renais ainda incipientes, que a creatinina não seria capaz de identificar²³. Considerando esta capacidade da cistatina C de detectar precocemente a diminuição do RFG, Dworkin, em 2001, propôs que a cistatina C não deveria substituir a creatinina em todas as situações, mas ser utilizada como um marcador mais sensível, em situações nas quais fosse

importante a detecção e intervenção precoce, como nos pacientes portadores de diabetes mellitus¹⁵.

Roos, em 2007, realizou uma metanálise que incluiu 24 estudos, com um total de 2007 pacientes de 0,2 a 93 anos, que comparavam a acurácia da cistatina C sérica e da creatinina sérica para diagnóstico de disfunção renal, considerando como padrão o *clearance* de inulina, Cr-EDTA, Tc-DTPA, iothalamato ou iohexol. Observou que a cistatina C tende a apresentar maior acurácia diagnóstica para a identificação de insuficiência renal do que a creatinina. Para valores de RFG entre 60 e 79 mL/min/1,73m², a cistatina C é conclusiva na detecção de alteração da função renal²⁴.

4.2. Crianças

Também foram realizados estudos em crianças, para analisar a acurácia da cistatina C na avaliação do RFG. Eles mostraram que a cistatina C apresenta correlação com o RFG igual ou melhor do que a creatinina, tanto quando a função renal é normal como quando está alterada²⁵⁻³⁰.

Zaffanello, em 2007, publicou uma revisão, que incluiu 11 estudos, que comparavam a cistatina C e a creatinina séricas na avaliação do RFG em crianças. Mostrou que em apenas 1 estudo a creatinina foi superior. Em 6 estudos a cistatina foi superior à creatinina para avaliação do RFG e em 4 as duas foram equivalentes³¹.

Bökenkamp, em 1998, mostrou que a cistatina C reflete o RFG, não

sofrendo interferência de sexo, raça, peso ou composição corporal da criança²⁷. Já Takuma, em 2002, verificou que os níveis séricos de cistatina C não são influenciados pelo estado de hidratação da criança³².

No entanto, os níveis de cistatina C variam com a idade. São mais elevados ao nascimento, reduzindo-se progressivamente até os 18 meses, quando atingem níveis semelhantes aos do adulto. Esta diminuição refletiria a maturação do RFG que ocorre nesse período³³⁻³⁵.

Já Hoek, em 2003, comparando a cistatina C sérica, a creatinina sérica e o *clearance* de creatinina pela fórmula de Cockcroft e Gault, concluiu que a cistatina C é o melhor marcador endógeno do RFG, o qual pode ser estimado a partir da cistatina C, usando equação específica³⁶.

Filler, em 2003, desenvolveu outra equação para estimar o RFG pela cistatina C em crianças, a qual, segundo sua análise, seria melhor do que a fórmula de Schwartz³⁷. Várias outras equações foram propostas, tanto para adultos quanto para crianças. Zahran, em 2007, analisando 43 estudos que compararam a performance da cistatina C sérica e da estimativa do RFG por equações baseadas na cistatina C, com a creatinina sérica e o RFG por equações baseadas na creatinina, considerou que a maioria dos estudos favorecia a cistatina C sérica em relação à creatinina. Fez, porém, a ressalva de que seriam necessárias mais pesquisas para avaliação das equações baseadas na cistatina C³⁸.

4.3. Período neonatal

Foram feitos alguns estudos no intuito de avaliar a cistatina C no período neonatal. Bökenkamp, em 1998, realizou um estudo que incluiu 258 crianças sem evidências de nefropatia, com idades que variavam de 1 dia a 18 anos. Ele determinou os níveis séricos de cistatina C em 23 recém-nascidos de 1 a 3 dias de vida e em 14 de 3 a 30 dias. No entanto, este autor não especificou a idade gestacional, nem o momento da coleta, nem as intercorrências clínicas porventura presentes³⁴.

Em 2000, Finney, em um estudo que englobou 291 crianças de 1 dia a 17 anos, incluiu 16 recém-nascidos com idade gestacional de 24 a 28 semanas, 14 com 29 a 36 semanas e 17 recém-nascidos de termo. Nenhum destes recém-nascidos teve asfixia perinatal grave, nem fez uso de fármacos nefrotóxicos. Contudo, a dosagem dos níveis séricos de cistatina C dos recém-nascidos pré-termo foram realizadas com 1 dia de vida, enquanto nos recém-nascidos de termo a determinação foi feita com 7 dias. As dosagens laboratoriais foram realizadas por técnicas diferentes e os valores dos recém-nascidos de termo foram analisados dentro de um grupo que incluía também crianças de até 3 meses, com exclusão dos prematuros. Os níveis de cistatina C foram mais elevados nos recém-nascidos prematuros do que nos de termo, mas dentro do grupo de prematuros não se verificou correlação entre a cistatina C e a idade gestacional³³.

Já Harmoinen, em 2000, determinou os níveis séricos de cistatina C em 50 recém-nascidos de termo e em 58 com idade gestacional de 25 a 37

semanas. Nenhum recém-nascido apresentou asfixia perinatal grave, mas 5 estavam hipotensos, 8 receberam indometacina e 14 receberam aminoglicosídeos. As avaliações foram realizadas em algum momento entre o nascimento e o 7º dia de vida. Os níveis de cistatina C foram mais elevados nos recém-nascidos prematuros do que nos de termo³⁹.

Bahar, em 2003, dosou a cistatina C sérica e a bilirrubina total de 112 recém-nascidos saudáveis (98 de termo) em sangue de cordão umbilical e com 3 dias de vida. Não encontrou correlação entre a cistatina C e a bilirrubina, sexo ou idade gestacional. Contudo, não levou em consideração a idade gestacional de cada recém-nascido, apenas classificando-os como menor do que 37 semanas ou maior ou igual a 37 semanas⁴⁰.

Treiber, em 2006, determinou os níveis de cistatina C em 75 recém-nascidos com idade gestacional de 34 a 41 semanas (65 de termo), em cordão umbilical e com 3 dias de vida. Destes, 10 eram pequenos para a idade gestacional e 14 apresentaram acidose metabólica. A cistatina C em cordão umbilical não diferiu da encontrada no 3º dia de vida, nem se correlacionou com sexo, peso, estado de hidratação ou idade gestacional, mas apresentou correlação negativa com o pH de cordão umbilical⁴¹.

Apesar de terem avaliado a cistatina C de recém-nascidos, estes estudos não foram delineados de forma longitudinal, nem consideraram grupos bem delimitados de idade gestacional ou condições clínicas maternas ou fetais que pudessem interferir nos valores de cistatina C. Estudos mais recentes vêm evidenciando a influência de outros fatores sobre os níveis de cistatina C, como o tipo de parto, tendo se observando

valores mais elevados em partos vaginais⁴². Já Malamitsi-Puchner, em 2007, mostrou que recém-nascidos com crescimento intra-uterino restrito apresentavam níveis mais baixos de cistatina C. O autor sugere que isso poderia ser decorrente de menor síntese proteica, por menor oferta de nutrientes⁴³.

No entanto, Cataldi, em 1999, não encontrou correlação entre os níveis séricos de cistatina C de gestantes saudáveis no momento do parto e os de seus recém-nascidos de termo nos primeiros dias de vida⁴⁴.

O fato de a cistatina C sérica do recém-nascido não ser influenciada pela função renal materna pode contribuir para fortalecer a sua utilização para inferir o RFG logo após o nascimento. Assim, os dados de literatura fazem-nos supor que a cistatina C possa ser um marcador endógeno muito promissor da função renal, especialmente na primeira semana de vida. Contudo, ainda não existe padrão de normalidade definido neste período, nem mesmo para os recém-nascidos de termo sem patologias. Considerando-se que a cistatina C possa ter uma evolução própria na primeira semana de vida, é necessário que seus níveis nesse período sejam determinados de forma longitudinal em recém-nascidos que obedeçam a critérios restritos de normalidade.

Objetivos

Objetivo geral

Determinar a evolução dos níveis séricos da cistatina C em recém-nascidos de termo adequados para a idade gestacional, sem intercorrências, ao longo do primeiro mês de vida.

Objetivos específicos

Em relação aos níveis séricos de cistatina C durante o primeiro mês de vida, em recém-nascidos de termo adequados para a idade gestacional, sem intercorrências, analisar:

- 1- a relação entre a cistatina C da mãe e do recém-nascido ao nascimento;
- 2- a evolução durante o primeiro mês de vida;
- 3- a relação com os níveis de creatinina sérica e com o *clearance* de creatinina.

Métodos

Foi realizado um estudo prospectivo, com dosagem de cistatina C sérica em uma coorte de recém-nascidos (RN) admitidos no Berçário Anexo à Maternidade, Serviço de Pediatria Neonatal e Intensiva do Instituto da Criança, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), no período de julho de 2005 a janeiro de 2006. As dosagens laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Investigação Médica - LIM36, Pediatria Clínica, HCFMUSP.

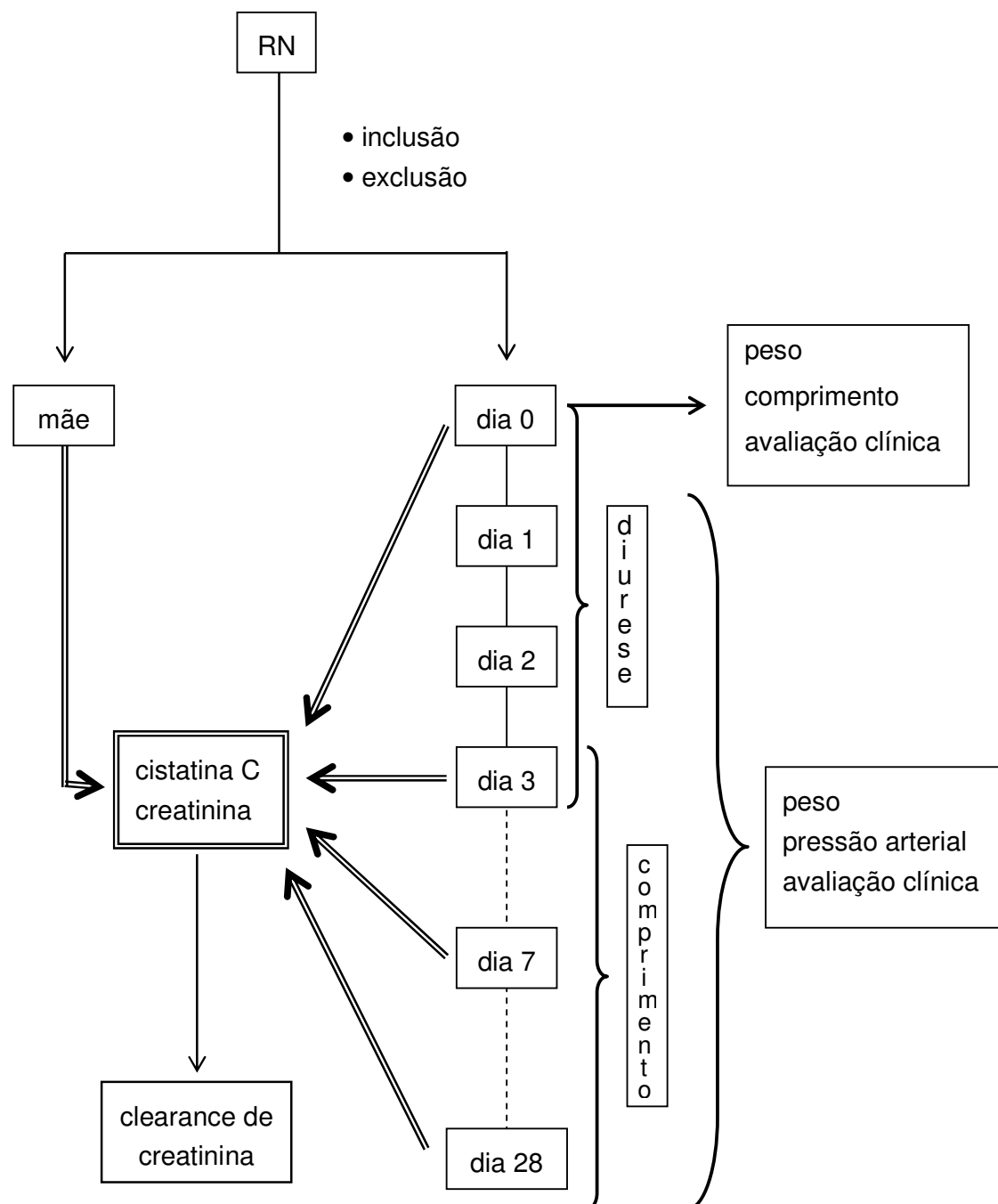
Este estudo recebeu auxílio-pesquisa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, processo número 2005/50075-0.

1. Ética

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do HCFMUSP, em 24 de março de 2005 (Anexo A).

Todas as mães consentiram na inclusão no estudo após adequadamente informadas, através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme as recomendações da Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde (Anexo B).

2. Desenho do estudo



3. Casuística

Os RN foram selecionados para o estudo segundo os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

3.1. Critérios de inclusão

- Idade gestacional definitiva entre 37 e 41^{6/7} semanas (RN de termo). A idade gestacional definitiva foi baseada na data da última menstruação, confirmada por ultrassonografia fetal realizada no primeiro trimestre de gestação, desde que a diferença entre elas fosse de até 2 semanas. Em caso de diferença maior ou de não haver ultrassonografia fetal no primeiro trimestre, foi considerada a informação materna, desde que a avaliação da idade gestacional pelo método de Capurro não diferisse desta em mais de 2 semanas^{45,46};
- Peso de nascimento adequado para a idade gestacional, segundo os percentis 10 e 90 da curva de Alexander⁴⁷;
- Nota de Apgar de primeiro e quinto minutos igual ou maior do que 7;
- Mães que não apresentassem alteração da função renal;
- Mães que não apresentassem elevação da pressão arterial, seja por hipertensão arterial crônica ou doença hipertensiva específica da gestação;

- Mães que não tivessem utilizado, durante a gestação, fármacos que pudessem interferir com a função renal do feto, tais como: furosemida, metildopa, captopril ou enalapril⁴⁸;
- Consentimento dos pais ou responsável, após adequadamente informados.

3.2. Critérios de exclusão

- Má-formação *major* ou renal;
- Ausência de diurese nas primeiras 12 horas de vida ou oligúria entre 24 e 72 horas de vida;
- Perda de peso até o terceiro dia de vida maior do que 10% do peso de nascimento;
- Pressão arterial alterada com 1, 3, 7 ou 28 dias de vida, considerando-se como alterada a pressão sistólica ou diastólica que não estivesse contida no intervalo de confiança de 95% dos valores normais de pressão arterial segundo Zubrow, de acordo com a idade gestacional pós-conceptual⁴⁹.
- Insuficiência cardíaca;
- Insuficiência renal;
- Presença de sinais sugestivos de infecção;
- Doença hemolítica ou icterícia com necessidade de fototerapia;
- Necessidade de hidratação por via intravenosa;

- Necessidade de fármacos vasopressivos, diuréticos ou que pudessem interferir com a avaliação da função renal;
- Alteração de função tireoidiana;
- Impossibilidade de coleta de todas as amostras programadas.

Os RN permaneceram internados por três dias, de acordo com a conduta do Berçário Anexo à Maternidade. Neste período, foram submetidos a avaliação ao nascimento (dia 0) e com 1 dia (dia 1), 2 dias (dia 2) e 3 dias (dia 3) de vida. Todos retornaram para reavaliação ambulatorial aos 7 (dia 7) e 28 dias (dia 28). Todas as avaliações foram realizadas pela mesma pesquisadora.

4. Metodologia

Todas as informações obtidas foram registradas em formulário específico (Anexo C).

4.1. Características maternas, gestação e parto

Os dados referentes às características maternas, intercorrências na gestação e parto foram obtidos a partir do prontuário materno e de informações fornecidas pela mãe diretamente à pesquisadora.

4.2. Evolução do RN

A evolução pós-natal do RN foi acompanhada diretamente pela pesquisadora, por meio das avaliações clínicas diárias durante a internação e nos retornos ambulatoriais com 7 e 28 dias. Todos os RN seguiram os procedimentos de rotina do Berçário.

4.3. Peso

A medida do peso foi realizada em balança eletrônica Filizola®, com aproximação de 5 gramas.

Cada RN foi pesado ao nascimento e com 1, 2, 3, 7 e 28 dias de vida. Quando o peso do 7º dia ainda era menor do que o peso de nascimento, o RN retornava para ser novamente pesado com 14 dias de vida.

4.4. Comprimento

O comprimento foi avaliado sempre com antropômetro de metal, calibrado em milímetros. A parte fixa foi ajustada na cabeça e a parte móvel na base dos pés. A aproximação foi para o milímetro superior encontrado.

O comprimento de cada RN foi medido ao nascimento, com 3, 7 e 28 dias de vida.

4.5. Controle de diurese

A avaliação da diurese foi inferida através do peso de fraldas, realizado pela enfermagem do Berçário Anexo à Maternidade no momento dos cuidados habituais do RN. Quando havia presença de mecônio espesso, este era retirado da fralda antes da pesagem. Utilizou-se balança eletrônica apropriada, com aproximação de 1 grama. Foi considerado como tendo oligúria o RN que teve peso de fralda menor que 1 g/kg/h, o que corresponderia aproximadamente a diurese menor que 1 mL/kg/h.

Este controle foi realizado durante toda a internação, com cuidado especial em registrar o momento da primeira micção do RN.

4.6. Pressão arterial

A medida da pressão arterial foi feita com 1, 2, 3, 7 e 28 dias de vida. Em cada momento foram realizadas 3 medidas de pressão arterial, sendo considerado como resultado a média dos 2 últimos valores encontrados.

A pressão arterial foi avaliada seguindo o procedimento descrito por Zubrow⁴⁹. Foi utilizado um monitor de pressão arterial não invasivo, oscilométrico (DINAMAP® Pro-100). O exame foi realizado em ambiente tranquilo, com o RN em decúbito dorsal, na ausência de choro ou movimentos amplos dos membros. As medidas foram aferidas no membro superior direito, estendido paralelo ao tronco, sendo o manguito posicionado no ponto médio do braço. Foram utilizados manguitos de 4,0 cm X 20 cm ou

5,0 cm X 20 cm, de forma que a porção inflável do balão envolvesse pelo menos 75% da circunferência do braço e seu comprimento correspondesse a pelo menos 2/3 do comprimento do braço.

4.7. Ultrassonografia de rins e vias urinárias

Durante o período de internação, foi realizada ultrassonografia (USG) de rins e vias urinárias em todos os RN. O exame, cujo objetivo era detectar a presença de más-formações estruturais, foi feito sempre pelo mesmo radiologista.

4.8. Avaliação laboratorial

Foi obtido sangue para a determinação laboratorial da cistatina C e da creatinina séricas da mãe, no momento do parto, e do RN, ao nascimento (cordão umbilical), com 3, 7 e 28 dias. Junto com a coleta realizada no terceiro dia de vida, foi colhido também sangue para a dosagem do hormônio estimulante da tireóide (TSH) neonatal, para a triagem de função tireoidiana.

4.8.1. Técnica de coleta de sangue

- **Cordão umbilical**

Realizada punção de veia umbilical, da porção do cordão umbilical próxima à placenta, logo após a extração da mesma. A seguir, o sangue era aspirado com seringa e colocado em tubo seco.

- **Veia periférica**

No 3º, 7º e 28º dias de vida, foi colhido sangue de todos os RN por meio de punção venosa de vaso superficial de dorso de mão, sendo o sangue colocado em tubo seco. Todas as coletas foram realizadas pela pesquisadora.

4.8.2. Processamento e armazenamento

As amostras colhidas foram encaminhadas ao Laboratório de Investigação Médica – LIM36 em até 2 horas após a coleta, onde foram centrifugadas a 2500 rpm (rotações por minuto) durante 5 minutos. O soro foi separado e colocado em 2 *ependorfs* com volumes iguais, que foram armazenados em *freezer* com temperatura de 20°C negativos.

4.8.3. Determinações laboratoriais

As determinações laboratoriais foram realizadas todas em duplicata e

em um mesmo momento.

Os métodos utilizados para as determinações laboratoriais foram os seguintes:

- **Cistatina C**

A determinação da cistatina C foi realizada por imunonefelometria, utilizando-se o kit de teste N Latex Cystatin C, código OQNM, fabricado pela Dade Behring®, sendo usado o nefelômetro BN II, também da Dade Behring®.

Nesta técnica, são utilizadas partículas de poliestireno recobertas por anticorpos específicos contra a cistatina C humana. Uma vez misturadas com amostras contendo cistatina C, formam-se aglutinados, que dispersam a luz irradiada. A intensidade da luz dispersada é quantificada, sendo proporcional à concentração da cistatina C presente na amostra. A concentração da cistatina C (em mg/L) é calculada a partir de uma curva elaborada com um soro padrão com concentração conhecida (fornecida pelo kit da Dade Behring®), testado em diferentes concentrações.

Com base nas informações do fabricante, algumas especificações devem ser salientadas, como se segue. A dosagem pode ser realizada em amostras de soro ou plasma, tão frescas quanto possível (conservada por até 7 dias sob temperatura entre 2 e 8° C) ou congeladas. Neste caso, as amostras devem ser congeladas em até 24 horas após a coleta e mantidas a uma temperatura de 20°C negativos. Como vimos, no nosso estudo foram usadas amostras congeladas.

Podem ocorrer interferências nas dosagens na presença de fator reumatóide ou quando as amostras estão lipêmicas ou contêm partículas que não são removidas, mesmo após centrifugação.

Este teste apresenta sensibilidade de 0,005 mg/L e especificidade de 100%. Não se conhecem reações cruzadas dos anticorpos utilizados^{10,50}.

• **Creatinina**

A dosagem de creatinina foi realizada pelo método de Jaffé, sem desproteinização, automatizado, utilizando-se o equipamento Integra 400 da Roche Diagnostic Systems®.

Esta técnica baseia-se na reação descrita por Jaffé em 1886, na qual a creatinina tratada com uma solução de picrato alcalino produz um composto de cor alaranjada. A intensidade da cor, medida por absorvância, é diretamente proporcional à quantidade de creatinina presente. Como outras substâncias possuem a mesma propriedade que a creatinina, utilizam-se técnicas, como a adição de absorventes, para aumentar a especificidade da dosagem^{51,52}.

• **TSH neonatal**

No 3º dia de vida foi colhido sangue em papel de filtro para a dosagem de TSH, juntamente com o restante dos exames de triagem neonatal, realizados na rotina do Berçário. Essa determinação foi realizada no Laboratório da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de São Paulo (APAE-São Paulo) e o método utilizado foi a imunonefelometria.

4.9. Clearance de Creatinina

Foi realizada uma estimativa do *clearance* de creatinina (CICr), em mL/min/1,73m², pela fórmula de Schwartz: $CICr = k \cdot L / Cr$, onde L correspondeu ao comprimento em centímetros, Cr ao valor da creatinina sérica (mg/dL) e k a uma constante, que equivale a 0,45 em recém-nascidos de termo adequados para a idade gestacional⁷.

5. Análise estatística

Para o cálculo do n, considerou-se a média da concentração sérica de cistatina C de 1,36 mg/L, com desvio padrão de 0,35 mg/L e a média da concentração sérica de creatinina de 0,5 mg/dL, com desvio padrão de 0,3 mg/dL^{7,40}. Considerou-se como significativa uma diferença na média das concentrações de cistatina C maior ou igual a 0,24 mg/L (18%), assim como uma diferença na média das concentrações de creatinina maior ou igual a 0,20 mg/dL (40%). Para um α de 0,05 e um poder de teste (β) de 0,8, o número de casos calculado (n) foi 20.

A avaliação da distribuição dos dados (teste de normalidade) foi feita utilizando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação de médias foi feita pelo teste ANOVA one way para medidas repetidas e pelo teste de Tukey. Quando a distribuição dos dados não foi normal, utilizou-se o teste não paramétrico de Friedman. Para as análises de correlação, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson. Consideraram-se estatisticamente significantes os valores de p menores do que 0,05.

Resultados

Foram considerados elegíveis para inclusão no estudo 35 RN. Destes, 14 foram excluídos, devido aos seguintes motivos:

- 5 RN: a mãe não autorizou o estudo;
- 1 RN: apresentou perda de peso maior do que 10% do peso de nascimento;
- 1 RN: apresentava *situs inversus*;
- 2 RN: apresentaram alterações detectadas na USG de rins e vias urinárias, sendo 1 caso de pieloectasia e 1 caso de tumoração cística de suprarrenal;
- 3 RN: apresentaram intercorrências na evolução:
 - 1 RN: icterícia em níveis que indicaram fototerapia;
 - 1 RN: insuficiência respiratória, que determinou necessidade de jejum e hidratação intravenosa;
 - 1 RN: uso de ranitidina;
- 2 RN: não compareceram ao retorno programado para os 28 dias de vida.

Portanto, a casuística deste estudo incluiu 21 RN.

1. Características maternas

As características maternas estão resumidas no Quadro 1. As mães apresentaram idade de $29,1 \pm 8,2$ anos (média \pm desvio padrão), sendo 7 primigestas (33,3%) e 9 primíparas (42,8%). Todas fizeram acompanhamento pré-natal, sendo que 18 (85,7%) o fizeram no Hospital das

Clínicas. Durante o acompanhamento pré-natal, todas as mães foram submetidas a USG obstétrica, não sendo detectada nenhuma má-formação fetal. Destas mães, 6 (28,6%) apresentavam afecções anteriores à gestação, sendo a mais frequente o hipotireoidismo em 3 delas (14,3%). Uma mãe era portadora do vírus HIV, sem manifestação clínica da doença e com carga viral zero antes e durante toda a gestação. Uma mãe tinha esclerose múltipla, uma apresentava asma e uma das mães com hipotireoidismo tinha também transtorno bipolar. Em todos os casos os processos estavam controlados, não tendo ocorrido descompensações durante a gestação ou no puerpério.

Quadro 1 – Características maternas

Idade em anos (média ± dp)	29,1 ± 8,2
Primigesta	7 (33,3%)
Primípara	9 (42,8%)
Pré-natal	21 (100%)
Pré-natal no HCFMUSP	17 (85,7%)
USG fetal normal	21 (100%)
Alguma doença antes da gestação	6 (28,6%)
Hipotireoidismo	3 (14,3%)
Alguma intercorrência na gestação	3 (14,3%)
Síndrome antifosfolípide	2 (9,5%)
Uso de alguma medicação	7 (33,3%)
Uso de L-tiroxina sódica	3 (14,3%)

Durante a gestação, 3 mães (14,3%) apresentaram agravos à saúde, sendo diabetes gestacional em 2 (9,5%) e síndrome antifosfolípide em 1 mãe (4,8%). Nenhuma mãe apresentou hipertensão ou alteração de função renal.

Nenhuma mãe fez uso de medicação nefrotóxica ou que pudesse interferir com a função renal do feto. A medicação mais utilizada foi a L-tiroxina sódica, por 3 mães (14,3%). Outros fármacos utilizados foram lamivudina, zidovudina, nelfinavir, clorpromazina, quetiapina, ácido acetilsalicílico (em baixas doses), heparina, insulina e fenoterol. Nenhuma mãe apresentou efeitos colaterais significativos decorrentes do uso de medicações.

As características maternas estão discriminadas de forma mais detalhada no Anexo D.

Em relação ao parto, 11 mães (52,4%) foram submetidas a parto cesáreo e 10 a parto vaginal (47,6%). Nenhuma mãe apresentou intercorrências no parto ou no puerpério.

2. Características dos RN

Os RN receberam os cuidados habituais em sala de parto conforme norma do Berçário Anexo à Maternidade, que segue as recomendações do Programa de Reanimação Neonatal da Sociedade Brasileira de Pediatria. Em todos os partos houve a presença de médico neonatologista, com

treinamento pelo referido Programa. Todos os RN apresentaram Apgar de 1º e 5º minutos maior do que 7.

O Quadro 2 mostra as características dos RN. A mediana da idade gestacional foi 39,4 semanas e o peso de nascimento $3224,3 \pm 306,7$ g (média \pm desvio padrão). 12 RN eram do sexo masculino (57,1%), com uma relação masculino:feminino de 1,3:1. No Anexo E pode-se ver de forma mais detalhada as características dos RN.

Quadro 2 – Características dos RN

Idade gestacional (semanas) (mediana)	39,4
Peso ao nascimento (g) (média \pm dp)	$3224,3 \pm 306,7$
Sexo masculino	12 (57,1%)
Tipo de parto	
cesárea	11 (52,4%)
fórceps	7 (33,3%)
normal	3 (14,3%)

2.1. Evolução neonatal

A evolução dos RN durante todo o período de estudo está resumida no Quadro 3. 17 RN (81,0%) receberam aleitamento materno exclusivo até o 28º dia de vida. O aleitamento materno foi contra-indicado em 2 RN por causa materna (1 mãe portadora do vírus HIV e 1 mãe fazendo uso de

quetiapina). Em 2 casos foi iniciada complementação com leite artificial no 14º dia de vida, por baixo ganho ponderal. 2 mães (9,5%) fizeram uso de L-tiroxina durante a amamentação. 13 RN (61,9%) apresentaram icterícia, sem necessidade de fototerapia. Em 1 RN foi detectada comunicação interatrial e em 1 RN comunicação interventricular. Nenhuma delas teve repercussão e ambas estavam já fechadas no terceiro mês de vida. O RN cuja mãe era portadora do vírus HIV apresentou HIV-RNA negativo.

Quadro 3 – Evolução neonatal

Aleitamento materno exclusivo	17 (81,0%)
Perda de peso (% do peso de nascimento) (média ± dp)	7,1 ± 1,7
Idade em dias da maior perda de peso (mediana)	2,0
Icterícia	13 (61,9%)
Cardiopatias	
comunicação interatrial*	1 (4,8%)
comunicação interventricular*	1 (4,8%)
Tempo de internação em dias (mediana)	3

*Fecharam na evolução

O tempo de internação foi de 3 dias (mediana), sendo que apenas 1 RN ficou internado por 4 dias, pois estava aguardando avaliação odontológica, por presença de dente neonatal. Em todos os RN, a USG de rins e vias

urinárias e o TSH neonatal foram normais. A evolução de cada RN está detalhada no Anexo F.

2.2. Diurese

A primeira micção ocorreu com 6 horas de vida (mediana), tendo sido a mais tardia com 11 horas. O peso de fralda variou de 1,4 a 3,7 g/kg/h. No 2º dia de vida foi $2,1 \pm 0,6$ g/kg/h (média \pm desvio padrão) e no 3º dia de vida $2,4 \pm 0,7$ g/kg/h (média \pm desvio padrão), não havendo diferença significativa entre o peso de fralda destes dois dias ($p = 0,148$). O peso de fralda de cada RN está discriminado no Anexo G.

2.3. Evolução ponderal e crescimento

A perda inicial de peso, em porcentagem do peso de nascimento, foi de $7,1 \pm 1,7$ (média \pm desvio padrão) e ocorreu com 2 dias de vida (mediana). A recuperação do peso de nascimento deu-se até o 7º dia de vida em 11 RN (52,4%) e até o 14º dia nos outros 10 (47,6%).

A evolução do peso e do crescimento no 1º mês de vida está expressa no Quadro 4 e no Gráfico 1. Com 28 dias de vida, o peso e o comprimento de todos os RN encontravam-se entre o percentil 5 e 95 das curvas de crescimento do *National Center for Health Statistics*⁵³. Os pesos e comprimentos de cada RN encontram-se nos Anexos H e I, respectivamente.

Quadro 4 – Evolução de peso e comprimento no período neonatal

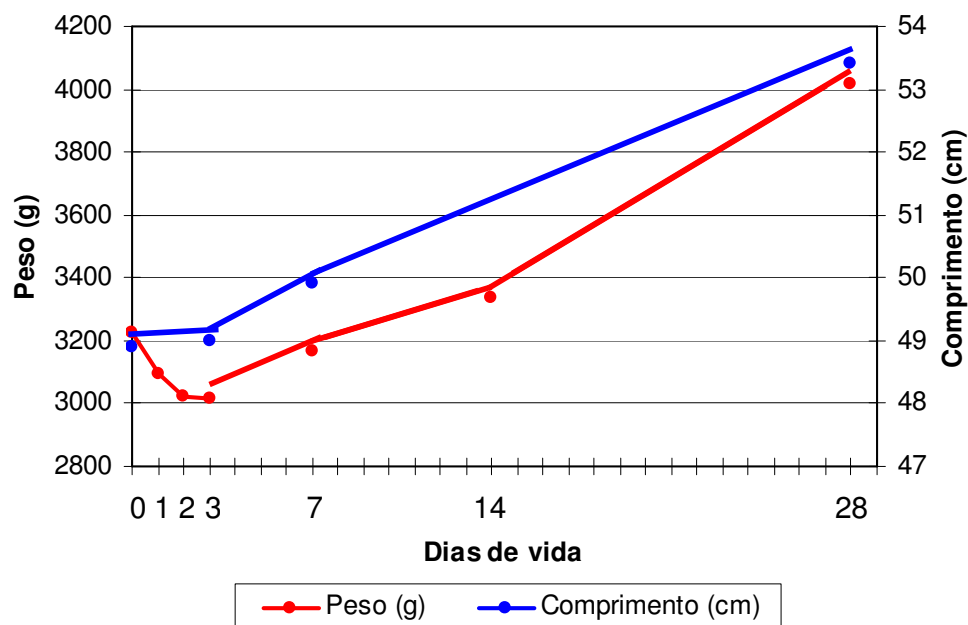
Idade (dias)	Peso (g) (média ± dp)	Comprimento (cm) (média ± dp)
0	3224,3 ± 306,7	48,9 ± 1,4
1	3097,6 ± 289,2	
2	3020,5 ± 301,7	
3	3015,9 ± 320,0	49,0 ± 1,5
7	3165,2 ± 333,7	49,9 ± 1,6
14*	3336,5 ± 334,4	
28	4017,6 ± 376,3	53,4 ± 1,7

* n = 10 RN

Peso: d0 X d1, p = 0,176; d1 X d2, p = 0,403; d2 X d3, p = 0,963; **d0 X d3, p = 0,037**;
d3 X d7, p = 0,147; **d7 X d28, p < 0,001**.

Comprimento: d0 X d3, p = 0,834; **d3 X d7, p = 0,050**; **d0 X d7, p = 0,030**;
d7 X d28, p < 0,001.

Gráfico 1 – Evolução de peso e comprimento no período neonatal



2.4. Pressão arterial

Os valores médios de pressão arterial estão apresentados no Quadro 5. No Anexo J estão discriminadas todas as medidas de pressão arterial de cada RN.

Nenhum RN apresentou pressão arterial elevada. Todas as medidas de pressão arterial sistólica e diastólica, segundo a idade gestacional pós-conceptual, ficaram dentro do limite do intervalo de confiança considerado normal segundo Zubrow, como pode ser visto no Gráfico 2⁴⁹.

Quadro 5 – Evolução da pressão arterial

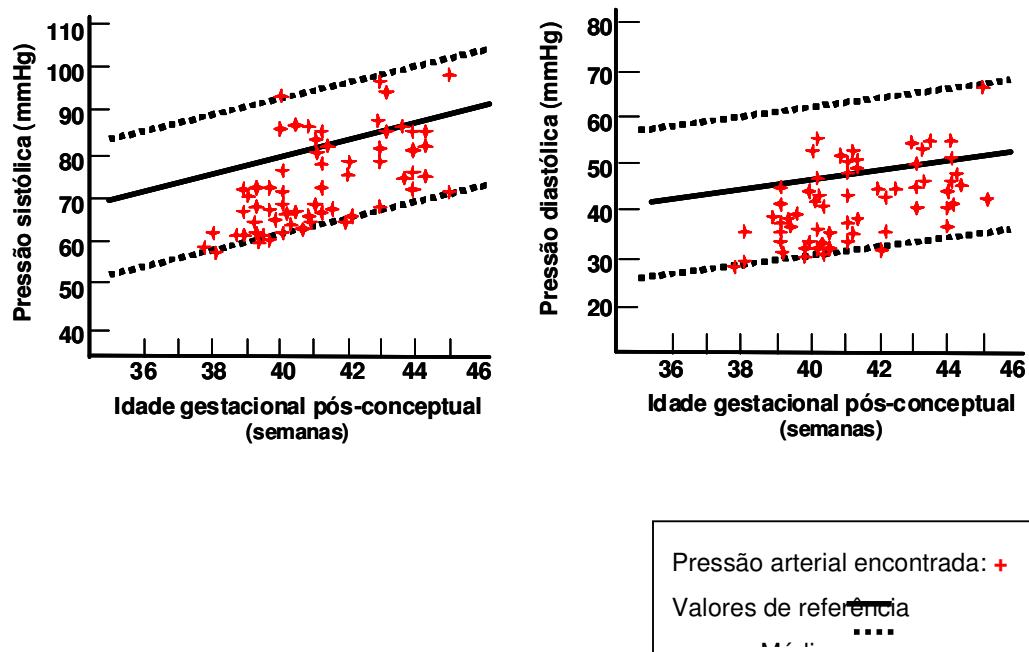
Idade (dias)	Sistólica (mmHg) (média ± dp)	Diastólica (mmHg) (média ± dp)	Média (mmHg) (média ± dp)
1	63,2 ± 5,9	34,3 ± 3,8	46,8 ± 5,1
2	66,8 ± 7,1	37,9 ± 5,6	50,2 ± 5,9
3	68,4 ± 8,7	37,4 ± 5,8	50,3 ± 7,6
7	75,6 ± 9,4	44,1 ± 7,2	57,3 ± 8,8
28	80,8 ± 9,1	47,2 ± 7,5	60,1 ± 8,3

Sistólica: **d1 X d2, p = 0,029**; d2 X d3, p = 0,380; **d3 X d7, p = 0,002**; **d7 X d28, p = 0,044**.

Diastólica: **d1 X d2, p = 0,004**; d2 X d3, p = 0,730; **d3 X d7, p < 0,001**; d7 X d28, p = 0,165.

Média: **d1 X d2, p = 0,005**; d2 X d3, p = 0,906; **d3 X d7, p = 0,005**; d7 X d28, p = 0,266.

Gráfico 2 – Comparação da pressão arterial dos RN com os valores normais de pressão arterial segundo Zubrow⁴⁹, de acordo com a idade pós-conceitual



3. Avaliação laboratorial

As amostras de sangue colhidas para a dosagem de cistatina C e de creatinina não estavam hemolisadas, nem lipêmicas, não tendo sido verificada a presença de partículas não removidas após a centrifugação. Foi possível realizar todas as dosagens programadas, exceto por uma dosagem de creatinina, por volume de amostra insuficiente.

Os valores séricos de cistatina C e de creatinina e o *clearance* de creatinina apresentaram distribuição normal. Nos Anexos K e L estão todos os valores encontrados de cistatina C e creatinina para cada RN.

3.1. Cistatina C

Os níveis de cistatina C da mãe e do RN estão no Quadro 6 e no Gráfico 3. Ao nascimento, os valores de cistatina C do RN foram significativamente mais elevados do que os da mãe ($p < 0,001$) e não se verificou correlação entre eles (Gráfico 4). Os valores máximos de cistatina C do RN ocorreram no dia 0, ficando estáveis a partir do dia 3.

Quadro 6 – Níveis de cistatina C (mg/L) da mãe e do RN no primeiro mês de vida

Cistatina C		
	Média \pm dp	Intervalo de confiança (95%)
Mãe	1,00 \pm 0,20	0,91 a 1,09
RN		
dia 0	1,70 \pm 0,26	1,58 a 1,82
dia 3	1,51 \pm 0,19	1,42 a 1,60
dia 7	1,54 \pm 0,15	1,47 a 1,61
dia 28	1,51 \pm 0,15	1,44 a 1,58

mãe X dia 0, $p < 0,001$; dia 0 X dia 3, $p = 0,003$;

dia 3 X dia 7, $p = 0,971$; dia 7 X dia 28, $p = 0,990$.

Gráfico 3 – Evolução dos níveis de cistatina C (mg/L) da mãe e do RN no primeiro mês de vida (média \pm 2dp)

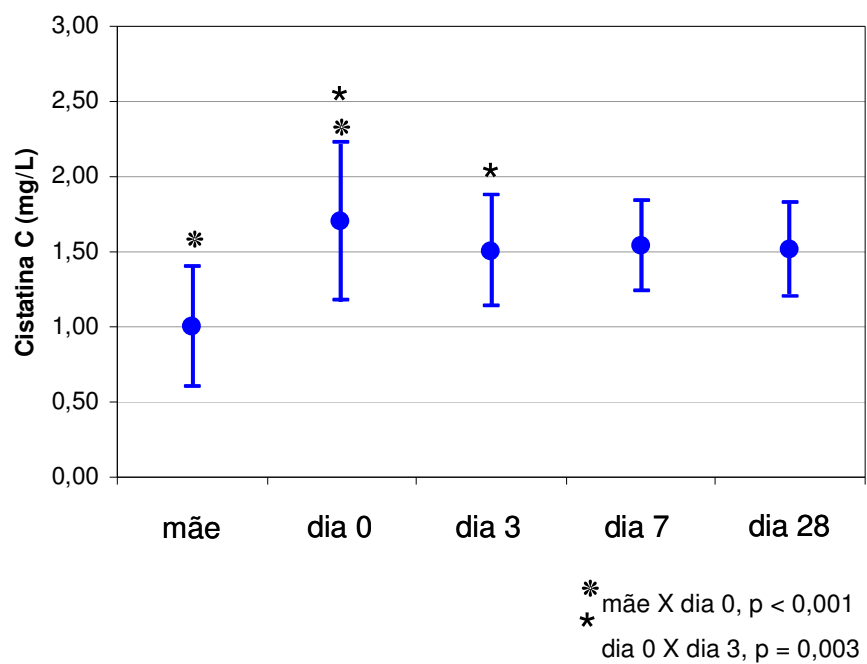
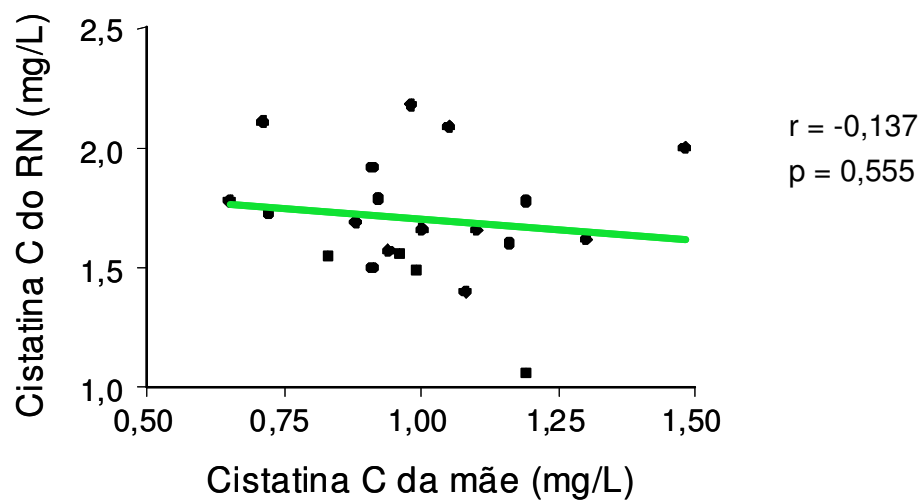


Gráfico 4 – Correlação entre os valores de cistatina C maternos e do RN ao nascimento



3.2. Creatinina

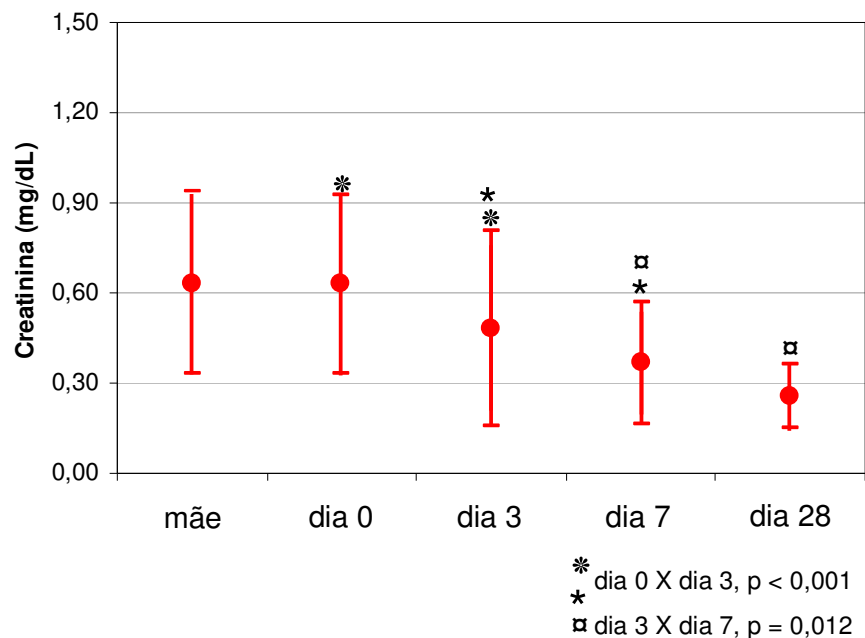
Os níveis de creatinina do RN no dia 0 não diferiram dos maternos, diminuindo progressivamente até o dia 28, de forma estatisticamente significativa (Quadro 7 e Gráfico 5).

Quadro 7 – Níveis de creatinina (mg/dL) da mãe e do RN no primeiro mês de vida

	Creatinina	
	Média \pm dp	Intervalo de confiança (95%)
Mãe	0,63 \pm 0,15	0,56 a 0,70
RN		
dia 0	0,63 \pm 0,15	0,56 a 0,70
dia 3	0,48 \pm 0,16	0,41 a 0,55
dia 7	0,37 \pm 0,10	0,32 a 0,42
dia 28	0,26 \pm 0,05	0,23 a 0,27

mãe X dia 0, $p = 0,998$; **dia 0 X dia 3, $p < 0,001$; dia 3 X dia 7, $p = 0,012$; dia 7 X dia 28, $p = 0,014$.**

Gráfico 5 – Evolução dos níveis de creatinina (mg/dL) da mãe e do RN no primeiro mês de vida (média \pm 2dp)



3.3. Clearance de creatinina

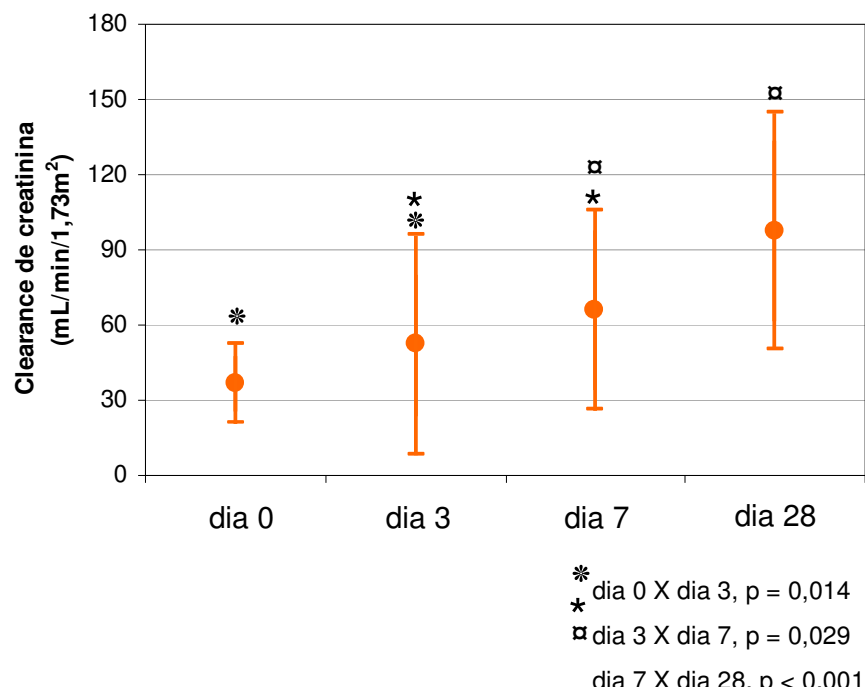
O *clearance* de creatinina aumentou ao longo dos 28 dias, também de forma estatisticamente significativa (Quadro 8 e Gráfico 6).

Quadro 8 – *Clearance* de creatinina (mL/min/1,73m²) do RN no primeiro mês de vida

Idade (dias)	<i>Clearance</i> de creatinina	
	Média \pm dp	Intervalo de confiança (95%)
0	36,72 \pm 7,75	32,8 a 39,2
3	52,27 \pm 21,83	42,4 a 61,6
7	65,99 \pm 19,96	56,4 a 73,6
28	97,52 \pm 23,45	86,5 a 107,5

dia 0 X dia 3, $p = 0,014$; dia 3 X dia 7, $p = 0,029$; dia 7 X dia 28, $p < 0,001$.

Gráfico 6 – Evolução do *clearance* de creatinina (mL/min/1,73m²) do RN no primeiro mês de vida (média ± 2dp)



3.4. Evolução comparativa da cistatina C, da creatinina e do *clearance* de creatinina

Os Gráficos 7 e 8 mostram comparativamente a evolução, ao longo do período neonatal, dos valores da cistatina C e da creatinina e da cistatina C e do *clearance* de creatinina, respectivamente.

Gráfico 7 – Evolução dos níveis de cistatina C (mg/L) e de creatinina (mg/dL) do RN no 1º mês de vida

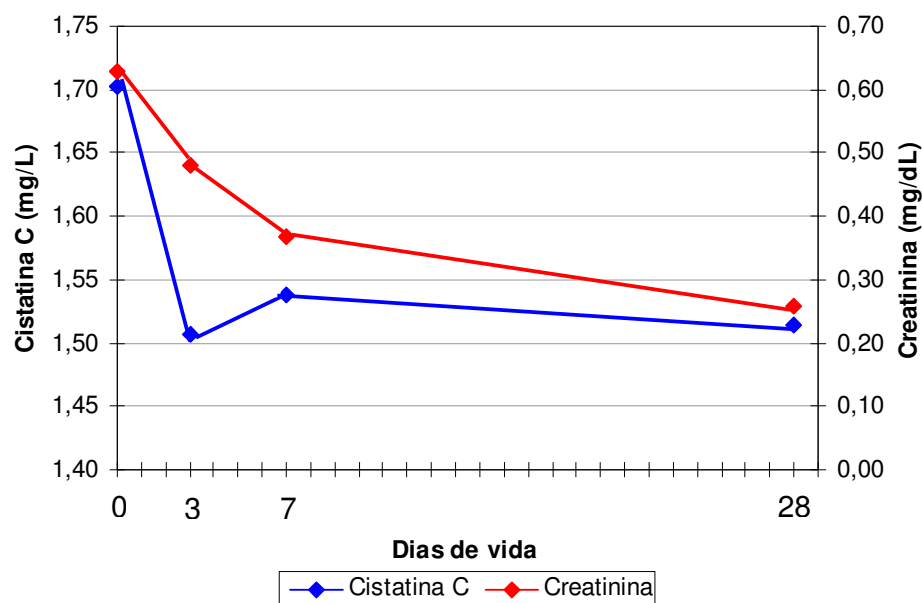
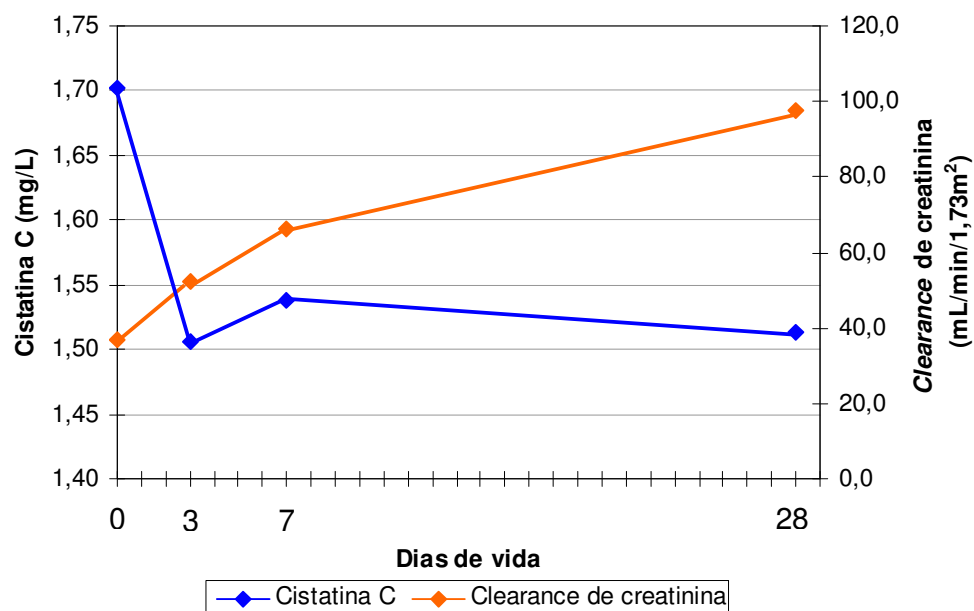


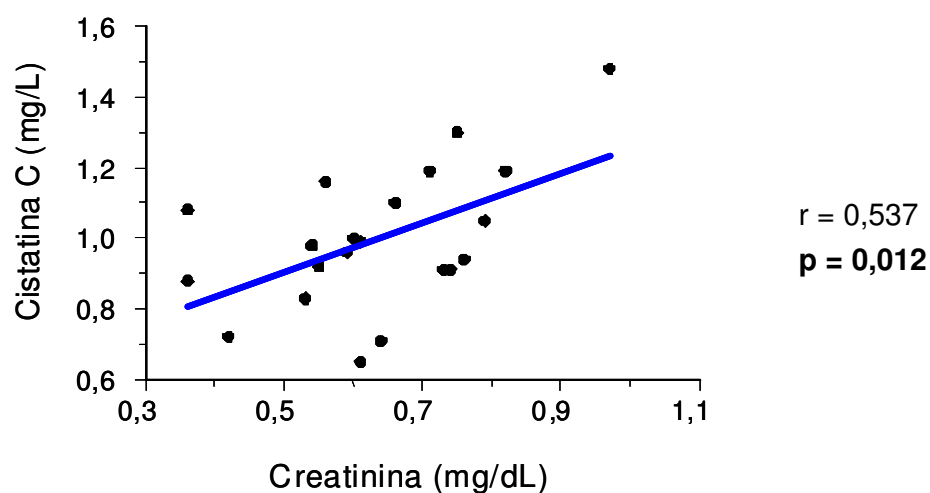
Gráfico 8 – Evolução dos níveis de cistatina C (mg/L) e do *clearance* de creatinina (mL/min/1,73m²) do RN no 1º mês de vida



3.5. Correlações

A cistatina C e a creatinina maternas apresentaram correlação positiva ($r = 0,537$; $p = 0,012$) (Gráfico 9).

Gráfico 9 – Correlação entre os valores maternos de creatinina e de cistatina C



Em relação ao RN, somente foi observada correlação positiva entre a cistatina C e a creatinina nos dias 3 ($r = 0,437$; $p = 0,047$) e 28 ($r = 0,498$; $p = 0,002$) (Gráficos 10 a 13).

Nos dias 0, 3 e 7 não se verificou correlação entre a cistatina C e o *clearance* de creatinina do RN. Contudo, foi possível observar correlação negativa no 28º dia de vida ($r = -0,443$; $p = 0,044$) (Gráficos 14 a 17).

Gráfico 10 – Correlação entre os valores de cistatina C e de creatinina do RN no dia 0

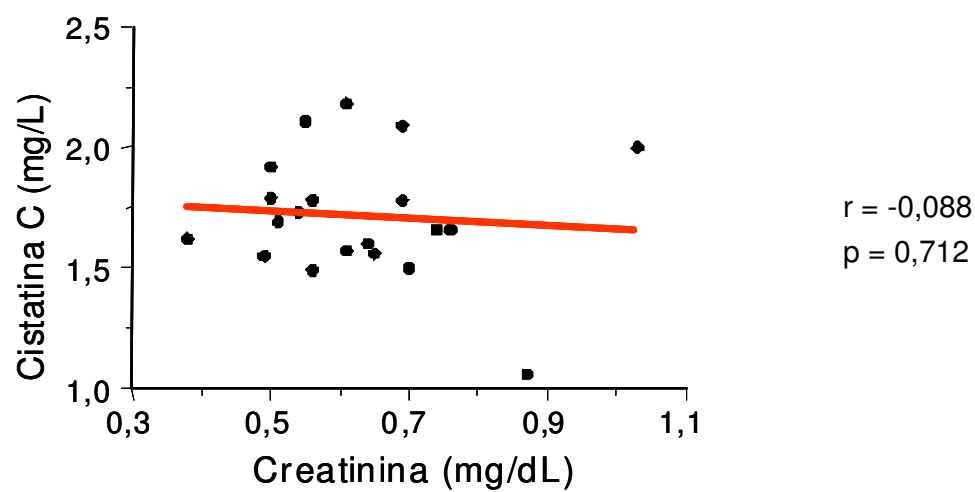


Gráfico 11 – Correlação entre os valores de cistatina C e de creatinina do RN no dia 3

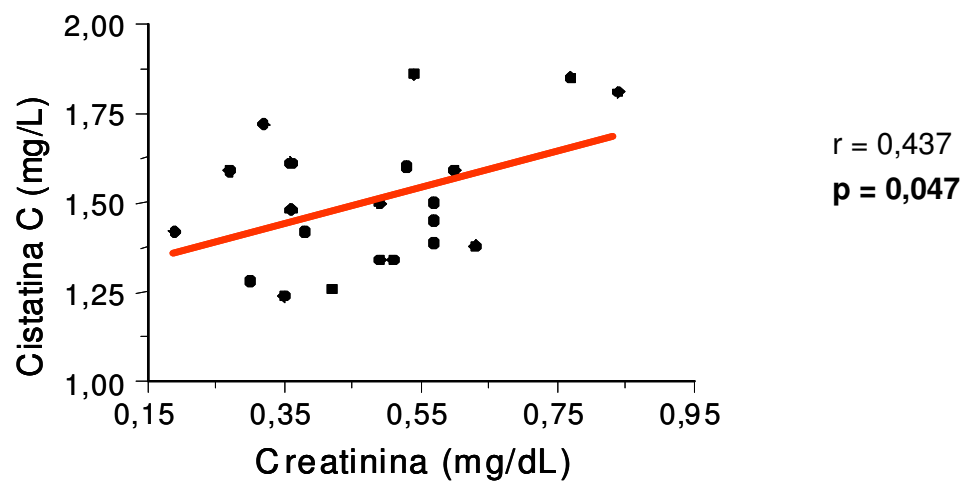


Gráfico 12 – Correlação entre os valores de cistatina C e de creatinina do RN no dia 7

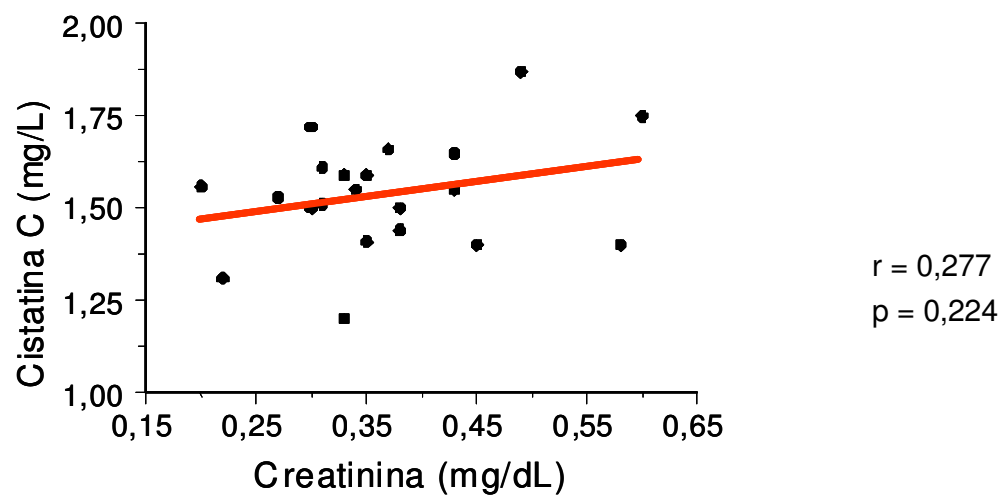


Gráfico 13 – Correlação entre os valores de cistatina C e de creatinina do RN no dia 28

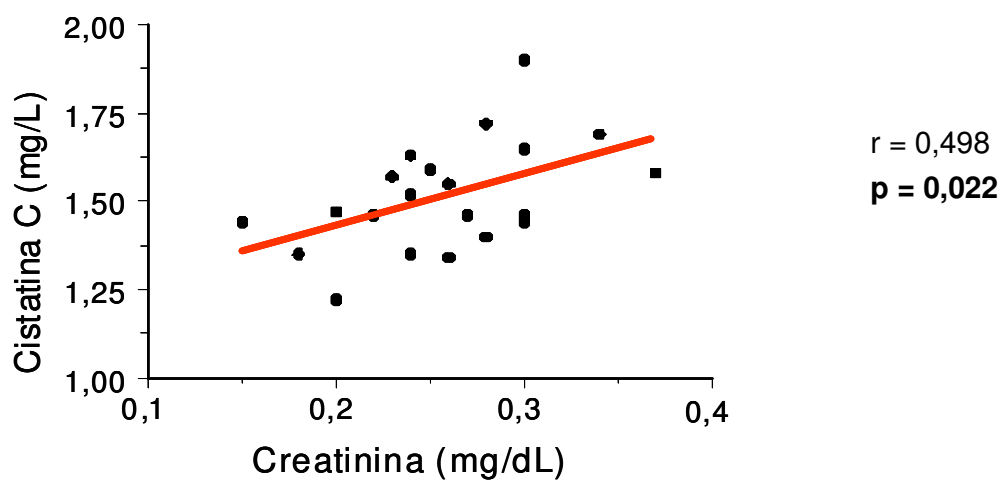


Gráfico 14 – Correlação entre os valores de cistatina C e o *clearance* de creatinina do RN no dia 0

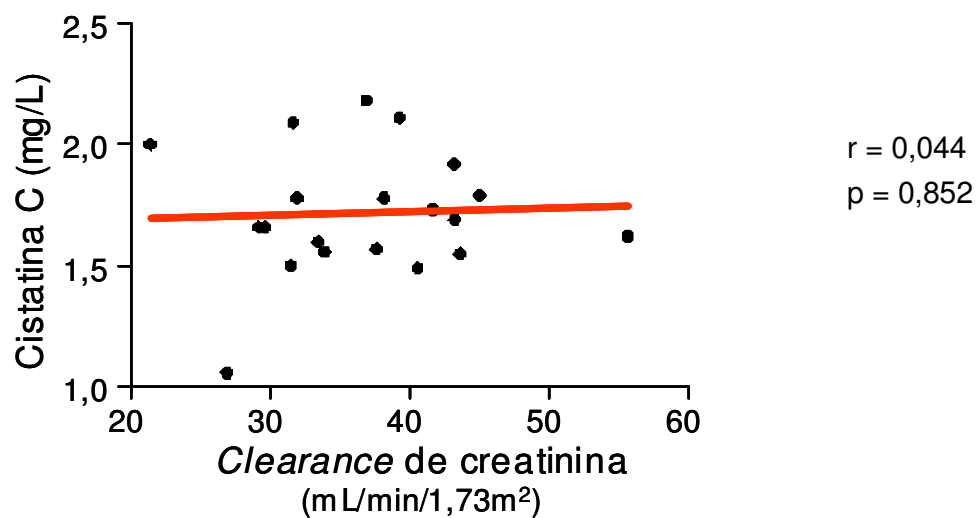


Gráfico 15 – Correlação entre os valores de cistatina C e o *clearance* de creatinina do RN no dia 3

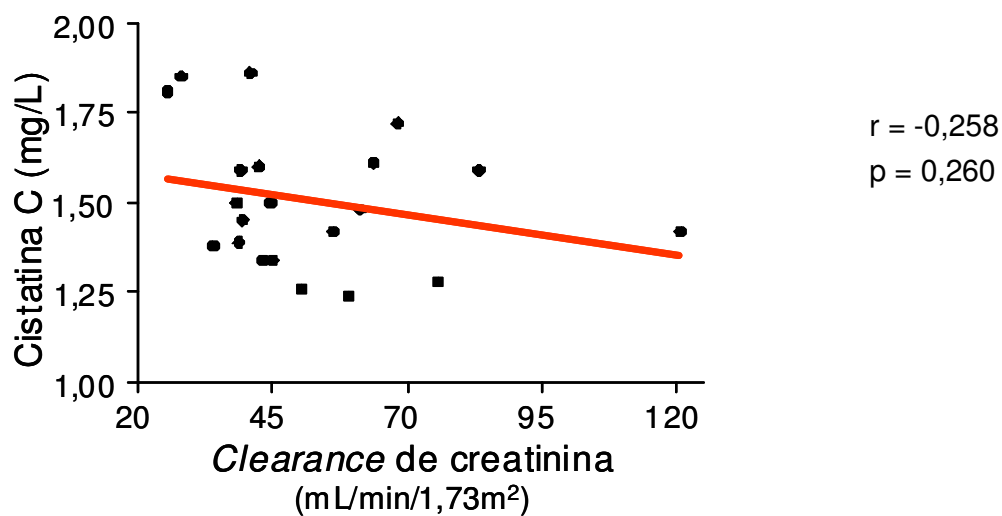


Gráfico 16 – Correlação entre os valores de cistatina C e o *clearance* de creatinina do RN no dia 7

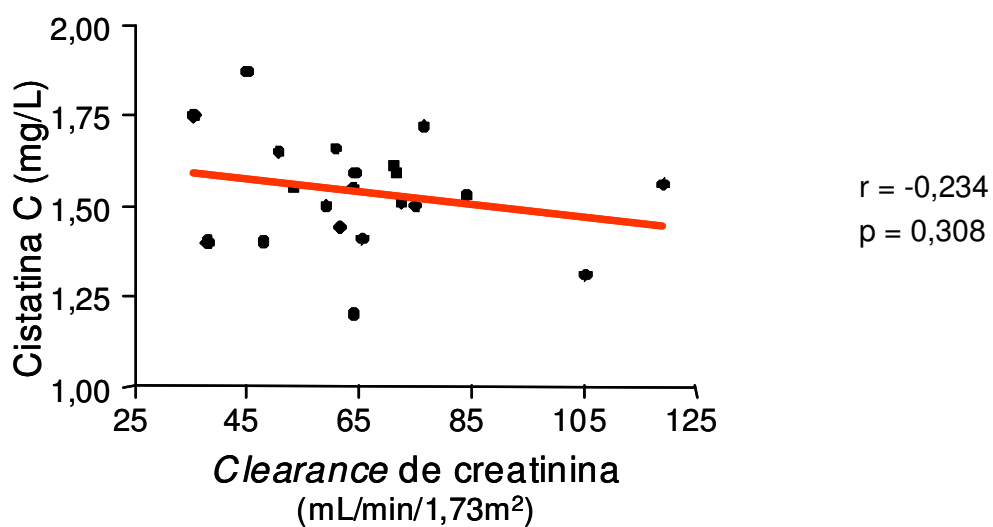
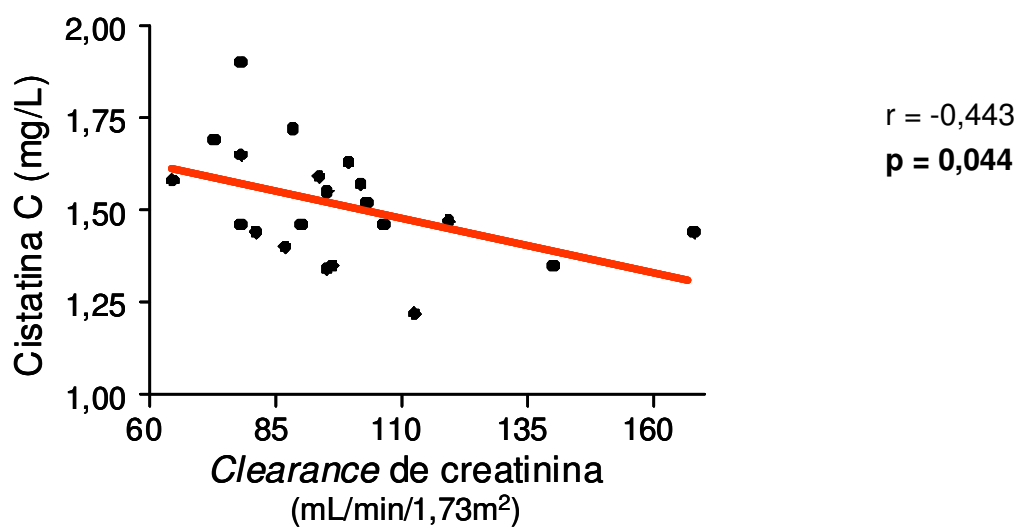


Gráfico 17 – Correlação entre os valores de cistatina C e o *clearance* de creatinina do RN no dia 28



Discussão



A cistatina C é uma proteína não glicosilada produzida de forma constante por todas as células nucleadas do organismo. Ela é filtrada e metabolizada nos rins, de tal forma que seu nível sérico depende fundamentalmente da filtração glomerular. Uma série de estudos já realizados em adultos e crianças mostrou que a cistatina C sérica apresenta boa correlação com o RFG, o que faz dela um marcador confiável da função renal.

No período neonatal, a avaliação da função renal é realizada principalmente por meio da dosagem de creatinina sérica. Contudo, a creatinina do RN ao nascimento correlaciona-se diretamente com a creatinina materna. De forma diversa, os níveis séricos de cistatina C do RN parecem não ser influenciados pelos valores maternos. Isto tornaria a cistatina C especialmente útil para avaliação da função renal na primeira semana de vida. No entanto, ainda não há na literatura uma avaliação longitudinal dos níveis séricos da cistatina C em recém-nascidos de termo sem patologias, durante o período neonatal.

Neste estudo, foi possível selecionar um grupo de RN de termo saudáveis e verificar que os níveis séricos de cistatina C, ao nascimento, não se correlacionaram com os níveis maternos e ficaram estáveis após o 3º dia de vida.

1. Análise do método

1.1. Desenho do estudo

Neste estudo foi estabelecida uma seleção baseada em critérios restritos de inclusão, a fim de que a casuística fosse a mais próxima possível do normal. Além disso, o estudo foi delineado de forma prospectiva, com o intuito de que dados clínicos, como peso, diurese e pressão arterial, pudessem ser avaliados de forma mais fidedigna, para melhor caracterizar a função renal dos RN.

Somente foram incluídos os RN dos quais foi possível colher todas as amostras programadas, para que se pudesse considerar de forma mais confiável que a variação encontrada dos níveis séricos de cistatina C fosse devida à evolução temporal e não às diferenças individuais.

Optou-se por realizar as dosagens de cistatina C e creatinina ao nascimento, com 3 e 7 dias, pois até o final da primeira semana de vida ocorre estabilização da função renal. A coleta com 28 dias permitiu melhor avaliação desta evolução no período neonatal como um todo.

1.2. Casuística

A seleção da casuística foi baseada em critérios restritos de inclusão, a fim de que a população estudada fosse a mais próxima possível do normal, procurando-se excluir todos os RN que porventura pudessem apresentar

alteração da função renal.

Ao nascimento, o RN já traz toda uma história própria. O seu desenvolvimento é resultado das diversas influências às quais foi submetido na vida antenatal. Daí a importância de se excluir fatores que pudessem interferir com a função renal, mesmo que antes do nascimento.

1.2.1. Idade gestacional

Foram incluídos apenas RN de termo, dado que ao nascimento o RFG se eleva paralelamente ao aumento da massa renal e se correlaciona diretamente com a idade gestacional. Desta forma, pode-se afirmar que não houve alteração da função renal decorrente de imaturidade renal^{1,54}.

1.2.2. Adequação do crescimento intra-uterino

O peso de nascimento adequado para a idade gestacional, assim como a não detecção de alteração do crescimento fetal durante a gestação, visaram a exclusão daqueles RN que porventura tivessem sofrido crescimento intra-uterino restrito (CIUR). O CIUR pode acarretar comprometimento da nefrogênese, menor tamanho renal e menor número de néfrons, o que, por sua vez, estaria possivelmente relacionado a doença renal e hipertensão arterial na vida adulta, não sendo possível descartar alguma influência sobre a filtração glomerular ao nascimento⁵⁵.

Por outro lado, Malamitsi-Puchner, em estudo comparando RN de termo com e sem CIUR, mostrou que RN com CIUR apresentavam níveis mais baixos de cistatina C, possivelmente por terem menor síntese proteica⁴³.

1.2.3. Condições de nascimento

Foram incluídos apenas RN que receberam os cuidados em sala de parto por médico neonatologista, não apresentaram intercorrências no período perinatal e receberam nota de Apgar de 1º e 5º minutos maior do que 7. O intuito destes critérios foi garantir a inclusão apenas de RN que não tivessem sofrido asfixia perinatal. O escore de Apgar permite avaliação padronizada do RN ao nascimento, porém isoladamente um escore baixo não é um marcador conclusivo da asfixia perinatal. Um escore de 7 a 10 no 5º minuto de vida é considerado normal^{56,57}. A asfixia perinatal está muitas vezes associada a disfunção de múltiplos órgãos. Em 1995, Martin-Ancel mostrou, em estudo que incluiu 72 RN de termo com asfixia perinatal grave, que 82% deles apresentaram comprometimento de pelo menos um órgão. Em 42% desses 72 RN, ocorreu comprometimento renal, em parte pela redistribuição do débito cardíaco que ocorre nesta situação⁵⁸.

1.2.4. Má-formação

Más-formações dos rins ou do trato urinário são relativamente comuns, acometendo de 3 a 6 indivíduos a cada 1000 nascidos vivos. Muitas vezes são assintomáticas ao nascimento e a USG, tanto fetal quanto pós-natal, é recomendada para o diagnóstico destas anomalias. Dada a possibilidade de comprometimento da função renal na presença de má-formação, foi optado por se excluir todos os RN que apresentassem má-formação renal. Também foram excluídos os RN com qualquer má-formação *major*, devido a sua frequente associação com má-formação renal⁵⁹.

Dos RN incluídos no estudo, 1 apresentou comunicação interatrial e em outro RN foi achada comunicação interventricular. Nenhum deles apresentou repercussão hemodinâmica, que poderia interferir com a função renal.

1.2.5. Avaliação ultrassonográfica

Em função principalmente da evolução tecnológica ocorrida nas últimas décadas, a USG obstétrica permite a avaliação do desenvolvimento fetal e a detecção de más-formações. Nesse sentido, para avaliar a acurácia da USG pré-natal para a detecção de más-formações, foi realizado um estudo multicêntrico, prospectivo, que incluiu 4615 casos de más-formações. A sensibilidade para esta detecção foi de 56,2%. No entanto, quando se considerou apenas as más-formações do sistema urinário, a sensibilidade foi de 88,5%⁶⁰.

Uma vez detectada má-formação pela USG fetal, é necessária a investigação pós-natal, que começa pela USG. Teoricamente, nas primeiras horas de vida, poderia ocorrer desidratação relativa por baixa oferta, com baixo débito urinário. Isto acarretaria menor grau de dilatação renal, dificultando a detecção da alteração renal pela USG. Docimo, em 1997, realizou estudo com o intuito de determinar a capacidade de detecção de alteração renal pela USG realizada nas primeiras 48 horas de vida. Analisando 101 RN com hidronefrose detectada na USG pré-natal, mostrou que, dos RN com USG normal nas primeiras 48 horas de vida, nenhum apresentou hidronefrose ou obstrução com indicação cirúrgica, nem alteração de função renal no primeiro ano de vida⁶¹.

Os RN deste estudo apresentaram USG pré-natal e pós-natal normais. A USG pós-natal foi realizada entre 24 e 72 horas de vida, período em que não apresentaram nenhuma evidência de hipovolemia ou oligúria. Tudo isso permitiu maior confiabilidade na exclusão de más-formações que pudessem porventura comprometer a função renal.

1.2.6. Doenças maternas

A composição do fluido extracelular do feto é regulada pela placenta e não pelo rim fetal, de modo que as concentrações séricas de creatinina do feto e da mãe estão em equilíbrio. Desta forma, ao nascimento, a creatinina do RN reflete a função renal materna. Por esta razão, não foram incluídos os RN cujas mães apresentassem alteração renal, pois estes poderiam

apresentar dosagens elevadas de creatinina, mesmo com função renal normal¹.

Também não foram incluídos os RN cujas mães apresentavam hipertensão arterial, fosse ela crônica ou gestacional. A hipertensão acomete 5 a 8% das gestantes, levando a maior mortalidade e morbidade perinatal, com maior risco de crescimento intra-uterino restrito. Mas também são muitas as possíveis complicações maternas decorrentes da hipertensão, como o comprometimento da função renal. Por outro lado, a disfunção renal aumenta o risco de hipertensão materna⁶².

Apesar de algumas mães incluídas neste estudo apresentarem afecções anteriores à gestação ou agravos durante a gestação, nenhuma apresentou hipertensão ou comprometimento da função renal.

1.2.7. Fármacos utilizados pela mãe

O feto em desenvolvimento pode ser afetado pelos fármacos e outros compostos químicos aos quais a mãe é exposta. Eles podem ter ação teratogênica ou levar a disfunção de diferentes órgãos. O efeito da substância sobre cada feto vai depender não só do seu mecanismo de ação propriamente dito, mas também do estágio de desenvolvimento no momento da exposição, da dose utilizada, da suscetibilidade individual e da passagem placentária. Esta última, por sua vez, varia conforme o peso molecular da substância, a lipossolubilidade e a polarização da molécula^{48,63}.

Também pode ocorrer passagem para o leite materno de fármacos ingeridos pela mãe. Esta passagem também depende do peso molecular da substância, da lipossolubilidade e da polarização da molécula, assim como do nível sérico materno⁴⁸.

A L-tiroxina, utilizada por 3 mães deste estudo, apresenta passagem placentária mínima. Sua concentração no leite materno também é muito baixa, não havendo registro de efeitos deletérios para o feto ou RN⁴⁸.

A zidovudina e a lamivudina são inibidores da transcriptase reversa, que apresentam passagem placentária por difusão simples, mas que não têm efeito teratogênico. As duas podem levar a alterações no desenvolvimento neurocomportamental de ratos. O efeito adverso observado com maior frequência com o uso da zidovudina é a anemia. Também há referência a toxicidade mitocondrial e acidose láctica transitória. Quanto ao nelfinavir, um inibidor de protease, não é conhecido se há passagem placentária, mas não são descritos efeitos deletérios^{48,64,65}.

A quetiapina é um antipsicótico. Utilizada nas doses habituais, não é teratogênica, nem provoca efeitos adversos no feto. A clorpromazina, utilizada na terapia antipsicótica, é considerada segura para o feto, havendo relato de síndrome extrapiramidal em alguns RN cujas mães utilizaram a medicação próximo ao nascimento⁴⁸.

O ácido acetilsalicílico passa a placenta e pode levar a alterações de hemostasia e fechamento prematuro do canal arterial. Mas estudos que analisaram o uso de baixas doses (até 100 mg/dia) não mostraram efeitos deletérios para o feto ou RN⁴⁸.

A heparina e a insulina não passam a placenta, não tendo efeitos sobre o feto. Também não há relato de efeitos adversos do fenoterol⁴⁸.

1.2.8. Diurese

A demora para a ocorrência da primeira micção de um RN, assim como o baixo débito urinário, podem ser sinais de hipovolemia ou mesmo de disfunção renal. Mais de 90% dos RN de termo saudáveis apresentam a primeira micção nas primeiras 24 horas de vida. O débito urinário depende de vários fatores, como a oferta de água e eletrólitos e a capacidade de concentração urinária dos rins. Para que se mantenha o equilíbrio hidroeletrólítico, após o primeiro dia de vida é necessário débito urinário mínimo de 1 mL/kg/h. A oligúria no período neonatal pode ser definida como diurese menor do que 1 mL/kg/h após 24 horas de vida^{5,54}.

Todos os RN incluídos neste estudo apresentaram a primeira micção com menos de 12 horas de vida e a diurese, estimada por peso de fralda, foi sempre maior do que 1,3 mL/kg/h.

Quanto ao débito urinário, existem várias técnicas para a sua medida. A sondagem vesical permite avaliação bastante fidedigna, porém apresenta riscos, como trauma uretral e infecção. O uso de sacos coletores também pode ocasionar lesões cutâneas no períneo. A estimativa da diurese por pesagem de fraldas é um método não invasivo, mas pode ser menos preciso. Baseia-se no princípio de que 1 mL de urina pesa 1 g e que a variação do peso da fralda seja devida à presença de urina. No entanto, a

diurese pode ser superestimada, pela presença de fezes ou quando o RN está sob umidificação muito elevada, ou subestimada, quando não há umidificação e a temperatura ambiente está elevada^{66,67}.

Os RN avaliados neste estudo eram saudáveis e a quantificação da diurese foi realizada somente para o estudo em questão, não por indicação clínica. Assim sendo, não seria eticamente possível utilizar técnica invasiva e potencialmente prejudicial ao RN. Apesar de menos precisa, a pesagem de fraldas permite uma estimativa da diurese suficientemente acurada para afastar a oligúria.

1.2.9. Evolução do peso

Em situações de normalidade, os RN perdem 5 a 10% do peso de nascimento e recuperam esse peso até o final da segunda semana de vida⁶⁸⁻⁷⁰. Os RN deste estudo apresentaram evolução ponderal dentro destes parâmetros de normalidade. Eles também chegaram ao final do primeiro mês de vida com peso e estatura entre o percentil 5 e 95 das curvas de crescimento do *National Center for Health Statistics*⁵³.

Estes dados são importantes para afastar possível baixa oferta hídrica e calórica, que poderia, principalmente nos primeiros dias de vida, determinar hipovolemia e possivelmente alteração da função renal do RN. Por outro lado, a evolução ponderal inadequada pode ser um dos primeiros sinais de que o RN apresenta alguma intercorrência. Assim, o crescimento e

ganho de peso adequados corroborariam o diagnóstico de normalidade destas crianças.

1.2.10. Pressão arterial

Foram excluídos do estudo os RN que apresentassem, nos controles realizados, pressão arterial fora dos parâmetros considerados normais.

A hipotensão pode acarretar diminuição da pressão de perfusão renal e, conseqüentemente, da filtração glomerular⁴. Por sua vez, a hipertensão arterial pode estar associada a disfunção renal. No período neonatal, a hipertensão é geralmente secundária, sendo as causas mais frequentes a trombose de artéria renal, a má-formação renal, a coarctação de aorta e a displasia broncopulmonar⁷¹.

Em relação à medida de pressão arterial, existem algumas formas: direta, de forma invasiva, através de cateter arterial umbilical ou radial, ou indireta.

A medida indireta da pressão arterial baseia-se no princípio de que a compressão da artéria braquial por um manguito inflável permite a determinação da pressão intra-arterial. Existem várias técnicas para fazer esta medida. Os métodos auscultatórios baseiam-se na associação entre os sons de Korotkoff e as pressões sistólica e diastólica. Por outro lado, a oscilometria é baseada no princípio de que o fluxo sanguíneo através da artéria cria oscilações da parede arterial. A pressão arterial média é, então, medida de acordo com a amplitude das oscilações detectadas. A partir do

valor medido de pressão arterial média, são calculadas as pressões sistólica e diastólica, utilizando-se para isso algoritmos específicos em um microprocessador. O primeiro aparelho oscilométrico foi desenvolvido na década de 1970 e foi denominado DINAMAP, um acrônimo para “*device for indirect noninvasive mean arterial pressure*”^{72,73}.

O padrão de normalidade considerado foi baseado nas curvas de pressão arterial sistólica e diastólica, segundo a idade gestacional corrigida, conforme descrito por Zubrow. Este autor analisou 600 RN, usando aparelhos oscilométricos DINAMAP para medir a pressão arterial⁴⁹.

Neste estudo foi utilizado o aparelho DINAMAP® Pro-100, que permite a determinação da insuflação a ser utilizada, evitando compressão excessiva pelo manguito, que provocaria desconforto ao RN e levaria a possível erro de medida. A medida da pressão arterial foi feita com a mesma técnica e com aparelho equivalente ao descrito por Zubrow. Assim, foi possível ter maior confiabilidade quanto à normalidade da pressão arterial aferida.

1.2.11. Evolução no período neonatal

Além dos casos já descritos de oligúria, perda de peso excessiva ou ganho de peso inadequado e hipo ou hipertensão, foram excluídos todos os RN que apresentassem outras intercorrências que pudessem acarretar alguma interferência direta na função renal ou na sua avaliação ou no equilíbrio hemodinâmico.

Os RN sob fototerapia apresentam aumento do fluxo sanguíneo

periférico, que pode levar a aumento na perda de água insensível. Também podem apresentar maior perda de água nas fezes. Esta, se não for compensada por maior oferta hídrica, pode levar a hipovolemia^{74,75}.

Quando há necessidade de hidratação intravenosa, a oferta hídrica e nutricional que o RN recebe poderá ocasionar variações em sua volemia.

Na vigência de quadros infecciosos de maior gravidade, com liberação de mediadores da resposta inflamatória, assim como em cardiopatias descompensadas, também pode ocorrer desequilíbrio hemodinâmico.

1.2.12. Fármacos utilizados pelos RN

Alguns fármacos interferem na avaliação da função renal, como a cimetidina, que inibe competitivamente a secreção tubular de creatinina⁴. Também não foram incluídos RN que utilizaram diuréticos, os quais têm ação direta sobre os rins, ou fármacos vasopressivos, que atuam sobre o equilíbrio hemodinâmico do RN.

Apenas 1 RN fez uso de um fármaco, a zidovudina, durante o período de estudo. O efeito adverso mais frequente da zidovudina é a anemia, mas pode ocorrer comprometimento de toda a hematopoiese. Também é descrita toxicidade mitocondrial, esteatose hepática, pancreatite e maior incidência de convulsão febril^{64,65,76}. No entanto, não existem relatos de alteração da função renal em decorrência de seu uso.

1.2.13. Alteração da função tireoidiana

Os níveis séricos de cistatina C podem alterar-se na vigência de disfunção tireoidiana, possivelmente por influência direta do hormônio tireoidiano na taxa de produção desta proteína^{16,17}.

A triagem neonatal foi realizada pela dosagem do TSH em papel de filtro. Caso o TSH estivesse elevado, seria realizada nova coleta com dosagem plasmática do TSH e da tiroxina (T4). Isto não ocorreu, pois a coleta do sangue para a primeira dosagem em papel de filtro foi realizada entre 48 e 96 horas de vida, o que torna o número de casos falso-negativos praticamente desprezível⁷⁷.

1.3. Avaliação laboratorial

Não há na literatura referência a diferença entre os níveis arteriais ou venosos de cistatina C. Contudo, a coleta das amostras de sangue foi realizada sempre em veia umbilical ou veia periférica, para que houvesse maior uniformidade.

Também a técnica de coleta das amostras foi cuidadosa, no sentido de que não houvesse hemólise, que poderia interferir com a dosagem da cistatina C. Apesar de 61,9% dos RN apresentarem icterícia, a presença de bilirrubina não interfere com a dosagem de cistatina C¹⁰.

Todas as dosagens de creatinina e cistatina C foram realizadas por um mesmo profissional capacitado e em um mesmo momento, de forma a

minimizar possíveis alterações nas medidas, decorrentes de fatores externos. O resultado destes cuidados pode ser verificado pelo baixo desvio-padrão obtido neste estudo para os valores de cistatina C nas diversas amostras. Ele variou de 0,15 a 0,26 mg/L, enquanto na literatura, para RN de termo no período neonatal, os valores de desvio-padrão encontrados variam de 0,26 a 0,44 mg/L³⁹⁻⁴².

O método utilizado para a dosagem foi a nefelometria. Estudo comparativo entre a dosagem por nefelometria e por turbidimetria mostrou que, na nefelometria, a correlação entre o RFG e a cistatina C é significativamente mais forte²².

1.4. Clearance de creatinina

A creatinina sérica é usualmente utilizada como indicador do RFG. Contudo, apesar de seus níveis variarem inversamente com o RFG, esta relação não é tão direta em crianças. Com o crescimento, ocorre elevação da creatinina, mesmo com função renal normal, uma vez que a creatinina depende não só do RFG, mas também da massa muscular do indivíduo.

O valor do *clearance* de creatinina, por sua vez, é corrigido para uma superfície corpórea de 1,73 m², o que facilita a comparação entre indivíduos de diferentes tamanhos. Além disso, é mais fácil detectar alterações quando se utilizam números grandes, como os do *clearance*, do que pequenos, como os da creatinina. Por exemplo, a diminuição de 40 mL/min/1,73m² no

clearance de creatinina corresponde a uma elevação de apenas 0,2 mg/dL no valor da creatinina⁷.

A fórmula de Schwartz permite estimar o *clearance* de creatinina a partir da creatinina sérica e de parâmetros associados ao tamanho corporal (comprimento) e à idade (constante k). A constante k é função da quantidade de creatinina excretada na urina por unidade de superfície corpórea. Ela é diretamente proporcional ao componente muscular do peso corpóreo. Em indivíduos com composição corpórea normal, sem excesso de massa muscular, desnutrição ou obesidade, o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de Schwartz apresenta boa correlação com o *clearance* de inulina e com o *clearance* de creatinina medido⁷.

2. Análise dos resultados

Neste estudo, a cistatina C do RN foi maior ao nascimento, reduzindo-se a seguir até o 3º dia e depois manteve níveis constantes, sempre maiores do que os maternos. Alguns autores já procuraram determinar os valores normais da cistatina C em RN de termo, no período neonatal: Bökenkamp (1998) - 1,64 a 2,59 mg/L de 0 a 3 dias e 1,52 a 2,40 de 3 a 30 dias; Finney (2002) – 0,81 a 2,32 mg/L de 0 a 3 meses; Harmoinen (2000) – 1,36 a 2,23 mg/L de 0 a 7 dias; Bahar (2003) – 0,69 a 2,43 mg/L no cordão e 0,78 a 2,40 mg/L com 3 dias; Treiber (2006) – 1,97 ± 0,36 mg/L no cordão e 1,93 ± 0,33 mg/L no 3º dia e Jedrasiak (2007) – 1,65 ± 0,44 mg/L no cordão umbilical^{33,34,39-42}. Os resultados aqui obtidos estão contidos em cada uma

destas faixas, que são muito amplas, uma vez que as faixas de idade nem sempre são tão restritas e os critérios de inclusão para garantir a normalidade da função renal não foram tão rigorosos como os aqui utilizados. Além disso, como consequência deste rigor, a variabilidade dos níveis de cistatina C neste estudo foi muito pequena.

Outro indicador de função renal avaliado foi a concentração de creatinina sérica. Os valores obtidos, dentro da faixa de normalidade, reforçam a normalidade da função renal dos RN estudados. Ao nascimento, a creatinina foi igual à materna, diminuindo progressivamente até o 28º dia. Estes resultados estão de acordo com os valores normais de creatinina sérica (média \pm dp) para RN de termo encontrados na literatura: Rudd (1983) - $0,85 \pm 0,21$ mg/dL com 2 dias, $0,56 \pm 0,20$ mg/dL com 7 dias, $0,43 \pm 0,11$ mg/dL com 14 dias, $0,40 \pm 0,11$ mg/dL com 21 dias e $0,34 \pm 0,10$ mg/dL com 28 dias (valores originalmente em $\mu\text{mol/L}$); Brion (1986) - $0,5 \pm 0,1$ mg/dL com 1 semana e $0,4 \pm 0,1$ mg/dL de 2 a 8 semanas; Bueva (1994) - $0,75 \pm 0,03$ mg/dL com 1 a 2 dias, $0,45 \pm 0,04$ mg/dL com 8 a 9 dias, $0,34 \pm 0,09$ mg/dL com 15 a 16 dias e $0,31 \pm 0,08$ mg/dL com 22 a 23 dias (valores originalmente em $\mu\text{mol/L}$) e Awad (2002) - $0,79 \pm 0,14$ mg/dL com 1 dia e $0,77 \pm 0,19$ mg/dL com 3 dias⁷⁸⁻⁸¹.

Em relação aos níveis de cistatina C maternos, à semelhança do que ocorreu com os do RN, eles foram compatíveis com os valores descritos por Cataldi (variação de 0,64 a 2,30 mg/L) e por Babay ($0,94 \pm 0,12$ mg/L, média \pm dp)^{44,82}.

A creatinina da mãe também ficou dentro dos valores normais citados

na literatura. Nas gestações normais tem sido descrito aumento do RFG, o que leva a diminuição de 20 a 30% nos valores da creatinina sérica. Lain, em 2005, estudando 63 gestantes, encontrou valores de creatinina de $0,57 \pm 0,03$ mg/dL (média \pm dp) no final do terceiro trimestre de gestação e nas primeiras 24 horas pós-parto^{83,84}.

No nosso estudo, observou-se correlação positiva entre a creatinina e a cistatina C maternas, o que era esperado, uma vez que várias pesquisas já mostraram a acurácia da cistatina C para estimar o ritmo de filtração glomerular e sua correlação com a creatinina^{22-25,36,38}.

A análise da creatinina e da cistatina C maternas permitem, ainda, afirmar que estas mães realmente apresentavam função renal normal.

A cistatina C materna foi diferente e não apresentou correlação com a do RN ao nascimento, à semelhança do que já havia sido descrito por Cataldi⁴⁴. Isto sugere que a concentração sérica de cistatina C do RN deve-se mais à síntese e metabolização da proteína pelo próprio RN do que à passagem placentária.

Por outro lado, a creatinina materna não foi diferente da do RN ao nascimento, o que era esperado. A creatinina, assim como outros solutos hidrofílicos não eletrolíticos de baixo peso molecular, passa do feto para a mãe e vice-versa, por difusão passiva através do sinciotrofoblasto, por via transcelular. Deste modo, os valores séricos de creatinina ao nascimento costumam ser semelhantes aos maternos^{85,86}.

Quanto à avaliação da evolução da função renal do RN, foram realizados alguns estudos durante o primeiro mês de vida utilizando o

clearance de inulina. Além de apresentar boa correlação com a idade gestacional ($r=0,81$) e com a idade gestacional pós-conceptual ($r=0,89$), o *clearance* de inulina aumenta progressivamente com o passar dos dias, chegando a dobrar de valor pelo 14º dia de vida^{28,87,88}. Em alguns estudos em RN, também foi realizado simultaneamente o *clearance* de inulina e de creatinina e foi possível mostrar boa correlação entre eles^{8,89}.

Quando se analisou a evolução da creatinina plasmática ao longo do período neonatal, observou-se que houve redução progressiva de seus níveis. Por sua vez, o *clearance* de creatinina, estimado pela fórmula de Schwartz, aumentou, conforme esperado^{3,4,78,80}. Esta variação é explicada não só pelo término da influência materna, mas também pelo aumento do RFG do RN.

Já em relação à evolução da cistatina C no RN, verificou-se nível mais elevado ao nascimento, diminuindo até o 3º dia e estabilizando-se a partir de então, embora com níveis sempre maiores do que os maternos. Se os níveis séricos de cistatina C fossem reflexo apenas do RFG, seria de se esperar que houvesse diminuição progressiva ao longo de todo o período neonatal, compatível com a elevação do RFG, o que não ocorreu em nossos resultados.

O comportamento dos níveis de cistatina C sérica verificados nesta pesquisa diverge do esperado, se considerarmos a evolução do RFG medido pelo *clearance* de inulina que, sabidamente, aumenta ao longo do período neonatal. Estes resultados sugerem a necessidade de realização de estudos que possam identificar outras interferências sobre esses níveis.

Dentre estas, poderão estar variações na síntese da cistatina C ou até a existência de outra via metabólica secundária, ainda não conhecida.

Além disso, foi possível verificar correlação positiva entre cistatina C e creatinina apenas no 3º e 28º dias e correlação negativa entre cistatina C e *clearance de* creatinina somente no 28º dia de vida.

A ausência de correlação no 7º dia pode ter sido devida a influência da creatinina materna, uma vez que na primeira semana de vida a creatinina do RN não depende somente da função renal deste. Ela também é reflexo da creatinina materna e, conseqüentemente, da função renal da mãe. Já as correlações observadas no 28º dia de vida podem ser explicadas pelo fato de que, neste momento, a cistatina C e a creatinina refletem o RFG. Contudo, apesar de significativas, estas correlações não são fortes.

3. Considerações finais

Este trabalho permitiu determinar a evolução da cistatina C ao longo do período neonatal de forma controlada. Assim, é possível afirmar que os resultados aqui apresentados correspondem aos níveis séricos de cistatina C em RN de termo saudáveis.

A falta de correlação com outros indicadores e a evolução ao longo do primeiro mês de vida, diferente da evolução do *clearance* de inulina, sugerem a possibilidade de influência de outros fatores, diversos do RFG, sobre os valores séricos da cistatina C durante o período neonatal. Ainda serão necessários mais estudos para confirmar a existência de tais fatores e permitir sua caracterização.

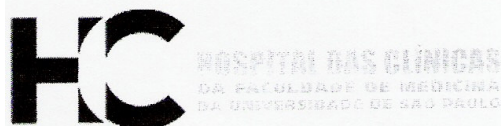
Conclusões

1. Em recém-nascidos de termo saudáveis, os níveis séricos de cistatina C:
 - 1.1. foram significativamente mais elevados, ao nascimento, do que os maternos;
 - 1.2. reduziram-se significativamente do nascimento até o 3º dia de vida;
 - 1.3. permaneceram estáveis entre o 3º e o 28º dias de vida.
2. Houve correlação entre os níveis séricos maternos de cistatina C e de creatinina.
3. Os níveis séricos de cistatina C no recém-nascido correlacionaram-se:
 - 3.1. com os níveis de creatinina sérica no 3º e no 28º dias de vida;
 - 3.2. com o *clearance* de creatinina no 28º dia de vida.

Anexos



Anexo A – Aprovação da Comissão de Ética



APROVAÇÃO

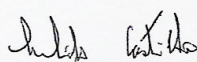
A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 24.03.05, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **007/05**, intitulado: "Evolução dos níveis séricos de cistatina C em recém-nascidos de termo saudáveis, ao longo do primeiro mês de vida" apresentado pelo Departamento de **PEDIATRIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador(a) Responsável: **Profa. Dra. Cléa Rodrigues Leone**

Pesquisador(a) Executante: **Dra. Ana Carolina de A Cavalcanti Ferreira Novo**

CAPPesq, 24 de Março de 2005.


PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

Anexo B – Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO: M F NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M F NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO: Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

Evolução dos níveis séricos de cistatina C em recém-nascidos de termo no primeiro mês de vida.

2. PESQUISADOR: Cléa Rodrigues Leone

CARGO/FUNÇÃO: médica chefe INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 15481

UNIDADE DO HCFMUSP: Berçário Anexo à Maternidade do HC da FMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 1 ano

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

Alguns recém-nascidos já nascem com alteração do funcionamento dos rins, porém ainda não existe um exame que permita na prática a avaliação do funcionamento dos rins nos primeiros dias de vida. Recentemente surgiu um novo exame de sangue que permite essa avaliação, que é a dosagem no sangue de uma substância chamada cistatina C. Porém, ainda é necessário estudar melhor essas dosagens em bebês normais para poder depois usar em recém-nascidos com problemas renais. Para isso será necessário fazer coleta de pequena quantidade de sangue(1mL) da mãe no momento do parto, da placenta logo depois do nascimento, e do recém-nascido com 3, 7 e 28 dias de vida, 1 mL de cada vez, num total de 3 mL do recém-nascido. Se o recém-nascido precisar colher algum outro exame nestes dias, sempre que possível, eles serão colhidos ao mesmo tempo, para só precisar de uma punção. Como no 3º dia de vida é colhido o “exame do pezinho”, este exame será colhido na mesma punção, não sendo necessário outra punção no pé para colher. O sangue será sempre colhido com seringas e agulhas descartáveis, e por médico acostumado a colher exames de recém-nascidos. No local pode ficar uma pequena mancha arroxeadada que sumirá em alguns dias. Também será realizada uma ultrassonografia dos rins para descartar uma má-formação dos rins, a qual não provoca dor. Seu filho não tem risco de apresentar problemas renais, mas sua colaboração vai permitir no futuro ajudar recém-nascidos doentes. Se seu filho participar do estudo, eu farei seu acompanhamento na internação e após a alta, até completar um mês de idade. Caso não participe, ele vai receber o acompanhamento normal com um retorno no ambulatório de puericultura.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

Em qualquer momento o responsável pelo recém-nascido pode ter acesso a informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer eventuais dúvidas. Terá toda a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência. Os dados serão mantidos em sigilo e será garantida a privacidade dos pacientes. Terá toda a assistência necessária no HCFMUSP, no caso de eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS OU REAÇÕES ADVERSAS.

Ana Carolina de Albuquerque Cavalcanti Ferreira Novo
Endereço: Berçário Anexo à Maternidade do HCFMUSP
Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, nº 375, 10º andar
Telefones: 3069-6395 e 3069-6081

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, de de 200.....

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

Anexo C – Formulário para registro de informações

MÃE

RN

Mãe:

Idade: Cor: B P_r P_d A G P A

IGDUM: ↗ IGUSG: ↗ 1ºUSG: ↗

Patologias:

Medicação: vitam _____PN: N S → HCParto: C N FAnestesia: G R P D N

RN:

Sexo: M F Cor: B P_r P_d A Apgar:

Capurro: ↗ IG def: ↗

Peso: Alexander: -

Evolução:

1ª diurese (h): Perda de peso(3º d): %

icterícia febre infecção ↓gli ↓Ca

USG: Idade (d):

 nl alt → _____Rim D → X X espessura Rim E → X X espessura

	0 h	24 h	48 h	72 h	7 d	14 d	28 d
Peso (g)							
Compr (cm)							
PA1 S							
D							
M							
PA2 S							
D							
M							
PA3 S							
D							
M							
Diurese(24 _{hs})							
Hb/Ht							
Cistatina C							
Creatinina							

MÃE

Cistatina C

Creatinina

TSH neo

Anexo D – Características maternas

Mãe	Idade (anos)	Gestações	Paridade	Afecções antes da gestação	Intercorrências na gestação
1	19	2	0	HIV(+) carga viral indetectável	
2	34	5	2		
3	18	1	0		
4	22	1	0		
5	39	4	2		
6	19	1	0		
7	38	2	1	esclerose múltipla	diabetes gestacional
8	25	1	0		
9	22	3	1		
10	18	1	0		
11	26	2	0		
12	41	2	1	hipotireoidismo	
13	31	1	0		
14	31	3	2		
15	33	2	1	transtorno bipolar e hipotireoidismo	
16	40	8	2	hipotireoidismo	
17	33	5	3		síndrome antifosfolípide
18	39	7	2		diabetes gestacional
19	20	2	1	asma	
20	24	1	0		
21	38	6	4		

(continua)

Anexo D – Características maternas (continuação)

Mãe	Medicações na gestação	Pré-natal	Local do pré-natal	USG fetal
1	lamivudina, zidovudina e nelfinavir	sim	HC	normal
2		sim	HC	normal
3		sim	HC	normal
4		sim	HC	normal
5		sim	HC	normal
6		sim	HC	normal
7		sim	HC	normal
8		sim	HC	normal
9		sim	HC	normal
10		sim	outro	normal
11		sim	outro	normal
12	L-tiroxina	sim	HC	normal
13		sim	HC	normal
14		sim	HC	normal
15	L-tiroxina, clorpromazina e quetiapina	sim	HC	normal
16	L-tiroxina	sim	HC	normal
17	ácido acetilsalicílico e heparina	sim	HC	normal
18	insulina	sim	HC	normal
19	fenoterol	sim	HC	normal
20		sim	outro	normal
21		sim	HC	normal

Anexo E – Características dos recém-nascidos

RN	Parto	Sexo	Apgar 1º min	Apgar 5º min
1	cesárea	M	9	9
2	cesárea	M	9	10
3	fórceps	F	9	10
4	fórceps	M	9	10
5	cesárea	F	8	9
6	fórceps	F	9	10
7	cesárea	M	9	9
8	fórceps	F	8	9
9	cesárea	M	9	9
10	fórceps	F	9	9
11	fórceps	F	8	9
12	cesárea	F	9	9
13	normal	M	9	10
14	cesárea	M	9	10
15	cesárea	M	9	9
16	cesárea	F	8	9
17	normal	M	8	10
18	cesárea	F	8	9
19	cesárea	M	8	10
20	normal	M	9	9
21	fórceps	M	9	9

(continua)

Anexo E – Características dos recém-nascidos (continuação)

RN	Idade gestacional (semanas)	Peso (g)	Alexander (percentil)
1	40,1	3010	10 a 50
2	40,0	3660	50 a 90
3	39,1	2900	10 a 50
4	37,7	2600	10 a 50
5	39,0	3320	10 a 50
6	40,4	3190	10 a 50
7	40,0	3280	10 a 50
8	40,6	3240	10 a 50
9	40,1	3270	10 a 50
10	40,7	3060	10 a 50
11	38,6	3240	10 a 50
12	40,0	3290	10 a 50
13	40,1	3560	50 a 90
14	39,0	3060	10 a 50
15	37,6	3180	50 a 90
16	39,9	2890	10 a 50
17	38,4	3000	10 a 50
18	38,7	2940	10 a 50
19	40,0	3600	50 a 90
20	38,7	3480	50 a 90
21	39,1	3940	50 a 90

Anexo F – Evolução dos recém-nascidos

RN	Dieta recebida	Intercorrências	Dias de internação	TSH neonatal	USG renal
1	Nan I	HIV-RNA negativo	3	normal	normal
2	seio materno	Icterícia eritema tóxico	3	normal	normal
3	seio materno + Nan após 14d	CIA fechada	3	normal	normal
4	seio materno	icterícia	3	normal	normal
5	seio materno	icterícia	3	normal	normal
6	seio materno		3	normal	normal
7	seio materno	CIV fechada	3	normal	normal
8	seio materno	icterícia	3	normal	normal
9	seio materno		3	normal	normal
10	seio materno	bossa serossanguínea	3	normal	normal
11	seio materno	Icterícia eritema tóxico	3	normal	normal
12	seio materno	icterícia	3	normal	normal
13	seio materno	icterícia	3	normal	normal
14	seio materno	icterícia	3	normal	normal
15	Nan I	icterícia	3	normal	normal
16	seio materno	icterícia	3	normal	normal
17	seio materno	Icterícia cefaloematoma	3	normal	normal
18	seio materno	dente neonatal	4	normal	normal
19	seio materno		3	normal	normal
20	seio materno + Nan após 14d	icterícia	3	normal	normal
21	seio materno	icterícia	3	normal	normal

Anexo G – Evolução da diurese

RN	1ª micção (horas de vida)	Peso de fralda (g/kg/h)	
		2º dia	3º dia
1	0	1,7	1,4
2	0	1,4	1,3
3	6	2,4	2,1
4	7	1,8	2,2
5	7	2,8	1,7
6	11	3,1	1,9
7	0	2,3	2,2
8	6	2,0	4,2
9	11	1,5	1,9
10	6	2,6	2,4
11	7	2,4	2,1
12	4	1,4	3,1
13	0	2,5	2,7
14	7	1,5	3,1
15	0	3,7	2,9
16	7	1,3	2,0
17	8	1,4	2,6
18	8	2,3	2,4
19	0	2,3	3,0
20	0	2,3	2,6
21	9	1,8	2,9

Anexo H – Evolução do peso

RN	Peso (g)							> perda de peso (%)	Dia da > perda
	Dia 0	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 28		
1	3010	2935	2830	2840	3040		3970	6,0	2
2	3660	3575	3500	3500	3770		4860	4,4	2
3	2900	2750	2635	2630	3015		3840	9,3	3
4	2600	2570	2475	2460	2525		3650	5,4	3
5	3320	3250	3155	3270	3410		3910	5,0	2
6	3190	3100	3000	3000	3210		3850	6,0	2
7	3280	3260	3000	3015	3120		4145	8,5	2
8	3240	3120	3040	3090	3200		4430	6,2	2
9	3270	3210	3110	3110	3330		3855	4,9	2
10	3060	2870	2880	2780	2930	3120	3670	9,2	3
11	3240	3185	3180	3040	3150	3320	3900	6,2	3
12	3290	3120	3100	3075	3125	3420	4125	6,5	3
13	3560	3310	3350	3380	3600		4670	7,0	1
14	3060	2890	2830	2840	3125		3820	7,5	2
15	3180	3020	2930	2885	2950	3210	4005	9,3	3
16	2890	2710	2630	2610	2690	2985	3670	9,7	3
17	3000	2945	2835	2740	2820	3060	3450	8,7	3
18	2940	2810	2710	2745	2790	2990	3480	7,8	2
19	3600	3455	3400	3390	3500	3710	4320	5,8	3
20	3480	3235	3165	3200	3390	3560	4300	9,1	2
21	3940	3730	3675	3735	3780	3990	4450	6,7	2

Anexo I – Evolução do comprimento

RN	Comprimento (cm)			
	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 28
1	49,0	49,0	50,0	54,0
2	50,5	51,0	53,0	56,0
3	47,0	47,0	48,3	51,3
4	47,5	47,5	48,0	52,0
5	47,5	47,5	49,0	52,0
6	48,0	48,5	50,0	53,0
7	49,0	49,0	50,5	54,0
8	50,0	50,5	51,5	56,0
9	48,0	48,0	48,5	52,0
10	50,0	50,0	51,0	55,0
11	49,0	49,0	50,0	53,0
12	51,0	51,0	52,0	55,0
13	50,0	50,0	51,0	55,0
14	49,0	49,0	50,0	55,0
15	47,5	47,5	47,5	53,0
16	48,0	48,5	49,0	52,0
17	48,5	48,5	49,0	52,0
18	46,0	46,0	47,0	50,0
19	50,0	50,0	51,0	54,0
20	49,0	49,0	50,0	52,0
21	52,0	52,0	52,5	55,0

Anexo J – Evolução da pressão arterial (mmHg)

RN	Dia 1			Dia 2			Dia 3		
	Sist.	Diast.	Média	Sist.	Diast.	Média	Sist.	Diast.	Média
1	67,5	35,5	51,0	70,0	41,0	56,0	67,0	34,0	45,0
2	66,5	33,5	45,0	74,0	42,5	57,0	74,0	38,0	48,5
3	64,0	38,0	52,0	59,5	45,0	53,5	68,0	35,5	48,5
4	50,0	28,5	34,0	55,5	30,5	41,5	59,0	32,0	45,5
5	61,0	31,5	44,5	65,5	40,5	53,0	73,5	42,5	62,5
6	53,5	30,5	41,0	59,0	30,0	43,0	68,0	35,0	49,0
7	67,5	36,5	49,5	63,0	31,0	43,0	69,5	45,0	53,0
8	68,5	34,0	45,5	64,0	34,0	45,0	54,5	29,0	41,0
9	55,5	32,5	45,5	62,5	32,0	44,5	68,0	36,0	49,5
10	67,0	38,0	56,5	67,0	40,0	55,5	74,5	41,5	55,5
11	70,0	36,5	52,5	63,5	39,5	51,5	61,5	35,5	45,5
12	64,0	29,5	44,5	65,5	38,0	48,5	78,5	45,0	58,5
13	64,0	32,5	47,0	68,5	35,5	51,5	71,5	39,5	49,5
14	72,5	40,5	49,0	62,0	35,0	46,0	66,5	37,0	44,5
15	62,5	34,5	42,5	69,5	37,5	50,0	64,0	30,5	45,0
16	65,0	40,5	51,5	74,5	39,0	54,0	64,0	35,0	50,5
17	55,5	28,0	40,5	56,0	30,0	42,5	61,0	31,0	42,5
18	68,0	37,5	51,0	83,5	52,5	63,5	86,0	48,0	65,5
19	57,0	32,5	42,5	69,0	40,0	47,0	55,0	32,0	41,5
20	61,0	33,0	48,0	76,5	38,5	49,5	64,0	35,0	48,5
21	67,0	38,0	49,5	74,0	43,5	57,5	88,0	49,0	67,5

(continua)

Anexo J – Evolução da pressão arterial (mmHg) (continuação)

RN	Dia 7			Dia 28		
	Sist.	Diast.	Média	Sist.	Diast.	Média
1	82,0	43,0	53,5	81,0	45,5	57,5
2	83,0	49,0	62,0	87,0	48,5	63,0
3	87,0	44,0	64,0	82,0	47,0	60,0
4	72,5	44,0	56,0	63,5	35,0	43,5
5	71,0	42,5	53,0	85,5	50,0	70,0
6	68,5	35,0	45,0	75,0	40,0	53,0
7	65,0	38,5	51,5	72,5	46,0	55,0
8	63,5	31,0	44,0	72,0	42,5	58,0
9	84,5	50,0	67,0	75,0	37,0	51,5
10	75,5	42,5	60,0	98,5	67,5	67,0
11	87,0	53,0	71,5	79,0	46,0	66,5
12	80,5	51,0	66,5	85,0	47,0	66,5
13	86,5	53,5	66,5	82,5	51,0	68,0
14	69,0	47,0	55,5	68,0	39,5	51,0
15	71,0	37,0	51,5	79,0	44,0	51,0
16	72,5	48,0	61,0	85,5	55,5	68,5
17	61,0	35,0	48,5	72,0	44,0	56,0
18	77,0	42,0	51,5	87,5	53,5	64,5
19	78,0	50,5	62,5	76,0	41,5	50,5
20	60,0	33,5	41,5	96,5	55,5	75,5
21	93,0	56,5	70,5	94,0	55,5	65,5

Anexo K – Evolução da creatinina

RN	Creatinina (mg/dL)				
	Mãe	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 28
1	0,59	0,65	0,49	0,38	0,30
2	0,61	0,56	0,36	0,20	0,15
3	0,75	0,38	0,42	0,34	0,24
4	0,61	0,56	0,63	0,45	0,23
5	0,53	0,49	0,38	0,31	0,22
6	0,64	0,55	0,49	0,31	0,20
7	0,36	0,51	0,36	0,27	0,27
8	0,42	0,54	0,30	0,22	0,18
9	0,73	0,50	0,77	0,43	0,30
10	0,60	0,76	0,27	0,35	0,24
11	0,97	1,03	0,54	0,37	0,24
12	0,76	0,61	0,19	0,38	0,26
13	0,54	0,61	0,53	0,43	0,28
14	0,74	0,70	0,51	0,30	0,26
15	0,56	0,64	0,84	0,60	0,37
16	0,66	0,74	0,32	0,58	0,30
17	0,79	0,69	0,57	0,49	0,30
18	0,36		0,35	0,33	0,20
19	0,55	0,50	0,57	0,30	0,28
20	0,71	0,69	0,57	0,35	0,25
21	0,82	0,87	0,60	0,33	0,34

Anexo L – Evolução da cistatina C

RN	Cistatina C (mg/L)				
	Mãe	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 28
1	0,96	1,56	1,34	1,50	1,44
2	0,99	1,49	1,61	1,56	1,44
3	1,30	1,62	1,26	1,55	1,35
4	0,65	1,78	1,38	1,40	1,57
5	0,83	1,55	1,42	1,61	1,46
6	0,71	2,11	1,50	1,51	1,47
7	0,88	1,69	1,48	1,53	1,46
8	0,72	1,73	1,28	1,31	1,35
9	0,91	1,92	1,85	1,65	1,46
10	1,00	1,66	1,59	1,41	1,52
11	1,48	2,00	1,86	1,66	1,63
12	0,94	1,57	1,42	1,44	1,55
13	0,98	2,18	1,60	1,55	1,72
14	0,91	1,50	1,34	1,50	1,34
15	1,16	1,60	1,81	1,75	1,58
16	1,10	1,66	1,72	1,40	1,65
17	1,05	2,09	1,50	1,87	1,90
18	1,08	1,40	1,24	1,20	1,22
19	0,92	1,79	1,45	1,72	1,40
20	1,19	1,78	1,39	1,59	1,59
21	1,19	1,06	1,59	1,59	1,69

Referências

1. Haycock GM. Development of glomerular filtration and tubular sodium reabsorption in the human fetus and newborn. *Br J Urol* 1998;81:33-8.
2. Kon V, Ichikawa I. Glomerular circulation and function. In: Avner E D, Harmon WE, Niaudet P, editors. *Pediatric nephrology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.25-44.
3. Drukker A, Guignard J. Renal aspects of the term and preterm infant: a selective update. *Curr Opin Pediatr* 2002;14:175-82.
4. Giebisch G, Windhager E. Glomerular filtration and renal blood flow. In: Boron WF, Boulpaep E, editors. *Medical physiology - updated edition*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.757-73.
5. Aviles DH, Fildes RD, Jose PA. Evaluation of renal function. *Clin Perinatol* 1992;19:69-84.
6. Stevens LA, Levey AS. Measurements of kidney function. *Med Clin N Am* 2005;89:457-73.
7. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 1987;34:571-90.
8. Van Den Anker JN, Groot R, Broerse HM, Sauer PJ. Assessment of glomerular filtration rate in preterm infants by serum creatinine: comparison with inulin clearance. *Pediatrics* 1995;96:1156-8.
9. Guignard J, Drukker A. Why do newborn infants have a high plasma creatinine? *Pediatrics* 1999;103:e49.

10. Mussap M, Plebani M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004;41:467-550.
11. Grubb A, Löfberg H. Human γ -trace, a basic microprotein: amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:3024-7.
12. Barrett AJ, Davies ME, Grubb A. The place of human gamma-trace (cystatin C) among the cysteine proteinase inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;120:632-6.
13. Grubb AO. Cystatin C – properties and use as diagnostic marker. *Adv Clin Chem* 2000;35:63-99.
14. Janowski R, Kozak M, Jankowska E, Grzonka Z, Grubb A. Human cystatin C, an amyloidogenic protein, dimerizes through three-dimensional domain swapping. *Nature Struct Biol* 2001;8:316-20.
15. Dworkin LD. Serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001;10:551-3.
16. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003;63:1944-7.
17. Manetti I, Pardini E, Genovesi M, Campomori A, Grasso L, Morselli I. Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations. *J Endocrinol Invest* 2005;28:346-9.
18. Grubb A, Simonsen G, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of cystatin C, factor D and β_2 -microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand* 1985;218:499-503.

19. Löfberg H, Grubb A. Quantitation of gamma-trace in human biological fluids: indications for production in the central nervous system. *Scand J Clin Lab Invest* 1979;39:619-26.
20. Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nilsson-Ehle P, Lindstrom V, Grubb A. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1994;40:1921-6.
21. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Evaluation of the Dade Behring N Latex Cystatin C assay on the Dade Behring Nephelometer II System. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:1-8.
22. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2002;40:221-6.
23. Coll E, Botey A, Alvarez L, Poch E, Quinto L, Saurina A, Vera M, Piera C, Darnell A. Serum cystatin C as a marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 2000;36:29-34.
24. Roos J, Doust J, Tett S, Kirkpatrick C. Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children – a meta-analysis. *Clin Biochem* 2007;40:383-91.

25. Ylinen EA, Ala-Houhala M, Harmoinen APT, Knip M. Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients. *Pediatr Nephrol* 1999;13:506-9.
26. Helin I, Axenram M, Grubb A. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 1998;49:221-5.
27. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C - a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics* 1998;101:875-81.
28. Leake R, Trygstad C, Oh W. Inulin clearance in the newborn infant: relationship to gestational and postnatal age. *Pediatr Res* 1976;10:759-62.
29. Stickle D, Cole B, Hock K, Hruska KA, Scott M. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem* 1997;44:1334-8.
30. Willems HL, Hilbrands LB, Calseyde JF, Monnens LAH, Swinkels DW. Is serum cystatin C the marker of choice to predict glomerular filtration rate in paediatric patients? *Ann Clin Biochem* 2003;40:60-4.
31. Zaffanello M, Franchini M, Fanos V. Is serum cystatin C a suitable marker of renal function in children? *Ann Clin Lab Sci* 2007;37:233-40.
32. Takuwa S, Ito Y, Ushijima K, Uchida K. Serum cystatin C values in children by age and their fluctuation during dehydration. *Pediatr Int* 2002;44:28-31.

33. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JME, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates, and older children. *Arch Dis Child* 2002;82:71-75.
34. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Brodehl J. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatr Nephrol* 1998;12:125-9.
35. Fischbach M, Graff V, Terzic J, Bergère V, Oudet M, Hamel G. Impact of age on reference values for serum concentration of cystatin C in children. *Pediatr Nephrol* 2002;17:104-6.
36. Hoek FJ, Kemperman FAW, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:2024-31.
37. Filler G, Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 2003;18:981-5.
38. Zahran A, El-Husseini A, Shoker A. Can cystatin C replace creatinine to estimate glomerular filtration rate? A literature review. *Am J Nephrol* 2007;27:197-205.
39. Harmoinen A, Ylinen E, Ala-Houhala M, Janas M, Kaila M, Kouri T. Reference intervals for cystatin C in pre and full-term infants and children. *Pediatr Nephrol* 2000;15:105-8.

40. Bahar A, Yilmaz Y, Unver S, Gocmen I, Karademir F. Reference values of umbilical cord and third-day cystatin C levels for determining glomerular filtration rates in newborns. *J Int Med Res* 2003;31:231-5.
41. Treiber M, Balon BP, Gorenjak M. Cystatin C versus creatinine as a marker of glomerular filtration rate in newborns. *Wien Klin Wochenschr* 2006; 118:66-70.
42. Jedrasiak U, Grygalewicz J. The influence of delivery and perinatal risk factors on the cystatin C in umbilical cord blood. *Pol Merk Lek* 2007;134:110-5.
43. Malamitsi-Puchner A, Briana D, Kontara L, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, Marmarinos A, Gougiotis D. Serum cystatin C in pregnancies with normal and restricted fetal growth. *Reprod Sci* 2007;14:37-42.
44. Cataldi L, Mussap M, Bertelli L, Ruzzante N, Fanos V, Plebani M. Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant newborns: relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinatol* 1999;16:287-95.
45. Capurro H, Konichezky S, Fonseca D, Caldeyro-Barcia R. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1978;93:120-2.
46. Ramos JLA, Corradini HB, Vaz FAC, Barros JCR, Novo ACCF. Avaliação da idade gestacional e da adequação do crescimento intra-uterino. In: Marcondes E, Vaz FAC, Ramos JLA, Okay Y, editores. *Pediatria básica*. 9^a ed. São Paulo: Sarvier; 2002. p.321-9.

47. Alexander G, Himes J, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. *Obstet Gynecol* 1996;87:163-8.
48. Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. *Drugs in pregnancy and lactation*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
49. Zubrow AB, Hulman S, Kushner H, Falkner B. Determinants of blood pressure in infants admitted to neonatal intensive care units: a prospective multicenter study. *J Perinatol* 1995;15:470-9.
50. Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price C. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem* 1997;43:1016-20.
51. McPherson R, Pincus MR. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 21st ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.
52. Andriolo A. Compostos nitrogenados não proteicos. In: Andriolo A, Carraza F, editores. *Diagnóstico laboratorial em pediatria*. 2^a ed. São Paulo: Sarvier; 2007. p.109-14.
53. Ogden CL, Kuczmarski RJ, Flegal KM, Mei Z, Guo S, Wei R, Grummer-Strawn LM, Curtin LR, Roche AF, Johnson CL. Centers for disease control and prevention 2000 growth charts for the United States: improvements to the 1997 national center for health statistics version. *Pediatrics* 2002;109:45-60.
54. Chevalier RL. Developmental renal physiology of the low birth weight pre-term newborn. *J Urol* 1996;156:714-9.

55. Rostand SG. Oligonephronia, primary hypertension and renal disease: 'is the child father to the man?' *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1434-8.
56. American Academy of Pediatrics, Committee on Fetus and Newborn and American College of Obstetricians and Gynecologists, Committee on Obstetric Practice. Use and abuse of the Apgar score. *Pediatrics* 1996;98:141-2.
57. American Academy of Pediatrics, Committee on Fetus and Newborn and American College of Obstetricians and Gynecologists, Committee on Obstetric Practice. The Apgar score. *Pediatrics* 2006;117:1444-7.
58. Martin-Ancel A, Garcia-Alix A, Gaya F, Cabanas F, Burgueros M, Quero J. Multiple organ involvement in perinatal asphyxia. *J Pediatr* 1995;127:786-93.
59. Limwongse C, Cassidy SB. Syndromes and malformations of the urinary tract. In: Avner E D, Harmon WE, Niaudet P, editors. *Pediatric Nephrology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.25-44.
60. Grandjean H, Larroque D, Salvator L. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in the Eurofetus Study. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:446-54.
61. Docimo SG, Silver RL. Renal ultrasonography in newborns with prenatally detected hydronephrosis: why wait? *J Urol* 1997;157:1387-9.

62. Landy HJ. The impact of maternal illness on the neonate. In: MacDonald MG, Seshia MMK, Mullett MD, editors. *Avery's Neonatology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p.202-23.
63. Beckman DA, Fawcett LB, Brent RL. The effects of maternal drugs on the developing fetus. In: MacDonald MG, Seshia MMK, Mullett MD, editors. *Avery's Neonatology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p.225-60.
64. King SM. Evaluation and Treatment of the Human Immunodeficiency Virus-1–Exposed Infant. *Pediatrics* 2004;114:497-505.
65. Havens PL, Waters D. Management of the infant born to a mother with HIV infection. *Pediatr Clin N Am* 2004;51:909-37.
66. Amey M, Butchard N, Hanson L, Kinross D, Mannion M, Parsons J, Wright I. Cautionary tales from the neonatal intensive care unit: diapers may mislead urinary output estimation in extremely low birthweight infants. *Pediatric Critical Care Medicine* 2008;9:76-9.
67. Oddie S, Adappa R, Wyllie J. Measurement of urine output by weighing nappies. *Arch Dis Fetal Neonatal Ed* 2004;89:180-1.
68. Brace RA. Fluid distribution in the fetus and neonate. In: Polin RA, Fox WW, Abman SH, editors. *Fetal and neonatal physiology*. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2004. p.1341-50.
69. Powes N. How to assess slow growth in the breastfed infant birth to 3 months. *Pediatr Clin N Am* 2001;48:345-63.

70. Macdonald PD, Ross SR, Grant L, Young D. Neonatal weight loss in breast and formula fed infants. *Arch Dis Fetal Neonatal Ed* 2003;88:472-6.
71. Report of the second task force on blood pressure control in children. *Pediatrics* 1987;79:1-25.
72. Nafday SM, Brion LP, Benchimol C, Satlin LM, Flynn JT, Edelmann Jr CM. Renal disease. In: MacDonald MG, Seshia MMK, Mullett MD, editors. *Avery's Neonatology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p.981-1065.
73. Butani L, Morgenstern BZ. Are pitfalls of oscillometric blood pressure measurement preventable in children? *Pediatr Nephrol* 2003;18:313-8.
74. Maayan-Metzger A, Hadad E, Sirota L. Transepidermal water loss and skin hydration in preterm infants during phototherapy. *Am J Perinatol* 2001;18:393-6.
75. Maisels MJ. Jaundice. In: MacDonald MG, Seshia MMK, Mullett MD, editors. *Avery's Neonatology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p.202-23.
76. Chenadec J, Mayauxa M, Blanchec S. Perinatal antiretroviral treatment and hematopoiesis in HIV-uninfected infants. *AIDS* 2003;17:2053-61.
77. Rose SR, Brown RS, Wilkins L. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics* 2006;117:2290-303.

78. Rudd PT, Hughes EA, Placzek MM, Hodes DT. Reference ranges for plasma creatinine during the first month of life. *Arch Dis Child* 1983;58:212-5.
79. Brion LP, Fleischman AR, McCarton C, Schwartz GJ. A simple estimate of glomerular filtration rate in low birth weight infants during the first year of life: noninvasive assessment of body composition and growth. *J Pediatr* 1986;109:698-707.
80. Bueva A, Guignard JP. Renal function in preterm neonates. *Pediatr Res* 1994;36:572-7.
81. Awad H, El-Safty I, El-Barbary N, Imam S. Evaluation of renal glomerular and tubular functional and structural integrity in neonates. *Am J Med Sci* 2002;324:261-6.
82. Babay Z, Wakeel J, Addar M, Mittwalli A, Tarif N, Hammad D. Serum cystatin C in pregnant women: reference values, reliable and superior diagnostic accuracy. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2005;32:175-9.
83. Lain KY, Markovic N, Ness PB, Roberts JM. Effect of smoking on uric acid and other metabolic markers throughout normal pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5743-6.
84. Sanders CL, Lucas MJ. Renal disease in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2001;28:593-600.
85. Jones EE, DeCherney AH. Fertilization, pregnancy and lactation. In: Boron WF, Boulpaep E, editors. *Medical physiology - updated edition*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.1167-89.

86. Janson T, Powell T, Illsley N. Non-electrolyte solute permeabilities of human placental microvillous and basal membranes. *J Physiol* 1993;468:261-74.
87. Guignard JP, Torrado A, Da Cunha O, Gautier E. Glomerular filtration rate in the first three weeks of life. *J Pediatr* 1975;87:268-72.
88. Fawer CL, Torrado A, Guignard JP. Maturation of renal function in full-term and premature neonates. *Helv Pediatr Acta* 1979;34:11-21.
89. Coulthard MG, Hey EN, Ruddock V. Creatinine and urea clearances compared to inulin clearance in preterm and mature babies. *Early Hum Dev* 1985;11:11-9.