



Česká hematologická
společnost ČLS JEP

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

Schistocyty – identifikace, kvantifikace a diagnostický přínos

Zpracoval: J. Juránová, D. Mikulenková

Revize: J. Juránová, D. Mikulenková

Recenzent: Členové laboratorní sekce ČHS ČLS JEP

Schváleno Laboratorní sekcí ČHS ČLS JEP: 29.11.2019

Schváleno výborem ČHS ČLS JEP: 2014

Verze: 1, revize 1

Platnost od: 11.12.2019

Přechodné období (platí i nahrazovaný dokument) do: 11.3.2020

Poznámky:

Tento dokument nahrazuje doporučení České hematologické společnosti ČLS JEP *Schistocyty – identifikace, kvantifikace a diagnostický přínos* platné od 1.5.2014.

Změny oproti předešlému dokumentu jsou vyznačeny modrou kurzívou.

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 schistocytů 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.

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.

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 srpkovitou anémií.
2. **helmovité buňky** („**přilbovité erythrocyty**“), kterými jsou poškozené erythrocyty s jednou (vzácně dvěma) amputovanou oblastí z výrazně 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 kterých však nejsou sférocyty tak malé.

Obrázek 1. Typické tvary pro konkrétní identifikaci schistocytů.

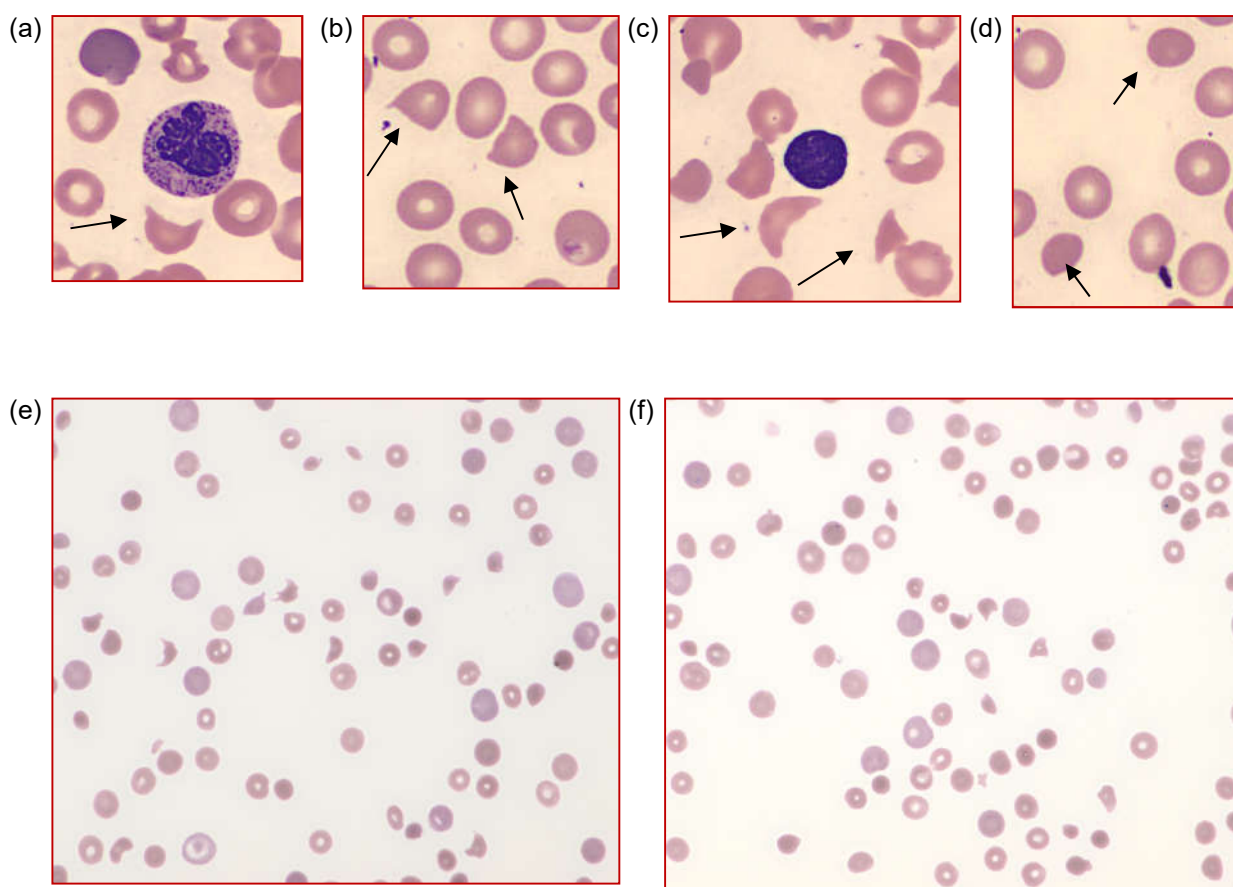
(a) **keratocyt** (pod segmentem), (b) dvě **helmvité buňky** (šipky),

(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 erytrocytů u trombotické trombocytopenické purpury (TTP),

(h) **mikrosférocyty** (šipky).



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×, 50× nebo 60×) a s velkým zvětšením (100× za použití imerzního oleje) a v kombinaci s okulárem o zvětšení 10× nebo 12,5×. Za těchto podmínek by měly být všechny atypické tvary poměrně snadno vidět v několika polích.

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

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



Obrázek 2. 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.

Normální rozmezí

V literatuře neexistuje konsenzus na numerickou horní mez pro zdravé dospělé, obecně je v praxi nastavena na 10/1000 erythrocytů.

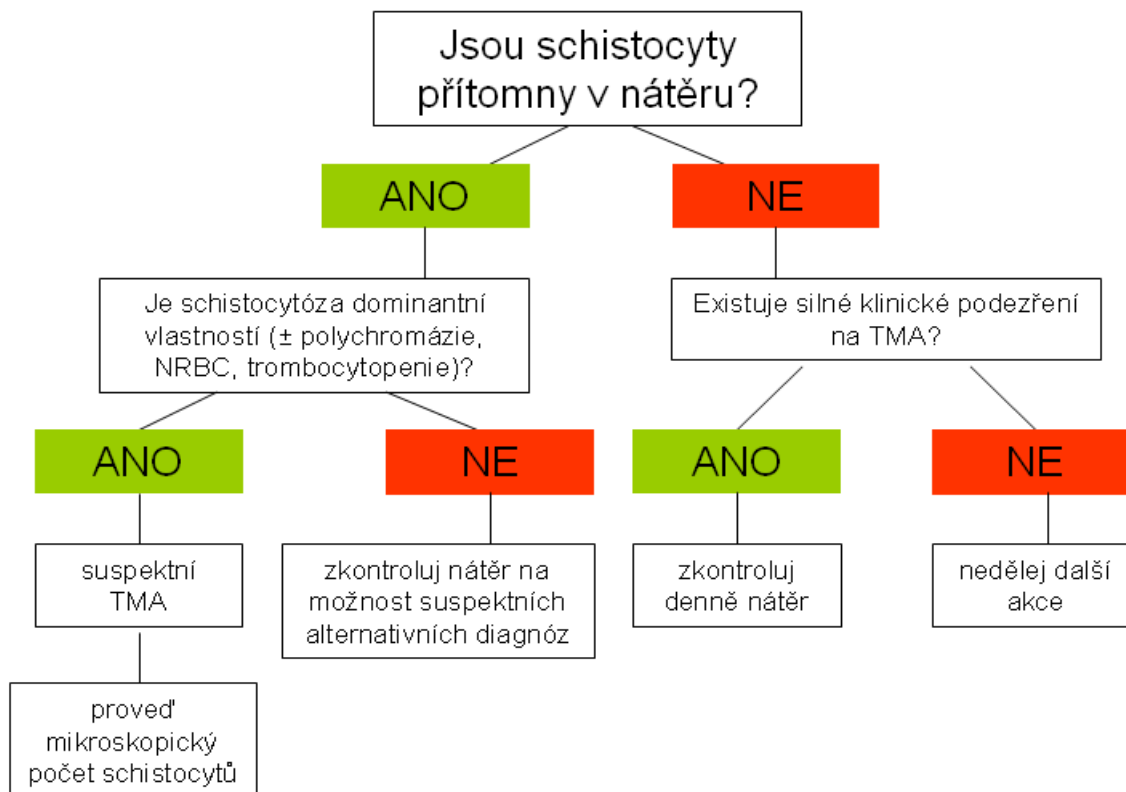
Počet schistocytů nad 10/1000 erythrocytů v nátěru periferním krve u dospělých je silný morfologický ukazatel pro diagnostiku mikroangiopatické hemolytické anémie (MAHA), která je společně s trombocytopenií způsobenou zvýšenou agregací a jejich konzumpcí a se zvýšenou tvorbou mikrotrombů součástí syndromu trombotické mikroangiopatie (TMA).

Pokud schistocyty nejsou přítomny a existuje vysoké podezření na TMA, pak by se krevní nátěr *a vyšetření na přítomnost schistocytů mělo opakovat denně*, vzhled a počet schistocytů může být opožděn i o několik dní. Ve vzácných případech se schistocyty v průběhu TMA nezobrazí vůbec.

Pro diagnostiku TMA související s transplantací hematopoetických kmenových buněk či kostní dřeně je doporučována vyšší horní mez pro schistocyty (40/1000 erythrocytů).

Diagnózu TMA podporuje trombocytopenie v krevním obraze, zvýšená (někdy až extrémně) hladina laktát dehydrogenázy, zvýšená hladina bilirubinu a negativní Coombs test při hemolytické anémii, snížená hladina haptoglobinu. Je samozřejmě podpořena klinickým stavem pacienta (krvácení při trombocytopenii, porucha vědomí či renální insuficience atd.).

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



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

Diagnostický přínos

Schistocyty zaujímající v nátěru hlavní morfologickou abnormalitu erytrocytů jsou klinicky významné.

Ve fyziologickém nátěru krve se schistocyty obvykle nevyskytují nebo jen velmi zřídka. Nález schistocytů v periferní krvi (a to zejména v případě absence dalších morfologických abnormalit erytrocytů) a zároveň anémie a trombocytopenie v hodnotách KO by měl vést k rychlému vyšetření pro podezření na TMA 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

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

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 erytropoézy 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 erytrocyty při výrazné anizopoikilocytóze by rovněž neměly být zahrnuty do počtu schistocytů. Jsou někdy pozorovány spolu s typickými schistocytami u popálenin, talasemie major nebo intermedia, primární myelofibrózy, megaloblastové anémie, vrozené sideroblastické a dyserytroidické anémie, dlouhotrvajícího nedostatku železa a těžké myelodysplasie.

Schistocyty – identifikace, kvantifikace a diagnostický přínos

Použité zkratky

ICSH	The International Council for Standardization in Hematology (Mezinárodní výbor pro standardizaci v hematologii) - http://www.icssh.org
TMA	Trombotická mikroangiopatická anémie
MAHA	Mikroangiopatická hemolytická anémie
FRC, RBCf	Počet fragmentů erytrocytů (hodnota z analyzátoru)
RBC	Red blood cell (erytrocyt)
HELLP syndrom	Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets
DIK	Diseminovaná intravaskulární koagulace
KO	Krevní obraz
NRBC	Nucleotid red blood cells (jaderné buňky červené řady – erytroblasty)

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, 9th edition, 2001. 78-79.
- ✓ Bain, B. J., *Blood cells. Practical guide*. Wiley-Blackwell, London, 3th ed., 2002.
- ✓ Bain, B. J., *Blood cells. Practical guide*. Wiley-Blackwell, London, 5th ed., 2015.
- ✓ Bain B. J. In: *Dacies and Lewis: Practical Haematology*, Churchill Livingstone, 11th ed. 2012; 57-68.