

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Júlia Tholl

**O exame de urina no diagnóstico das doenças glomerulares: o papel do
dismorfismo eritrocitário**

FLORIANÓPOLIS
2020

Júlia Tholl

**O exame de urina no diagnóstico das doenças glomerulares: o papel do
dismorfismo eritrocitário**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Farmácia da Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito para conclusão do
curso de Graduação em Farmácia.

Orientador (a): Prof.^a Dra. Dirleise Colle

FLORIANÓPOLIS
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Tholl, Júlia

O exame de urina no diagnóstico das doenças glomerulares
: o papel do dismorfismo eritrocitário / Júlia Tholl ;
orientadora, Dirleise Colle, 2020.
55 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Dismorfismo eritrocitário. 3.
Acantócitos. 4. Exame de urina. 5. Doenças glomerulares. I.
Colle, Dirleise. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Dedico este trabalho aos meus colegas de profissão e a todos que possam se beneficiar dele.

AGRADECIMENTOS

Iniciarei agradecendo a Deus pelo alento e proteção que me deu nesses cinco anos morando em Florianópolis, não teria conseguido superar as dificuldades sem Ele.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina por todas as oportunidades oferecidas, pelo ensino de qualidade e pelos excelentes professores, que não apenas transmitiram seu conhecimento, como também ensinaram valores e ética profissional. Em especial agradeço a minha orientadora Prof.^a Dra. Dirleise Colle, por fazer eu me apaixonar pela área de Urinálise, por me receber tão prontamente como sua pupila, pelas nossas longas conversas presenciais e a distância, pela paciência e apoio nos meus momentos difíceis.

Aos meus pais, Renato Tholl e Carla Rosane Henn Tholl, agradeço pelo apoio e suporte que deram ao meu sonho, pela coragem de me deixarem partir tão jovem e por permanecerem comigo a cada passo desse caminho. Ao meu namorado e melhor amigo Flávio Luiz Marian, que apoiou completamente meu sonho e que embarcou comigo nessa aventura, agradeço pela sua companhia, pela proteção e segurança que passou para mim e por me ajudar a enfrentar cada novo desafio. Aos meus tios e padrinhos Wilmar Voigt e Marcia Maria Voigt agradeço pelo suporte financeiro, pela torcida, pelas orações e pelas viagens que fizeram até Florianópolis. Agradeço ao meu primo Johann Felipe Voigt e sua noiva Claudia Cavalcante Fonseca por acreditarem na minha capacidade mesmo quando duvidava dela, pela ajuda nos estudos desde sempre, suporte técnico neste trabalho e apoio emocional. E aos meus demais familiares, agradeço por me receberem de braços abertos a cada retorno ao lar. À minha amiga mais antiga, Amanda Ariane Zick, com quem compartilhei grandes sonhos desde pequenas, agradeço pelo apoio emocional, por compartilhar minhas dores e alegrias, por se fazer presente mesmo com a distância. À Bárbara Letícia Miguel agradeço pela amizade desses anos de faculdade, por ser minha família em Florianópolis, por tornar meus dias mais felizes, pela ajuda técnica e emocional nesses últimos meses. Foi uma honra ter te conhecido. Ao Nicolas Gabriel Martins agradeço pela amizade desde a primeira aula do curso.

Aos que não me desejavam bem agradeço também, pois quando tentaram me abater, me tornaram mais forte.

RESUMO

As doenças renais são classificadas como doenças glomerulares, tubulares, intersticiais ou vasculares. Os principais sinais das doenças glomerulares são a proteinúria e a hematúria, e são identificados através do exame de urina. Desde 1979 diversos autores sugerem que quando a hematúria é de origem glomerular, algumas hemácias podem apresentar alterações morfológicas e estas são classificadas como hemácias dismórficas. A presença de hemácias dismórficas e de acantócitos (hemácias em formato de rosca com protrusões citoplasmáticas vesiculares) na urina é um indicativo de patologias glomerulares. Porém, não existe um consenso na literatura sobre o valor de referência para dismorfismo eritrocitário e acantócitos para determinar a origem da hematúria. Esta revisão narrativa da literatura teve como objetivo analisar o papel do dismorfismo eritrocitário no diagnóstico das doenças glomerulares. Foram incluídos doze artigos nas línguas inglesa e portuguesa publicados nos últimos vinte anos. A maioria dos artigos incluídos utilizaram a microscopia de contraste de fase como metodologia para identificar eritrócitos dismórficos no sedimento urinário. Entretanto, também foram empregadas a automação e a microscopia de campo claro, realizada em amostras de urina a fresco ou coradas. Os pontos de corte ideais, ou seja, a porcentagem de hemácias dismórficas para diagnóstico de hematúria glomerular, empregados pelos estudos variaram de >6,7% a >80%. Para esses valores, a sensibilidade e a especificidade variaram conforme a metodologia utilizada, de 20,4% a 100% e de 30% a 100%, respectivamente, indicando que a porcentagem de hemácias dismórficas costuma ser mais específica do que sensível. Para acantócitos o ponto de corte variou de $\geq 1\%$ a $\geq 7\%$, cuja sensibilidade e especificidade variaram de 46% a 100% e de 82% a 100%, respectivamente. Nesta revisão, não foi encontrado um valor de referência específico para dismorfismo eritrocitário. Os trabalhos concluíram que o dismorfismo eritrocitário e a presença de acantócitos têm capacidade de diferenciar hematúria glomerular de não glomerular. Estes parâmetros devem ser correlacionados com outros resultados do exame de urina, visto que a presença de cilindros hemáticos e proteinúria também são relevantes nessas doenças. Os autores continuam recomendando a utilização do dismorfismo eritrocitário para auxílio no processo diagnóstico das glomerulopatias mesmo não havendo uma padronização dos valores de referência. Para implementar esta análise na rotina laboratorial, deve ser considerada a metodologia que será empregada (microscopia de campo claro, microscopia de contraste de fase ou automação), para então determinar o valor de referência a ser utilizado.

Palavras-chave: Doenças glomerulares. Exame de urina. Dismorfismo eritrocitário. Hemácias dismórficas. Acantócitos.

ABSTRACT

Kidney diseases are classified as glomerular, tubular, interstitial or vascular diseases. The main signs of glomerular diseases are proteinuria and hematuria, and are identified through urine examination. Since 1979, several authors have suggested that when hematuria is of glomerular origin, some red blood cells may show morphological changes and these are classified as dysmorphic red blood cells. The presence of dysmorphic red blood cells and acanthocytes (donut-shaped red blood cells with vesicular cytoplasmic protrusions) in the urine is indicative of glomerular pathologies. However, there is no consensus in the literature on the reference value for erythrocyte dysmorphism and acanthocytes to determine the origin of hematuria. This narrative review of the literature aimed to analyze the role of erythrocyte dysmorphism in the diagnosis of glomerular diseases. Twelve articles in English and Portuguese published in the last twenty years were included. Most of the articles included used phase contrast microscopy as a methodology to identify dysmorphic erythrocytes in the urine sediment. However, automation and bright field microscopy, performed on fresh or stained urine samples, were also employed. The ideal cutoff points, that is, a percentage of dysmorphic red blood cells for the diagnosis of glomerular hematuria, used by studies are ranging from >6.7% to >80%. For these values, sensitivity and specificity varied according to the methodology used, from 20.4% to 100% and from 30% to 100%, respectively, indicating that the percentage of dysmorphic red blood cells is usually more specific than sensitive. For acanthocytes, the cutoff points varied from $\geq 1\%$ to $\geq 7\%$, whose sensitivity and specificity varied from 46% to 100% and from 82% to 100%, respectively. In this review, no specific reference value for erythrocyte dysmorphism was found. The studies concluded that erythrocyte dysmorphism and the presence of acanthocytes are able to differentiate glomerular and non-glomerular hematuria. These parameters must be correlated with other results of the urinalysis, since the presence of erythrocyte casts and proteinuria are also relevant for these diseases. The authors continue to recommend the use of erythrocyte dysmorphism to assist the diagnostic process of glomerulopathies even though there is no standardization of reference values. To implement this analysis in the laboratory routine, the methodology that will be used (bright field microscopy, phase contrast microscopy or automation) must be considered, and then determine the reference value to be used.

Keywords: Glomerular diseases. Urinalysis. Erythrocyte dysmorphism. Dysmorphic red blood cells. Acanthocytes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cilindro hemático	21
Figura 2 - Hemácias normais	22
Figura 3 - Leucócito, hemácias fantasmas e crenadas	22
Figura 4 - Acantócitos e hemácia em formato de rosca	24
Figura 5 - Acantócitos: microscopia de campo claro e contraste de fase.....	24
Figura 6 - Fluxograma do processo de seleção dos artigos	29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número de pacientes por glomerulopatia dos artigos da revisão31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Doenças glomerulares	14
---------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Informações gerais dos artigos da revisão	30
Tabela 2 - Resumo das metodologias de preparo e análise da amostra	36
Tabela 3 - Critérios de dismorfismo eritrocitário e valores de sensibilidade e especificidade para diagnóstico de hematúria glomerular	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	DOENÇAS GLOMERULARES: CLASSIFICAÇÃO, PATOGÊNESE E CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	14
1.2	DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS GLOMERULARES	18
1.2.1	O exame de urina no diagnóstico das doenças glomerulares: uma ênfase na importância das hematúrias	19
2	OBJETIVOS	26
2.1	OBJETIVO GERAL	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3	METODOLOGIA	27
3.1	MÉTODOS DE BUSCA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS NA LITERATURA	27
3.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	27
3.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	27
3.4	SELEÇÃO DOS ESTUDOS E EXTRAÇÃO DOS DADOS	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	PROCESSO DE SELEÇÃO E CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS	29
4.2	FATORES PRÉ-ANALÍTICOS E COLETA DE AMOSTRA NA ANÁLISE DO DISMORFISMO ERITROCITÁRIO	32
4.3	METODOLOGIAS DE ANÁLISE DO SEDIMENTO	35
4.4	O PAPEL DO DISMORFISMO ERITROCITÁRIO NO DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS GLOMERULARES	42
5	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

Os rins são órgãos pares localizados na região dorso lombar da cavidade abdominal e recebem um grande fluxo de sangue, sendo que em um adulto saudável, o fluxo sanguíneo renal é de 1.200 mL/min ou 600 mL/min/rim (MUNDT; SHANAHAN, 2012). Esses órgãos possuem diversas funções, sendo elas: regulação hidroeletrólítica, balanço ácido-base, excreção de produtos finais do metabolismo e toxinas e ainda participam da regulação da pressão sanguínea e da eritropoiese (MUNDT; SHANAHAN, 2012). Através dessas funções, o rim possui papel central na manutenção da homeostase corporal. Cada rim possui cerca de 1 milhão de néfrons, que são consideradas as unidades funcionais dos rins, responsáveis pela filtração do sangue e formação da urina.

A estrutura do néfron é composta pelo glomérulo, que consiste em uma rede capilar envolta pela cápsula de Bowman, e pelos túbulos renais (túbulo contorcido proximal, túbulo contorcido distal e alça Henle). A artéria renal, na qual o fluxo sanguíneo chega aos rins, se subdivide em arteríolas aferentes, que em seguida formam o glomérulo, e posteriormente formam as arteríolas eferentes, que deixam o glomérulo e passam a contornar os túbulos renais (MUNDT; SHANAHAN, 2012; STRASINGER; DI LORENZO, 2009).

Os capilares glomerulares são responsáveis pelo processo de filtração do sangue, resultando na formação de um ultrafiltrado, isento de grandes moléculas e células sanguíneas devido a seletividade da barreira de filtração. Essa barreira de filtração é composta por três camadas celulares. A primeira delas é composta pelas células do endotélio capilar, que possuem poros (fenestras) que permitem a passagem de pequenas moléculas como a água, e também apresentam uma barreira de negatividade, cuja função é repelir moléculas de carga negativa, como a albumina, permitindo a passagem de moléculas de carga positiva ou neutras, como ureia, creatinina e glicose. A segunda estrutura responsável pela filtração é a membrana basal, localizada entre o epitélio do espaço urinário e o endotélio capilar. Essa estrutura também possui caráter aniônico. A última camada celular que forma a barreira de filtração é a rede de podócitos que envolve os capilares, que além de possuírem carga aniônica, fagocitam macromoléculas incapazes de retornarem ao lúmen ou de passarem para o ultrafiltrado (BRUNZEL, 2013; MUNDT; SHANAHAN,

2012; STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Uma vez formado, o ultrafiltrado segue para os túbulos renais, onde processos de reabsorção e secreção tubular ocorrem, resultando na formação de um volume diário de urina de cerca de 600 a 2.000 mL/dia (MUNDT; SHANAHAN, 2012).

Existem diversas doenças que acometem os glomérulos, as quais são capazes de produzir alterações estruturais e funcionais, podendo até mesmo modificar a composição da urina. Neste trabalho será abordado o exame de urina no diagnóstico das doenças glomerulares, com ênfase nas hematúrias e no dismorfismo eritrocitário.

1.1 DOENÇAS GLOMERULARES: CLASSIFICAÇÃO, PATOGÊNESE E CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

As doenças renais apresentam sinais e sintomas específicos, que variam de acordo com o componente morfológico renal que é afetado inicialmente e por isso, podem ser classificadas em quatro categorias: doenças glomerulares, tubulares, intersticiais ou vasculares (BRUNZEL, 2013).

As doenças glomerulares compreendem uma variedade de patologias imunológicas, metabólicas e hereditárias. Podem ser classificadas em primárias, quando aparecem isoladamente, sem afetar outros órgãos, ou como secundárias quando o glomérulo é acometido devido à progressão de doenças sistêmicas (BRUNZEL, 2013). As glomerulopatias primárias, que possuem como base um componente imunológico associado, são geralmente chamadas de glomerulonefrites (SILVA et al., 2014). O Quadro 1 apresenta exemplos de doenças glomerulares e suas classificações. Além dos exemplos apresentados no Quadro 1, existem ainda as doenças hereditárias, como a Síndrome de Alport e a doença de Fabry.

Quadro 1 - Doenças glomerulares

(continua)

Doenças glomerulares primárias	Causas de Doenças Glomerulares Secundárias
Glomerulonefrite aguda pós-estreptocócica ou não estreptocócica.	Lúpus Eritematoso Sistêmico
Glomerulonefrite crescêntica	Amiloidose

Quadro 1 - Doenças glomerulares

(conclusão)

Doenças glomerulares primárias	Causas de Doenças Glomerulares Secundárias
Glomerulonefrite membranosa	Diabetes
Glomeruloesclerose segmentar focal	Hipertensão
Doenças de lesões mínimas	Vasculites
Glomerulonefrite membranoproliferativa	Endocardite bacteriana
Glomerulonefrite proliferativa mesangial	Síndrome de Goodpasture
Nefropatia por IgA	Neoplasias
Glomerulonefrite focal	Imunodeficiência Humana
Glomerulonefrite crônica	Paraproteinemias e Disproteinemias

Fonte: Adaptado de Brunzel (2013).

A base para o estabelecimento das doenças glomerulares são as alterações morfológicas no glomérulo. Dentre estas alterações, destacam-se proliferação de células endoteliais capilares, células mesangiais e podócitos, de forma local ou difusa; infiltração leucocitária (neutrófilos e macrófagos), atraídos pela resposta quimioestática local; espessamento da membrana basal, comumente como resultado da deposição de precipitados proteicos; hialinização com esclerose, caracterizada pelo acúmulo de material extracelular eosinofílico e perda da estrutura do glomérulo (BRUNZEL, 2013; SILVA et al., 2014). Uma ou mais dessas alterações podem estar presentes nas diferentes glomerulopatias, servindo de base para a classificação dessas patologias como doenças glomerulares.

A patogênese do dano glomerular não está totalmente esclarecida para todas as doenças glomerulares. As glomerulopatias podem ser hereditárias, imunomediadas, causadas por alterações metabólicas (diabetes) ou hemodinâmicas (hipertensão). Na maioria das glomerulopatias, principalmente nas glomerulonefrites, a patogênese pode ocorrer por meio de um processo imuno-mediado por complexos antígeno-anticorpo circulantes que ficam retidos no glomérulo por conta das suas características hemodinâmicas e físico-químicas (tamanho e peso molecular), ou pela reação de anticorpos contra antígenos glomerulares. Neste processo, ocorre ativação do sistema complemento, atração de neutrófilos, monócitos, plaquetas e formação de substâncias tóxicas (como proteases e radicais livres de oxigênio), os quais estimulam inflamação local que, a longo prazo, causam dano (BRUNZEL, 2013). Por outro lado, na nefropatia diabética a lesão glomerular parece estar

associada à deposição de proteínas glicosiladas resultantes dos níveis de glicemia mal controlados (STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Já no caso da nefropatia hipertensiva, ocorrem lesões vasculares nas arteríolas renais devido à hipertensão (BRUNZEL, 2013; BARROS et al., 2014).

As glomerulopatias podem apresentar características clínicas diversas. O dano glomerular pode permanecer assintomático até fases tardias da doença, tornando-se detectável apenas quando um exame de urina é solicitado. Porém, pode levar à apresentação clínica com sinais e sintomas característicos de cada doença ou à manifestação de um conjunto de sinais e sintomas característicos de síndrome, como a síndrome nefrítica e a síndrome nefrótica (BRUNZEL, 2013).

A síndrome nefrítica caracteriza-se por início súbito de hematúria (macro ou microscópica), proteinúria (geralmente inferior a 3 g/dia), oligúria (volume urinário, <500 mL/dia), hipertensão arterial sistêmica, edema e déficit da função renal. No exame de urina também pode ocorrer a presença de diversos tipos de cilindros (hemáticos e céreos). Dentre as patologias glomerulares que podem se manifestar como síndrome nefrítica destacam-se glomerulonefrite aguda pós-estreptocócica, nefropatia por IgA, nefrite lúpica e glomerulonefrite membranoproliferativa (BRUNZEL, 2013; SILVA et al., 2014).

Por outro lado, a síndrome nefrótica é caracterizada por intensa proteinúria (superior a 3,5 g/dia em adultos), com tendência a edema generalizado, hipoalbuminemia e hiperlipidemia em resposta à proteinúria, presença de lipídios e cilindros graxos na urina e hematúria (geralmente microscópica). Podem se manifestar como síndrome nefrótica as seguintes doenças glomerulares: doença de lesões mínimas, glomeruloesclerose segmentar e focal e nefropatia membranosa (BRUNZEL, 2013; MUNDT; SHANAHAN, 2012; SILVA et al., 2014).

Os principais sinais clínicos que aparecem nas doenças glomerulares, bem como nas síndromes, são a proteinúria e a hematúria. Outras características importantes que também podem aparecer nas doenças glomerulares são o edema, alterações metabólicas e queda na taxa de filtração glomerular (TFG) (BRUNZEL, 2013).

A proteinúria ocorre por conta da perda de carga aniônica e do aumento da quantidade de poros grandes, resultando em maior permeabilidade das barreiras de filtração, permitindo que as proteínas sejam eliminadas na urina. Dentre essas

proteínas está a albumina, que é a principal proteína que aparece na urina (BRUNZEL, 2013; SILVA et al., 2014).

A hematúria, por sua vez, pode se apresentar como macroscópica ou microscópica. Na hematúria macroscópica são encontradas numerosas hemácias no sedimento urinário o que confere modificações na coloração da urina que pode ser observada pelo próprio paciente. Já a hematúria microscópica é apenas revelada através de um exame de urina. A hematúria ocorre por lesões na membrana basal e vasodilatação decorrente da resposta inflamatória (MUNDIM; WORONIK, 2013) em que as hemácias conseguem atravessar a membrana por meio do processo de diapedese, o que pode causar alterações na sua forma (SILVA et al., 2014). Hemácias com alterações na morfologia são classificadas como hemácias dismórficas (ABREU; REQUIÃO-MOURA; SESSO, 2007; BIRCH; FAIRLEY, 1979). Quando ocorre ruptura da membrana basal glomerular e lesões nos demais componentes da barreira de filtração, as hemácias não sofrem alterações em sua forma e ao chegarem nos túbulos renais podem dar origem aos cilindros hemáticos. Cilindros hemáticos são encontrados nas doenças glomerulares, como na glomerulonefrite aguda e nefrite lúpica, e em outras situações, sendo sempre considerados patológicos (SILVA et al., 2014).

O edema surge devido a maior retenção de sódio que ocorre no rim lesado, levando também à uma maior retenção de água, com aumento na volemia e pressão hidrostática intravascular, ocorrendo extravasamento de líquido para o interstício. É importante ressaltar que o aumento da retenção de sódio pode desencadear hipertensão arterial, com posterior estreitamento da luz das arteríolas renais que a longo prazo, pode comprometer a função renal (NUNES, 2007). Outro mecanismo que pode desencadear o edema é a hipoalbuminemia secundária à proteinúria, que ocorre na síndrome nefrótica. A redução nas concentrações de albumina sérica resulta em diminuição na pressão oncótica do plasma com consequente extravasamento do líquido intravascular para o interstício, ocorrendo assim o edema (SILVA et al., 2014).

Em relação às alterações metabólicas presentes nas glomerulopatias, destaca-se a hipoalbuminemia, que ocorre devido ao aumento da filtração de albumina e perda renal dessa proteína. Na síndrome nefrótica, a intensa excreção de albumina na urina resulta na redução da concentração sérica dessa proteína,

uma vez que a síntese hepática não é suficiente para repor a albumina que foi excretada dependendo da intensidade da proteinúria. A hipoalbuminemia está também diretamente associada a outra alteração metabólica: o aumento da síntese de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de muito baixa densidade (VLDL), o que resulta em hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia. Além disso, outra alteração metabólica observada nas doenças glomerulares é a hipocalcemia, caracterizada por uma redução nas concentrações de cálcio plasmático, que se deve à redução da albumina sérica, uma vez que o cálcio está ligado à albumina e também acaba sendo excretado na urina. Ademais, outras alterações que podem ocorrer são a perda de fatores antitrombóticos e imunoglobulinas, o que pode resultar em trombozes e infecções (BRUNZEL, 2013; SILVA et al., 2014).

Por fim, reduções na TFG também podem ocorrer. As causas da queda na filtração glomerular dependem de fatores como alterações na pressão intraglomerular, na área disponível para filtração e no coeficiente de permeabilidade das barreiras de filtração. A diminuição da área de filtração e a queda no coeficiente de permeabilidade podem ocorrer devido à infiltração de neutrófilos, retração de podócitos, deposição de imunocomplexos, proliferações endocapilares e extra capilares (esta ocorre, por exemplo, na glomerulonefrite crescêntica). Como consequência tem-se o comprometimento da função renal caracterizado por elevação da ureia e creatinina séricas (MUNDIM; WORONIK, 2013).

1.2 DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS GLOMERULARES

O diagnóstico das doenças glomerulares é baseado na história clínica e sintomática do paciente, em exames laboratoriais e, muitas vezes, na biópsia renal, que é o padrão ouro para o diagnóstico e classificação das doenças glomerulares. Existem situações em que a biópsia não é necessária, como no caso de pacientes com quadro clínico sugestivo de nefropatia diabética e com extenso histórico de diabetes (ABREU; REQUIÃO-MOURA; SESSO, 2007; MUNDIM; WORONIK, 2013).

Em relação ao diagnóstico laboratorial, o mesmo é realizado através de exame de urina, avaliação da TFG, proteinúria de 24 horas, microalbuminúria, bioquímica sérica (creatinina, colesterol, triglicerídios, proteinograma, glicemia),

hemograma, coagulograma e dosagem de complemento (ABREU; REQUIÃO-MOURA; SESSO, 2007; STRASINGER; DI LORENZO, 2009)

Exames complementares podem ser necessários para auxiliar na identificação específica da glomerulopatia, como no caso da glomerulonefrite aguda pós-estreptocócica em que é realizado sorologia antiestreptolisina O+, também no caso de nefropatia por IgA, que se tem aumento de IgA sérico, bem como na Síndrome de Goodpasture, na qual podem ser encontrados anticorpos antimembrana basal glomerular (ABREU; REQUIÃO-MOURA; SESSO, 2007; MUNDT; SHANAHAN, 2012; STRASINGER; DI LORENZO, 2009).

1.2.1 O exame de urina no diagnóstico das doenças glomerulares: uma ênfase na importância das hematúrias

O exame de urina é de fundamental importância no diagnóstico das diversas patologias que afetam o trato urinário. Através do exame de urina são avaliadas características físico-químicas da urina e a presença de elementos figurados, como células, microrganismos, cilindros e cristais, identificados na análise microscópica do sedimento urinário. Nas doenças glomerulares, diversos parâmetros podem estar alterados (BRUNZEL, 2013).

No exame físico, a primeira característica analisada é a coloração da urina, a qual pode ser afetada eventualmente pela hematúria. Quando a hematúria é macroscópica, é observada coloração variante de rosa a marrom dependendo de fatores como quantidade de hemácias ou pigmentos heme, pH e extensão do contato entre o pigmento e a urina (MUNDT; SHANAHAN, 2012). Além disso, o aspecto da urina pode apresentar turbidez devido à presença das hemácias ou outros elementos do sedimento. A densidade da urina também pode estar aumentada em consequência da proteinúria e da glicosúria.

O exame químico da urina, por sua vez, pode revelar a presença de proteinúria (sendo a tira reagente mais sensível para albumina) e glicosúria, teste positivo para esterase leucocitária (que detecta leucócitos, cuja presença é resultado de inflamação) e para hemoglobina (devido à presença de hemácias). Além da análise física e química, a urina é analisada também microscopicamente.

A averiguação microscópica da urina tem como finalidade o estudo do sedimento, para identificação dos elementos presentes qualitativamente e quantitativamente, e ao final, deve-se correlacionar estes resultados com os dos exames físico e químico para garantir a precisão dos resultados, e quando estes não se correlacionam, as amostras devem ser conferidas (STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Para essa análise, é necessário concentrar o sedimento urinário e só então colocá-lo entre lâmina e lamínula ou lâminas comerciais padronizadas, que são feitas de plástico modelado (BRUNZEL, 2013) e visualizar no microscópio. O sedimento urinário pode ser analisado através de microscopia de campo claro, contraste de fase (que permite melhor visualização de elementos de baixo índice de refração, como hemácias e cilindros hialinos) ou luz polarizada (para melhor visualização de cristais e outras substâncias anisotrópicas) (MUNDT; SHANAHAN, 2012). Para análise do dismorfismo eritrocitário, é recomendada a utilização de microscopia de contraste de fase (KOURI et al., 2000; SBPC/ML, 2017). Os elementos possivelmente encontrados no sedimento urinário em glomerulopatias são, principalmente, leucócitos, cilindros e hemácias (BRUNZEL, 2013).

Os leucócitos são esféricos, possuem cor cinza pálida ou amarelo-esverdeada, podem ser encontrados isolados ou aglomerados e são principalmente neutrófilos, os quais apresentam grânulos na sua constituição. Um aumento no número de leucócitos está associado a processos inflamatórios do trato urinário, sendo que quando são acompanhados de cilindros leucocitários são indicativos de origem renal (MUNDT; SHANAHAN, 2012).

Os cilindros são estruturas formadas no lúmen dos túbulos renais. A base para formação dos cilindros é a mucoproteína de Tamm-Horsfall, secretada pelos túbulos renais, em que células (hemácias, leucócitos, células epiteliais tubulares) ou outro material podem aderir a essa base, dando origem aos diferentes tipos de cilindros, que podem variar de tamanho dependendo do túbulo de origem (MUNDT; SHANAHAN, 2012). Nas glomerulopatias, os cilindros de maior importância diagnóstica são os hemáticos, visto que indicam hematúria de origem renal (FILHO; JESUS, 2010). Possuem coloração castanha ou são incolores, podem conter poucas ou muitas hemácias íntegras agregadas à matriz proteica. São principalmente encontrados na glomerulonefrite aguda pós-estreptocócica, nefrite lúpica, síndrome de Goodpasture, glomerulonefrite crescêntica, glomerulonefrite membranosa. Um

cilindro hemático está representado abaixo na Figura 1. Outros cilindros também podem aparecer nas doenças glomerulares como os cilindros leucocitários, hialinos, granulados, graxos e céreos (MUNDT; SHANAHAN, 2012).

Figura 1 - Cilindro hemático



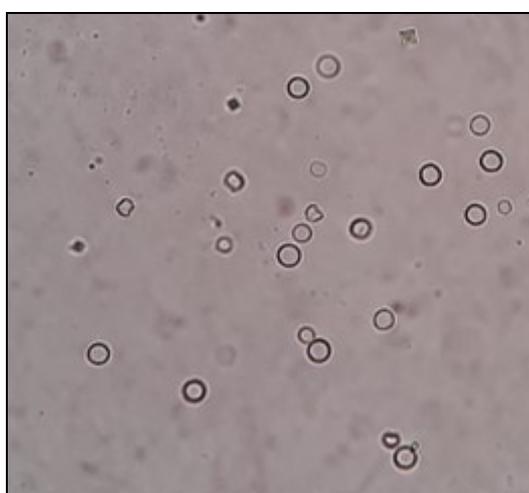
Microscopia de campo claro, aumento de 400x.
Fonte: a autora (2018).

As hemácias não são comumente encontradas na urina, sendo considerado normal a presença de 1 a 2 hemácias em campo de grande aumento ou 5.000/mL, acima desse valor é considerado hematúria (STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Diversas condições patológicas que afetam o trato urinário podem promover hematúria, como infecções do trato urinário, cálculos renais, tumores e doenças renais como as patologias glomerulares. A aparência das hemácias depende do meio em que se encontram. Na urina fresca elas são pálidas ou amareladas, na forma de discos bicôncavos com diâmetro de 7 micrômetros, não apresentam núcleo ou grânulos e são comumente chamadas isomórficas (Figura 2).

Apesar do termo “isomórficas” ser amplamente utilizado, alguns autores não o consideram adequado, visto que o termo pode gerar confusão, uma vez que nem sempre as hemácias se encontram íntegras, ou seja, muitas vezes podem apresentar alguma deformação, que não necessariamente configure em dismorfismo eritrocitário (hemácias com alterações morfológicas características relacionadas à condição patológica renal, que será descrita abaixo). Desta forma, muitos autores preferem o termo “eritrócitos normais” (GAI et al., 2002). Realmente, as hemácias

são células sujeitas a alterações morfológicas, muitas vezes ocasionadas por condições da própria urina. Por exemplo, em urinas hipotônicas ou alcalinas os eritrócitos sofrem lise, liberando a hemoglobina, e por isso, ficam incolores e são chamadas de “fantasmas” (Figura 3-A). Já em urinas hipertônicas pode ocorrer crenação, um processo no qual ocorre a perda de líquidos para o meio, originando hemácias de tamanho menor e com membrana irregular, como demonstrado na Figura 3-B (MUNDT; SHANAHAN, 2012).

Figura 2 - Hemácias normais



Microscopia de campo claro, aumento de 400x.

Fonte: a autora (2018).

Figura 3 - Leucócito, hemácias fantasmas e crenadas

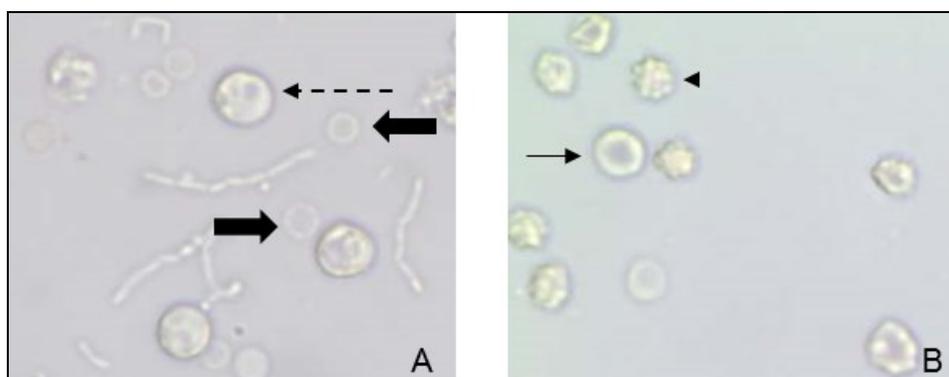


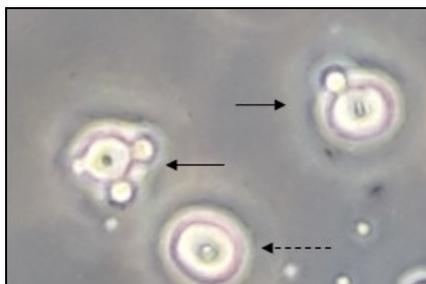
Figura 3-A: hemácias fantasmas (setas largas) e leucócito (seta tracejada). Figura 3-B: hemácia normal (seta fina) e crenada (ponta de seta). Microscopia de campo claro, aumento de 400x.

Fonte: a autora (2018).

Como mencionado anteriormente, nas doenças glomerulares podem ser observadas hemácias dismórficas no sedimento urinário. As hemácias dismórficas, podem apresentar alterações tanto no formato, quanto na cor, volume e conteúdo de hemoglobina, podendo apresentar projeções em suas membranas celulares, bem como heterogeneidade citoplasmática. Nas glomerulopatias, as hemácias podem sofrer alterações no formato por conta da passagem conturbada pelas barreiras de filtração glomerular e pelo trauma osmótico nas porções do néfron (ABREU; REQUIÃO-MOURA; SESSO, 2007). A hematúria glomerular dá origem à um amplo conjunto de alterações morfológicas nas hemácias, como demonstrado por Birch e Fairley em 1979. Estes autores introduziram o termo “dismorfismo eritrocitário” e descreveram, em 1982, diversas morfologias diferentes de hemácias presentes no sedimento urinário de pacientes com doença glomerular diagnosticada com biópsia, visualizadas em microscopia de contraste de fase (BIRCH; FAIRLEY, 1979; FAIRLEY; BIRCH, 1982). Segundo esses autores, as hematúrias não-glomerulares são caracterizadas pela presença de hemácias “isomórficas”, as quais possuem tamanho e morfologia semelhante às encontradas na circulação. Já nas hematúrias glomerulares, as hemácias se apresentariam dismórficas, com diversas alterações no seu formato. Baseado nessas alterações morfológicas, é possível encontrar diversas populações de hemácias dismórficas na urina: discócitos, equinócitos, anulócitos, esquizócitos, estomatócitos, codócitos, nizócitos e acantócitos.

Os acantócitos (KÖHLER; WANDEL; BRUNK, 1991) ou células G1 (KITAMOTO et al., 1993; TOMITA et al., 1992) são hemácias em forma de anel ou rosca, devido à perda de hemoglobina, com uma ou mais protrusões citoplasmáticas vesiculares. O trabalho de Köhler, Wandel e Brunk (1991) demonstrou que dentre as diversas formas eritrocitárias, os acantócitos parecem ser mais específicos para doenças glomerulares, mesmo em casos de hematúria discreta. Acantócitos estão representados na Figuras 4 e 5 abaixo. As demais morfologias podem ser encontradas tanto em doenças glomerulares quanto não glomerulares (KÖHLER; WANDEL; BRUNK, 1991).

Figura 4 - Acanthócitos e hemácia em formato de rosca



Acanthócitos (setas) e hemácia em formato de rosca (seta tracejada). Microscopia de contraste de fase, aumento de 400x.

Fonte: a autora (2019).

Figura 5 - Acanthócitos: microscopia de campo claro e contraste de fase

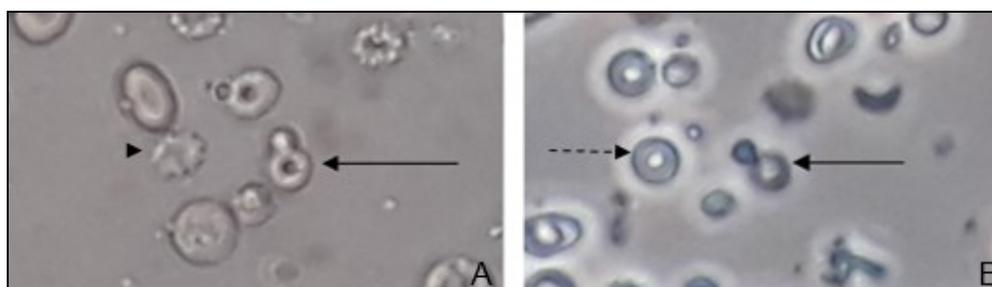


Figura 5-A: Acanthócito (seta) e hemácia crenada (ponta de seta), microscopia de campo claro, aumento de 400x. Figura 5-B: Acanthócito (seta) e hemácia em formato de rosca (seta tracejada), microscopia de contraste de fase, aumento de 400x.

Fonte: a autora (2019).

Hemácias dismórficas, principalmente acanthócitos, encontradas na análise microscópica da urina são sugestivos de doença glomerular. É importante ressaltar que a ausência de dismorfismo não exclui o diagnóstico de doença glomerular (ABREU; REQUIÃO-MOURA; SESSO, 2007). Porém, não existe uma padronização desse achado para o diagnóstico de determinadas doenças glomerulares e também não há um valor de referência específico em relação à porcentagem de hemácias dismórficas que deve ser considerada para o diagnóstico das glomerulopatias. Alguns autores relatam que dismorfismo presente em mais de 20% das hemácias confere sensibilidade de 96% e especificidade de 93% para o diagnóstico de glomerulopatias (ABREU; REQUIÃO-MOURA; SESSO, 2007), enquanto outros consideram que a hematúria é de origem glomerular quando mais de 80% dos

eritrócitos são dismórficos numa amostra de urina (FASSET; HORGAN; MATHEW, 1982; FILHO; JESUS, 2010).

Em relação aos acantócitos, alguns autores consideram a presença de no mínimo 5% como indicativo de hematúria glomerular (KÖHLER; WANDEL; BRUNK, 1991). A Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) (2017), recomenda a utilização dos seguintes critérios para classificar a hematúria glomerular: presença de $\geq 40\%$ de eritrócitos dismórficos, $\geq 5\%$ de acantócitos/células G1 e presença de cilindros hemáticos.

Desta forma, existe bastante controvérsia na literatura acerca do real papel do dimorfismo eritrocitário no diagnóstico das glomerulopatias. É necessário investigar a atual relevância desse achado para o diagnóstico das glomerulopatias, para melhor direcionamento do raciocínio clínico médico e mais rapidez para exclusão de outras doenças renais. Dessa forma, mesmo não eliminando a necessidade de realizar biópsia para confirmação das diferentes glomerulopatias, o dimorfismo eritrocitário pode ser de grande importância para facilitar o processo diagnóstico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do trabalho foi realizar uma revisão narrativa da literatura sobre o papel do dismorfismo eritrocitário no diagnóstico das doenças glomerulares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar as metodologias de análise e os valores de referência adotados na literatura para avaliação de dismorfismo eritrocitário;
- Revisar a sensibilidade e especificidade do dismorfismo eritrocitário no diagnóstico das doenças glomerulares;
- Correlacionar o dismorfismo eritrocitário com outros achados no exame de urina no diagnóstico das doenças glomerulares;
- Identificar as principais limitações para a utilização do dismorfismo eritrocitário como marcador de hematúria glomerular.

3 METODOLOGIA

3.1 MÉTODOS DE BUSCA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS NA LITERATURA

Realizou-se um levantamento bibliográfico, com buscas nas bases de dados *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (Medline) via Pubmed e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) utilizando os seguintes termos MeSH ou palavras-chave e suas associações: “*dysmorphic red blood cells*”, “*dysmorphic erythrocytes*”, “*glomerulonephritides*” “*glomerulonephritis*”, “*glomerular disease*”, “glomerulonefrite”, “doença glomerular” e “hematúria”.

3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os seguintes critérios de inclusão foram considerados para a seleção dos estudos: artigos completos disponíveis nas línguas inglesa e portuguesa; publicados no período entre os anos 2000 e 2020; estudos observacionais e de coorte prospectivos e estudos randomizados; estudos realizados com pacientes adultos (maiores de 18 anos) diagnosticados para doença glomerular, preferencialmente por biópsia e clinicamente quando aplicável.

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os seguintes critérios de exclusão foram considerados para a seleção dos artigos: estudos duplicados; estudos em línguas diferentes daquelas mencionadas acima; estudos publicados anteriormente ao ano 2000; revisões sistemáticas ou narrativas da literatura ou cartas ao editor; estudos experimentais *in vitro*, em modelos animais ou estudo em que os pacientes eram crianças; estudos que não analisaram o dismorfismo eritrocitário nas doenças glomerulares; diagnóstico de doença glomerular não realizado por biópsia e ou clinicamente associado à parâmetros bioquímicos.

3.4 SELEÇÃO DOS ESTUDOS E EXTRAÇÃO DOS DADOS

A seleção dos artigos foi realizada baseada nos critérios de inclusão e exclusão previamente descritos. A seleção dos estudos teve três etapas. Primeiramente, após a realização da busca utilizando os termos MeSH, foi efetuada a leitura dos títulos e resumos. A partir dessa consulta, foram selecionados os estudos que se adequavam nos critérios anteriormente mencionados. Na terceira etapa, os trabalhos selecionados foram lidos na íntegra e avaliados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, para o processo de seleção final.

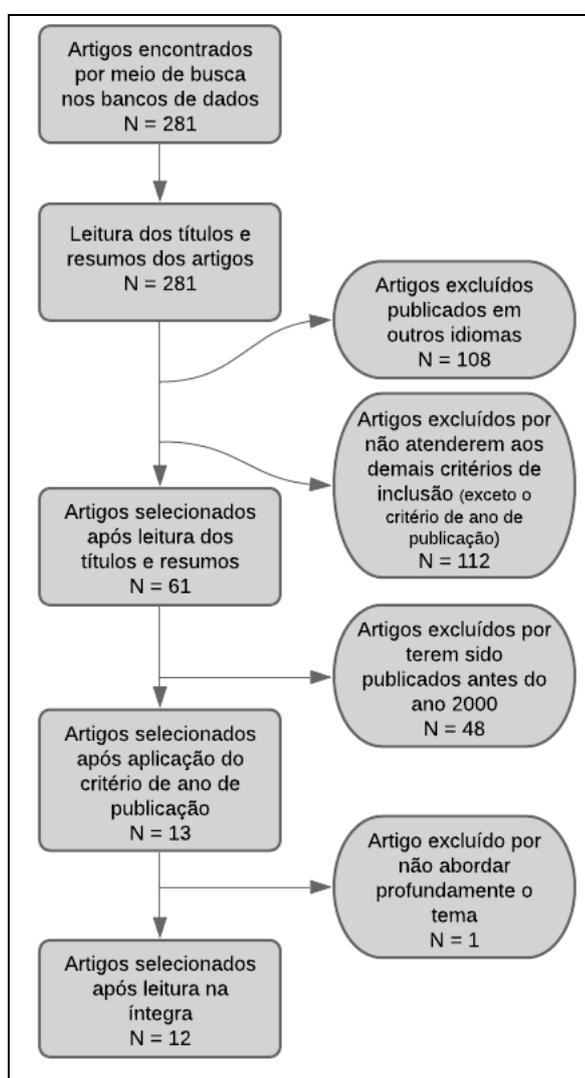
As informações dos artigos selecionados foram então extraídas e estruturadas no formato de formulários ou planilhas. Os resultados obtidos foram apresentados de forma descritiva e na forma de tabelas ou figuras, dependendo dos dados coletados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PROCESSO DE SELEÇÃO E CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS

A busca nas bases de dados utilizando as palavras-chave obteve a soma de 281 resultados. A seguir, a Figura 6 demonstra resumidamente o processo de seleção dos artigos.

Figura 6 - Fluxograma do processo de seleção dos artigos



Os bancos de dados consultados foram o Medline através do Pubmed e a plataforma LILACS. Foram obtidos um total de 281 registros. Estudos que não preencheram os critérios de inclusão foram excluídos do trabalho.

Fonte: a autora (2020).

Como não houveram estudos duplicados na primeira etapa de seleção, os 281 artigos obtidos foram analisados através da leitura dos títulos e resumos. A partir desta primeira análise, foram excluídos 108 artigos em outras línguas diferentes da língua portuguesa e inglesa e 112 que não se adequavam aos demais critérios. Com isto, restaram 61 artigos com potencial para serem incluídos na revisão. Ao aplicar o critério de exclusão de artigos publicados antes do ano 2000, foram excluídos 48 trabalhos, permanecendo 13 artigos para leitura na íntegra.

Na segunda fase de análise, após a leitura integral dos artigos, apenas 1 trabalho foi excluído por não investigar profundamente o tema proposto e pelo baixo número de pacientes com glomerulopatia comprovada por biópsia. Por fim, a extração dos dados foi efetuada em 12 artigos publicados nos últimos 20 anos, a Tabela 1 apresenta-os e descreve informações gerais de cada um.

Tabela 1 - Informações gerais dos artigos da revisão

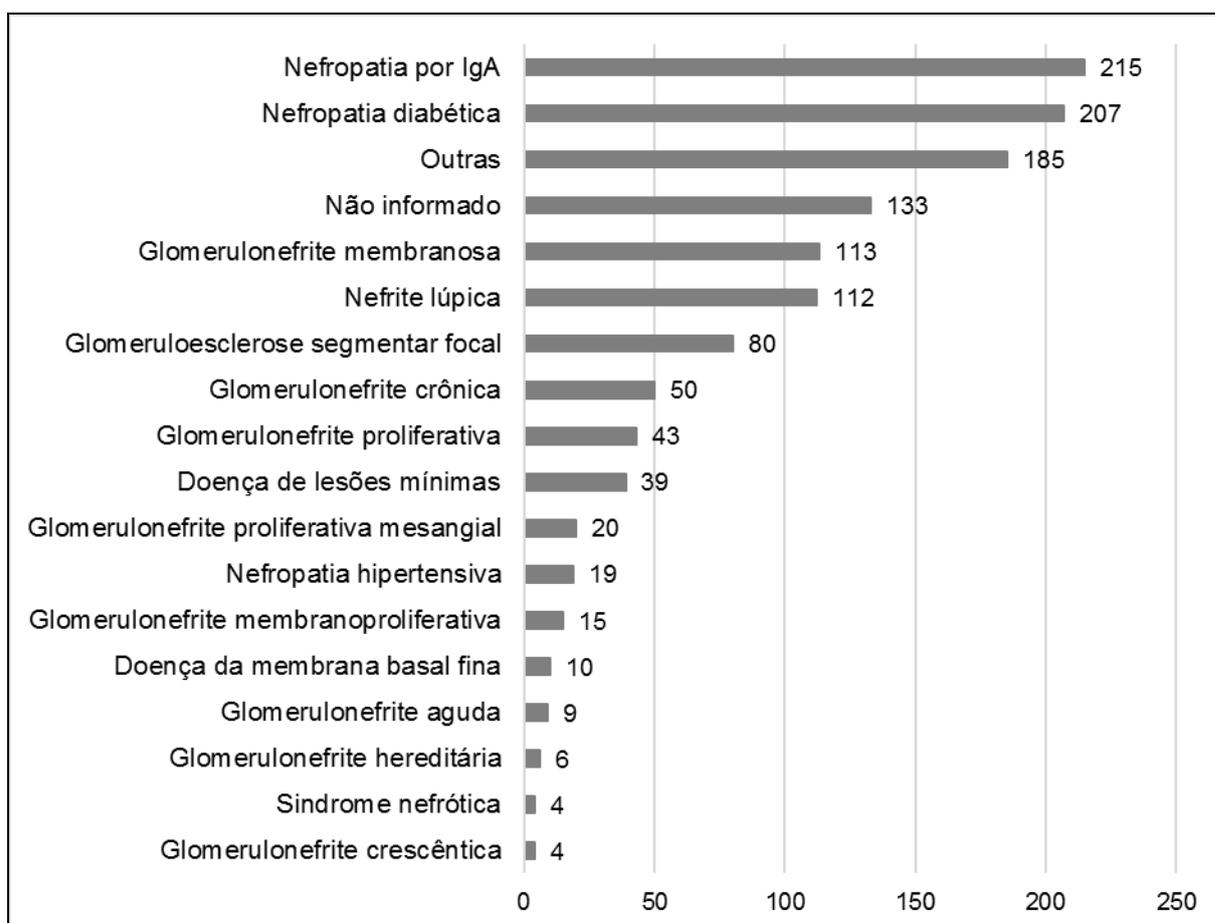
Referências	Local de origem	Total de pacientes/Pacientes com DG	Outros exames realizados*
NGUYEN, 2003	Canadá	174/174	Não relata
HEINE et al., 2004	Alemanha	131/111	Proteinúria e creatinina sérica
NAGAHAMA et al., 2005	Japão	348/86	Proteinúria
ANDRADE et al., 2006	Brasil	102/59	Creatinina sérica, TFG
SILVA et al., 2010	Brasil	55/20	Proteinúria
OHSAKI et al., 2013	Japão	52/32	Não relatado
MARTÍNEZ et al., 2014	Brasil	131/66	Não relatado
KOO et al., 2016	Coreia do Sul	411/48	Proteinúria
DONG et al., 2016	China	198/198	Proteinúria, creatinina sérica, TFGe, BUN, hemoglobina no sangue e hemoglobina glicada
MARTÍNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016	México	51/51	Creatinina sérica e urinária, proteinúria
HAMADAH et al., 2017	Estados Unidos da América	482/372	Proteinúria, creatinina sérica, albumina sérica.
KIM et al., 2019	Coreia do Sul	103/47	Proteinúria, creatinina sérica, albumina sérica, TFGe, BUN

Fonte: elaborada pela autora (2020).

Notas: * Exames adicionais realizados para auxílio no processo diagnóstico. BUN: nitrogênio ureico do sangue; DG: doença glomerular; TFG: taxa de filtração glomerular; TGFe: taxa de filtração glomerular estimada.

Em relação às características gerais dos estudos, é possível observar que os países de origem dos artigos são diversos: Alemanha, Brasil, Canadá, China, Coreia do Sul, Estados Unidos da América, Japão e México. O número total de pacientes avaliados foi de 2.238. Desses, 1.264 pacientes foram diagnosticados com doença glomerular, por meio de biópsia ou pela associação de dados clínicos com resultados de exames bioquímicos e de urina, como no caso da nefropatia diabética. A nefropatia por IgA foi a principal doença glomerular diagnosticada presente nos estudos, como demonstra o gráfico 1. Nos estudos que apresentaram o número de pacientes por sexo, houve predominância do sexo feminino. A idade média dos indivíduos variou de 33 a 60 anos.

Gráfico 1 - Número de pacientes por glomerulopatia dos artigos da revisão



Fonte: elaborado pela autora (2020).

4.2 FATORES PRÉ-ANALÍTICOS E COLETA DE AMOSTRA NA ANÁLISE DO DISMORFISMO ERITROCITÁRIO

Considerando a importância da fase pré-analítica no exame de urina, primeiramente foi analisado nos estudos selecionados informações acerca dos fatores que podem afetar esta fase e a avaliação do dismorfismo eritrocitário. O primeiro aspecto importante observado nos estudos foi o tipo de amostra coletada para a análise do dismorfismo eritrocitário. Os artigos selecionados não apresentaram uma discussão detalhada acerca do tipo de amostra utilizada e sua relação com os resultados encontrados na microscopia. Martínez et al. (2014) e Dong et al. (2016) descrevem que foram coletadas a primeira urina da manhã de jato médio. Andrade et al. (2006) e Martínez-Martínez et al. (2016) apenas relataram a coleta de amostras de urina matutinas, sem especificar se foi colhida a primeira ou a segunda amostra da manhã. Já Kim et al. (2019) e Nagahama et al. (2005) destacam coleta de jato médio apenas, e Silva et al. (2010) refere-se a uma amostra de urina aleatória coletada 2 horas após a última micção. De maneira similar, Hamadah et al. (2017) também obtiveram amostras de urina aleatórias, mas destacam coleta de jato médio ou por cateterismo dependendo da situação clínica do paciente. Por fim, Heine et al. (2004), Koo et al. (2016), Nguyen (2003) e Ohsaki et al. (2013) não relatam o tipo de amostra utilizada nos estudos.

Segundo Brunzel (2013), Kouri et al. (2000) e Mundt e Shanahan (2012, p. 58) a primeira amostra matinal confere um ambiente concentrado e ácido, fundamental para a manutenção de cilindros e hemácias, sendo então, o tipo de amostra ideal para o exame de urina de rotina e para análise do dismorfismo eritrocitário. De maneira similar, um estudo realizado por Kitamoto et al. (1993) sobre o uso do dismorfismo eritrocitário para a classificação das hematúrias concluiu que a avaliação correta da morfologia dos eritrócitos depende da osmolaridade e do pH da urina e por isso, preferencialmente deve-se coletar a primeira urina matinal. A SBPC/ML (2014, 2017, 2018) também afirma que a amostra ideal para o exame de urina de rotina é a primeira urina da manhã, por ser mais concentrada. Porém, a mesma salienta que o crescimento bacteriano na bexiga durante à noite pode afetar a detecção de cilindros e elementos celulares, e por isso, para a pesquisa de dismorfismo eritrocitário a amostra deve ser preferencialmente a segunda da manhã,

a qual deve ser coletada entre 2 e 4 horas após a primeira micção (SBPC/ML, 2017, p. 76), minimizando os efeitos da flora bacteriana (SBPC/ML, 2017, p. 27). Ainda, a SBPC/ML (2017, p. 80) ressalta que a coleta de jato médio para a primeira ou segunda urina matutina “[...] evita a presença de muco e outros contaminantes provenientes da uretra e de áreas externas do trato urinário”, corroborando com outros autores (STRASINGER; DI LORENZO, 2009, p. 9; BRUNZEL 2013, p. 40). Notavelmente, Fairley e Birch (1982) especificaram que utilizaram amostras de urina de jato médio, e os autores Köhler, Wandel e Brunk, (1991) utilizaram a segunda urina da manhã, também de jato médio. Estes dois trabalhos apresentaram informações primordiais a respeito do dismorfismo eritrocitário, como já comentado anteriormente (tópico 1.2.1).

Além da importância do procedimento de coleta da urina, outro fator a ser considerado é o tempo entre a coleta da amostra e a realização da análise laboratorial, o qual pode alterar a constituição dos elementos presentes no sedimento urinário, como as hemácias. Nos estudos avaliados nesta revisão, as amostras foram analisadas em até 2 horas (ANDRADE et al., 2006; DONG et al., 2016; HAMADAH et al., 2017; KIM et al., 2019; KOO et al., 2016; MARTINEZ et al., 2014; NAGAHAMA et al., 2005; NGUYEN, 2003; SILVA et al., 2010) ou 4 horas (HEINE et al., 2004) após a coleta, sem mencionar utilização de refrigeração ou conservantes. Por outro lado, em outros 2 trabalhos o tempo entre a coleta e análise da amostra não foi mencionado (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016; OHSAKI et al., 2013).

De acordo com Brunzel (2013, p. 43), Mundt e Shanahan (2012, p. 26), com a SBPC/ML (2014, p. 61; 2017 p. 25; 2018 p. 336) e com Strasinger e Di Lorenzo (2009, p. 35) é crucial que a amostra seja analisada o mais breve possível após a coleta em virtude das possíveis alterações que podem ocorrer em uma amostra de urina que permanece em temperatura ambiente por mais de 2 horas. Essas alterações são diversas e podem afetar o exame de urina como um todo, sendo que as mais relevantes para o exame microscópico são a redução de células e cilindros celulares, devido a degeneração celular, bem como o aumento de microrganismos devido à proliferação principalmente de bactérias. A análise do dismorfismo eritrocitário pode ser afetada diretamente por essas alterações, visto que a diminuição do número de hemácias normais e dismórficas pode levar à uma

interpretação da hematúria que não retrata a realidade, bem como a presença abundante de microrganismos pode dificultar a visualização das alterações no formato das hemácias. Por conta destes fatos, esses autores afirmam que no caso de não poder ser realizado o exame dentro de 2 horas, a amostra deve ser refrigerada e protegida da luz.

A SBPC/ML (2017, p. 25) informa que quando refrigeradas as amostras permanecem adequadas para análise por até 12 horas. Porém, a análise do dismorfismo eritrocitário pode ser afetada caso a amostra seja refrigerada por muitas horas, como demonstrou um estudo que avaliou o dismorfismo eritrocitário em 109 amostras de urina e comparou os resultados obtidos da análise da urina fresca com os resultados da análise após armazenamento durante a noite à 4 °C. Neste estudo, foi observado que 10% das amostras que apresentaram contagem de eritrócitos $>10 \times 10^6/L$ quando analisadas a fresco, apresentaram contagem $<10 \times 10^6/L$ após o armazenamento. Além disso, os autores também perceberam mudanças na morfologia das hemácias em 22% das amostras armazenadas (RAMAN et al., 1986). Com isso, para avaliar o dismorfismo eritrocitário, é preferível que a amostra utilizada seja a primeira ou a segunda urina da manhã de jato médio, e que seja analisada ainda fresca e o mais breve possível.

A preparação do paciente para a coleta de urina é também um fator imprescindível para garantir amostras adequadas para o exame de urina, uma vez que a alimentação, hidratação, exercício físico, uso de medicamentos e os procedimentos de coleta podem interferir nos resultados (SBPC/ML, 2014, 2017, 2018). O laboratório que realizará o exame deve informar ao paciente que a diurese não deve ser forçada por ingestão excessiva de água, pois em urina diluída (densidade <1.010) as hemácias incham e lisam, liberando a hemoglobina, tornando-se hemácias fantasmas (KOURI et al., 2000; MUNDT; SHANAHAN, 2012, p. 59; SBPC/ML, 2017), prejudicando assim a contagem de hemácias e identificação do dismorfismo. A diurese forçada pelo uso de diuréticos de alça, como a furosemida, também afeta a análise de dismorfismo eritrocitário, como demonstrou o estudo de Schuetz et al. (1985) que avaliou os efeitos da diurese forçada com água e com furosemida na morfologia das hemácias em pacientes com doenças glomerulares. Os autores concluíram que em ambas as situações ocorre uma diminuição considerável na contagem de hemácias dismórficas. Outros

medicamentos também podem causar alterações no exame de urina, e por isso, é importante perguntar ao paciente se ele utiliza ou utilizou nos últimos dias algum medicamento (SBPC/ML, 2017). A alimentação pode interferir na cor da urina, como por exemplo, a ingestão de beterrabas pode deixar a urina rosada ou vermelha em alguns indivíduos, o que pode levar o analista a suspeitar de hematúria macroscópica (MUNDT; SHANAHAN, 2012). O exercício físico horas antes da coleta pode levar à hematúria, proteinúria e cilindrúria intensa (SBPC/ML, 2017) inclusive aumento de hemácias dismórficas (FASSETT, 1982).

Quanto aos procedimentos de coleta, é necessário que o laboratório forneça frasco limpo e inerte e oriente o paciente quanto à higienização das mãos, assepsia urogenital e sobre como realizar a coleta. Essa orientação deverá ser feita oralmente e por escrito (KOURI et al., 2000; SBPC/ML, 2017). Para mulheres, deve-se evitar, sempre que possível, a coleta durante o período menstrual e nos dias imediatamente anteriores e posteriores, a fim de evitar contaminação por células sanguíneas provenientes da menstruação. A coleta inadequada pode levar à contaminação da amostra com secreções e células (do epitélio renal ou hemácias), ao ponto de comprometer a análise microscópica da urina, e principalmente, a contagem dos elementos e a identificação das hemácias dismórficas (SBPC/ML, 2018).

4.3 METODOLOGIAS DE ANÁLISE DO SEDIMENTO

Desde os primeiros relatos sobre dismorfismo eritrocitário, descritos por Birch e Fairley há 4 décadas, a microscopia de contraste de fase parece ser a principal metodologia empregada pelos laboratórios na análise morfológica das hemácias (BIRCH; FAIRLEY, 1979; FAIRLEY; BIRCH, 1982). Porém, cada laboratório determina sua rotina e metodologia de análise, e é fundamental que sejam padronizados todos os procedimentos envolvidos, tanto no preparo quanto na avaliação microscópica das amostras, pois assim a precisão e a reprodutibilidade dos resultados aumentam (BRUNZEL, 2013; MUNDT; SHANAHAN, 2012; KOURI et al., 2000; SBPC/ML, 2017; STRASINGER; DI LORENZO, 2009). É importante ressaltar que nenhum dos estudos relacionou ou mencionou a correlação de todos os achados nos exames de urina físicos e químicos com os resultados da microscopia do sedimento, e como já foi citado anteriormente (tópico 1.2.1), isto é

necessário para certificar a precisão dos resultados (STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Contudo, a maioria dos artigos incluídos nesta revisão discutiram acerca da preparação da amostra e metodologia de análise para realização da microscopia do sedimento urinário. Na Tabela 2 encontra-se o resumo das metodologias de preparação e análise das amostras.

Tabela 2 - Resumo das metodologias de preparo e análise da amostra

Referências	Centrifugação (velocidade/tempo)	Concentração do sedimento	Câmara de contagem	Tipo de microscopia
NGUYEN, 2003	1800 RPM/10 min	10:1	Não relata	Campo claro com coloração
HEINE et al., 2004	2000 RPM/10 min	20:1	Fuchs-Rosenthal	Contraste de fase
NAGAHAMA et al., 2005	400g/5 min	100:1	Bürker-Türk	Campo claro
ANDRADE et al., 2006	2000 RPM/5 min	20:1	Fuchs-Rosenthal	Contraste de fase
SILVA et al., 2010	1500g/3 min	10:1	Lâmina e lamínula	Campo claro e contraste de fase
OHSAKI et al., 2013	500g/5 min	10:1	Não relatado	Campo claro de amostra fresca e preparada como citologia em base líquida
MARTINEZ et al., 2014	1500 RPM/5 min	20:1	Não relatado	Campo claro e contraste de fase
KOO et al., 2016	Não relatado	Não relatado	Contagem automatizada	Contraste de fase
DONG et al., 2016	377,33 g/10 min	20:1	Fuchs-Rosenthal	Contraste de fase
MARTÍNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016	1500 RPM/5 min	10:1	Câmara de Neubauer	Contraste de fase
HAMADAH et al., 2017	2000g/5 min	24:1	Não relatado	Contraste de fase
KIM et al., 2019	400g/5 min	20:1	Fuchs-Rosenthal	Contraste de fase e automação

Fonte: elaborada pela autora (2020)

O método aplicado nos estudos para a centrifugação foi diverso, porém, a maioria centrifugou um volume de 10 mL de urina, com exceção de Hamadah et al. (2017) que utilizaram um volume de 12 mL. De acordo com Brunzel (2013, p. 160), Mundt e Shanahan (2012, p. 58) e Strasinger e Di Lorenzo (2009, p. 90) o volume centrifugado pode variar de 10-15 mL e a SBPC/ML (2017, p. 76) recomenda a utilização de 10 mL de urina. Quanto à centrifugação propriamente dita, alguns estudos relataram a Força Centrifuga Relativa (FCR) utilizada, que variou de 377, 33 a 2000g durante 3 a 10 minutos (DONG et al., 2016; HAMADAH et al., 2017; KIM et al., 2019; NAGAHAMA et al., 2005; OHSAKI et al., 2013; SILVA et al., 2010). Outros estudos relataram as Rotações por Minuto (RPM), que variou de 1500 a 2000 RPM durante 5 a 10 minutos (ANDRADE et al., 2006; HEINE et al., 2004; MARTÍNEZ et al., 2014; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016; NGUYEN, 2003). Koo et al. (2016) não descreveu a metodologia de centrifugação.

Na literatura, os autores Brunzel (2013, p. 160), Kouri et al. (2000), Strasinger e Di Lorenzo (2009, p. 90) salientaram que a centrifugação de 400g à 450g por 5min é suficiente para concentrar o sedimento sem danificar os elementos. A SBPC/ML (2018, p. 76) recomenda, para a análise do dismorfismo eritrocitário, a centrifugação a 400g por 10min. Já, segundo Mundt e Shanahan (2012, p. 58), deve-se utilizar uma rotação de até 2000 RPM por 5 minutos. Strasinger e Di Lorenzo (2009, p. 91) destacam que para corrigir a existência de diferenças no diâmetro das cabeças de centrifugação é utilizado o valor de FCR em vez de RPM. A conversão entre FCR e RPM pode ser realizada através da seguinte fórmula matemática:

$$FCR = 1,118 \times 10^{-5} \times \text{raio em centímetros} \times \text{RPM}^2$$

Para fins comparativos, é mais conveniente que seja relatada a FCR.

Depois da centrifugação, na maioria dos estudos o sedimento foi ressuspendido em 1 mL do sobrenadante (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016, NGUYEN, 2003; OHSAKI et al., 2013; SILVA et al., 2010). Enquanto Andrade et al. (2006), Dong et al. (2016), Hamadah et al. (2017), Heine et al. (2004), Kim et al. (2019) e Martínez et al. (2014) ressuspenderam o sedimento em 0,5 mL e Nagahama et al. (2005) em 0,1 mL. A SBPC/ML (2017, p. 64) recomenda que o

sedimento urinário seja ressuspenso em 0,5 mL do sobrenadante. Entretanto, de acordo com as metodologias empregadas no preparo da amostra, a concentração do sedimento urinário pode variar de 12:1 a 30:1 (BRUNZEL, 2013).

Em relação às metodologias para a contagem das hemácias, a maioria dos estudos empregou a microscopia manual. Apenas um estudo empregou automação para a quantificação, com a utilização do analisador de urina Sysmex UF-1000i (KOO et al., 2016). Alguns estudos empregaram câmara de contagem Fuchs-Rosenthal (ANDRADE et al., 2006; DONG et al., 2016; HEINE et al., 2004; KIM et al., 2019), câmara de Neubauer (MARTÍNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016), câmara Bürker-Türk (NAGAHAMA et al., 2005) e lâmina e lamínula, em que as células foram contadas em 10 campos de alta potência (400x) (SILVA et al., 2010). Os demais estudos não descreveram a metodologia de análise quantitativa empregada.

A microscopia de campo claro foi utilizada nos trabalhos de Nagahama et al. (2005) e Nguyen (2003), em que a amostra foi corada pelo método Papanicolau. Ohsaki et al. (2013) também utilizaram microscopia de campo claro sendo que os autores compararam os resultados obtidos na microscopia de campo claro com os obtidos na microscopia da amostra preparada com citologia em base líquida usando os protocolos SurePath™ (Becton Dickinson), em que a amostra foi corada pelo método Papanicolau e fixada em etanol 95%. A microscopia de contraste de fase foi empregada nos trabalhos de Andrade et al. (2006), Dong et al. (2016), Hamadah et al. (2017), Heine et al. (2004), Koo et al. (2016) e Martínez-Martínez et al. (2016). Nos estudos de Martínez et al. (2014) e Silva et al. (2010) as amostras foram analisadas nas duas modalidades (campo claro e contraste de fase) e no de Kim et al. (2019) foi utilizada microscopia de contraste de fase e os resultados foram comparados com os do autoanalisador de urina Sysmex UF-1000i.

A microscopia mais acessível e frequentemente utilizada no laboratório clínico é a de campo claro. A desvantagem dessa microscopia é a dificuldade de identificação dos elementos de baixo índice de refração e pouco detalhamento das células, o que pode levar a uma subestimação da hematúria (FOGAZZI; DELANGHE, 2018; STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Porém, é possível obter o contraste adequado para a visualização desses elementos diminuindo a intensidade da luz com fechamento parcial do diafragma e ajuste descendente do condensador,

além do ajuste constante do parafuso micrométrico para visualizar elementos em planos focais distintos (MUNDT; SHANAHAN, 2012).

Por outro lado, a microscopia de contraste de fase permite melhor visualização dos componentes com baixa refração ou translúcidos, como cilindros hialinos, muco e hemácias, mas é um equipamento de elevado custo (BRUNZEL, 2013; KOURI et al., 2000; MUNDT; SHANAHAN, 2012; SBPC/ML, 2017; STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Para análise do dismorfismo eritrocitário, a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (2017) indica o uso da microscopia de contraste de fase, a qual é também considerada essencial pelo *European Urinalysis Guidelines* (KOURI et al., 2000), visto que proporciona uma visualização mais detalhada das hemácias. Birch e Fairley (1979) utilizaram a microscopia de contraste de fase em seu primeiro estudo sobre dismorfismo eritrocitário e, posteriormente, em 1982, enfatizaram novamente o uso dessa metodologia, o que foi corroborado por outros estudos (FASSETT; HORGAN; MATHEW, 1982; KÖHLER; WANDEL; BRUNK 1991).

Entretanto, uma revisão bibliográfica recente sobre a microscopia do sedimento urinário revelou que nos atlas e nas monografias de sedimento urinário, publicadas na língua inglesa, no período de 2008 a 2018, as imagens obtidas através de microscopia de campo claro predominam nas publicações com porcentagens que variam de 86% até 96%. Esses dados demonstram que a microscopia de contraste de fase não é tão amplamente utilizada. Segundo os autores, isso se deve ao fato de que muitos profissionais desconhecem a utilidade do contraste de fase e, além disso, o elevado custo do equipamento muitas vezes impede a sua aquisição (FOGAZZI; DELANGHE, 2018).

Nesta revisão, dois trabalhos compararam a performance da microscopia de campo claro e da microscopia de contraste de fase para identificação de eritrócitos dismórficos. O estudo brasileiro de Silva et al. (2010) avaliou a porcentagem de hemácias dismórficas utilizando os dois tipos de microscopia. Os autores definiram pontos de corte específicos (porcentagem de hemácias dismórficas para diagnóstico de hematúria glomerular) para cada método considerando a melhor taxa de especificidade e sensibilidade, ainda, analisaram a capacidade dos dois tipos de microscopia em diferenciar a origem da hematúria através da análise das curvas ROC (*Receiver-Operator Curve*). Os resultados indicaram que ambas as

metodologias de análise microscópica apresentam uma boa performance para identificação de hemácias dismórficas no sedimento urinário.

Outro estudo brasileiro também comparou a microscopia de contraste fase e de campo claro na avaliação do dismorfismo eritrocitário, realizado por Martínez et al. (2014). Os autores avaliaram a porcentagem total de eritrócitos dismórficos, a porcentagem de acantócitos (hemácias em forma de rosca com bolhas na superfície) e a porcentagem de hemácias em formato de rosca utilizando os dois tipos de microscopia. Tanto as análises por microscopia de campo claro quanto por contraste de fase foram efetivamente capazes de discriminar a origem da hematúria. Quando avaliado por microscopia de campo claro, o dismorfismo eritrocitário total apresentou os melhores resultados discriminatórios para a origem da hematúria. Já para a microscopia de contraste de fase foram os acantócitos que tiveram o melhor poder discriminatório em relação à origem da hematúria. Sendo assim, tanto a microscopia de campo claro quanto a microscopia de contraste de fase podem ser consideradas metodologias adequadas para avaliação do dismorfismo eritrocitário.

Nguyen (2003) utilizou exame citológico de urina, com coloração Papanicolau para avaliar o dismorfismo eritrocitário em 174 pacientes com doença glomerular confirmada por biópsia, e concluiu ser possível avaliar tanto acantócitos quanto cilindros hemáticos com essa metodologia e que com estes marcadores é possível diferenciar doença glomerular de não glomerular. Entretanto, sobre a utilização de coloração para análise do dismorfismo eritrocitário na microscopia de campo claro, muitos autores não indicam coloração para este propósito (BRUNZEL, 2013; KOURI et al., 2000; MUNDT; SHANAHAN, 2012; STRASINGER; DI LORENZO, 2009). Fogazzi e Delanghe (2018) também não indicam e ainda demonstram preocupação com sua utilização porque introduz um procedimento pré-analítico adicional potencialmente exposto a erros e, além disso, devido à permeabilidade seletiva das membranas das células vivas, estas não podem ser coradas, levando a resultados falso-negativos.

Ohsaki et al. (2013), como mencionado anteriormente, utilizou microscopia de campo claro, onde foram avaliados sedimentos urinários frescos e de amostras preparadas por citologia em base líquida, em que houve coloração da amostra pelo método Papanicolau. Os autores observaram que a sensibilidade dos eritrócitos irregulares, eritrócitos em formato de alvo e acantócitos para doença glomerular foi

menor quando utilizadas as lâminas de citologia do que na análise do sedimento fresco. Já a especificidade foi igualmente alta para ambas as metodologias de preparo da amostra. Os autores concluíram que o emprego da citologia de base líquida para a preparação das amostras de urina para análise microscópica é útil para a análise morfológica dos eritrócitos no diagnóstico das doenças glomerulares, entretanto, não é indicada para análise de hemácias em formato de alvo e acantócitos.

A automação está cada vez mais presente no dia a dia dos laboratórios de grande demanda, e também está sendo utilizada para realização do exame de urina de rotina, já que é eficiente e melhora o fluxo de trabalho eliminando etapas do processo manual e transcrição de resultados (SBPC/ML, 2017, p. 128). A recente publicação de Kim e colaboradores (2019) investigou a aplicação clínica do analisador automatizado de partículas da urina UF-1000i (Sysmex, Kobe, Japão), que combina impedância e citometria de fluxo, para detectar a presença de eritrócitos dismórficos, comparando com microscopia de contraste de fase. Ambas as metodologias de análise se mostraram efetivas em discriminar a origem da hematúria, apresentado valores similares de sensibilidade, especificidade e área sob a curva (*Area Under the Curve* – AUC-ROC). Entretanto, o uso da automação não exclui a demanda de profissionais qualificados e experientes, já que é necessário fazer a revisão dos resultados e realização da análise manual eventualmente, como em caso de manutenção do aparelho (SBPC/ML, 2017, p. 128).

Nos estudos incluídos na revisão, o exame microscópico da urina foi realizado por um ou mais profissionais treinados. Silva et al. (2010) contaram com examinadores diferentes para cada método de microscopia (microscopia de campo claro e microscopia de contraste de fase). Já no estudo de Hamadah et al. (2017) um segundo técnico verificou os casos questionáveis e no de Kim et al. (2019) foram utilizadas as médias dos resultados de dois profissionais como dados finais. E, no estudo de Ohsaki et al. (2013), o exame microscópico de campo claro foi realizado por três autores. Considerando que pode existir uma baixa reprodutibilidade dos resultados interobservadores, destaca-se a importância da análise de dismorfismo eritrocitário ser realizada por um profissional bem treinado para garantir a identificação adequada das hemácias normais e dismórficas, independente da metodologia utilizada (KOURI et al., 2000, p. 64; SBPC/ML, 2017, p. 75).

4.4 O PAPEL DO DISMORFISMO ERITROCITÁRIO NO DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS GLOMERULARES

De modo geral, todos os estudos incluídos nesta revisão consideraram que a análise do dismorfismo eritrocitário é uma importante ferramenta para o diagnóstico de doença glomerular. A Tabela 3 reúne alguns dados dos trabalhos selecionados, como os valores de sensibilidade e especificidade obtidos para diferentes valores de referência para dismorfismo eritrocitário para prever a origem da hematúria. Abaixo serão também abordados de maneira descritiva os principais achados dos estudos referentes ao papel do dismorfismo eritrocitário no diagnóstico das glomerulopatias.

Em 2003 Nguyen investigou o exame citológico urinário na doença glomerular em 174 pacientes e concluiu que a presença de cilindros hemáticos abundantes ou numerosas células G1/acantócitos (10-80%) são marcadores confiáveis para hematúria glomerular. Neste estudo, em 130 pacientes que apresentaram células G1, a razão entre células G1 pelo número total de eritrócitos (células G1/total de eritrócitos) foi de 80% em 58 pacientes, 50% em 29 pacientes, 20% em 28 pacientes e 12 % em 15 pacientes. Ainda, neste estudo as principais doenças glomerulares avaliadas foram nefropatia por IgA, glomerulonefrite membranoproliferativa e nefrite lúpica, sendo que estas três doenças se correlacionaram com a presença de abundantes células G1 e raros cilindros hemáticos.

O estudo de Ohsaki e colaboradores (2013) avaliou se o dismorfismo eritrocitário era capaz de determinar a origem da hematúria em amostras preparadas com a técnica de citologia em base líquida. Para isso, os autores compararam os resultados obtidos em amostras frescas com amostras preparadas por esse método. Os autores relataram sensibilidade e especificidade de 100% para hematúria glomerular, quando considerado como valor de referência $\geq 20\%$ de hemácias dismórficas, em amostras analisadas frescas. Já para amostras preparadas com a técnica de citologia em base líquida, a sensibilidade e a especificidade caíram para 87,5% e 30%, respectivamente, considerando o mesmo limite de eritrócitos dismórficos. Por outro lado, considerando como valor de referência $\geq 1\%$ de

hemácias em formato de alvo ou $\geq 1\%$ de acantócitos, o estudo obteve sensibilidade de 100 e 87,5 %, respectivamente, com especificidade de 100% para ambos os tipos celulares, em amostras frescas. Considerando esse mesmo critério, a sensibilidade foi reduzida para 81,3% e 46,9% para eritrócitos em alvo e acantócitos, respectivamente, em amostras preparadas pelo método citológico. Baseados nesses dados, os autores concluíram que o dismorfismo eritrocitário é capaz de detectar a origem da hematúria e que é possível utilizar a citologia de base líquida para avaliação da porcentagem de eritrócitos dismórficos, porém, para os acantócitos, a sensibilidade é bastante reduzida ao utilizar esta metodologia, o que pode comprometer a análise.

Nagahama e colaboradores (2005) estudaram acantócitos e cilindros no diagnóstico da hematúria glomerular, utilizando a microscopia de campo claro. Ao analisarem amostras de urina de 45 pacientes com doença glomerular comprovada por biópsia, notaram que todos os pacientes com acantócitos continham também cilindros celulares na urina, sendo que 12 pacientes apresentaram cilindros hemáticos. Também perceberam que a proporção de acantócitos se correlacionava com os níveis de proteinúria, hematúria e concentração de albumina e NAG (N-acetil- β -D-glicosaminidase, um marcador de lesão renal). Outro dado interessante desse estudo é que a proporção de acantócitos na nefropatia por IgA foi maior do que em qualquer outra doença glomerular. Estes mesmos autores analisaram outros 303 pacientes e determinaram a sensibilidade e a especificidade para a presença de acantócitos, cujos resultados foram 46% e 99%, respectivamente. Entretanto, os autores não relataram os valores de referência para acantócitos considerados para discriminar a origem da hematúria, analisaram a sensibilidade e especificidade baseados na presença ou ausência de acantócitos.

Em um estudo recente, Koo et al. (2016) analisaram 411 pacientes, 48 com doença glomerular, e consideraram como ponto de corte a porcentagem de dismorfismo eritrocitário $\geq 40\%$. Para esse valor de referência adotado, os autores encontram uma sensibilidade de 63,7% e especificidade de 72,7%, cuja AUC-ROC foi de 0,65. Ainda, avaliaram a AUC-ROC para proteinúria, e o valor obtido foi de 0,77. Com estes dados, concluíram que a porcentagem de hemácias dismórficas possui poder de prever doenças glomerulares e que, quando avaliada concomitantemente com a proteinúria, é ainda mais sugestivo de doença glomerular.

As doenças que apresentaram maior número de indivíduos com $\geq 40\%$ de eritrócitos dismórficos foram a Doença Renal Crônica e nefropatia por IgA.

Outro estudo que avaliou a porcentagem de eritrócitos dismórficos combinado à proteinúria como marcador de doença glomerular foi o de Hamadah et al. (2017). Neste estudo, foram avaliados 482 pacientes, 372 com doença glomerular e os demais possuíam doenças renais não glomerulares. Considerando a porcentagem de eritrócitos dismórficos $\geq 25\%$ foi obtido valor de sensibilidade de 20,4% e especificidade de 96,3% para a presença de doença glomerular. Já a presença de $\geq 25\%$ de eritrócitos dismórficos combinado com proteinúria (>1000 mg) apresentou menor sensibilidade (17,1%), porém maior especificidade (98,2%) em relação ao dismorfismo eritrocitário isolado. Já quando os autores consideraram a hematúria como um preditor de doença glomerular, foi observado que a presença de mais de 3 hemácias por campo de alta potência apresentou maior sensibilidade (62,2%), porém, menor especificidade (65,2%) para detectar doença glomerular. Por outro lado, quando a hematúria (>10 hemácias por campo de alta potência) foi combinada com a proteinúria (>1000 mg), a sensibilidade foi diminuída (26,8%) e a especificidade foi aumentada (92,7%). Esses dados indicam que a presença de $\geq 25\%$ de hemácias dismórficas na urina, apesar de ser específico para doenças glomerulares, mostrou-se pouco sensível, quando comparado com outras doenças renais não glomerulares. E além disso, a presença de proteinúria combinada com o dismorfismo eritrocitário ou com a hematúria, aumenta a especificidade para doenças glomerulares. As doenças glomerulares que apresentaram maior número de pacientes com eritrócitos dismórficos $\geq 25\%$ foram glomerulonefrite pauci-imune, nefropatia por IgA, glomerulonefrite membranosa e nefrite lúpica. Os autores também destacaram que o achado de dismorfismo $\geq 25\%$ foi incomum no estudo (apenas 15,8% dos pacientes estudados apresentaram essa porcentagem), mas foi relativamente mais comum que cilindros hemáticos (encontrados em apenas 2,7% dos pacientes).

Como já citado anteriormente (tópico 4.3), Silva e colaboradores (2010) avaliaram a porcentagem de eritrócitos dismórficos totais utilizando microscopia de campo claro e contraste de fase. Os melhores pontos de corte foram definidos baseados na sensibilidade e especificidade para cada metodologia. Para a microscopia de campo claro o ponto de corte considerado foi 40% de dismorfismo

eritrocitário, com 90% de sensibilidade e 100% de especificidade. Já para a microscopia de contraste de fase o ponto de corte foi de 30% com sensibilidade de 95% e especificidade de 100%. A AUC-ROC para a microscopia de campo claro foi de 0,96 e para a microscopia de contraste de fase foi de 0,99, indicando uma excelente performance diagnóstica do dismorfismo em ambas as microscopias. Neste estudo, a nefropatia por IgA foi a doença glomerular mais frequente entre os pacientes. Com estes dados, os autores concluíram que a porcentagem de eritrócitos dismórficos é capaz de diferenciar doença glomerular de não glomerular e que a microscopia de campo claro pode substituir a microscopia de contraste de fase quando esta não estiver disponível.

O trabalho de Martinez et al. (2014) analisou a porcentagem de dismorfismo eritrocitário e a porcentagem de acantócitos e de hemácias em formato de rosca na microscopia de campo claro e de contraste de fase. Para isso, os autores dividiram os pacientes aleatoriamente em dois grupos (derivação e validação). Para a microscopia de campo claro, a porcentagem de eritrócitos dismórficos $\geq 22\%$ foi o melhor ponto de corte e melhor parâmetro para determinar a origem da hematúria (sensibilidade de 90% no grupo derivação e 78% no grupo validação; e especificidade de 88% e de 84% para cada grupo, respectivamente). Na microscopia de contraste de fase os acantócitos melhor determinaram a origem da hematúria, cujo ponto de corte foi de $\geq 7\%$ (com sensibilidade de 92% no grupo derivação e 96% no grupo validação, e especificidade de 85% e de 87% para ambos os grupos, respectivamente). Assim, os autores concluíram que tanto a microscopia de campo claro quanto a microscopia de contraste de fase podem ser utilizadas para determinar hematúria de origem glomerular. Neste estudo, a glomerulopatia mais frequente também foi a nefropatia por IgA.

Kim et al. (2019) investigaram se era possível utilizar a automação para análise de dismorfismo eritrocitário e determinaram o ponto de corte ideal para esta metodologia comparando com a microscopia de contraste de fase. O equipamento automático utilizado foi o UF-1000i (Sysmex, Kobe, Japão). Os resultados obtidos para microscopia de contraste de fase foram: ponto de corte ideal $>6,7\%$ de eritrócitos dismórficos com sensibilidade de 74,5% e especificidade de 73,2%. Em relação ao analisador automático o ponto de corte ideal foi de $>40,5\%$ de eritrócitos dismórficos, o qual apresentou sensibilidade de 70,2% e especificidade de 76,8%.

As AUC-ROC para os pontos de corte ideais foram de 0,771 para microscopia de contraste de fase e 0,745 para o analisador automático. Esses resultados indicam que ambas as metodologias possuem acurácia diagnóstica semelhante para determinar doença glomerular e por isso, o analisador UF-1000i pode ser utilizado para identificar a origem da hematúria. A glomerulopatia mais presente neste estudo também foi a nefropatia por IgA.

A relação entre hemácias dismórficas e nefropatia diabética foi objeto de pesquisa de 3 publicações incluídas nesta revisão. Heine et al. (2004) notaram, ao estudar 131 pacientes (68 com nefropatia diabética, 43 com glomerulonefrites e 20 controles, sem doenças renais nem diabetes), que a presença de acantócitos é um achado incomum em pacientes diagnosticados com nefropatia diabética, utilizando microscopia de contraste de fase. Dentre estes pacientes com nefropatia diabética, 62% apresentaram hematúria (≥ 8 hemácias/ μ l de urina), 9% apresentaram hematúria com acantócitos $\geq 2\%$ e 4% apresentaram hematúria com acantócitos $\geq 5\%$, enquanto que no grupo com glomerulonefrites a porcentagem de pacientes que apresentaram estes parâmetros foi de 84%, 44% e 40%, respectivamente e, para o grupo controle, foi de 20%, 10% e 0%, respectivamente. Com estes dados, os autores concluíram que em pacientes diabéticos com proteinúria, o achado de acantociúria aponta para glomerulopatias não diabéticas e, neste caso, a biópsia renal deve ser considerada. Não foi encontrada diferença significativa na prevalência de cilindros entre nefropatia diabética e glomerulonefrites. A acantociúria neste estudo foi mais frequente na nefropatia por IgA e na glomerulonefrite proliferativa mesangial.

O próximo trabalho a ser discutido é o brasileiro publicado em 2006, de Andrade e colaboradores, que investigaram a presença de acantócitos na nefropatia diabética e na nefropatia hipertensiva utilizando microscopia de contraste de fase. Eles consideraram que a hematúria era de origem glomerular quando a amostra possuía acantócitos $>5\%$, mas também avaliaram porcentagens inferiores a esse valor. No grupo de pacientes com nefropatia diabética (n=18) 11,11% apresentaram $<2\%$ de acantócitos e 38,89% apresentaram 2-4% de acantócitos; no grupo com nefropatia hipertensiva (n=16) 56,25% apresentaram $<2\%$ de acantócitos e 12,25% apresentaram de 2-4% acantócitos; no grupo com glomerulonefrites (n=43) 32% tinham $<2\%$ de acantócitos, 20% tinham 2-4% e 48% tinham acantócitos $>5\%$.

Dentre os pacientes do grupo controle (n=43), apenas 3 apresentaram acantócitos <5%. Os autores deste estudo chegaram a mesma conclusão que Heine et al. (2004) para a nefropatia diabética e observaram que isto se repete para a nefropatia hipertensiva, ou seja, quando há uma porcentagem superior a 5% de acantócitos nesses pacientes, este achado indica a presença de uma outra doença glomerular diferente da nefropatia diabética ou hipertensiva. Neste estudo, a doença glomerular mais frequente foi novamente a nefropatia por IgA.

O estudo de Dong et al. (2016), também utilizando microscopia de contraste de fase, avaliou amostras de 198 pacientes com diagnóstico de diabetes tipo 2, dos quais, 61 apresentavam nefropatia diabética e 137 tinham doença renal não diabética. Os parâmetros avaliados para predizer doença renal não diabética foram a presença de hematúria e o dismorfismo eritrocitário. Foi considerada hematúria glomerular quando havia >80% de eritrócitos dismórficos. Para este ponto de corte foram obtidos valores de sensibilidade e especificidade de 25% e 97%, respectivamente. Já quando considerada a hematúria, os valores de sensibilidade e especificidade encontrados foram de 44% e 69% para hematúria >3 hemácias por campo de alta potência e de 17% e 93% para hematúria >10 hemácias por campo de alta potência, respectivamente. A presença de >80% de eritrócitos dismórficos foi frequente na nefropatia por IgA e glomerulonefrite membranosa. Ainda sobre este parâmetro, apenas 3,3% dos pacientes com nefropatia diabética apresentaram >80% de eritrócitos dismórficos, enquanto que nos pacientes com doença renal não diabética, 24,8% apresentaram essa porcentagem de hemácias dismórficas na urina. A hematúria >10 hemácias por campo esteve presente em 6,6% dos pacientes com nefropatia diabética, e em 16,8% dos pacientes com doença renal não diabética. Com isso, tanto a hematúria (>10 hemácias por campo) quanto a presença de hemácias dismórficas são mais frequentes em doenças renais não diabéticas. Os autores destacaram, ao concluir o estudo, que a hematúria glomerular é rara em pacientes com nefropatia diabética e sugerem a realização de biópsia renal em pacientes que possuem nefropatia diabética, proteinúria e >80% de dismorfismo.

A aplicação do dismorfismo eritrocitário para predizer estágios da glomerulopatia secundária nefrite lúpica foi investigada por Martínez-Martínez et al. (2016) com o uso da microscopia de contraste de fase. Essa complicação acomete entre 30 a 80% dos pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (BARROS et al.,

2014) e pode ser classificada histologicamente em 6 classes, divididas em proliferativas e não proliferativas. As classes proliferativas (III e IV) necessitam de tratamento diferenciado e apresentam pior prognóstico do que as outras classes. Martínez-Martínez e colaboradores (2016) analisaram o sedimento urinário para encontrar qual o elemento que poderia distinguir as classes proliferativas das não proliferativas da nefrite lúpica. Para isso, analisaram amostras de 51 pacientes com nefrite lúpica que tiveram suas classes histológicas comprovadas por biópsia, observando as diversas formas das hemácias na urina. Os pacientes com diagnóstico para as classes proliferativas da nefrite lúpica apresentaram os maiores números de hemácias e acantócitos no sedimento urinário, em comparação aos pacientes que apresentavam as outras classes da doença. Quando considerado o parâmetro hematúria, o ponto de corte com ótima sensibilidade para eritrócitos foi de $4,6 \times 10^4/\text{mL}$ (sensibilidade de 94% e especificidade de 61%), e o ponto de corte com ótima especificidade foi de $26,9 \times 10^4/\text{mL}$ (sensibilidade de 60,6% e especificidade de 94%). Para os acantócitos, o melhor ponto de corte foi $3,34 \times 10^4/\text{mL}$, com sensibilidade igual a 85% e especificidade de 67%. Para estes mesmos parâmetros foi realizada a análise de curvas ROC para avaliar a capacidade de prever as classes proliferativas da nefrite lúpica, na qual foram encontradas AUC-ROC igual a 0,83 para eritrócitos normais e 0,81 para acantócitos. Com isso, os autores perceberam que com o uso dos parâmetros hematúria e acantociúria é possível estabelecer um diagnóstico precoce de classes proliferativas da nefrite lúpica, podendo indicar o início rápido do tratamento antes mesmo da biópsia renal ou em situações em que ela não pode ser realizada.

Ao analisar os resultados dos trabalhos incluídos nesta revisão, observa-se que nos últimos 20 anos continua a controvérsia quanto ao valor de referência do dismorfismo eritrocitário para identificar a origem da hematúria, variando de >6,7% (KIM et al., 2019) a >80% (DONG et al., 2016), cuja a média foi de >33,2% (Tabela 3). Esta média é condizente com o valor de referência adotado pela SBPC/ML (2017) para dismorfismo eritrocitário ($\geq 40\%$). Em relação aos acantócitos, este parâmetro foi menos utilizado nos estudos do que o dismorfismo eritrocitário no geral. Para acantócitos os valores de referência variaram de $\geq 1\%$ a $\geq 7\%$ (Tabela 3). O valor de referência para acantócitos empregado pela SBPC/ML (2017) é de $\geq 5\%$, sendo um pouco mais elevado que a média encontrada na revisão (>3,5%). Em

relação aos valores de sensibilidade e especificidade para hemácias dismórficas, os mesmos variaram de 20,4 a 100% e de 30 a 100%, respectivamente. Quando considerada a porcentagem de acantócitos a sensibilidade variou de 46 a 96% e a especificidade variou de 82 a 100% (Tabela 3). Ambos os parâmetros de dismorfismo (porcentagem de hemácias dismórficas e porcentagem de acantócitos) se mostram geralmente mais específicos que sensíveis para identificar a hematúria glomerular.

Tabela 3 - Critérios de dismorfismo eritrocitário e valores de sensibilidade e especificidade para diagnóstico de hematúria glomerular

(continua)

Referências	Critério de dismorfismo	Sensibilidade	Especificidade	Metodologia
NGUYEN, 2003	10-80%*	Não informado		Microscopia de campo claro
HEINE et al., 2004	≥ 2% de acantócitos	Não informado		Microscopia de contraste de fase
	≥ 5% de acantócitos			
NAGAHAMA et al., 2005	≥ 1% de acantócitos	46%	99%	Microscopia de campo claro
ANDRADE et al., 2006	> 5% de acantócitos	Não informado		Microscopia de contraste de fase
SILVA et al., 2010	40% de eritrócitos dismórficos	90%	100%	Microscopia de campo claro
	30% de eritrócitos dismórficos	95%	100%	Microscopia de contraste de fase
OHSAKI et al., 2013	≥ 20% de eritrócitos dismórficos	100%	100%	Microscopia de campo claro
	≥ 1% de eritrócitos em forma de alvo	100%	100%	
	≥ 1% de acantócitos	87,5%	100%	

Tabela 3 - Critérios de dismorfismo eritrocitário e valores de sensibilidade e especificidade para diagnóstico de hematúria glomerular

(conclusão)

Referências	Critério de dismorfismo	Sensibilidade	Especificidade	Metodologia
OHSAKI et al., 2013	≥ 20% de eritrócitos dismórficos	87,5%	30%	Microscopia de campo claro – lâminas de citologia de base-líquida
	≥ 1% de eritrócitos em forma de alvo	81,3%	100%	
	≥ 1% de acantócitos	46,9%	100%	
MARTÍNEZ et al., 2014	≥22% de eritrócitos dismórficos	GD = 90% GV = 78%	GD = 88% GV = 84%	Microscopia de campo claro
	≥6% de acantócitos	GD = 85% GV = 85%	GD = 82% GV = 84%	
	≥41% de eritrócitos dismórficos	GD = 82% GV = 78%	GD = 82% GV = 93%	Microscopia de contraste de fase
	≥7% de acantócitos	GD = 92% GV = 96%	GD = 85% GV = 87%	
KOO et al., 2016	≥40% eritrócitos dismórficos	63,7%	72,7%	Microscopia de contraste de fase
DONG et al., 2016	>80% de eritrócitos dismórficos	25%	97%	Microscopia de contraste de fase
MARTÍNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016**	3,34x10 ⁴ /mL de acantócitos	85%	67%	Microscopia de contraste de fase
HAMADAH et al., 2017	≥25% de eritrócitos dismórficos	20,4%	96,3%	Microscopia de contraste de fase
	≥25% de eritrócitos dismórficos + proteinúria >1000mg	17,1%	98,2%	
KIM et al., 2019	>6,7% de eritrócitos dismórficos	74,5%	73,2%	Microscopia de contraste de fase
	>40,5% de eritrócitos dismórficos	70,2%	76,8%	Automação

Fonte: elaborada pela autora (2020)

Notas: GD - Grupo derivação, GV - Grupo Validação, *valores da razão acantócitos/total de eritrócitos, **dismorfismo para predizer classes proliferativas de nefrite lúpica

5 CONCLUSÃO

A análise do dismorfismo eritrocitário tem sido considerada um bom recurso para indicar a origem das hematúrias desde a sua descrição inicial a mais de 4 décadas. Entretanto, como já destacado, ainda não existe um valor percentual limítrofe de dismorfismo estabelecido para discriminar as hematúrias glomerulares das não glomerulares. A falta de um valor de referência padronizado para o dismorfismo é a principal limitação encontrada para a ampla utilização deste parâmetro por muitos laboratórios clínicos.

Os estudos incluídos nesta revisão sugerem que o dismorfismo eritrocitário e os acantócitos são capazes de diferenciar as doenças glomerulares de outras doenças renais. Os valores de sensibilidade e especificidade foram diferentes em cada estudo, de acordo com os valores de referência adotados, e, geralmente, o dismorfismo eritrocitário foi mais específico do que sensível. Este parâmetro, correlacionado com outros resultados do exame de urina, como hematúria, proteinúria e a presença de cilindros (especialmente cilindros hemáticos), parece ser uma importante ferramenta para detecção de doença glomerular. Com os dados dos artigos incluídos nesta revisão, percebeu-se que não são todas as doenças glomerulares que apresentam hemácias dismórficas. As principais glomerulopatias caracterizadas pela presença de dismorfismo eritrocitário foram a nefropatia por IgA e as glomerulonefrites. O conhecimento acerca da prevalência desse parâmetro nas diferentes glomerulopatias é de fundamental importância para o direcionamento do diagnóstico. Para que seja determinada a prevalência de hemácias dismórficas em cada doença glomerular são necessários mais estudos, contemplando pacientes representativos de cada glomerulopatia. Com esta informação, o dismorfismo eritrocitário pode contribuir ainda mais para o processo diagnóstico dessas doenças.

A principal metodologia utilizada pelos artigos incluídos nesta revisão para análise do dismorfismo foi a microscopia de contraste de fase. Porém, alguns trabalhos demonstraram ser possível empregar automação e microscopia de campo claro para este fim. Estes resultados podem colaborar para transpor uma das limitações para a ampla utilização deste parâmetro nos laboratórios: o custo da implementação da microscopia de contraste de fase, já que a maioria dos autores a utilizam e recomendam. É necessário que mais estudos sejam realizados com a

microscopia de campo claro para que esta metodologia possa ser de fato validada e extensamente reconhecida.

Em relação aos valores de referência considerados pelos estudos, observamos que os mesmos variam amplamente. Essas variações podem estar relacionadas às metodologias empregadas para preparação das amostras e análise do sedimento. Vale também destacar que os resultados dos estudos se referem à pacientes adultos. Estudos com pacientes pediátricos são também relevantes neste contexto e devem ser incluídos em investigações futuras.

Ademais, foi possível perceber que além da falta de consenso na literatura acerca dos valores de referências para o dismorfismo eritrocitário e do elevado custo da microscopia de contraste de fase, outras limitações importantes na utilização desse parâmetro na rotina laboratorial incluem a falta de treinamento dos profissionais na identificação das hemácias dismórficas e no manuseio dos equipamentos disponíveis e a variabilidade dos resultados interobservadores.

Por fim, mesmo com as limitações supracitadas, a maioria dos autores continua recomendando sua utilização para auxiliar no diagnóstico das doenças glomerulares. Ao implementar este parâmetro na rotina laboratorial, deve ser levado em consideração a metodologia de análise para determinar o valor de referência a ser utilizado.

REFERÊNCIAS

- ABREU, P. F.; REQUIÃO-MOURA, L. R.; SESSO, R. Avaliação Diagnóstica de Hematúria. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 29, n. 11, p. 158–163, 2007.
- ANDRADE, L. C. F. de et al. Acantocitúria no diagnóstico das hematúrias da nefropatia diabética, nefropatia hipertensiva e glomerulonefrites. **Hu Revista**, Juiz de Fora, v. 32, n. 1, p.7-10, jan. 2006.
- BARROS, R. T. et al. Glomerulopatias Secundárias. In: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 22. p. 416-441, 2014.
- BIRCH, D. F.; FAIRLEY, K. F. Haematuria: Glomerular or Non-Glomerular? **The Lancet**, v. 314, n. 8147, p. 845–846, 1979.
- BRUNZEL, N. A. **Fundamentals of Urine & Body Fluid Analysis**. 3. ed. St. Louis: ELSEVIER SAUNDERS, 2013.
- DONG, Z. Y. et al. Dymorphic erythrocytes are superior to hematuria for indicating non-diabetic renal disease in type 2 diabetics. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 7, n. 1, p. 115–120, 2016.
- FAIRLEY, K. F.; BIRCH, D. F. Hematuria: A simple method for identifying glomerular bleeding. **Kidney International**, v. 21, n. 1, p. 105–108, 1982.
- FASSETT, R. G.; HORGAN, B. A.; MATHEW, T. H. Detection of Glomerular Bleeding by Phase-Contrast Microscopy. **The Lancet**, p. 1432–1434, 1982.
- FASSETT, R. G. et al. Urinary red-cell morphology during exercise. **British Medical Journal**, v. 285, n. 6353, p. 1455–1457, 1982.
- FILHO, J. C. S. T.; JESUS, C. M. N. de. Avaliação de Hematúrias. In: JÚNIOR, Archimedes Nardoza; FILHO, Miguel Zerati; REIS, Rodolfo Borges dos (Orgs.). **Urologia Fundamental**. São Paulo: Planmark, p. 47–54, 2010.
- FOGAZZI, G. B.; DELANGHE, J. Microscopic examination of urine sediment: Phase contrast versus bright field. **Clinica Chimica Acta**, v. 487, p.168–173, 2018.
- GAI, M. et al. About urinary erythrocyte dysmorphism. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 17, n. 8, p. 1533–1533, 2002.
- HAMADAH, A. M. et al. Urinalysis for the diagnosis of glomerulonephritis: Role of dysmorphic red blood cells. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 33, n. 8, p. 1397–1403, 2017.
- HEINE, G. H. et al. Acanthocytes in the Urine: Useful tool to differentiate diabetic nephropathy from glomerulonephritis? **Diabetes Care**, v. 27, n. 1, p. 190–194, 2004.

KIM, H. et al. Small red blood cell fraction on the uf-1000i urine analyzer as a screening tool to detect dysmorphic red blood cells for diagnosing glomerulonephritis. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 39, n. 3, p. 277–283, 2019.

KITAMOTO, Y. et al. Differentiation of Hematuria Using a Uniquely Shaped Red Cell. **Nephron**, [s.l.]: S. Karger AG. v. 64, n. 1, p. 32-36, 1993.

KÖHLER, H.; WANDEL, E.; BRUNCK, B. Acanthocyturia - A characteristic marker for glomerular bleeding. **Kidney International**, v. 40, n. 1, p. 115–120, 1991.

KOO, K. C. et al. Diagnostic impact of dysmorphic red blood cells on evaluating microscopic hematuria: the urologist's perspective. **International Urology and Nephrology**, v. 48, n. 7, p. 1021–1027, 2016.

KOURI, T. et al. Towards European urinalysis guidelines. **Clinica Chimica Acta**, [s.l.]: Elsevier, v. 297, n. 1-2, p. 305-311, jul. 2000.

MARTÍNEZ, M. G. et al. Comparison of different methods of erythrocyte dysmorphism analysis to determine the origin of hematuria. **Nephron - Clinical Practice**, v. 128, n. 1–2, p. 88–94, 2014.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, M. U. et al. Urinary sediment suggests lupus nephritis histology. **Lupus**, [s.l.], v. 26, n. 6, p. 580-587, 29 set. 2016.

MUNDIM, J.S.; WORONIK, V. Síndromes Glomerulares. *In*: TITAN, Silvia (Org.). **Princípios Básicos de Nefrologia**. [s.l.]: Artmed Editora Ltda, p. 13–23, 2013.

MUNDT, L. A.; SHANAHAN, K. **Exame de Urina e de Fluidos Corporais de Graff**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

NAGAHAMA, D. et al. A useful new classification of dysmorphic urinary erythrocytes. **Clinical and Experimental Nephrology**, v. 9, n. 4, p. 304–309, 2005.

NGUYEN, G. K. Urine cytology in renal glomerular disease and value of G1 cell in the diagnosis of glomerular bleeding. **Diagnostic Cytopathology**, v. 29, n. 2, p. 67–73, 2003.

OHSAKI, H. et al. Diagnostic value of urine erythrocyte morphology in the detection of glomerular disease in SurePath™ liquid-based cytology compared with fresh urine sediment examination. **Cytopathology**, v. 24, n. 1, p. 52–57, 2013

RAMAN, G. V. et al. A Blind Controlled Trial of Phase-Contrast Microscopy by Two Observers for Evaluating the Source of Haematuria. **Nephron**, [s.l.], S. Karger AG, v. 44, n. 4, p. 304-308, 1986.

SCHUETZ, E. et al. Effect of Diuresis on Urinary Erythrocyte Morphology in Glomerulonephritis. **Klin Wochenschr**, Austria, v. 63, n [s.l.], p. 575-577, mar. 1985.

SILVA, G. E. B. et al. Evaluation of erythrocyte dysmorphism by light microscopy with lowering of the condenser lens: A simple and efficient method. **Nephrology**, [s.l.], v. 15, n. 2, p.171-177, mar. 2010.

SILVA, V. dos S. et al. Glomerulonefrites Primárias. In: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 21. p. 391-416, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML) (Brasil). **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): coleta e preparo da amostra biológica**. 1. ed. Barueri: Manole Ltda., 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML) (Brasil). **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais**. 1. ed. Barueri: Manole Ltda., 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML) (Brasil). **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): realização de exames em urina**. 1. ed. Barueri: Manole Ltda., 2017.

STRASINGER, S. K.; DI LORENZO, Marjorie Schaub. **Urinálise e Fluidos Corporais**. 5. ed. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2009.

TOMITA, M. et al. A new morphological classification of urinary erythrocytes for differential diagnosis of glomerular hematuria. **Clin Nephrol**, [s. l.], v.37, p.84-89, 1992.