

IMPORTÂNCIA DIAGNÓSTICA DA DISMORFIA ERITROCITÁRIA NO ESTUDO DA HEMATÚRIA

M^a ISABEL DANIEL, JOAQUIM BORDALO

Serviço de Patologia Clínica. Hospital Dona Estefânia. Serviço Nefrologia. Hospital Curry Cabral. Lisboa.

RESUMO

O Patologista Clínico frequentemente é confrontado com o pedido de pesquisa de eritrócitos dismórficos no sedimento urinário para avaliação da hematúria. A observação de eritrócitos na urina é um achado comum no dia a dia, porém a dificuldade coloca-se em saber quando é que a sua presença tem realmente valor diagnóstico. No presente artigo de revisão, são abordados os últimos conceitos sobre dismorfia eritrocitária na urina, principalmente o acantócito, e a sua importância no diagnóstico diferencial da hematúria.

SUMMARY

Urinary Dysmorphic Red Cells in Hematuria - Value in Diagnosis

The Clinical Pathologist often faces the request for the research of dysmorphism in urinary erythrocytes for evaluation of hematuria. Red cells with a different shape in the urinary sediment is usual but it is difficult to know when its presence has really diagnostic meaning. The last concepts about dysmorphic erythrocytes in urine, mainly the acanthocyte, and its importance in the differential diagnosis of hematuria are presented in this review.

INTRODUÇÃO

O Patologista Clínico frequentemente observa o sedimento urinário seja por simples rotina ou porque o clínico deposita no seu resultado alguma expectativa.

Sendo uma amostra de fácil acesso, pode ser repetida as vezes que forem necessárias e não necessita de meios técnicos sofisticados permitindo na maioria das vezes uma informação útil em termos diagnósticos.

Nos últimos anos o Patologista Clínico tem sido confrontado com o pedido frequente de pesquisa e quantificação percentual de eritrócitos dismórficos para a avaliação da hematúria.

Esta anomalia urinária foi durante as décadas de 60 e 70 estudada por vários clínicos e patologistas, altura em que foi realçado o enorme valor do exame microscópico do sedimento urinário constituindo uma das "artes" mais

antigas da medicina.

Por vezes é a sua detecção na urina de doentes que recorrem ao médico apenas com sintomatologia inespecífica que contribui para o diagnóstico de anomalias urinárias.

A observação de eritrócitos com alteração da sua forma no sedimento urinário, é um achado comum no dia a dia, porém a dificuldade coloca-se em saber quando é que a sua presença tem realmente valor diagnóstico.

Quando a excreção eritrocitária está aumentada e existe uma grande diversidade de formas e tamanhos, o sedimento urinário assume um aspecto bastante característico. Contudo quando o número de eritrócitos por campo é reduzido embora apresentem alterações na sua morfologia e tamanho, é difícil de precisar o limite a partir dos quais essa dismorfia inespecífica é de valorizar.

Nestes últimos anos são vários os estudos que suscitaram algum consenso quanto à definição e importância da dismorfia eritrocitária.

Este trabalho destina-se a rever os últimos conceitos sobre alterações da morfologia eritrocitária na hematúria.

DEFINIÇÃO

A hematúria é definida como a excreção de uma quantidade anormal de eritrócitos na urina.

No indivíduo normal, em condições basais, um pequeno número de eritrócitos é excretado na urina.

Menos de 3% dos indivíduos do sexo masculino excretam mais de 3 eritrócitos por campo (ampliação 400x). Este valor é vulgarmente aceite como o limite superior do normal¹.

Uma aumentada eritrocitúria pode ocorrer no decurso da actividade física prolongada, febre ou noxa por alteração hemodinâmica renal, principalmente glomerular².

Igualmente, pode ser um sinal de doença renal (glomerulonefrite, nefrite intersticial, tumor de Grawitz) ou das vias excretoras (tumor do urotélio, nefrolitíase, infecção urinária) ou consequência de doença sistémica (LES, vasculite) que secundariamente afectou o rim.

DETECÇÃO

A detecção de eritrócitos na urina é relativamente simples mas a separação nítida entre a excreção normal e a anormal pode ser dificultada especialmente quando se usa metodologia semiquantitativa.

A amostra da urina deve, por rotina, ser colhida para recipiente estéril e processada no mais curto espaço de tempo. Se não for possível a sua observação, logo após a emissão, deve ser refrigerada a 2°- 8°C.

As características macroscópicas (cor e turvação) deverão ser anotadas sendo cada amostra sujeita a análise semiquantitativa através de tira-reagente que entre vários parâmetros determina a presença de sangue (eritrócitos e hemoglobina) na urina.

A tira-reagente impregnada de orthotuilidina dá um resultado positivo no sedimento ressuspendido numa amostra de urina que contenha cinco ou mais eritrócitos por campo (ampliação 400x). Na presença de mioglobinúria pode ocorrer falsos positivos na tira-reagente na qual se observa um padrão uniforme, sendo ponteados na presença de hemoglobinúria. Podem haver falsos negativos nos doentes que tomem grandes quantidades de vitamina C (ácido ascórbico)¹.

QUANTIFICAÇÃO

A quantificação da celularidade urinária é executada,

por rotina, depois de uma boa homogeneização da amostra, retirando-se 10 ml de urina que são centrifugados a 1.200 r.p.m. durante dez minutos. O sobrenadante é decantado e o sedimento ressuspendido, é colocado entre lâmina e lamela para exame microscópico.

Na observação do sedimento, no indivíduo normal, é aceite como limite superior três eritrócitos por campo (ampliação 400x). Estando o seu número dependente do maior ou menor grau de concentração, a observação do sedimento deverá ser efectuada num número de campos proporcional à contagem de eritrócitos, isto é, quanto menor for esta maior o número de campos a observar.

Usando testes quantitativos minutados (contagem de Addis), indivíduos normais excretam menos de 500.000 eritrócitos por dia. A contagem de Addis é controversa porque além dos erros inerentes à técnica é influenciada pela diurese, febre, exercício, stress, osmolaridade urinária, etc.

Na contagem directa dos eritrócitos numa amostra recém emitida, é aceite como limite superior do normal 8.000 eritrócitos por mililitro.

Este número mostrou ser um valor muito alto quando comparado com os 2.000 eritrócitos por mililitro obtidos por microscopia electrónica após filtração das amostras de urina. Através desta técnica todos os eritrócitos são contados sendo portanto mais sensível do que a contagem directa ou o método clássico por microscopia de rotina após centrifugação³.

Contudo, estudos têm demonstrado que não há correlação directa entre a quantificação da hematúria e a gravidade da doença nefrourológica, no entanto esta tem revelado alguma utilidade na avaliação longitudinal do mesmo indivíduo¹.

ESTUDO QUALITATIVO

Independentemente da quantidade interessa mais o estudo qualitativo do sedimento urinário, como seja o seu tipo morfológico (isomorfismo, dismorfismo) ou a presença de outros elementos, nomeadamente cilindros eritrocitários e proteinúria significativa. A presença concomitante destes indicia a sua origem renal (glomerulonefrite).

A hemólise dos eritrócitos (urina hipotónica ou amostra armazenada durante horas à temperatura da sala) pode alterar o valor da proteinúria devido à hemoglobina libertada, mas esse aumento em termos semiquantitativos não excede as 2+ (tira-reagente) e não mais do que 1 grama de proteínas por dia numa amostra de urina quantificada em tempo definido. Tal influência pode ser avaliada por electroforese das proteínas na urina, uma

vez que a hemoglobina migra como uma betaglobulina¹.

DISMORFIA ERITROCITÁRIA

Desde há muito tempo que a presença de eritrócitos na urina com alterações da sua forma levou a questionar a sua importância quanto à origem.

Já em 1948 Addis fizera referência à presença de eritrócitos dismórficos na urina de doentes com glomerulonefrite.

Inicialmente, tentaram correlacionar os diferentes tipos de dismorfia com a clínica, tendo sido descritas várias formas segundo uma classificação hematológica: Anulocito; Discocito; Equinocito; Codocito; Estomatocito; Esquisocito; Células fantasma e Acantocito^{4,5} (Figura 1).

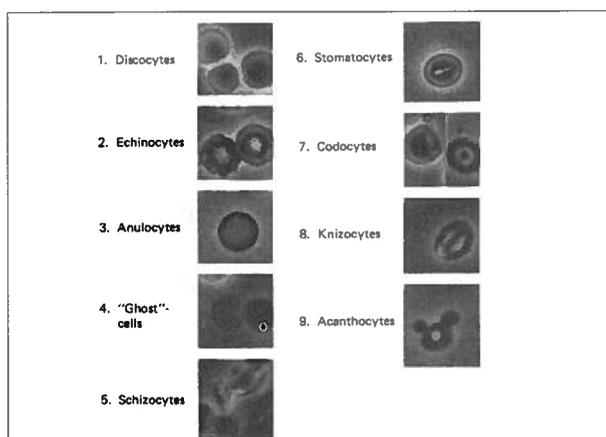


Fig. 1 - Morfologia eritrocitária na urina, segundo a classificação de Bessis

Mais tarde, verificaram que o aspecto morfológico destes eritrócitos era diverso consoante a sua proveniência.

Em 1979, Fairley e Birch referiram que a origem da hematúria poderia ser presumida com base na morfologia dos eritrócitos na urina. A hemorragia glomerular foi caracterizada por eritrócitos dismórficos com variação no tamanho e forma, enquanto na hemorragia não glomerular os eritrócitos apresentavam-se isomórficos ou normomórficos⁶.

Outros autores utilizaram as curvas de distribuição de volume dos eritrócitos urinários através do estudo da urina por citometria de fluxo (*autoanalyzer*) como método de diagnóstico diferencial entre a hematúria glomerular e não glomerular. Na primeira foi observado um volume globular dos eritrócitos significativamente menor (microcíticos) do que na hematúria não glomerular⁷⁻¹².

Birch e Fairley, em 1983, atribuíram essas alterações à passagem dos eritrócitos ao longo do tubo por exposição a uma variedade de estímulos tais como alterações na densidade e pH¹³.

Jai-Trung et al, em 1983, sugeriram que a lesão física ocorreria aquando da passagem das células através da membrana basal do glomérulo ou poderia resultar da actividade fagocítica das células epiteliais tubulares ou ainda, a combinação destes factores. Daí resultando uma grande diversidade de alterações morfológicas, incluindo perda da hemoglobina, formação de espiculado ou projecções da membrana e variação no tamanho das células¹⁴.

Contudo, o mecanismo pelo qual estas alterações ocorrem, ainda hoje, não foi totalmente esclarecido.

Por outro lado, algumas células dismórficas podem ser fácil e reversivelmente induzidas por alteração da osmolaridade, pH ou simplesmente pela sobreposição da lamela.

Quanto à quantificação do dismorfismo há uma considerável indefinição na literatura. Isto resulta, em grande parte, da interpretação individual e da dificuldade que há em definir essa dismorfia, nem sempre fácil devido à coexistência frequente de várias formas eritrocitárias bem como à enorme variação nas suas dimensões e, à transformação dinâmica e reversível nas diferentes formas. Essa dificuldade aumenta quando nos é solicitada a contagem percentual da dismorfia.

Há autores que consideram que o número de morfologias do eritrócito é um bom indicador da sua origem; se inferior a três é compatível com hematúria não glomerular, se superior a três sugere hematúria glomerular^{6,13}.

Daí encontrarem-se na bibliografia diversos valores quanto à percentagem de eritrócitos dismórficos tomados como indicador de hemorragia glomerular.

Há várias referências; umas apontam 80% de eritrócitos dismórficos como diagnóstico de hemorragia glomerular^{15,16,22}, outras valores de 75%³, 40%¹⁷ e 10%¹⁸.

A principal razão para estas diferenças resulta da polémica definição do que é dismórfico.

Posteriormente efectuaram-se estudos que permitiram correlacionar o tipo morfológico com as lesões histológicas encontradas em biópsias renais dos doentes estudados^{3,19,20}.

Esses estudos vieram a demonstrar ser pouco específico de hemorragia glomerular a presença de eritrócitos dismórficos com excepção de um tipo particular de dismorfia, o acantocito¹⁹. O acantocito é um eritrócito com alterações na sua membrana celular, assumindo esta forma com protuberâncias vesiculares. (Figura 2)

O acantocito para além de não sofrer a influência de factores exógenos mostrou uma boa correlação com os resultados histológicos (especificidade 98% e uma sensibilidade de 52%) e tem valor indicativo mesmo com

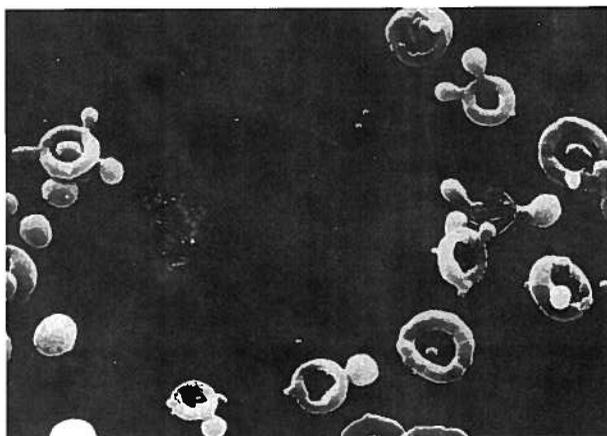


Figura 2 - Acanthocitos observados por microscopia electrónica (x 1000)

baixas contagens de eritrocitos¹⁹.

Foi demonstrado que a especificidade do acantocito é mais elevada para o diagnóstico de doença glomerular quando comparado com os cilindros eritrocitários e tem valor diagnóstico tanto maior quanto menor for o grau da hematuria¹⁹.

Estas conclusões são suportadas pelos estudos de Pollock et al, os quais encontraram dismorfia eritrocitária na hematuria após biópsia renal, indicando que o dismorfismo não é específico de hemorragia glomerular³.

Tais células dismórficas apresentam melhor definição em microscopia de contraste de fase^{19,21} muito embora a observação microscópica de rotina (ampliação 400x) permita também fazer o seu reconhecimento.

Quando o exame é repetido após 1 hora não se obtêm resultados diferentes na morfologia eritrocitária no entanto às 24 horas a morfologia varia bastante, desde pequenas alterações, tais como ligeira irregularidade da superfície do eritrocito a marcadas alterações como seja a perda da hemoglobina, ocorrência de esquizocitos e células fantasma. Contudo não se detectam os acantocitos em qualquer dos casos¹⁹.

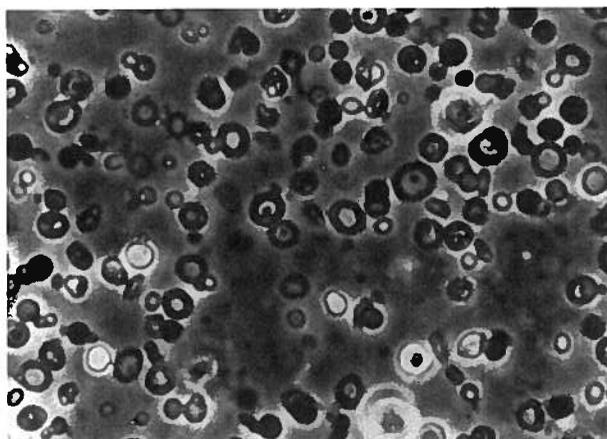


Figura 3 - Padrão glomerular dos eritrocitos por microscopia de contraste de fase (x 1600)

CONCLUSÃO

O exame do sedimento urinário é um exame efectuado por rotina, de fácil execução e baixo custo, no entanto, é um importante método auxiliar de diagnóstico no estudo da hematuria ao permitir não só a sua quantificação mas, sobretudo, avaliar as características morfológicas dos eritrocitos, especialmente a sua forma e o seu tamanho indiciando assim a sua origem.

Em termos semiquantitativos a urina normal contém menos de três eritrocitos por campo (ampliação 400 x). Importa, portanto, referir a presença de eritrocitos na urina para além dos valores considerados *normais*.

A análise qualitativa da dismorfia eritrocitária é útil no diagnóstico diferencial entre a hemorragia glomerular e não glomerular.

Uma elevada percentagem de formas diferentes de eritrocitos no sedimento urinário é um sinal característico de hematuria glomerular e corresponde geralmente à presença de acantocitos. Assim, sempre que existam diferentes tipos de morfologia eritrocitária especialmente o acantocito é importante que o patologista refira a sua presença.

A quantificação percentual de eritrocitos dismórficos continua a constituir na prática um difícil exercício para o patologista, face à dificuldade em definir com rigor a dismorfia e à ausência de um método estandardizado estando, portanto, o resultado dependente da experiência do observador.

A acantocitúria é específico de hemorragia glomerular e sempre que o estudo da hematuria o justifique sugere-se a sua observação por microscopia de contraste de fase, no entanto, um observador atento visualiza-a também por microscopia óptica.

Na prática clínica a especificidade e especialmente a sensibilidade do diagnóstico de hemorragia glomerular aumenta quando coexistem acantocitos, cilindros eritrocitários e proteinúria.

Ao caracterizar este tipo de morfologia eritrocitária o patologista clínico poderá contribuir, seguramente para um estudo mais dirigido do doente.

BIBLIOGRAFIA

- GLASSOCK RJ : Hematuria and Pigmenturia. In Massry & Glassock's ed. Textbook of Nefrology. Baltimore: Williams & Wilkins 557-66, 1995
- BORDALO J : Alterações urinárias induzidas pelo esforço físico. Rev Port Med Desp 11:145-50, 1993
- POLLOCK C, PEI-LING L, GYORY AZ, GRIGG R, GALLERY EDM, CATERSON R, IBELS L, MAHONY J, WAUGH D : Dymorphism of urinary red blood cells - Value in diagnosis. Kidney Int 36: 1045-9, 1989.
- BESSIS M : Red cell shapes. An illustrated classification and its

- rationale. *Nouv Rev Fran Hémat* 12: 721-46, 1972.
5. LESSIN LS, BESSIS M : Morphology of the erythron. In *Hematology* (2nd ed), McGraw-Hill Book Company 103-34, 1977.
 6. BIRCH DF, FAIRLEY KF : Hematuria: Glomerular or non-glomerular. *Lancet* II: 845-6, 1979.
 7. DOCCI D : Detection of glomerular bleeding by urinary red cell distribution. *Nephron* 50:380-2, 1988
 8. DOCCI D, BALDRATI L, TURCI F : Microcitic hematuria is a indicator of glomerular bleeding. *Am J Nephrol* 8:344-5, 1988
 9. TSUKAHARA H : Urinary erythrocyte volume analysis: A simple method for localising the site of hematuria in paediatric patients. *J Pediatr* 115(3):433-6, 1989
 10. BANKS RA, REYNOLDS S, HANBURY D : Identification of the source of hematuria by automated measurement of red cell volume. *B J Urol* 64:45-8, 1989
 11. GIBBS DD, LYNN KL : Red cell volume distribution curves in diagnosis of the glomerular and non-glomerular hematuria. *Nephron* 44:366-7, 1990
 12. DOCCI D : Urinary red blood cell volume analysis in investigation of hematuria. *Nephrol Dial Transplant Suppl* 1:69-70, 1990
 13. BIRCH DF, FAIRLEY KF, WHITWORTH JA, FORBES IK, FAIRLEY JK, CHESIRE GR, RYAN GB : Urinary erythrocyte morphology in the diagnosis of glomerular hematuria. *Clin Nephrol* 20:78-84, 1983.
 14. JAI-TRUNG L, HIROYOSHI W, HIROSHI, MASUJI H, HISAKI T, FUMIKO U, AKIRA S, KOJI N, KIYOYASU N : Mechanism of hematuria in glomerular disease. *Nephron* 35:68, 1983.
 15. CHANG BS : Red cell morphology as a diagnostic aid in hematuria. *J Am Med Assoc* 252:1747-9, 1984
 16. FASSETT RG, HORGAN BA, MATHEW TH : Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. *Lancet* 14:32-4, 1982.
 17. RIZZONI G, BRAGGION F, ZACCHELLO G: Evaluation of glomerular and non-glomerular hematuria by phase contrast microscopy. *J Pediatr* 103:370-4, 1983.
 18. STAPLETON FB : Morphology of urinary red blood cells: A simple guide in localising the site of hematuria. *Paediatr Clinic NA* 34:561-9, 1987
 19. KOHLER H, WANDEL E, BRUNK B : Acanthocyturia - A characteristic marker for glomerular bleeding. *Kidney Int* 40:115-20, 1991.
 20. RATH B, TURNER C, HARTLEY B : What makes red cells dis-morphic in glomerular hematuria. *Pediatr Nephrol* 6:424-7, 1993.
 21. CROMPTON CH, WARD PB, HEWITT IK : The use of urinary red cell morphology to determine the source of the hematuria in children. *Clin Nephrol* 39:44-9, 1993.
 22. PAOLO ND, GAROSI G, ROSSI P, CAPOTONDO L, PAOLO MD : A new method of evaluating urinary erythrocyte dysmorphism in glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 39:50-2, 1993.