

## **ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ, ВЫЗВАННАЯ ФРАГМЕНТАЦИЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ**

Л.Б. Филатов<sup>1</sup>, А.Ф. Томилов<sup>2</sup>, Т.А Алексеева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Екатеринбургский Консультативно-Диагностический Центр

<sup>2</sup>Уральская Государственная Медицинская Академия

Существуют гемолитические анемии, обусловленные механическим / травматическим разрушением эритроцитов. Синдром **механического гемолиза** устанавливается на основании обнаружения **шистоцитов** (син.: шизоциты, фрагментоциты, фрагментированные эритроциты) в мазке крови больного при наличии других признаков гемолиза в сочетании с гиперрегенераторным характером анемии:

- ретикулоцитоз;
- гипербилирубинемия (за счёт непрямой фракции);
- снижение уровня гаптоглобина;
- повышение уровня активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ);
- гемоглобинурия и (или) гемосидеринурия;
- увеличение количества эритрокариоцитов в костном мозге.

Среди механических гемолитических анемий есть ряд тяжёлых заболеваний, требующих оперативной диагностики и незамедлительного лечения, поэтому выявление шистоцитов в мазке крови является тревожным сигналом для лечащего врача. Врач-лаборант должен немедленно сообщить ему о такой находке.

### **ШИСТОЦИТЫ**

**ПРОБЛЕМА ИДЕНТИФИКАЦИИ ШИСТОЦИТОВ.** Исследование проблем, связанных с поиском шистоцитов, определением признаков шистоцитов проводилось Французской группой клеточной гематологии (GFHC). Опыт её членов свидетельствует: распознавание шистоцитов в мазке крови сопряжено с серьёзными трудностями [1]. В 2000–2003 гг. французские исследователи проанализировали мнение около сотни врачей-лаборантов по вопросам идентификации шистоцитов и оценки шистоцитоза. Анализ полученных данных выявил большие расхождения в результатах (50% случаев) [1].

Формирование консенсуса в определении характеристик эритроцита, который может называться шистоцитом, оказалось сложным процессом. Для решения проблемы были выделены признаки шистоцита, которые должны присутствовать в его описании:

1. “Угол” вне зависимости от формы. Должно быть, по крайней мере, два угла;
2. “Фрагмент” с потерей размера (площади, объёма) по отношению к исходной клетке и с наличием линии, указывающей на разлом [1, 2].

Черты деформированных эритроцитов, являющихся, по мнению французских экспертов, шистоцитами, отражены на рисунке 1.

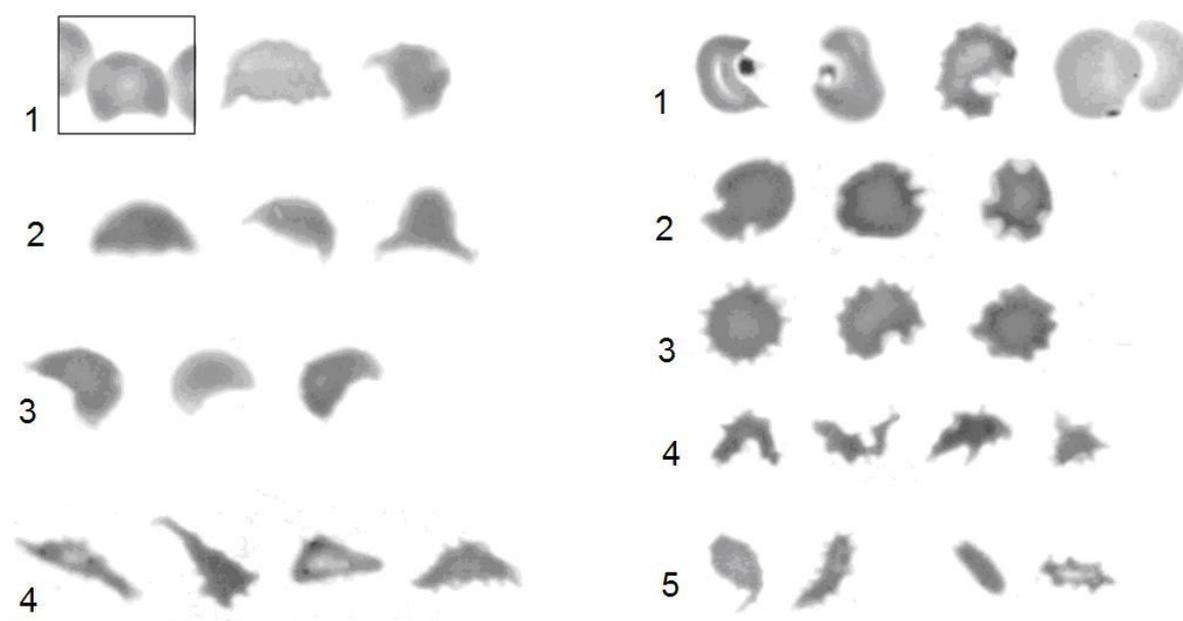


Рис. 1. Шистоциты и эритроциты, не относящиеся к шистоцитам

**Слева – шистоциты.**

1. большие фрагменты, образующиеся при разделении эритроцита на неравные части;
2. два фрагмента, равные почти половине эритроцита, правый фрагмент – шляпка;
3. полумесяцы;
4. треугольники.

**Справа – клетки, которые не относятся к шистоцитам.**

1. эритроциты, деформированные при изготовлении мазка тромбоцитами или другим эритроцитом;
2. «выкушенные» и «выщербленные» эритроциты, деформация третьего в ряду может быть обусловлена нарушением техники фиксации мазка;
3. эхиноциты (левый с необычно острыми выступами – шипами, средний – «выкушенный»);
4. причудливые формы фрагментов;
5. фрагменты в виде запятой или палочки.

Таким образом, **шистоциты** – это фрагменты эритроцитов, выявляемые в мазке крови, в виде:

- полумесяца, с двумя-тремя острыми выступами,
- шлема (каска),
- треугольника,
- маленького неправильной формы фрагмента, имеющего линию разлома [1, 3, 4].

Международный Совет по Стандартизации в Гематологии (ICSH) разработал рекомендации по идентификации шистоцитов. Было предложено также считать шистоцитами микросфероциты (при наличии в мазке крови шистоцитов другой формы) [4а].

**МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ ШИСТОЦИТОВ.** Образование шистоцитов может происходить при различных условиях [2]:

1. в результате фрагментации эритроцита (нитьями фибрина, на тромбоцитарных агрегатах в микрососудах; протезами сердечных клапанов (рис. 2); в процессе забора крови и приготовления мазка: в системе диализа и т.д.), когда эритроцит, ломаясь на две (часто неравные) части, порождает фрагменты, имеющие тенденцию к повторной сферизации;

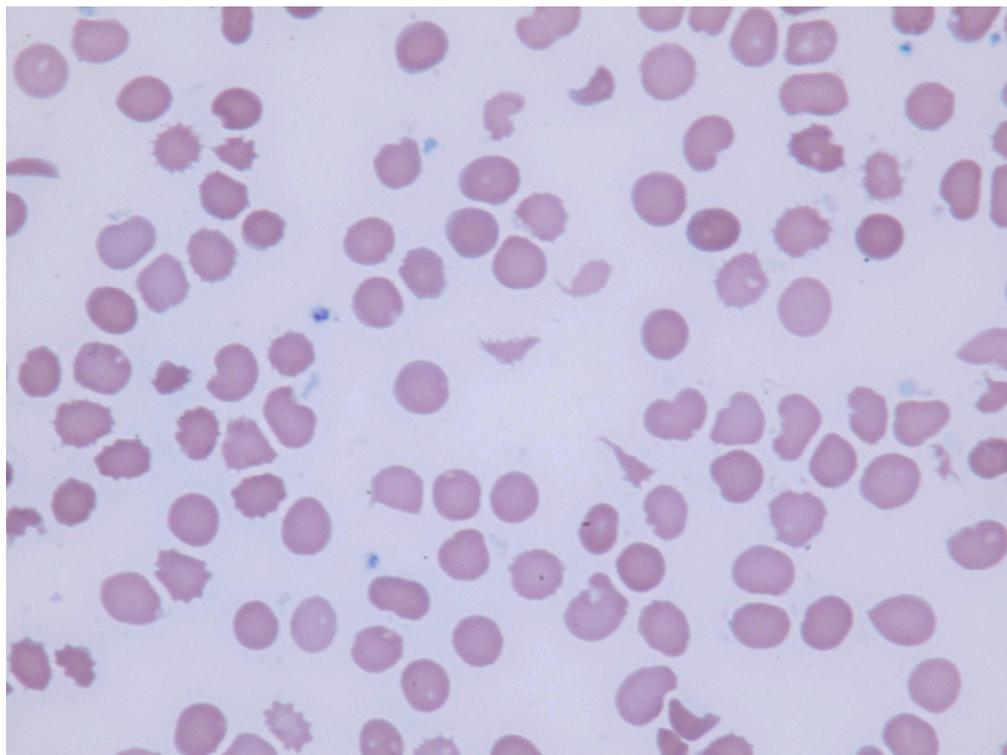


Рис. 2. Шистоциты в мазке крови больного с механической гемолитической анемией, вызванной протезом сердечного клапана

2. в связи с аномалиями мембраны эритроцита, обусловленной дефектами белков мембраны эритроцита, в силу хрупкости цитоскелета;

3. при нагревании мембраны эритроцитов (ожог эритроцита), провоцирующем отделение части эритроцитов в виде почек или фрагментов, близких по форме к шистоцитам; эти фрагменты также имеют тенденцию к сферизации.

Очень важным для врача-лаборанта является знание, какие фрагменты эритроцитов, встречающихся в мазке, надо, а какие – нельзя относить к шистоцитам, рис.1. Спорный вопрос – можно ли относить к шистоцитам фрагменты эритроцитов в виде палочек и запятых [2], был снят [1], их было решено не считать шистоцитами.

“Почкование эритроцитов” может наблюдаться при пиропойкилоцитозе (редком варианте гемолитической анемии) или при нагревании образца крови

свыше 50°C, например, при транспортировке [3]. Такие “почки” – очень мелкие сфероциты (рис.3, 4) – также не следует относить к шистоцитам.

Мы наблюдали выраженный анизоцитоз и пойкилоцитоз, включая микро-сфероциты и “почки” в мазках костного мозга, когда при пункции грудины аспирация была сделана неостывшим шприцем после стерилизации в сухожаровом шкафу (рис. 3). Лаборанты сообщили о необычном мазке, встал вопрос о неотложной ситуации. Однако в мазке крови, сделанном в этот же день, эритроциты были совершенно нормальны. После выяснения у врача деталей получения костного мозга у больной причина была установлена.

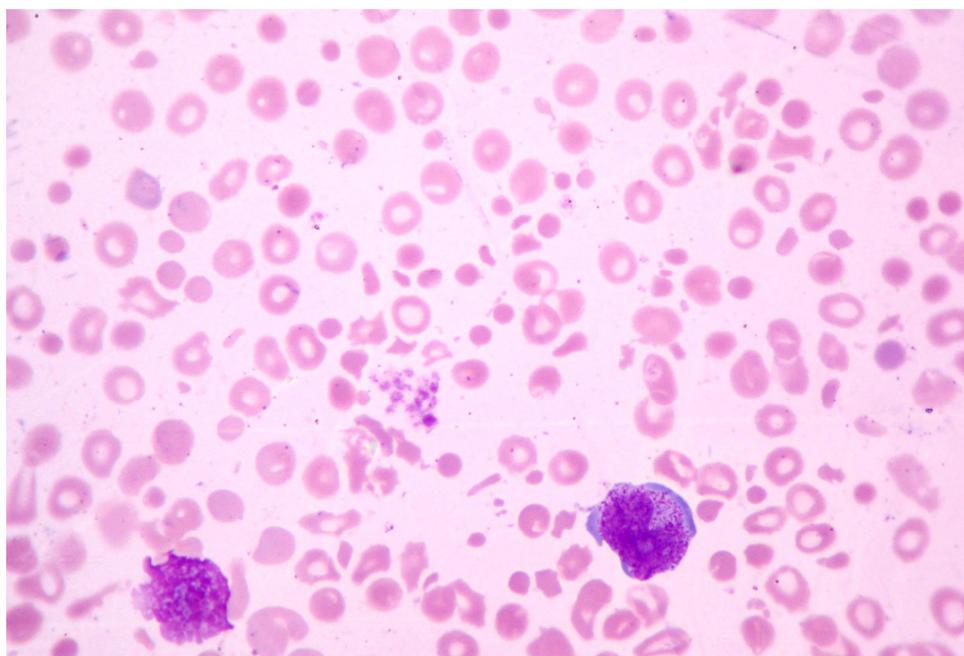


Рис. 3. Мазок костного мозга при аспирации нагретым шприцем

Иногда в мазках крови можно видеть отделение “почек” эритроцитов нитью фибрина (рис.5), что происходит в момент приготовления мазка при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свёртывания крови (ДВС). Вероятно, это происходит и в крови *in vivo* при синдроме ДВС, в результате чего в мазках может наблюдаться большое количество “почек” (рис.4).

Серьёзной клинической проблемой является диагностика тромботической микроангиопатии (ТМА), когда шистоциты образуются в результате действия первого механизма (см. выше). Задача врача-лаборанта – чётко сказать клиницисту, присутствуют в мазке крови шистоциты или нет.

**ПОИСК ШИСТОЦИТОВ В МАЗКЕ КРОВИ (рекомендации GFHC).**  
Поиск шистоцитов французские специалисты рекомендуют [1, 2]:

– проводить на правильно сделанном мазке в очень ограниченной области однородного распределения клеток без их перекрывания, где подсчитывается лейкоцитарная формула, в силу возможной сферизации фрагментов “в хвосте” мазка и по его кромкам;

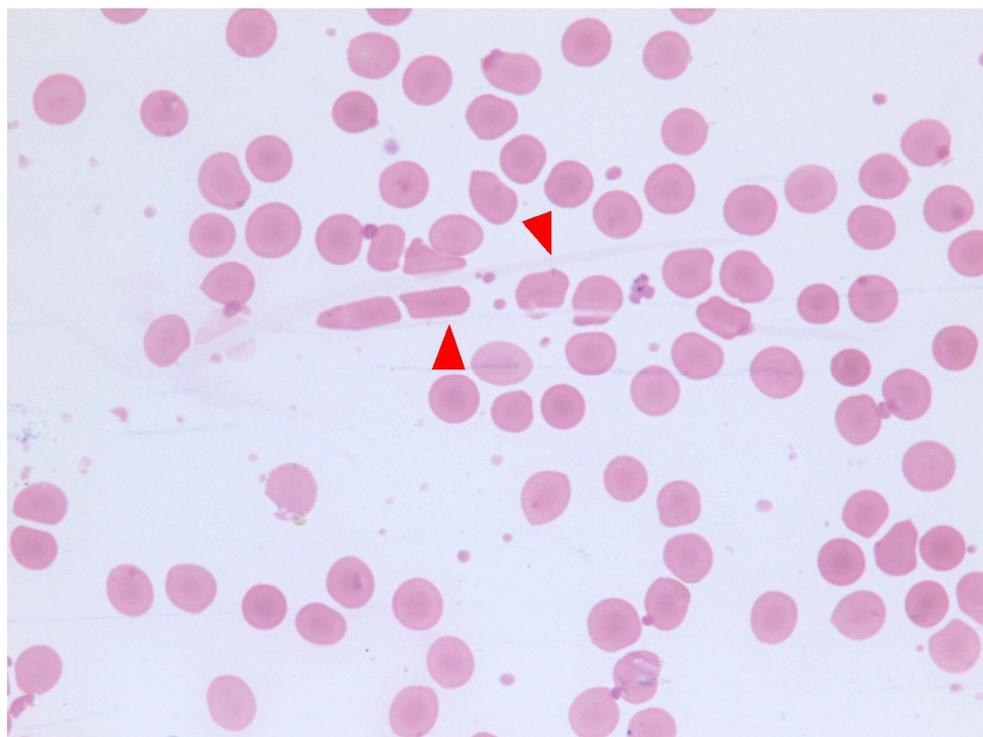


Рис. 4. Две нити фибрина (стрелки) деформируют и разрезают эритроциты. Большое количество «почек» эритроцитов

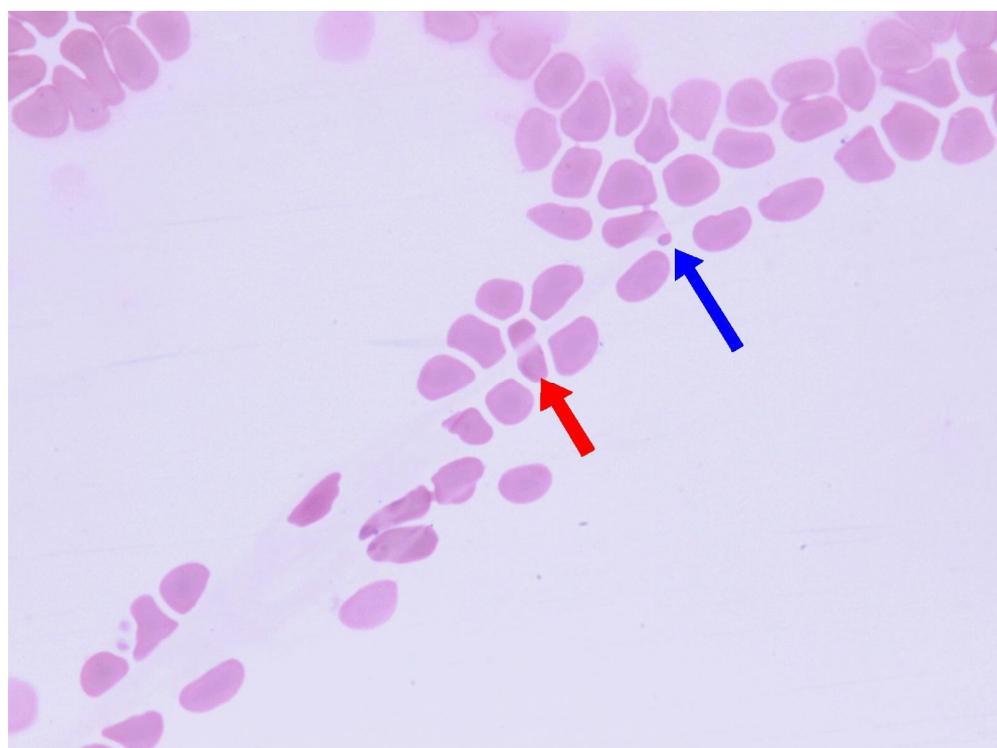


Рис. 5. Нить фибрина разрезает эритроцит на две части (красная стрелка) и отделяет «почку» от эритроцита (синяя стрелка)

– осуществлять при среднем увеличении (от  $\times 200$  до  $\times 400$ ) на количестве полей, позволяющем рассмотреть 1000–5000 клеток и выбрать из них шистоциты; анализ меньшего количества эритроцитов недостаточен;

– начинать с выявления фрагментов эритроцитов в форме каски; если фрагменты такой формы обнаруживаются, то присутствие фрагментов эритроцитов в форме треугольника или в форме полумесяца подтверждает диагноз механического гемолиза.

**АВТОМАТИЧЕСКИЙ ПОДСЧЁТ ШИСТОЦИТОВ.** В последние годы появились лабораторные анализаторы (Advia, Sysmex XE), подсчитывающие количество фрагментов эритроцитов (**F**ragmented **R**ed **C**ell (FRC)). Но автоматический подсчёт применяется только для исследований. Чувствительность метода – 100%, но из-за низкой его специфичности (20%) при аппаратных находках шистоцитов необходимо микроскопическое исследование для их подтверждения. Нормальное количество шистоцитов при подсчёте автоматическим способом – 0,03–0,58%. [1, 5, 6].

**ШИСТОЦИТОЗ.** Обычно в крови нет шистоцитов. Но приспособления для забора крови с отрицательным давлением могут приводить к фрагментации нескольких самых хрупких клеток; фрагменты эритроцитов могут образовываться в результате приготовления мазка [1].

Поэтому изредка в мазке крови могут обнаруживаться артефакты, появление которых обусловлено процессом забора крови и приготовлением мазка [2]. Нормальное количество шистоцитов в мазке крови при подсчёте традиционным способом врачом-лаборантом – 0–0,27% от общего количества эритроцитов [2, 7].

**Шистоцитоз** (превышение нормального уровня количества шистоцитов) [3] – признак механической гемолитической анемии, которая характерна для нескольких групп заболеваний (табл. 1). Среди множества диагнозов, при которых наблюдаются шистоциты, лишь часть нуждается в срочной диагностике. Выявленный шистоцитоз, являясь краеугольным камнем в диагностике ряда тяжёлых заболеваний, требует от врача-лаборанта и врача-клинициста быстрых действий по установлению диагноза.

От врача-лаборанта необходим чёткий ответ на вопрос: “Присутствуют шистоциты в мазке крови или нет?”. Необходимость ясности в этом вопросе обусловлена клинической важностью шистоцитоза для диагностики тромботических микроангиопатий, характеризующихся плохим прогнозом без своевременно начатой адекватной терапии. Это требует от врача-клинициста оперативных действий по подтверждению или опровержению диагноза ТМА и особого внимания к больным с впервые выявленным неиммунным гемолизом: в каждом случае необходимо ставить вопрос о микроангиопатической гемолитической анемии и проводить подсчёт шистоцитов. Игнорирование шистоцитов в мазке крови препятствует диагностике этих заболеваний, приводя к тяжёлым последствиям для больных.

Таблица 1

**МЕХАНИЧЕСКАЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ [1–3, 8–11]**

<b>ВИД ПАТОЛОГИИ</b>	<b>НОЗОЛОГИЧЕСКАЯ ФОРМА</b>
<b>I. Механическая гемолитическая анемия, вызванная фрагментацией эритроцитов в микрососудах</b>	<b>1. ТРОМБОТИЧЕСКИЕ МИКРОАНГИОПАТИИ:</b> 1.1. тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП, синдром/ болезнь Мошковица): 1.2. гемолитико-уремический синдром (ГУС): 1.3. HELLP–синдром <sup>1</sup> <b>2. ТМА-АССОЦИИРОВАННЫЕ СИНДРОМЫ</b> 2.1. ДВС–синдром 2.2. катастрофический антифосфолипидный синдром 2.3. злокачественная артериальная гипертензия 2.4. преэклампсия/ эклампсия
<b>II. Механическая гемолитическая анемия, вызванная патологией сердечно-сосудистой системы</b>	– изменённые/протезированные клапаны сердца – аортальный стеноз – артерио–венозная фистула – аневризма аорты – миксома предсердия – эндокардит – искусственный желудочек сердца
<b>III. Механическая гемолитическая анемия, вызванная сосудистыми аномалиями</b>	– гемангиомы – гемангиосаркомы – плексиформные сосуды в лёгких при лёгочной гипертензии и в печени при циррозах
<b>IV. Механическая гемолитическая анемия, вызванная особенностями эритроцитов, определяющими их склонность к фрагментации</b>	– мегалобластная анемия – наследственный пиропойкилоцитоз – гемоглобинопатия H – врождённая дизэритропоэтическая анемия
<b>V. Механическая гемолитическая анемия, вызванная разрушением эритроцитов в капиллярах стоп под воздействием внешнего фактора</b>	маршевая гемоглобинурия <sup>2</sup>
<b>VI. Механическая гемолитическая анемия, вызванная термическим разрушением эритроцитов</b>	ожоги

<sup>1</sup> Hemolysis (H – гемолиз), elevated liver enzymes (EL – увеличение печёночных ферментов), low platelet count (LP – низкое количество тромбоцитов)

<sup>2</sup> При маршевой гемоглобинурии в мазках крови фрагменты эритроцитов отсутствуют [12].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Шистоциты – неотъемлемый признак гемолитической анемии, связанной с фрагментацией эритроцитов. Шистоциты – это фрагменты эритроцитов изменённой формы и размера с наличием двух-трёх углов и линии разлома. Наиболее типичными формами шистоцита являются шлем, полумесяц, треугольник.

В зависимости от места фрагментации эритроцитов гемолитические анемии делятся на микроангиопатические и макроангиопатические.

Обнаружение шистоцитов в мазке крови – тревожный сигнал для лечащего врача, так как может быть признаком тромботической микроангиопатии, требующей оперативной диагностики и незамедлительного лечения. Врач-лаборант должен немедленно сообщить о такой находке.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. *Lesesve J.-F., Salignac S., Bordigoni P., Lecompte T., Troussard X.* et le Groupe français d'hématologie cellulaire Rôle du biologiste confronté à une recherche de schizocytes. *Hématologie* 2007; 13(3): 193–204.

2. *Lesesve J.-F., Fenneteau O., Cynober T., Lecompte T., Grange M.-J., Flandrin G., Troussard X.* et le GFHC Rôle du biologiste confronté à la recherche de schizocytes Texte de synthèse et de recommandations du Groupe français d'hématologie cellulaire (GFHC). *Ann. Biol. Clin.* 2003; 61(5): 505–12.

3. *Bain B.J.* Interactive haematology imagebank. CD. – Blackwell Science, 1999.

4. *Bull B.S., Kuhn I.N.* The production of schistocytes by fibrin strands (a scanning electron microscope study). *Blood* 1970; 35(1): 104–11.

4a. *Zini G., d'Onofrio G., Briggs C., et al.* ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int. J. Lab. Hematol.* 2011; Nov 15 Epub ahead of print.

5. *Briggs C.* Quality counts: New parameters in blood cell counting. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2009; 31(3): 277–97.

6. *Jiang M., Saigo K., Kumagai S., et al.* Quantification of red blood cell fragmentation by automated haematology analyser XE-2100. *Clin. Lab. Haematol.* 2001; 23(3): 167–72.

7. *Burns E.R., Lou Y., Pathak A.* Morphologic diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am. J. Hematol.* 2004; 75(1): 18–21.

8. *Benz E.J. Jr., Wu C.C., Sohani A.R.* Case 25-2011: A 62-year-old woman with anemia and paraspinal masses. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365(7): 648–58.

9. *Heilmann Cl., Geisen U., Benk C.* et al. Haemolysis in patients with ventricular assist devices: Major differences between systems. *European J. Cardiothoracic Surgery* 2009; 36(3): 580–4.

10. *Koç F., Bekar L., Kadı H., Seyhan K.* Hemolysis and infective endocarditis in a mitral prosthetic valve. *Arch. Turk. Soc. Cardiol.* 2010; 38(6): 429–31.

11. *Crawford F.A. Jr., Selby J.H. Jr., Watson D., Joransen J.* Unusual aspects of atrial myxoma. *Ann. Surg.* 1978; 188(2): 240–4.

12. *Hoffbrand A.V., Pettit J.E., Hoelzer D.* Roche Grundkurs Hämatologie. Blackwell Wissenschafts-Verlag. Berlin – Wien, 1997: 476.