

**Doporučení laboratorní sekce
České hematologické společnosti ČLS JEP**

**SCHISTOCYTY – IDENTIFIKACE, KVANTIFIKACE A
DIAGNOSTICKÝ PŘÍNOS**

Zpracovaly: J. Juránová, D. Mikulenková

Revize: J. Juránová, D. Mikulenková

Recenzent: Členové Laboratorní sekce ČHS ČLS JEP

Schváleno Laboratorní sekcí ČHS ČLS JEP: 14.4.2014

Schváleno výborem ČHS ČLS JEP: 14.4.2014

Verze: 1, *revize 2*

Platnost od: *8.11.2022*

Přechodné období (platí i nahrazovaný dokument) do: *8.2.2023*

Poznámky:

Změny oproti předešlému dokumentu jsou vyznačené modrou kurzívou.

Obsah

1.	ÚVOD.....	2
2.	DEFINICE.....	2
3.	MIKROSKOPICKÁ IDENTIFIKACE SCHISTOCYTŮ.....	2
4.	KVANTITATIVNÍ A KVALITATIVNÍ MIKROSKOPICKÉ HODNOCENÍ SCHISTOCYTŮ...	4
5.	NORMÁLNÍ ROZMEZÍ SCHISTOCYTŮ.....	5
6.	REFERENČNÍ MEZ SCHISTOCYTŮ PRO DG. TMA.....	5
7.	DIAGNOSTICKÝ PŘÍNOS.....	6
8.	PODÁVÁNÍ ZPRÁV KLINIKŮM	7
9.	AUTOMATICKÝ POČET FRAGMENTŮ ERYTROCYTŮ.....	7
10.	PREANALYTIKA	8
11.	ZÁVĚR.....	8
12.	POUŽITÉ ZKRATKY.....	8
13.	LITERATURA.....	8

1. Úvod

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

Doporučení vychází z mezinárodního doporučení ICSH v aktuální verzi.

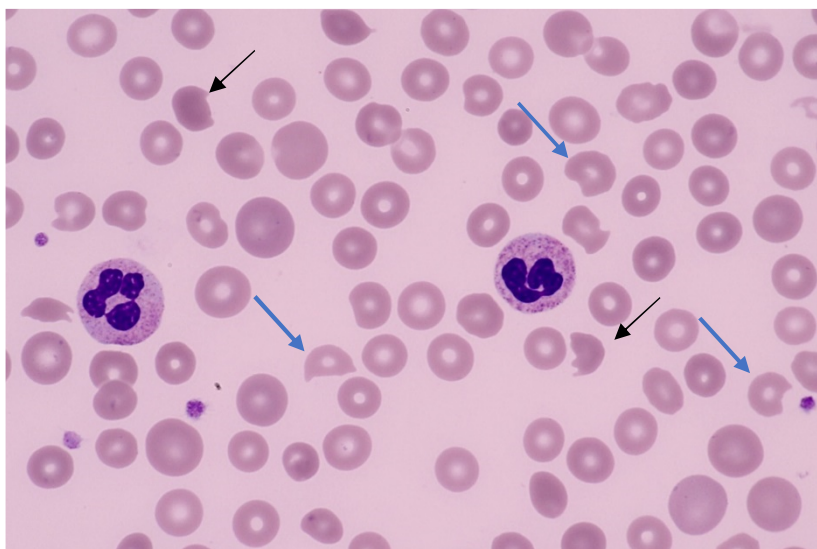
2. Definice

Schistocyty nebo **schizocyty** (z řeckého slova **schisto**, tzn. rozdrcený 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 erytrocyty a chybí jim centrální projasnění (*viz Obr. 1 – černá šipka*). *Nově mezi schistocyty započítáváme i ty se slabší intenzitou barvení uprostřed – mírně bledší střed (viz Obr. 1 – modrá šipka).*

Obrázek 1. Schistocyty v nátěru periferní krve (označené šipkami)

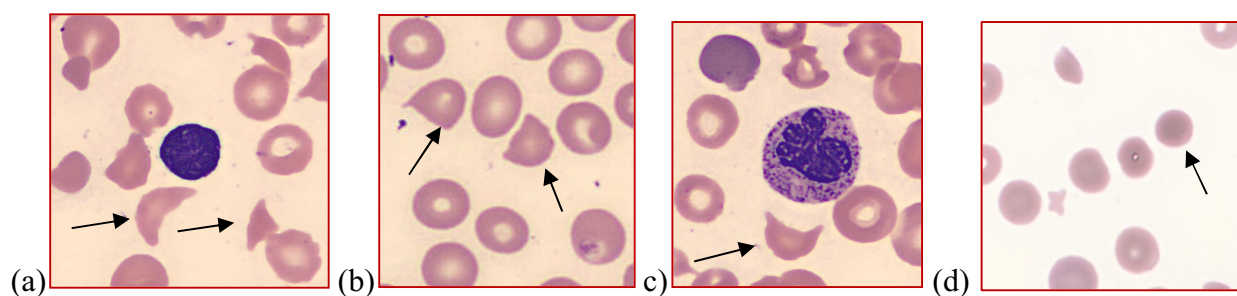


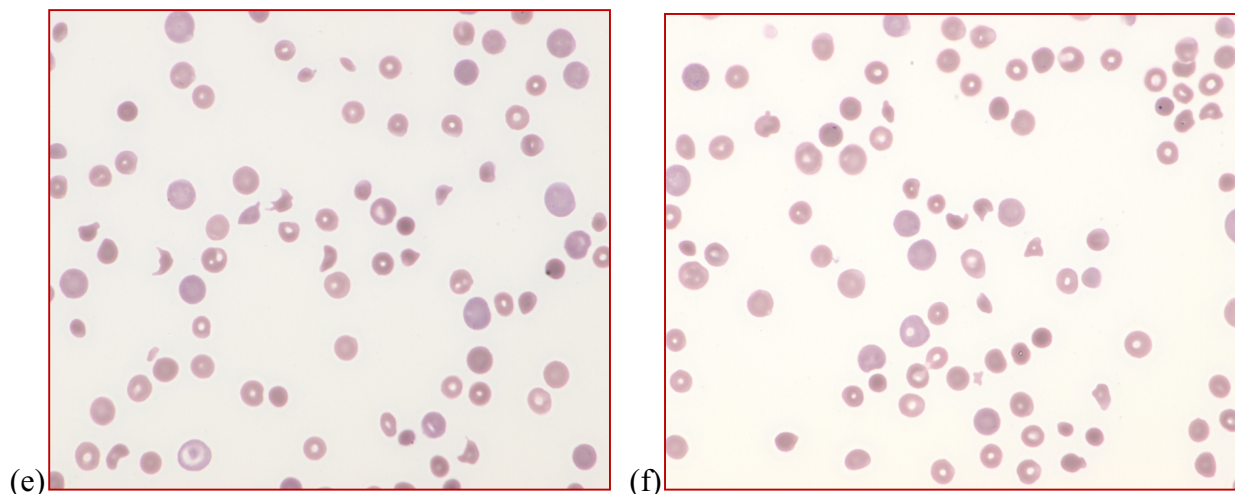
Za schistocyty jsou považovány (*viz obr. 2*):

- 1.1. malé fragmenty různého tvaru**, někdy s ostrými úhly nebo výběžky (trojúhelníky), s rovnými hranicemi nebo někdy se zakulacením na jedné straně (půlměsíce), často zakřivené, obvykle se tmavěji barví, občas světleji v důsledku ztráty hemoglobinu během fragmentace. Schistocyty ve tvaru půlměsíců je třeba odlišit podle jejich velikosti od nevratně změněných srpkovitých buněk (drepanocytů) charakteristických pro onemocnění srpkovitou anémií.
- 1.2. helmovité buňky („přilbovitě erytrocyty“)**, kterými jsou poškozené erytrocyty s jednou (vzácně dvěma) amputovanou oblastí zvýrazněnou rovnou hranicí s ostrými hranami zakřivení.
- 1.3. 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.
- 1.4. mikrosférocyty** jsou miniaturní kulaté erytrocyty 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 (1.1.) až (1.3.). Neměly by být zaměňovány za sférocyty nacházející se u dědičné sférocytózy, nebo v rámci imunitní hemolýzy, u kterých však nejsou sférocyty tak malé.

Obrázek 2. Typické tvary pro konkrétní identifikaci schistocytů

- (a) **trojúhelníkový schistocyt** (v pravém dolním rohu) s **půlměsícem** (nalevo od něho),
- (b) dvě **helmovité buňky** (šipky),
- (c) **keratocyt** (pod segmentem),
- (d) **mikrosférocyt**,
- (e) – (f) morfologické abnormality erytrocytů u trombotické trombocytopenické purpury (TTP).





Do počtu schistocytů **zahrnujeme** tvarové odchylky uvedené výše v bodech (1.1.) až (1.4).

Do počtu schistocytů **nezahrnujeme** sférocyty, nepravidelně smršťené buňky, dakryocyty, akantocyty a echinocyty, jakož i „vykousnuté“ buňky (bite cells), které jsou charakteristické pro oxidační poškození erytrocytů (bite cells, tzv. 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.). Do počtu schistocytů by neměly být zařazeny velmi malé, kulaté, nepravidelné, vroubkované nebo zkřivené a mikropuchýřkovité erytrocyty při výrazné anizopoikilocytóze, které 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.

4. Kvantitativní a kvalitativní mikroskopické hodnocení schistocytů

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

Schistocyty hodnotíme v mikroskopu při středním (400 x) nebo velkém (1000 x) zvětšení. 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 erytrocyty začínají od sebe oddělovat).



Obrázek 3. Optimální místo pro hodnocení schistocytů v nátěru periferní krve.

Výsledek je vyjádřen jako počet schistocytů/1000 erytrocytů po spočítání alespoň 1000 erytrocytů v optimální části nátěru (např. 10/1000 ery), *nebo lze počet schistocytů udávat v procentech (%) po zhodnocení nejméně 1000 erytrocytů (např. 1 %, což odpovídá 10/1000 ery).*

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

5. Normální rozmezí schistocytů

V literatuře neexistuje konsenzus na numerickou horní mez pro zdravé dospělé, obecně je v praxi nastavena *od 3/1000 erytrocytů po 10/1000 erytrocytů (0,3 % - 1 %).*

*ICSH uvádí nově referenční mez pro **dospělé a donošené děti**: $\leq 1 \%$ (pod 10/1000 ery),
předčasně narozené děti: $\leq 5 \%$ (pod 50/1000 ery).*

6. Referenční mez schistocytů pro dg. TMA

Počet schistocytů nad 10/1000 erytrocytů (*nad 1 %*) 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).

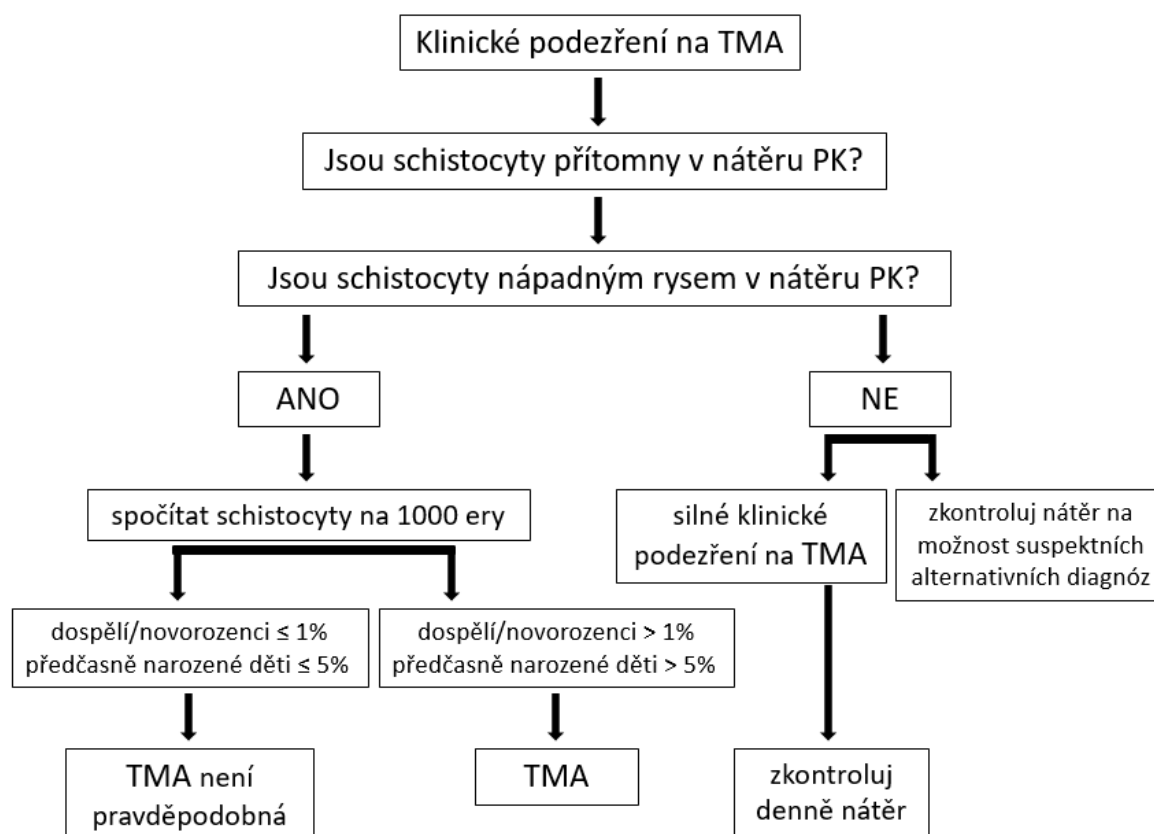
Pokud schistocyty nejsou přítomny a existuje vysoké podezření na TMA, pak by se krevní nátěr a vyšetření na přítomnost schistocytů mělo opakovat denně, vzhled a počet schistocytů může být opožděn i o několik dní. Ve vzácných případech se schistocyty v průběhu TMA nezobrazí vůbec.

Nedostatek či nepřítomnost schistocytů nevylučuje dg. TMA (počet kolísá s aktuálním průběhem onemocnění, na začátku nemusí dosahovat požadovanou mez).

Pro diagnostiku TMA související s transplantací hematopoetických kmenových buněk či kostní dřeně je doporučována vyšší horní mez pro schistocyty, a to 40/1000 erytrocytů (*4 %*).

Diagnózu TMA podporuje trombocytopenie v krevním obraze, zvýšená (někdy až extrémně) hladina laktátdehydrogenázy, zvýšená hladina bilirubinu, negativní *přímý antiglobulinový test (PAT)* při hemolytické anémii, snížená hladina haptoglobinu. Diagnóza je podpořena klinickým stavem pacienta (krvácení při trombocytopenii, porucha vědomí či renální insuficience atd.).

Obrázek 4. Vývojový diagram (algoritmus) jako praktické doporučení pro použití počtu schistocytů při diagnostice TMA *(dle doporučení ICSH)*.



7. 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), *či u jeho atypické formy (aHUS)*. Někdy je v nátěru periferní krve patrná mírná stimulace erytropoézy jako důsledek intravaskulární hemolýzy (polychromázie, bazofilní tečkování a cirkulující erytroblasty).

Přítomnost schistocytů, neimunitní hemolýza s projevy těžké anémie a trombocytopenie může 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), který představuje vážnou komplikaci těhotenství s výraznou mortalitou a morbiditou až 40 %). Schistocyty se vyskytují 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-venózní shuntů atd.).

Kvantitativní hodnocení je důležité pro diagnózu a monitoring pacientů s TTP, dále 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. membránové vady erytrocytů, talasemie, megaloblastová anémie, primární myelofibróza a tepelná poranění). V těchto případech ale mají schistocyty velmi různorodé tvary a zároveň je patrná výrazná anizo-poikilocytóza erytrocytů a jsou přítomny morfologické typy 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.

8. Podávání zpráv klinikům

Lékařům doporučujeme urgentně podat informaci o podezření na dg. TTP a o počtu schistocytů, dále informaci o počtech schistocytů v rámci monitorace léčby TTP, či u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk související s projevy TMA.

V závěrečném komentáři mikroskopického hodnocení nátěru periferní krve je třeba uvést, zda jsou schistocyty hlavní morfologickou abnormalitou erytrocytů v nátěru (oznámit podezření na TMA), a/nebo jsou součástí závažné generalizované anizo-poikilocytózy, 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).

9. Automatický počet fragmentů erytrocytů

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. ICSH doporučuje měření FRC jako screeningový test pro hodnocení schistocytů. Dle studií výsledky FRC poskytují vyšší hodnoty než počty schistocytů hodnocené mikroskopicky v nátěru periferní krve. Absence FRC má vyloučit přítomnost schistocytů v nátěru periferní krve. V rámci ČR zatím neexistují podklady pro přijetí tohoto způsobu hodnocení.

10. Preamalytika

Nově ICSH doporučuje, aby nátěr periferní krve byl zhotoven do 3 hodin od odběru krve ze vzorku uchovávaného při laboratorní teplotě (+15 °C až +25 °C), nebo do 8 hodin od odběru krve ze vzorku uchovávaného při teplotě 4 °C. LS ČHS v doporučení pro preanalytiku v hematologické laboratoři uvádí stabilitu krve pro vyšetření KO 5 hodin od odběru při laboratorní teplotě +15° C až +25° C.

11. Závěr

Počet schistocytů je v praxi smysluplný a klinicky významný, pokud jsou schistocyty dominantní morfologickou abnormalitou erytrocytů v nátěru periferní krve a v KO je přítomna i trombocytopenie a anémie (± leukocytóza).

Počet schistocytů >10/1000 erytrocytů (nad 1 %) v nátěru periferní krve u dospělých je silný morfologický ukazatel na možnou TMA (při absenci jiné diagnózy).

Kvantitativní hodnocení schistocytů je jedním z ukazatelů, který je důležitý v diagnostice a v monitorování pacientů s TTP a v monitorování pacientů po transplantaci kostní dřeně/kmenových buněk.

12. Použité zkratky

ICSH	The International Council for Standardization in Haematology (Mezinárodní výbor pro standardizaci v hematologii) - http://www.icsch.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
DIC	Diseminovaná intravaskulární koagulace
KO	Krevní obraz
NRBC	Nucleotid red blood cells (jaderné buňky červené řady – erytroblasty)
<i>LS ČHS</i>	<i>Laboratorní sekce České hematologické společnosti</i>
<i>TTP</i>	<i>Trombotická trombocytopenická purpura</i>
<i>HUS</i>	<i>Hemolyticko-uremický syndrom</i>

13. 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.

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- ✓ *G. Zini et al: 2021 update of the 2012 ICSH Recommendations for identification diagnostic value and quantitation of schistocytes. Blackwell Publishing Ltd, Int. J Lab Hematol 2021, 43, 1264–1271.*
- ✓ *Bain, B. J., Blood cells. Practical guide. Wiley-Blackwell, London, 5th ed., 2015.*
- ✓ *Bain B. J. In: Dacies and Lewis: Practical Haematology, Churchill Livingstone, 12th ed. 2017; 72-74.*