

MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS NO SEDIMENTO URINÁRIO

TÉCNICA DE DETECÇÃO DE HEMATÚRIA GLOMERULAR

*Luiz Felipe Santos Gonçalves*

Orientador

Prof. Dr. Jaime Kopstein

Dissertação de Mestrado

apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Nefrologia  
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Porto Alegre, 1985

## Agradeço

Ao orientador, Prof. Dr. Jaime Kopstein;

Ao orientador estatístico, Prof. Dr. Angelo Fiori;

À Direção do Hospital Sanatório Partenon, nas pessoas do Dr. Carlos Fernando Rizzon e Dr. Pedro Donnelles Picon;

À Direção do Instituto de Pesquisas Biológicas do Rio Grande do Sul, aos funcionários dos setores de Bioquímica e Micologia, e especialmente ao Dr. Luiz Carlos Severo;

Ao Núcleo Interdepartamental de Microscopia Eletrônica, em especial ao seu coordenador, Prof. José Rafael Rosito Coiro, e às Técnicas Maria Cristina Fassioni Heuser e Vera Lúcia Goulart Vasconcellos;

A todos os colegas que contribuíram para a formação da casuística, especialmente os da Enfermaria 31, da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre;

Aos colegas da Enfermaria 2, da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, em particular ao Dr. João Jorge de Oliveira Bianchini, Dr. Valter Duro Garcia e Dr. João Carlos Goldani;

À fotógrafa Bárbara Maria Kowalczyk;

À Dra. Laís Knijnik, pelo trabalho de versão;

### III

*Ao Prof. Dino del Pino, pela revisão do texto;*

*À Lou, pela compreensão e pelo apoio.*

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	
LISTA DE QUADROS .....	
LISTA DE FIGURAS .....	
RESUMO .....	
SUMMARY .....	
LISTA DE ABREVIATURAS .....	
1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	1
1.2 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA HEMATÚRIA .....	2
1.3 SEDIMENTO URINÁRIO .....	3
1.3.1 Definição de hematúria .....	5
1.3.2 Microscopia de contraste de fase .....	6
1.3.3 Cilindros .....	7
1.4 MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS .....	8
1.4.1 Morfologia das hemácias no sangue .....	8
1.4.2 Morfologia das hemácias no sedimento urinário .....	8
1.5 OBJETIVOS .....	13
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	15
2.1 CARACTERÍSTICA DOS PACIENTES .....	15
2.2 METODOLOGIA .....	17
2.2.1 Coleta de urina .....	17

2.2.2	Processamento do material .....	18
2.2.3	Sedimentoscopia .....	18
2.2.4	Microscopia eletrônica .....	20
2.2.4.1	HEMÓLISE EM ESFREGAÇO .....	20
2.2.4.2	INCLUSÃO DO SEDIMENTO URINÁRIO EM POLYLITE 8001-P .....	21
2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	23
3	RESULTADOS .....	26
3.1	DENSIDADE URINÁRIA E pH .....	26
3.2	EXAME QUÍMICO DA URINA .....	27
3.3	CILINDROS COM HEMÁCIAS .....	27
3.4	CONTAGEM DAS HEMÁCIAS .....	28
3.5	MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS NO SEDIMENTO URINÁRIO .....	29
3.5.1	Características morfológicas das hemácias ...	33
3.5.1.1	MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE .....	33
3.5.1.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA .....	34
3.5.1.2.1	Hemólise em esfregaço .....	34
3.5.1.2.2	Corte ultrafino .....	34
3.6	COMPARAÇÃO ENTRE MHSU, CILINDROS COM HEMÁCIAS E PROTEINÚRIA .....	35
4	DISCUSSÃO .....	42
4.1	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA .....	42
4.2	DENSIDADE E pH URINÁRIOS .....	43
4.3	PROTEINÚRIA .....	44
4.4	CILINDROS COM HEMÁCIAS .....	44
4.5	CONTAGEM DAS HEMÁCIAS .....	46
4.6	MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS NO SEDIMENTO URINÁRIO .....	46
4.6.1	Características morfológicas das hemácias ...	46
4.6.2	Critérios diagnósticos de hematúria glomerular .....	49
4.6.3	Análise dos casos de hematúria glomerular	

não-confirmados pela MHSU .....	52
4.6.4 Análise dos casos de hematúria não-glomerular com percentagens de hemácias dismórficas iguais ou superiores a 25% .....	54
4.6.5 Etiologia das alterações morfológicas .....	56
4.7 COMPARAÇÃO ENTRE A MHSU, A OCORRÊNCIA DE CILINDROS COM HEMÁCIAS E A PRESENÇA DE PROTEINÚRIA .....	58
4.8 COMENTÁRIOS .....	59
5 CONCLUSÕES .....	61

## LISTA DE TABELAS

- Tab. 1 - Pacientes com hematúria de etiologia glomerular. 16
- Tab. 2 - Pacientes com hematúria de etiologia não-glomerular ..... 16
- Tab. 3 - Variação, média aritmética e desvio-padrão do pH e densidade urinários nos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular ..... 26
- Tab. 4 - Distribuição das frequências de proteinúria nos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular ..... 27
- Tab. 5 - Relação entre a proteinúria patológica e o diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria ..... 28
- Tab. 6 - Relação entre a ocorrência de cilindros com hemácias e o diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria ..... 28
- Tab. 7 - Distribuição da frequência das hemácias nos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular ..... 29
- Tab. 8 - Relação entre o dismorfismo das hemácias e diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria, nos diferentes níveis percentuais de hemácias dismórficas definidores de dismorfismo ..... 32

## VIII

- Tab. 9 - Comparação entre a MHSU e a ocorrência de cilindros com hemácias ..... 36
- Tab. 10 - Comparação entre a MHSU e a presença de proteinúria patológica ..... 36
- Tab. 11 - Comparação entre a ocorrência de cilindros com hemácias e a presença de proteinúria patológica. 36
- Tab. 12 - Comparação entre a MHSU e/ou ocorrência de cilindros com hemácias e diagnóstico clínico-laboratorial ..... 37



## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	- Classificação morfológica das hemácias .....	9
Quadro 2	- Comparação entre o diagnóstico de certeza e os resultados do teste diagnóstico .....	24
Quadro 3	- Prevalência dos cilindros com hemácias em pacientes com hematúria ou glomerulonefrite ...	45
Quadro 4	- Sensibilidade e especificidade da MHSU como método de detecção da hematúria glomerular ..	50
Quadro 5	- Características dos pacientes com hematúria glomerular não-confirmada pela MHSU .....	53
Quadro 6	- Características dos pacientes com hematúria não-glomerular que apresentaram hemácias dismórficas em percentagens iguais ou superiores a 25% .....	55

## LISTA DE FIGURAS

Fig. 1	- Gráfico de distribuição da frequência das percentagens de hemácias dismórficas dos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular .....	30
Fig. 2	- Gráfico de distribuição de frequência das percentagens de hemácias dismórficas, em intervalos de 0 $\text{H}$ 30, 30 $\text{H}$ 65, 65 $\text{H}$ 100, dos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular .....	31
Fig. 3	- Hemácias isomórficas .....	38
Fig. 4	- Hemácias dismórficas .....	38
Fig. 5	- Hemácias dismórficas .....	39
Fig. 6	- Cilindro com hemácias .....	39
Fig. 7	- Hemácia dismórfica .....	39
Fig. 8	- Hemácia dismórfica .....	39
Fig. 9	- Hemácias dismórficas .....	39
Fig. 10	- Hemácias crenadas-equinócitos .....	39
Fig. 11	- Estroma circular .....	40
Fig. 12	- Hemácia aglutinada a plaqueta .....	40

Fig. 13 - Hemácia com espículas .....	40
Fig. 14 - Hemácia com espículas .....	40
Fig. 15 - Hemácia com espículas .....	41
Fig. 16 - Hemácia dismórfica .....	41
Fig. 17 - Hemácia dismórfica .....	41
Fig. 18 - Hemácias dismórficas .....	41

## RESUMO

A identidade de alterações morfológicas das hemácias no sedimento urinário vem sendo relatada como método apto para a detecção da origem glomerular destas células. O presente trabalho consiste num estudo do sedimento urinário em 93 pacientes portadores de hematúria (cuja etiologia foi glomerular em 46, e não-glomerular em 47), mediante microscopia de contraste de fase. As hemácias foram contadas e, quanto à morfologia, classificadas em dismórficas ou isomórficas, calculando-se suas percentagens em cada exame. Buscou-se verificar ainda a ocorrência de cilindros com hemácias e avaliaram-se a densidade, o pH e a presença de proteína.

Os objetivos principais do trabalho consistiram na averiguação da eficácia da técnica da morfologia das hemácias no sedimento urinário (MHSU) como método de detecção da hematúria glomerular, comparando-a com outros indícios de doença glomerular, como a presença de cilindros com hemácias e de proteinúria. Visou-se estabelecer os níveis percentuais de hemácias dismórficas que mais adequadamente se correlacionam com o diagnóstico de hematúria glomerular. Empregou-se a microscopia

pia eletrônica de transmissão para estudar o sedimento urinário de 4 pacientes com hematúria glomerular, no intuito de melhor observar e compreender as alterações morfológicas das hemácias dismórficas.

Obteve-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as percentagens de hemácias dismórficas presentes na urina de pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular. Houve associação significativa ( $p < 0,05$ ) entre a presença de dismorfismo, definido por diferentes níveis percentuais de hemácias dismórficas, e o diagnóstico clínico-laboratorial de hematúria glomerular. A máxima especificidade e o mais alto valor preditivo positivo (100%), mantendo-se suficiente sensibilidade (86,9%), ocorreram quando adotadas como critério de dismorfismo, percentuais iguais ou superiores a 65% de hemácias dismórficas. Constatou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a técnica da MHSU e a presença de proteinúria patológica, como métodos de detecção da hematúria glomerular. As alterações morfológicas mais frequentemente observadas nas hemácias dismórficas foram amplas variações de tamanho e forma, com distribuição irregular da hemoglobina em seu interior, e perda da superfície lisa pela presença de emissões citoplasmáticas (espículas).

Ficou demonstrado que a técnica da MHSU constitui método eficaz para determinar a origem glomerular da hematúria, sendo superior à verificação da proteinúria e obtendo-se melhor correlação com o emprego de percentagens iguais ou superiores a 65% de hemácias dismórficas. Por isso, revela-se

como valioso recurso auxiliar para o diagnóstico diferencial da hematúria.

## SUMMARY

The identification of morphology changes in urinary erythrocytes has been reported as an effective method for the detection of the glomerular origin of these cell. This work consists of a study of the urinary sediment of 93 patients who presented hematuria (46 of glomerular etiology and 47 of non glomerular etiology), through phase-contrast microscopy. Erythrocytes were counted and classified in dysmorphic or isomorphic according to their morphology, and their percentages calculated in each exam. The presence of red cell casts, of protein, and the urinary density and pH were also assessed.

The main objectives of this work were testing the efficacy of the urinary erythrocyte morphology technique (UEMT) as a method for detecting glomerular hematuria and compare it with other signs of glomerular disease, as red cell casts and proteinuria. The author tried to establish the percentual values of dysmorphic erythrocytes which correlate most adequately with the diagnosis of glomerular hematuria. Transmission electron microscopy was used for the study of the urinary sediment of 4 patients presenting glomerular

hematuria, aiming a better observation and understanding of morphologic changes of dysmorphic erythrocytes.

There was a significant difference ( $p < 0,05$ ) between the percentages of dysmorphic erythrocytes found in the urine of patientes suffering from glomerular and non-glomerular hematuria.

A significant association ( $p < 0,05$ ) between the presence of dysmorphism, defined in terms of different percentages of dysmorphic erythrocytes, and clinical-laboratory diagnosis of glomerular hematuria was found. The highest specificity and the higher positive predictive value (100%), maintained sensitivity (86,9%) were found when percentages equal or superior to 65% of dismorphic erythrocytes were adopted as criteria for dysmorphism. There was a significant difference ( $p < 0,05$ ) between UEMT and the presence of pathologic proteinuria, as methods for the detection of glomerular hematuria. The morphologic changes most frequently observed in dysmorphic erythrocytes were broad variations in size and shape, with an irregular internal distribution of hemoglobin and loss of the usual smooth surface due to cytoplasmic extrusions (spicules).

This work demonstrates the efficacy of UEMT as a method of determining the glomerular origin of hematuria, being superior to determination of proteinuria. The best correlation was obtained with the use of percentages equal or superior to 65% of dysmorphic erythrocytes. There fore, it is a valuable auxiliary resource for the differential diagnosis of hematuria.



## LISTA DE ABREVIATURAS

GN	Glomerulonefrite
GNDA	Glomerulonefrite difusa aguda
IgA	Imunoglobulina A
MHSU	Morfologia das hemácias no sedimento urinário
PTA	Ácido fosfotúngstico

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A hematúria constitui um achado freqüente na prática médica e pode ocorrer como consequência de numerosas doenças renais, urológicas ou sistêmicas. Pode ser observada diretamente pelo paciente (hematúria macroscópica), ou encontrada durante a investigação médica de pacientes com sintomas, ou constituir descoberta ocasional em exame de indivíduo assintomático.

Estudos epidemiológicos revelam a presença de hematúria microscópica assintomática, em crianças e adultos, em 3 a 4% da população pesquisada.<sup>26,79</sup> Embora assintomáticas, essas pessoas costumam ser submetidas a extensa investigação clínico-laboratorial para a determinação da etiologia da hematúria.<sup>1,2,7,17,22,36,38</sup> A investigação inclui exames onerosos e invasivos, não-isentos de para-efeitos, como a urografia excretora, a cistoscopia, a arteriografia renal e a biópsia renal.<sup>8</sup>

Com relação a crianças, há autores - como Northway,<sup>61</sup> Vehaskari et alii<sup>79</sup> e Wyatt et alii<sup>83</sup> - que sugerem

acompanhamento periódico sem investigação radiológica e urológica precoces.

Em adultos, impõe-se a investigação completa do trato urinário, pois a hematúria pode ser o achado inicial de patologias que demandam tratamento imediato, como neoplasia, infecções ou obstrução.<sup>2,8,17,36</sup>

Mesmo utilizando todos os recursos disponíveis, o diagnóstico etiológico tem, muitas vezes, sido inviável. É o caso, por exemplo, de Carson et alii,<sup>17</sup> de Golin e Howard,<sup>36</sup> que analisaram casos de hematúria assintomática, mediante urografia e cistoscopia, e não conseguiram demonstrar lesões significativas em mais do que 50% deles.

## 1.2 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA HEMATÚRIA

Na abordagem diagnóstica de pacientes com hematúria, a determinação da origem do sangramento no trato urinário é importante para o direcionamento da seqüência dos procedimentos. Caso a avaliação clínico-laboratorial inicial não revele indícios que permitam formular hipóteses diagnósticas sobre a etiologia da hematúria, costuma-se prosseguir com a realização de urografia excretora e/ou cistoscopia,<sup>1,2,8</sup> sendo importante o desenvolvimento de técnicas que auxiliem o seguimento adequado e objetivo dessa investigação.

Uma dessas técnicas consiste na coleta de amostras de urina, por cistoscopia, de diferentes locais (bexiga e ureteres). As várias amostras de urina são comparadas entre

si quanto à presença de sangue, verificada por tiras-teste detectoras de hemoglobina<sup>40</sup> ou por contagem quantitativa das hemácias,<sup>6</sup> visando localizar a origem da hematúria. Outra tentativa com a mesma finalidade é o estudo das frações das proteínas urinárias por eletroforese, que, através da seletividade da proteinúria, identificaria a origem glomerular da hematúria.<sup>57</sup> Estes trabalhos, com reduzido número de casos, são inconclusivos e tem o inconveniente de serem invasivos, nos dois primeiros casos, e de elevado custo no último. Disso decorre a importância do estudo do sedimento urinário. Tratando-se de exame simples e não-oneroso, isento de para-efeitos, permite, através da pesquisa de cilindros e da morfologia das hemácias, identificar a origem da hematúria - glomerular ou não-glomerular - e orientar a investigação no sentido nefrológico ou urológico.

### 1.3 SEDIMENTO URINÁRIO

O sedimento urinário é constituído por elementos citológicos, cilindros, corpos químicos, amorfos e cristalinos, e elementos diversos que, suspensos na urina, depositam-se quando ela permanece em repouso por algum tempo.<sup>56</sup>

Já em 1827, conforme relato de Lippmann,<sup>52</sup> Bright referira a existência deste depósito, embora não tenha estudado seus elementos. As primeiras observações do sedimento urinário, segundo Kliemann,<sup>47</sup> foram realizadas por Vigla, em 1837 e, subsequentemente, por Rayer, em 1839, por Henlé e Nasse, em 1842, e por Simon, em 1843. Em 1846, de acordo com Mia-

tello,<sup>56</sup> Bird estabeleceu a importância do sedimento urinário no diagnóstico das nefropatias. O primeiro estudo quantitativo do sedimento urinário foi efetuado por Hottinger, em 1893 (Gadeholt<sup>34</sup>). Addis,<sup>3</sup> em 1925, descreve o método quantitativo de que se utilizou, junto com os achados clínicos, para classificar a Doença de Bright em três grandes grupos. Com o mesmo método, esse pesquisador determinou, em 1926, os limites de normalidade para a presença de hemácias, leucócitos e cilindros no sedimento urinário.<sup>4</sup> Hamburger, em 1950, simplificando o exame de Addis, realiza a coleta de amostras de urina em três horas, expressando a excreção dos elementos em relação a um minuto (Kliemann<sup>47</sup>).

Em 1961, em Porto Alegre, Kliemann<sup>47</sup> realiza extensa revisão sobre o exame de sedimento urinário e compara os métodos de Addis e Hamburger, concluindo pela superioridade do último. Gadeholt,<sup>34</sup> em 1968, avalia o método de Addis e considera mais precisas as contagens dos elementos quando expressas em unidade de volume.

Kesson et alii,<sup>42</sup> assim como Kincaid-Smith,<sup>44</sup> enfatizam a importância destas contagens para o diagnóstico e o acompanhamento das doenças renais, embora as técnicas quantitativas não sejam empregadas rotineiramente na prática médica. A análise do sedimento urinário está incluída no exame qualitativo de urina, onde as contagens dos elementos celulares são expressas em campo microscópico de grande aumento.

### 1.3.1 Definição de hematúria

A presença de hemácias na urina foi sempre julgada como patológica. No final do século passado, em 1896, segundo relato de Kliemann,<sup>47</sup> já Daiber afirma que elas podem ocorrer na urina de indivíduos normais.

Conforme Kliemann,<sup>47</sup> a determinação quantitativa das hemácias normalmente presentes na urina, estabelecida de início por Addis, apresenta resultados bastante controversos, com limites máximos que variam de 65.000 a 2.300.000 em 12 horas. Mesmo os métodos quantitativos mais recentes, expressando o número de hemácias por unidade de volume, revelam resultados divergentes. Kesson et alii<sup>42</sup> e Birch et alii,<sup>13</sup> trabalhando com urina centrifugada, consideram normal, respectivamente, até 500 e 8.000 hemácias/ml. Para Fasset et alii,<sup>31</sup> que realizaram as contagens em urina não-centrifugada, é normal a quantidade de até 3.000 hemácias/ml.

Também os exames semiquantitativos, com contagens expressas em número de hemácias por campo microscópico, têm resultados discordantes. As fontes de erro que explicam estas divergências são bem analisadas por Gadeholt<sup>33</sup> e por Houghton e Pears.<sup>39</sup> No caso dos exames semiquantitativos, o principal fator apontado é a ausência de padronização de alguns aspectos: volume da urina centrifugada, intensidade da centrifugação, volume da urina em que o sedimento é ressuspenso, método de transferência do sedimento para a lâmina e espessura da película de urina sob a lamínula.<sup>33</sup>

Larcon e Carter,<sup>49</sup> em 1948, correlacionam o método de Addis com a contagem por campo microscópico e consideram até duas hemácias, por campo de grande aumento, como o limite da normalidade. Nesse trabalho, os pesquisadores efetuaram exames do sedimento urinário em 3.000 homens jovens, aparentemente sadios, obtendo contagens superiores a duas hemácias/campo em 1,2% dos indivíduos. Wright,<sup>82</sup> em 1959, realiza a contagem de hemácias e leucócitos por campo microscópico em 5.000 homens e em 1.000 mulheres, estabelecendo como normal a presença ocasional de hemácias (1 hemácias em cada 2 ou 3 campos microscópicos).

Algumas publicações recentes sobre a investigação de hematúria microscópica admitem como limite de normalidade a presença de até 5 hemácias/campo.<sup>2,22,26,48,63</sup>

### 1.3.2 Microscopia de contraste de fase

Conforme a descrição feita por Zernike, em 1955, dos princípios da microscopia de contraste de fase,<sup>84</sup> a presença de um diafragma anular no condensador e de uma placa anular de fase na objetiva produzem a separação dos raios luminosos difratados e não-difratados. Os raios difratados são retardados em um quarto de comprimento de onda. Após, estes raios interferem novamente, tendo grosseiramente a mesma amplitude, porém com diferença de fase. Desta maneira, todos os detalhes estruturais do objeto em observação aparecem mais escuros do que o meio circundante. Outro artefato ocasionado é a produção de halos, mais ou menos intensos, circundando as estruturas.<sup>25</sup>

Alguns elementos e células da urina, cujo índice de refração difere muito pouco do meio circundante, habitualmente pouco visíveis no microscópio óptico comum, são claramente identificados com a microscopia de contraste de fase.

Por essas características, este tipo de microscopia vem sendo bastante utilizado no exame de urina, tanto para detectar células atípicas em citologia urinária como para identificar os diversos elementos do sedimento urinário.<sup>14, 24, 25, 70</sup>

### 1.3.3 Cilindros

Os cilindros são formações gel dos túbulos; dependem, para se originar, da concentração de proteínas, e outros solutos, da acidificação e do fluxo urinário.<sup>56</sup> Estas estruturas, conhecidas desde os primeiros estudos do sedimento urinário, são consideradas uma mensagem do néfron, pois qualquer elemento presente nos túbulos no momento da formação dos cilindros permanece no interior destes.

Schreiner, em 1957, em artigo onde revisa os principais aspectos referentes à identificação e ao significado clínico dos cilindros, propõe uma classificação para eles, após descrever os mais importantes métodos adotados para seu exame.<sup>74</sup> Enfatiza o valor do adequado conhecimento dos dados relativos a tais elementos no diagnóstico, estagiamento, tratamento e prognóstico das glomerulonefrites.



## 1.4 MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS

### 1.4.1 Morfologia das hemácias no sangue

As hemácias, na circulação, têm a forma de um disco bicôncavo (discócito). Seu diâmetro é de aproximadamente 8  $\mu\text{m}$ , com espessura de 2,5  $\mu\text{m}$  na periferia e 1  $\mu\text{m}$  no centro. Apresentam cor amarelada na microscopia óptica e cinza na microscopia de contraste de fase. São facilmente deformáveis, podendo assumir a aparência de equinócitos (células crenadas) ou estomatócitos (em forma de taça). Estas alterações são reversíveis e ocorrem mais frequentemente devido a fatores ambientais, como alterações de pH, presença de ácidos graxos, compostos aniônicos ou catiônicos.<sup>10</sup>

Além das descritas, verificam-se outras variações na forma das hemácias, que foram analisadas e classificadas por Bessis, mediante uma nomenclatura de origem grega que busca caracterizar a forma que cada tipo apresenta<sup>10</sup> (Quadro 1).

### 1.4.2 Morfologia das hemácias no sedimento urinário (MHSU)

Addis, em 1925, já observava que a maioria das hemácias urinárias de pacientes com glomerulonefrite apresentavam-se distorcidas e em lise.<sup>3</sup>

Naeraa, em 1938, também ressaltou a grande variedade de formas das hemácias, atribuindo-as a alterações na con-

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO MORFOLÓGICA  
DAS HEMÁCIAS

NOME	DO GREGO
Acantócito	espícula
Codócito	chapéu
Dacriócito	lágrima
Drepanócito	foice
Queratócito	cornos
Cnizócito	covinha
Megalócito	grande
Esquizócito	corde
Estomatócito	boca

centração e no pH urinários.<sup>60</sup>

Addis, em 1950, sugere que as hemácias alteradas procedem dos capilares glomerulares e entende que tais alterações se devem às modificações ambientais ocorridas durante o trajeto pelo néfron.<sup>5</sup>

Miatello, em 1963, também descreve variações morfológicas em hemácias glomerulares, relacionando tais variações com a origem dessas células no trato urinário.<sup>56</sup>

Walker, em 1972, escrevendo sobre o diagnóstico diferencial da hematúria, explica estas alterações morfológicas pela exposição das hemácias a marcados gradientes osmóticos no trânsito pelos túbulos.<sup>80</sup>

A partir de 1979, as alterações morfológicas das hemácias são destacadas por Birch e Fairley, que, através da microscopia de contraste de fase, chamam atenção para a uti-

lidade destas observações no diagnóstico diferencial da hematúria, detectando sangramento de origem glomerular e não-glomerular.<sup>11</sup> A hematúria glomerular caracteriza-se pela ampla variação na forma e na dimensão das hemácias (dismórficas). Na hematúria de origem não-glomerular as hemácias conservam seu aspecto usual (isomórficas), sendo acompanhadas eventualmente de hemácias crenadas e/ou "fantasmas" (perderam o conteúdo de hemoglobina).

Fasset, Horgan e Mathew,<sup>29</sup> em 1981, examinaram 62 amostras de urina de pacientes com hematúria, classificando as hemácias conforme os critérios estabelecidos por Birch e Fairley. Assim, as hematúrias foram diagnosticadas como glomerulares ou não-glomerulares, conforme o tipo de hemácias predominante (dismórficas ou isomórficas). Quando havia proporção semelhante de hemácias dismórficas e isomórficas, a hematúria foi designada de mista. Os pesquisadores encontraram dois casos de hematúria mista e houve acerto na correlação entre o diagnóstico microscópico e o clínico em 57 dos 60 casos.

Fairley e Birch, em 1982, estudaram 88 pacientes, constatando a presença de hemácias dismórficas em 55 dos 58 casos de doença glomerular, e sua ausência nos 30 pacientes afetados por doença não-glomerular.<sup>28</sup> Em três pacientes com glomerulonefrite, a microscopia urinária revelou uma população mista de hemácias.

Fasset, Horgan e Mathew, em 1982, analisam 253 pacientes com hematúria.<sup>31</sup> Consideraram glomerulares aqueles que tinham acima de 80% de hemácias dismórficas, e não-glome-

culares os que apresentaram acima de 80% de hemácias isomórficas. Proporções mais próximas dos dois grupos de hemácias foram entendidas como hematúrias mistas. O diagnóstico mostrou-se correto em 85% dos casos. Em 4% houve erro e 11% tinham hematúria mista.

Birch e colaboradores, em 1983, publicam nova série, referente ao estudo de 117 pacientes, que documenta as alterações morfológicas das hemácias por microscopia eletrônica de transmissão e de varredura.<sup>13</sup> Fasset et alii, em 1983, também estudaram a morfologia das hemácias mediante microscopia eletrônica de varredura.<sup>32</sup>

Em 1983, Rizzoni et alii, com microscopia de contraste de fase, obtêm resultados semelhantes aos anteriormente citados, em uma população de crianças.<sup>65,66</sup>

Pellet e colaboradores confirmam a importância da morfologia das hemácias para o diagnóstico diferencial das hematúrias e enfatizam o significado da microscopia de contraste de fase para a identificação dos cilindros.<sup>62</sup>

Hauglustaine et alii,<sup>37</sup> assim como Chang<sup>18,19</sup> descrevem o estudo da morfologia das hemácias, utilizando microscopia óptica convencional e sedimento urinário corado.

Van Iseghen et alii,<sup>78</sup> ao publicarem estudo diário das características morfológicas das hemácias em um paciente com GNDA pós-estreptocôcia, relatam que observaram uma relação inversa entre a intensidade da hematúria e a predominância

cia de dismorfismo.

Rizzoni e colaboradores<sup>67</sup> compararam os resultados obtidos por dois observadores, utilizando microscopia de contraste de fase e microscopia óptica convencional. Os exames foram realizados em 65 crianças e houve concordância de diagnóstico microscópico em 60 casos.

Fasset e colaboradores,<sup>30</sup> através da técnica da morfologia das hemácias estudaram a hematúria que ocorre após exercício físico e obtiveram resultados que indicam a origem glomerular dessas hemácias.

Esta técnica, inicialmente desenvolvida por australianos,<sup>11,28,29,31</sup> vem ganhando ampla aceitação, sendo já utilizada na França,<sup>62</sup> Bélgica,<sup>37</sup> Estados Unidos,<sup>19</sup> Checoslováquia<sup>71</sup> e Espanha (Balcells, F.S. - comunicação pessoal).

No Brasil, em 1984, Márcio Dantas e colaboradores apresentaram, em seção de Temas Livres do XII Congresso Brasileiro de Nefrologia, sua experiência inicial com a técnica da morfologia das hemácias mediante microscópio de contraste de fase.<sup>23</sup> O estudo foi realizado em 22 pacientes, sendo adotado, como critério para diagnóstico da hematúria glomerular a presença de valores superiores ou iguais a 75% de hemácias dismórficas. Os pesquisadores obtiveram sensibilidade de 90% e especificidade de 100%. Nesta oportunidade, tomou-se conhecimento de que esta técnica vem sendo realizada rotineiramente em laboratórios de análises clínicas de São Paulo, sendo o dismorfismo expresso em graus de intensidade, como leve, modera-

do ou acentuado.

A importância deste método para o diagnóstico diferencial das hematúrias e como subsídio para o diagnóstico de glomerulopatias vem sendo confirmada por referências em periódicos e livros recentemente publicados sobre insuficiência renal aguda e glomerulonefrites.<sup>9,55,69,81</sup>

Permanecem dúvidas quanto à causa das alterações morfológicas observadas nas hemácias glomerulares. As hipóteses propostas são as seguintes:

- grandes variações osmóticas sofridas pelas hemácias no trajeto pelo néfron;
- danos ocorridos durante a passagem da hemácia pela membrana basal glomerular;
- fagocitose das hemácias pelo epitélio tubular renal;
- ação de mediadores da inflamação sobre as hemácias.

#### 1.5 OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho são:

- avaliar a eficácia da técnica da morfologia das hemácias no sedimento urinário (MHSU) para a identificação da origem glomerular ou não-glomerular dessas células;
- estabelecer os níveis percentuais de hemácias dismórficas que mais adequadamente se correla-

cionam com o diagnóstico de hematúria glomerular;

- comparar, para a detecção da hematúria glomerular, (a) a morfologia das hemácias com (b) a ocorrência de cilindros com hemácias e com (c) a presença de proteinúria;
- verificar a ocorrência ou não de associação das variações do pH e da densidade urinária em confronto com os tipos morfológicos das hemácias observadas (dismórficas ou isomórficas);
- observar aspectos relacionados com as modificações ultra-estruturais apresentadas pelas hemácias dismórficas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 CARACTERÍSTICA DOS PACIENTES

Estudaram-se amostras de urina de 117 pacientes com hematúria.

Os pacientes estavam hospitalizados ou foram encaminhados por ambulatórios de nefrologia e urologia.

Definiu-se a hematúria como a presença de, no mínimo, cinco hemácias por campo microscópico (com objetiva de 40 aumentos), em exame de sedimento urinário realizado pelo autor, conforme metodologia descrita na seção 2.2.

Foram selecionados para a pesquisa os 93 pacientes que, até o final da coleta de dados, apresentaram diagnóstico etiológico da hematúria. Foram divididos em dois grupos, de acordo com o diagnóstico clínico-laboratorial:

GRUPO 1: 46 pacientes com hematúria de etiologia glomerular (Tabela 1);

GRUPO 2: 47 pacientes com hematúria de etiologia não-glomerular (Tabela 2).



TABELA 1- PACIENTES COM HEMATÚRIA GLOMERULAR

Diagnóstico	nº	%
GNDA	14	30,5
Síndrome nefrótica idiopática	5	10,9
Lupus eritematoso sistêmico:		
- Síndrome nefrótica	2	4,3
- GN proliferativa difusa	1	2,2
- GN membranosa	1	2,2
- GN membranoproliferativa	2	4,3
Púrpura de Henoch-Schönlein	2	4,3
GN membranoproliferativa	4	8,7
GN proliferativa mesangial	7	15,3
Nefropatia por IgA	3	6,5
Glomerulosclerose focal	3	6,5
Síndrome de Alport	1	2,2
GN por lesões mínimas	1	2,2
TOTAL	46	100,0

TABELA 2- PACIENTES COM HEMATÚRIA NÃO-GLOMERULAR

Diagnóstico	nº	%
Urolitíase	24	51,1
Tumor de bexiga	10	21,3
Tumor de rim	3	6,4
Tuberculose renal	3	6,4
Infecção urinária	5	10,6
Traumatismo renal	1	2,1
Anemia falciforme	1	2,1
TOTAL	47	100,0

Os dois grupos foram formados por pacientes que preenchiam os seguintes critérios:

#### GRUPO 1

Pacientes:

- a) portadores de glomerulonefrite difusa aguda (GNDA) pós-infecciosa, caracterizada por quadro clínico de síndrome nefrítica e hipocomplementemia transitória;
- b) com síndrome nefrótica, definida por proteinúria de 24 h acima de 3,5g/1,73 m<sup>2</sup> de superfície corporal;
- c) com quadro histológico de glomerulopatia na biópsia renal.

#### GRUPO 2

Pacientes com hematúria de outras etiologias, sem evidências de glomerulopatias, diagnosticados por achados clínico-laboratoriais, radiológicos e histológicos.

## 2.2 METODOLOGIA

### 2.2.1 Coleta de urina

As amostras de urina foram coletadas pela manhã, por micção livre, na segunda micção do dia, em frasco de vidro limpo e seco. A seguir, cada amostra foi transferida para um tubo de centrífuga graduado, no volume de 10 ml em cada tubo. Realizaram-se exames em triplicata sempre que o volume de urina foi suficiente.

### 2.2.2 Processamento do material

Todos os exames foram efetuados dentro do período de duas horas após a coleta. Verificou-se a densidade urinária através do refratômetro da Uricon-Atago Co. Ltd. O pH, proteínas, glicose, corpos cetônicos, urobilinogênio, bilirrubina e hemoglobina foram averiguados com tiras-teste Combur 8-Test da Boehringer.

Os tubos graduados, com 10 ml de urina, foram centrifugados a duas mil rotações por minuto, durante 5 minutos. O sobrenadante foi decantado, sendo o sedimento ressuspensionado, no volume total de 0,5 ml, e transferido por capilaridade para o retículo de uma câmara hemocitométrica de Neubauer.

### 2.2.3 Sedimentoscopia

Empregou-se um microscópio Carl Zeiss Jena, equipado com condensador e objetivas para contraste de fase, cuja ocular era de dez aumentos com uma lente, no canhão, de 1,6 aumentos. Foram usadas as objetivas de 6,3 e 40 aumentos, obtendo-se uma magnificação total de 100,8 e 640 aumentos, respectivamente.

Inicialmente, toda a câmara de Neubauer era percorrida com objetiva de 6,3 aumentos, a fim de se pesquisar a presença de cilindros. Mediante uma objetiva de 40 aumentos, identificaram-se os cilindros, cujos tipos foram registrados,

considerando-se cilindros com hemácias tanto os que tinham inclusões de hemácias como os cilindros hemáticos (com textura homogênea, sem margens celulares visíveis, de cor alaranjada).

A contagem das hemácias foi realizada com objetiva de 40 aumentos em, no mínimo, dez campos microscópicos. O número de hemácias por campo foi obtido pela média aritmética dos campos observados. Contaram-se, no mínimo, cem hemácias em cada exame, que foram classificadas, quanto à morfologia, em dois grupos: dismórficas ou isomórficas.

Classificaram-se como isomórficas:

- as hemácias em forma de disco (discócitos), usualmente encontradas em lâminas de sangue periférico;
- as hemácias crenadas (equinócitos) - células com dez a trinta espículas, distribuídas regularmente sobre a superfície;<sup>10</sup>
- as hemácias "fantasma" - as que apresentam a forma usual, mas sem o conteúdo de hemoglobina.

Consideraram-se como dismórficas todas as demais hemácias, diferentes das acima referidas.

Caracterizam-se por variação na forma e na dimensão, apresentando distorções, contornos irregulares, frequentemente com extrusões citoplasmáticas.

No final de cada exame, calcularam-se as percen-

tagens dos dois grupos de hemácias presentes. Nos casos de triplicata, utilizou-se a média aritmética das percentagens dos três exames.

#### 2.2.4 Microscopia eletrônica

Observou-se o sedimento urinário de quatro pacientes portadores de hematúria glomerular, escolhidos ao acaso, com microscopia eletrônica de transmissão, empregando as técnicas de hemólise em esfregaço e inclusão do sedimento urinário em Polylyte.

##### 2.2.4.1 Hemólise em esfregaço

Realizaram-se esfregaços do sedimento urinário sobre lâminas histológicas cobertas com filme de colódio. Os esfregaços permaneceram, para secagem parcial, 14 a 18 horas em caixa com pequena abertura lateral. A seguir foram hemolisados em NaCl a 0,8%, contendo 2,5% de formol,<sup>15</sup> ou em 90 ml de NaCl a 0,8%, com 10 ml de glutaraldeído a 25%.<sup>21</sup> As células foram coradas em solução aquosa de ácido fosfotúngstico (PTA) a 1% por cinco minutos. O excesso de PTA foi removido por rinsagem, e a secagem das lâminas processou-se em temperatura ambiente. Os filmes de colódio foram destacados e transferidos para telas-suporte e, subseqüentemente, sombreados com paládio em máquina metalizadora.

#### 2.2.4.2 Inclusão do sedimento urinário em Polylite 8001-P

O sedimento urinário foi preparado de duas maneiras:

- 1) suspenso na solução fixadora;
- 2) aglutinado em um gel resultante da mistura de uma gota de sedimento com uma gota de glutaraldeído, a 2% e 5%, e uma gota de albumina bovina a 20%; o gel foi cortado em blocos de 1-2 mm<sup>3</sup>, que foram imersos em solução fixadora.

A fixação e a inclusão do sedimento, para obtenção de cortes, se deu mediante as seguintes técnicas:

- 1) Solução fixadora, com glutaraldeído:  
Millonig 2 vezes concentrado - 2,5 ml;  
Água destilada e filtrada - 2,1 ml;  
Glutaraldeído a 25% - 0,4 ml;
- 2) Três lavagens, de 30 min cada uma, em Millonig isotônico (Millonig 2 vezes concentrado + água destilada e filtrada);
- 3) Nova fixação em tetróxido de ósmio (OsO<sub>4</sub>) por 35 min (solução aquosa de OsO<sub>4</sub> a 2% + Millonig 2 vezes concentrado - 1:1);
- 4) Três lavagens, de 15 min cada uma, em solução salina a 0,85%, para retirar o excesso de ósmio;

- 5) Coloração em acetato de uranila a 1%, por 45 min;<sup>41</sup>
- 6) Três lavagens, de 15 min cada uma, em solução salina a 0,85%;
- 7) Desidratação na série alcoólica: álcool 30° (10 min), álcool 50° (10 min), álcool 70° (10 min), álcool 95° (20 min), álcool 95° + acetona (1:1 - 20 min), acetona pura (20 min);
- 8) Pré-embebição em Polylite 8001-P e acetona: Polylite 8001-P (6%) + acetona (1:1 - 2 h), Polylite 8001-P (6%) + acetona (3:1 - 2 h);
- 9) Embebição em Polylite 8001-P (3%) por 24 h;
- 10) Inclusão do material com Polylite 8001-P (3%) em cápsulas plásticas e/ou de gelatina incolor nº 00;<sup>20</sup>
- 11) Polimerização física em estufa, a 59-60° constantes, por 96 h.

Após a polimerização, o material foi cortado em um ultramicrótomo da LKB provido de navalhas de vidro cristal, confeccionadas em um KnifeMaker 7800-LKB. Os cortes foram coletados em telas<sup>o</sup>-suporte previamente cobertas com filme de colódio e carbono. Para a deposição do carbono, utilizou-se a máquina metalizadora da Metal Lux, modelo ML/468/ME. Os cortes foram corados em citrato de chumbo<sup>64</sup> e examinados no microscópio eletrônico Elmiskop 102 (Siemens) a 60 Kv com aumento de 3.000-10.000 vezes.

Mediu-se o diâmetro das hemácias, de suas mem-

branas e detalhes ultra-estruturais, através de projeção dos negativos das eletromicrografias.

### 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Calculou-se o coeficiente de variação das percentagens de hemácias encontradas nos exames realizados em triplicata. Na análise dos resultados serão desprezados aqueles que tiveram coeficiente de variação superior a 10%.

A avaliação da técnica da morfologia das hemácias, ocorrência de cilindros com hemácias e verificação da proteinúria como métodos de detecção de hematúria glomerular foi realizada através da determinação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acuidade. Estes índices foram calculados pelo confronto do diagnóstico clínico-laboratorial com o resultado dos testes diagnósticos, conforme apresentado no Quadro 2.<sup>77</sup> A sensibilidade e a especificidade avaliam a eficiência com que o teste diagnóstico identifica corretamente os pacientes com e sem a doença em estudo (no caso deste trabalho, a presença ou ausência de glomerulopatia). O valor preditivo informa sobre a eficácia com que o resultado positivo ou negativo do teste diagnóstico prognostica corretamente a presença ou ausência da doença. A acuidade expressa a percentagem total de concordância entre o teste diagnóstico e o diagnóstico de certeza.<sup>77</sup>

Para a avaliação da técnica da MHSU, entendeu-se como dismorfismo a presença de hemácias dismórficas em níveis



QUADRO 2 - COMPARAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO DE CERTEZA E OS RESULTADOS DO TESTE DIAGNÓSTICO

DIAGNÓSTICO DE CERTEZA	RESULTADO DO TESTE DIAGNÓSTICO	
	Positivo Paciente suspeito	Negativo Paciente não-suspeito
Paciente tem a doença	Positivo	Falso negativo
Paciente não tem a doença	Falso positivo	Negativo

a	c
b	d

$$\text{Sensibilidade} = a / (a + c)$$

$$\text{Especificidade} = d / (b + d)$$

$$\text{Valor preditivo positivo} = a / (a + b)$$

$$\text{Valor preditivo negativo} = d / (c + d)$$

$$\text{Acuidade} = (a + d) / (a + b + c + d)$$

percentuais diversificados, entre 5 e 90%.

Dentro desses limites, cada nível foi estabelecido gradativamente, de 5 em 5%, sendo considerado positivo o teste em que a percentagem de hemácias dismórficas foi igual ou superior ao limite do nível em questão.

Em relação à proteinúria, considerou-se como positiva a presença de proteinúria patológica, caracterizada pelo achado de duas (+ +) ou três (+ + +) cruzeiras nas tiras-teste.

Os dados relativos à observação são apresentados em tabelas e figuras.

Para comparação simples entre as médias de dois grupos, utilizou-se o teste t de Student. Empregou-se a dis-

tribuição qui-quadrado, com correção de Yates, para a decisão sobre a significância da comparação entre as frequências encontradas, ou da associação entre variáveis qualitativas.

Para a comparação entre a técnica da MHSU, a ocorrência de cilindros com hemácias e a presença de proteinúria como método de detecção da hematúria glomerular, utilizou-se o teste Q de Cochran e o teste de McNemar.<sup>50</sup> O nível de significância empregado foi de 0,05.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 DENSIDADE URINÁRIA e pH

Os dados relativos à variação, à média aritmética e ao desvio-padrão da densidade urinária e do pH nos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular ocorrem na Tabela 3. Não houve diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre os valores do pH e da densidade urinária nos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular ( $t = 0$  e  $0,4$  respectivamente).

TABELA 3 - VARIACÃO, MÉDIA ARITMÉTICA E DESVIO-PADRÃO DO PH E DENSIDADE URINÁRIOS NOS PACIENTES COM HEMATÚRIA GLOMERULAR E NÃO-GLOMERULAR

Diagnóstico Clínico- Laboratorial	pH		Densidade	
	Variacão	Média $\pm$ s	Variacão	Média $\pm$ s
Hematúria Glomerular	5 - 7,5	5,9 $\pm$ 0,75	1007 - 1032	1018,8 $\pm$ 8,1
Hematúria Não-Glomerular	5 - 7,5	5,9 $\pm$ 0,62	1007 - 1045	1019,5 $\pm$ 7,2

### 3.2 EXAME QUÍMICO DA URINA

As verificações de glicose, bilirrubina, urobilinogênio e corpos cetônicos foram negativas em todos os pacientes. A hemoglobina esteve presente em todos. Os resultados da proteinúria são observados na Tabela 4. Constatou-se a ocorrência de associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre a presença de proteinúria patológica e o diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria glomerular ( $\chi^2 = 18,4$ ; Tabela 5).

### 3.3 CILINDROS COM HEMÁCIAS

Os cilindros com hemácias (Fig. 6) estiveram presentes em 37 pacientes com hematúria glomerular e ausentes nos casos de hematúria não-glomerular (Tabela 6).

Houve associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre a presença de cilindros com hemácias e o diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria glomerular ( $\chi^2=59,3$ ).

TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DE PROTEINÚRIA NOS PACIENTES COM HEMATÚRIA GLOMERULAR E NÃO-GLOMERULAR

DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL	PROTEINÚRIA			
	0	+	++	+++
Hematúria Glomerular	8	13	11	14
Hematúria Não-Glomerular	23	19	5	0
TOTAL	31	32	16	14

TABELA 5 - RELAÇÃO ENTRE A PROTEINÚRIA PATOLÓGICA E O DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL DA HEMATÚRIA

PROTEINÚRIA PATOLÓGICA		
DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL	PRESENTE	AUSENTE
Hematúria Glomerular	25	21
Hematúria Não-Glomerular	5	42
TOTAL	30	63

Sensibilidade=54,3%;  
Especificidade=89,4%;  
 $\chi^2=18,4$  ( $p<0,05$ );

Valor preditivo positivo:83,3%;  
Valor preditivo negativo:66,6%;  
Acuidade:72%.

TABELA 6 - RELAÇÃO ENTRE A OCORRÊNCIA DE CILINDROS COM HEMÁCIAS E O DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL DA HEMATÚRIA

CILINDROS COM HEMÁCIAS		
DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL	PRESENTE	AUSENTE
Hematúria Glomerular	37	9
Hematúria Não-Glomerular	0	47
TOTAL	37	56

Sensibilidade=80,4%;  
Especificidade=100%;  
 $\chi^2=59,3$  ( $p<0,05$ );

Valor preditivo positivo:100%;  
Valor preditivo negativo:83,9%;  
Acuidade:90,3%.

### 3.4 CONTAGEM DAS HEMÁCIAS

Na Tabela 7 observa-se o número de hemácias por campo microscópico nos dois grupos de pacientes com hematúria.

O coeficiente de variação foi menor do que 10% nos 81 exames realizados em triplicata. Num deles, a variação chegou a 8%, e nos demais foi inferior a 5%.

TABELA 7 - DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA DAS HEMÁCIAS NOS  
 PACIENTES COM HEMATÚRIA GLOMERULAR E  
 NÃO-GLOMERULAR

DIAGNÓSTICO CLÍNICO- LABORATORIAL HEMÁCIAS/CAMPO	HEMATÚRIA GLOMERULAR	HEMATÚRIA NÃO-GLOMERULAR
	nº	nº
5 — 10	2	6
10 — 20	19	17
20 — 30	7	5
30 — 40	4	1
40 — 50	3	0
50 — 75	3	0
75 — 100	2	0
> 100	6	18
TOTAL	46	47

### 3.5 MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS NO SEDIMENTO URINÁRIO

Nas figuras 1 e 2 observa-se a distribuição da frequência de percentagens de hemácias dismórficas encontradas nos pacientes com hematúria glomerular ( $\bar{x}=79\% \pm 17,9\%$ ) e não-glomerular ( $\bar{x}=10,6\% \pm 12,5\%$ ).

Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre as percentagens de hemácias dismórficas presentes nos dois grupos de pacientes ( $t=21,3$ ).

A Tabela 8 contém os dados relativos a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acuidade referentes à presença de dismorfismo das hemácias como indicativo de hematúria glomerular.

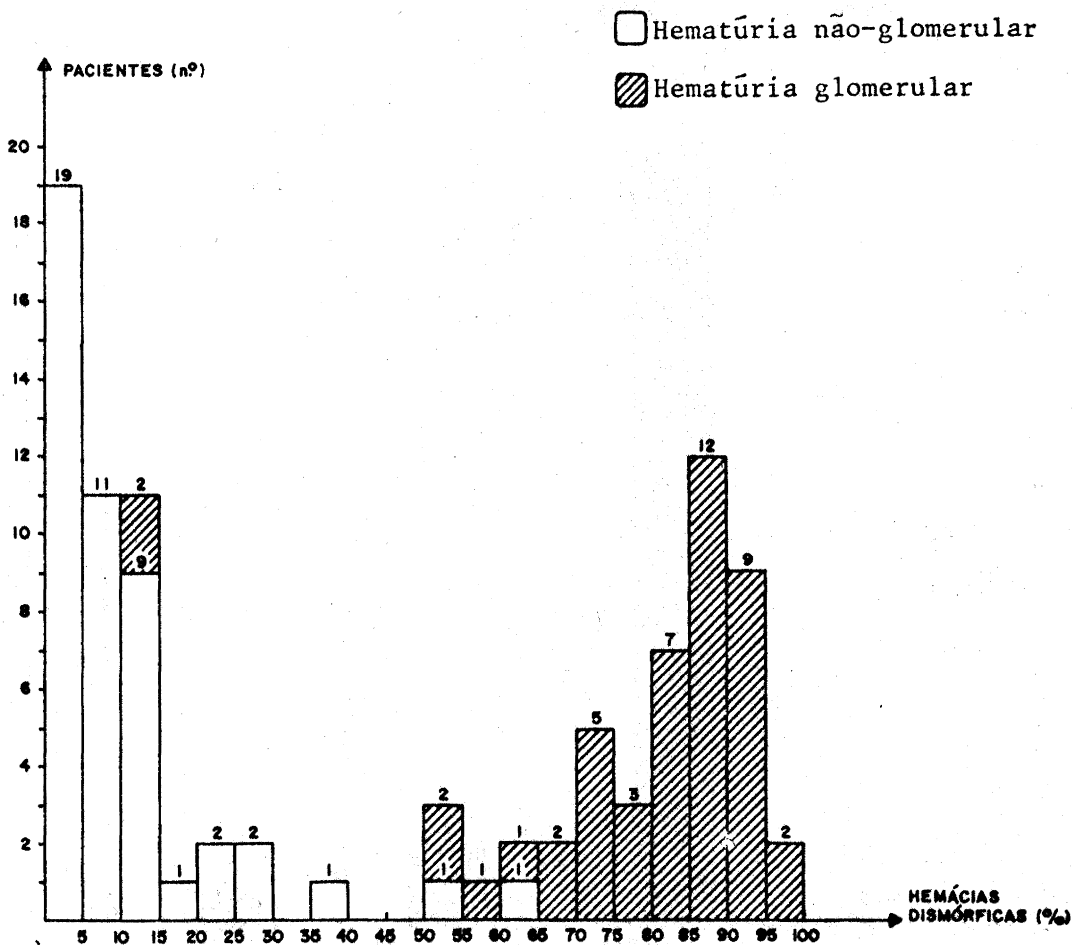


Fig. 1 - Gráfico de distribuição da frequência das percentagens de hemácias dismórficas dos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular.

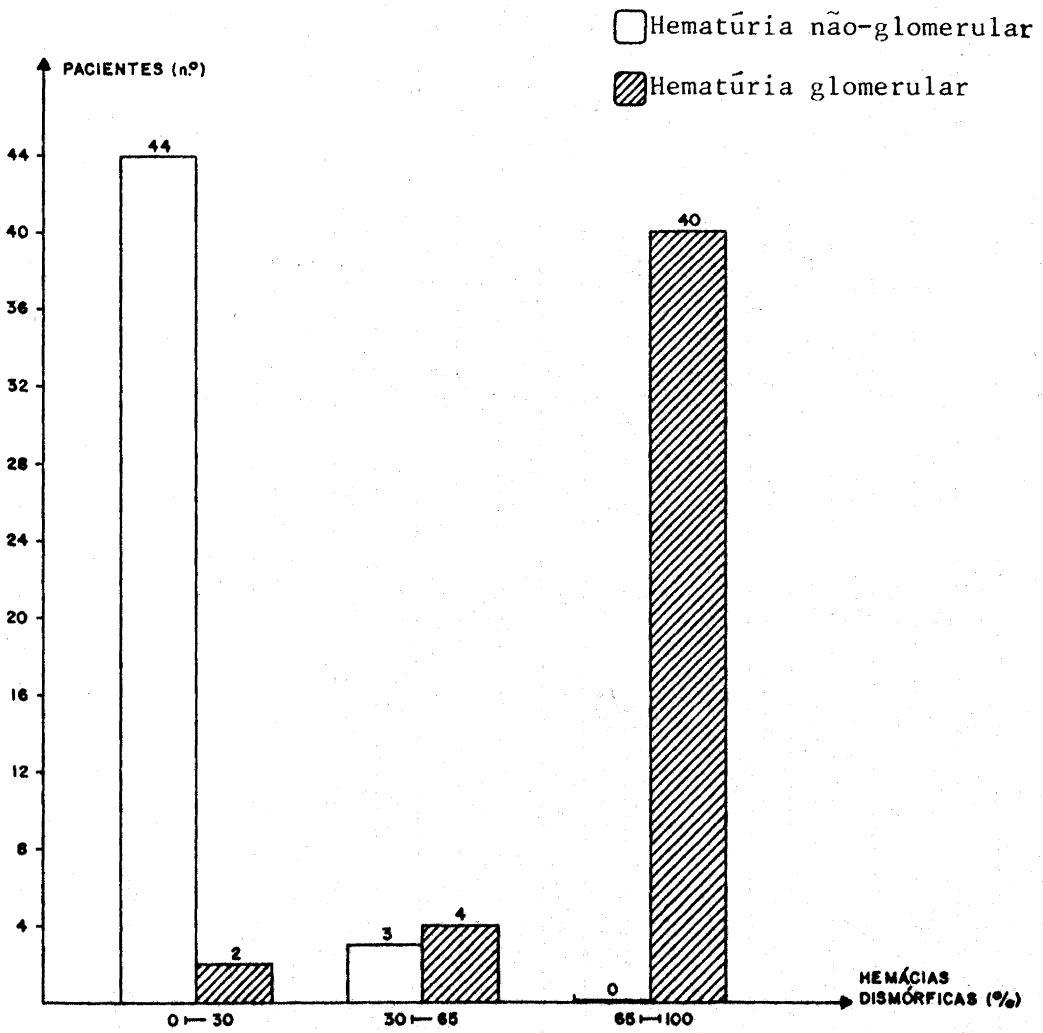


Fig. 2 - Gráfico de distribuição de frequência das percentagens de hemácias dismórficas, em intervalos de 0-30, 30-65, 65-100, dos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular.



TABELA 8 - RELAÇÃO ENTRE DISMORFISMO DAS HEMÁCIAS E DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL DA HEMATÚRIA, NOS DIFERENTES NÍVEIS PERCENTUAIS DE HEMÁCIAS DISMÓRFICAS DEFINIDORES DE DISMORFISMO

HEMÁCIAS DISMÓRFICAS (%)	DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL				SENSI- BILI- DADE (%)	ESPECI- FICI- DADE (%)	VALOR PREDITIVO		ACUIDADE (%)	QUT- QUADRADO*
	HEMATÚRIA GLOMERULAR		HEMATÚRIA NÃO- GLOMERULAR				POSI- TIVO (%)	NEGA- TIVO (%)		
	PRE- SENTE	AU- SENTE	PRE- SENTE	AU- SENTE						
≥ 5	46	0	28	19	100,0	40,4	62,2	100,0	69,9	20,9
≥ 10	46	0	17	30	100,0	63,8	73,0	100,0	81,7	40,5
≥ 15	44	2	8	39	95,6	83,0	84,6	95,1	89,2	55,2
≥ 20	44	2	7	40	95,6	85,1	86,3	95,2	90,3	58,0
≥ 25	44	2	5	42	95,6	89,3	89,8	95,4	92,5	64,0
≥ 30	44	2	3	44	95,6	93,6	93,6	95,6	94,6	70,6
≥ 35	44	2	3	44	95,6	93,6	93,6	95,6	94,6	70,6
≥ 40	44	2	2	45	95,6	95,7	95,6	95,7	95,7	74,1
≥ 45	44	2	2	45	95,6	95,7	95,6	95,7	95,7	74,1
≥ 50	44	2	2	45	95,6	95,7	95,6	95,7	95,7	74,1
≥ 55	42	4	1	46	91,3	97,9	97,7	92,0	94,6	70,8
≥ 60	41	5	1	46	89,1	97,9	97,7	90,2	93,5	55,7
≥ 65	40	6	0	47	86,9	100,0	100,0	88,7	93,5	68,2
≥ 70	38	8	0	47	82,6	100,0	100,0	85,4	91,4	62,3
≥ 75	33	13	0	47	71,7	100,0	100,0	78,3	86,0	49,2
≥ 80	30	16	0	47	65,2	100,0	100,0	74,6	82,8	42,3
≥ 85	23	23	0	47	50,0	100,0	100,0	67,1	75,3	28,6
≥ 90	11	35	0	47	23,9	100,0	100,0	57,3	62,4	10,5

\* p<0,05

Houve associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre a presença do dismorfismo e o diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria glomerular, em todos os níveis percentuais definidores de dismorfismo.

### 3.5.1 Características morfológicas das hemácias

#### 3.5.1.1 Microscopia de contraste de fase

As hemácias isomórficas apresentam uniformidade de tamanho e aspecto, conservando a forma discóide ou circular, com distribuição homogênea de hemoglobina em seu interior (Fig. 3 e 11). Algumas se apresentam crenadas (equinócitos), caracterizando-se pela presença de saliências (espículas) sobre a superfície, em número variável, porém de aspecto e distribuição regular (Fig. 10).

As hemácias dismórficas mostram grandes variações na forma e no tamanho (Fig. 4, 5, 7, 8 e 9). Frequentemente oferecem à observação corpos circulares ou cilindróides, em número e dimensões variáveis, distribuídos irregularmente sobre a superfície da célula, parecendo ter relação de continuidade com ela (Fig. 5, 8 e 13). O acentuado polimorfismo das hemácias eventualmente aparece sob a forma de elipse (Fig. 9). Outra de suas características é a diminuição do conteúdo de hemoglobina, que geralmente se concentra na periferia da hemácia, assemelhando-se a um anel denso, com limites precisamente definidos e zona central transparente (Fig. 4).

### 3.5.1.2 Microscopia eletrônica

#### 3.5.1.2.1 Hemólise em esfregaço

Os estromas exibem diferentes aspectos morfológicos. A forma circular, anucleada, mostra dobras concêntricas e filamentosas (Fig. 11). Esses estromas possuem diâmetros desde 3,8 até 5,3  $\mu\text{m}$ , sendo o diâmetro médio 5,1  $\mu\text{m}$ . Os estromas circulares dismórficos podem apresentar configurações extremamente variadas. Na periferia, é possível observar corpos circulares menores, com diâmetros médios que variam de 0,74 até 1,19  $\mu\text{m}$  (Fig. 13). Esses pequenos corpos circulares têm relação de continuidade com o estroma circular (Fig. 14). Eventualmente o estroma circular (Fig. 12) mostra-se aglutinado a um elemento isodiamétrico de tamanho menor e alta densidade, não havendo relação de continuidade entre ambos.

#### 3.5.1.2.2 Corte ultrafino

As hemácias apresentam-se polimórficas. Também se observam hemácias com corpos circulares satélites, cujo diâmetro médio é de 0,53  $\mu\text{m}$ , tornando-se bastante clara a relação de continuidade existente (Fig. 15). Na Fig. 18 é possível observar diferentes densidades no citoplasma hemoglobinizado, bem como um poliformismo muito grande entre as várias hemácias. A membrana plasmática das diferentes hemácias assumem diâmetro em torno de 90  $\text{Å}$  (Fig. 16 e 17).

### 3.6 COMPARAÇÃO ENTRE MHSU, CILINDROS COM HEMÁCIAS E PROTEINÚRIA

Para a comparação dos três métodos diagnósticos em questão, a MHSU foi considerada como indicativo de hematúria glomerular quando ocorreram percentagens de hemácias dismórficas iguais ou superiores a 65%.

O teste Q de Cochran mostrou uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os três métodos diagnósticos ( $Q = 24,1$ ).

A comparação dos três métodos diagnósticos, pelo teste de McNemar (Tabelas 9, 10 e 11), revelou uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre a MHSU e proteinúria patológica ( $\chi^2 = 3,85$ ).

Considerando em conjunto a técnica da MHSU com a ocorrência de cilindros com hemácias, resulta uma associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre a presença de dismorfismo e/ou ocorrência de cilindros com hemácias e o diagnóstico clínico-laboratorial ( $\chi^2 = 81,5$ ); (Tabela 12).

TABELA 9 - COMPARAÇÃO ENTRE A MHSU E A OCORRÊNCIA DE CILINDROS COM HEMÁCIAS

CILINDRO C/HEMÁCIAS	DISMORFISMO		TOTAL
	PRESENTE	AUSENTE	
Presente	33	4	37
Ausente	7	49	56
TOTAL	40	53	93

$$\chi^2=0,82; p>0,05$$

TABELA 10 - COMPARAÇÃO ENTRE A MHSU E A PRESENÇA DE PROTEINÚRIA PATOLÓGICA

PROTEINÚRIA PATOLÓGICA	DISMORFISMO		TOTAL
	PRESENTE	AUSENTE	
Presente	22	8	30
Ausente	18	45	63
TOTAL	40	53	93

$$\chi^2=3,85; p<0,05$$

TABELA 11 - COMPARAÇÃO ENTRE A OCORRÊNCIA DE CILINDROS COM HEMÁCIAS E A PRESENÇA DE PROTEINÚRIA PATOLÓGICA

PROTEINÚRIA PATOLÓGICA	CILINDROS C/HEMÁCIAS		TOTAL
	PRESENTE	AUSENTE	
Presente	23	7	30
Ausente	14	49	63
TOTAL	37	56	93

$$\chi^2=2,33; p>0,05$$

TABELA 12 - COMPARAÇÃO ENTRE A MHSU E/OU OCORRÊNCIA  
DE CILINDROS COM HEMÁCIAS E DIAGNÓSTICO  
CLÍNICO-LABORATORIAL

DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORA- TORIAL	MHSU E/OU CILINDRO COM HEMÁCIA		TOTAL
	PRESENTE	AUSENTE	
Hematúria Glomerular	44	2	46
Hematúria não-glomerular	0	47	47
TOTAL	44	49	93

Sensibilidade=95,6%

Especificidade=100%

Valor preditivo positivo=100%

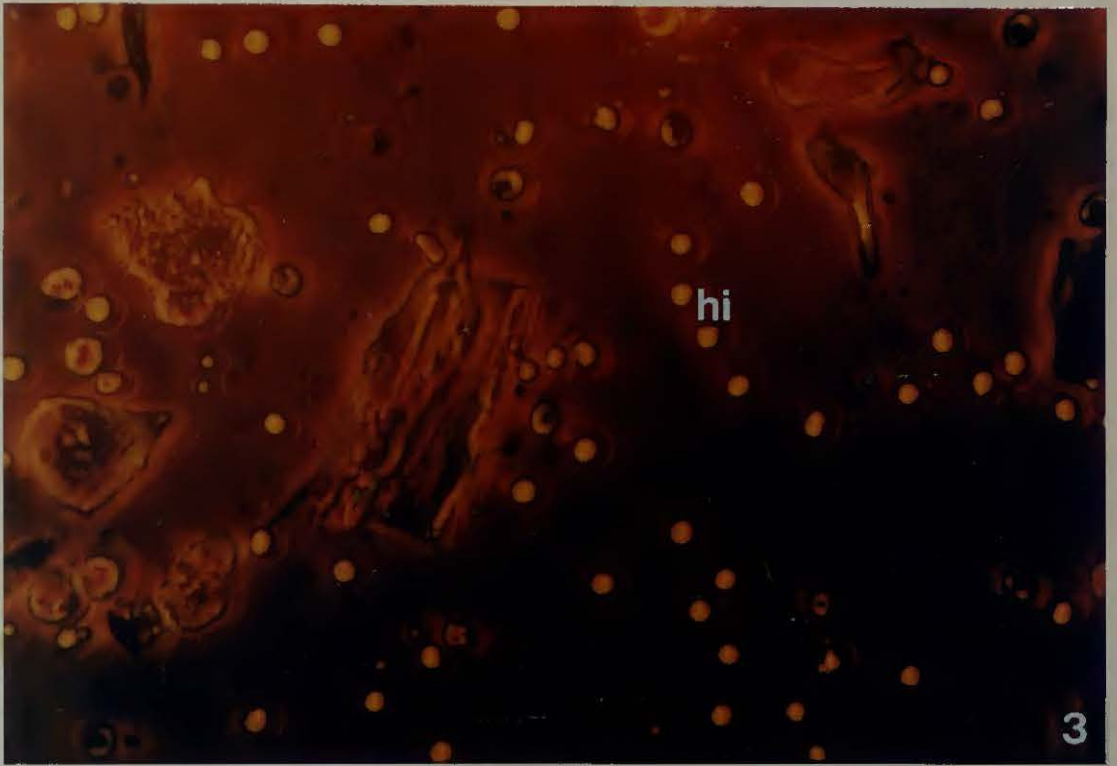
Valor preditivo negativo=95,9%

Acuidade=97,8%

## A) MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

Fig. 3 Hemácias isomórficas (hi). Observa-se a uniformidade do aspecto e do tamanho das hemácias (pacientes com urolitíase; aproximadamente 700 x).

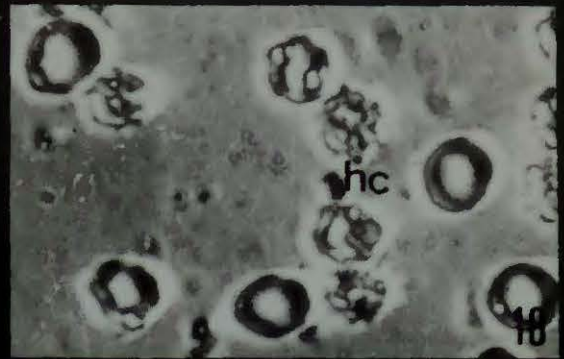
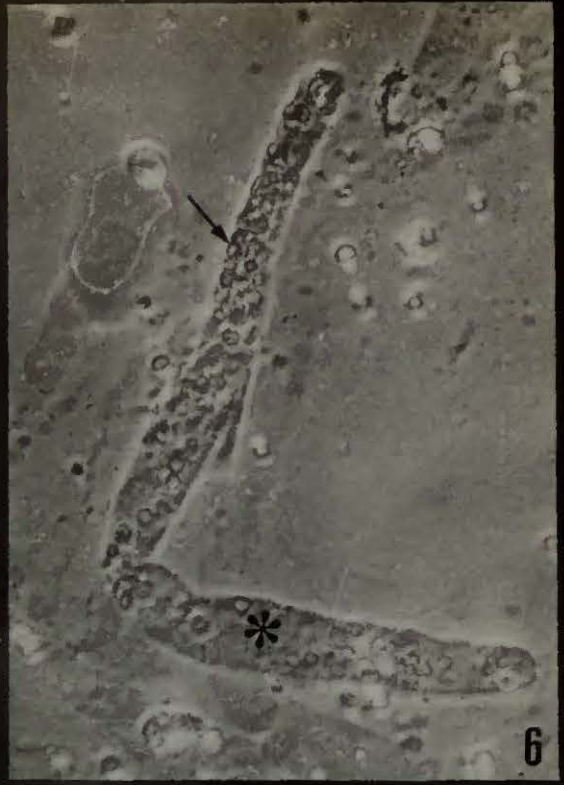
Fig. 4 Hemácias dismórficas. Observa-se a variação no tamanho e na forma das hemácias. Algumas (→) apresentam-se com hemoglobina condensada na periferia, assemelhando-se a um anel (paciente portador de glomerulonefrite; aproximadamente 680 x).





## B) MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

- Fig. 5 Hemácias dismórficas. Observa-se grande variação morfológica (→); (aproximadamente 512 x).
- Fig. 6 Cilindro com hemácias. Observa-se um cilindro hialino (\*) com grande número de hemácias em seu interior (→); (aproximadamente 1.094 x).
- Fig. 7 Hemácia dismórfica (hd). Caracteriza-se por maior número de concavidades (cnizócito); (aproximadamente 1.400 x).
- Fig. 8 Hemácia dismórfica. Observa-se corpo satélite - espícula (e); (aproximadamente 1.600 x).
- Fig. 9 Hemácias dismórficas . Uma (→) apresenta forma de elipse (aproximadamente 940 x).
- Fig.10 Hemácias crenadas-equinócitos (hc). Caracterizam-se pela presença de espículas em número variável, mas de tamanho e distribuição regulares (aproximadamente 1.060 x).



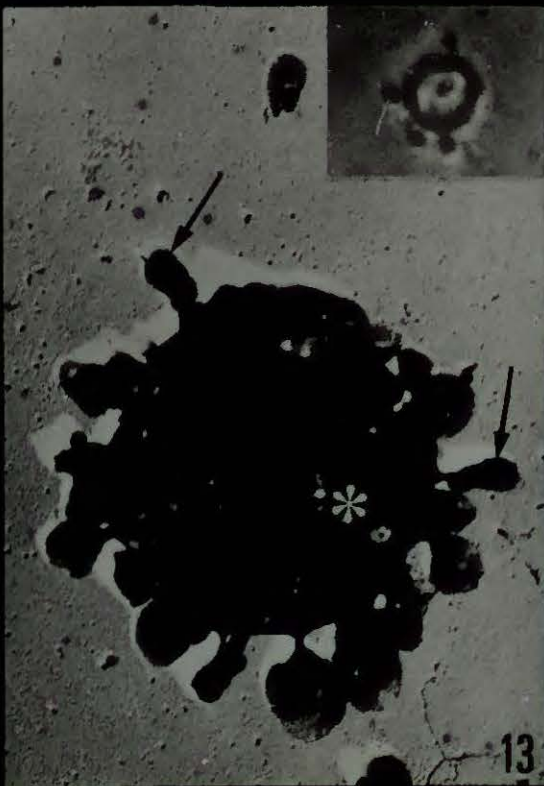
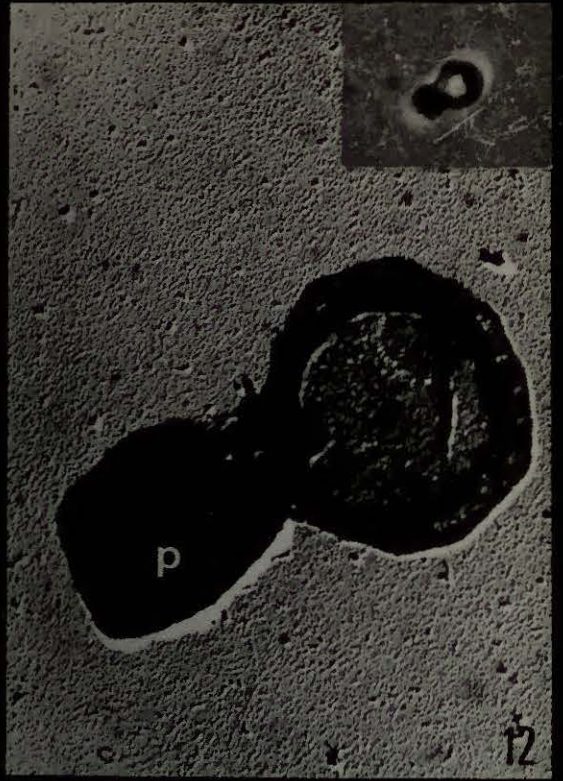
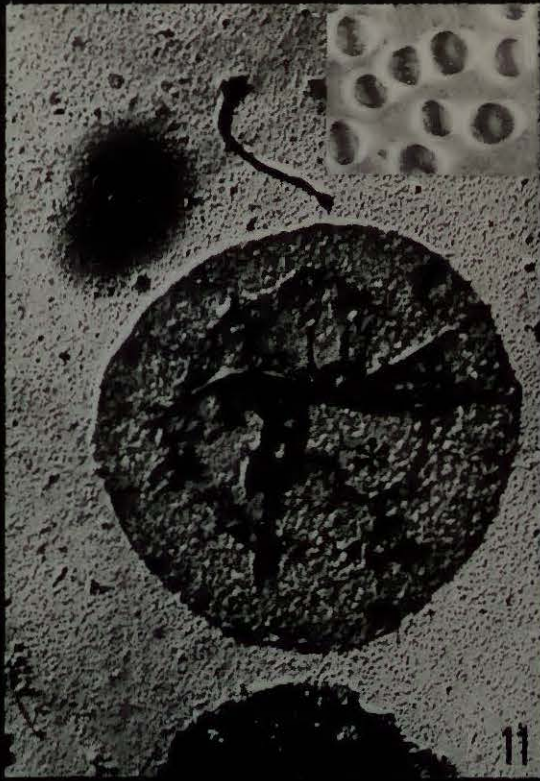
C) MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO: HEMÓ-  
LISE EM ESFREGAÇO

Fig. 11 Estroma circular. O estroma da hemácia (\*) exhibe dobras (d) concêntricas e filamentosas (aproximadamente 8.800 x). Inserção acima, à direita, de hemácias isomórficas (microscopia de contraste de fase, aproximadamente 730 x).

Fig. 12 Hemácia aglutinada a plaqueta. Observa-se, aglutinado ao estroma da hemácia (\*) um elemento isodiamétrico de alta densidade, interpretado como plaqueta (p); (aproximadamente 9.500 x). A inserção acima, à direita, mostra imagem semelhante (microscopia de contraste de fase, aproximadamente 1.250 x).

Fig. 13 Hemácia com espículas. O estroma da hemácia (\*) apresenta inúmeras projeções - espículas (→) de diferentes tamanhos e distribuição irregular (acantócito); (aproximadamente 10.500 x). A inserção acima, à direita, mostra hemácia com as mesmas características (microscopia de contraste de fase; aproximadamente 1.820 x).

Fig. 14 Hemácia com espículas. Observa-se a relação de continuidade (≠) entre o estroma da hemácia (\*) e as espículas (aproximadamente 15.000 x).



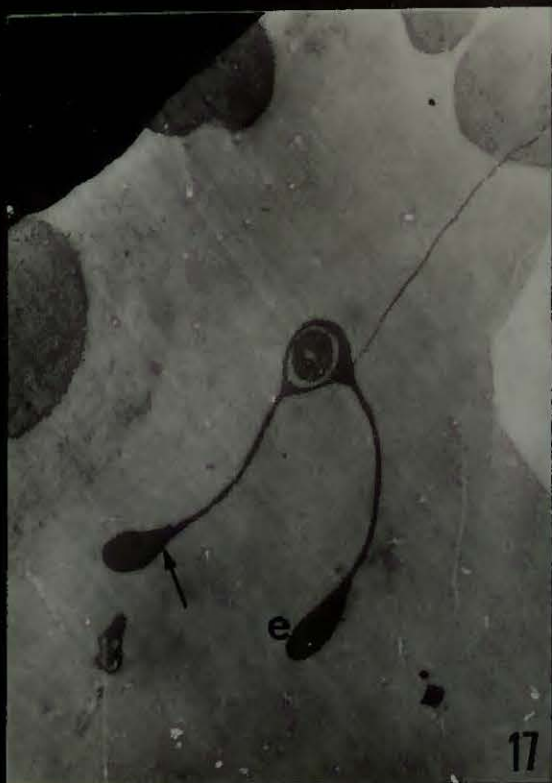
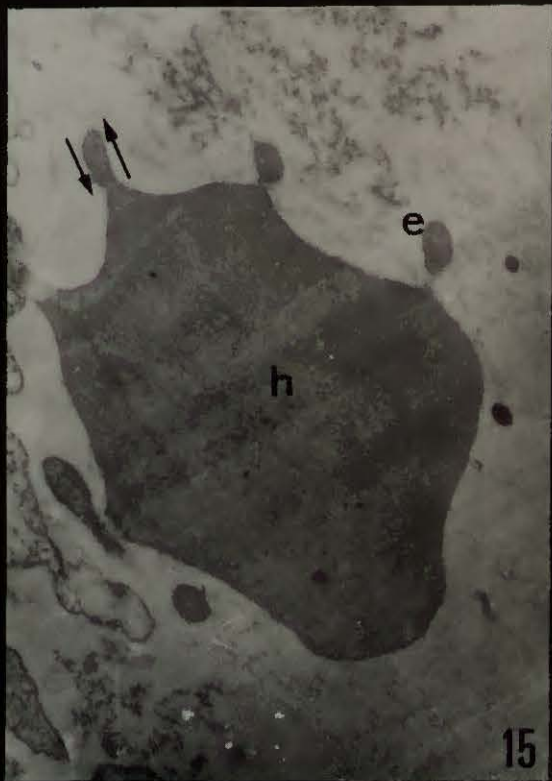
D) MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO: CORTE  
ULTRAFINO

Fig. 15 Hemácia com espículas. Observam-se várias espículas (e) e a relação de continuidade ( $\rightleftharpoons$ ) entre algumas delas e a hemácia (h); (aproximadamente 14.000 x).

Fig. 16 Hemácia dismófica. A hemácia constituída por projeções - espículas (e) interligadas por finas pontes citoplasmáticas. Observa-se a membrana plasmática ( $\rightarrow$ ); (aproximadamente 13.500 x).

Fig. 17 Hemácia dismórfica. A hemácia apresenta-se com dois prolongamentos - espículas (e) identificando-se a membrana plasmática ( $\rightarrow$ ); (aproximadamente 14.000 x).

Fig. 18 Hemácias dismórficas. Observam-se o polimorfismo das hemácias (h) e as diferenças na densidade do citoplasma hemoglobinizado (aproximadamente 14.800 x).



## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Os critérios utilizados para seleção dos pacientes foram a presença de hematúria e o diagnóstico etiológico definido. Assim, obtiveram-se dos grupos de pacientes - com hematúria de origem glomerular e não-glomerular - adequados para a avaliação da técnica da morfologia das hemácias no sedimento urinário. Nem todos os pacientes foram investigados extensamente de maneira a afastar a possibilidade de coexistência de duas patologias, o que só seria possível se fosse realizada biópsia renal em todos.

A amostra em estudo foi utilizada também para comparar a técnica da morfologia das hemácias com a ocorrência de cilindros com hemácias e presença de proteinúria. A possível influência dos critérios para a seleção da amostra sobre estes resultados é analisada nas seções 4.3, 4.4 e 4.7.

#### 4.2 DENSIDADE E pH URINÁRIOS

Naeraa,<sup>60</sup> em 1938, levantou a hipótese de que as alterações morfológicas das hemácias na urina se devessem às variações do pH e da densidade urinários. A partir do interesse despertado por tais alterações, quando descritas por Birch e Fairley,<sup>11</sup> outros autores se dedicaram à investigação da possível influência, do pH, da densidade ou de algum outro elemento presente na urina. Chang<sup>19</sup> realizou a suspensão de hemácias do sangue periférico em sobrenadante de urina centrifugada de pacientes portadores de glomerulopatias, mas não obteve alterações morfológicas significativas. Neste mesmo trabalho, também efetuou a suspensão de hemácias normais do sangue periférico em solução de osmolaridade variável (obtida por adição de diferentes concentrações de uréia e cloreto de sódio). A suspensão das hemácias em solução com concentração de NaCl entre 50 e 60 mEq/l teve como resultado a geração de hemácias hipocrômicas e "fantasmas", mas não ocorreu o dismorfismo observado nas hemácias glomerulares.

Rizzoni et alii,<sup>65,66</sup> em seus trabalhos de avaliação da técnica da morfologia das hemácias na urina, verificaram o pH e a densidade urinários, não encontrando correlação entre as variações desses parâmetros e as alterações morfológicas das hemácias glomerulares.

Os resultados do presente trabalho concordam com os da literatura, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os valores do pH e da densidade urinários nos dois grupos de pacientes (hematúria glomerular e não-glomerular.



### 4.3 PROTEINÚRIA

A presença de proteinúria é um dos elementos capazes de auxiliar no diagnóstico diferencial das hematúrias.<sup>1, 2, 61, 83</sup>

Neste trabalho, considerando duas (++) ou três (+++) cruces como proteinúria patológica, ocorre uma associação estatisticamente significativa entre a presença de proteinúria e o diagnóstico de hematúria glomerular. Tais dados confirmam a utilidade da proteinúria como indicador de doença glomerular (Tabela 5). Nesta análise, deve ser considerada a limitada precisão do método utilizado para averiguação da proteinúria. A utilização da presença de GNDA e Síndrome Nefrótica como critérios de seleção de pacientes com hematúria glomerular não constitui vício: proteinúria patológica esteve presente em 25 dos 46 pacientes com hematúria glomerular (54,3%) e em apenas 10 dos 21 (47,3%) incluídos na amostra, pelos critérios acima referidos.

### 4.4 CILINDROS COM HEMÁCIAS

O achado de cilindros com hemácias na urina é considerado altamente sugestivo de patologia glomerular,<sup>52, 72, 73, 74</sup> auxiliando no diagnóstico diferencial das hematúrias. Estes elementos não são específicos de glomerulopatias, podendo ocorrer em outras situações, como nefrites intersticiais,<sup>75</sup> necrose tubular aguda e nefrosclerose maligna.<sup>73</sup>

A ocorrência de cilindros com hemácias em séries

de pacientes com hematúria ou glomerulopatias é bastante variável, ocorrendo registro, conforme a bibliografia consultada, em 32% a 94% dos casos (Quadro 3).

QUADRO 3 - PREVALÊNCIA DOS CILINDROS  
COM HEMÁCIAS EM PACIENTES  
COM HEMATÚRIA OU GLO-  
MERULONEFRITE

PACIENTES Nº	CILINDROS COM HEMÁCIAS (%)	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
58	65	12
33	94	63
22	32	35
75	43	58
80	60	48
39	44	66
65	54	65
40	50	83

Os resultados do presente trabalho concordam com os da literatura, confirmando o valor da ocorrência de cilindros com hemácias no diagnóstico diferencial das hematúrias (sensibilidade=80,4%, especificidade=100%, valor preditivo positivo=100%, valor preditivo negativo=83,9%, acuidade=90,3%).

O achado desses cilindros em 80,4% dos pacientes com hematúria glomerular deve estar relacionado aos seguintes fatores:

- uso de microscopia de contraste de fase, que

- facilita a visualização dos cilindros;<sup>12,62</sup>
- maior empenho na pesquisa dos cilindros, com 81 exames realizados em triplicata e varredura da câmara hemocitométrica com objetiva de 6,3 aumentos em todos os casos;
  - inclusão de 14 pacientes com GNDA (patologia caracteristicamente associada a cilindrúria).

#### 4.5 CONTAGEM DAS HEMÁCIAS

Optou-se pelo emprego do método de contagem das hemácias por campo microscópico por ser o mais simples e prático. Considerou-se como hematúria a ocorrência de, no mínimo, cinco hemácias por campo, a fim de excluir contagens inferiores, limítrofes entre o normal e patológico.

A ausência de variação superior a 10%, nos 81 exames realizados em triplicata, confirma a boa padronização obtida com a metodologia adotada e a possibilidade de obter resultados reprodutíveis.

#### 4.6 MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS NO SEDIMENTO URINÁRIO

##### 4.6.1 Características morfológicas das hemácias

As hemácias normais são facilmente deformáveis e, com a mesma facilidade, são capazes de reassumir sua forma

usual. Esta propriedade é fisiologicamente importante, pois permite a passagem dessas células por capilares de diâmetro inferior ao delas.<sup>10</sup> Também estão sujeitas a alterações morfológicas, reversíveis ou não, em consequência de fatores ambientais presentes nos líquidos por onde circulam,

Classificaram-se as hemácias em dismórficas ou isomórficas de acordo com os critérios descritos por Birch e Fairley.<sup>11</sup> O critério não dispõe de adequada precisão, pois não define exatamente quais as alterações morfológicas das hemácias dismórficas. Para compreender melhor estas alterações, Birch e colaboradores<sup>13</sup> e Fasset e colaboradores<sup>32</sup> realizaram estudos com microscopia eletrônica. Eles entendem que as alterações mais usualmente observadas são as variações no tamanho, a perda da superfície lisa, a variabilidade dos graus de perda de hemoglobina e projeções irregulares em forma de broto. As hemácias com projeções correspondem àquelas denominadas por Bessis<sup>10</sup> de "hemácias espiculadas". Há algumas dúvidas em relação aos equinócitos (Fig. 10). Birch e Fairley,<sup>11</sup> em seu relato inicial, descrevem o aparecimento deste tipo de hemácia em pacientes com hematúria não-glomerular. Em trabalho posterior,<sup>13</sup> utilizando microscopia eletrônica, eles relacionam os equinócitos como uma das formas de hemácias que caracterizam o dismorfismo.

Fasset e colaboradores<sup>32</sup> referem o aparecimento dos equinócitos em pacientes com hematúria não-glomerular. Chang<sup>19</sup> observou estas células em hematúrias glomerulares e não-glomerulares, considerando-as um achado inespecífico. Pel-

let e colaboradores<sup>62</sup> sugerem que seu aparecimento seja mais frequente nas hematúrias de origem extra-renal. A transformação das hemácias da forma de discócito para equinócito é reversível e depende de fatores ambientais, inclusive pelo efeito do vidro da lâmina onde são observadas.<sup>10</sup> Optou-se por sua inclusão na categoria de hemácias isomórficas. Em apenas um dos pacientes, portador de hematúria não-glomerular, constatou-se a ocorrência de equinócitos em número significativo. A exata definição destas células e a capacidade de identificá-las é importante, pois podem ser confundidas com as demais hemácias espiculadas (acantócitos, dacriócitos, queratócitos e esquizócitos), frequentemente presentes na hematúria glomerular.

As observações do presente trabalho, quanto às principais alterações morfológicas das hemácias dismórficas, concordam com aquelas apontadas por Birch e colaboradores<sup>13</sup> e Fasset e colaboradores,<sup>32</sup> caracterizando-se por grandes variações na forma, tamanho e distribuição da hemoglobina. As hemácias com corpos circulares satélites (espículas), particularmente os acantócitos, foram as mais frequentemente encontradas (Fig. 13).

A utilização da microscopia eletrônica viabilizou a definição mais precisa de alguns aspectos referentes às hemácias presentes na urina de quatro pacientes portadores de hematúria glomerular. Foi possível estabelecer a clara relação de continuidade existente entre as hemácias e suas espículas, que constituem verdadeiras emissões citoplasmáticas (Fig. 14 e 15). Determinadas hemácias que, com microscopia de contras-

te de fase, pareciam apresentar projeções circulares únicas, de diâmetro semelhante ao corpo principal, na microscopia eletrônica foram entendidas como elementos aglutinados à hemácia, sem relação de continuidade (Fig. 12). O tamanho e a alta densidade deste elemento sugerem seja interpretado como uma plaqueta. Todas as hemácias morfológicamente normais (Fig. 11), observadas com microscopia eletrônica, em pacientes com hematúria glomerular, apresentaram redução significativa em seu diâmetro (3,8 a 5,9  $\mu\text{m}$ ). Esta observação exige verificação por um estudo que envolva maior número de pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular e, se confirmada, pode representar uma característica que auxilie no diagnóstico diferencial da hematúria.

#### 4.6.2 Critérios diagnósticos de hematúria glomerular

A literatura existente confirma a eficácia da técnica de detecção de hematúria glomerular através do estudo da morfologia das hemácias no sedimento urinário (Quadro 4).

Permanece dúvida quanto à maneira de quantificar os resultados derivados da observação do tipo morfológico das hemácias.

Birch e colaboradores<sup>13</sup> estabelecem os seguintes critérios diagnósticos:

- hematúria glomerular: presença de hemácias dismórficas;

QUADRO 4 - SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DA MHSU  
 COMO MÉTODO DE DETECÇÃO DA HEMATÚRIA GLOMERULAR

AUTORES	PACIENTES (Nº)	SENSIBILI- LIDADE (%)	ESPECIFI- CIDADE (%)
Fasset et alii <sup>29</sup>	62	94	89
Rizzoni et alii <sup>66</sup>	83	95	95
Rizzoni et alii <sup>65</sup>	106	97	96
Fasset et alii <sup>31</sup>	253	82	89
Sasinka et alii <sup>71</sup>	87	92	90
Fairley e Birch <sup>28</sup>	88	95	100
Birch et alii <sup>13</sup>	117	90	93

- hematúria não-glomerular: presença de hemácias isomórficas e até 8.000 hemácias dismórficas/ml (hematúria fisiológica);
- hematúria mista: hemácias dismórficas em contagem superiores a 8.000/ml, acompanhadas de percentagens de hemácias isomórficas superiores a 50%.

Fasset et alii<sup>31</sup> utilizam as seguintes defini-

ções:

- hematúria glomerular: contagens de hemácias dismórficas superiores a 80%;
- hematúria não-glomerular: contagens de hemácias isomórficas superiores a 80%;
- hematúria mista: proporções mais próximas de hemácias dismórficas e isomórficas.

Esses critérios são pouco precisos, pois não estabelecem com clareza os limites percentuais que definem a hematúria mista.

Pretendeu-se estabelecer quais os níveis percentuais de hemácias dismórficas que mais adequadamente se correlacionam com o diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria. Para isso, realizaram-se as contagens das hemácias sem definir qualquer critério diagnóstico, com a preocupação única de classificá-las em dismórficas ou isomórficas. Na Tabela 8 observam-se os dados relativos à sensibilidade, à especificidade, ao valor preditivo positivo e negativo e à acuidade da técnica da morfologia das hemácias. A escolha do melhor nível percentual de hemácias dismórficas, para diagnosticar a hematúria glomerular, depende dos objetivos que determinam a utilização da técnica. Pela Tabela 8 constata-se que, conforme foram elevados os níveis percentuais de hemácias dismórficas necessárias para estabelecer dismorfismo, obteve-se redução da sensibilidade e do valor preditivo negativo e aumento da especificidade e do valor preditivo positivo. Se utilizada esta técnica para rastreamento de pacientes com glomerulonefrites, em determinada população, podem-se utilizar percentuais de hemácias dismórficas em torno de 50%. Nesta situação, apesar de diminuir-se a especificidade, ganha-se em sensibilidade e, portanto, reduz-se a probabilidade de não detectar os portadores de glomerulonefrite.

A utilidade principal desta técnica é a determinação do direcionamento da investigação de pacientes com hema-



túria. Neste caso, é exigido um exame mais específico, pois pacientes que erroneamente recebem diagnóstico de hematúria glomerular poderiam ser portadores de outras patologias do trato urinário, como neoplasias, onde a precocidade do diagnóstico é importante para o sucesso terapêutico. Assim, observando-se a Tabela 8, verifica-se que, utilizando níveis percentuais de hemácias dismórficas iguais ou superiores a 65%, como critério para diagnóstico de hematúria glomerular, obtêm-se especificidade e valor preditivo positivo de 100% (nenhum falso positivo), mantendo uma boa sensibilidade (86,9%).

#### 4.6.3 Análise dos casos de hematúria glomerular não-confirmados pela MHSU

Utilizando percentuais iguais ou superiores a 65% de hemácias dismórficas como critério para diagnóstico de hematúria glomerular, constatou-se que seis pacientes não preencheram este requisito (Fig.2). As características de tais pacientes figuram no Quadro 5.

A possibilidade de coexistência de outra patologia do trato urinário não pode ser afastada com certeza, mas, com exceção dos dois portadores de GNDA (nº 20 e 33), que não foram submetidos a urografia excretora, o resultado desta foi normal nos demais.

Dos quatro pacientes com hemácias dismórficas entre 50 e 65% - avaliados segundo os critérios de Fasset et alii<sup>31</sup> como portadores de hematúria mista -, um (nº 33) teve 50 e outros dois (nº 20 e 4), acima de 100 hemácias/campo; o quar-

QUADRO 5 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES COM HEMATÚRIA GLOMERULAR NÃO-CONFIRMADOS PELA MHSU

PACIENTE	IDADE	SEXO	DIAGNÓSTICO	HEMÁCIAS POR CAMPO	HEMÁCIAS DISMÓRFICAS (%)
Nº 20	12	F	GNDA	+100	63
Nº 33	6	M	GNDA	50	53
Nº 10	40	M	Nefropatia por IgA	17	53
Nº 4	30	F	Síndrome Nefrótica	+100	59
Nº 88	29	M	Glomerulonefrite Proliferativa Mesangial	+100	14
Nº 63	39	M	Glomerulonefrite Proliferativa Mesangial	25	11

to (nº 10), portador de nefropatia por IgA, apresentou 17 hemácias/campo.

A presença de hemácias isomórficas em portadores de glomerulopatia com hematúria intensa é relatada na literatura.<sup>18,19</sup> Van Iseghem e colaboradores<sup>78</sup> confirmam este achado em um paciente com GNDA. Os autores citados propõem que as forças tubulares, que seriam responsáveis pelo dismorfismo, se tornariam menos eficientes quando a hematúria é intensa.

Os dois pacientes restantes (nº 88,63) tinham 14 e 11% de hemácias dismórficas, podendo ser erroneamente classificados como portadores de hematúria não-glomerular. Destes, um (nº 88) apresentava hematúria intensa (acima de 100 hemácias/campo); o outro (nº 63) provavelmente era portador de nefropatia por IgA. O quadro clínico e histopatológico são compatí-

veis, mas o diagnóstico não pode ser confirmado, por não se ter realizado microscopia com imunofluorescência na punção biópsia renal. Fairley e Birch<sup>28</sup> relatam frequente associação entre nefropatia por IgA e presença de hemácias isomórficas na urina. Esta observação é confirmada por Fasset et alii.<sup>31</sup> Fairley e Birch<sup>28</sup> sugerem que os depósitos de IgA presentes no mesângio podem estar disseminados, talvez ocasionando lesões vasculares na mucosa do trato urinário, o que explicaria as hemácias isomórficas observadas nestes pacientes. Kher e colaboradores<sup>43</sup> relatam os casos de dois pacientes com púrpura de Henoch-Schönlein com hematúria macroscópica devido a vasculite ureteral. Evidências clínicas e morfológicas levantam a possibilidade de patogênese comum entre nefropatia por IgA e Púrpura de Henoch-Schönlein, podendo ambas representarem variações de espectro de uma mesma doença.<sup>27</sup>

#### 4.6.4 Análise dos casos de hematúria não-glomerular com percentagens de hemácias dismórficas iguais ou superiores a 25%

As características destes pacientes estão resumidas no Quadro 6.

Nos três primeiros pacientes (nº 8,15,48), as percentagens de hemácias dismórficas correspondem a 2 a 4 hemácias/campo. Birch e Fairley<sup>13</sup> relatam que as hemácias normalmente presentes na urina (até 8.000/ml) são dismórficas. As células dismórficas encontradas nesses três pacientes podem representar a quantidade de hemácias fisiologicamente excreta-

QUADRO 6 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES COM HEMATÚRIA NÃO-GLOMERULAR QUE APRESENTARAM HEMÁCIAS DISMÓRFICAS EM PERCENTAGENS IGUAIS OU SUPERIORES A 25%

PACIENTE	IDADE	SEXO	DIAGNÓSTICO	HEMÁCIAS POR CAMPO	HEMÁCIAS DISMÓRFICAS (%)
Nº 8	54	F	Tumor de Bexiga	10	25
Nº 15	55	F	Urolitíase	8	28
Nº 48	67	F	Infecção Urinária	10	36
Nº 72	56	M	Urolitíase	11	60
Nº 84	43	F	Urolitíase	14	55

das.

Os outros dois pacientes (nº 72,84) com dismorfismo de 55% e 60% (classificáveis como portadores de hematúria mista) revelavam urolitíase de repetição. A ocorrência de hematúria mista em pacientes com litíase é relatada na literatura,<sup>13,31</sup> mas não há qualquer explicação para tal achado. Os pacientes incluídos no presente trabalho tinham urografia excretora que indicou alterações compatíveis com pielonefrite crônica (PNC) e, no momento do exame de urina, apresentavam cálculos que ocasionavam obstrução ureteral e que foram removidos cirurgicamente. Conforme Lippman,<sup>52</sup> o exame do sedimento urinário em pacientes com PNC geralmente apresenta poucas alterações além de leucocitúria; mas eventualmente podem aparecer hemácias e até cilindros com hemácias. Já existe registro de hemácias dismórficas em pacientes com nefrite intersticial aguda.<sup>54,62,68</sup> No caso dos dois pacientes referidos neste trabalho,

também ocorreram, cilindros hialinos e granuloso no sedimento urinário. Acredita-se que as hemácias dismórficas, nestes casos, sejam oriundas das alterações inflamatórias crônicas no interstício renal, ou por alterações glomerulares secundárias a este processo.

#### 4.6.5 Etiologia das alterações morfológicas

A origem das alterações morfológicas envolvidas na hematúria glomerular não está bem esclarecida. Quatro são as hipóteses relatadas na literatura.

- a) Variações osmóticas a que são submetidas as hemácias no trajeto pelo néfron.

Este mecanismo é citado por vários autores<sup>13,31,65,80</sup> e a osmolaridade em diferentes segmentos dos túbulos renais pode variar de 200 até 1.200 mOsm/kgH<sub>2</sub>O. Esta hipótese parece adequada, mas provavelmente não constitui fator único, pois as tentativas de reproduzir "in vitro" as alterações morfológicas, pela suspensão de hemácias em soluções com diferentes osmolaridades, não obtiveram sucesso.<sup>19</sup>

- b) Danos ocasionados durante a passagem da hemácia pela membrana basal glomerular.

A forma como as hemácias têm acesso ao trato urinário também é incerta. Estudos realizados com microscopia eletrônica demonstraram a existência de descontinuidades na membrana basal glomerular, através das quais as hemácias passariam do capilar glomerular ao espaço urinário.<sup>16,51,59,76</sup>

Lin e colaboradores<sup>51</sup> documentaram por eletromicrografias a passagem de uma hemácia pela membrana basal e demonstraram a diferença entre o seu diâmetro e a abertura por onde passa. Eles propõem que a passagem ocorre por emissão de pseudópodos e que, nesse momento, a hemácia estaria sujeita a deformações.

As descontinuidades da membrana basal foram comprovadas em portadores de glomerulopatias. Ocorreriam também em indivíduos normais? Como explicar a hematúria fisiológica e a hematúria que ocorre após exercício físico?

c) Fagocitose das hemácias pelo epitélio tubular renal.

Esta hipótese foi levantada por Kincaid-Smith,<sup>46</sup> em relato de um caso de necrose tubular aguda associada a hematúria macroscópica, em portador de nefropatia por IgA. A biópsia renal identificou hemácias dismórficas dentro dos túbulos, havendo também células epiteliais tubulares com hemácias fagocitadas. A autora sugere que esse mecanismo, associado às variações osmóticas ocorridas no trajeto da hemácia pelo nefrôn, é o principal responsável pelas alterações morfológicas características das hematúrias glomerulares.<sup>45</sup>

Não há confirmação destes achados por outros autores.

d) Ação de mediadores da inflamação sobre as hemácias.

Lubec<sup>54</sup> relata ter incubado hemácias humanas em

soluções com diversas enzimas, obtendo alterações morfológicas das hemácias nas preparações com lisossomas de polimorfonucleares. Apoiado nestes achados e na observação da ausência de hemácias dismórficas em portadores de glomerulopatias hereditárias (Síndrome de Alport), esse pesquisador propõe que a causa de tais alterações morfológicas sejam mediadores da reação inflamatória presentes nas doenças inflamatórias do parênquima renal. Esta hipótese é contestada por Rizzoni,<sup>68</sup> que encontrou hemácias dismórficas em seis pacientes com Síndrome de Alport e refere a presença dessas células na hematúria fisiológica, onde não há lesão inflamatória renal.

Na casuística do presente trabalho, em um paciente com Síndrome de Alport, revelaram-se predominantes (72%) as hemácias dismórficas. Esta hipótese também não explica o dismorfismo observado na hematúria que ocorre com exercício físico.

Provavelmente a causa das alterações morfológicas está relacionada a um conjunto de fatores, alguns já conhecidos, outros a serem investigados.

#### 4.7 COMPARAÇÃO ENTRE A MHSU, A OCORRÊNCIA DE CILINDROS COM HEMÁCIAS E A PRESENÇA DE PROTEINÚRIA

Fasset e colaboradores,<sup>31</sup> ao avaliarem os três métodos, enfatizam o valor da morfologia das hemácias, pois em 21% dos pacientes com glomerulonefrite não havia proteinúria nem cilindros com hemácias. Em pacientes com hematúria micros-

cópica isolada, pressupõe-se que a morfologia das hemácias seja o método mais útil, porque as patologias glomerulares mais frequentemente encontradas nestes casos são alterações mínimas e glomerulonefrites focais, geralmente não-acompanhadas de cilindros e proteinúria.<sup>48</sup>

No presente trabalho, não houve diferença significativa entre morfologia das hemácias e presença de cilindros com hemácias. Este achado decorre da grande incidência de cilindros com hemácias na amostra estudada, conforme discutido na seção 4.4. Quando se confronta o diagnóstico clínico-laboratorial com a ocorrência de cilindros com hemácias e a MHSU (Tabela 12) constata-se que a presença de uma delas constitui recurso eficiente para a detecção da hematúria glomerular (sensibilidade=95,6%, especificidade=100%, valor preditivo positivo=100%, valor preditivo negativo=95,9%, acuidade=97,8%).

#### 4.8 COMENTÁRIOS

A técnica da morfologia das hemácias vem ganhando ampla aceitação como método auxiliar no diagnóstico diferencial das hematúrias. Permanecem dúvidas referentes à causa das alterações morfológicas presentes na hematúria glomerular e à adequada caracterização e interpretação das hematúrias mistas. Outro aspecto questionado diz respeito à exclusividade ou não da relação entre hemácias dismórficas e glomerulopatias: Lubec<sup>54</sup> e Rizzoni<sup>68</sup> relatam a presença de hemácias dismórficas em pacientes com nefrite intersticial. Mesmo nestes casos, é impossível saber se estas células têm origem nas lesões tubu-



lointersticiais ou em lesões glomerulares associadas. Não obstante, do ponto de vista clínico, constitui passo importante na investigação da hematúria o direcionamento no sentido nefrológico (doença parenquimatosa renal) ou urológico, evitando exames desnecessários. Este objetivo é atingido pela técnica da MHSU, conforme relatado na literatura e confirmado pelos resultados do presente trabalho.

Embora nesta pesquisa se tenham usado recursos instrumentais mais complexos - como câmaras hemocitométricas, microscopia de contraste de fase e até microscopia eletrônica - importa destacar que, para uso clínico, a técnica de estudo do sedimento urinário é extremamente simples. Acrescida da observação da morfologia das hemácias, mesmo com microscopia óptica convencional,<sup>30,37</sup> assume significativo valor no diagnóstico e acompanhamento de doenças renais. Addis,<sup>3</sup> em 1925, e Lobato,<sup>53</sup> em 1967, enfatizam a importância da realização do exame pelo próprio médico, por ser quem dispõe de melhores condições para compreender e interpretar os detalhes observados. Esta idéia permanece atual, pois perde-se grande parte do valor do exame em questão quando é executado na rotina dos laboratórios de análises, por técnicos desvinculados da situação clínica. O desenvolvimento do estudo do sedimento urinário apóia-se, ultimamente, no aprimoramento da análise dos seus elementos, permitindo, por exemplo, a identificação de eosinofilúria, linfocitúria, células de inclusão citomegálica e cilindros com fungos, cujo significado é muito grande para o diagnóstico de nefrites intersticiais, de rejeição em transplantes renais e de doenças infecciosas sistêmicas.

## 5 CONCLUSÕES

O trabalho possibilitou as seguintes conclusões:

- a) Constatou-se diferença significativa entre as percentagens de hemácias dismórficas presentes nos pacientes com hematúria glomerular ( $79\% \pm 17,9\%$ ) e não-glomerular ( $10,6\% \pm 12,5\%$ ); ( $p < 0,05$ ). Houve diferença significativa entre a presença de dismorfismo - estabelecido por diferentes níveis percentuais de hemácias dismórficas - e o diagnóstico clínico-laboratorial da hematúria ( $p < 0,05$ ). A técnica da morfologia das hemácias no sedimento urinário é, pois, um método eficaz para a identificação da origem da hematúria, se glomerular ou não-glomerular;
- b) Na identificação da origem glomerular da hematúria, pela técnica da MHSU, a presença de hemácias dismórficas em percentagens iguais ou superiores a 65% mostrou ser o critério mais adequado, obtendo-se a máxima especifi-

- cidade (100%) e suficiente sensibilidade (86,9%);
- c) A técnica da MHSU foi mais sensível (86,9%) do que a ocorrência de cilindros com hemácias (80,4%) e a verificação de proteinúria (54,3%), havendo diferença significativa entre a MHSU e a proteinúria (McNemar,  $p < 0,05$ ).
- d) Considerando, juntos a técnica da MHSU e a ocorrência de cilindros com hemácias, encontrou-se diferença significativa entre a presença de um deles (dismorfismo e/ou cilindros com hemácias) e o diagnóstico clínico-laboratorial ( $p < 0,05$ ), obtendo-se eficiência superior a 95% (sensibilidade: 95,7%, especificidade: 100%, valor preditivo positivo: 100%, valor preditivo negativo: 95,9%, acuidade: 97,8%). Fica demonstrado, então, o valor do exame do sedimento urinário através da morfologia das hemácias e presença de cilindros com hemácias, no diagnóstico diferencial da hematúria.
- e) Não houve diferença significativa entre os valores do pH e da densidade urinária nos pacientes com hematúria glomerular e não-glomerular ( $p > 0,05$ ), não existindo influência dos mesmos sobre o tipo morfológico de hemácias (dismórficas ou isomórficas) presentes na he-

matéria glomerular e não-glomerular.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABUELO, J.G. Evaluation of hematuria. *Urology*, 21(3):215-25, Mar 1983.
- 2 \_\_\_\_\_. The diagnosis of hematuria. *Arch. Intern. Med.*, 143:967-70, May 1983.
- 3 ADDIS, T. A clinical classification of Bright's diseases. *JAMA*, 85(3): 163-7, July 1925.
- 4 \_\_\_\_\_. The number of formed elements in the urinary sediment of normal individuals. *J. Clin. Invest.*, 2(5): 409-15, 1926.
- 5 \_\_\_\_\_. *Glomerulonephritis*. Barcelona, Horta, 1950. p. 50-1.
- 6 BACKMAN, K.A. & NORLÉN, H. Concealed haematuria - whence cometh the bleeding? A new method of localization. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 17: 63-5, 1983.
- 7 BARRATT, T.M. Glomerular diseases and haematuria. In: WILLIAMS, D.I. & JOHNSTON, J.H. *Paediatric urology*. 2. ed. London Butterworth, 1982, chap. 8, p.79-87.
- 8 BENSON, G.S. & BREWER, E. Hematuria: algorithms for diagnosis. II. Hematuria in the adult and hematuria secondary to trauma. *JAMA*, 246(9): 993-5, 1981.

- 9 BERTOLATUS, J.A. & HUNSICKER, L.G. Glomerulonephritis and nephrotic syndrome. In: GONICK, H.C. *Current nephrology*. New York, John Wiley, 1984. p. 197-249.
- 10 BESSIS, M. *Blood smears reinterpreted*. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag, 1977.
- 11 BIRCH, D.F. & FAIRLEY, K.F. Haematuria: glomerular or non-glomerular? *The Lancet*, 2: 845-6, 1979.
- 12 \_\_\_\_\_. Red cells in the urine. *The Lancet*, 1: 424, Feb. 1980.
- 13 BIRCH, D.F. et alii. Urinary erythrocyte morphology in the diagnosis of glomerular hematuria. *Clin. Nephrol.*, 20(2): 78-84, 1983.
- 14 BRODY, L. et alii. Identification of elements of urinary sediment with phase-contrast microscopy. A simple method. *JAMA*, 206(8): 1777-81, Nov. 1968.
- 15 BRUNNER JR., A. & VALLEJO-FREIRE, A. Electron microscopic observations on granules and filaments (Reticulosomes) of reticulocytes. *Exp. Cell Res.*, 10: 55, 1956.
- 16 BURKHOLDER, P.M. Ultrastructural demonstration of injury and perforation of glomerular capillary basement membrane in acute proliferative glomerulonephritis. *Am. J. Pathol.*, 56(2): 251-65, Aug. 1969.
- 17 CARSON, C.C. et alii. Clinical importance of microhematuria. *JAMA*, 241(2): 149-50, 1979.
- 18 CHANG, B.S. RBC morphology in glomerular (G) and non-glomerular (NG) hematuria. *Kidney Int.*, 21: 147, 1982.
- 19 \_\_\_\_\_. Red cell morphology as a diagnosis aid in hematuria. *JAMA*, 252(13): 1747-9, Oct. 1984.

- 20 COIRO, J.R.R. & BRUNNER JR., A. *Behavior of polylyte 8001 with plasticizing additives*; Separata de Anais da Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, 45(3/4): 600, 1973.
- 21 COIRO, J.R.R. et alii. The marginal band and its role in the ellipsoidal shape of *Geochelone carbonaria* erythrocytes. *Arch. d'Anat. Micr.* 67(2): 133-43, 1978.
- 22 COUSER, W.G. Glomerular disorders. In: WYNGAARDEN, J.B. and SMITH, L.H. *Cecil textbook of medicine*. 17. ed. Philadelphia W.B. Saunders, 1985. p. 571.
- 23 DANTAS, M. et alii. *Diagnóstico diferencial das hematúrias através da microscopia de contraste de fase*. Tema Livre. XII Congresso Brasileiro de Nefrologia. Salvador, 1984. n° 315.
- 24 DE VOOGT, H.J. et alii. The value of phase contrast microscopy for urinary cytology, reliability and pitfalls. *Acta Cytol.*, 19(6): 542-6, Dec. 1975.
- 25 DE VOOGT, H.J. Phase contrast microscopy of the urinary sediment. In: DE VOOGT, H.J.; RATHERT, P.; BEYER-BOON, M.E. *Urinary cytology*. Phase contrast microscopy and analysis of stained smears. Berlin, Heidelberg, 1977. p. 43-8.
- 26 DODGE, W.E. et alii. Proteinuria and hematuria in school-children: epidemiology and early natural history. *J. Pediatr.*, 88(2): 327-47, Feb. 1976.
- 27 EGIDO, J. et alii. A possible common pathogenesis of the mesangial IgA glomerulonephritis in patients with Berger's Disease and Schönleini-Syndrome. *Proceedings of the European Dialysis and Transplant Association*, 17: 660-6, 1980.

- 28 FAIRLEY, K.F. & BIRCH, D.F. Hematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int.*, 21: 105-8, 1982.
- 29 FASSET, R.G. et alii. The value of phase-contrast microscopy in separating glomerular from non-glomerular urinary bleeding. *Aust. Nz. J. Med.*, 11: 593-4, 1981.
- 30 \_\_\_\_\_. Urinary red-cell morphology during exercise. *Brit. Med. J.*, 285: 1455-7, Nov. 1982.
- 31 \_\_\_\_\_. Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. *Lancet*, 1: 1432-4, 1982.
- 32 \_\_\_\_\_. Scanning electron microscopy of glomerular and non glomerular red blood cells. *Clin. Nephrol.*, 20(1): 11-6, 1983.
- 33 GADEHOLT, H. Quantitative estimation of urinary sediment, with special regard to sources of error. *Brit. Med. J.*, 1: 1547-9, 1964.
- 34 \_\_\_\_\_. Quantitative estimation of cells in urine; an evaluation of the Addis count. *Acta Med. Scand.*, 183: 369-74, 1968.
- 35 GILL, D. Recurrent haematuria. *Lancet*, 2: 274-5, Aug. 1975.
- 36 GOLIN, A.L. & HOWARD, R.S. Asymptomatic microscopic hematuria. *J. Urol.*, 124: 389-91, 1980.
- 37 HAUGLUSTAINE, D. et alii. Detection of glomerular bleeding using a simple staining method for light microscopy. *Lancet*, 2: 761, Oct. 1982.
- 38 HARRISON, W.E. et alii. Non-traumatic hematuria in children. *J. Urol.*, 96: 95-100, July 1966.



- 39 HOUGHTON, B.J. & PEARS, M.A. Cell excretion in normal urine. *Brit. Med. J.*, 1: 622-5, 1957.
- 40 JACOBELLIS, U. et alii. A new technique to localize the origin of idiopathic microscopic hematuria. *J. Urol.*, 127: 475-6, Mar. 1982.
- 41 KELENBERGER, E. et alii. Electron microscope study of DNA containing plasma. II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4: 671, 1958.
- 42 KESSON, A.M. et alii. Microscopic examination of urine. *Lancet*, 2: 809-12, Oct. 1978.
- 43 KHER, K.K. et alii. Ureteritis in Henoch-Schönlein Purpura. *Kidney Int.*, 21(1): 152, Jan. 1982.
- 44 KINCAID-SMITH, P. Quantitative counts in urine microscopy. *The Med. J. Austr.*, 1: 605, June 1979.
- 45 \_\_\_\_\_. Haematuria and exercise-related haematuria. *Brit. Med. J.*, 285: 1595-7, Dec. 1982.
- 46 KINCAID-SMITH, P. et alii. Acute renal failure and tubular necrosis associated with hematuria due to glomerulonephritis. *Clin. Nephrol.*, 19(4): 206-10, 1983.
- 47 KLIEMANN, J.D. *Sedimento urinário normal; estudo de alguns aspectos - contribuição pessoal*. Porto Alegre, Faculdade de Medicina, UFRGS, 1961. Tese de Doutorado.
- 48 KUPOR, L.R. et alii. Immunopathologic findings in idiopathic renal hematuria. *Arch. Intern. Med.* 135:1204-11, Sept. 1975.
- 49 LARCOM, R.C. & CARTER, G.H. Erythrocytes in urinary se-

- diment; identification and normal limits. *J. Lab. Clin. Med.*, 33: 875-80, 1948.
- 50 LEHMANN, E.L. The tests of Friedman, Cochran and McNemar. In: \_\_\_\_\_. *Nonparametrics: statistical methods based on ranks*. San Francisco, Holden Day, 1975. p. 262-70.
- 51 LIN, J.T. et alii. Mechanism of hematuria in glomerular disease. An electron microscopic study in a case of diffuse membranous glomerulonephritis. *Nephron*, 35(1): 68-72, Sept. 1983.
- 52 LIPPMAN, R.W. *Urine and the urinary sediment*. 2. ed. Springfield, Charles C. Thomas, 1957. p. 3-140.
- 53 LOBATO, O. Valorização clínica do exame comum de urina. In: LOBATO, O. et alii. *Temas de nefrologia - 1*. Porto Alegre, Centro de Estudos Thomás Mariante, 1967. p.37-56.
- 54 LUBEC, G. Phase contrast microscopy in hematuria. *J. Pediatr.*, 105(1): 177-8, July. 1984.
- 55 MADAIO, M.P. & HARRINGTON, J.T. The diagnosis of acute glomerulonephritis. *New Engl. Med. J.*, 309(21): 1299-302, Nov. 1983.
- 56 MIATELLO, V.R. Examen de la orina. In: MIATELLO, V.R. et alii. *Nefrologia*. Buenos Aires, Editorial Inter-Médica, 1963, p. 122-43.
- 57 MILTÉNYI, M. et alii. Haematuria: glomerular or non-glomerular? Urinary protein fractions in monosymptomatic haematuria. *Acta Paediatr. Acad. Sci. Hung.*, 22(1-2): 71-6, 1981.
- 58 MORRIN, P.A.F. Urinary sediment in the interpretation of

- proteinuria. *Ann. Intern. Med.*, 98(2): 254-5, Feb. 1983.
- 59 MOURADIAN, J.A. & SHERMAN, R.L. Passage of an erythrocyte through a glomerular-basement-membrane gap. *New Engl. J. Med.*, 293(18): 940-1, Oct. 1975.
- 60 NAERAA, A. Studies on urinary sediment. I. Technique. *Acta Med. Scand.*, 95(2-4): 341-50, 1938.
- 61 NORTHWAY, J.D. Hematuria in children. *J. Pediatr.*, 78(3): 381-96, March 1971.
- 62 PELLET, H. et alii. Microscopic hematuria: Renal or extrarenal? Phase contrast microscopy of urine sediment. *Kidney Int.*, 21(1): 124, Jan. 1982.
- 63 RAPOPORT, A. et alii. Idiopathic focal proliferative nephritis associated with persistent hematuria and normal renal function. *Ann. of Intern. Med.*, 73: 921-8, 1970.
- 64 REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate of high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17: 209, 1963.
- 65 RIZZONI, G. et alii. Evaluation of glomerular and nonglomerular hematuria by phase-contrast microscopy. *J. Pediatr.*, 103(3): 370-4, Sept. 1983.
- 66 \_\_\_\_\_. Ematurie glomerulari e non glomerulari. Importanza dello studio della morfologia dei globuli rossi urinari. *Minerva Nefrol.*, 30(1): 11-7, gen./mar. 1983.
- 67 \_\_\_\_\_. Detection of glomerular and non glomerular bleeding. *J. Pediatr.*, 104(1): 161, 1984.
- 68 RIZZONI, G. Reply. *J. Pediatr.*, 105(1): 178, July 1984.

- 69 RUDNICK, M.R. The differential diagnosis of acute renal failure. In: BRENNER, B.M. & LAZARUS, J.M. *Acute renal failure*. Philadelphia, W.B. Saunders, 1983. p.176-222.
- 70 RUSSO, M.A. & COCKETT, A.T.K. Microscopic urinalysis with phase contrast microscopy. *J. Urol.*, 107: 845-9, May 1972.
- 71 ŠAŠINKA, M. et alii. Glomerular erythrocyturia in the differential diagnosis of haematuria. *Čas. Lék. Čes.*, 122: 1485-8, 1983.
- 72 SCHIFFERLI, J. et alii. Haematuria: glomerular or non-glomerular? *Lancet*, 2: 1014, Nov. 1979.
- 73 SCHIFFERLI, J.A. Primary renal origin of hematuria: importance of RBC casts and urinary sediment examination technique. *Am. Heart J.*, 103(4-1): 573-4, Apr. 1982.
- 74 SCHREINER, G.E. The identification and clinical significance of casts, A.M.A. *Arch. of Intern. Med.*, 99: 356-69, Mar. 1957.
- 75 SIGALA, J.F. et alii. Red blood cell casts in acute interstitial nephritis. *Arch. Intern. Med.*, 138:1419-21, Sept. 1978.
- 76 STEJSKAL, J. et alii. Discontinuities (Gaps) of the glomerular capillary wall and basement membrane in renal diseases. *Lab. Invest.*, 28(2): 149-69, 1973."
- 77 UNIVERSIDADE DE MacMASTER. Departamento de Epidemiologia Clínica e Bioestatística. Centro de Ciências da Saúde. *Como ler revistas médicas*. Brasília, SEPLAN, CNPq, 1984.
- 78 VAN ISEGHEM, P. et alii. Urinary erythrocyte morphology in acute glomerulonephritis. *Brit. Med. J.*, 287: 1183,

Oct. 1983.

- 79 VEHASKARI, V.M. et alii. Microscopic hematuria in School-children: epidemiology an clinicopathologic evaluation. *J. Pediatr.*, 95(5): 676-84, Nov. 1979.
- 80 WALKER, W.G. The hematurias. In: HARVEY, A.M. et alii. *The principles and practice of medicine*. 18. ed. New York, Appleton-Century-Crofts, 1972. p. 162.
- 81 WHITLEY, K.W. et alii. Acute glomerulonephritis; a clinical overview. *Med. Clin. North Am.*, 68(2): 259-79, Mar. 1984.
- 82 WRIGHT, W.T. Cell counts in Urine. *Arch. Intern. Med.*, 103: 76-8, 1959.
- 83 WYATT, R.J. et alii. Hematuria in childhood: significance and management. *J. of Urol.*, 117: 366-8, 1977.
- 84 ZERNIKE, F. How I discovered phase contrast. *Science*, 121: 345-9. Mar. 1955.