

## Doporučení ČHS ČLS JEP

### Schistocyty – identifikace, kvantifikace a diagnostický přínos

*Zpracovaly:* J. Juráňová, D. Mikulenková

*Schwáleno:* Výborem ČHS ČSL JEP (14.4.2014)

*Platnost od:* 1.5.2014

*Verze:* 1. verze

*Aktualizace:* ---

#### 1. Úvod

Toto doporučení vzniklo z potřeby hematologických laboratoří v ČR sjednotit terminologii pro mechanicky poškozené erythrocyty, sjednotit kritéria pro identifikaci schistocytů a jejich kvantifikaci. Rovněž nabízí návod, jak podávat informace lékařům o přítomnosti poškozených erythrocytů v nátěru periferní krve.

Kromě nesouladu v terminologii (fragmentocyty? schistocyty? skořápky?), dále v morfologickém popisu schistocytů nebo ve výběru posuzované oblasti (optimální místo v krevním nátěru), existuje i rozdíl v metodě jak vyjádřit jejich zastoupení, buď kvalitativně (celkový přehled se slovním hodnocením schistocyty přítomny/nepřítomny) a/nebo kvantitativně (stanovení počtu schistocytů). V neposlední řadě existuje i rozdílnost ve sdělení informace o přítomnosti schistocytů v krevním nátěru lékařům.

Nedostatek standardizace může vést k nedůslednosti nebo k nesprávné diagnostice, která ovlivňuje léčbu a klinický výsledek. Doporučení vychází z mezinárodního ICSH doporučení.

#### 2. Definice

**Schistocyty** nebo **schizocyty** (z řeckého slova **schisto**, tzn. rozdrčený či rozštěpený) jsou cirkulující fragmenty červených krvinek, které vznikají mechanickým poškozením v krevním oběhu. Jednoznačným (ale ne jediným) mechanismem tvorby schistocytů je mechanické poškození membrány způsobené fibrinovými vlákny na endoteliálním povrchu v mikrocirkulaci a/nebo i zároveň nadměrnou turbulencí krve při abnormalitách kardiovaskulárního systému.

#### 3. Mikroskopická identifikace schistocytů

Schistocyty jsou identifikovány specifickými pozitivními morfologickými kritérii. Jsou vždy menší, než nepoškozené erythrocyty a chybí jim centrální projasnění. Za schistocyty jsou považovány:

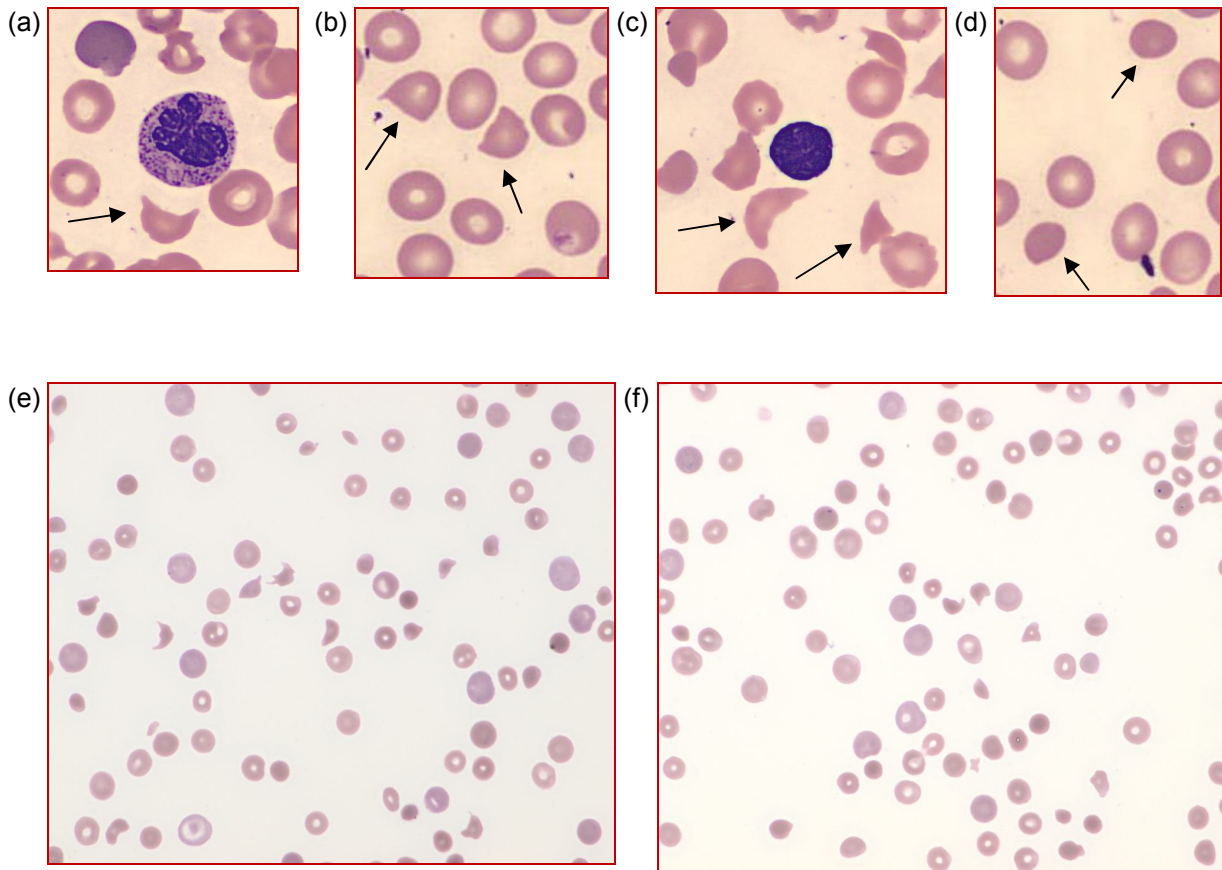
1. **malé fragmenty různého tvaru**, někdy s ostrými úhly nebo výběžky (trojúhelníky), s rovnými hranicemi nebo někdy se zakulacením na jedné straně (mikropůlměsíce), často zakřivené, obvykle se tmavěji barví, občas světleji v důsledku ztráty hemoglobinu v době fragmentace. Mikropůlměsíce je třeba rozlišovat na základě jejich velikosti od nevratně změněných srpkovitých buněk (drepanocytů) charakteristických pro onemocnění srpkovitá anémie.
2. **helmovité buňky** („**přilbovité erythrocyty**“), kterými jsou poškozené erythrocyty s jednou (vzácně dvěma) amputovanou oblastí zvýrazněnou rovnou hranicí s ostrými hranami zakřivení.
3. poškozené buňky větší než malé fragmenty, které mají jeden pár fragmentů oddělených půlkruhovým konkávním tvarem membrány – jsou to **keratocyty** (buňky charakteru „kočičí

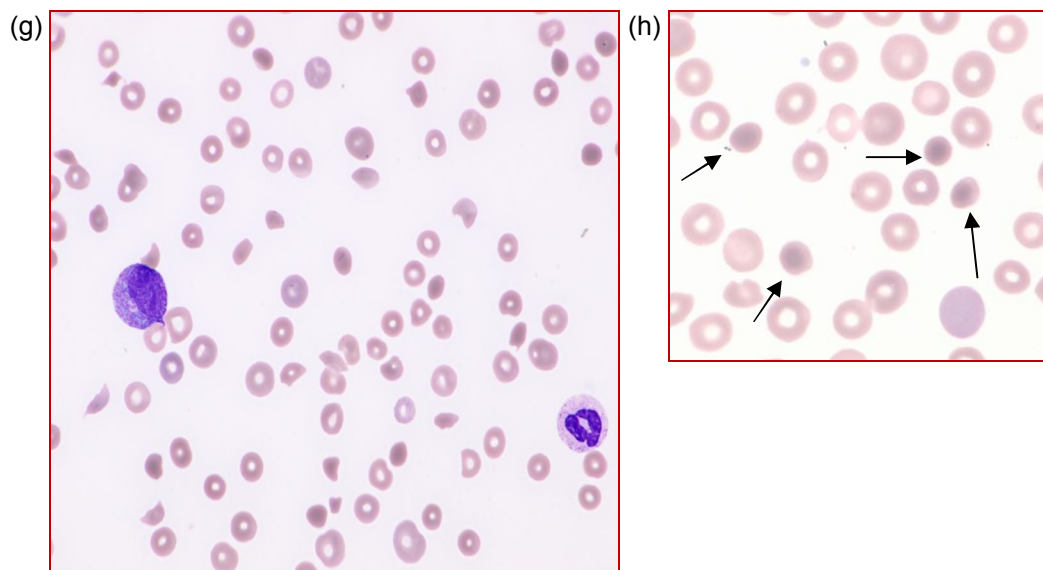
hlavy“, buňky s malými rohy). Jsou vytvořeny prasknutím jedné nebo více periferních pseudovakuol a následnou fúzí buněčné membrány.

4. **mikrosférocyty** nebo **sféroschistocyty**, což jsou miniaturní kulaté erythrocyty bez projasnění centrální zóny. Mikrosférocyty jsou sekundárním projevem fragmentace a měly by být zahrnuty do počtu schistocytů pouze v přítomnosti schistocytů, které jsou uvedené v bodech (1) až (3). Neměly by být zaměňovány za sférocyty nacházející se u dědičné sférocytózy nebo v rámci imunitní hemolýzy, u které však nejsou sférocyty tak malé.

**Obrázek 1.** Typické tvary pro konkrétní identifikaci schistocytů.

- (a) **keratocyt** (pod segmentem), (b) dvě **helmovité buňky** (šipky),  
(c) **trojúhelníkový schistocyt** (v pravém dolním rohu) s **půlměsícem** (nalevo od něho),  
(d) dva **mikrosférocyty** (v pravém horním rohu a v levém dolním rohu),  
(e) – (g) morfologické abnormality erythrocytů u trombotické trombocytopenické purpury (TTP),  
(h) **mikrosférocyty** (šipky).





#### 4. Kvantitativní a kvalitativní mikroskopické hodnocení schistocytů

Krevní nátěr je po zaschnutí obarven podle standardních postupů pro panoptické barvení nebo je nátěr a jeho obarvení provedeno na automatech (viz. Doporučení ČHS).

K mikroskopickému početnímu hodnocení se používají objektivy se středním zvětšením ( $40\times$ ,  $50\times$  nebo  $60\times$ ) a s velkým zvětšením ( $100\times$  za použití imerzního oleje) a v kombinaci s okulárem o zvětšení  $10\times$  nebo  $12,5\times$ . Za těchto podmínek by měly být všechny atypické tvary poměrně snadno vidět v několika polích.

Oblast hodnocení nátěru ovlivňuje identifikaci schistocytů. Optimální místo pro hodnocení je na konci nátěru (tam, kde se erythrocyty začínají od sebe oddělovat).



**Obrázek 2.** ukazuje optimální místo pro hodnocení schistocytů v nátěru periferní krve.

Výsledek je vyjádřen jako počet schistocytů/1000 erythrocytů po spočítání alespoň 1000 erythrocytů v optimální části nátěru. Kvantitativně se tedy schistocyty udávají jako počet schistocytů na 1000 erythrocytů (např. 10/1000 ery).

Kvalitativně hodnotit přítomnost schistocytů (přítomny a/nebo nepřítomny) nedoporučujeme.

#### 5. Normální rozmezí

Normální rozmezí schistocytů u dospělých je v laboratořích špatně definované a různě referované. V literatuře neexistuje konsensus na numerickou horní mez pro zdravé dospělé, která je v obecné praxi nastavena  $> 10/1000$  erythrocytů.

**Počet schistocytů  $>10/1000$  erythrocytů v nátěru periferním krve u dospělých je silný**

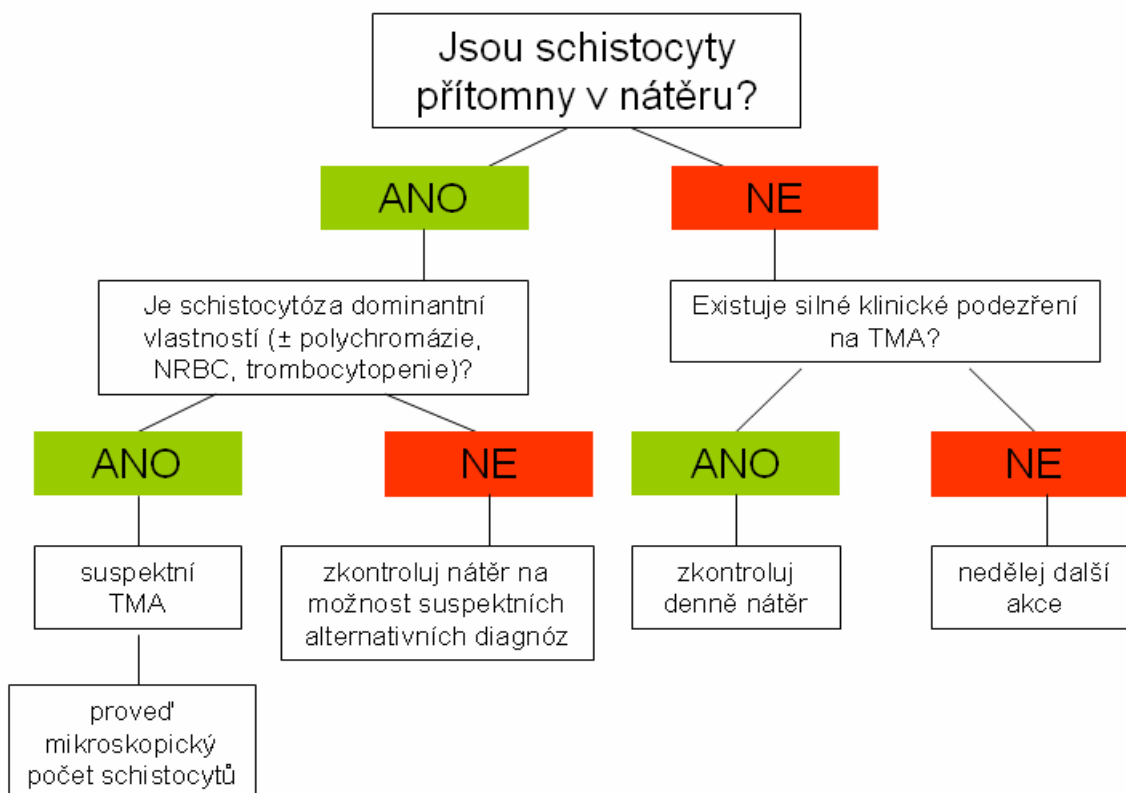
**morfologický ukazatel pro diagnostiku** trombotické mikroangiopatické anémie (TMA), další podezření na jinou diagnózu musí ale chybět.

Pokud schistocyty nejsou přítomny a existuje vysoké podezření na TMA, pak by se krevní nátěr měl opakovaně provádět denně, protože vzhled a počet schistocytů může být občas opožděn o několik dní. Ve vzácných případech se schistocyty v průběhu TMA nezobrazí vůbec.

Pro diagnostiku s transplantací související TMA je doporučována vyšší (40/1000 erytrocytů) horní mez.

Diagnózu TMA podporuje trombocytopenie v krevním obraze, zvýšená (někdy až extrémně) hladina laktát dehydrogenázy, Coombs negativní hemolytická anémie, snížená hladina haptoglobinu a klinický stav pacienta (krvácení při trombocytopenii, porucha vědomí či renální insuficience atd.).

**Obrázek 3.** uvádí vývojový diagram (algoritmus) jako praktické doporučení pro použití počtu schistocytů při diagnostice TMA (dle B. J. Bainové).



**Poznámka:** Nejnovější generace analyzátorů krvinek nedávno zavedla automatický počet fragmentů erytrocytů (FRC, RBCf) jako screeningovou metodu s dobrou sensitivitou, ale špatnou specifitou pro detekci schistocytů spojených s dg. TMA. Zatím ale v rámci ČR neexistují podklady pro přijetí tohoto mezinárodního doporučení.

## 6. Diagnostický přínos

**Počet schistocytů je v praxi smysluplný a klinicky významný, pokud schistocyty zaujmají v nátěru hlavní morfologickou abnormalitu erytrocytů.**

V krevním nátěru zdravých jedinců se schistocyty obvykle nevyskytují nebo jen velmi zřídka. Nález schistocytů v periferní krvi (a to zejména v případě absence dalších morfologických abnormalit erytrocytů) by měl vést k rychlému vyšetření na přítomnost TMA (též mikroangiopatická hemolytická anémie (MAHA)) hlavně u dvou syndromů, které jsou důležité z pohledu urgentní diagnostiky a léčby, a to u trombotické trombocytopenické purpury (TTP) a u hemolyticko-uremického syndromu (HUS). Přítomnost schistocytů, neimunitní hemolýza i s projevy těžké anémie a trombocytopenie mohou komplikovat i další onemocnění z různých klinických oborů. Schistocyty jsou např. typickým důsledkem mechanického poškození erytrocytů u HELLP syndromu (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets - vážná komplikace v **těhotenství** s výraznou mortalitou a morbiditou až 40%). Vyskytují se v nátěru periferní krve u pacienta s maligní hypertenzí, u pacienta s metastazujícím karcinomem, dále též v rámci abnormality srdečních chlopní levého srdce či velkých cév, kdy navíc působí nadměrná turbulence krve (např. aortální stenóza, perivalvulární leak u špatně fungující umělé aortální či mitrální chlopně, arterio-venosní shuntů atd.).

**Kvantitativní hodnocení je důležité pro diagnózu a monitoring pacientů s TTP i pro monitoring pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk, ve kterém je TMA častou a závažnou komplikací, a mělo by být prováděno pouze v případě, že schistocyty jsou dominantní abnormalitou v nátěru.**

Fragmenty erytrocytů podobné schistocytům se též mohou nacházet u non-TMA onemocnění jako jsou genetické nebo získané poruchy červených krvinek (např. RBC membránové vady, talasemie, megaloblastová anémie, primární myelofibróza a tepelná poranění). V těchto případech ale mají schistocyty velmi různorodé tvary a zároveň je patrná výrazná anizopoikilocytóza erytrocytů a morfologické změny erytrocytů, které nejsou specifické pro diagnózu TMA.

Schistocyty spolu s mikrosférocyty mohou být viděny (obvykle v malém počtu) u diseminované intravaskulární koagulace (DIC) a v rámci septického stavu. Nicméně počet schistocytů v těchto případech má jen zřídka specifickou klinickou diagnostickou hodnotu.

**U TTP a souvisejících onemocnění jsou schistocyty hlavní morfologickou abnormalitou, někdy je patrná mírná stimulace erytropoezy jako důsledek intravaskulární hemolýzy (polychromázie, bazofilní tečkování a cirkulující erytroblasty).**

Lékařům doporučujeme urgentně podávat informace jen o počtech schistocytů v rámci vstupní dg. TTP v rámci monitorace léčby TTP, u vzorků od pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk související s projevy TMA. Kvalitativní hodnocení přítomnosti schistocytů (přítomny, a/nebo nepřítomny) nemá diagnostický význam, ani nepomáhá v monitoraci TMA, proto ho nedoporučujeme.

V závěrečném komentáři mikroskopického hodnocení nátěru periferní krve je třeba uvést, zda jsou schistocyty hlavní morfologickou abnormalitou erytrocytů v nátěru (oznámít podezření na TMA), a/nebo jsou součástí závažné generalizované anizopoikilocytózy, a/nebo se vyskytují v souvislosti s jinými poruchami, což ukazuje na jinou diagnózu (diagnóza TMA je méně pravděpodobná a měla by být potvrzena dalšími testy).

Sférocyty, nepravidelně smršťené buňky, dakryocyty, akantocyty a echinocyty, jakož i „vykousnuté“ buňky (bite cells), které jsou charakteristické pro oxidační poškození erytrocytů,

by neměly být zahrnuty do počtu schistocytů (bite cells - buňky s malou mezerou v profilu, která má tvar vyražené kontury razítkem, vzniká „vykousnutím“ precipitovaného hemoglobinu ve slezině po oxidačním stresu u deficitu G-6-fosfátdehydrogenázy, u nestabilních hemoglobinů, v rámci hemoglobinopatií, atd.).

Velmi malé, kulaté, nepravidelné, vroubkované nebo zkřivené a mikropuchýřkovité erythrocyty při výrazné anizopoikilocytóze by rovněž neměly být zahrnuty do počtu schistocytů. Jsou někdy pozorovány spolu s typickými schistocyty u popálenin, talasemie major nebo intermedia, primární myelofibrózy, megaloblastové anémie, vrozené sideroblastické a dyserythropoetické anémie, dlouhotrvajícího nedostatku železa a těžké myelodysplasie.

## 7. Použité zkratky

ICSH	The International Council for Standardization in Hematology (Mezinárodní rada pro standardizaci v hematologii)
ČHS	Česká hematologická společnost
ČLS	České lékařská společnost
TMA	Trombotická mikroangiopatická anémie
MAHA	Mikroangiopatická hemolytická anémie
FRC, RBCf	Počet fragmentů erythrocytů (hodnota z analyzátoru)
RBC	Red blood cell (erythrocyt)
HELLP syndrom	Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets
DIC	Diseminovaná intravaskulární koagulace

## 8. Literatura

G. Zini, G. D'Onofrio, C. Briggs, W. Erber, J. M. Jou, S. H. Lee, S. McFadden, J. L. Vives-Corrons, N. Yutaka, J. F. Lesesve: ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. Blackwell Publishing Ltd, *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2012, 34, 107 – 116.

S. M. Lewis, B. J. Bain, I. Bates: Dacie and Lewis Practical haematology. Churchill Livingstone, ninth edition, 2001. 78-79.