

ERRATA

Na capa e folha de rosto, onde se lê: Mestre em Medicina.
Área de concentração: Clínica Médica, leia-se: Mestre em Clínica
Médica.

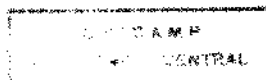
RODRIGO JOSÉ SAENZ SURITA

**UTILIDADE DA MORFOLOGIA DOS ERITRÓCITOS URINÁRIOS
NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO DAS HEMATÚRIAS**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do título de Mestre em Medicina.
Área de concentração: Clínica Médica.**

Orientadora: Profª. Drª. Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro Alves

**UNICAMP
CAMPINAS - SP
1995**



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	UNICAMP
V.	SM 7311
Ex	
TOMBO BC/	26417
PROC.	667/96
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	13/04/96
N.º CPD	

CM-00083564-1

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIENCIAS MEDICAS - UNICAMP

S77u Surita, Rodrigo Jose Saenz
Utilidade da morfologia dos eritrocitos urinarios no
diagnostico clinico das hematurias / Rodrigo Jose Saenz
Surita. Campinas, SP : [s.n.], 1995.

Orientador : Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro Alves
Tese (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciencias Medicas.

1. Hematuria. 2. Glomerulonefrite. 3. Urina. I. Alves,
Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciencias Medicas. III.
Titulo.

Banca examinadora da Tese de Mestrado

Orientador: Profa. Dra. Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro Alves

Membros:

1. Prof. Dra. Maria Almerinda V. F. Ribeiro Alves *M. A. V. F. Ribeiro Alves*
2. Prof. Dr. Aquilino Benedito Pereira *Aquilino Benedito Pereira*
3. Prof. Dr. Gervásio Alves Filho *Gervásio Alves Filho*

Curso de pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 28/07/95

Ao Cesare e Rodrigo

À Fernanda

À minha mãe

AGRADECIMENTOS

Manifesto minha gratidão à Prof^a. Dr^a. Maria Almerinda Vieira Fernandes Ribeiro Alves, não somente pela orientação segura deste trabalho, mas principalmente pelo exemplo íntegro e constante em minha formação.

À Dr^a. Paula Virginia Bottini pela relevante e imprescindível participação em todas as etapas deste estudo.

Ao Dr. Adolfo Henrique Rodrigues Simon pelas úteis sugestões e incentivo.

Aos demais professores e médicos da Disciplina de Nefrologia:

Prof. Dr. José Francisco Figueiredo

Prof. Dr. Gentil Alves Filho

Prof. Dr. Eduardo Homs

Prof. Dr. José Butori Lopes de Faria

Prof^a. Marilda Mazzali

Dr^a. Eliana Pires de Oliveira Dias

Aos funcionários do Serviço de Líquidos Biológicos do Laboratório de Patologia Clínica do HC UNICAMP.

SUMÁRIO

	página
Resumo.....	1
Introdução.....	3
Objetivos.....	25
Metodologia.....	26
Resultados.....	35
Discussão.....	52
Conclusões.....	60
Apêndice.....	61
<i>Summary</i>	79
Referências Bibliográficas.....	81

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS UTILIZADOS

DE	dismorfismo eritrocitário
dl	decilitro
DP	desvio padrão
g	grama
GESF	glomeruloesclerose focal e segmentar
GN	glomerulonefrite
GNMP	glomerulonefrite membrano-proliferativa
GV	glóbulo vermelho
HC	Hospital de Clínicas
HG	hematúria glomerular
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
HNG	hematúria não glomerular
IF	microscopia de imunofluorescência
IFMA	índice de frequência da morfologia por amostra
IPMG	índice de presença da morfologia por grupo
IRA	insuficiência renal aguda
Kg	quilograma
l	litro
LES	lúpus eritematoso sistêmico
MCF	microscopia de contraste de fase
ME	microscopia eletrônica
mg	miligrama
ml	mililitro
MOC	microscopia óptica comum
mOsm	miliosmol
n	número de amostras
p	valor de significância estatística
PAN	poliarterite nodosa
SHU	síndrome hemolítico-urêmica
TX	transplante
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VP	valor preditivo
x	média
Σ	somatória
μ g	micrograma

RESUMO

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a utilidade da morfologia dos eritrócitos urinários no diagnóstico da origem da hematúria, realizou-se estudo clínico longitudinal, onde foram examinadas 155 amostras de urina de pacientes portadores de hematúria de diferentes etiologias. As amostras foram analisadas a fresco, em microscopia de contraste de fase, sem o conhecimento prévio do caso clínico. Os eritrócitos foram classificados de acordo com a Classificação Hematológica de Bessis. Foram ainda verificados os valores de proteinúria, osmolalidade, densidade e pH na amostra. Posteriormente os resultados da morfologia foram confrontados com os diagnósticos clínicos. Foram excluídas da análise estatística amostras prejudicadas por questões técnicas ou de pacientes cujos diagnósticos não puderam ser seguramente comprovados.

Os resultados foram baseados na análise de 91 amostras (67 pacientes), que foram divididas, de acordo com a origem da hematúria, como pertencentes ao grupo "glomerular" ou "não glomerular", firmados em critérios clínicos e anatomopatológicos. O grupo glomerular foi composto por 54 amostras (33 pacientes, todos comprovados por biópsia renal), cujos diagnósticos foram: glomerulonefrite membrano-proliferativa (n=13), Doença de Alport (6), Doença de Berger (8), Púrpura de Henoch-Schöenlein (3), vasculites sistêmicas (7), lúpus eritematoso sistêmico (5), glomeruloesclerose focal idiopática (8), glomerulonefrite crescêntica idiopática (3) e síndrome hemolítico-urêmica (1). O grupo não glomerular (37 amostras, 34 pacientes) foi constituído por: nefropatia túbulo-intersticial (n=1), pós cirurgia urológica (8), cateterismo vesical (5), pós biópsia renal (3), neoplasias do trato geniturinário (10), litíase do trato urinário (9), tuberculose renal (1).

Em relação à presença das morfologias por grupo de doença, observamos diferença estatística apenas para codócitos, acantócitos e anulócitos, dentre as várias formas de eritrócitos observados. Destes, foram calculados sensibilidade, especificidade, valores preditivos e eficácia (Tabela).

Tabela. Avaliação das hemácias com presença estatisticamente diferente nos grupos quanto à detecção de hematúria de origem glomerular.

	anulócito	codócito	acantócito
sensibilidade	0,981	0,925	0,722
especificidade	0,162	0,945	1,000
valor preditivo positivo	0,630	0,961	1,000
valor preditivo negativo	0,857	0,897	0,711
acurácia	0,648	0,934	0,835
p	0,016	<0,001	<0,001

Concluimos que a análise morfológica dos eritrócitos urinários foi útil no diagnóstico clínico das hematúrias neste grupo de pacientes. A presença de codócitos ou acantócitos foi indicativa de hematúria de origem glomerular. A presença de acantócitos foi específica no diagnóstico da origem glomerular da hematúria nos casos envolvidos. Não houve associação entre quaisquer das morfologias com os valores de osmolalidade, densidade e pH urinários. A presença de proteinúria maior que 1,27 g/l, na amostra de urina isolada, foi específica para casos de hematúria de origem glomerular no grupo estudado. A ausência de acantócitos e/ou codócitos em uma única amostra de urina não afastou uma possível origem glomerular para a hematúria.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A análise da urina como meio propedêutico é utilizada há séculos. Já há cerca de 2500 anos, Hipócrates citava em seus aforismos: "Sangue ou pus na urina podem indicar uma ulceração dos rins, da bexiga ou ambos" (HIPPOCRATIC..., 1952). Esta afirmação reflete que existia, desde épocas remotas, uma preocupação com o diagnóstico de distúrbios urinários procurando evidenciar o local do trato urinário acometido.

Hematúria é definida como emissão de urina que contém hemácias em grau variável. Quando um maior número de eritrócitos se faz presente na urina, tornando-a perceptível a olho nu, constitui-se a hematúria macroscópica. Em outras ocasiões, a quantidade de hemácias não é suficientemente grande para alterar a coloração e é apenas detectável através da análise da urina feita mediante o uso de microscópio, sendo denominada hematúria microscópica. É uma das mais freqüentes alterações urinárias. Estima-se que a hematúria microscópica isolada pode ser encontrada em 4 a 13% da população geral (MOHR *et al.*, 1986; THOMPSON, 1987).

Sabe-se há muito que um pequeno número de eritrócitos é normalmente encontrado na urina de indivíduos sãos. ADDIS (1926) estabeleceu o índice de excreção de eritrócitos em urina de 12 horas de indivíduos do sexo masculino que é, em média, de 65.750 células, com variação de zero a 425.000. As dificuldades relacionadas à adoção deste processo, como o longo período de coleta e a deterioração das células, tornaram-no pouco utilizável na prática clínica, o que motivou a elaboração de métodos com amostras isoladas de urina (WRIGHT, 1959; GADEHOLT, 1964; LEVEY, MADAIO, PERRONE, 1992).

Nesse sentido, para a mensuração dos elementos celulares, utiliza-se atualmente a amostra isolada de urina, em geral, analisando-se o sedimento de uma alíquota de 10 a 15 ml, centrifugada a 1.500 - 3.000 rotações por minuto, durante

3 a 10 minutos. A avaliação é realizada através de câmaras de contagem (análise quantitativa) ou simplesmente expressando-se os resultados pelo número de hemácias por campo microscópico (resultados semi-quantitativos) (WRIGHT, 1959; GADEHOLT, 1964; KESSON, TALLBOTT, GYÖRY, 1978; CUSHNER & COPLEY, 1989). Ao optar-se pelo primeiro processo, alguns problemas devem ser considerados. Muitas variáveis estão envolvidas, como a amplificação de pequenos erros de contagem da câmara ou a diferença entre o número de hemácias entre os diversos campos, de tal forma que os resultados podem ser facilmente super ou subestimados (GADEHOLT, 1964), além da câmara de contagem não ser adequada para observação morfológica dos elementos celulares (FOGAZZI, 1992). Por este método, considera-se hematúria microscópica valores a partir de 3.000 (FASSET, HORGAN, MATHEW, 1982), 5.000 (OLIVO, GUILLE, LOBEL, 1989), 8.000 (BIRCH *et al.*, 1983) ou até 12.000 (SCHUMANN & SCWEITZER, 1991) hemácias por mililitro de urina centrifugada ou ainda 500 a 1.000 hemácias por mililitro sem o processo de centrifugação (KESSON *et al.*, 1978; POLLOCK *et al.*, 1989).

A pesquisa semi-quantitativa é uma técnica mais simplificada, que se baseia na mera contagem de eritrócitos por campo microscópico. Não é suficientemente reproduzível para fornecer uma análise quantitativa da hematúria (GADEHOLT, 1964; KESSON *et al.*, 1978). Apresenta a vantagem de fornecer resultados mais imediatos, além de permitir a melhor visualização da forma das hemácias (FOGAZZI *et al.*, 1991). Desta maneira, observa-se que no sedimento urinário de indivíduos sadios, o número normal de eritrócitos é menor do que um por campo microscópico de aumento 400. Em geral, faz-se necessário percorrer três ou quatro campos para que seja identificada uma hemácia (FOGAZZI *et al.*, 1989). Consideram-se normais limites de até de duas (LARCOM & CARTER, 1948; SCHUMANN & SCHWEITZER, 1991; FOGAZZI *et al.*, 1989) ou três hemácias por campo (SAYER, MCCARTHY, SCHMIDT, 1990). Na prática, porém, aceitam-se valores maiores como cinco (FIGUEIREDO & PEREIRA, 1991; CUSHNER & COPLEY, 1989) ou até dez por campo (GADEHOLT, 1964).

Não existe, porém, até o presente, uma padronização universalmente aceita para a mensuração de eritrócitos na urina, bem como os limites superiores de

hemácias na urina normal permanecem controversos (FAIRLEY & BIRCH, 1993; CUSHNER & COPLEY, 1989).

A hematúria é um sinal comum a muitas doenças, de diferentes pontos do aparelho urinário. Por este motivo, a detecção de seu local de origem vem a ser uma questão de grande importância. Pode originar-se no parênquima renal, em suas estruturas glomerulares, vasculares ou intersticiais ou outras regiões do trato urinário: pelve renal, ureteres, bexiga, próstata ou uretra (STAPLETON, 1987; MOHAMMAD *et al.*, 1993). Investigar a procedência da hematúria significa, muitas vezes, avaliar toda a anatomia do trato urinário e, freqüentemente, faz-se necessária a pesquisa de doenças multissistêmicas para esclarecer sua etiologia (FAIRLEY & BIRCH, 1982; STAPLETON, 1987; PILLSWORTH *et al.*, 1987).

As doenças que produzem hematúria podem ser divididas, na dependência da origem, em glomerulares e não glomerulares (FAIRLEY & BIRCH, 1982). As glomerulopatias, por sua vez, podem ser classificadas em primárias ou idiopáticas, quando não é possível a detecção da etiologia, e associadas a processos extrínsecos ao glomérulo. (GLASSOCK *et al.*, 1991). As principais doenças glomerulares que cursam com hematúria estão citadas no Quadro 1.

Quadro 1. Causas de Hematúria de Origem Glomerular
(adaptado de GLASSOCK et al., 1991).

Glomerulopatias Primárias

- Crescêntica idiopática
- Membranoproliferativa
- Proliferativa mesangial
- Nefropatia primária por IgA (Doença de Berger)
- Glomeruloesclerose focal e segmentar

Glomerulopatias Associadas

- Pós infecciosa aguda
- Lúpus eritematoso sistêmico
- Vasculites sistêmicas
- Púrpura de Henoch-Schöenlein
- Doenças heredo-familiares (Síndrome de Alport,
"Thin-membrane")
- Associadas a infecções
- Associadas a neoplasias
- Nefropatia diabética
- Hipertensão arterial

As hematúrias de origem não glomerular, por sua vez, podem ter como origem uma grande série de doenças, algumas das quais são enumeradas no Quadro 2 (BIRCH & FAIRLEY, 1983; OLIVO et al., 1989; ROTKOPF et al., 1993; ANDRES et al., 1989; THOMPSON, 1987; BENSON & BREWER, 1981).

Quadro 2. Causas de Hematúria não glomerular

1. Infecção do trato urinário
2. Urolitíase
3. Nefropatias túbulo-intersticiais
 - Uso de drogas (antiinflamatórios não hormonais)
 - Rejeição em transplantes
 - Anemia falciforme
4. Neoplasias (próstata, bexiga, rins)
5. Distúrbios metabólicos
 - Hipercalcúria
 - Hiperuricosúria
 - Hipocitratúria
 - Hiperoxalúria
6. Traumatismos
7. Malformações do trato urinário
 - Doença policística
 - Refluxo vésico-ureteral
 - Estenose de junção uretero-pélvica
8. Tuberculose renal
9. Causas hematológicas
 - Distúrbios de coagulação
10. Miscelânea
 - Fístula artério-venosa renal
 - Cistites não infecciosas (medicamentosa, actínica)

A simples caracterização da hematúria em macroscópica ou microscópica, algumas vezes já fornece uma indicação acerca de sua origem. Quantidades pequenas, da ordem de microlitros de sangue, são suficientes para produzir hematúria macroscópica. Grandes hemorragias do trato urinário, causando formação de urina com coágulos, às vezes responsáveis por anemia ou até mesmo choque hemorrágico, são em geral conseqüentes a traumatismos ou neoplasias. O mais comum, entretanto, é encontrarmos graus menos intensos de sangramento, de outras causas e origens do trato urinário (MALLICK & SHORT, 1992).

A hematúria de origem glomerular, por sua vez, pode ser macro ou microscópica, persistente ou recorrente (CHEN *et al.*, 1972), e muitas vezes está associada a outros sinais clínicos de glomerulopatias constituindo uma síndrome. Quando amplamente manifestas, as síndromes glomerulares são compostas por proteinúria, edema e hipertensão arterial, além da hematúria. Estes sinais, porém, nem sempre estão presentes em toda sua plenitude, podendo a coexistência ser apenas parcial. Assim, formas de doença glomerular podem cursar com qualquer combinação de achados clínicos, até mesmo como hematúria microscópica isolada (GLASSOCK *et al.*, 1991; MASON & PUSEY, 1994). Devido ao polimorfismo de apresentação, a investigação do local de origem da hematúria nem sempre é simples e frequentemente postula a execução de vários exames de laboratório, de imagem, endoscópicos e anatomopatológicos (Quadro 3) (OLIVO *et al.*, 1989; ROTKOPF *et al.*, 1993; BENSON & BREWER, 1981).

Quadro 3. Hematúrias: Exames de Investigação

1. Exames de Laboratório	
<u>Urina</u>	Exame de Urina Pesquisa de Dismorfismo Eritrocitário Urocultura Pesquisa e cultura de micobactérias Eletróforese de proteínas
<u>Urina 24 horas</u>	Proteinúria Uricosúria Calciúria
<u>Sangue</u>	Dosagem de Uréia/Creatinina Avaliação da filtração glomerular Hemograma Eletróforese de Proteínas e Hemoglobina Complemento total e frações Sorologias (HIV, sífilis, hepatites) Coagulograma Pesquisa de auto-anticorpos
2. Diagnóstico por Imagem	
	Ultra-sonografia Urografia Excretora Uretrocistografia Miccional e Retrógrada Tomografia Computadorizada Arteriografia Renal Cintilografia Renal
3. Endoscópicos	
	Uretrocistoscopia
4. Biópsia Renal	
	Microscopia Óptica Microscopia de Imunofluorescência Microscopia Eletrônica

Os exames de laboratório com esta finalidade podem ser gerais ou dirigidos para uma doença específica. A investigação do diagnóstico por imagem, através da ultra-sonografia, exames radiológicos ou cintilográficos, bem como exames endoscópicos como a uretrocistoscopia podem confirmar um local da hematúria

(OLIVO *et al.*, 1989). Finalmente, se existe a suspeita de doença glomerular ou outras que envolvam o parênquima renal, o meio que melhor fornece informações para um diagnóstico preciso é a biópsia renal. Este método, em virtude da complexidade de interpretação das alterações histológicas renais, exige a pesquisa mínima em microscopia óptica e imunofluorescência e, pelo menos nos casos de muitas doenças heredo-familiares, a pesquisa em microscopia eletrônica é necessária para um diagnóstico preciso (GLASSOCK *et al.*, 1992 b). São, entretanto, na sua maioria, meios propedêuticos invasivos, dispendiosos e nem sempre isentos de risco para o paciente.

Os métodos citados, aliados ao quadro clínico, permitem a realização do diagnóstico da hematúria com considerável precisão, permitindo a detecção de sua origem e etiologia na ampla maioria das vezes (ROTKOPF *et al.*, 1993). As doenças assim detectadas podem ser divididas em glomerulares e não glomerulares (BIRCH & FAIRLEY, 1982). Tal classificação, além de didática, tem importância eminentemente prática, pois dirige a abordagem diagnóstica e terapêutica da doença em questão. Na hematúria glomerular, o diagnóstico freqüentemente é determinado através de biópsia renal, o tratamento é clínico e a especialidade habituada ao manuseio destas situações é a Nefrologia. Por outro lado, um grande contingente de hematúrias de origem não glomerular está relacionado a lesões do trato urinário, cujo diagnóstico se faz através de exames radiológicos ou endoscópicos, o tratamento muitas vezes é cirúrgico e um especialista na área de Urologia tem a formação mais dirigida para esta finalidade (OLIVO *et al.*, 1989).

A existência de meios de investigação que permitam distinguir a hematúria glomerular da não glomerular com antecipação aos exames invasivos seria muito útil para orientar mais precocemente a abordagem (BIRCH & FAIRLEY, 1982; PILLSWORTH *et al.*, 1987). A pesquisa de cilindros hemáticos, a interpretação da proteinúria e o dismorfismo eritrocitário tem sido utilizados com esta finalidade.

CILINDROS HEMÁTICOS: na realização do exame microscópico de urina o encontro de cilindros hemáticos sugere fortemente tratar-se de hematúria glomerular (SHIFFIERLI, 1982). Os cilindros hemáticos são formados pela incorporação de hemácias, presentes na luz tubular, à matriz mucoprotéica secretada pelas células

tubulares (mucoproteína de Tamm-Horsfall) (HOYER & SEILER, 1979). Apesar da alta especificidade, não são facilmente detectados (SCHIFFERLI, 1982; BOTTINI & GARLIPP, 1990) e a revelação de sua presença é muito variável na dependência do observador. Em estudo cego, realizado com as mesmas amostras de urina, ocorreu uma discrepância de zero a 42% entre vários observadores (RASOULPOUR *et al.*, 1994). Nos estudos com microscopia de contraste de fase, divergiu de 21% (FASSET *et al.*, 1982) a 73% (RAMAN *et al.*, 1986) das glomerulopatias. Birch e Fairley (1980) discordam da maioria dos autores neste ponto, referindo a detecção destes elementos em dois terços dos casos de hematúria glomerular, desde que seja utilizada a microscopia de contraste de fase na pesquisa.

PROTEINÚRIA: muitas vezes a presença de proteína no exame de urina sugere o diagnóstico de glomerulopatia. Há de se ressaltar, porém, alguns aspectos deste sinal. Em primeiro lugar, nem sempre a proteinúria está presente em glomerulopatias. Por outro lado, não se pode atribuir sua presença à existência de doença glomerular sem uma análise mais acurada da quantidade e qualidade da perda protéica urinária (MALLICK & SHORT, 1992).

Existe uma excreção, embora de pequena magnitude, considerada normal de proteínas na urina (BERGARD, 1961), cujo limite superior não deve ultrapassar 150 mg nas 24 horas (LEVEY *et al.*, 1991). Uma fração desta proteinúria é composta por albumina e obedece a um ritmo circadiano, sendo maior durante o dia, na posição ortostática. A excreção de albumina considerada normal varia segundo os autores, mas os limites máximos não ultrapassam 15 (MOGENSEN & CHRISTENSEN, 1984) a 30 µg por minuto (VIBERTI *et al.*, 1982), na dependência do tempo e condições de coleta. Microalbuminúria é definida como o encontro de níveis de albumina urinários acima destes patamares, detectáveis através de ensaios sensíveis, porém em magnitude ainda não captável pelos métodos rotineiros (que se situa em torno de 100 mg/ml) (FIGUEIREDO & PEREIRA, 1991), ou cuja excreção de proteínas urinárias totais esteja dentro dos limites de 150 mg nas 24 horas (LEVEY *et al.*, 1991). É considerada um achado subclínico que pode representar uma forma mais precoce de pelo menos uma modalidade de glomerulopatia: a secundária ao diabetes mellitus. Outras

proteínas que fazem parte da excreção normal na urina são a glicoproteína de Tamm-Horsfall (HOYER & SEILER, 1979), principal componente dos cilindros, além de imunoglobulinas, em especial a IgA secretora (BIENENSTOCK & TOMASI, 1968).

Proteinúria glomerular e tubular: Em virtude das características da parede glomerular, constituída por substâncias de carga elétrica negativa, as proteínas com moléculas de raio maior e de mesma carga elétrica que a parede, cujo protótipo é a albumina, encontram maior dificuldade de transpor os poros da membrana (BRENNER, HOSTETTER, HUMES, 1978). A albumina é encontrada na urina em situações de disfunção destes mecanismos glomerulares, ocasionando proteinúria muitas vezes intensa, superior a 3 g nas 24 horas, com conseqüente hipoalbuminemia e edema, constituindo a síndrome nefrótica. Moléculas com peso molecular menor, abaixo de 25 quilodaltons, são filtradas com maior facilidade pela parede glomerular e, em condições de integridade tubular, são quase totalmente reabsorvidas. Os exemplos clássicos, de possível utilidade clínica, são a beta 2 microglobulina (Peso Molecular = 11,9 quilodaltons), cuja concentração sérica é da ordem de 1 a 2,5 mg/ml, enquanto que na urina aparece em concentrações muito reduzidas, menores do que 100 ng/ml e a RBP- "retinol binding protein" (Peso Molecular = 17 quilodaltons), que são consideradas "marcadores" de doença tubular (SUMPIO & HAYSLETT, 1985). As proteinúrias tubulares não atingem níveis tão elevados quanto as glomerulares e em geral não ultrapassam 1 a 1,5 g/24 horas.

Finalmente, a proteinúria pode refletir a correspondente hiperprodução de proteínas plasmáticas filtráveis, como no mieloma múltiplo (circunstância em que há aumento de proteínas de cadeia leve - proteína de Bence-Jones), ou após lesão tecidual (mioglobulinúria, hemoglobulinúria, amilasúria) (MALLICK & SHORT, 1992).

DISMORFISMO ERITROCITÁRIO: Em 1979, o grupo australiano de Birch e Fairley (1979) publicou editorial onde foi sugerido que a hematúria glomerular poderia ser distinguida das demais através da análise da forma dos eritrócitos em microscopia de contraste de fase. Em 1982, a terminologia "dismorfismo eritrocitário" foi pela primeira vez empregada por estes autores (FAIRLEY & BIRCH, 1982).

Microscopia de Contraste de Fase: Este tipo de microscopia, que possibilitou a observação do dismorfismo eritrocitário, foi idealizado em 1934 por ZERNICKE (1955). A luz se propaga sob a forma de ondas eletromagnéticas. O olho humano é sensível às variações de amplitude (interpretadas como variações de brilho), ou comprimento (variações de cor) das ondas. A microscopia óptica comum baseia-se no princípio de que o material interposto no microscópio para observação promove modificações nestas propriedades da onda luminosa e são, desta forma, perceptíveis. As variações de fase, porém, não são detectáveis pelo olho humano. Muitos componentes biológicos causam alterações unicamente na fase de onda, sem modificar amplitude ou comprimento. Desta maneira, são transparentes à MOC (DAVIS, 1983).

O princípio do microscópio de fase é transformar as alterações de fase em alterações de amplitude, que são visíveis e podem ser interpretadas como diferenças de brilho. Para isto é utilizada uma combinação de lentes que despolariza a onda, acelerando ou retardando a relação de fase e produzindo um contraste "positivo" (escuro) ou "negativo" (brilhante) (DAVIS, 1983).

Por sofrer a luz difração incompleta, freqüentemente ocorre na MCF, formação de "auréolas" nas margens dos tecidos, correspondentes a áreas de diferentes densidades ópticas, o que pode atrapalhar a visão. Para resolver este problema, o uso da microscopia de interferência, uma variação da MCF, foi idealizada, colocando-se um dispositivo que polariza os raios e os separa em principais e de interferência. O sistema de interferência de Nomarsky emprega prismas para dividir os raios, que além de eliminar as auréolas, promove um efeito tridimensional (DAVIS, 1983).

Em laboratório, o microscópio de contraste de fase pode ser utilizado para contagem de plaquetas ou observação de células de culturas sem a necessidade de destruí-las por coloração.

As primeiras referências sobre o uso de MCF na análise de rotina laboratorial de exame de urina datam de 1968, embora fotomicrografias tenham sido anteriormente realizadas. BRODY, WEBSTER, KARL (1968) descrevem que a MCF permite a visualização e melhor definição de objetos transparentes a MOC, freqüentes na urina

não corada. RUSSO & CROCKET (1972) descrevem que componentes celulares, cilindros e bactérias são detectados com muito mais facilidade e detalhes em MCF, quando comparados a MOC.

BIRCH & FAIRLEY (1979, 1982, 1983), utilizando microscopia de contraste de fase, puderam observar que a hematúria glomerular poderia ser distinguida da não-glomerular através da análise dos eritrócitos urinários. Se a hematúria tivesse origem glomerular, os eritrócitos se mostrariam com ampla variação de formato e tamanho, freqüentemente com perda de hemoglobina do citoplasma. Era enfatizado que a pesquisa deveria basear-se no padrão global da morfologia celular e que levaria a erro tentar identificar células individuais como sendo "glomerulares" ou "não-glomerulares" (BIRCH, 1983). Descreveram, com minúcia, certas particularidades das células de origem glomerular (Quadro 4), cuja característica principal seria a "a ampla variedade de formas e tamanhos, freqüentemente com perda do conteúdo de hemoglobina do citoplasma".

Quadro 4. Principais características de hemácias glomerulares segundo BIRCH & FAIRLEY (1983)

Extrusão de vesículas citoplasmáticas fase-densas Ruptura de membrana e perda do citoplasma Deposição de material fase denso, perifericamente "Doughnut-like cells"
--

Por outro lado, se as células fossem uniformes em tamanho e contornos, à semelhança do sangue periférico normal, com menos de três populações de células presentes, o padrão seria chamado "isomórfico", de suposta origem não-glomerular. Um terceiro resultado possível seria o padrão "misto", constituído por uma morfologia de padrão básico variável, ou seja, dismórfica, mas com 50% ou mais das células com padrão homogêneo (isomórfica). Nesta situação, a possibilidade de lesão glomerular e não-glomerular coexistirem era considerada (BIRCH & FAIRLEY, 1979).

A idéia de que as hemácias normalmente encontradas em pequeno número na urina de indivíduos sem doença do trato urinário são de padrão dismórfico e

conseqüentemente glomerulares, foi introduzido nestes estudos iniciais de BIRCH & FAIRLEY (1983).

Embora estas concepções tivessem início a partir dos relatos de Birch e Fairley, alguns autores já haviam feito referência a variação morfológica das hemácias na urina. ADDIS (1926) relata que em urinas diluídas ou alcalinas de indivíduos normais os eritrócitos poderiam sofrer lise celular. As células deformadas ou destruídas em consequência destes fenômenos poderiam não ser identificadas como hemácias pelo microscopista, refletindo um número falsamente reduzido destes elementos na amostra examinada. LARCOM & CARTER (1948), confirmavam esta observação. BROD (1973) descreveu que eritrócitos poderiam ser encontrados distorcidos, acrescentando que isto poderia ocorrer como resultado de sua passagem pelos túbulos. Entretanto ninguém, até então, havia correlacionado os achados de microscopia com a origem da hematúria, nem considerado a possibilidade de utilizar-se deste fenômeno para investigá-la.

Com a divulgação das idéias do grupo australiano de Birch e Fairley, certo impacto clínico seguiu-se, por apresentar o método um grande potencial de utilidade prática ainda a ser elucidado, além da fácil execução, reprodutibilidade, simplicidade e baixo custo. Em diferentes partes do mundo, vários grupos passaram a reproduzir os trabalhos procurando estabelecer a correlação clínico-laboratorial (Quadro 5).

Quadro 5. Estudos sobre morfologia de eritrócitos urinários utilizando microscopia de contraste de fase - revisão de literatura.

REFERÊNCIA	CASUÍSTICA	CRITÉRIO DE DISMORFISMO	RESULTADOS
FAIRLEY & BIRCH (1982) Austrália	88 pacientes 30 HG 58 HNG	HG: Mais de três tipos celulares Extrusão de vesículas citoplasmáticas Ruptura de membrana e perda do citoplasma Deposição de material fase denso, perifericamente "Doughnut-like cells"	
BIRCH & FAIRLEY (1983) Austrália	141 pacientes	HNG: isomórfico: menos de 3 populações de células presentes, com conteúdo normal de hemoglobina MISTO: presença de células dismórficas, em quantidade menor que 50%	HG sensibilidade=99% especificidade=93% HNG especificidade=90%
FASSET, HORGAN, MATHEW (1982) Austrália	303 pacientes	HG: mais de 80% de hemácias distorcidas, com variação de tamanho, morfologia e fragmentação HNG: mais de 80% de células uniformes MISTO: valores intermediários	HG: VP positivo=85%
RIZZONI, BRAGGION, ZACCHELLO (1983) Itália	225 amostras (151 pacientes)	HG: GV variável em tamanho, morfologia, contornos irregulares e distorcidos HNG: aspecto, dimensão e contornos regulares	Concordância diagnóstica: HG=95% HNG=96%
ABDURRAMAN <i>et al</i> (1985) Arábia Saudita	105 amostras obtidas de pacientes e urina acrescida de sangue	HG: irregularidades de contorno e morfologia em mais de 20% de eritrócitos "Borderline": entre 10 E 15% HNG:<10%.	HG: sensibilidade=93% especificidade=100%
DANTAS <i>et al.</i> (1985) Brasil	22 pacientes HG=10 HNG=12	HG: irregularidades, rugosidades, protuberâncias ou espículas em mais de 75% das hemácias HNG: hemácias morfologicamente normais	sensibilidade=90% especificidade=100%

Quadro 5 (continuação). Estudos sobre morfologia de eritrócitos urinários utilizando microscopia de contraste de fase - revisão de literatura.

REFERÊNCIA	CASUÍSTICA	CRITÉRIO DE DISMORFISMO	RESULTADOS
CABRERA & FERNANDEZ (1985) México	25 amostras de pacientes com glomerulopatia 30 amostras doença urológica	HG: modificação de forma e tamanho em mais de 85% das hemácias HNG: hemácias íntegras	HG: sensibilidade=96,6% especificidade=100%
RAMAN <i>et al.</i> (1986) Reino Unido	68 amostras 2 observadores	HG: ≥80% de hemácias com as características descritas por Birch & Fairley HNG: ≥80% de hemácias uniformes MISTO: valores intermediários	Diferença inter-observador = 38% Baixa correlação clínica
LÓPEZ VERDE <i>et al.</i> (1988) Espanha	116 pacientes	HG: irregularidades em mais de 60% HNG: maioria das hemácias homogêneas MISTO: hemácias dismórficas entre 40 e 60%	sensibilidade=84%, especificidade=90% VP=91,8%
HILDEBRANDT <i>et al.</i> (1988) Alemanha	135 amostras	Classificação em 18 tipos morfológicos "glomerulares" e 15 "não-glomerulares". De acordo com a porcentagem, dividido em isomórfica e dismórfica	"Torócitos" (= "doughnut-like cells") específica para HG
KÖHLER, WANDEL, BRUNCK (1991) Alemanha	351 pacientes com hematúria 33 sadios	Classificação dos eritrócitos segundo a Classificação Hematológica de BESSIS (1972) modificada.	Acantócito ≥5%: sensibilidade=52% especificidade=97%
TOMITA <i>et al.</i> (1992) Japão	113 pacientes	Classificação dos eritrócitos urinários segundo CHU <i>et al.</i> (1990) 5 formas de eritrócitos não glomerulares (N1-N5) 5 formas glomerulares (G1-G5) (G1 = acantócito)	G1 ≥1% sensibilidade=89% especificidade=95% ΣG ≥5% sensibilidade=90,4% especificidade=97,5%
CROMPTON, WARD, HEWITT (1993) Austrália	101 amostras 2 observadores MCF e Nomarsky	HG: três ou mais tipos morfológicos HNG: menos de três morfologias (variação de tamanho, contornos e conteúdo de hemoglobina)	observador 1: sensibilidade=95% especificidade=95% observador 2: sensibilidade=93% especificidade=100%

A maioria dos autores realiza a pesquisa do sedimento urinário a fresco, em microscopia de contraste de fase. São, todavia, descritas variações deste método.

Alguns grupos consideram possível a observação do DE em microscopia óptica de campo claro convencional. Para tanto, faz-se necessária a coloração da urina por corantes hematológicos (STAPLETON, 1987; CHANG, 1984) ou epiteliais (EGGENSPERGER *et al.*, 1989; MARCUSSEN *et al.*, 1992). Os grupos que sustentam esta possibilidade enfatizam o menor custo e possibilidade de execução em qualquer laboratório, já que dispensa a necessidade do microscópio de contraste de fase, além de fornecer uma lâmina que pode ser revista sempre que se desejar. A hipocromia, aspecto que eritrócitos de origem glomerular assumiriam, é um sinal que pode ser melhor visualizado sob esta técnica (CHANG, 1984).

O preparo das lâminas com técnica de Papanicolaou é utilizado por alguns grupos, especialmente para monitorização de transplantes renais. Esta técnica permite melhor visualização de células epiteliais tubulares e distinção de leucócitos, sinais indiretos de necrose tubular aguda ou rejeição celular, respectivamente (EGGENSPERGER *et al.*, 1989; MARCUSSEN *et al.*, 1992).

ROTH, RENNER, RATHERT (1991a, 1991b) obtiveram resultados equivalentes no diagnóstico de hematúria glomerular utilizando MCF e Papanicolaou, em estudo comparativo onde as amostras de urina eram analisadas dias após permanecerem estocadas em uma solução com propriedades preservantes contendo timerosal. Outras soluções químicas também parecem permitir a fixação e preservação do sedimento urinário para observação posterior, como o glutaraldeído a 0,5% e formaldeído a 4% (ANPALAHAN, BIRCH, BECKER, 1994).

Por fim, aproveitando-se da idéia de que eritrócitos glomerulares apresentam variação de tamanho e, conseqüentemente, do volume corpuscular, SHICHIRI *et al.* (1988) descreveram a possibilidade de utilizar citômetros hematológicos automatizados para identificar hematúria glomerular. Estudos posteriores não confirmaram uma eficácia satisfatória da análise volumétrica dos eritrócitos como boa alternativa aos métodos microscópicos (DE METZ *et al.*, 1991; JEAN, SCHIPHORST, GO, 1993).

FAIRLEY & BIRCH (1993) e CROMPTON, WARD, HEWITT (1993) consideram que para análise morfológica das hemácias, nenhuma técnica de microscopia de campo claro substitui o uso do microscópio de contraste de fase e que isto foi a causa de maus resultados em algumas séries apresentadas na literatura. Além deste, outros fatores são considerados como responsáveis por falsos resultados. Em hematúrias mais exuberantes de origem glomerular, podem não ser encontrados eritrócitos dismórficos (VAN ISEGHEM, 1983; CHANG, 1982, 1984). Em urinas de muito baixa osmolalidade, as células podem sofrer lise, dificultando a interpretação (FAIRLEY & BIRCH, 1993). Após exercício vigoroso, em alguns indivíduos, tem sido descrita hematúria dismórfica, inclusive com a presença de cilindros hemáticos (KINCAID-SMITH, 1982; FASSET *et al.*, 1982).

A microscopia de interferência de Nomarsky, embora de melhor efeito estético, não ofereceu resultados melhores que a MCF convencional (CROMPTON *et al.*, 1993).

A microscopia eletrônica também foi utilizada para observação de maiores detalhes das hemácias dismórficas por alguns pesquisadores (POLLOCK *et al.*, 1989). Empregou-se ainda a microscopia de imunofluorescência e métodos imunohistoquímicos para identificar eritrócitos marcados com anti-soro contra proteína de Tamm-Horsfall (JANSSENS *et al.*, 1992).

Ainda que, desde a descrição original do dismorfismo eritrocitário muitos estudos tenham sido realizados, algumas questões permanecem polêmicas. Uma das controvérsias se refere a quantidade de hemácias dismórficas em relação às normais que seria considerada indicativa de hematúria glomerular. Neste sentido, a discrepância entre os autores é grande. Enquanto alguns consideram a hematúria glomerular o encontro de 10% ou 20% (CHANG, 1984; ABDURRAMAN *et al.*, 1985; STAPLETON, 1987) de hemácias dismórficas, outros autores citam como necessário encontrar 60% (LÓPEZ-VERDE *et al.*, 1968), 75% (DANTAS *et al.*, 1985; POLLOCK *et al.*, 1989), 80% (FASSET *et al.*, 1982; RAMAN *et al.*, 1986) ou outras proporções de hemácias "dismórficas", cuja descrição também varia conforme o pesquisador, para assegurar a origem glomerular da hematúria.

Considerando que a falta de um critério evidente de expressão do dismorfismo eritrocitário é a causa da discordância apontada e com a finalidade de manifestar mais objetivamente a morfologia, alguns autores exprimiram os resultados distribuindo as hemácias em classificações (KÖHLER *et al.*, 1991; HILDEBRANDT *et al.*, 1988; TOMITA *et al.*, 1992).

KÖHLER *et al.* (1991) utilizaram uma classificação hematológica de glóbulos vermelhos previamente elaborada por BESSIS (1972), modificada para classificar as hemácias encontradas na urina, vistas sob MCF (Quadro 6).

Quadro 6. Classificação das hemácias segundo BESSIS (1972), modificada.

1. Discócito. Forma discóide com duas concavidades concêntricas.
2. Anulócito. Forma discóide, plana, com membrana densa.
3. Equinócito. (Hemácia crenada). Superfície espiculada, com projeções curtas, igualmente espaçadas sobre toda a superfície.
4. Fantasma. GV com membrana fina e sem hemoglobina.
5. Esquizócito. Fragmentado, freqüentemente mostrando-se com a forma de meio disco com duas ou três extremidades pontiagudas; podendo apresentar-se como um pequeno e irregular fragmento.
6. Estomatócito. Forma tubular, com única concavidade progredindo pelo "canal" vazio, configurando uma depressão.
7. Nizócito. GV com aspecto tri-côncavo.
8. Codócito. (hemácia em alvo, "doughnut-like cell"), que vista lateralmente, assume o aspecto de um "sino".
9. Acantócito. formato anelar com protrusões citoplasmáticas vesiculares na superfície.

Em sua casuística, conclui que apenas o acantócito é característico de hematúria glomerular. As demais hemácias "dismórficas" teriam importância menor para o diagnóstico, pois são encontradas em proporção semelhante em ambas as

causas de hematúria. A própria transformação discócito - equinócito - estomatócito depende do meio urinário, o que explicaria a alta diferença de porcentagem de eritrócitos "anormais" para diagnóstico de hematúria glomerular em alguns relatos. Acantocitúria maior ou igual a 5%, por outro lado, obteve especificidade de 98% e sensibilidade de 52% no diagnóstico de hematúria glomerular. Porém, a ausência de acantócitos não excluiu doença glomerular (KÖHLER *et al.*, 1991).

A importância dos acantócitos na urina como meio de detectar hematúria glomerular já havia sido relatada previamente pelos mesmos autores em 1988 (WANDEL *et al.*, 1988). FOGAZZI (1994) utilizando a mesma classificação, observou com 4% de acantocitúria, sensibilidade de 71% e especificidade de 98%.

Outra distribuição das hemácias foi empregada por TOMITA (1992), que utilizou uma classificação proposta por CHU *et al.* (1990), própria para descrever eritrócitos urinários (Quadro 7). Esta consiste em dividir os eritrócitos em morfologias glomerulares - "G", e não glomerulares ou normais - "N". Estes subdividem-se em números, sendo G1, a forma mais importante de eritrócito glomerular (o correspondente morfológico do acantócito da classificação de Bessis). Encontrando-se G1 maior ou igual a 1%, obteve sensibilidade de 89% e especificidade de 95%. Nesse estudo, Tomita encontrou G1 exclusivamente em hematúria glomerular. Nas hemácias eliminadas por indivíduos normais não foram observadas células da classe G1, mas constatou-se a presença de outras formas glomerulares (G).

Quadro 7. Classificação das hemácias na urina segundo CHU *et al.* (1990)

- N1. Discócitos: disco bicôncavo
- N2. Esferócitos: células esféricas com superfície plana
- N3. Célula plana, com diâmetro maior; superfície plana ou irregular
- N4. Concavidade mais profunda que N1. Inclui estomatócitos.
- N5. Equinócitos ou hemácias crenadas.
- G1. Hemácia em alvo com uma ou mais projeções citoplasmáticas.
- G2. Células esféricas com projeções citoplasmáticas.
- G3. Hemácia em alvo com superfície irregular.
- G4. Células pequenas, semelhantes a leveduras.
- G5. Eritrócitos de tamanho reduzido, com ou sem outra deformidade.

Dessa forma, mesmo aceito que as alterações morfológicas das hemácias constituem um útil recurso diagnóstico na investigação da causa da hematúria, uma padronização metodológica não é universalmente seguida.

Mesmo a etiopatogênese das transformações estruturais das hemácias glomerulares ainda não é suficientemente esclarecida. É concebido que alguns fatores estejam envolvidos nas deformidades dos eritrócitos:

1. Trauma mecânico: As modificações da forma da hemácia ocorreriam durante sua transposição pela membrana basal glomerular. Os eritrócitos, impulsionados pela pressão hidrostática no capilar glomerular, passariam através de poros da parede glomerular. Como resultado desta passagem, surgiriam as deformações da membrana celular, de natureza lipoprotéica e conseqüentemente "amoldável" (STAPLETON, 1987). O "stress mecânico" poderia existir ainda a nível tubular.

2. Alterações osmóticas: Em conseqüência da hipotonicidade do néfron distal ("stress hipotônico"). Este efeito poderia ser anulado em situações de hematúria maciça, onde eritrócitos glomerulares poderiam ser eliminados na urina de forma

isomórfica (CHANG, 1984, 1982; VAN ISEGHEM, 1983). Não foi possível, entretanto, reproduzir formas glomerulares *in vitro* variando osmolaridade do meio urinário (SCHUETZ, 1985).

3. Influência de enzimas: As enzimas liberadas de lisossomos de células inflamatórias glomerulares, atuam na membrana celular, deformando-a. Nem todas as causas de hematúria glomerular, porém, são de natureza inflamatória, contradizendo esta teoria (ROTH *et al.*, 1991a, 1991b). LUBEC (1984) reproduziu células, por ele consideradas "dismórficas", incubando eritrócitos em meios contendo enzimas lisossômicas de polimorfonucleares. Descreveu ainda células com estas características em pacientes com nefrites túbulo-intersticiais. Por isto considera que polimorfonucleares presentes em doenças túbulo-intersticiais possam desenvolver alterações típicas de hematúria glomerular. SCHRAMEK *et al.* (1989), em procedimentos experimentais, utilizando sangue periférico e expondo-o a soluções com diversas composições semelhantes às diferentes porções dos túbulos e a um meio obtido com lise de hemácias, conseguiram reproduzir células muito semelhantes ao acantócito.

4. Fagocitose eritrocitária: A fagocitose de hemácias, papel que seria exercido por células epiteliais tubulares, também é considerada como possível fator das alterações morfológicas (KINCAID-SMITH, 1982).

SCHUETZ *et al.* (1985) observaram que o aumento do volume urinário por diuréticos ou ingesta hídrica forçada promove significativa queda da porcentagem de eritrócitos dismórficos. Entendem por isto que "forças tubulares" causam as deformações, mas não concluem quais são os fatores em questão. As alterações ocorreriam durante a passagem das hemácias pelos túbulos, conseqüentes aos efeitos osmóticos, enzimáticos e/ou mecânicos.

A própria origem da hematúria glomerular não possui uma explicação universalmente aceita. Considera-se, porém, que o processo inflamatório glomerular possa promover alterações na parede capilar com formação de "poros" que permitam a transposição de eritrócitos dos capilares para o interior do espaço de Bowmann e conseqüentemente aos túbulos. Em situações onde há proliferação

celular exuberante, exsudação e formação de crescentes esta teoria é facilmente aceitável. Em alguns trabalhos foi demonstrado, por meio de microscopia eletrônica, a existência das descontinuidades da membrana e a transposição das hemácias nestas circunstâncias tanto em humanos (JAI-TRUNG *et al*, 1983), quanto em modelos experimentais de nefrites (MAKINO *et al*, 1988). Por outro lado, existem doenças glomerulares que cursam com hematúria em que a resposta não é tão clara. Na Doença de Berger, por exemplo, os achados microscópicos constituem, muitas vezes, apenas depósitos mesangiais por IgA, sem alterações da parede glomerular. Não obstante, hemácias são, ao mesmo tempo, detectadas na luz tubular (MALLICK & SHORT, 1992).

Assim, mesmo sendo um sinal de doença conhecido e debatido há muito, a hematúria e mais recentemente o estudo de sua morfologia permanece como uma intrigante e não totalmente esclarecida arma diagnóstica.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Determinar a utilidade e limitações da observação da morfologia dos eritrócitos urinários, utilizando microscopia de contraste de fase, como meio de diagnóstico da origem da hematúria.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

2.2.1. Comparar o resultado da morfologia dos eritrócitos urinários de um grupo de pacientes portadores de hematúria com os seus respectivos diagnósticos, determinando sua provável associação.

2.2.2. Determinar a sensibilidade, especificidade, valores preditivo positivo e negativo e eficácia das diversas morfologias em diferenciar hematúria glomerular de não glomerular no grupo estudado.

2.2.3. Avaliar a associação entre os valores de proteína, osmolalidade, densidade e pH urinários observados nas amostras de urina e a morfologia das hemácias.

METODOLOGIA

METODOLOGIA

3.1. PACIENTES

3.1.1. CrITÉRIOS de inclusão

Entre março e dezembro de 1993 foram estudadas 155 amostras de urina de 109 pacientes com hematúria, considerada como o encontro de mais de 5 hemácias por campo microscópico com aumento 400.

Procurou-se incluir na casuística a maior variedade possível de causas deste sinal. Para tanto, encaminhou-se para análise o material colhido de pacientes de diversos ambulatórios e enfermarias do HC UNICAMP. Em virtude da triagem a que são submetidos os pacientes, a maior demanda foi proveniente dos ambulatórios e enfermarias de Nefrologia, Nefropediatria e Urologia.

A pesquisa foi dirigida no sentido de se obter amostras de determinadas situações em especial, incluindo:

- Doenças glomerulares comprovadas por biópsia renal.
- Outras doenças parenquimatosas renais comprovadas por biópsia renal.
- Doenças extra-renais que cursam com hematúria, cujos diagnósticos tenham sido comprovados por exames radiológicos, anatomopatológicos ou outros.
- Indivíduos em fase de investigação da causa da hematúria, cujo diagnóstico foi confirmado no decorrer do estudo.

A análise das amostras de urina foi realizada sem o conhecimento das informações clínicas e diagnósticos dos pacientes.

3.1.2. Diagnósticos

Os diagnósticos foram feitos com base em dados clínicos, laboratoriais, radiológicos e anatomopatológicos. Os subsídios para o diagnóstico dos pacientes foram obtidos da pesquisa dos prontuários nos arquivos da Disciplina de Nefrologia e Divisão de Arquivos Médicos e Estatística do HC UNICAMP. As amostras de cujos

pacientes não fora possível estabelecer a comprovação segura do diagnóstico foram excluídas da análise estatística, bem como dos indivíduos com quadro de doença glomerular sem a respectiva confirmação histológica.

A. Doenças parenquimatosas renais: considerou-se, no grupo estudado, o quadro clínico e histológico para definir estas doenças . O diagnóstico morfológico foi obtido através da análise do fragmento de biópsia renal por microscopia, analisada por médico anatomopatologista. Os seguintes critérios foram observados:

A.1 - Doenças glomerulares

Glomerulonefrites membrano proliferativas: Apresentação clínica de proteinúria glomerular com ou sem síndrome nefrótica e hematúria macro ou microscópica. Hipertensão arterial e perda de função renal em graus variáveis. Achado histológico de hiperplasticidade, com diferentes graus de aumento e espessamento focal ou difuso da matriz mesangial. Lobulação e aumento do volume dos glomérulos. Aspecto de duplo contorno nas alças capilares. IF:- IgG e IgM de distribuição granular em mesângio e alças capilares ou C3 intenso ME:- Interposição mesangial e depósitos subendoteliais (tipo I) ou intramembranosos (tipo II).

Doença de Alport: Ocorrência familiar de hematúria ou insuficiência renal crônica, podendo ocorrer perda auditiva e/ou defeitos oculares. MO com espessamento e proliferação mesangial em graus variáveis. Irregularidades de espessura e contorno da membrana basal glomerular observadas à ME.

Nefropatias por IgA:

Doença de Berger (nefropatia primária por IgA): Diagnóstico baseado no encontro de forte positividade para IgA à IF do fragmento renal, associado a apresentação clínica de hematúria, diferentes grau de proteinúria e perda variável ou não de função renal.

Púrpura de Henoch-Schöenlein: Vasculite de vasos de pequeno calibre, acometendo pele e intestino, além dos glomérulos. Predominância de IgA na IF.

Vasculites Sistêmicas: foram englobados neste grupo a Granulomatose de Wegener e Poliarterite Microscópica, ou seja, vasculites de pequenos vasos não associadas a outras doenças sistêmicas. Expressão sistêmica variável e manifestação renal com hematúria, proteinúria e perda variável de função. Anatomicamente, observou-se glomerulonefrite necrotizante com ou sem crescentes. IF negativa.

Lúpus Eritematoso Sistêmico: Critérios clínicos e laboratoriais definidos pela Associação Americana de Reumatologia de 1982 (TAN et al., 1982). Quadro morfológico determinado pela classificação adotada pela Organização Mundial de Saúde (BALDWIN et al., 1977; GLASSOCK et al., 1992 b).

Glomeruloesclerose focal e segmentar primária: Clinicamente expressa por proteinúria e, nos casos analisados, hematúria microscópica. Padrão histológico de expansão da matriz mesangial com hialinose, localizada num segmento de alguns glomérulos, sem outras lesões glomerulares concomitantes. Ausência de depósitos à ME.

Glomerulonefrite Crescêntica Idiopática: Hematúria, proteinúria e perda de função renal. Achado morfológico de proliferação das células do folheto parietal da cápsula de Bowmann, formando as chamadas crescentes. Proliferação do tipo endocapilar ou mesangial de graus variáveis.

Síndrome hemolítico-urêmica: quadro clínico de insuficiência renal aguda, anemia hemolítica microangiopática e plaquetopenia de gravidade variável. Microangiopatia de arteríolas e glomérulos, com edema de células endoteliais, depósitos de fibrina e áreas variáveis de necrose fibrinóide na parede do vaso.

A.2. Doenças não glomerulares

Nefropatia túbulo-intersticial: biópsia cujas principais alterações histológicas consistiram de infiltração intersticial por células mononucleares (linfócitos e monócitos) ou leucócitos polimorfonucleares, sem alterações glomerulares consideradas significativas.

B. Doenças extra-renais: foram consideradas se houve a comprovação através de métodos radiológicos, ultra-sonográfico ou anatomopatológicos, além dos dados clínico-laboratoriais:

Pós cirurgia urológica: pós operatório de cirurgias de manipulação do trato urológico (ressecção prostática, nefrectomia, transplante renal, litotripsia e outras).

Cateterismo vesical: Manipulação endoscópica do trato urinário ou cateterismo vesical antecedendo a coleta da amostra de urina, sem hematúria prévia.

Pós biópsia renal: Hematúria que se manifestou após a realização de biópsia renal, em paciente que não apresentara este sinal previamente ao procedimento.

Neoplasias do trato geniturinário: Hematúria cuja investigação urológica se associou a tumores do trato urinário ou genital masculino. Diagnóstico anatomopatológico da biópsia de próstata ou bexiga ou de suas respectivas peças cirúrgicas.

Litíase do trato urinário: Presença de dados clínicos, principalmente dor em lombar em cólica, acompanhando a hematúria. Comprovação diagnóstica por urografia excretora e/ou ultra-sonografia abdominal.

Tuberculose renal:- Positividade da cultura de urina para *Micobacterium tuberculosis*, na investigação da hematúria.

3.2. AMOSTRAS DE URINA

3.2.1. Coleta e identificação do material

Os pacientes foram encaminhados para a coleta de uma amostra da urina, jato médio, após antissepsia local, supervisionados por uma enfermeira. Os pacientes com cateterismo vesical tiveram o material colhido diretamente da sonda, após pinçamento da mesma por cerca de 60 minutos. O material era coletado em recipiente plástico e identificado com um número e data de coleta. O respectivo nome e número do prontuário foram anotados separadamente, de forma a não ser possível identificar o paciente através da anotação na amostra. O conteúdo desta informação somente foi revelado após a avaliação completa de todas as amostras.

3.2.2. Análise das amostras

Após a coleta, o material era encaminhado ao Laboratório de Líquidos Biológicos para análise, onde as amostras foram sistematicamente submetidas a seguinte sequência de eventos:

A. Tiras reagentes: - Análise realizada no prazo de 1 hora após a coleta, com a urina bem homogeneizada e sem centrifugar, feita através da determinação semi-quantitativa com fitas reagentes Multistix® 10 SG Ames®, lidas mediante instrumento analisador CLINITEK® 10. Foram considerados os resultados de densidade, pH e proteína.

B. Centrifugação: - Foi centrifugada alíquota de 10 ml a 3.000 rotações por minuto, durante 10 minutos. Em seguida foi separado o sobrenadante (9,5 ml) para análise físico-química, e o sedimento (0,5 ml), para análise morfológica.

C. Análise físico-química: - Procedeu-se à análise dos seguintes parâmetros:-

C.1. Osmolalidade: medida por método de osmometria por ponto de congelação (Advanced Digimatic® Osmometer Model 3D2), expressa em mOsm/Kg H₂O.

C.2. Proteína: nas situações em que a fita reagente revelou a presença de proteína igual ou superior a "traços", foi realizada a dosagem quantitativa por método turbidimétrico pelo ácido sulfossalicílico e leitura por espectrofotometria, expressa em g/l na amostra isolada.

D. Análise morfológica:- 0,05 ml do sedimento urinário foi interposto entre lâmina-lâminula e observado a fresco em microscópio de contraste de fase da marca Zeiss®. Esta fase do estudo foi efetuada em conjunto com médica patologista clínica, habituada com a análise de dismorfismo eritrocitário na rotina do laboratório, sem conhecimento da identidade e dados clínicos dos pacientes.

O aumento 100X era utilizado a fim de obter-se uma visão panorâmica e procurar campos mais propícios à observação. Em seguida, utilizava-se o aumento 400X no intuito de se identificar as hemácias e outros elementos do sedimento urinário. A presença de cilindros hemáticos e as observações técnicas pertinentes foram anotadas.

As hemácias foram discriminadas segundo a Classificação Hematológica de Bessis (Quadro 6). No mínimo 100 hemácias foram analisadas em cada amostra. Os dados foram anotados em uma ficha com identificação do número e data da amostra. Lâminas consideradas de interesse científico foram fotografadas.

3.3. EXCLUSÃO DE AMOSTRAS

Para análise estatística foram excluídas do estudo as amostras que apresentaram qualquer das características a seguir:

- Ausência de hematúria (número de eritrócitos inferior a 5/campo) na amostra estudada.
- Observação da morfologia prejudicada por questões técnicas (interferência de bactérias, células epiteliais, formações de uratos ou fosfatos amorfos, presença de muco ou grumos leucocitários).

- Falta de dados para o diagnóstico preciso até o momento da conclusão do estudo.

- Doença glomerular não comprovada por biópsia renal.

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o auxílio de um microcomputador empregando-se o programa Microstat®, desenvolvido pela Ecosoft® Inc, Indianapolis.

Os cálculos de associação entre a presença das diferentes morfologias de eritrócitos e o diagnóstico dos pacientes foi realizado utilizando-se do teste de qui-quadrado, aplicada a correção de Yates e o teste exato de Fisher quando necessário. O mesmo foi feito para avaliar a associação entre densidade, osmolalidade, pH, proteína e a presença das morfologias.

A comparação entre os grupos glomerulares e não glomerulares em relação a osmolalidade e proteinúria foi feita por meio do teste t de Student.

O nível de significância em relação aos testes foi considerado se p inferior a 0,05.

As propriedades das morfologias como teste diagnóstico foram definidas e calculadas como se segue (DEPARTMENT OF CLINICAL EPIDEMIOLOGY AND BIOSTATISTICS, MC MASTER UNIVERSITY HEALTH SCIENCES CENTRE, 1981):

PROPRIEDADES ESTÁVEIS (Independentes da frequência)

Sensibilidade: índice de capacidade do teste de detectar a doença, quando presente.

$$\text{SENSIBILIDADE} = \frac{\text{nº de testes positivos verdadeiros}}{\text{nº de testes positivos verdadeiros} + \text{negativos verdadeiros}}$$

Especificidade: Capacidade do teste de identificar corretamente a ausência de enfermidade.

$$\text{ESPECIFICIDADE} = \frac{\text{nº de testes negativos verdadeiros}}{\text{nº de testes negativos verdadeiros} + \text{falsos positivos}}$$

PROPRIEDADES DEPENDENTES DA FREQUÊNCIA

Valor preditivo positivo (VP+): probabilidade da doença existir no caso do teste ser positivo, na amostra em questão.

$$\text{V.P.+} = \frac{\text{nº de testes positivos verdadeiros}}{\text{nº de testes positivos verdadeiros} + \text{falsos positivos}}$$

Valor preditivo negativo (VP-): probabilidade da doença não existir no caso do teste ser negativo, na amostra em questão.

$$\text{V.P.-} = \frac{\text{nº de testes negativos verdadeiros}}{\text{nº de testes negativos verdadeiros} + \text{falsos negativos}}$$

Acuidade (acurácia) : Razão de concordância entre o resultado do teste e o diagnóstico de certeza.

$$\text{ACUIDADE} = \frac{\text{nº de testes positivos verdadeiros} + \text{negativos verdadeiros}}{\text{nº de testes totais}}$$

OUTRAS DEFINIÇÕES:

Índice de frequência da morfologia por amostra (IFMA): razão entre número de vezes em que determinado tipo morfológico é observado em uma amostra estabelecida em relação a 100 hemácias contadas na mesma amostra.

$$\text{IFMA} = \frac{\text{nº de determinado tipo morfológico}}{100 \text{ hemácias analisadas}} \times 100$$

Índice de presença da morfologia por grupo (IPMG): relação entre o número de amostras em que determinado tipo morfológico é detectado, independente do número de vezes em que é observado, e o total de amostras do grupo de doença (glomerular ou não glomerular).

$$\text{IPMG} = \frac{\text{nº de amostras que apresentam o tipo morfológico}}{\text{nº de amostras totais do grupo de doença}} \times 100$$

RESULTADOS

RESULTADOS

4.1. EXCLUSÃO DE AMOSTRAS

De 155 amostras de urina coletadas para análise, 64 (41,29%) foram excluídas. Destas, 29 (18,70%) foram excluídas durante a análise morfológica por não apresentarem hematúria na amostra em questão ou por terem a análise morfológica prejudicada por questões técnicas, tais como grande quantidade de bactérias ou muco, células epiteliais descamativas, presença de formações de uratos ou fosfatos amorfos ou grumos leucocitários. No momento da análise dos diagnósticos, outras 35 amostras (22,58%) foram excluídas por não ter sido possível identificar com clareza a origem da hematúria através dos meios propedêuticos utilizados ou por quadro de doença glomerular não biopsiada (Tabela 1).

Tabela 1. Motivos de exclusão de amostras de urina coletadas.

MOTIVO	n
1. Ausência de hematúria na amostra em questão	13
2. Observação da morfologia prejudicada por questões técnicas	16
3. Falta de dados para diagnóstico preciso	24
4. Doença glomerular não biopsiada	11
Total	64

A análise final foi realizada avaliando-se os resultados de um grupo composto por 91 amostras de 67 pacientes. Os dados das amostras e respectivos pacientes estão expostos nas tabelas da sessão "Apêndice".

4.2. PACIENTES (RESULTADOS CLÍNICOS)

A média de idade dos pacientes incluídos foi de 30,3 anos, variando de 4 a 80 anos. Vinte e um pacientes eram do sexo feminino e 46 do sexo masculino.

As amostras foram divididas como pertencentes aos grupos "glomerular" e "não glomerular", de acordo com o diagnóstico da doença que deu origem à hematúria, baseado em critérios clínico-laboratoriais e anatomopatológicos.

4.2.1. Grupo glomerular

Das 91 amostras, 54 (59,34 %) pertenceram a 33 pacientes (21 homens, 13 mulheres), com média de idade igual a 23,8 anos, portadores de doença glomerular, cujos diagnósticos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Diagnósticos dos pacientes com doença glomerular

Diagnósticos	amostras	pacientes
Glomerulonefrite membrano-proliferativa	13	8
Doença de Alport	6	4
Doença de Berger	8	5
Púrpura de Henoch-Schöenlein	3	1
Vasculites Sistêmicas	7	3
Lúpus Eritematoso Sistêmico	5	4
Glomeruloesclerose Focal Idiopática	8	5
Glomerulonefrite Crescêntica Idiopática	3	2
Síndrome Hemolítico-urêmica	1	1
Total	54	33

Os pacientes em questão, em alguma fase do estudo ou previamente a ele, foram submetidos a biópsia renal. Todos apresentaram seus diagnósticos comprovados anatomicamente, através da pesquisa por meio de microscopia óptica, imunofluorescência e/ou microscopia eletrônica.

4.1.2. Grupo não glomerular

Trinta e sete amostras (40,66 %) foram coletadas de 34 indivíduos portadores de doenças não glomerulares que cursam com hematúria (25 homens, 8 mulheres), com média de idade igual a 44,6 anos, cujos diagnósticos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Diagnósticos dos pacientes com doença não glomerular

Diagnósticos	amostras	pacientes
Nefropatia túbulo-intersticial(*)	1	1
Pós cirurgia urológica	8	8
Cateterismo vesical	5	5
Pós biópsia renal	3	3
Neoplasias do trato geniturinário	10	8
Litíase do trato urinário	9	8
Tuberculose renal	1	1
Total	37	34

(*) biópsia renal com diagnóstico anatômico sem alterações glomerulares

As amostras dos pacientes com hematúria considerada como decorrente do trauma ocasionado pela agulha da biópsia renal são expostas na Tabela 4. Todos estes pacientes não apresentavam hematúria prévia.

Tabela 4. Diagnósticos dos pacientes com hematúria pós biópsia renal

Diagnósticos	amostras	pacientes
Rejeição celular aguda em enxerto renal	2	2
Glomerulopatia membranosa	1	1
Total	3	3

4.3. RESULTADOS MORFOLÓGICOS DA ANÁLISE DA URINA

Em cada uma das amostras, no mínimo 100 eritrócitos foram contados e classificados de acordo com a Classificação de Bessis (Quadro 6). Os resultados morfológicos são expostos para cada grupo de doença e para os dois grupos, comparativamente, pelo Índice de Frequência da Morfologia por Amostra (IFMA) e pelo Índice de Presença da Morfologia por Grupo (IPMG), previamente definidos.

4.3.1. Índice de frequência da morfologia por amostra (IFMA):

A. Grupo não glomerular

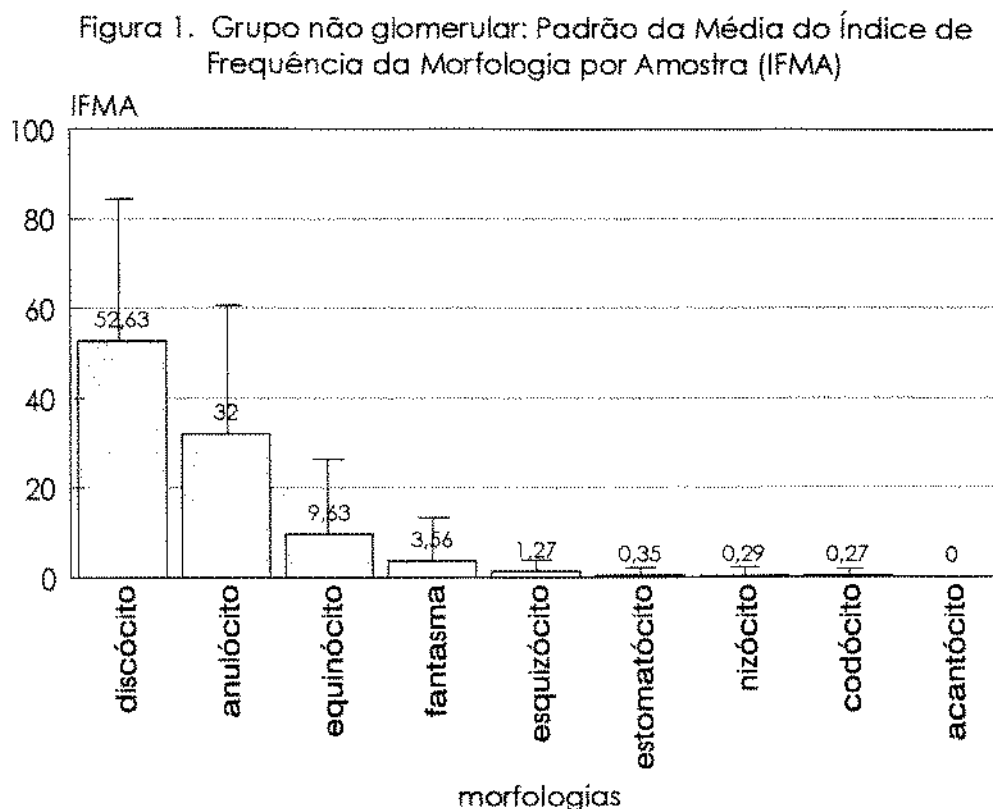
Ao analisarmos os resultados do IFMA no grupo não glomerular, observamos os números expostos na Tabela 5 e ilustrados na Figura 1.

Tabela 5. Índice de Frequência da Morfologia por Amostra (IFMA)
no grupo não glomerular.

tipo morfológico	IFMA - GRUPO NÃO GLOMERULAR			
	média	desvio padrão	valor mínimo	valor máximo
discócito	52,63	32,63	0	100
anulócito	32,00	30,76	0	97
equinócito	9,63	17,87	0	89
fantasma	3,56	10,42	0	47
esquizócito	1,27	3,08	0	17
estomatócito	0,35	1,81	0	11
nizócito	0,29	1,17	0	6
codócito	0,27	1,34	0	8
acantócito	0	0	0	0

Observa-se que houve predominância das células de padrão circular, com conteúdo de hemoglobina normal: discócitos e anulócitos somam 84,63% dos eritrócitos existentes em urinas de pacientes com doença não glomerular, enquanto que 9,63% das células apresentaram-se crenadas (equinócitos). Glóbulos vermelhos de outras morfologias (esquizócitos, estomatócitos, nizócitos e hemácias fantasmas) compõem 5,47% das células. A observação de codócitos foi rara (0,27%) neste grupo de doença, enquanto que nenhum acantócito foi observado.

O padrão do IFMA no grupo de doença não glomerular está ilustrado na Figura 1.



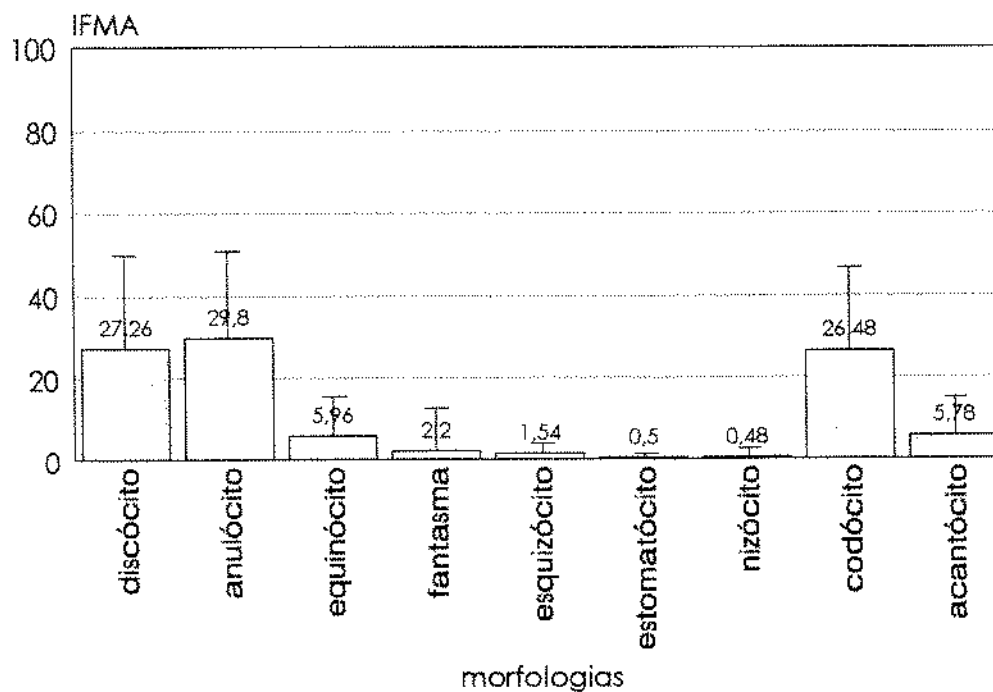
B. Grupo glomerular

No tocante às amostras de origem glomerular (n=54) nota-se que, assim como no grupo anterior, as células em maior número permaneceram discócitos (27,26%) e anulócitos (29,80%). Equinócitos (crenadas) perfazem 5,96%. O agrupamento de células formado por esquizócitos, estomatócitos, nizócitos e hemácias fantasmas somam 5,21% das hemácias, valor próximo ao grupo não glomerular. Observa-se maior freqüência em relação aos codócitos (26,48%) e acantócitos (5,78%), comparativamente ao grupo de doenças não glomerulares. (Tabela 6 e Figura 2).

Tabela 6. Índice de Frequência da Morfologia por Amostra (IFMA) no grupo glomerular

tipo morfológico	IFMA - GRUPO GLOMERULAR			
	média	desvio padrão	valor mínimo	valor máximo
discócito	27,26	22,12	1	85
anulócito	29,80	23,54	0	97
equinócito	5,96	7,36	0	36
fantasma	2,20	8,91	0	65
esquizócito	1,54	3,90	0	21
estomatócito	0,50	1,09	0	5
nizócito	0,48	1,35	0	8
codócito	26,48	24,73	0	76
acantócito	5,78	7,42	0	32

Figura 2. Grupo Glomerular: Padrão da Média do Índice de Frequência da Morfologia por Amostra (IFMA)

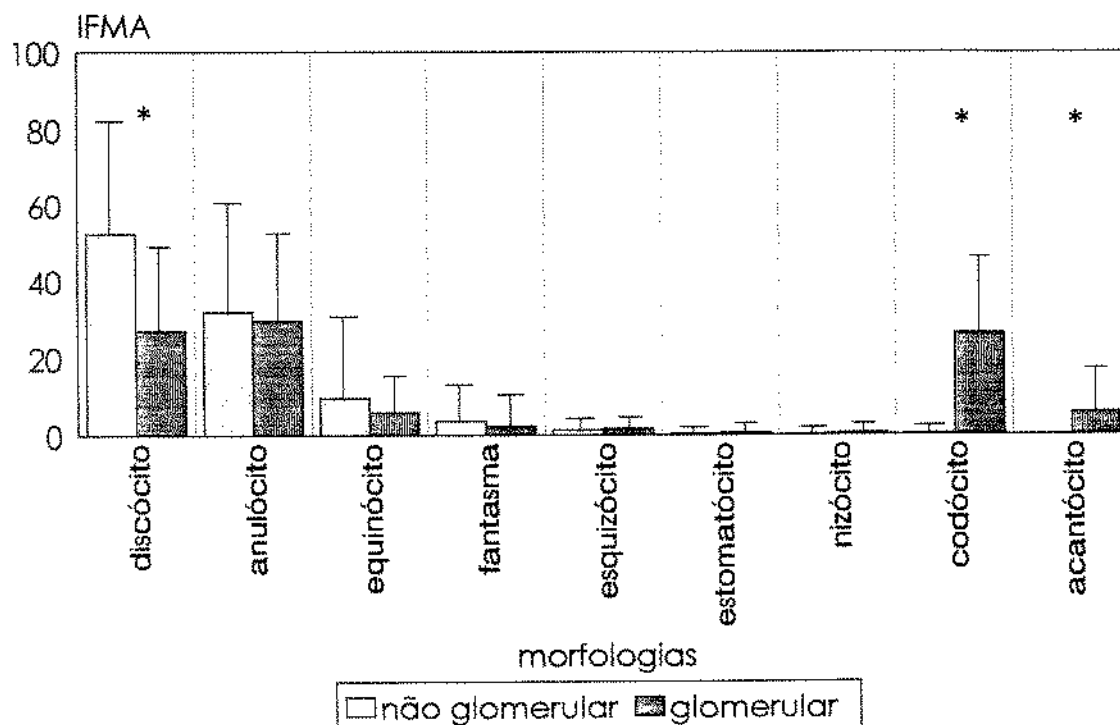


C. Comparação entre os grupos glomerular e não glomerular

Ao comparar os resultados dos grupos glomerular e não glomerular em relação ao IFMA, foi possível observar a existência de diferença estatística em relação aos discócitos ($p<0,001$), codócitos ($p<0,001$) e acantócitos ($p<0,001$). As demais morfologias não foram comparativamente diferentes nos dois grupos de doença em relação a este índice. Assim, anulócitos ($p=0,350$), equinócitos ($p=0,087$), hemácias fantasmas ($p=0,252$), esquizócitos ($p=0,364$), estomatócitos ($p=0,313$) e nízócitos ($p=0,252$) não mostraram diferença estatística nos grupos.

O gráfico comparativo entre o IFMA de ambos os grupos está ilustrado no Figura 3.

Figura 3. Gráfico comparativo entre as Médias dos Índices de Frequência da Morfologia por Amostra (IFMA) nos dois grupos



B. Índice de presença da morfologia por grupo (IPMG)

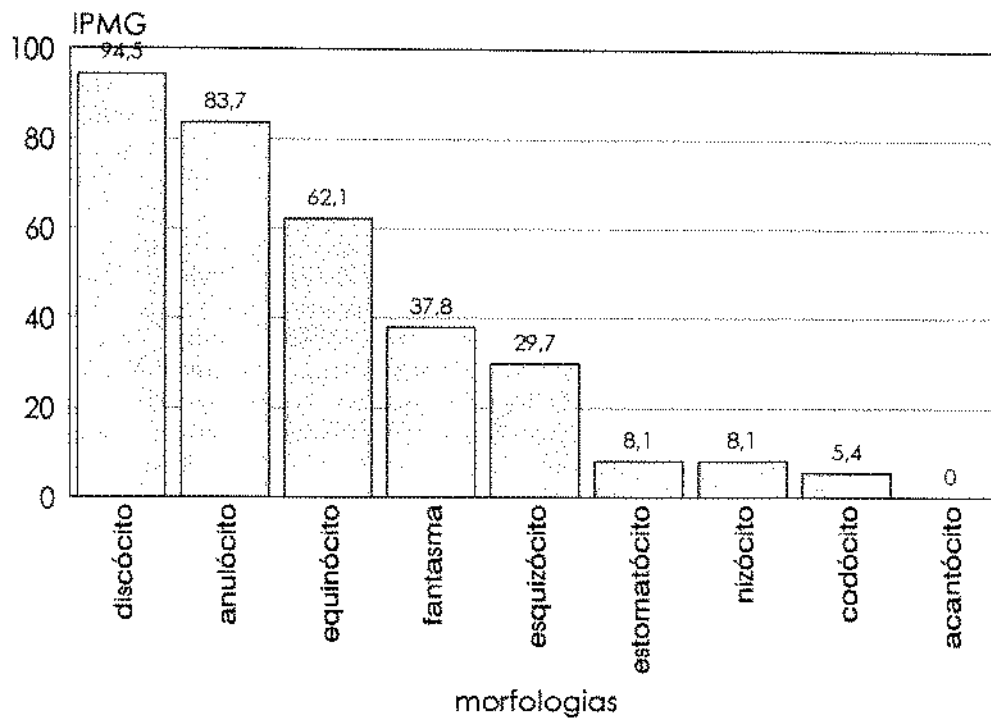
A. Grupo não glomerular

Considerando-se a presença de determinada morfologia na amostra em relação ao número total das amostras não glomerulares, sem considerar o número de vezes em que aparece na mesma, obtemos os valores apresentados na Tabela 7 e ilustrados no Figura 4.

Tabela 7. Índice de Presença da Morfologia no Grupo não Glomerular

tipo morfológico	IPMG - GRUPO NÃO GLOMERULAR (n=37)	
	n obtido	IPMG
discócito	35	94,5
anulócito	31	83,7
equinócito	23	62,1
fantasma	14	37,8
esquizócito	11	29,7
estomatócito	3	8,1
nizócito	3	8,1
codócito	2	5,4
acantócito	0	0

Figura 4. Grupo não glomerular: Padrão do Índice de Presença da Morfologia (IPMG)



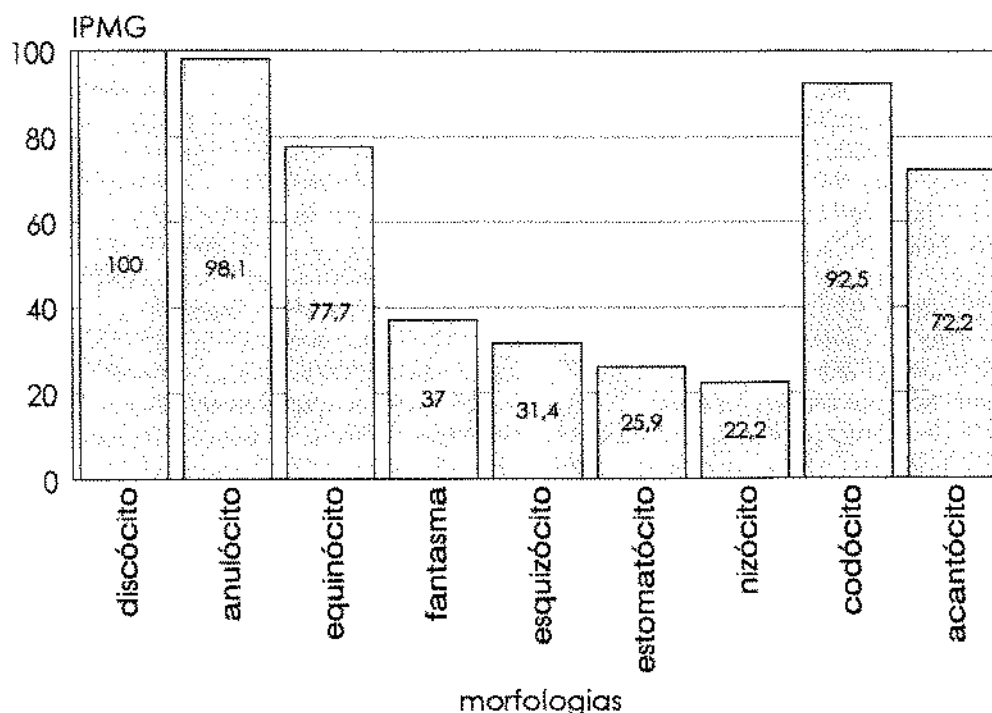
B. Grupo glomerular

Em relação ao grupo glomerular, os valores obtidos e o respectivo padrão morfológico encontram-se na Tabela 8 e Figura 5.

Tabela 8. Índice de Presença da Morfologia no Grupo Glomerular

TIPO MORFOLÓGICO	IPMG - GRUPO GLOMERULAR (n=54)	
	n obtido	IPMG
discócio	54	100
anulócito	53	98,1
equinócito	42	77,7
fantasma	20	37
esquizócito	17	31,4
estomatócito	14	25,9
nízócito	12	22,2
codócito	50	92,5
acantócito	39	72,2

Figura 5. Grupo glomerular: Padrão do Índice de Presença da Morfologia (IPMG)

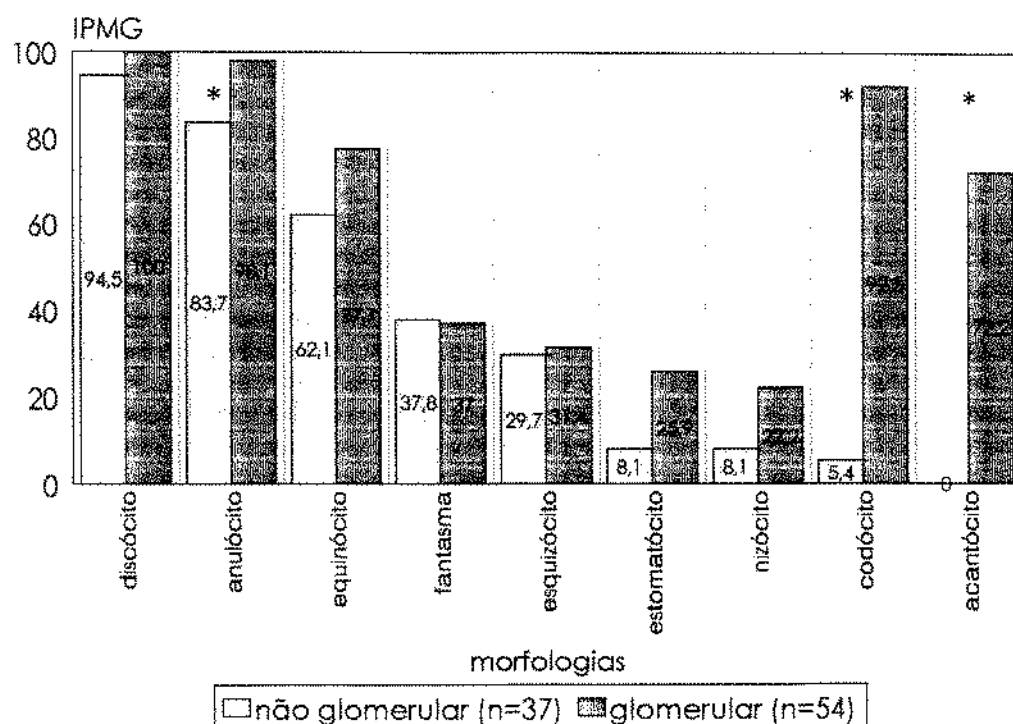


C. Comparação entre os grupos glomerular e não glomerular

Ao considerar apenas a presença da morfologia, independente do número de vezes em que foi verificada, é possível observar que alguns tipos morfológicos se fazem presentes em mais amostras do grupo glomerular, em relação ao não glomerular. Foi possível constatar diferença estatística em relação aos acantócitos ($p < 0,001$), codócitos ($p < 0,001$) e anulócitos ($p = 0,016$). Discócitos ($p = 0,162$), equinócitos ($p = 0,166$), estomatócitos ($p = 0,061$), hemácias fantasmas ($p = 0,886$), esquizócitos ($p = 0,957$), e nizócitos ($p = 0,134$) não se apresentaram estatisticamente diferentes nos grupos.

O gráfico comparativo do IPMG de ambos os grupos é ilustrado na Figura 6.

Figura 6. Gráfico comparativo do Índice de Presença da Morfologia por Grupo (IPMG) nos dois grupos



Das células que mostraram ter sua presença estatisticamente diferente nos grupos, foram calculados os valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivo positivo e negativo e eficácia em detectar hematúria de origem glomerular, expostos na Tabela 9.

Tabela 9. Avaliação das células com IPMG estatisticamente diferente nos dois grupos quanto a detecção de hematúria de origem glomerular

	anulócito	codócito	acantócito
sensibilidade	0,981	0,925	0,722
especificidade	0,162	0,945	1,000
valor preditivo positivo	0,630	0,961	1,000
valor preditivo negativo	0,857	0,897	0,711
acurácia	0,648	0,934	0,835
p	0,016	<0,001	<0,001

4.4. RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DA ANÁLISE DA URINA

4.4.1. Proteinúria

A dosagem da proteína isolada na urina foi realizada em todas as amostras coletadas. Observou-se que a média dos valores obtidos no grupo glomerular ($x=5,89$ g/l, $DP=7,08$) foi estatisticamente diferente ($p < 0,001$) do grupo não glomerular ($x=0,36$ g/l, $DP=0,36$). Os dados estão expostos na Tabela 10.

Para estudo comparativo da proteína, foram excluídas do grupo não glomerular as amostras de pacientes com hematúria pós biópsia renal, por apresentarem casos de doença glomerular.

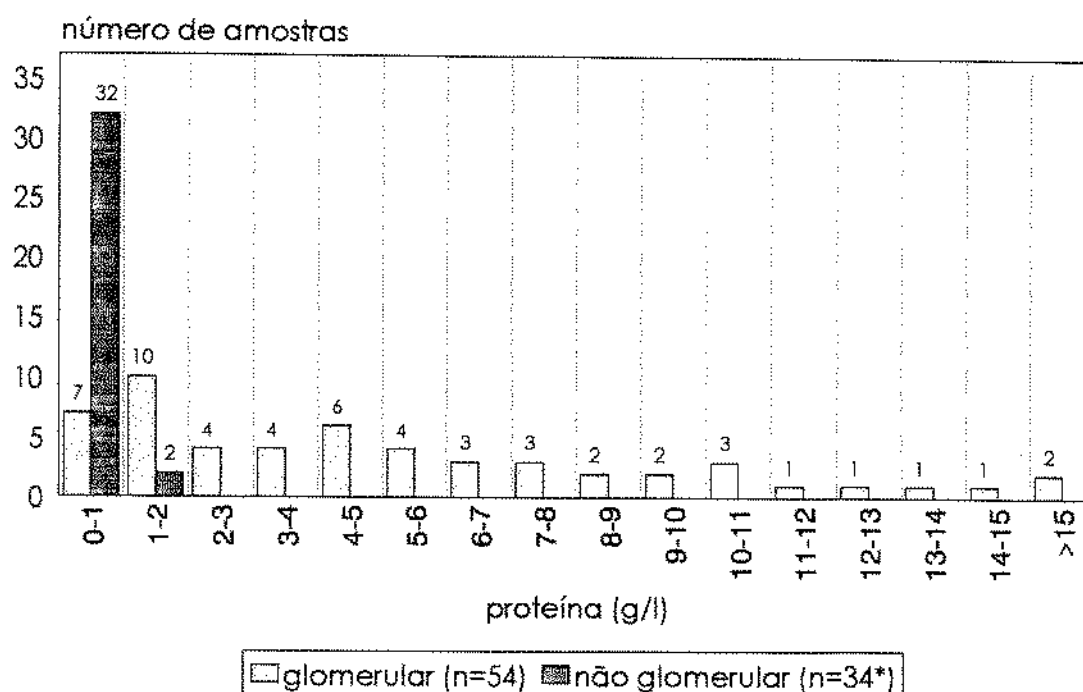
Tabela 10. Valores de proteína (g/l) nas amostras

	glomerular (n=54)	não glomerular (n=34)*
média	5,89	0,36
desvio padrão	7,08	0,36
valor mínimo	0,00	0,00
valor máximo	47,48	1,27

(*) excluídas as amostras de pacientes com hematúria pós biópsia

A distribuição dos valores de proteína nos dois grupos pode ser observada na Figura 7.

Figura 7. Distribuição dos valores da proteinúria nos grupos



*excluídas amostras pós-biópsia renal

Associação entre os valores de proteína e a presença das morfologias:

Dividindo-se as amostras em dois grupos, acima e abaixo da média (3,70 g/l), observa-se significância estatística para codócitos ($p < 0,001$) e acantócitos ($p < 0,001$). O mesmo valor estatístico é obtido para as morfologias citadas quando se divide os grupos acima e abaixo da mediana (1,47 g/l) ou tomando-se como referência os valores da extremidade da curva de distribuição da proteína (< 0,50 g/l e > 5,00 g/l). Em todas as situações as células citadas foram mais freqüentes nos grupos com proteína mais alta. As demais morfologias não se revelaram estatisticamente diferentes nos dois grupos.

4.4.2. Osmolalidade

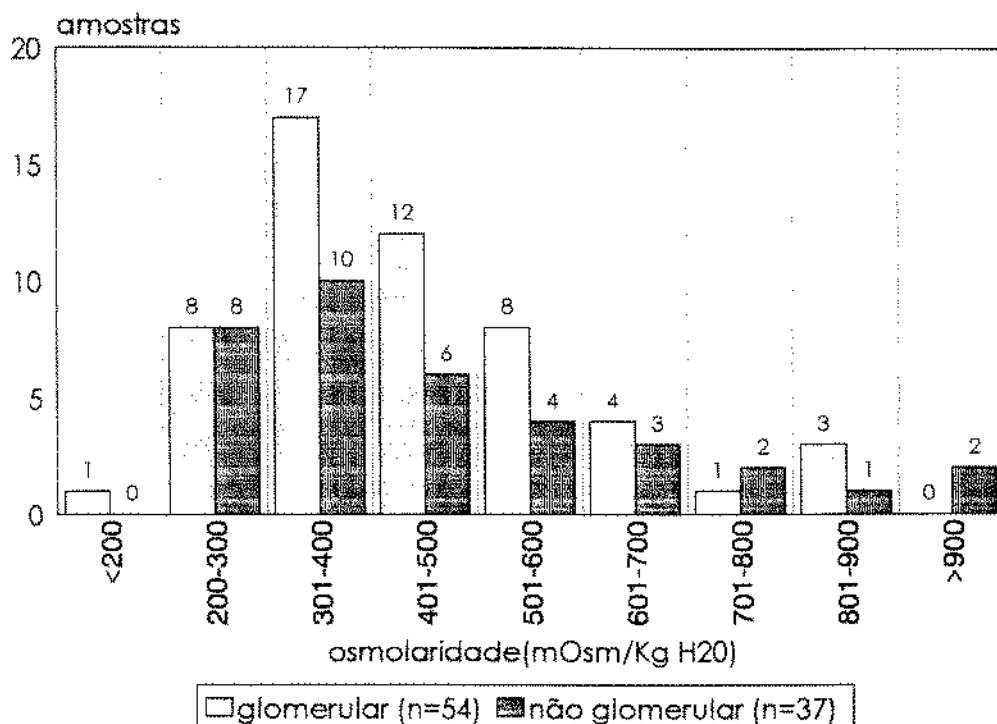
A determinação da osmolalidade foi realizada nas 91 amostras. Não houve diferença estatística ($p=0,337$) entre os valores obtidos nas amostras glomerulares e não glomerulares (Tabela 11).

Tabela 11. Valores de osmolalidade (mOsm/Kg) nas amostras

	glomerular	não glomerular
média	432	449
desvio padrão	157	223
valor mínimo	171	200
valor máximo	858	1179

A distribuição dos valores de osmolalidade nos dois grupos pode ser observada na Figura 8.

Figura 8. Distribuição dos valores de osmolalidade nos grupos



Associação entre os valores de osmolalidade e a presença das morfologias:

Não foi comprovada a existência de associação entre valores da osmolalidade e a presença das morfologias, tomando-se a média (444 mOsm/Kg), e dividindo as amostras em dois grupos, com os valores situados acima e abaixo desta medida. Também com grupos formados a partir de medidas da extremidade da curva de distribuição (menor que 250 mOsm/Kg e maior que 700 mOsm/Kg) o resultado estatístico não permitiu inferir associação entre os valores de osmolalidade e a ocorrência das diferentes formas de glóbulos estudadas.

4.4.3. Densidade

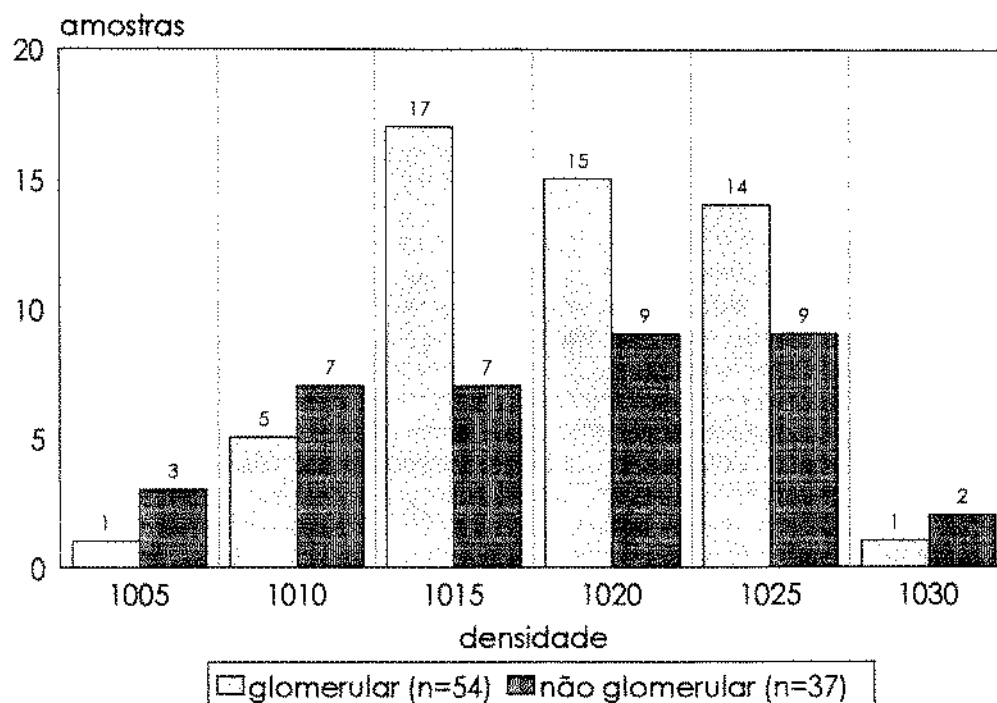
Os valores de densidade obtidos com firas reagentes correspondem a intervalos de 5 unidades. Os números da mediana e moda nos dois grupos e no total das amostras dos grupos estão demonstrados na Tabela 12. Não houve diferença estatística ($p=0,987$) entre os grupos.

Tabela 12. Valores da densidade nas amostras.

	total	glomerular	não glomerular
mediana	1020	1020	1020
moda	1015-1020	1015	1020-1025

A distribuição dos valores de densidade nos grupos pode ser observada na Figura 9.

Figura 9. Distribuição dos valores de densidade nos grupos



Associação entre os valores de densidade e a presença das morfologias: Não foi observada diferença estatística entre grupos formados a partir dos valores correspondentes acima e abaixo da mediana e a presença de qualquer morfologia específica. Também separando-se os grupos em extremos da densidade (menor que 1010 ou maior que 1025), não foram observados resultados que permitam inferir na presença maior de qualquer morfologia de eritrócito associada às variações de densidade.

4.4.4. pH

Através de tiras reagentes, o resultado do pH é expresso a intervalos de 0,5 unidade. Os valores da mediana e moda nos dois grupos e no total das amostras

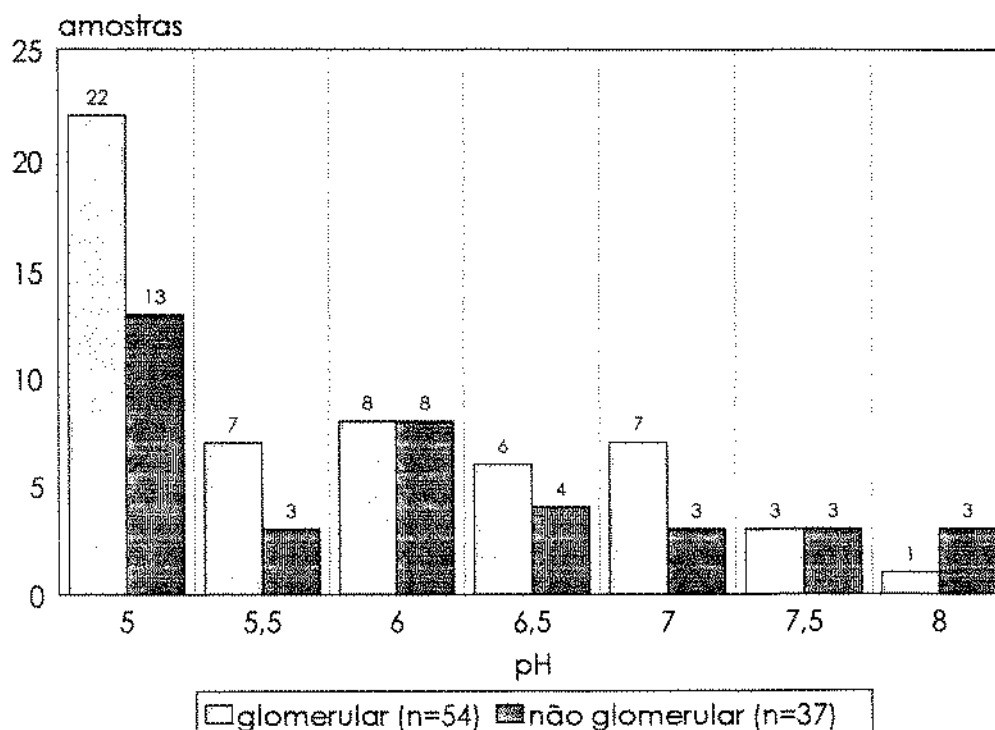
estão demonstrados na Tabela 13. Não se evidencia diferença estatística entre os dois grupos de doenças ($p=0,306$).

Tabela 13. Valores de pH nas amostras

	total	glomerular	não glomerular
mediana	6,0	6,0	5,5
moda	5,0	5,0	5,0

A distribuição dos valores do pH nos grupos pode ser observada na Figura 10.

Figura 10. Distribuição dos valores de pH nos grupos



Associação entre os valores de pH e a presença das morfologias: Comparando-se grupos de amostras, divididos a partir do valor da mediana, não se detectou maior frequência de qualquer morfologia correlacionada a valores de pH. Tal observação ratifica-se ao dividir os grupos tomando-se como referência os valores da extremidade da frequência (pH igual a 5,0 e maior ou igual a 7,0).

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O exame de urina é um meio propedêutico que, mesmo sendo largamente utilizado há muito, não dispõe de critérios básicos de padronização técnica e valores de normalidade. Neste estudo, consideramos hematúria o encontro de cinco ou mais hemácias por campo microscópico de aumento 400. Este número encontra apoio em diversos relatos de literatura como sendo de utilidade na prática clínica, (CUSHNER & COPLEY, 1989; FIGUEIREDO & PEREIRA, 1991) além de fornecer um número suficiente de hemácias para observação morfológica, apesar de valores mais rigorosos de normalidade estarem abaixo deste limite (LARCOM & CARTER, 1948; SCHUMANN & SCHWEITZER, 1991; FOGAZZI *et al*, 1989; SAYER *et al*, 1990). Optamos por utilizar a técnica de exame semi-quantitativa, que embora menos reprodutível que a quantitativa, é mais simples e direta para a análise morfológica. Soma-se a isto o fato de que a técnica quantitativa pode não fornecer a precisão que o método tem o anseio de oferecer, em consequência das muitas variáveis que podem interferir na amostra (GADEHOLT, 1964 FOGAZZI, 1992).

Qualquer análise do sedimento urinário pressupõe, antes de qualquer crítica, uma coleta de urina estritamente bem feita. Em nossa casuística, de 155 amostras colhidas, 16 foram excluídas por condições técnicas inadequadas à visualização, incluindo algumas tidas como consequência de coleta imprópria, mesmo considerando que esta fora realizada sob a supervisão de uma enfermeira. A observação das hemácias nestas amostras foi prejudicada por presença de muco, células do epitélio vaginal, numerosas bactérias, grumos leucocitários ou formações de uratos ou fosfatos amorfos. As demais exclusões em razão da amostra (n=13), pertenciam a pacientes portadores de hematúria, mas que no momento em questão, o número de hemácias foi menor do que cinco por campo. Isto atribuímos como consequência de que certas doenças que cursam com hematúria, o fazem com caráter recorrente (CHEN *et al*, 1972), donde presume-se ser necessária,

eventualmente, mais de uma coleta em tempos diferentes para diagnosticar a hematúria e avaliar sua morfologia.

Os casos envolvidos na análise final foram suficientemente alicerçados em dados clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos que permitiram afirmar, com considerável segurança, uma origem glomerular ou não glomerular para a hematúria. As situações cujos diagnósticos não puderam ser comprovados pelos métodos propedêuticos disponíveis, foram excluídas da análise, mesmo que houvesse evidências importantes em favor de uma determinada doença. Das 155 amostras, 24 (15,4%) encontravam-se nesta condição. Este valor é intermediário ao que descreve Rotkopf (1993), que conseguiu estabelecer a origem da hematúria em 90% de sua casuística e Olivo (1989), onde 20% permaneceram sem explicação.

Pacientes com diagnóstico clínico-laboratorial de síndrome glomerular sem comprovação por biópsia renal (n=11) foram também excluídos da análise, mesmo sem evidências de outra origem da hematúria. Na sua maioria, eram portadores de glomerulonefrite aguda pós infecciosa ou lúpus eritematoso sistêmico, cuja evolução favorável não justificou a realização do procedimento.

Apesar do pequeno número, a inclusão de pacientes com hematúria pós biópsia renal (n=3) ou nefropatia túbulo-intersticial com hematúria (n=1) deu-se pelo fato de que há relatos na literatura de que hematúrias com origem no parênquima renal tem características dismórficas, tal qual a glomerular (POLLOCK *et al.*, 1989).

Do mesmo modo que a análise da urina como um todo carece de padronização, a pesquisa do dismorfismo eritrocitário também não encontra um modelo único de comportamento entre os pesquisadores (KÖHLER *et al.*, 1991; TOMITA *et al.*, 1992; POLLOCK *et al.*, 1989). Embora desde 1983 células com características bem definidas fossem descritas como glomerulares por BIRCH & FAIRLEY (1983), a ênfase ao aspecto global dos eritrócitos e não à identificação das células individualmente (BIRCH, 1983), e à apreciação de mais de três tipos de células presentes na amostra (FAIRLEY & BIRCH, 1982), acabou por gerar indecisão nos critérios a serem considerados mais importantes. Soma-se a isto, a prática geralmente observada de estabelecer um limite em porcentagem de eritrócitos "dismórficos" que

significariam hematúria glomerular, que varia amplamente de 10 a 80% na literatura (CHANG, 1982, 1984; ABDURRAMAN *et al.*, 1985; STAPLETON, 1987; LÓPEZ-VERDE, 1968; DANTAS *et al.*, 1985; FASSET *et al.*, 1982; RAMAN *et al.*, 1986). Diante disto, é verossímil que a falta de uniformização traga conseqüências prejudiciais ao exame, incluindo a subjetividade do observador não somente na análise, mas também na maneira de expressar os resultados. Conseqüentemente, o clínico acaba por não obter segurança ou esclarecimento para o caso em estudo, diante da irresolução que muitas vezes acompanha o resultado.

A análise mediante classificações morfológicas poderia tornar a observação mais objetiva, na medida em que o microscopista encontraria meios de identificar determinadas formas de eritrócitos relacionados à hematúria glomerular e descrevê-los nos resultados, diminuindo a subjetividade do observador e também da maneira de expressar os resultados. Por outro lado, a interpretação do exame, desta maneira descrito, seria também mais positiva. Todavia, o grande número de formas que podem assumir os eritrócitos poderia tornar a interpretação demasiadamente confusa. O ideal seria poder agrupar as células segundo características comuns, de modo a ser possível correlacionar os grupos à hematúria glomerular ou não-glomerular.

Das classificações de eritrócitos existentes, tomamos como referência a Classificação Hematológica de BESSIS (1972), por ser classicamente conhecida em laboratório, largamente utilizada em análise do sangue periférico, e já ter sido previamente empregada por KÖHLER (1991) para descrever eritrócitos urinários.

No presente estudo, observamos que tanto no grupo glomerular quanto no não-glomerular, as hemácias mais comumente encontradas são de morfologia "normal", ou seja, arredondadas, com conteúdo normal de hemoglobina, bicôncavas ou planas, denominadas discócitos e anulócitos. No grupo não glomerular correspondem, em média, a um índice de frequência da morfologia por amostra de 84,63 dos eritrócitos observados, enquanto no grupo glomerular a 57,06. Estas células são de fácil distinção, pois apresentam o padrão discóide, à semelhança do sangue periférico normal. Se acrescentarmos a este grupo as hemácias crenadas

(equinócitos), cuja característica principal são as espículas curtas distribuídas por toda a superfície, soma-se 94,28% das células do grupo não glomerular e 62,90% do grupo glomerular. Assim, temos um conjunto constituído por hemácias discóides, com conteúdo normal de hemoglobina mais as crenadas, que correspondeu à maioria das células em ambos os grupos de doenças (glomerular e não glomerular). Denominamos estas células de "Padrão Morfológico I". Nos estudos de Köhler as células predominantes em ambos os grupos foram consideradas equinócitos. Estatisticamente, as hemácias do Padrão Morfológico I são mais comuns no grupo de doenças não glomerulares. Esta diferença estatística deve-se ao maior IFMA dos discócitos.

Um segundo agrupamento foi constituído por hemácias de aspecto mais bizarro. Reunimos neste grupo, as hemácias fantasmas, esquizócitos, estomatócitos e nízócitos ("Padrão Morfológico II"). São células cujas características algumas vezes podem se confundir entre si, sendo o esquizócito o mais polimorfo, por se apresentar fragmentado, às vezes constituindo um pequeno e irregular fragmento. Em ambos os grupos de doenças todas estas formas são pouco encontradas. Somadas, a média do IFMA no grupo não glomerular foi de 5,74 e no grupo glomerular foi 4,72. Não observamos diferença estatística neste padrão morfológico para as doenças glomerulares e não glomerulares.

Finalmente, o terceiro conjunto foi composto por células cuja característica principal consiste na perda do conteúdo central de hemoglobina, com protrusões vesiculares citoplasmáticas fase-densas (acantócitos), ou sem as tais vesículas, constituindo uma célula que é comparável a um "doughnut" (codócito ou hemácia-em-alvo). São estas as células ("Padrão Morfológico III") que tiveram neste estudo, real importância na separação da hematúria glomerular da não glomerular no nosso estudo. Foram muito mais frequentes no grupo glomerular (IFMA=32,26) e raras no grupo não glomerular (IFMA=0,27).

O acantócito, isoladamente, obteve IFMA igual a 5,77 no grupo glomerular enquanto que no grupo não glomerular nenhum acantócito foi observado. Comparando aos resultados de literatura, KÖHLER (1991) obteve especificidade de

98% e sensibilidade de 52% caso o encontro de acantócitos fosse maior do que 5%. FOGAZZI (1994) observou que 4% de acantocitúria, determina sensibilidade de 71% e especificidade de 98%. TOMITA (1992), denominando o correspondente morfológico do acantócito em sua classificação de "G1", observou que o achado de 1% estabelece uma sensibilidade de 89% e especificidade de 95%. Nesses estudos, o papel dos acantócitos é tido como crucial para identificar a hematúria glomerular, achado semelhante ao do nosso material. Pouco ou nenhum enfoque, entretanto, é atribuído aos codócitos. HILDEBRANDT (1988), por outro lado, considera que os "torócitos", células que, a nosso ver, possuem características muito semelhantes aos codócitos na Classificação de Bessis, são específicos para hematúria glomerular.

Em nosso estudo, encontramos diferença estatística entre o IPMG dos dois grupos de doenças para os codócitos ($p < 0,001$), acantócitos ($p < 0,001$) e anulócitos ($p = 0,016$). Este último, por apresentar especificidade muito baixa (16,2%), não foi considerado de utilidade na distinção das doenças. O encontro de acantócitos, entretanto, indicou doença glomerular com sensibilidade de 72% e especificidade de 100% e a presença de codócitos, por sua vez mostrou sensibilidade de 92,5% e especificidade de 94,5%. Estes resultados mostram que ambas as células foram úteis em detectar hematúria glomerular, sendo o acantócito mais específico e o codócito mais sensível. Infere-se, portanto, que a análise do dismorfismo eritrocitário pode ser efetuada com boa correlação clínica baseada na pesquisa e identificação correta das células do Padrão Morfológico III.

O critério de "três ou mais populações de células presentes na amostra, baseado no padrão global", não foi de utilidade para separar os dois grupos, uma vez que 26 das 37 amostras de pacientes com doença não glomerular se encontravam com este padrão.

Considerando como hemácias verdadeiramente glomerulares apenas os codócitos e acantócitos, não foi possível estabelecer um limite, em porcentagem, a partir do qual pudéssemos inferir em hematúria glomerular, pois observamos em doenças glomerulares, valores de 0 a 81% destas células. Todavia, a média destes

tipos celulares foi substancialmente maior no grupo de doença glomerular ($32,01\% \pm 25,11$) do que no não glomerular ($0,21\% \pm 1,31$).

Em apenas 3 amostras de doenças glomerulares não foram identificados codócito e acantócito. Duas destas pertenciam a pacientes com glomerulonefrite membrano-proliferativa, cursando com hematúria macroscópica. Em um destes pacientes, uma segunda amostra com hematúria menos intensa revelou um IFMA de 49 para codócitos. De acordo com VAN ISEGHEM *et al.* (1983), a presença de hematúria macroscópica pode interferir na observação de hemácias dismórficas. O terceiro caso falso-negativo era portador de glomeruloesclerose focal e segmentar com hematúria microscópica, que em amostra anterior, havia sido detectada a presença de codócitos em 68%. Eventualmente, pode ser necessária a pesquisa de mais de uma amostra, em tempos diferentes, para se detectar a presença das células em questão.

Cilindros hemáticos foram detectados em apenas 3 das 54 amostras do grupo glomerular e nenhuma do não glomerular (sensibilidade de 5,5% e especificidade de 100%), obtendo um resultado abaixo da média da literatura, embora a variação descrita seja ampla (SCHIFFERLI, 1982; BOTTINI & GARLIPP, 1990; RASOULPOUR *et al.*, 1994; FASSET *et al.*, 1982; RAMAN *et al.*, 1986).

Apesar do pequeno número de casos de hematúria pós biópsia renal e nefropatia túbulo intersticial, ou seja, hematúrias de origem não glomerular oriundas do parênquima renal, não foram observados codócitos e acantócitos, em desacordo com Pollock *et al.* (1989), que considera que hematúrias de tal origem não podem ser distinguidas das glomerulares pela morfologia das hemácias.

Em resumo, os resultados deste trabalho indicam que a análise do dismorfismo eritrocitário, baseada na pesquisa de codócitos e acantócitos, foi eficaz em diferenciar hematúria glomerular de não glomerular nestes pacientes. O teste, com atenção dirigida para identificar corretamente estes tipos morfológicos, pode simplificar o método, e conseqüentemente facilitar o aprendizado de novos profissionais, tornando-os aptos a realizar o exame com menor subjetividade e expô-los de maneira inteligível e objetiva. O clínico, por outro lado, poderá interpretar o

exame com maior clareza e correlacioná-lo mais categoricamente ao caso clínico em estudo.

É interessante notar que codócitos e acantócitos estão entre as células descritas por Birch e Fairley desde 1983 (Quadro 4). Os outros critérios, que vieram sendo acrescentados no decorrer do tempo, terminaram por mudar o sentido de que estas células, por si, podem identificar a hematúria glomerular corretamente sem o equívoco que os outros meios de comparação podem gerar.

Mesmo em condições de coleta adequada, não foi possível a análise da morfologia eritrocitária em 10,32% das amostras, sugerindo que para este exame a necessidade de perfeita visualização das hemácias seja imprescindível. Deve ser salientado, porém, que neste estudo os casos foram selecionados e as estatísticas foram baseadas em um grupo onde as amostras eram propícias à observação morfológica, de pacientes com doença bem estabelecida. É possível que em uma população de pacientes não selecionados em investigação diagnóstica de hematúria, os valores preditivos e eficácia do teste sejam menores. De qualquer maneira, é uma arma propedêutica que pode ser utilizada como ponto de partida para investigação da origem da hematúria sem expor o paciente a riscos, com baixo custo e plenamente exeqüível.

Sugerimos que, na apresentação dos resultados da análise morfológica dos eritrócitos urinários, seja relatada a presença ou ausência de codócitos e acantócitos.

Não foi observada significância estatística entre a osmolalidade e a morfologia da hematúria. O mesmo foi observado em relação aos resultados de densidade e pH, ainda que considerando a imprecisão técnica destes resultados, realizados com tiras reagentes. Estes resultados sugerem que tais variáveis não interferiram no resultado da morfologia. Alguns autores observaram, *in vitro*, alterações da morfologia relacionados a modificações destes parâmetros. KÖHLER (1991), incubando eritrócitos obtidos de sangue periférico de indivíduos normais em diferentes meios osmóticos, observou a transformação discócito-equinócito-estomatócito. Embora esse, entre outros estudos *in vitro* (SCHUETZ *et al.*, 1985; SCHRAMEK *et al.*, 1989), demonstrem modificações da morfologia celular com variação da osmolalidade, não foi

observado neste estudo, associação entre a presença de qualquer morfologia e os valores de osmolalidade ou densidade, possivelmente em decorrência dos níveis *in vivo* deste grupo de pacientes estarem dentro de um limite que habitualmente não produzem alterações significativas na morfologia .

Finalmente, no tocante à proteinúria, excluindo-se as amostras de hematúria pós biópsia renal pois sabidamente continham casos de doença glomerular, observamos que no grupo não glomerular apenas duas (5,8%) em 34 amostras apresentaram valores de proteína acima de 1 g/l. O valor máximo de proteína neste grupo foi igual a 1,27 g/l. No grupo glomerular, 47 (87%) das 54 amostras apresentaram proteína maior que 1 g/l. A média da proteína encontrada no grupo glomerular (5,89 g/l) foi substancialmente mais elevada que no grupo não glomerular (0,36 g/l).

Estes resultados refletem que valores de proteína urinária, ainda que determinados na amostra isolada de urina, acima da ordem de 1,27 g/l, foram indicativos de doença glomerular neste grupo de pacientes.

Em relação à morfologia e as medidas da proteína, pudemos observar que apenas acantócitos e codócitos mostraram associação estatística. Este achado é presumível, considerando que a proteinúria é um sinal frequente em doenças glomerulares.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

6.1. A análise morfológica dos eritrócitos urinários foi útil no diagnóstico clínico das hematúrias neste grupo de pacientes.

6.2. A presença de codócitos ou acantócitos foi indicativa de hematúria de origem glomerular.

6.3. A presença de acantócitos foi específica no diagnóstico da origem glomerular da hematúria nos casos envolvidos.

6.4. Não houve associação entre quaisquer das morfologias com os valores de osmolalidade, densidade e pH urinários.

6.5. A presença de proteína maior que 1,27 g/l, na amostra de urina isolada, foi específica para casos de hematúria de origem glomerular no grupo estudado.

6.6. A ausência de acantócitos e/ou codócitos em uma amostra única de urina não afastou uma possível origem glomerular para a hematúria. Porém, a ausência destas células em mais de uma amostra, tornou pouco provável esta possibilidade.

APÊNDICE

Tabela 14. Amostras de pacientes com doença glomerular (n=54) - Morfologia das hemácias

NOME (iniciais)	amostra	hemácias/ campo	discócitos	anulócitos	equinócitos	fantasmas	esquizócitos	estomatócitos	nizócitos	codócitos	acantócitos
AO	92	>100	53	11	0	4	0	1	0	17	14
AO	54	>100	3	3	14	0	0	0	0	76	4
ARO	55	>100	42	7	1	2	0	0	0	44	4
AFP	126	>100	58	9	8	0	0	0	0	24	1
AFP	121	>100	27	10	3	0	0	1	1	54	4
ACZJ	4	>100	6	56	28	4	0	0	5	1	0
ACZJ	24	50	5	10	5	2	2	1	0	72	3
AMO	103	>100	30	13	0	0	0	1	0	54	2
BAC	124	10	40	52	0	0	0	0	0	4	4
CAS	53	70	73	3	10	0	0	0	0	12	2
CC	68	>100	15	80	5	0	0	0	0	0	0
DAR	44	60	10	20	6	1	0	1	1	59	2
DAR	23	10	9	8	8	0	16	2	1	54	2
DBS	27	45	63	19	3	0	0	0	3	12	0
DBS	26	60	41	15	6	1	1	4	1	28	3
DBS	41	80	28	50	1	0	0	0	0	6	15
DA	116	50	21	14	21	2	0	0	0	40	2
DA	20	20	5	6	19	0	0	2	1	67	0
EAB	32	>100	65	32	3	0	0	0	0	0	0
EAB	77	42	21	24	1	0	1	4	0	49	0
FFR	84	>100	42	22	4	1	0	0	0	18	13
FFR	39	>100	8	16	15	0	8	0	1	44	8
FFRo	117	60	7	38	6	7	0	2	0	31	9
FCS	28	>100	8	50	5	0	4	1	1	23	8
ILSB	88	15	21	24	0	0	0	0	0	23	32
JP	35	8	28	55	8	2	0	0	0	6	1
JAP	87	15	49	37	4	2	2	0	0	2	4
JAP	111	35	21	57	10	0	0	0	0	11	1

Tabela 14 (continuação). Amostras de pacientes com doença glomerular (n=54) - Morfologia das hemácias

NOME (iniciais)	amostra	hemácias/ campo	discócitos	anulócitos	equinócitos	fantasmas	esquizócitos	estomatócitos	nizócitos	codócitos	acantócitos
JRP	147	12	16	31	3	0	0	5	2	43	0
JCS	123	50	15	15	2	0	0	0	0	68	0
JCS	137	15	1	97	1	1	0	0	0	0	0
JLBN	43	>100	36	53	0	0	0	0	0	9	2
JLBN	143	>100	4	9	3	0	1	1	1	75	6
JLBN	58	>100	10	60	1	0	0	0	0	25	4
JVF	73	30	36	31	3	0	0	0	0	14	16
JVF	118	10	4	66	0	3	1	0	0	25	1
JVF	46	12	4	9	13	0	5	0	0	62	7
JMMB	119	78	18	19	4	0	0	0	0	50	9
LAS	64	7	20	28	4	0	0	0	0	26	22
LAS	89	7	20	50	0	5	0	0	0	5	20
MO	30	80	8	23	36	5	21	0	0	5	2
MOC	56	50	43	35	0	0	1	0	0	16	5
MOC	47	40	2	82	0	0	0	0	0	5	11
MHC	22	8	7	14	7	65	5	0	0	2	0
MNTS	79	>100	85	2	0	0	0	0	0	4	9
MNTS	104	>100	79	13	4	0	0	0	0	4	0
MNTS	82	>100	63	12	1	0	0	0	0	7	17
MCM	93	>100	36	62	1	0	0	0	0	0	1
MFS	81	48	52	11	6	1	2	0	0	2	26
MAL	33	80	52	25	15	1	3	1	0	3	0
MAL	91	7	20	57	10	1	1	0	0	11	0
TRS	142	60	7	56	14	9	9	0	0	5	0
WRA	74	>100	19	8	0	0	0	0	0	57	16
WRA	80	>100	16	0	0	0	0	0	8	76	0

Tabela 15. Amostras de pacientes com doença glomerular - Resultados da análise físico-química.

NOME (iniciais)	amostra	densidade	pH	proteína g/l	osmolalidade mOsm/Kg H ₂ O
A O	92	1015	5,0	6,79	355
A O	54	1015	7,0	2,62	509
A R O	55	1010	5,5	2,00	288
A F P	126	1015	7,0	1,84	336
A F P	121	1015	5,5	1,71	348
A C Z J	4	1015	7,5	4,80	461
A C Z J	24	1010	7,0	5,75	202
A M O	103	1015	7,0	0,97	321
B A C	124	1020	5,0	5,32	422
C A S	53	1025	6,5	0,00	828
C C	68	1015	6,0	0,87	329
D A R	44	1015	6,5	7,13	246
D A R	23	1015	6,0	47,48	409
D B S	27	1015	6,0	4,14	319
D B S	26	1020	7,5	4,14	332
D B S	41	1015	5,0	5,75	337
D A	116	1025	7,5	1,60	714
D A	20	1015	6,5	1,32	342
E A B	32	1020	5,0	8,28	278
E A B	77	1020	7,0	8,05	441
F F R	84	1025	5,5	7,52	402
F F R	39	1025	6,0	6,90	390
F F R o	117	1025	5,0	14,00	578
F C S	28	1030	5,0	1,61	582
I L S B	88	1020	5,0	7,36	437
J P	35	1020	5,0	2,07	327
J A P	87	1025	5,5	14,49	858
J A P	111	1025	8,0	17,48	806
J R P	147	1025	5,0	0,10	380
J C S	123	1020	7,0	11,40	410
J C S	137	1010	6,5	1,81	380
J L B N	43	1015	5,0	3,90	278
J L B N	143	1025	5,5	9,36	289
J L B N	58	1020	5,5	4,83	276

Tabela 15 (continuação). Amostras de pacientes com doença glomerular -
Resultados da análise físico-química

NOME (iniciais)	amostra	densidade	pH	proteína g/l	osmolalidade mOsm/kg H ₂ O
JVF	73	1025	6,0	9,66	569
JVF	118	1020	5,0	4,18	529
JVF	46	1020	7,0	5,18	417
JMMB	119	1025	6,0	12,54	694
LAS	64	1020	5,0	3,91	351
LAS	89	1020	5,0	4,83	344
MO	30	1025	5,0	0,35	679
MOC	56	1020	5,0	1,47	487
MOC	47	1020	5,0	3,22	544
MHC	22	1010	5,0	3,22	255
MNTS	79	1015	5,0	0,92	421
MNTS	104	1025	6,5	2,30	602
MNTS	82	1015	5,5	1,38	411
MCM	93	1015	5,0	10,93	310
MFS	81	1015	5,0	0,59	541
MAL	33	1005	6,5	1,26	171
MAL	91	1010	6,0	2,30	302
TRS	142	1025	5,0	10,14	620
WRA	74	1020	5,0	10,35	564
WRA	80	1020	6,0	6,33	431

Tabela 16. Amostras de pacientes com doença glomerular - Resultados clínicos

NOME (Iniciais)	amostra (número)	IDADE (anos)	Manifestação clínica principal	DIAGNÓSTICO (etiológico)	Alteração histológica predominante (Microscopia Óptica)
A O	92	5	microhematúria + proteinúria não nefrótica	Alport	Proliferação mesangial
A O	54	5	microhematúria + proteinúria não nefrótica	Alport	Proliferação mesangial
A R O	55	10	microhematúria + proteinúria não nefrótica	Alport	Proliferação mesangial
A F P	126	6	Síndrome nefrítica aguda + IRA	GN crescêntica	Proliferação Endocapilar + crescentes 65%
A F P	121	6	Síndrome nefrítica aguda + IRA	GN crescêntica	Proliferação Endocapilar + crescentes 65%
A C Z J	4	5	Síndrome nefrótica + microhematúria	Alport	Proliferação mesangial
A C Z J	24	5	Síndrome nefrótica + microhematúria	Alport	Proliferação mesangial
A M O	103	37	Síndrome nefrítica aguda + IRA	GN crescêntica	Proliferação Endocapilar + crescentes 65%
B A C	124	34	TX renal + Síndrome nefrótica	GESF idiopática	GESF
C A S	53	39	microhematúria	LES	Proliferação mesangial
C C	68	51	S. nefrótica + IRC + macrohematúria	GNMP idiopática	GNMP
D A R	44	4	Síndrome nefrótica + microhematúria	GESF idiopática	GESF
D A R	23	4	Síndrome nefrótica + microhematúria	GESF idiopática	GESF
D B S	27	12	IRA	Púrpura H-S	Necrotizante focal
D B S	26	12	IRA	Púrpura H-S	Necrotizante focal
D B S	41	12	IRA	Púrpura H-S	Necrotizante focal
D A	116	27	microhematúria + proteinúria não nefrótica	Berger	Proliferação mesangial
D A	20	27	microhematúria + proteinúria não nefrótica	Berger	Proliferação mesangial
E A B	32	23	Síndrome nefrótica + macrohematúria	GNMP idiopática	GNMP
E A B	77	23	Síndrome nefrótica + macrohematúria	GNMP idiopática	GNMP
F F R	84	11	Síndrome nefrótica + microhematúria	LES	GNMP
F F R	39	11	Síndrome nefrótica + microhematúria	LES	GNMP
F F R o	117	28	Síndrome nefrótica + microhematúria	Berger	Proliferação mesangial + GESF
F C S	28	12	IRC	Alport	Proliferação mesangial
I L S B	88	25	Síndrome nefrótica + microhematúria	GNMP I	GNMP
J P	35	42	S. nefrótica + IRC	GNMP idiopática	GNMP
J A P	87	17	Síndrome nefrótica + microhematúria	GNMP idiopática	GNMP
J A P	111	17	Síndrome nefrótica + microhematúria	GNMP idiopática	GNMP

Tabela 16. (continuação). Amostras de pacientes com doença glomerular - Resultados clínicos

NOME (iniciais)	amostra (número)	IDADE (anos)	Manifestação clínica principal	DIAGNÓSTICO (etiológica)	Alteração histológica predominante (Microscopia Óptica)
J R P	147	25	microhematúria	LES	Proliferação mesangial
J C S	123	31	TX renal + Síndrome nefrótica	GESF idiopática	GESF
J C S	137	31	TX renal + Síndrome nefrótica	GESF idiopática	GESF
J L B N	43	38	TX renal + Síndrome nefrítico-nefrótica	GNMP idiopática	GNMP
J L B N	143	38	TX renal + Síndrome nefrítico-nefrótica	GNMP idiopática	GNMP
J L B N	58	38	TX renal + Síndrome nefrítico-nefrótica	GNMP idiopática	GNMP
J V F	73	27	Síndrome nefrótica + microhematúria	Berger	GESF
J V F	118	27	Síndrome nefrótica + microhematúria	Berger	Proliferação mesangial
J V F	46	27	Síndrome nefrótica + microhematúria	Berger	GESF
J M M B	119	30	Síndrome nefrótica	LES	GNMP
L A S	64	26	Síndrome nefrótica	GESF idiopática	GESF
L A S	89	26	Síndrome nefrótica	GESF idiopática	GESF
M O	30	24	microhematúria	Berger	Proliferação mesangial
M O C	56	35	proteinúria + hematúria	PAN microscópica	Necrotizante focal
M O C	47	35	proteinúria + hematúria	PAN microscópica	Necrotizante focal
M H C	22	26	Tx renal + recidiva GESF	GESF idiopática	GESF
M N T S	79	31	IRA	Wegener	GN Necrotizante focal + crescentes 35%
M N T S	104	31	IRA	Wegener	GN Necrotizante focal + crescentes 35%
M N T S	82	31	IRA	Wegener	GN Necrotizante focal
M C M	93	9	IRA	SHU	GN Necrotizante focal
M F S	81	8	microhematúria	Berger	Proliferação mesangial
M A L	33	41	Tx renal + Wegener	Wegener	GN Necrotizante focal
M A L	91	41	Tx renal + Wegener	Wegener	GN Necrotizante focal
T R S	142	35	Síndrome nefrótica	GNMP idiopática	GNMP
W R A	74	12	Síndrome nefrítico-nefrótica	GNMP idiopática	GNMP
W R A	80	12	Síndrome nefrítico-nefrótica	GNMP idiopática	GNMP

Tabela 17. Amostras de pacientes com doença não glomerular (n=37) - Morfologia das hemácias.

NOME (iniciais)	amostra (número)	hemácias/ campo	discócitos	anulócitos	equinócitos	fantasmas	esquizócitos	estomatócitos	nlzócitos	codócitos	acantócitos
ARM	57	>100	13	81	3	1	2	0	0	0	0
BAC	140	13	7	86	3	0	4	0	0	0	0
BCO	151	30	34	21	20	9	5	11	0	0	0
CAGB	152	>100	35	65	0	0	0	0	0	0	0
EAP	128	>100	100	0	0	0	0	0	0	0	0
FGC	34	>100	6	93	0	0	1	0	0	0	0
FSP	97	>100	87	0	0	0	0	1	4	8	0
FSS	49	>100	28	23	49	0	0	0	0	0	0
HH	127	>100	84	16	0	0	0	0	0	0	0
HM	132	>100	52	27	4	17	0	0	0	0	0
HM	135	80	0	97	0	3	0	0	0	0	0
JGA	42	>100	90	0	10	0	0	0	0	0	0
JGA	66	>100	80	16	0	4	0	0	0	0	0
JRA	153	>100	42	11	5	42	0	0	0	0	0
JS	141	11	60	20	10	0	4	0	6	0	0
JAS	131	>100	100	0	0	0	0	0	0	0	0
JMSS	138	70	75	23	2	0	0	0	0	0	0
JMF	136	15	12	88	0	0	0	0	0	0	0
JP	86	>100	100	0	0	0	0	0	0	0	0
JQ	60	60	43	56	1	0	0	0	0	0	0
LAF	144	14	31	51	0	0	17	1	0	0	0

Tabela 17 (continuação). Amostras de pacientes com doença não glomerular (n=37). - Morfologia das hemácias

NOME (iniciais)	amostra (número)	hemácias/ campo	discócitos	anulócitos	equinócitos	fantasmas	esquizócitos	estomatócitos	nizócitos	codócitos	acantócitos
LL	106	>100	34	64	1	1	0	0	0	0	0
MGF	85	12	47	53	0	0	0	0	0	0	0
MLCL	8	>100	10	0	89	1	0	0	0	0	0
NGA	113	7	26	74	0	0	0	0	0	0	0
NAS	96	>100	68	30	2	1	1	0	0	0	0
PRS	98	20	96	3	1	0	0	0	0	0	0
PLR	145	10	22	39	34	2	3	0	0	0	0
RACO	9	20	65	24	9	1	1	0	0	0	0
RCM	133	40	46	15	34	0	5	0	0	0	0
RAM	115	>100	82	16	0	2	0	0	0	0	0
SAC	95	18	79	2	19	0	0	0	0	0	0
SBC	2	6	32	40	28	0	0	0	0	0	0
SS	146	>100	88	8	4	0	0	0	0	0	0
UAC	38	>100	91	3	1	1	4	0	0	0	0
UAC	5	>100	83	1	13	0	0	0	1	2	0
UAC	7	7	0	38	15	47	0	0	0	0	0

Tabela 18. Amostras de pacientes com doença não glomerular (n=37) - Resultados da análise físico-química.

NOME (iniciais)	amostra	densidade	pH	proteína (g/l)	osmolalidade (mOsm/Kg H ₂ O)
ARM	57	1005	6,0	1,15	214
BAC	140	1010	5,0	0,29	222
BCO	151	1020	6,5	0,00	380
CAGB	152	1030	5,0	0,30	318
EAP	128	1025	8,0	0,24	756
FGC	34	1020	5,0	0,07	306
FSP	97	1025	5,5	0,32	656
FSS	49	1005	6,0	0,58	208
HH	127	1020	7,0	0,54	476
HM	132	1015	6,0	0,76	333
HM	135	1025	5,0	2,09	373
JGA	42	1025	6,5	0,00	1179
JGA	66	1005	6,0	0,00	440
JRA	153	1025	5,0	0,00	512
JS	141	1025	5,0	0,00	470
JAS	131	1015	5,00	0,76	366
JMSS	138	1010	5,00	0,23	285
JMF	136	1010	5,50	0,00	495
JP	86	1020	5,00	0,48	345
JQ	60	1020	5,50	0,45	662
LAF	144	1025	5,00	0,00	412
LL	106	1025	6,00	1,27	552
MGF	85	1020	8,00	0,00	677
MLCL	8	1010	7,50	1,06	200
NGA	113	1020	6,00	0,00	804
NAS	96	1015	6,00	0,70	397
PRS	98	1020	5,00	0,00	722
PLR	145	1020	5,00	0,00	360
RACO	9	1015	7,50	0,79	584
RCM	133	1015	7,00	0,00	558
RAM	115	1015	6,50	0,79	239
SAC	95	1015	8,00	0,32	321
SBC	2	1010	7,00	0,94	230
SS	146	1025	5,00	0,51	412
UAC	38	1010	6,00	0,43	305
UAC	5	1010	7,50	0,45	202
UAC	7	1030	6,50	0,00	1009

Tabela 19. Amostras de pacientes com doença não glomerular (n=37) - Diagnósticos.

NOME (iniciais)	AMOSTRA (número)	IDADE (anos)	DIAGNÓSTICO
ARM	57	50	pós biópsia renal
BAC	140	34	pós operatório (nefrectomia)
BCO	151	30	cateterismo vesical
CAGB	152	37	cateterismo vesical
FGC	34	28	litíase trato urinário
EAP	128	35	pós-operatório (nefrectomia)
FSP	97	67	Neoplasia bexiga
FSS	49	30	Tuberculose renal
HH	127	77	Neoplasia próstata
HM	132	78	pós-operatório (ressecção trans-uretral próstata)
HM	135	43	pós biópsia renal
JGA	42	43	litíase trato urinário
JGA	66	43	litíase trato urinário
JRA	153	65	cateterismo vesical
JS	141	52	litíase trato urinário
JAS	131	63	pós-operatório (ressecção trans-uretral próstata)
JMSS	138	38	cateterismo vesical
JMF	136	31	cateterismo vesical
JP	86	47	Neoplasia bexiga
JQ	60	51	litíase trato urinário
LAF	144	38	litíase trato urinário
LL	106	65	Neoplasia bexiga
MGF	85	22	litíase trato urinário
MLCL	8	23	pós-operatório (transplante renal)
NGA	113	80	Neoplasia bexiga
NAS	96	28	pós-operatório (transplante renal)
PRS	98	12	litíase trato urinário
PLR	145	77	Neoplasia de bexiga
RACO	9	19	litíase trato urinário
RCM	133	28	pós-operatório (transplante renal)
RAM	115	30	pós biópsia renal
SAC	95	37	pós-operatório (transplante renal)
SBC	2	19	Netropatia túbulo-intersticial
SS	146	77	Neoplasia próstata
UAC	38	65	Neoplasia bexiga
UAC	5	65	Neoplasia bexiga
UAC	7	65	Neoplasia bexiga

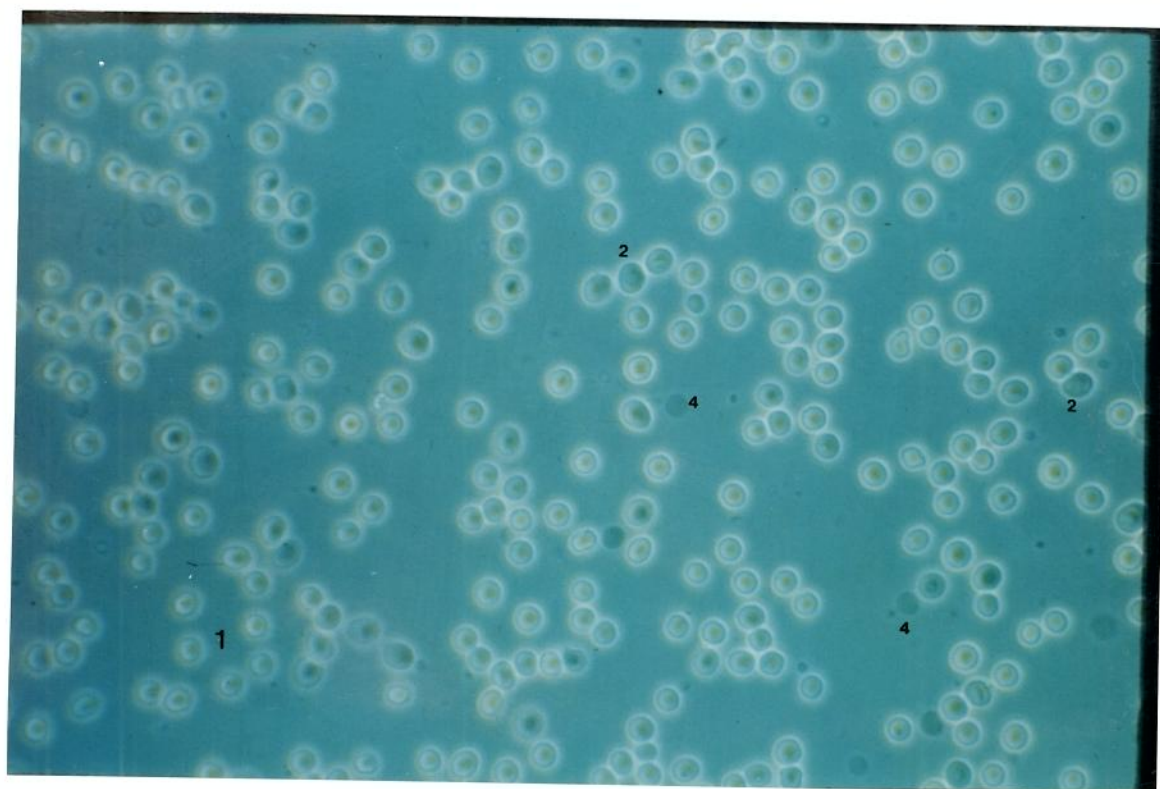


Figura 11. Hematúria não glomerular. Predomínio de células do Padrão Morfológico I: discócitos (1) e anulócitos (2). Algumas hemácias fantasmas (4). MCF, 400 X.

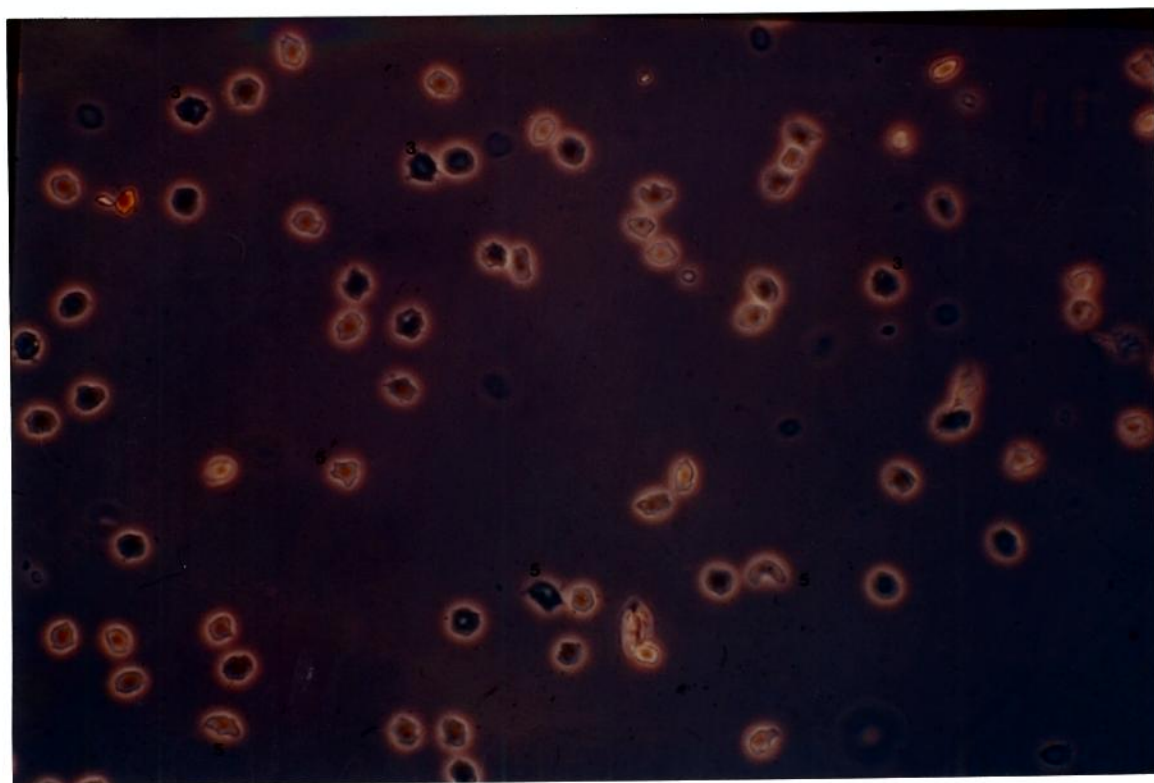


Figura 12. Hematúria não glomerular. Apesar de heterogeneidade morfológica, não são observadas células do Padrão Morfológico III. Predomínio de esquizócitos assumindo vários formatos (5) e equinócitos (3). MCF, 400 X.



Figura 13. Hematúria não glomerular. Discócitos (1) e equinócitos (3) - Padrão Morfológico I. MCF, 400 X.

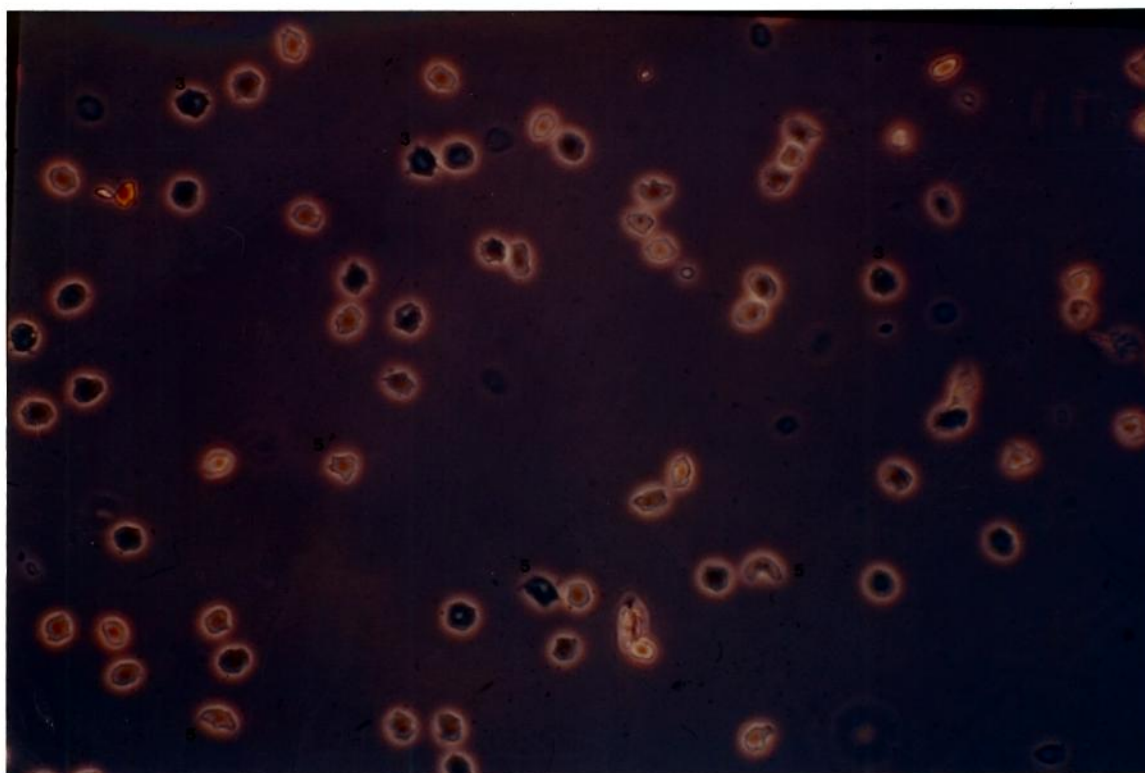


Figura 14. Hematúria glomerular. Presença de células do Padrão Morfológico III: codócitos (8) e acantócitos (9), em meio a outros tipos celulares. MCF, 400 X.

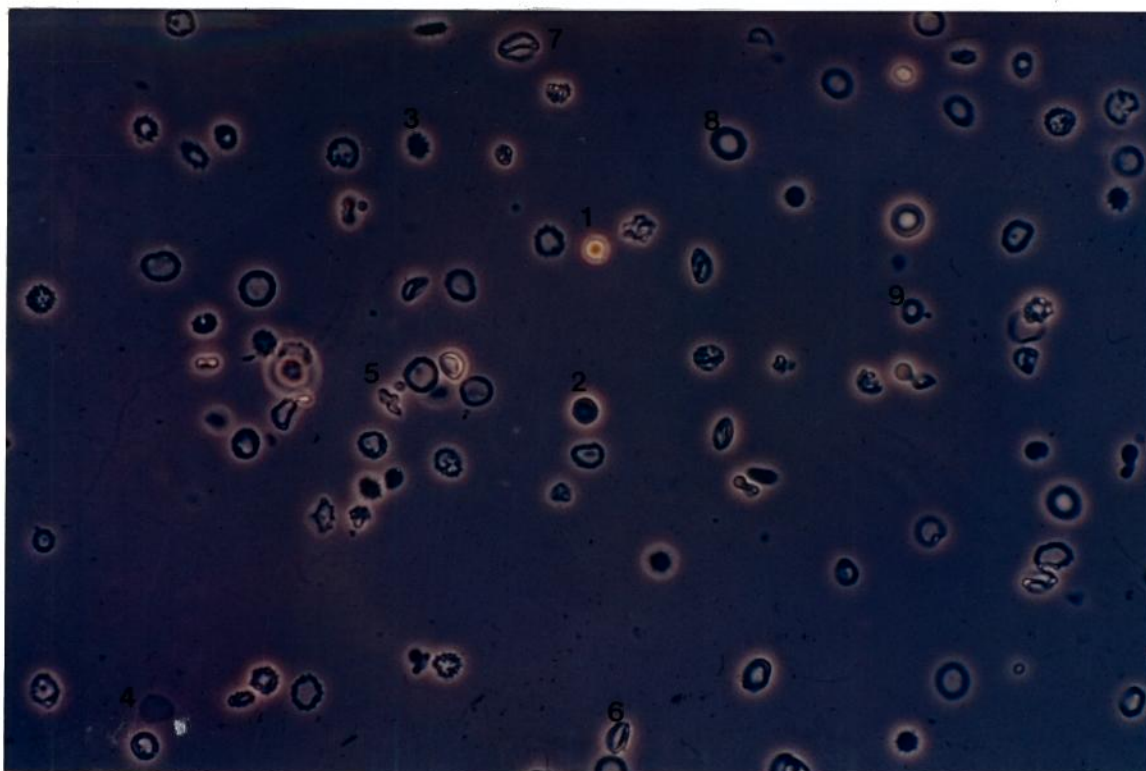


Figura 15. Hematúria glomerular. Eritrócitos de várias formas. MCF, 400 X.
 Padrão morfológico I: discócito (1), anulócito (2), equinócito (3)
 Padrão morfológico II: fantasma (4), esquizócito (5), estomatócito (6),
 nizócito (7)
 Padrão morfológico III: codócito (8), acantócito (9).

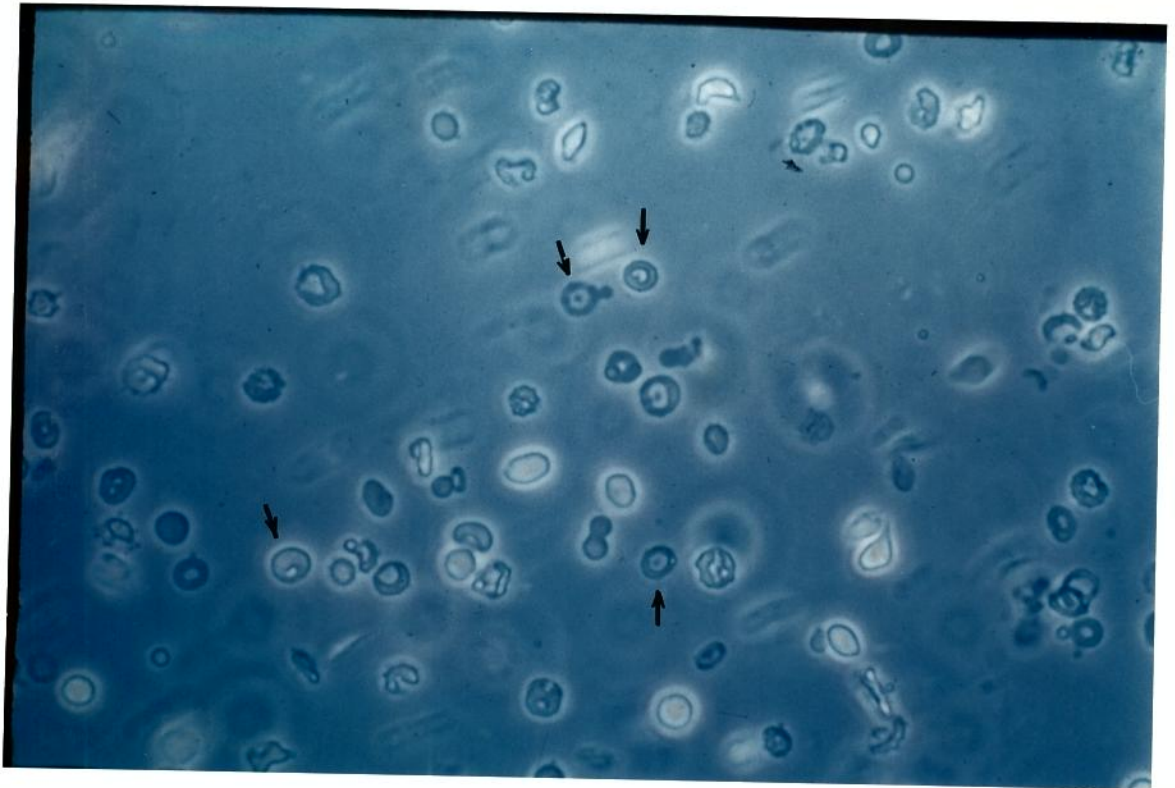


Figura 16. Hematúria glomerular. Presença de células do Padrão Morfológico III (setas). MCF, 400 X.

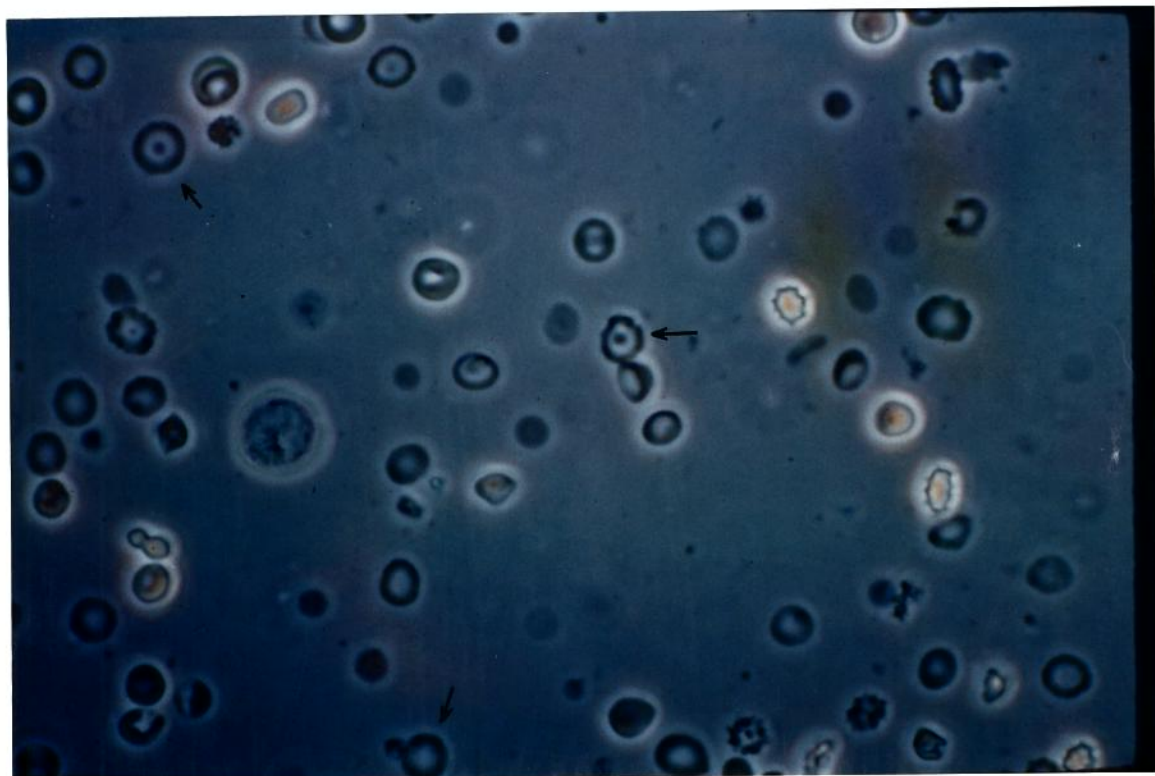


Figura 17. Hematúria glomerular. Presença de células do Padrão Morfológico III (setas). MCF, 400 X.



Figura 18. Hematúria glomerular. Cilindro hemático. MCF, 400 X.

SUMMARY

SUMMARY

In order to evaluate the usefulness of urinary erythrocytes morphology in determining the source of hematuria, a clinical longitudinal study was carried out, where 155 urine samples of hematuric patients were investigated. Samples were examined without staining, employing phase-contrast microscopy, by observer blinded for patients' clinical features. Erythrocytes were classified according to Hematological Classification of Bessis. In addition, proteinuria, osmolality, specific gravity and pH values were determined. Morphologic results were afterwards compared with clinical and histological diagnosis. Samples damaged by technical reasons and with unclear diagnosis were excluded from statistical analysis.

Results were based on 91 samples (67 patients), divided into two groups, according to clinical and histological diagnosis of hematuria origin. "Glomerular" group was formed by: mesangiocapillar glomerulonephritis (n=13), Alport's Disease(6), Berger's Disease (8), Henoch-Schöenlein Purpura (3), systemic vasculitides (7), lupus nephritis (5), idiopathic focal segmental glomerulosclerosis (8) idiopathic crescentic glomerulonephritis (3) and hemolytic-uremic syndrome (1). "Non-glomerular" group (37 samples, 34 patients) included: : Tubulo-interstitial disorders (n=1), post urological surgery (8), vesical catheterism (5), renal biopsy (3), urinary tract tumors (10), urolithiasis (9) and tuberculosis (1).

We observed significant statistical difference for the presence of anulocytes, codocytes and acanthocytes; specificity, sensitivity and positive and negative predictive value (P.V.) were calculated (Table). The other morphological types did not show any statistically significant difference between urine samples with glomerular or non-glomerular hematuria.

Table. Evaluation of forms whose frequency was statistically different in both groups for detecting glomerular hematuria.

	anulocytes	codocytes	acanthocytes
sensibility	0,981	0,925	0,722
specificity	0,162	0,945	1,000
positive P.V.	0,630	0,961	1,000
negative P.V.	0,857	0,897	0,711
accuracy	0,648	0,934	0,835
p value	0,016	<0,001	<0,001

In conclusion, urinary erythrocytes morphology examination was useful in clinical diagnosis of hematuria in these patients. The presence of codocytes or acanthocytes was predictor of glomerular hematuria. The presence of acanthocytes was specific for glomerular hematuria. There was no association between osmolality, specific gravity and pH values and the presence of any erythrocyte shape. Proteinuria greater than 1,27 g/l in isolated urine sample was specific for glomerular disease in this study. The absence of codocytes and/or acanthocytes in one single sample did not exclude glomerular hematuria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDURRAHMAN, M.B.; KAMBAL, A.M.; KURBAAN K.M.; IMAMBACCUS, M.Y.; CHAGLA, A.H.
- Diagnostic value of phase contrast microscopy in haematuria. **Trop. geogr. Med.**,
37: 171-174, 1985.
- ADDIS, T. - The number of formed elements in the urinary sediment of normal
individuals. **J. clin. Invest.**, **2**: 409-415, 1926.
- ANDRES, A.; PRAGA, M.; BELLO, I.; DIAZ-ROLÓN, J.A.; GUTIERREZ-MILLET, V.; MORALES,
J.M.; RODICIO, J.L. - Hematuria due to hypercalciuria and hyperuricosuria in adult
patients. **Kidney Int.**, **36**: 96-99, 1989.
- ANPALAHAN, M.; BIRCH, D.; BECKER, G. - Chemical preservation of urine sediment for
phase-contrast microscopic examination. **Nephron**, **68**: 180-183, 1994.
- BALDWIN, D.S.; GLUCK, M.C.; LOWENSTEIN, J.; GALLO, G.R. - Lupus nephritis: clinical
course as related to morphologic forms and their transitions. **Am. J. Med.**, **62**: 12-30,
1977.
- BENSON, G.S. & BREWER, Z.D. - Hematuria: algorithms for diagnosis. **J.A.M.A.**, **246**: 993-
995, 1981.
- BERGGARD, I. - Studies on the plasma proteins in normal human urine. **Clin. Chim. Acta**
6: 413, 1961.
- BESSIS, M. - Red cell shapes: an illustrated classification and its rationale. **Nouvelle**
Révue Française d'Hématologie, **12**: 721-746, 1972.
- BIENENSTOCK, J. & TOMASI, M.Jr. - Secretory IgA in normal urine. **J. clin. Invest.**, **47**: 1162,
1968.
- BIRCH, D.F. - Dados não publicados. Melbourne, Australia, dez. 1983.

- BIRCH, D.F. & FAIRLEY, K.F. - Haematuria: glomerular or non-glomerular? **Lancet**, **2**: 845-846, 1979. [editorial]
- BIRCH, D.F. & FAIRLEY, K.F. - Red cells in the urine. **Lancet**, **2**: 424, 1980. [letter]
- BIRCH, D.F.; FAIRLEY, K.F.; WHITWORTH, J.A.; FORBES, J.K.; FAIRLEY, J.K.; CHESHIRE, G.R.; RYAN, G.B. Urinary erythrocyte morphology in the diagnosis of glomerular hematuria. **Clin. Nephrol.**, **20**: 78-84, 1983.
- BOTTINI, P.V. & GARLIPP, C.R. - Diagnóstico laboratorial precoce de glomerulopatias. **Rev. Bras. Pat. Clín.**, **26**: 88-91, 1990.
- BRENNER, B.M.; HOSTETTER, T.H.; HUMES, H.D. - Molecular basis of proteinuria of glomerular origin. **N. Engl. J. Med.**, **298**: 826-833, 1978.
- BROD, J. - Haematuria. In: BROD, J - **The Kidney**. London, The Butterworth Group, 1973. p. 226-228.
- BRODY, L.; WEBSTER, M.C.; KARL, R.M. - Identification of elements of urinary sediment with PCM. **J. A. M. A.**, **206**: 1777-1781, 1968.
- CABRERA, H.C. & FERNANDEZ, M.R. - Utilidad de la microscopia de contraste de fase en el estudio de la hematuria. **Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx.**, **42**: 175-178, 1985.
- CHANG, B.S. - RBC morphology in glomerular and non-glomerular hematuria. **Kidney Int.**, **21**: 147, 1982. (Abstract)
- CHANG, B.S. - Red cell morphology as a diagnostic aid in hematuria. **J. Am. Med. Assoc.**, **252**: 1747-1749, 1984
- CHEN, B.T.; OOI, B.S.; TAN, K.K.; KHOO, O.T. - Causes of recurrent hematuria. **Quart. J. Med.**, **162**: 141-148, 1972.

- CHU, Y.D.; KITAMOTO, Y.; TOMITA, M.; NAKAYAMA, M.; SATO, T. - Differentiation of hematuria by differential interference microscopy with a simple criterion. **Kumamoto Med. J.**, **42**: 63, 1990.
- CROMPTON, C.H.; WARD, P.B.; HEWITT, I.K. - The use of urinary red cell morphology to determine the source of hematuria in children. **Clin. Nephrol.**, **39**: 44-49, 1993.
- CUSHNER, H.M. & COPLEY, J.B. - Review: back to basics: the urinalysis: a selected national survey and review. **Am. J. Med. Sci.**, **297 (3)**: 193-196, 1989.
- DANTAS, M.; SILVA, M.; OLIVEIRA, P.C.; FERREIRA FILHO, S.R. - Diagnóstico diferencial das hematurias através da microscopia de contraste de fase. **J. Bras. Nefrol.**, **7 (3)**: 91-94, 1985.
- DAVIS, L.G. - Microscopia. In: SONNENWYRTH, A.C.; JARETT, L. - **Métodos y Diagnósticos del Laboratorio Clínico**. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana SA, 1983, p. 7-16.
- DE METZ, M.; SCHIPHORST, P.P.; GO, R.I.H. - The analysis of erythrocyte morphologic characteristics in urine using a hematologic flow cytometer and microscopic methods. **Am. J. Clin. Pathol.**, **95**: 257-261, 1991.
- DEPARTMENT OF CLINICAL EPIDEMIOLOGY AND BIOSTATISTICS, MC MASTER UNIVERSITY HEALTH SCIENCES CENTRE - How to read clinical journals II: to learn about a diagnostic test. **Can. Med. Assoc. J.**, **124**: 703-710, 1981.
- EGGENSPERGER, D.L.; KING, C.; GAUDETTE, L.E.; ROBINSON, W.M.; O'DOWD, G.J. - Cytodiagnostic urinalysis: three years experience with a new laboratory test. **Am. J. Clin. Pathol.**, **91**: 202-206, 1989.
- FAIRLEY, K.F. & BIRCH, D.F. - Hematuria: A simple method for identifying glomerular bleeding. **Kidney Int.**, **21**: 105-108, 1982.

- FAIRLEY, K.F.; BIRCH, D.F. - Microscopic urinalysis in glomerulonephritis. **Kidney Int.**, **44**: S9-S12, 1993.
- FASSET, R.G.; HORGAN, B.A.; MATHEW, T.H. - Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. **Lancet**, **1**: 1432-1434, 1982.
- FASSETT, R.G.; OWEN, J.E.; FAIRLEY, J.; BIRCH, D.F.; FAIRLEY, K.F. - Urinary red-cell morphology during exercise. **Br. Med. J.**, **285**: 1455-1457, 1982.
- FIGUEIREDO, J.F.; PEREIRA, A.B. - Avaliação clínica e laboratorial da função renal. **Rev. FCM/Unicamp**, **3**: 33-39, 1991.
- FOGAZZI, G.B.; PAPARELLA, M.; VIGANO, E.; CURRO, A.; PONTICELLI, C. - Urinary acanthocytes to differentiate glomerular from non-glomerular hematurias. **J. Am. Soc. Nephrol.**, **5 (3)**: 350, 1994. (abstract 95P).
- FOGAZZI, G.B.; PASSERINI, P.; BAZZI, M.; BOGETIC, L.; BARLETTA, L. - Use of high power field in the evaluation of formed elements of urine. **J. Nephrol.**, **2**: 107-112, 1989.
- FOGAZZI, G.B. - Urinalysis and microscopy, In: CAMERON, S.; DAVISON, A.M.; GRÜNFELD, J.-P.; KERR, D.; RITZ, E. - **Oxford Textbook of Clinical Nephrology**., Oxford, Oxford University Press, 1992, p. 16-24.
- GADEHOLT, H. - Quantitative estimation of urinary sediment, with special regard to sources of error. **Br. Med. J.**, **1**: 1547-1549, 1964.
- GLASSOCK, R.J.; ADLER, S.G.; WARD, H.J.; COHEN, A.H. - Primary glomerular diseases. In: BRENNER, B.M. & RECTOR, F.C. - **The Kidney**. 4th. ed. Philadelphia, Saunders, 1991a, p. 1182-1279.
- GLASSOCK, R.J.; COHEN, A.H.; ADLER, S.G.; WARD, H.J. - Secondary glomerular diseases. In: BRENNER, B.M. & RECTOR, F.C. - **The Kidney**. 4th. ed. Philadelphia, Saunders, 1991b, p. 1280-1368.

- HAUGLUSTAIN, D.; BOLLENS, W.; MICHIELSEN, P. - Detection of glomerular bleeding using a simple staining method for light microscopy. **Lancet**, **2**: 761, 1982.
- HILDEBRANDT, F.; FECHT, A.; KONIG, B.; BRANDIS, M. - Exact description of non-glomerular and glomerular erythrocyte forms in pediatric hematuria. **Monatsschr. Kinderheilkd**, **136 (1)**: 10, 1988 (abstract).
- HIPPOCRATIC writings - "Aphorisms". Section IV, n°75. Translated by ADAMS, S. In: HUTCHINS, R.M. **Great Books of Western World 10**. Chicago, Encyclopaedia Britannica Inc., 1952, p137.
- HOYER, J.R.; SEILER, M.W. Pathophysiology of Tamm-Horsfall protein. **Kidney Int.**, **16**: 279, 1979.
- JAI-TRUNG, L.; HIROYOSHI, W.; HIROSHI, M.; MASUJI, H.; HISAKO, T.; FUMIKO, U.; AKIRA, S.; KOJI, N.; KIYOYASU, N. - Mechanism of hematuria in glomerular disease. **Nephron**, **35**: 68-72, 1983.
- JANSSENS, P.M.W.; KORNAAT, N.; TIELEMAAN, R.; MONNENS, L.A.H.; WILLEMS, J.L. - Localizing the site of hematuria by immunocytochemical staining of erythrocytes in urine. **Clin. Chem.**, **38 (2)**: 216-222, 1992.
- JEAN, G.; FRANÇOIS, B.; DRAI, J.; PELLET, H.; DURIEU, I.; CAHEN, R.; TROLLIET, P. - Analyse volumétrique des hématies urinaires dans le diagnostic étiologique des hématuries. **Presse Méd.**, **22 (3)**: 1392-1396, 1993.
- KESSON, A.M.; TALLBOTT, J.M.; GYÖRY A.Z. - Microscopic examination of the urine. **Lancet**, **2**: 809-812, 1978.
- KINCAID-SMITH, P. - Haematuria and exercise-related haematuria. **Br. Med. J.**, **285**: 1595-1597, 1982.
- KÖHLER, H.; WANDEL, E.; BRUNCK, B. - Acanthocyturia: a characteristic marker for glomerular bleeding. **Kidney Int.**, **40**: 115-120, 1991.

- LARCOM, R.C.Jr & CARTER, G.H. - Erythrocytes in urinary sediment: identification and normal limits. **J. Lab. Clin. Med.**, **33**: 875-883, 1948.
- LEVEY, A.S.; MADAIO, M.P.; PERRONE, R.D. - Laboratory Assessment of renal disease: clearance, urinalysis and renal biopsy. In: BRENNER, B.M.; RECTOR, F.C. - **The Kidney**. 4th. ed. Philadelphia, Saunders, 1991, p. 919-968.
- LÓPEZ VERDE, L.; RAMO MANCHEÑO, C.; SÁNCHEZ BAYLE, M; OTERO DE BECERREA, J. - Utilidad del microscopio de contraste de fase en el diagnóstico de la hematuria en pacientes pediátricos. **Rev. Clin. Esp.**, **182 (8)**: 403-406, 1988.
- LUBEC, G. - Phase contrast microscopy in hematuria. **J. Pediatr.**, **105**: 177-178, 1984. [letter]
- MAKINO, H.; NISHIMURA, S.; TAKAOKA, M.; OTA, Z. - Mechanism of hematuria. **Nephron**, **50**: 142-150, 1988.
- MALLICK, N.P. & SHORT, C.D. - The clinical approach to haematuria and proteinuria. In: CAMERON, S.; DAVISON, A.M.; GRÜNFELD, J.-P.; KERR, D.; RITZ, E. - **Oxford Textbook of Clinical Nephrology**. Oxford, Oxford University Press, 1992, p. 227-239.
- MARCUSSEN, N; SCHUMANN, J.L.; SCHUMANN, G.B.; PARMAR, M.; KJELLSTRAND, C. - Analysis of cytodiagnostic urinalysis findings in 77 patients with concurrent renal biopsies. **Am. J. Kidney Dis.**, **20 (6)**: 618-628, 1992.
- MASON, P.D.; PUSEY, C.D. - Glomerulonephritis: diagnosis and treatment. **Br. Med. J.**, **309**: 1557-1563, 1994.
- MOGENSEN, C.E.; CHRISTENSEN, C.K. - Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. **N. Engl. J. Med.**, **311 (2)**: 89-93, 1984.
- MOHAMMAD, K.S.; BDESHA, A.S.; SNELL, M.E.; WHITEROW, R.O.N.; COLEMAN, D.V. - Phase contrast microscopy examination of urinary erythrocytes to localize source of bleeding: an overlooked technique? **J. Clin. Pathol.**, **46**: 642-645, 1993.

- MOHR, D.N.; OFFORD, K.P.; OWEN, R.A.; MELTON, L.J.III - Asymptomatic microhematuria and urologic disease. **J. Am. Med. Assoc.**, **256**: 224-229, 1986.
- OLIVO, J.F.; GUILLE, F.; LOBEL, B. - Hématurie microscopique. **J. d'Urol.**, **95 (8)**: 453-458, 1989.
- PILLSWORTH, T.J.Jr; HAVER, V.M.; ABRASS, C.K.; DELANEY, C.J. - Differentiation of renal from non-renal hematuria by microscopic examination of erythrocytes in urine. **Clin. Chem.**, **33 (10)**: 1791-1795, 1987.
- POLLOCK, C.; PEI-LING, L.; GYÖRY, A.Z.; GRIGG, R.; GALLERY, E.D.M.; CATERSON, R.; IBELS, L.; MAHONI, J.; WAUGH, D. - Dysmorphism of urinary red blood cells: value in diagnosis. **Kidney Int.**, **36**: 1045-1049, 1989.
- RAMAN G.V.; PEAD L.; LEE H.A.; MASKELL, R. - A blind controlled trial of phase-contrast microscopy by two observers for evaluating the source of hematuria. **Nephron**, **44**: 304-308, 1986.
- RASOULPOUR, M.; BANCO, L.; LAUT, J.; BURKE, G. - Inability of community-based laboratories to identify pathologic casts in urine samples. **J. Am. Soc. Nephrol.**, **5 (3)**: 359, 1994. (abstract)
- RIZZONI, G.; BRAGGION, F.; ZACHELLO, G. - Ematurie "glomerulari" e "non glomerulari"- Importanza dello studio della morfologia dei globuli rossi urinari. **Min. Nefr.**, **30**: 11-17, 1983
- ROTH, S.; RENNER, E.; RATHERT, P. - Microscopic hematuria: advances in identification of glomerular dysmorphic erythrocytes. **J. Urol.**, **146**: 680-4, 1991a.
- ROTH, S.; RENNER, E.; RATHERT, P. - Diagnostik der glomerulären mikrohämaturie. Studie zur praxisrelevanten formstabilität und färbbarkeit glomerulär dysmorpher erythrozyten. **Urologe A**. **30(2)**: 127-133, 1991b.

- ROTKOPF, L.; HÉLÉNON, O.; CHRÉTIEN, Y.; SOUISSI, M.; MELKI, Ph.; MOREAU, J.F. - Exploration radiologique d'une hématurie. **J. d'Urol.**, **99 (4)**: 192-209, 1993.
- RUSO, M.A. & COCKETT, A.T.K. - Microscopic urinalysis with phase contrast microscopy. **J. Urol.**, **107**: 843-849, 1972.
- SAYER, J.; MCCARTHY, M.P.; SCHMIDT J.D. - Identification and significance of dysmorphic versus isomorphic hematuria. **J. Urol.**, **143**: 545-548, 1990.
- SCHIFFERLI, J.A. - Primary renal origin of hematuria: importance of RBC casts and urinary sediment exam technique. **Am. Heart J.**, **103**: 573-574, 1982. [letter]
- SCHRAHEK, P.; MORITSCH, A.; HASCHKOWITZ, H.; BINDER, B.R.; MAIER, M. - In vitro generation of dismorphic erythrocytes. **Kidney Int.**, **36**: 72-77, 1989.
- SCHUETZ, E.; SCHAEFER, R.M.; HEIDBREDER, E.; HEIDLAND, A. - Effect of diuresis on erythrocyte morphology in glomerulonephritis. **Klin. Wochenschr.**, **63**: 575-577, 1985.
- SCHUMANN, G.B. & SCHWEITZER, M.S. - Examination of the urine. In: HENRI, J.B. - **Clinical and Diagnosis Management by Laboratory Methods**. Philadelphia, Saunders, 1991, p.421.
- SHICHIRI, M.; NISHIO, Y.; SUENAGA, M.; TOMURA, S.; HOSODA, K.; OGURA, M.; SAITO, H.; SHIGAI, T. - Red-cell-volume distribution curves in diagnosis of glomerular and non-glomerular haematuria. **Lancet**, **1**: 908-911, 1988.
- STAPLETON, F.B. - Morphology of urinary red blood cells: a simple guide in localizing the site of hematuria. **Pediatr. Clinic. North Am.**, **34 (3)**: 561-569, 1987.
- SUMPIO, B.E. & HAYSLETT, J.H.P. - Renal handling of proteins in normal and disease states. **Quart. J. Med.**, **57**: 611-635, 1985.
- TAN, E.M.; COHEN, A.S.; FRIES, J.F. - The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, **25**: 1271, 1982.

- THOMPSON, I.M. - The evaluation of microscopic hematuria: a population based study. **J. Urol.**, **138**: 1189-1190, 1967.
- TOMITA, M.; KITAMOTO, Y.; NAKAYAMA, M.; SATO, T. - A new morphological classification of urinary erythrocytes for differential diagnosis of glomerular hematuria. **Clin. Nephrol.**, **37(2)**: 84-89, 1992.
- VAN ISEGHEM, P.; HAUGLUSTAINE, D.; BOLLENS, W.; MICHIELSEN, P. - Urinary erythrocyte morphology in acute glomerulonephritis. **Br. Med. J.**, **287**: 1183, 1983.
- VIBERTI, G.C.; HILL, R.D.; JARRETT, R.J.; ARGYROPOULOS, A.; NAHMUD, U.; KEEN, H. - Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. **Lancet**, **1**:1430-1432, 1982.
- WANDEL, E.; MARX, M.; MAYET, W.; WEBER, M.; KÖHLER, H. - Acanthocytes in glomerular hematuria. **Kidney Int.**, **34**: 579, 1988. (abstract)
- WRIGHT, W.T. - Cell counts in urine. **Arch. int. Med.**, **103**: 76-78, 1959.
- ZERNIKE, F. - How I discovered phase contrast. **Science**, **121**: 345-349, 1955.