

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: PEDIATRIA

**VALORES DA
N-ACETIL- β -D-GLUCOSAMINIDASE URINÁRIA
EM RECÉM-NASCIDOS A TERMO NORMAIS**

ARLENIO PEREIRA DA COSTA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Brasil, 2000

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: PEDIATRIA

**VALORES DA
N-ACETIL- β -D-GLUCOSAMINIDASE URINÁRIA
EM RECÉM-NASCIDOS A TERMO NORMAIS**

ARLENIO PEREIRA DA COSTA

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Weissheimer

A apresentação desta dissertação é exigência do Curso de Pós-Graduação em Medicina: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil, 2000

C837v Costa, Arlenio Pereira da

Valores da n-acetil-[beta]-d-glucosaminidase em recém-nascidos a termo normais / Arlenio Pereira da Costa ; orient. Clóvis Weissheimer. – Porto Alegre, 2000.
68 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina : Pediatria.

1. Rim : lesões. 2. Recém-nascido. 3. N-acetil-beta-d-glucosaminidase. I. Weissheimer, Clóvis. II. Título.

NLM: WS 320

À Maria Luiza, com todo o meu amor e carinho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Divido o mérito desta conquista à **Dra. Viviane Rocha de Barros** que com dedicação e competência co-orientou a realização deste trabalho, compreendendo minhas angústias e me apoiando incansavelmente.

AGRADECIMENTOS

Sempre que realizamos qualquer coisa na vida, várias pessoas nos ajudam. Desejo manifestar minha gratidão aos que tiveram uma presença marcante na realização deste trabalho.

- aos meus pais **Eloÿ e Arlenio**, pelo exemplo e pelo estímulo constante;
- aos meus irmãos **Ana Cristina, Elenio e Ane Lise**, por todo o apoio e incentivo dados em todas as etapas de minha vida;
- ao **Prof. Dr. Clóvis Weissheimer**, pelo investimento na minha formação acadêmica;
- ao **Prof. Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira**, pela prestimosa preparação do material para análise deste estudo, pelo ensino das técnicas de laboratório e pela disponibilização do aparelho de espectrofotometria do Laboratório de Pesquisa do HCPA;
- às médicas **Betânia Bohrer, Grasielle A.S. Lebrelato, Luciane Schneider e Natacha Toniuzzi**, pela ajuda na coleta dos dados;
- à estagiária **Patrícia Sperotto Ceccon**, pelo auxílio na dosagem da creatinina urinária;

- às secretárias **Rosane Blanguer** (Curso de Pós-Graduação em Pediatria) e **Marta Regina Dotto** (Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação), pela atenção e disposição em ajudar;
- ao **Dr. Mário Wagner** e à estatística **Vânia Naomi Hirakata**, pelo auxílio na análise estatística;
- aos colegas **Mário Rita**, **Sílvia Milman** e **Vera Lúcia Leite Rocha**, pelo companherismo essencial, principalmente, na fase final do trabalho;
- à **Profa. Dra. Maria do Horto Soares Motta**, pelas horas agradáveis de convivência e pelo seu empenho na revisão da Língua Portuguesa desta dissertação;
- à colega **Simone Fagondes Canani**, pela gentil tradução do resumo para a Língua Inglesa;
- a minha prima, **Cinthia Maria Pereira**, pela sua ajuda na arte final;
- à bibliotecária **Helen Flores**, pela disposição em realizar a ficha catalográfica
- à **CAPES** e ao **CNPQ**, pelo auxílio-pesquisa concedido;
- a todos os **pais** que concordaram com a participação de seus filhos nesta pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 - Avaliação da Função Renal em Recém-Nascido	1
1.2 - Proteínas e Enzimas Urinárias como Marcadores de Função Renal	2
1.3 - N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG).....	4
1.3. 1 - Aspectos Gerais.....	4
1.3. 2 - Determinação Laboratorial.....	5
1.3. 3 - Aspectos Clínicos	8
1.3. 4 - NAG em Recém-Nascidos.....	11
2. JUSTIFICATIVA.....	18
3. OBJETIVOS.....	19

3.1 - Geral.....	19
3.2 - Secundários	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 - Delineamento do Estudo.....	20
4.2 - Considerações Éticas.....	20
4.3 - Local de Realização.....	21
4.4 - Definições Gerais.....	21
4.5 - Pacientes	22
4.6 - Coleta do Material.....	24
4.7 - Técnicas Laboratoriais.....	24
4.7. 1 - Análise da NAG	24
4.7. 2 - Análise da Creatinina Urinária	25
4.8 - Variáveis em Estudo.....	25
4.9 - Análise Estatística	26
5. RESULTADOS.....	27
6. DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÕES	38
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

ANEXOS

LISTA DE ABREVIATURAS

AT – a termo

Atb – antibiótico

C – centígrados

CPR-NAG – 3,3-diclorofenilsulfoftaleinil N-acetil- β -D-glucosaminida

Cr ur – creatinina urinária

dl – decilitro

dv – dias de vida

Foto – Fototerapia

g – grama

GPPG – Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IG – idade gestacional

LAM – líquido amniótico meconial

mg – miligrama

mmol - milimol

MCP-NAG – sódio *m*-cresolsulfoftaleinil N-acetil- β -D-glucosaminida

MNP-GlcNac – 2 metoxi-4-(2'-nitrovinil)-fenil N-acetil- β -D-glucosaminida

NAG – N-acetil- β -D-glucosaminidase

PMT – prematuro

PNP-Glc-Nac – p-nitrofenil N-acetil- β -D-glucosaminida

RBP – *retinol binding protein*

SPSS – *Statistical Package for Social Science*

TFG – taxa de filtração glomerular

TTRN – taquipnéia transitória do recém-nascido

U – unidade

UTI – unidade de tratamento intensivo

VRA-GlcNac – amonia-5-[4-(2-acetoamida-2-deoxi- β -D-glucopiranosiloxi)-3-metoxifenilmetileno]-2-tioxotiazolidina-4-one-3-etanoato

μ mol – micromol

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1 - Curva de distribuição do índice NAG em recém-nascidos a termo normais

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Expressão de excreção das enzimas urinárias
- TABELA 2 - Valores da NAG – Revisão da Literatura
- TABELA 3 - Índice NAG em recém-nascidos a termo e prematuros
- TABELA 4 - Comparação de dados clínicos em recém-nascidos com hiperbilirrubinemia
- TABELA 5 - Índice da NAG em recém-nascidos com hiperbilirrubinemia antes e após tratamento
- TABELA 6 - Efeito da asfixia sobre a atividade da NAG ($\mu\text{mol/litro}$)
- TABELA 7 - Efeito da gentamicina sobre a atividade da NAG ($\mu\text{mol/litro}$) em 24 – 48h
- TABELA 8 - Concentração urinária da atividade da NAG ($\mu\text{mol/litro}$) conforme grau de asfixia pelo score de Sarnat (estágio clínico de encefalopatia hipóxico-isquêmica)
- TABELA 9 - Características gerais da população com relação ao sexo
- TABELA 10 - Características gerais do grupo de pacientes doentes
- TABELA 11 - Valores médios do índice NAG (U/g creatinina urinária) nos recém-nascidos doentes

RESUMO

A detecção de comprometimento renal no período neonatal através de testes laboratoriais é muito importante, uma vez que, neste período, os sinais das doenças renais estão ausentes ou inespecíficos.

Os testes laboratoriais são úteis no sentido de detectar precocemente alterações da função do rim, para que medidas terapêuticas sejam adotadas a fim de prevenir o avanço da doença.

Nos últimos anos, tem se dado ênfase à dosagem da enzima urinária N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG) como parâmetro para detecção de lesão renal.

Entretanto, os estudos até agora realizados não mostram valores concordantes, o que leva cada centro a determinar seus valores de normalidade.

Buscando contribuir com mais dados sobre a função renal dos recém-nascidos, procuramos determinar a concentração da NAG urinária, medida pelo seu índice sobre a creatinina urinária, em amostras de urina de recém-

nascidos a termo normais do HCPA, verificar sua variação com o sexo e viabilizar a técnica de determinação da NAG urinária em recém-nascidos.

Os valores encontrados da NAG urinária em recém-nascidos a termo sadios no nosso estudo foram de $14,14 \pm 7,56$ U/g, sendo a técnica utilizada não invasiva, rápida e não dispendiosa.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa nos valores do índice NAG quando comparados os sexos.

ABSTRACT

The assessment of renal damage in the neonatal period by means of laboratory tests is very important considering the fact that, in this period, the signs of renal diseases are absent or may not have a specific presentation

Laboratory tests are useful in the sense that they allow early detection of renal function abnormalities, giving to adequate therapeutic management in order to prevent the progress of the disease.

In the last years, more emphasis has been given to the urinary dosage of N- acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) as a parameter for detection of renal lesion.

However, the clinical studies performed so far did not demonstrate any agreement within values, leading each center to determine its own normal values.

With the idea of contributing with additional data on renal function in the newborn population, we conducted a study to determine the urinary concentration of NAG, measured by its index over urinary creatinine, using urine samples from the full- term newborn babies, to verify its variation

according to sex and to make feasible the determination of the NAG technique in newborns.

The values of urinary NAG in healthy fullterm newborn, in our study, was $14,14 \pm 7,56$ U/g, using a non invasive, fast and low cost technique.

Regarding to sex, there was no statistical significant difference in the NAG index values.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 - Avaliação da Função Renal em Recém-Nascidos

É mais difícil estimar a função renal em recém-nascidos do que em lactentes, pré-escolares e escolares.

A dosagem da creatinina plasmática e a depuração da creatinina endógena são as formas mais difundidas de avaliar a função renal de adultos e crianças, no entanto, em neonatos, essas determinações não são parâmetros tão adequados. A creatinina plasmática é elevada ao nascimento, provavelmente refletindo a concentração plasmática de creatinina materna, e cai rapidamente durante os primeiros dias de vida, com valores estabilizando-se em cerca de 0,4 mg/dl em torno do 5º dia de vida em bebês a termo e um pouco mais tarde em prematuros (FELDMANN & GUIGNARD, 1982). Conseqüentemente, nos primeiros dias de vida, a dosagem de creatinina não fornece uma idéia adequada da função do rim.

Além dos níveis falsamente elevados nos primeiros dias de vida, outros fatores podem prejudicar o uso da creatinina plasmática como marcadora de função renal em recém-nascidos. Em função dos baixos níveis de creatinina esperados no sangue de neonatos, pequenas variações nas medidas laboratoriais podem falsamente alterar a concentração medida. A maior parte dos laboratórios clínicos determina a creatinina através da reação de Jaffé, que pode ser afetada por várias substâncias interferentes, como a bilirrubina. Valores obtidos por esse método muitas vezes

superestimam a concentração real de creatinina, quando os valores são abaixo de 1,0 mg/dl. Técnicas enzimáticas são mais específicas, mas também sofrem a interferência da bilirrubina, o que limita seu uso. A cromatografia líquida de alta pressão e a espectrofotometria de massa dão resultados mais confiáveis, porém não são métodos que possam ser utilizados de rotina (GUIGNARD, 1996).

As dificuldades na determinação da concentração real da creatinina em recém-nascidos representam uma desvantagem no seu uso como marcador de função renal, principalmente nos prematuros. Por essa razão, tem sido constante a busca por outros marcadores adicionais de dano renal que, analisados em conjunto com a creatinina, forneçam uma idéia melhor da possibilidade de lesão renal em neonatos. Entre eles destaca-se a dosagem da excreção urinária de determinadas enzimas e proteínas de baixo peso molecular.

1.2 – Proteínas e Enzimas Urinárias como Marcadores de Função Renal

Ao longo dos últimos anos têm havido um interesse especial na dosagem urinária de proteínas de baixo peso molecular para o diagnóstico da função renal (MAACK et al., 1979). Essas proteínas são livremente filtradas na membrana basal glomerular e depois reabsorvidas e catabolizadas nas células do túbulo proximal. Se a capacidade de reabsorção tubular está reduzida ou se há dano das células tubulares renais por agentes nefrotóxicos, a excreção dessas proteínas aumenta e pode tornar-se um índice adequado de disfunção tubular renal (GUDER & HOFMANN, 1992). Em um rim normal, a reabsorção das proteínas de baixo peso molecular pelas células tubulares proximais é quase completa, de maneira que apenas traços delas são excretados na urina. Como consequência, as proteínas de baixo peso molecular são

marcadores sensíveis de alterações da função tubular proximal e sua excreção urinária reflete a capacidade reabsortiva dos túbulos proximais. Portanto, são recomendadas como marcadores úteis para detecção de pequenas mudanças no túbulo proximal (PISCATOR, 1991). Além disso, a alteração de sua excreção urinária é um marcador mais precoce de lesão renal do que as alterações na concentração da creatinina plasmática. Várias proteínas de baixo peso molecular têm sido utilizadas como marcadores, no entanto algumas dificuldades de ordem prática têm limitado seu uso. A β_2 -microglobulina é instável em urina ácida (DAVEY & GOSLING, 1982). A α_1 -microglobulina e a *retinol binding protein* (RBP) são mais estáveis e, portanto, melhores marcadores. Contudo sua determinação laboratorial não é simples, nem barata, para emprego rotineiro

Paralelamente ao uso de proteínas de baixo peso molecular, que são filtradas pelo glomérulo e reabsorvidas no túbulo proximal, tem sido descrito o emprego de enzimas urinárias na detecção de lesão renal. Embora um grande número de enzimas urinárias sejam excretadas na urina pelo rim, muitas são instáveis e, por isso, inadequadas para uso clínico. Uma lista parcial de enzimas urinárias inclui a alanina-aminopeptidase, a gama-glutamyltransferase, a ribonuclease, a fosfatase alcalina, a lisozima, a β -glucuronidase e a N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) (MUSSAP et al., 1996). A NAG tornou-se a enzima urinária mais utilizada para a detecção de lesão renal, sendo reconhecida como parâmetro de referência para o estudo de nefrotoxicidade induzida por drogas (PRICE, 1992; FANOS & CATALDI, 1996).

1.3 – N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG)

1.3.1 – Aspectos Gerais

A NAG é uma hidrolase encontrada em grande quantidade nos lisossomos dos túbulos contorcidos proximais renais e tem papel importante no catabolismo de glicoproteínas. Possui um peso molecular de 136.000 dáltons, que impede sua filtração pelo glomérulo, já que apenas proteínas com peso molecular de até 80.000 dáltons são filtradas; mesmo assim, pequenas quantidades podem ser excretadas normalmente em decorrência da ação metabólica e da rotatividade das células tubulares renais (LANGHENDRIES et al., 1988; CSÁTHY et al., 1990; GUDER & HOFMANN, 1992; PRICE, 1992; CSÁTHY & PÓCSI, 1995; FANOS & CATALDI, 1996).

A NAG sangüínea é eliminada pelo fígado muito rapidamente, com uma meia-vida de 5 minutos; conseqüentemente, a NAG urinária é proveniente quase que exclusivamente dos rins. Ela normalmente não é encontrada na urina normal ou no plasma (RAAB, 1972; CHEN et al., 1991).

Diversas isoenzimas da NAG, com características físico-químicas próprias são encontradas na urina, sendo as formas A e B as principais. No líquido amniótico e na urina de recém-nascidos há um predomínio da isoenzima B, enquanto que na urina de adultos predomina a forma A (AGOSTI et al., 1986; PRICE, 1992; VIGANÒ et al., 1981).

1.3.2 – Determinação Laboratorial da NAG

Diversas técnicas têm sido descritas para determinar a atividade da NAG urinária, entre elas a espectrofotometria desenvolvida por Maruhn em 1976, utilizando como substrato o 4-nitrofenil-N-acetil- β -D-glucosaminida. Um dos problemas deste método está no fato de se ter que realizar filtração com gel das amostras urinárias para eliminar substâncias inibidoras e interferentes (JUNG & PRIEM, 1991; CSÁTHY & PÓCSI, 1995). Jung et al. mostraram que, em condições ideais, o teste convencional, utilizando como substrato o 4-nitrofenil-N-acetil- β -D-glucosaminida, apresenta resultados idênticos mesmo sem a realização da filtração com gel (JUNG et al., 1991).

A estabilidade das isoenzimas da NAG em amostras de urina a 37°C é afetada pelo pH do meio; em condições pouco ácidas (pH = 6), não há perda significativa de sua atividade, mas em condições alcalinas (pH = 8) a atividade da isoenzima forma A cai rapidamente (MORITA et al., 1998).

Não há perda de atividade da NAG urinária quando a urina é armazenada por um período de 24h em temperatura ambiente ou até a 4°C, e se mantém após 1 mês quando armazenada entre - 20°C e - 70°C. As amostras podem ficar armazenadas por vários dias a 4 - 6°C, e por diversos meses a - 20°C, sem que haja alteração na atividade da NAG. Não há perda da atividade urinária da NAG após centrifugação (HORAK et al., 1981; MATTEUCCI et al., 1991).

O cálculo da atividade enzimática urinária por mililitro de urina é praticamente sem valor, pois em períodos de diurese ou anti-diurese, as unidades por

mililitro variam muito em razão da diferença na perfusão dos canalículos tubulares e alterações da permeabilidade da membrana tubular. Além disso, a rotatividade é acelerada com o aumento da diurese. Em urinas concentradas, a concentração da enzima é maior (RAAB, 1972).

Os intervalos de referência da atividade da NAG podem variar significativamente devidos às diferenças de análise técnica, principalmente porque a atividade depende das condições da reação, como o substrato utilizado, a concentração do substrato e a temperatura do meio. Os principais problemas disto são a falta de comparação dos resultados encontrados, a insuficiente correlação entre os métodos e a indisponibilidade dos valores de referência (JUNG, 1991; MUSSAP et al., 1996).

Diferentes formas de expressão dos valores têm sido utilizados para a caracterização da excreção das enzimas urinárias; a coleta de urina de 24 horas permanece o método padrão para a quantificação e, geralmente é recomendado para reduzir a variabilidade análise excretada. Entretanto, essas amostras são inconvenientes de se coletar e freqüentemente duvidosas, pela quantidade não exata do volume coletado, especialmente no período neonatal. Assim sendo, é mais conveniente coletar amostra de urina e medir a taxa de excreção da enzima tendo como referência a concentração de creatinina urinária presente na amostra (índice enzima/creatinina), que é apropriada para a idade, para o sexo e para o peso do paciente (JUNG, 1991; MUSSAP et al., 1996). As diferentes referências para a expressão de excreção urinária da enzima são apresentadas na tabela 1 (JUNG, 1991). Uma revisão dos diversos estudos realizados em recém-nascidos,

mostrando que não há uma uniformidade dos valores da NAG, é apresentada na tabela 2.

Tabela 1 – Expressão de excreção das enzimas urinárias

Base referência	Unidade	Vantagem	Desvantagem
Atividade enzima (concentração catalítica)	U/l	Sem necessidade de medida ou cálculo adicional	Depende da diurese
Taxa de excreção por tempo	U/24 h U/minuto	Meio convencional de expressar a excreção	Acurácia da amostra da urina e volume medido; depende da diurese; inativação das enzimas ao longo do dia
Atividade enzima/ creatinina urinária	U/mmol U/g	Utilização de amostras de urina; compensação do efeito da diurese	Medidas adicionais; creatinina depende da idade, sexo, massa muscular; problemas técnicos de determinação da creatinina
Atividade enzima/ gravidade	U/kg	Utilização de amostras de urina; compensação do efeito da diurese	Medidas adicionais; erros causados por aumento de proteínas, glicose e sais na urina
Atividade enzima/ osmolalidade	U/mosmol	Utilização de amostras de urina; compensação do efeito da diurese	Medidas adicionais; erros causados por alteração na excreção de sais (efeitos da dieta e hormonal)
Atividade enzima/ clearance de creatinina	U/l	Indicador de massa renal funcional	Medidas e cálculos adicionais; acurácia do tempo da amostra da urina

Adaptada de Jung, 1991

Tabela 2 – Valores da NAG. Revisão da Literatura

Autores	Pacientes	Técnicas	Resultados
Agosti et al., 1986	7 RN AT* sadios	Fluorimetria	3914nmol/h/mg cr
Bertotti et al., 1987	38 RN AT sadios	Espectrofotometria	27,80um/mg cr
Langhendries et al., 1987	20 RN AT sadios	Espectrofotometria	1,75 ± 1,1 µmol/mmol
Watanabe et al., 1987	8 RN AT sadios 1 dv **	Espectrofotometria	21 ± 12 U/mg cr
	8 RN AT sadios 2 dv	Espectrofotometria	30 ± 15 U/mg cr
Feldman et al., 1989	10 RN AT sadios	Espectrofotometria	0,32 ± 0,09 U/mmol cr
Csáthy et al., 1990	30 RN AT sadios	Espectrofotometria	3,09 ± 1,54 µmol/min/mmol
Roberts et al., 1990	17 RN AT sadios	Espectrofotometria	134 µmol/h/mmol
Chen et al., 1991	15 RN AT sadios 1 dv	Espectrofotometria	12 ± 8 U/g cr
	15 RN AT sadios 3 dv	Espectrofotometria	8 ± 6 U/g cr
	15 RN AT sadios 5 dv	Espectrofotometria	11 ± 9 U/g cr
Pócsi et al., 1992	54RN AT sadios	Espectrofotometria	3,16 ± 1,55 µmol/min/mmol cr
Sheu et al., 1993	25 RN AT sadios	Espectrofotometria	41,2 ± 14,6 U/g cr
Simeoni et al., 1994	52 RN AT sadios	Espectrofotometria	6,94 ± 0,58 U/mmol cr
Willis et al., 1997	55 RN AT sadios	Espectrofotometria	1,89 ± 1,21 U/ml cr

* RN AT - recém-nascidos a termo

** dv - dias de vida

1.3.3 – Importância Clínica

Por ser um marcador bastante sensível de dano tubular renal, por um aumento da sua atividade normalmente preceder as alterações dos testes usuais de função

renal e por sua atividade variar com o progresso do processo patológico, a determinação urinária da atividade da NAG tem sido difundida. Estudos têm demonstrado que este é um marcador efetivo em indicar mais precocemente sinais de rejeição de transplante renal, detectar envolvimento renal em pacientes com diabetes melito e hipertensão arterial, monitorar os efeitos nefrotóxicos de drogas como cisplatina, aminoglicosídeos e ciclosporina e distinguir infecção urinária do trato urinário superior do inferior, configurando-se ainda como um exame rastreador para lesão renal decorrente de exposição ambiental a agentes tóxicos como chumbo e mercúrio (FLYNN, 1990).

Wellwood et al. mediram a atividade da NAG urinária em 181 pacientes transplantados renais durante um período de 15 meses, tendo observado que a atividade aumentava imediatamente após o transplante e que diminuía rapidamente na ausência de complicações (WELLWOOD et al., 1978).

Relatos da literatura demonstram que a atividade urinária da NAG sofre variação com a idade, havendo uma relação inversa entre estas, ou seja, ela vai decaindo com o aumento da idade (OSBORNE, 1980; JUNG et al., 1990; SIMEONI et al., 1994).

Storalek et al. propuseram que a NAG urinária fosse utilizada como exame de rotina para monitoração precoce de dano renal por ser prático, ter pouca variação pela manhã e possuir alto poder de individualidade e baixa heterogeneidade entre indivíduos (STORALEK et al., 1989).

Após exercícios físicos, a excreção urinária da NAG não aumenta; o mesmo não acontece com as concentrações de proteínas totais, albumina, β_2 -microglobulina

e creatinina, que têm seus níveis aumentados após esforço físico (MIYAI & OGATA, 1990).

Em caso de proteinúria, há um aumento da excreção urinária da NAG, que retorna aos níveis normais quando da remissão da doença que a desencadeou. O aumento da atividade da NAG nessa situação não diferencia pacientes com síndrome nefrótica de lesões mínimas de pacientes com outras glomerulopatias, somente reflete a atividade da doença (RING et al., 1992).

Para diferenciar a excreção urinária da NAG em crianças com infecção do trato urinário superior e em crianças com infecção do trato urinário inferior, foi realizado um estudo que observou excreção urinária maior nas do primeiro grupo bem como queda da excreção da NAG após o tratamento com antibióticos, exceto quando o tratamento incluiu aminoglicosídeos. Nesse mesmo trabalho houve aumento da isoenzima B da NAG somente nos pacientes com infecção do trato urinário superior (VIGANÒ et al., 1983).

Watanabe et al., estudando a excreção urinária da NAG em crianças com até 1 ano de idade, verificaram que a atividade da NAG, avaliada pelo seu índice (NAG/creatinina urinária), foi maior no primeiro mês de vida e diminuiu ao longo do primeiro ano. Não foi constatada diferença entre amostra de urina de 12 horas e amostra urinária única (WATANABE et al., 1987).

A excreção urinária da NAG pode sofrer algumas variações durante o dia. Um estudo, realizado por Feldmann et al., comprovou que a excreção urinária da NAG em crianças é maior pela manhã (FELDMANN et al., 1989).

1.3.4 - NAG em Recém-Nascidos

A excreção urinária aumentada de NAG tem sido correlacionada com dano tubular em crianças com uma série de doenças renais. Nos adultos já se mostrou ser um bom exame preditivo de toxicidade pelos aminoglicosídeos ao epitélio tubular. Poucos dados existem sobre a excreção urinária desta enzima em recém-nascidos (APERIA et al., 1981; PRICE, 1982; LANGHENDRIES et al., 1987). Chen et al. demonstraram que o índice NAG (NAG/creatinina urinária) permanece constante no período neonatal (CHEN et al., 1991).

Agosti et al. verificaram que no líquido amniótico e na urina de recém-nascidos a NAG é diferente da encontrada na urina de adultos, o que indica que existem isoenzimas fetais. Tanto no líquido amniótico quanto na urina dos recém-nascidos, a concentração da NAG foi significativamente maior que na urina de adultos; da mesma forma que em crianças de 2 anos. Esse estudo também observou um aumento da isoenzima B na urina de crianças com infecção do trato urinário e em recém-nascidos, sendo considerada a forma imatura; a isoenzima A é encontrada nos adultos em maior quantidade (AGOSTI et al., 1986).

A atividade da NAG avaliada em 34 recém-nascidos (14 prematuros com idade gestacional entre 32 e 35 semanas e 20 a termo, todos do sexo masculino) mostrou ser maior no grupo de recém-nascidos prematuros (média de $4,43 \pm 2,41$ $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ de creatinina no grupo dos prematuros e de $1,75 \pm 1,41$ $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ de creatinina no grupo dos a termo). Nesse mesmo estudo não foi encontrada diferença estatística entre coleta de urina de 24 horas e de amostra isolada ($3,6 \pm 2,39$

$\mu\text{mol}/\text{mmol}$ de creatinina e $4,43 \pm 2,41$ $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ de creatinina respectivamente) (LANGHENDRIES et al., 1987).

Watanabe et al., verificaram que não havia diferença na excreção urinária da NAG nas 2 primeiras semanas de vida, quando comparados recém-nascidos prematuros com idade gestacional entre 33 e 36 semanas e recém-nascidos a termo. Também observaram que os níveis urinários da enzima, nos recém-nascidos em uso de tobramicina, mantiveram-se elevados até 5 dias após a suspensão da medicação, e os recém-nascidos asfixiados tiveram valores mais elevados na primeira semana (WATANABE et al., 1987).

A função renal é afetada pela idade gestacional, pela idade pós-natal e pelas condições clínicas dos recém-nascidos. Entretanto, poucos dados são disponíveis sobre os efeitos destes fatores na excreção urinária da NAG. Sabe-se que ela é estável na urina e que sua excreção diurna varia muito pouco (LANGHENDRIES et al., 1988; TSUKAHARA et al., 1994).

Em recém-nascidos prematuros aos quais estava sendo administrado aminoglicosídeo (netilmicina), observou-se um aumento significativo, até 2 dias após a interrupção do tratamento, da excreção urinária da NAG, medida através do índice NAG/creatinina (LANGHENDRIES et al., 1989).

A policitemia provoca aumento na excreção urinária da NAG em recém-nascidos, sendo que após o tratamento os níveis voltam ao normal mais rapidamente nas meninas do que nos meninos. Como na policitemia, recém-nascidos prematuros com síndrome do desconforto respiratório apresentam excreção urinária aumentada

da NAG com retorno aos níveis normais em torno de 14 dias de vida (CSÁTHY et al., 1990).

Ao estudarem recém-nascidos asfisiados (índice Apgar ≤ 5 no 5º minuto ou pH artéria umbilical $\leq 7,2$) e compararem-nos com recém-nascidos sadios sem asfisia, Roberts et al. observaram que a excreção urinária da NAG foi significativamente maior nos asfisiados (ROBERTS et al., 1990). Os mesmos achados são descritos por Fanos et al. quando os recém-nascidos apresentavam asfisia; porém, quando insuficiência renal estava associada, os valores eram ainda maiores (FANOS et., 1996).

Recém-nascidos prematuros e a termo, quando doentes, apresentam excreção urinária da NAG e índice NAG significativamente maiores que recém-nascidos sem doença. A presença de líquido amniótico meconial aumenta a concentração urinária da NAG. Os dados encontram-se na tabela 3 (CHEN et al., 1991).

Tabela 3 – Índice NAG em recém-nascidos a termo e prematuros

	ÍNDICE NAG/creatinina*		
	1	3	5
Dias de vida	1	3	5
RN AT** sadios (n = 15)	12	8	11
RN AT asfixiados (n = 6)	350	190	125
RN AT com LAM*** (n = 13)	14	17	18
RN PMT**** sadios (n = 12)	18	28	15
RN PMT doentes (n = 10)	133	130	116

Adaptada de Chen et al., 1991

* valores expressos em U/g creatinina urinária

** recém-nascidos a termo

***líquido amniótico meconial

**** recém-nascidos prematuros

Sheu et al., observando a excreção urinária de NAG em recém-nascidos com hiperbilirrubinemia, concluíram que a bilirrubina não-conjugada está diretamente envolvida no prejuízo da filtração glomerular e na função tubular de recém-nascidos com níveis de bilirrubina não-conjugada acima de 20mg/dl. Os defeitos de função renal são transitórios, reversíveis e podem ser prevenidos com a redução dos níveis plasmáticos de bilirrubina. Nesse estudo foram analisados 75 recém-nascidos com idade gestacional entre 37 e 42 semanas e que apresentavam hiperbilirrubinemia com predomínio da bilirrubina não-conjugada (sendo 35 com níveis de bilirrubina não-conjugada acima de 20 e 40 com níveis abaixo de 20) e comparados com 25 recém-nascidos sem hiperbilirrubinemia. Os valores da NAG foram maiores no grupo com níveis acima de 20, tendo os valores mais acentuadamente se aproximado do normal

após início do tratamento com fototerapia. Os principais resultados encontram-se nas tabelas 4 e 5 (SHEU et al., 1993).

Tabela 4 – Comparação de dados clínicos em recém-nascidos com hiperbilirrubinemia e controles

GRUPO	1(n = 35)	2(n = 40)	3(n = 25)
Bilirrubina (mg/dl)	27,2±5,5	16,4±2,1	7,4±1,9
Índice NAG (U/g)	134±51,1	45±12,3	41,2±14,6

Adaptada de Sheu et al., 1993

Tabela 5 – Índice NAG nos recém-nascidos com hiperbilirrubinemia antes e após tratamento

GRUPO	1 (n = 27)		2 (n = 32)	
	Pré-tratamento	Pós-tratamento	Pré-tratamento	Pós-tratamento
Índice NAG (U/g)	131,3 ± 47,6	49,5 ± 20,1	44,1 ± 1,8	43,5 ± 14,3

Adaptada de Sheu et al., 1993

Tsukahara et al. mediram a excreção urinária de NAG em recém-nascidos a termo e em prematuros com 1, 4, 7, 14 e 21 dias de vida. Os grupos foram divididos em 73 a termo sadios, 44 prematuros sadios entre 33 e 35 semanas de idade gestacional, 17 prematuros sadios entre 30 e 32 semanas e 17 prematuros doentes entre 30 e 32 semanas que nasceram deprimidos e que desenvolveram insuficiência respiratória necessitando de ventilação mecânica por 1 a 12 dias. Nenhum recém-nascido apresentava insuficiência renal, definida como creatinina plasmática acima de 1,5mg/dl por mais de 24 horas. Os autores observaram que a NAG urinária mostrou um pico no 4º e no 7º dia e que foi maior conforme o grau de

prematuridade. No grupo dos prematuros doentes ela permaneceu elevada por 2 semanas (TSUKAHARA et al., 1994).

Analisando o índice urinário da NAG em neonatos a termo sadios ($n = 55$) e em neonatos a termo com asfixia perinatal ($n = 35$), Willis et al. concluíram que a excreção urinária da NAG inicialmente aumenta no grupo dos asfixiados e retorna aos valores do grupo dos normais em 4 a 6 semanas de vida e que os níveis são proporcionais ao grau de asfixia. Para poder identificar a influência dos aminoglicosídeos na excreção urinária da NAG, os autores analisaram a enzima em 13 recém-nascidos com taquipnéia transitória do recém-nascido sem asfixia perinatal e em 12 com asfixia, todos usando gentamicina pelo menos nas primeiras 24h de vida. Os níveis foram maiores do que os do grupo de recém-nascidos normais; o grupo de asfixiados que recebeu gentamicina teve valores maiores do que os do grupo com taquipnéia transitória do recém-nascido. Os resultados estão apresentados nas tabelas 6, 7 e 8 (WILLIS et al., 1997).

Tabela 6 – Efeito da asfixia sobre a atividade da NAG ($\mu\text{mol/litro}$)

	24–48h (n=55)	4-6d (n=52)	4-6sem (n=41)
Normais	1,89 ± 1,21	3,50 ± 3,36	2,57 ± 1,86
Asfixiados	28,84 ± 65,56	29,31 ± 85,57	2,20 ± 1,27

Adaptada de Willis et al., 1997

Tabela 7 – Efeitos da gentamicina sobre a NAG ($\mu\text{mol/litro}$) em 24 – 48h

Grupo	Controle (n = 55)	TTRN* + gentamicina (n = 13)	Asfixia + gentamicina (n = 47)
Média	1,89 \pm 1,21	5,03 \pm 2,78	22,40 \pm 56,93

Adaptada de Willis et al., 1997

*Taquipnéia transitória do recém-nascido

Tabela 8– Concentração urinária da atividade da NAG ($\mu\text{mol/litro}$) conforme grau asfixia pelo escore de Sarnat (estágio clínico de encefalopatia hipóxico-isquêmica)

Grupo	Controle (n=55)	Sarnat 1 (n=12)	Sarnat 2 (n=15)	Sarnat 3 (n=7)
Média	1,89 \pm 1,21	9,28 \pm 9,08	20,71 \pm 14,30	68,54 \pm 144,56

Adaptada de Willis et al., 1997

2 - JUSTIFICATIVA

Considerando a importância da avaliação da função renal na homeostasia do recém-nascido e levando-se em conta que em recém-nascidos a utilização da creatinina plasmática como parâmetro de estimativa da função renal tem valor limitado nos primeiros dias de vida, pois reflete os valores maternos, uma determinação laboratorial de fácil realização e que não exija coleta de sangue poderia ser uma melhor alternativa para detecção de lesão renal.

O comprometimento da função renal é determinante no ajuste das dosagens de administração de medicações necessárias ao recém-nascido.

A dosagem da NAG urinária é um potencial marcador de função renal.

Elaboramos este estudo com o intuito de estabelecer os valores normais da NAG em recém-nascidos a termo normais como ponto de referência para investigação futura.

3 - OBJETIVOS

3.1 - Geral

- Determinar a atividade da NAG urinária, através do índice NAG (NAG/creatinina urinária), em recém-nascidos a termo normais.

3.2 - Secundários

- Avaliar se existe variação na atividade da enzima na urina conforme o sexo.
- Alertar os neonatologistas que existe uma técnica alternativa para a avaliação da função renal do recém-nascido.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Delineamento do Estudo

O delineamento básico utilizado foi de um estudo de corte transversal, com eixo de unidade individual, contemporâneo e de natureza observacional. Teve como desfecho a concentração urinária da NAG em recém-nascidos a termo normais, medida através de seu índice, e como fator de estudo o sexo dos recém-nascidos.

4.2 - Considerações Éticas

Todas as puérperas cujos filhos foram selecionados para o estudo receberam uma explicação verbal e escrita sobre os objetivos da pesquisa e noções gerais sobre o tema da investigação, sendo então solicitado o consentimento por escrito para a coleta da urina (Anexo 1).

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão Científica e Comissão de Ética em Saúde, do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do HCPA, sob o nº 98266, tendo sido considerado ética e metodologicamente adequado, de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos (Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde) e com as Resoluções Normativas do GPPG/HCPA.

4.3 - Local de Realização

O estudo foi realizado no HCPA, Hospital Escola da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, nas unidades de Neonatologia e Alojamento Conjunto, onde foram feitas as coletas da urina e preenchida a ficha de coleta de dados (Anexo 2).

A análise bioquímica das amostras foi realizada no Laboratório de Pesquisa do HCPA.

4.4 – Definições Gerais

Idade gestacional – a idade gestacional pediátrica, presente na ficha do recém-nascido, foi avaliada de acordo com o método de Capurro (avaliação feita pelos doutorandos da Faculdade de Medicina da UFRGS) (CAPURRO et al., 1979) ou com o de Ballard (avaliação feita pelos médicos residentes de Pediatria ou pelos médicos contratados da UTI Neonatal do HCPA) (BALLARD et al., 1991), sendo este último utilizado quando o método de Capurro indicava idade gestacional abaixo de 34 semanas. Para caracterizar prematuridade, foi considerado o critério da Organização Mundial da Saúde, ou seja, todo recém-nascido com menos de 37 semanas de idade gestacional (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1961).

Atividade NAG – quantidade de excreção da enzima na amostra da urina. Seu valor é expresso em U/l ou $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{l}$.

Índice NAG – medida da atividade da NAG corrigida pela creatinina urinária. Seu valor é expresso em U/g creatinina.

4.5 - Pacientes

Foram incluídos no estudo os pacientes nascidos a termo sadios no HCPA entre 13 de outubro e 11 de novembro de 1998.

Nesse período foram registrados 362 nascimentos no HCPA. O número de casos estudados foi de 113 pacientes. As perdas ocorreram porque:

- os pais não consentiram que o filho participasse do estudo;
- os recém-nascidos tiveram alta precoce, antes de 36 horas de vida (o tempo médio de vida dos recém-nascidos quando da coleta da urina foi 2 dias de vida);
- os recém-nascidos não haviam urinado no turno de realização da coleta;
- houve contaminação da amostra com fezes;
- os recém-nascidos não preencheram os critérios de inclusão.

Paralelamente foram coletados dados num grupo de 39 recém-nascidos, no mesmo período, com potenciais fatores de aumento da excreção urinária da NAG, como uso de antibiótico, presença de asfixia, hiperbilirrubinemia e prematuridade. Os dados desses pacientes serão apresentados e comentados no capítulo de Discussão, mas não farão parte do estudo.

As características gerais da população podem ser vistas na tabela 9, considerando a variável sexo.

Tabela 9 – Características gerais da população com relação ao sexo

Sexo	Feminino	Masculino
	n (%)	n (%)
	43 (38)	70 (62)

As características gerais dos 39 pacientes com fatores que reconhecidamente aumentam a excreção da NAG adicionalmente estudados, podem ser vistas na Tabela 10, considerando as seguintes variáveis: idade gestacional, uso de antibiótico, hiperbilirrubinemia e asfixia.

Tabela 10 – Características gerais do grupo de pacientes doentes

Características	Frequência
AT + Atb	9
AT + Foto	7
AT + Atb + Foto	1
AT + Atb + Asfixia	1
AT + Atb + Foto + Asfixia	1
PMT	8
PMT + Atb	3
PMT + Foto	1
PMT + Atb + Foto	3
PMT + Atb + Asfixia	3
PMT + Atb + Foto + Asfixia	2

AT (a termo), Atb (uso de antibiótico), Foto (fototerapia), PMT (prematuro)

4.6 - Coleta do Material

Diariamente, no turno da manhã, um dos coletadores ia ao centro obstétrico para conferir os nascimentos do dia anterior. A seguir, o mesmo se dirigia à unidade de Alojamento Conjunto do HCPA onde verificava os dados pertinentes e solicitava autorização por escrito dos pais para participação de seu filho no estudo. Quando permitido, eram colocados os sacos coletores de urina nas crianças.

Após coletada, a urina era acondicionada em tubos de ensaio de vidro esterilizados e imediatamente armazenada a -20°C , no Laboratório de Pesquisa do HCPA, para subsequente análise.

O tempo de estocagem do material, até ser feita a análise da atividade da enzima, variou de 5 a 7 meses. A diluição do substrato para análise era preparado pelo Bioquímico responsável por esse procedimento.

A leitura do resultado da atividade da enzima foi feita sempre pelo autor do trabalho.

A análise da creatinina urinária foi efetuada no Laboratório de Pesquisa do HCPA pelo Chefe do Laboratório e por uma estagiária, sob supervisão do Chefe.

4.7 - Técnicas Laboratoriais

4.7.1 - Análise da NAG

O método adotado para a análise da NAG foi o de espectrofotometria utilizando como substrato o p-nitrofenil-N-acetil- β -D-glucosaminida

(PNP-Glc-Nac-ase) (Sigma Aldrich Química Brasil Ltda) pela técnica de Mahrun, sem ser feita filtração com gel (MARUHN, 1976).

As determinações foram efetuadas em duplicata e utilizada a média das 2 determinações.

A atividade da NAG é proporcional à absorvância do íon p-nitrofenilato (405 nm) liberado após a correção da absorvância da amostra “branca” de urina. A mesma foi calculada em unidades internacionais por litro de urina (U/l 37°C) usando-se o coeficiente de extinção molar do p-nitrofenol em solução alcalina (pH > 10,0) que é $18,5 \times 10^3 \text{ l mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Após, procedia-se à correção por grama de creatinina urinária. O resultado final fornece o índice NAG/creatinina urinária em U/g creatinina urinária.

A leitura foi feita em espectrofotômetro, aparelho *Spectrophotometer Hitachi U-2000* pertencente ao Laboratório de Pesquisa do HCPA.

4.7.2 - Análise da Creatinina Urinária

A creatinina urinária foi dosada pelo método automatizado do picrato alcalino segundo reação de Jaffé (SLOT, 1965), em auto-analisador COBAS MIRA. Seu resultado é expresso em g/l.

4.8 - Variáveis em Estudo

As variáveis em estudo foram obtidas dos prontuários obstétricos e dos recém-nascidos (Anexo 2).

A variável independente avaliada foi o sexo do recém-nascido e a variável dependente foi o índice da NAG, medido pela relação da concentração urinária da NAG com a creatinina urinária.

4.9 - Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados foi realizado com a utilização do programa computadorizado SPSS (*Statistical Package for Social Science*) (SPSS, 1993).

O nível de significância adotado foi de 5%.

A partir de uma diferença de $\pm 1,4$ U/g creatinina urinária entre os valores mínimos e máximo da média da concentração da NAG e um desvio-padrão de característica de 7,6 U/g creatinina urinária e, considerando um α de 0,05, foi estimado um tamanho amostral aproximado de 115 pacientes.

Para a análise das variáveis contínuas foram avaliadas a média e o desvio-padrão e utilizado o teste t de Student.

O resultado da avaliação do índice NAG/creatinina urinária mostrou uma curva de distribuição assimétrica, razão pela qual foram adotados valores de mediana e amplitude de variação (valores mínimos e máximos) para analisar os dados obtidos.

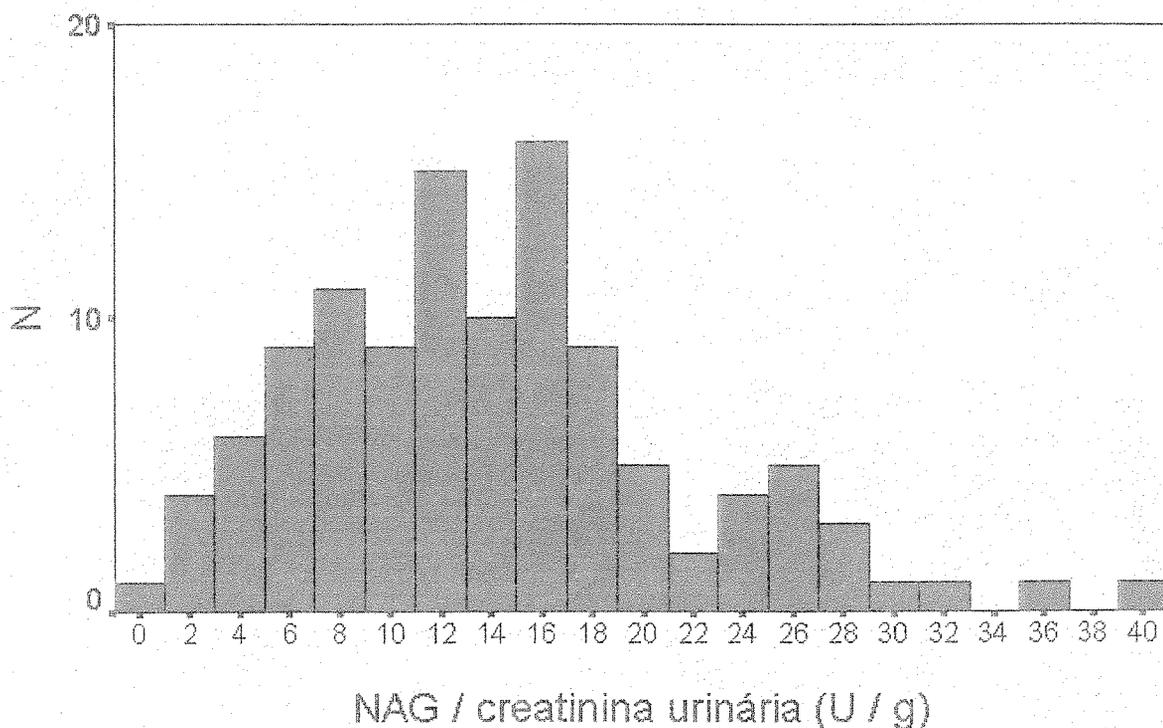
Os testes estatísticos aplicados foram não-paramétricos.

O teste de Mann-Whitney para amostras não pareadas foi usado na comparação entre grupos de pacientes.

5 - RESULTADOS

A média dos valores da NAG (índice NAG) nos recém-nascidos a termo normais foi de $14,14 \pm 7,56$ U/g creatinina urinária (0,94 – 40,4). A figura 1 mostra a curva de distribuição dos valores encontrados em nosso estudo do índice NAG (NAG/ creatinina urinária).

FIGURA 1 - Curva de distribuição do índice NAG em recém-nascidos a termo normais



Não houve diferença significativa nos valores da NAG entre os sexos dos recém-nascidos a termo normais (Feminino = $14,06 \pm 6,90$; Masculino = $14,20 \pm 8,03$).

Os resultados dos testes laboratoriais individuais dos pacientes encontram-se no Anexo 3.

Os valores encontrados no grupo dos pacientes doentes encontram-se apresentados na tabela 11. Os valores referem-se à média.

Tabela 11 – Valores médios do índice NAG (U/g creatinina urinária) nos recém-nascidos doentes

Características	Frequência	Média
AT + Atb	9	80,48
AT + Foto	7	27,23
AT + Atb + Foto	1	30,10
AT + Atb + Asfixia	1	232,20
AT + Atb + Foto + Asfixia	1	282,80
PMT	8	17,00
PMT + Atb	3	140,83
PMT + Foto	1	44,00
PMT + Atb + Foto	3	149,48
PMT + Atb + Asfixia	3	129,09
PMT + Atb + Foto + Asfixia	2	123,15

AT (a termo), Atb (uso de antibiótico), Foto (fototerapia), PMT (prematureo)

6 – DISCUSSÃO

A avaliação laboratorial da função renal na rotina clínica é feita normalmente através da dosagem da creatinina. A medida da taxa de filtração glomerular pode ser indiretamente feita através da depuração da creatinina endógena ou calculada através de fórmulas, sendo a fórmula de Schwartz (SCHWARTZ et al, 1987) a mais difundida e aceita em pediatria. No entanto tais exames, especialmente no período neonatal, nem sempre detectam ou excluem o comprometimento da função renal em estágios iniciais. Os níveis aumentados de creatinina e uréia plasmáticas são manifestações tardias de dano renal. A depuração da creatinina endógena, embora mais precisa, é sujeita a erros, principalmente relacionados à coleta inexata de urina de 24 horas, além das imprecisões inerentes à dosagem de creatinina plasmática em recém-nascidos. Na prática pediátrica, o uso da concentração plasmática de creatinina apresenta desvantagens, principalmente porque ela é dependente da idade e do sexo do paciente, além da taxa de filtração glomerular. Os fatores que mais influem na concentração plasmática da creatinina nos lactentes e crianças são o progressivo aumento na taxa de filtração glomerular, o aumento da massa muscular e, durante os primeiros dias de vida, a carga de creatinina exógena materna. Nos recém-nascidos a termo, a queda da creatinina, que expressa os valores maternos, ocorre nos primeiros 5 dias de vida; nos prematuros essa queda é mais lenta. Outros fatores que podem afetar a acurácia da determinação plasmática da creatinina são as pequenas variações laboratoriais devido a baixas concentrações de creatinina no

sangue dos recém-nascidos e a interferência de substâncias como a bilirrubina na determinação pela reação de Jaffé (GUIGNARD, 1996). Assim sendo, cabe enfatizar que valores normais não significam ausência de disfunção renal, o que determina um valor diagnóstico limitado. A creatinina plasmática não mostra alteração até que cerca de 40% da taxa de filtração glomerular esteja reduzida em adultos e crianças mais velhas. Em neonatos, que já nascem com a taxa de filtração glomerular “fisiologicamente” reduzida, isso adquire importância ainda maior.

O túbulo proximal é o principal local de reabsorção de proteínas, eletrólitos e glicose e muito sensível a agentes nefrotóxicos e lesões isquêmicas.

As pesquisas na área da insuficiência renal aguda mostram que a agressão tóxica ou isquêmica ocorre primariamente no compartimento túbulo-intersticial e não no glomérulo. Estudos em pacientes com uma série de nefropatias onde foi feita a análise histomorfológica de biópsias renais mostraram que o prejuízo da função renal é maior nos túbulos e interstício. Nesses trabalhos ficou evidente que, quando há atrofia tubular e fibrose intersticial, a perda da função renal pode ser antecipada; na ausência delas, a função renal pode ser preservada, mesmo se ocorrerem alterações evidentes na morfologia do glomérulo (MUSSAP et al., 1996). Sendo assim, testes que meçam a função tubular são marcadores mais precoces e sensíveis de lesão renal incipiente, enquanto a creatinina, que é marcador de função glomerular, é mais tardia.

Nos últimos anos tem se observado um interesse na avaliação renal mediante a dosagem das proteínas de baixo peso molecular presentes no plasma e urina, que são livremente filtradas através da parede capilar, reabsorvidas e catabolizadas nas

células tubulares proximais. Se a capacidade de reabsorção tubular estiver reduzida ou se as células tubulares forem danificadas por isquemia, drogas ou agentes tóxicos, a excreção urinária dessas proteínas aumenta, podendo ser um índice adequado de disfunção tubular renal. No rim normal, a reabsorção dessas proteínas pelas células tubulares renais é quase completa, tanto que somente traços de proteínas são excretados na urina. Em situações de lesão, quantidades maiores passam a ser excretadas em função do prejuízo na reabsorção tubular.

A detecção precoce de dano renal é importante tanto nos recém-nascidos prematuros quanto nos recém-nascidos clinicamente doentes, para que se possa adequar o aporte hídrico e eletrolítico e tentar remover o agente causador de lesão, bem como proteger esse neonato de danos renais subseqüentes. Tais considerações levam ao reconhecimento da necessidade de se utilizar um método mais fácil, mais preciso e que não exija coleta de sangue para a determinação da função renal no recém-nascido.

A medida da atividade da NAG urinária está bem estabelecida como um útil marcador de detecção de dano tubular renal. A espectrofotometria utilizada para sua determinação laboratorial é mais simples e mais rápida do que as técnicas utilizadas na dosagem de β_2 -microglobulina, α -1-microglobulina e RBP (radioimunoensaio e imunoabsorventes ligados de enzimas), todos também reconhecidos e sensíveis marcadores de lesão tubular. A NAG é estável na urina, ao contrário da labilidade da β_2 microglobulina.

A pesquisa da NAG tem se mostrado eficiente marcador precoce de lesões renais: ela não sofre variação diurna em sua excreção; as variações no fluxo urinário

podem ser compensadas pela correção da atividade urinária da NAG pela concentração urinária de creatinina; a atividade da NAG não é afetada pela colonização bacteriana da urina; a atividade da NAG geralmente é normal em sujeitos com proteinúria postural; as amostras de urina podem ser armazenadas por muitos dias a $4 - 6^{\circ} \text{C}$ e a -20°C por meses sem alterar a atividade da enzima (HORAK et al., 1981). As técnicas de pesquisa da NAG são simples e baratas, pelo que sua pesquisa pode ser usada como teste de rotina para detecção e monitoração de lesão renal. Com base na bibliografia consultada optamos pela dosagem da NAG, fazendo sua correção pela creatinina urinária. Esta técnica tem a vantagem de utilizar amostra de urina ocasional e ser compensada pelo efeito da diurese (JUNG, 1991), o que facilita a coleta, pois em recém-nascidos é difícil recolher urina em 24h. O ajuste dos valores baseados na concentração de creatinina é preferível, principalmente em urinas muito concentradas, em que a atividade enzimática pode estar aumentada, ou muito diluídas, situação na qual a atividade enzimática pode estar diminuída (PRICE, 1982).

Embora o HCPA funcione durante as 24 horas do dia, tivemos o cuidado de fazer as coletas sempre no turno da manhã e sempre pelas mesmas pessoas treinadas, sob supervisão do autor do trabalho, para que todas as amostras fossem coletadas da mesma forma. E mais, como a maioria das altas no Alojamento Conjunto ocorre pela manhã, poderia se tornar difícil ou até mesmo inviável a coleta das amostras em outro horário. Os relatos na literatura não mostram variações nas concentrações da NAG conforme o horário da coleta (BERTOTTI et al., 1987). Um trabalho, realizado em crianças sadias com idade variando entre 6 e 15 anos, indica uma variação diurna

na excreção da NAG sendo sua atividade maior pela manhã (FELDMANN et al., 1989).

Alguns aspectos devem ser considerados quando da decisão da medida de rotina da excreção da NAG urinária: a atividade deve ser diretamente determinada em uma amostra não tratada de urina; a medida da atividade deve ser realizada com um equipamento analítico utilizado nos laboratórios de análises químicas e, quando possível, uma medida contínua deve ser aplicada para a sua determinação (JUNG & PRIEM, 1993).

Uma descrição detalhada com a caracterização das diversas técnicas usadas na determinação da atividade da NAG, incluindo as fórmulas estruturais de seus substratos, foi feita por Price (PRICE, 1992). Um levantamento dos métodos usados na determinação da NAG em recém-nascidos e crianças foi efetuado por Csáthy e Pócsi (CSÁTHY & PÓCSI, 1995).

Numerosos testes colorimétricos têm sido recomendados para determinar a atividade da NAG. Uma vez que a atividade é afetada por inibidores presentes na urina, um pré-tratamento das amostras com filtração com gel, diluição ou ultrafiltração tem sido sugerido antes de a determinação ser realizada (JUNG et al., 1991). Em condições ideais, utilizando-se o já conhecido substrato PNP-GlcNac, não se faz necessária a filtração com gel, e na comparação com outros três substratos – 2 metoxi-4-(2'-nitrovinil)-fenil N-acetil- β -D-glucosaminida (MNP-GlcNac), sódio *m*-cresolsulfoftaleinil N-acetil- β -D-glucosaminida (MCP-NAG) e 3,3-diclorofenilsulfoftaleinil (CPR-NAG) –, a NAG mostrou ter alta atividade e boa correlação. Por ser a coloração do íon *p*-nitrofenolato parecida com a da urina, um

pré-tratamento de cada amostra deveria ser realizado com filtração com gel (JAVED et al., 1992).

Inicialmente a enzima foi pesquisada fluorometricamente, mas, devido a problemas de padronização laboratorial, o método acabou sendo substituído pela técnica colorimétrica ou espectrofotometria. O primeiro substrato usado na técnica colorimétrica foi o PNP-GlcNac, mas este procedimento tem a desvantagem de apresentar um *background* muito elevado devido à coloração da urina. Para evitar esse problema em nossa pesquisa, sempre foi usado um frasco considerado branco, que não continha urina, para corrigir a interferência da coloração da urina entre uma análise e outra (PRICE et al., 1990).

Pócsi et al. compararam os substratos MNP-GlcNac e 5-[4-(2-acetoamido-2-deoxi- β -D-glucopiranosiloxi)-3-metoxifenilmetilene]-2-tioxotiazolidin-4-one-3-etanoato (VRA-GlcNac) com o anteriormente usado PNP-GlcNac na técnica colorimétrica. Observaram que o VRA-GlcNac possui maior sensibilidade e maior precisão mesmo quando a atividade da enzima é baixa.; também uma filtração com gel como pré-tratamento da urina não se faz necessária com este substrato (PÓCSI et al., 1992). Em outro estudo, os autores concluem que a técnica com estes três substratos pode ser usada com alta confiança pelos pediatras (OLÁH et al., 1994).

Como pode ser observado na tabela 2 (pág. 8) os valores de literatura para NAG em RN variam muito.

Os variação dos resultados mostrada na tabela 2 aponta para a ausência de um consenso em torno das unidades-padrão utilizadas para o valor da NAG e dos valores de referência, talvez porque cada estudo seja feito com substratos diferentes, devendo

cada centro adotar a sua unidade e determinar os seus valores. Nosso estudo optou pela técnica de espectrofotometria, utilizando como substrato o PNP-Glc-Nac por já ser usado em análise de adultos no HCPA.

A análise de nossos resultados nos permite sugerir o valor de $14 \pm 7,56$ U/g como o intervalo de normalidade da NAG para os recém-nascidos a termo normais.

A comparação dos valores da NAG urinária entre os sexos não mostrou diferença estatisticamente significativa no presente estudo. Esses achados são semelhantes aos observados por Osborne ao avaliar a atividade desta enzima em adultos (OSBORNE, 1980).

Mesmo não se constituindo objetivo de nosso estudo, optamos por também fazer a medida da NAG urinária em RN prematuros e a termo doentes, para observar se realmente havia alteração nos níveis e validar o método como forma de rastreamento de disfunção renal. Trata-se de uma observação de poucas crianças e, como o grupo era muito heterogêneo, não foi possível inferir quais os níveis esperados nas diferentes situações. No entanto, pode-se claramente perceber que a atividade da NAG tende a ser mais elevada nos prematuros e nos recém-nascidos a termo doentes, ictericos e em uso de antibióticos, fato que reforça a importância do teste como marcador.

Embora Simeoni et al. tenham demonstrado valores de atividade da NAG urinária maiores nos recém-nascidos prematuros quando comparados com os a termo, uma diferença estatisticamente significativa no índice NAG entre os recém-nascidos prematuros normais e os a termo normais não foi observada no presente estudo. Isto pode ter ocorrido porque em nosso trabalho, além do tamanho amostral

entre os grupos ser muito diferente, o que dificulta a comparação, todos esses recém-nascidos prematuros tinham idade gestacional igual ou acima de 34 semanas, período no qual a nefrogênese está completa. Ao analisarmos todos os recém-nascidos prematuros, incluindo aqueles com algum problema, e os compararmos com os a termo normais, encontramos diferença estatística significativa (SIMEONI et al., 1994). Langhendries et al. também encontraram diferença nos valores da NAG quando compararam os resultados entre recém-nascidos prematuros, com idade gestacional entre 32 e 35 semanas, e recém-nascidos a termo (LANGHENDRIES et al., 1987).

Por outro lado, Watanabe et al. não observaram diferença nos níveis urinários da NAG nas duas primeiras semanas de vida entre recém-nascidos prematuros de 33 a 36 semanas de idade gestacional e recém-nascidos a termo, o que vem corroborar nossos achados (WATANABE et al., 1987). Da mesma forma, Csáthy et al. não puderam demonstrar diferença estatística nos índices da NAG entre recém-nascidos a termo e prematuros nas duas primeiras semanas de vida (CSÁTHY et al., 1990).

Embora houvesse somente um pequeno número de pacientes a termo em uso exclusivo de antibiótico e que não tinham outra patologia associada, observamos uma diferença estatisticamente significativa entre esse grupo, que apresentou valores maiores, e o dos recém-nascidos a termo normais. Langhendries et al. mostraram que o uso de aminoglicosídeo aumenta o índice NAG e que, após a interrupção do uso, esse índice retorna aos valores de normalidade (LANGHENDRIES et al., 1989).

Como todos os pacientes que sofreram asfixia apresentavam outros fatores que alteram os valores da NAG – prematuridade e/ou hiperbilirrubinemia e/ou uso de

antibiótico – não foi possível determinar a real influência deste incidente nos valores da NAG. O pequeno número de pacientes não permitiu realizar-se uma análise utilizando o teste Q de comparações múltiplas para localizar as diferenças entre esses grupos.

Em relação à hiperbilirrubinemia, não foi feita uma análise estatística isolada porque o número de casos que se apresentava somente com icterícia era muito pequeno e porque não havíamos feito as dosagens da enzima nos pacientes antes e após o início do tratamento, como Sheu et al. já mostraram em seu trabalho, em que após o início do tratamento com fototerapia os valores da NAG caíram. Esses mesmos autores observaram que quanto maior o nível de icterícia, mais elevados eram os valores da NAG (SHEU et al., 1993).

7 - CONCLUSÕES

Tendo em vista os objetivos a que nos propusemos e pela análise dos dados obtidos de 113 amostras de urina de recém-nascidos a termo normais do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, podemos estabelecer as conclusões abaixo.

- A concentração da NAG, medida pelo seu índice, apresentou uma média de $14,14 \pm 7,56$ U/g creatinina urinária..
- Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos valores do índice NAG entre os sexos.
- A técnica proposta é passível de realização em nosso meio, sendo pouco dispendiosa, de aplicação precoce, de execução rápida e dispensando coleta sanguínea; sem deixar, contudo, de prescindir da execução de outros exames laboratoriais habitualmente utilizados.

Sugerimos que novos estudos, preferentemente multicêntricos e randomizados, sejam realizados para que a NAG urinária possa vir a ser utilizada como um real marcados da função renal do recém-nascido.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agosti S, Assael BM, Masturzo P, Salmona M. N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) levels in amniotic fluid or urine in prenatal and postnatal life. *Early Hum Dev* 1986; 14: 229-232.
2. Aperia A, Broberger O, Elinder G, Herin P, Zetterström R. Postnatal development of renal function in pre-term and full-term infants. *Acta Paediatr Scand* 1981; 70: 183-187.
3. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Ellers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr* 1991; 119: 417-23.
4. Bertotti A, Mangiarotti MA, Peratoner L, Stormi M, D'Avanzo R, De Marchi S, Barbone F. Studio dell'escrezione urinaria dell'alfa-glucosidasi, N-acetil-glucosaminidasi e alanina-aminopeptidase nel neonato a termino sano. *Min Ped* 1987; 39: 445-450.
5. Capurro H, Konichewzky S, Fonseca D. Simplified method for diagnosis of gestacional age in the newborn infant. *J Pediatr* 1979; 93:120-2.
6. Chen J, Lee Y, Liu C. Urinary beta-2-microglobulin and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) as early markers of renal tubular dysfunction in sick neonates. *J Formos Med Assoc* 1991; 90: 132-7.

7. Csáthy L, Pócsi I. Urinary N-Acetyl- β -D-glucosaminidase determination in newborns and children: methods and diagnostic applications. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33: 575-587.
8. Csáthy L, Pócsi I, Kiss L, Balla G, Modi N, Price RG. The effect of polycythemia and hypoxia on urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity in newborns. *Clin Chim Acta* 1990; 195: 77-84.
9. Davey PG, Gosling P. β_2 -microglobulin instability in pathological urine. *Clin Chim Acta* 1982; 28:1330-1333.
10. Fanos V, Cataldi L. Aminoglycoside-induced nephrotoxicity in the newborn: evaluation using urinary biomarkers. In: Cataldi L, Fanos V, Simeoni U, editors. *Neonatal Nephrology in Progress*. Italy: Agorà Publishier; 1996.p.153-81.
11. Fanos V, Khoory BJ, Cataldi L. Postischaemic acute renal failure in newborns: physiopathological aspects and early diagnosis. In: Cataldi L, Fanos V, Simeoni U, editors. *Neonatal Nephrology in Progress*. Italy: Agorà Publishier; 1996.p.237-49.
12. Feldmann D, Flandrois C, Jardel A, Phan T, Aymard P. Circadian variations and reference intervals for some enzymes in urine of healthy children. *Clin Chem* 1989; 35 (5): 864-867.
13. Feldmann H, Guignard JP. Plasma creatinine in the first month of life. *Arch Dis Child* 1982;57:116-123.

14. Flynn FV. Assessment of renal function: selected developments. Clin Biochem 1990; 23(1): 49-54.
15. Guder WG, Hofmann W. Markers for the diagnosis and monitoring of renal tubular lesions. Clin Nephrol 1992; 38 Suppl 1: 3-7.
16. Guignard JP. Assessment of glomerular filtration rate in neonates. In: Cataldi L, Fanos V, Simeoni U, editors. Neonatal Nephrology in Progress. Italy: Agorà Publisher; 1996.p. 121-127.
17. Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW. Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity. Clin Chem 1981; 27 (7): 1180-1185.
18. Javed MH, Hussain NA, Waqar MA. Estimation and separation of N-acetyl- β -D-glucosaminidase isoenzymes in urine. JPMA (J Pak Med Assoc) 1992; 42 (3): 64-66.
19. Jung K. Enzyme activities in urine: how should we express their excretion? Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991; 29: 725-729.
20. Jung K, Hempel A, Grützmann K, Hempel R, Schreiber G. Age-dependent excretion of alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase, γ -glutamyltransferase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase in human urine. Enzyme 1990; 43: 10-16.
21. Jung K, Priem F. A practical new assay for determining N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity in urine. Clin Chim Acta 1991; 203: 405-408.

22. Jung K, Priem F. What are the criteria to introduce new methods for determination of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity? *Ann Clin Biochem* 1993; 30(5): 501-504.
23. Jung K, Priem F, Klotzek S, Becker S, Henke W. Methods compared for determining activity of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in urine without pretreatment of sample: different sensitivity and species effect. *Enzyme* 1991; 45: 215-221.
24. Langhendries JP, Battisti O, Bertrand JM. Aminoglycoside Nephrotoxicity and Urinary Excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase. *Biol Neonate* 1988; 53: 253-259.
25. Langhendries JP, Gillain N, Battisti O, Bertrand JM. Normal values for urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase excretion in preterm and term babies. *Arch Dis Child* 1987; 62: 483-486.
26. Langhendries JP, Mattot M, François A, Deprez D, Battisti O, Bertrand JM, Schoos S. Validity of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) determination in assessing netilmicin nephrotoxicity in preterm babies. *Biol Neonate* 1989; 56: 76-82.
27. Maack T, Johnson V, Kau ST, Figueiredo J, Sigulem D. Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int* 1979;16:251-70.

28. Maruhn D. Rapid Colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976; 73: 453-461.
29. Matteucci E, Gregori G, Pellegrini L, Navalesi R, Giampietro O. How can storage time and temperature affect enzymic activities in urine? *Enzyme* 1991; 45: 116-120.
30. Miyai T, Ogata M. Changes in the concentrations of urinary proteins after physical exercise. *Acta Med Okayama* 1990; 44 (5): 263-266.
31. Morita A, Numata Y, Kogusi Y, Noto A, Takeuchi N, Uchida K. Stabilities of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) isoenzymes in urine: advantage of NAG isoenzyme B measurement in clinical applications. *Clin Chim Acta* 1998; 278: 35-43.
32. Mussap M, Plebani M, Cataldi L. Laboratory management of renal tubular dysfunctions in the neonate. In: Cataldi L, Fanos V, Simeoni U, editors. *Neonatal Nephrology in Progress*. Italy: Agorà Publishier; 1996.p.263-90
33. Oláh VA, Csáthy L, Varga J, Pócsi I, Price RG, Balla G. Reference ranges for urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase in healthy children determined with three colorimetric methods. *Ann Clin Biochem* 1994; 31: 87-88.
34. Osborne J. The urinary excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in children. *Arch Dis Child* 1980; 55: 719-721.
35. Piscator M. Early detection of tubular disfunction. *Kidney Int* 1991; 40 (Suppl.): S15-S17

36. Pócsi I, László C, Oláh VA, Price RG. Assay of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in urine from neonates: comparison of two new colorimetric using MNP-GlcN Ac and VRA-GlcN Ac as substrates. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 292-295.
37. Price RG. Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal disease. *Toxicology* 1982; 23: 99-134.
38. Price RG. Measurement of N-acetyl- β -glucosaminidase and its isoenzymes in urine. Methods and clinical applications. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 693-705.
39. Price RG, Pócsi I, Richardson AC, Whiting PH. Rate assays of N-acetyl- β -D-glucosaminidase: some problems and fundamental principles. *Clin Chem* 1990; 36(6): 1259-1260.
40. Raab WP. Diagnostic value of urinary enzyme determinations. *Clin Chem* 1972; 18: 5-25.
41. Ring E, Zobel G, Erwa W, Haim-Kuttinig M. Urinary excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in proteinuric states. *Child Nephrol Urol* 1992; 12(1): 15-18.
42. Roberts DS, Haycock GB, Dalton RN, Turner C, Tomlinson P, Stimmler L, Scopes JW. Prediction of acute renal failure after birth asphyxia. *Arch Dis Child* 1990; 65: 1021-1028.
43. 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; 79: 571-590.

44. Sheu J, Lue K, Chen C, Chen J, Tsau Y. Renal function in neonatal hyperbilirubinemia. *Am J Nephrol* 1993; 13: 255-259.
45. Simeoni U, Schnitzler, Massfelder T, Hirt C, Koehl C, Hamel G, Helwig JJ, Messer J, Geisert J, Willard D. Specific developmental profiles of lysosomal and brush border enzymuria in the human. *Biol Neonate* 1994; 65: 1-6.
46. Slot C. Plasma creatinin determination. A new and specific Jaffé reaction method. *Scand J Clin Lab Invest* 1965; 17: 381-7.
47. SPSS. Base system syntax reference guide. Release 6.0. Chicago: SPSS; 1993.
48. Storalek I, Howen JEA, Fraser CG. Biological variation of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase: practical and clinical implications. *Clin Chem* 1989; 35(4): 560-563.
49. Tsukahara H, Hori C, Tsuchida S, Hiraoka M, Sudo M, Haruki S, Suehiro F. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase excretion in term and preterm neonates. *J Paediatr Child Health* 1994; 30: 536-538.
50. Viganò A, Assael BM, Villa AD, Gagliardi L, Principi N, Ghezzi P, Salmona M. N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) and NAG isoenzymes in children with upper and lower urinary tract infections. *Clin Chim Acta* 1983; 130: 297-304.
51. Viganò A, Cavanna G, Capodaglio P, Assael BM, Salmona M. Methodological and clinical aspects of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase in pediatric subjects. *Biochem Med* 1981;25: 26-33.

52. Watanabe K, Kojima T, Fukuda Y, Ohbayashi K, Kobayashi T, Iwase S, Kobayashi Y. Reliability of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase as an indicator of renal tubular damage in neonates. *Biol Neonate* 1987; 52: 16-21.
53. Wellwood JM, Davies D, Leighton M, Thompson AE. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase assay in renal transplant recipients. *Transplantation* 1978; 26(6): 396-400.
54. Willis F, Summers J, Minutillo C, Hewitt I. Indices of renal tubular function in perinatal asphyxia. *Arch Dis Child* 1997; 77: 57-60.
55. World Health Organization, Expert Committee on Maternal and Child Health. Public health aspects of low birth weight. Geneva: WHO Tech Rep Ser; 1961; 217:1.

ANEXOS

ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO

Estamos realizando um estudo sobre a quantidade de uma enzima (N-acetil- β -D-glucosaminidase) que existe na urina dos recém-nascidos. Esta enzima, quando em níveis aumentados, sugere lesão renal. A realização deste estudo nos permitirá determinar os valores normais da enzima nos bebês e com isso poderemos detectar mais cedo recém-nascidos com problemas nos rins.

Estamos nos propondo a verificar a atividade desta enzima na urina dos bebês e sua variação com o tempo de gestação; para isto estamos coletando amostras de urina dos bebês.

Gostaríamos de contar com sua colaboração no sentido de autorizar a coleta deste material de seu filho. Será colocado um saco coletor para a coleta da urina; não haverá coleta de sangue nem procedimentos que prejudiquem o bem-estar de seu filho.

Todos os dados utilizados serão usados para esta pesquisa e serão confidenciais.

Eu, _____, responsável pelo RN de _____, fui informada (o) dos objetivos e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações sobre os

procedimentos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. As minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disto, sei que novas informações, obtidas durante o estudo, me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa pelo Dr. Arlenio Pereira da Costa se assim o quiser, sem haver prejuízo no atendimento ao meu filho. Desta forma, autorizo a inclusão de meu filho neste estudo.

Assinatura do responsável

Porto Alegre, _____

ANEXO 2 – FICHA DE COLETA DE DADOS

Nome: _____

Data de nascimento: _____

Data da coleta: _____

Idade gestacional pediátrica: _____

Índice de Apgar: _____

Uso de medicação no RN: _____

Patologias associadas: _____

Valor da NAG: _____

Valor da creatinina urinária: _____

Índice NAG/creatinina urinária: _____

ANEXO 3 – CARACTERÍSTICAS INDIVIDUAIS DOS PACIENTES

RN A TERMO SADIOS

Número	IG	Dia	Peso	Sexo	Atb	Foto	Apgar	NAG U/L	Cr ur	NAG/cr ur
2	278	2	2640	M	N	N	9	19	0,97	19,59
12	270	2	2295	F	N	N	9	5,3	0,24	22,08
13	288	2	3830	M	N	N	10	4,7	1,36	3,46
16	270	2	3355	M	N	N	9	22,34	0,63	35,46
17	275	2	3170	F	N	N	9	14,46	0,68	21,26
19	283	2	3540	F	N	N	9	8,68	0,46	18,87
20	260	2	3085	M	N	N	10	6,36	0,47	13,53
27	260	2	1930	F	N	N	8	11,08	0,38	29,16
38	275	2	3190	M	N	N	10	13,36	0,88	15,20
39	268	2	3765	M	N	N	10	10,8	1,08	10,00
45	260	2	2630	M	N	N	10	2,22	0,49	4,53
46	278	1	3290	M	N	N	10	11,8	1,08	10,93
57	278	3	2925	F	N	N	9	21,4	0,67	31,94
68	278	2	3430	M	N	N	9	8,52	0,68	12,53
70	270	2	3235	F	N	N	10	10,9	0,73	14,93
71	273	2	3085	M	N	N	7	6,72	1,78	3,78
77	262	1	2780	M	N	N	9	6,3	0,31	20,32
80	273	2	3400	F	N	N	10	0,7	0,49	1,43
89	270	2	3500	F	N	N	9	10,72	0,85	12,61
90	283	2	3330	M	N	N	9	21,26	1,24	17,15
94	283	2	2720	M	N	N	10	19,08	0,67	28,48
96	277	2	2970	M	N	N	9	2,24	1,27	1,76
97	287	2	3640	M	N	N	10	13,44	1,1	12,22
98	264	1	3310	M	N	N	7	2,5	1	2,50
99	283	1	3080	F	N	N	10	1,26	0,45	2,80
102	288	2	3540	M	N	N	10	7,64	1,38	5,54
103	288	2	3835	M	N	N	9	11,26	1,31	8,60
104	285	4	3540	M	N	N	9	0,7	0,21	3,33
109	288	3	3180	M	N	N	10	16,5	1,16	14,22
115	293	2	2940	M	N	N	9	5,56	1,29	4,31
117	296	1	3385	F	N	N	10	14,06	2,32	6,06
125	273	1	2500	F	N	N	9	1,26	0,39	3,23
127	273	3	3230	F	N	N	9	15,58	0,98	15,90
130	278	2	2770	F	N	N	8	2,56	0,19	13,47
134	273	3	3290	M	N	N	9	1,26	1,34	0,94
136	260	2	3245	F	N	N	10	10,62	1,4	7,59
142	283	2	3525	F	N	N	9	15,12	1,3	11,63
146	283	2	3195	F	N	N	10	11,68	1,19	9,82
148	280	2	4240	M	N	N	9	15,7	1,37	11,46
151	273	2	2470	F	N	N	9	19,84	1	19,84
155	283	2	3615	M	N	N	9	2,64	0,21	12,57

Número	IG	Dia	Peso	Sexo	Atb	Foto	Apgar	NAG U/L	Cr ur	NAG/cr ur
166	275	2	3340	F	N	N	10	6,84	0,26	26,31
167	283	1	3310	M	N	N	10	15,02	0,99	15,17
169	275	1	3620	F	N	N	10	3,28	0,75	8,75
170	275	1	3200	F	N	N	10	6,14	0,74	16,59
171	283	1	2935	F	N	N	10	8,38	1,18	7,10
172	285	2	3730	M	N	N	9	18,52	1,15	16,10
174	288	2	3880	M	N	N	9	5,94	1,11	5,35
176	278	2	3740	F	N	N	9	13,66	1,17	11,68
177	283	2	3120	F	N	N	10	6,96	0,54	12,89
184	288	2	3385	M	N	N	9	17,48	0,99	17,67
185	273	2	2315	M	N	N	9	20,06	1,2	16,72
195	265	1	3325	M	N	N	9	2,48	0,33	7,52
196	283	1	3645	F	N	N	9	18,5	0,99	18,69
197	280	2	3190	M	N	N	9	8,42	0,81	10,40
201	266	3	2950	M	N	N	10	20,74	2,05	10,12
210	273	1	3560	M	N	N	9	17,02	1,66	10,25
214	283	1	3075	M	N	N	9	11,08	1,06	10,45
217	275	2	3930	M	N	N	10	3,08	0,12	25,67
218	270	2	3300	M	N	N	9	23,78	1,32	18,02
219	283	2	3685	F	N	N	9	18,32	2,17	8,44
221	280	2	3635	F	N	N	9	4,36	0,26	16,77
224	275	1	3500	F	N	N	9	11,96	0,74	16,16
228	273	2	3195	M	N	N	9	8,4	0,47	17,87
231	265	2	2540	M	N	N	9	7,82	0,27	28,96
236	273	2	3340	M	N	N	9	16,06	1,28	12,55
240	283	2	3440	M	N	N	10	10,16	0,57	17,82
241	278	2	2605	M	N	N	9	18,02	0,45	40,04
242	261	3	3725	M	N	N	10	14,14	0,57	24,81
243	273	2	2775	F	N	N	9	2,1	0,4	5,25
244	280	2	2970	F	N	N	9	21,52	1,32	16,30
249	274	2	3035	M	N	N	10	15,42	1,37	11,26
251	281	1	3400	F	N	N	9	18,96	1,34	14,15
267	283	2	2310	M	N	N	9	28,1	1,11	25,32
272	287	2	3390	F	N	N	10	20,14	0,97	20,76
273	287	2	2335	M	N	N	10	13,54	0,94	14,40
274	266	1	2940	M	N	N	10	13,9	0,84	16,55
280	288	3	4705	M	N	N	8	12,9	0,88	14,66
283	265	2	2685	M	N	N	9	7,4	0,27	27,41
284	280	2	3150	M	N	N	9	15,1	1,4	10,79
285	288	3	2935	M	N	N	9	14,6	0,59	24,75
287	288	2	3420	M	N	N	9	17,12	1,64	10,44
292	293	1	3185	M	N	N	9	5,6	0,66	8,48
296	265	2	3585	M	N	N	10	18,36	1,29	14,23
297	278	2	3055	M	N	N	10	19,1	1,03	18,54
298	273	2	2660	F	N	N	10	19,02	1,31	14,52
299	278	2	3665	F	N	N	9	10,5	0,82	12,80
301	283	2	3185	F	N	N	9	10,7	1,26	8,49

Número	IG	Dia	Peso	Sexo	Atb	Foto	Apgar	NAG U/L	Cr ur	NAG/cr ur
307	273	3	2755	F	N	N	9	13,8	0,55	25,09
310	283	2	3340	F	N	N	9	5,9	0,66	8,94
315	288	2	3650	M	N	N	9	13	1,1	11,82
317	288	3	3810	M	N	N	8	15,2	1,38	11,01
321	280	2	4000	M	N	N	9	3,5	0,31	11,29
322	283	2	3190	M	N	N	9	14,6	0,93	15,70
326	280	2	3795	M	N	N	9	9,8	1,57	6,24
327	278	3	2550	M	N	N	9	11,6	0,76	15,26
328	275	3	3780	F	N	N	9	20,14	1,26	15,98
333	259	2	2460	M	N	N	9	20,08	0,79	25,42
337	260	3	2630	M	N	N	10	3,54	0,25	14,16
338	275	1	2840	F	N	N	9	14,96	1,26	11,87
339	284	2	2945	F	N	N	9	13,44	0,76	17,68
341	288	2	2820	F	N	N	10	16,26	1,03	15,63
342	265	2	2410	F	N	N	9	17,6	0,72	24,44
347	280	2	3470	F	N	N	10	21,88	1,11	19,71
348	286	2	2690	M	N	N	10	16,76	1,03	16,27
353	278	1	3940	M	N	N	9	9,76	1,52	6,42
361	288	1	2760	F	N	N	9	2,76	0,39	7,08
364	280	2	3350	M	N	N	9	2,46	0,29	8,48
367	285	2	4100	M	N	N	10	8,84	1,4	6,31
368	280	2	3990	M	N	N	10	22,16	1,44	15,39
370	265	2	2740	F	N	N	9	6,66	1,08	6,17
372	294	2	3480	M	N	N	7	13,78	2,43	5,67
375	266	2	3400	M	N	N	7	6,08	0,29	23,38

RN A TERMO DOENTES

Número	IG	Dia	Peso	Sexo	Atb	Foto	Apgar	NAG U/L	Cr ur	NAG/cr ur
3	270	2	2660	F	S	N	10	21,48	0,32	67,13
18	288	2	4455	M	S	N	8	1,72	0,2	8,60
28	278	2	3620	M	S	N	9	23	0,28	82,14
31	260	3	2870	F	S	S	3	14,14	0,05	282,80
35	280	2	3235	M	N	S	10	17	2,61	6,51
42	278	4	2450	M	N	S	8	10,56	0,7	15,09
72	263	2	3095	F	N	S	9	20,06	1,31	15,31
137	288	2	4235	M	S	N	9	18,74	0,08	234,25
138	265	3	3610	M	N	S	10	10,1	0,12	84,17
190	266	2	3135	M	N	S	9	4,4	0,22	20,00
192	288	2	3415	F	S	S	10	6,02	0,2	30,10
193	278	2	3130	F	N	S	10	20,48	0,78	26,26
206	288	2	4070	M	S	N	7	21,32	0,3	71,07
232	268	2	2640	F	S	N	9	8,18	0,45	18,17
234	263	2	2565	M	S	N	9	24,3	0,2	121,50
340	278	2	3635	F	S	N	9	18,52	0,51	36,31
349	288	2	3340	F	S	N	3	23,22	0,1	232,20

Número	IG	Dia	Peso	Sexo	Atb	Foto	Apgar	NAG U/L	Cr ur	NAG/cr ur
352	263	1	2830	M	N	S	9	3,96	0,17	23,29
357	278	2	4100	F	S	N	7	20,44	0,24	85,17

RN PREMATUROS

Número	IG	Dia	Peso	Sexo	Atb	Foto	Apgar	NAG U/L	Cr ur	NAG/cr ur
26	244	2	2260	M	N	N	9	22,26	0,63	35,33
34	235	2	2270	M	S	S	10	23,16	0,21	110,30
62	253	2	4335	F	S	N	9	25,16	0,07	359,40
69	253	3	2585	M	N	N	9	18,76	1,86	10,90
73	250	2	2770	M	S	S	5	13,2	0,14	94,29
78	246	1	2700	M	N	N	9	4,32	0,15	28,80
105	189	3	770	M	S	S	4	10,64	0,07	152,00
119	258	3	1245	M	N	N	10	1,34	0,16	8,38
133	245	2	2665	M	N	N	8	2,68	0,36	7,44
153	252	1	1900	M	S	N	8	1,36	0,08	17,00
158	231	2	2015	F	S	N	6	12,48	0,34	36,70
159	224	2	1650	M	S	N	4	23,84	0,07	340,58
183	256	2	2335	M	S	N	0	1,2	0,12	10,00
209	243	2	1805	F	N	S	10	4,84	0,11	44,00
238	245	2	1840	M	S	N	9	18,44	0,4	46,10
290	245	2	2610	M	N	N	9	4,76	0,71	6,70
295	217	2	1330	M	S	S	9	25,48	0,08	318,50
303	255	1	2705	F	N	N	10	14,74	0,58	25,41
334	255	2	2585	M	N	N	9	16,44	1,26	13,05
359	240	2	2255	M	S	S	9	13,94	0,71	19,63

IG – idade gestacional em dias

Dia – dias de vida na coleta de urina

Peso – em gramas

Sexo – (F) feminino; (M) masculino

Atb – antibiótico

Foto – fototerapia

S – Sim; N – Não

Apgar – dado no 5º minuto de vida

Cr ur – creatinina urinária (valores expressos em g/l)



Impressão: Gráfica UFRGS
Rua Ramiro Barcelos, 2705 - 1º andar
Fone: 3 16 5088 Fax: 3 16 5083 - Porto Alegre - RS
E-mail: grafica@vortex.ufrgs.br