

Fragmentozyten, Akanthozyten und Stechapfel-Formen – eine Herausforderung an das hämatologische Labor

Xtra Austria | Februar 2012 | Nr. 10

Einleitung

Die Untersuchung des Blutbildes zählt zu den Labor-Routineuntersuchungen. Es ist im Anforderungsprofil für Notaufnahmen enthalten und wird im Laufe eines Krankenhausaufenthaltes als regelmäßige Kontrolluntersuchung angefordert.

Die Informationen aus dem Blutbild können uns viele Hinweise auf Erkrankungen aufzeigen. Dabei sind die Interpretationen der Ergebnisse, die Plausibilität und die Erfahrung wichtige Faktoren für die Befunderstellung. In der Regel werden die Blutbilder an einem Blutbildmessgeräte analysiert. Die Messergebnisse werden dann technisch validiert, das heisst die MTA überprüft das Ergebnis auf Störeinflüsse und Interferenzen, die die Messung beeinflussen können. Dazu werden die Zahlenergebnisse auf Plausibilität geprüft, Kurvenverläufe beurteilt und ggf vom Gerät erzeugte Warnhinweise ausgewertet. Eine standardisierte technische Validation bietet das Sysmex Informations System SIS. Im SIS sind gerätesystemspezifische Regeln für Thrombozyten, Erythrozyten und Leukozyten verfügbar, die mit laborindividuellen Anpassungen ergänzt werden können.

Fragmentozyten und Akanthozyten sind eine Herausforderung für das hämatologische Labor, sowohl in der automatisierten Messung als auch in der morphologischen Beurteilung und müssen vom Labor sicher erkannt werden.

Themenblattinhalt

- A) Morphologische Beschreibung von Fragmentozyten, Akanthozyten und Stechapfelformen → who is who?
- B) Diagnostische Unterschiede → Lebensgefahr?
- C) Blutbildbestimmung am Hämatologieanalyzer: Messtechnik, Interpretation, Lösungen
- D) Quantifizierung der Fragmentozyten und Akanthozyten → was ist die richtige Methode?
- E) XE-5000 → Fragmentozyten als Forschungsparameter

A) Morphologische Beschreibung von Fragmentozyten, Akanthozyten und Stechapfel-Formen

A.1 Fragmentozyten

Der Fragmentozyt (latein. frangere: brechen) ist eine Zelle, die ursprünglich gesund aus dem Knochenmark gekommen ist und nachträglich in der Peripherie geschädigt wurde. Dabei wurde dem Erythrozyt ein Teil seines Volumens förmlich abgerissen. Ein Fragmentozyt ist daran zu erkennen, dass er noch eine gesunde konvexseitig, glatt begrenzte intakte Seite aufweist. Die Konkavseite (abgerissene Seite) ist fetzenartig mit dornigen oder stacheligen Ausziehungen. Schistozyten und Schizozyten (griech. schizein: brechen) sind Synonyme für Fragmentozyten. Die Bezeichnung helmet cells kommt aus dem Englischen ebenso wie die Bezeichnung burr cells, die die besonders kleinen Fragmente mit sehr starker Formvariation beschreiben.

Fragmentozyten dürfen nicht mit Akanthozyten verwechselt werden. Die diagnostische Bedeutung ist verschieden.

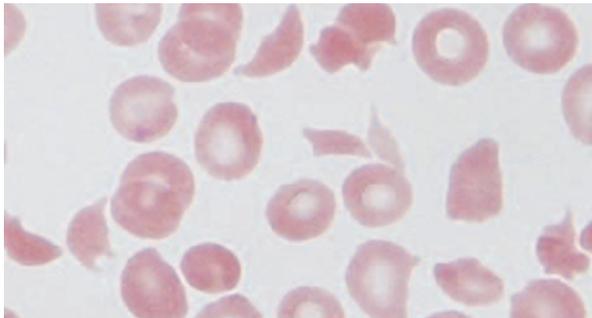


Abb: Fragmentozyten

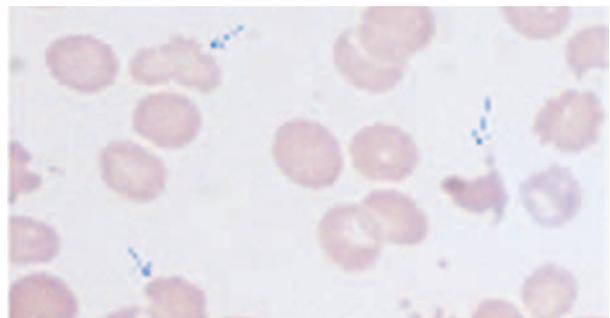


Abb: Akanthozyten

A.2 Akanthozyten

Die Bezeichnung Akanthozyten beschreibt Erythrozytenformen, die ein stacheliges Aussehen haben. Der englische Begriff spur cells leitet sich von Sporn englisch spur ab. Ursache für diese Formveränderung ist eine Störung im Phospholipidmetabolismus. Die stacheligen, dornenartigen Ausziehungen entstehen, wenn die Membran der Zelle im Vergleich zum Zellvolumen zu gross ist. Die Ausziehungen bei Akanthozyten sind unterschiedlich gross und unregelmässig verteilt und unterscheiden sich so von den Stechapfel-Formen (Echinozyten). Die Stechapfelform ist ein Artefakt ohne diagnostische Bedeutung.

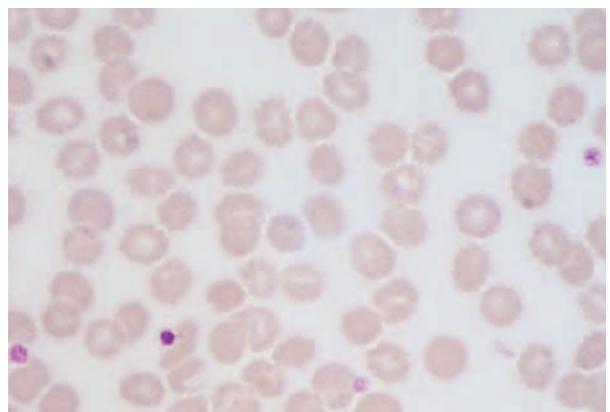


Abb: Echinozyten, (Stechapfel-Formen)

B) Diagnostische Unterschiede → Lebensgefahr?

Die Unterscheidung zwischen Akanthozyten und Fragmentozyten kann in einzelnen Fällen lebenswichtig sein. Akanthozyten stehen oft in Verbindungen mit chronischen Krankheitsbildern. Fragmentozyten kommen aber bei Krankheitsbildern vor, die eine umgehende Behandlung erfordern, um schwere Schäden oder sogar den Tod des Patienten zu vermeiden.

B.1 Akanthozyten

Vorkommen:

- Schwere Leberfunktionsstörungen (z. B. alkoholische Leberzirrhose)
- Abetalipoproteinämie
- Myelodysplasie
- Hypobetalipoproteinämie
- McLeod-Syndrom
- Nach Splentektomie
- Hypothyreose

B.2 Fragmentozyten

Vorkommen:

- HELLP –Syndrom = Hemolytische Anämie, Elevated Liver Enzym, Low Platelets
- MAHA = Mikroangiopathische hämolytische Anämie, z.B.
 - TTP = Thrombotisch thrombozytopenische Purpura (Morbus Moschcowitz)
 - HUS = Hämolytisch urämisches Syndrom
 - Medikamenten induzierte oder therapieinduzierte MAHA
- DIC = disseminierte intravasale Gerinnung (z.B. bei Sepsis, geburtshilfliche Komplikationen, Schock, metastasierte Karzinome)
- Grossflächige Verbrennungen
- Mechanische Schädigung
 - Künstliche Herzklappen
 - Dialyse, extrakorporaler Kreislauf
 - maligne Hypertonie
 - Aortenaneurysma, Aortenklappenstenosen
 - Marschhämoglobinurie, Kampfsport (Karate)

Über die Bewertung von Fragmentozyten im Ausstrich entscheidet die klinische Fragestellung!

Bei Fragestellungen wie Hämodialyse, Verbrennungen, Myelodysplasien oder metastasierten Karzinomen ist das Auftreten von Fragmentozyten weder diagnostisch noch therapeutisch entscheidend.

Hingegen kann das Erkennen von Fragmentozyten im Ausstrich bei klinisch unklaren Situationen ein wegweisendes diagnostisches Kriterium sein (HUS, HELLP, TTP).

C) Blutbildbestimmung am Hämatologieanalyzer: Messtechnik, Interpretation, Lösungen

Akanthozyten und insbesondere Fragmentozyten haben im Vergleich zu normalen Erythrozyten ein oft vielfach kleineres Volumen. Diese kleinvolumigen Erythrozyten werden in Analyzern, die Erythrozyten und Thrombozyten mit dem Widerstandsmessprinzip (Impedanzmessung) bestimmen, nicht sicher von Thrombozyten getrennt. Hier sollte besonders die Thrombozytenzahl verifiziert und ggf. durch eine andere Methode ergänzt werden. Einige Hyperfragmentationssyndrome gehen mit einer Thrombopenie einher, die sowohl prognostisch als auch therapeutisch entscheidend sein kann. Eine falsch-hoch gemessene Thrombozytenzahl würde dies verschleiern.

Messprinzip der Impedanz-Messung

Die Sysmex Hämatologiegeräte arbeiten alle, wie auch andere Hersteller, routinemässig zur Zählung der Erythrozyten und Thrombozyten mit der Impedanz-Messung, oftmals unterstützt durch die hydrodynamische Fokussierung.

Erythrozyten und Thrombozyten bilden proportional zu ihrem Volumen – das Volumenverhältnis zwischen Erythrozyten und Thrombozyten ist physiologischer weise stark unterschiedlich – einen elektrischen Widerstand, der mit Hilfe von Gleichstromspannung nach dem »Ohm'schen Gesetz« gemessen wird. Diese elektrischen Impulse werden gezählt und nach Grösse sortiert. So entstehen die Histogramme für Erythrozyten (RBC) und Thrombozyten (PLT).

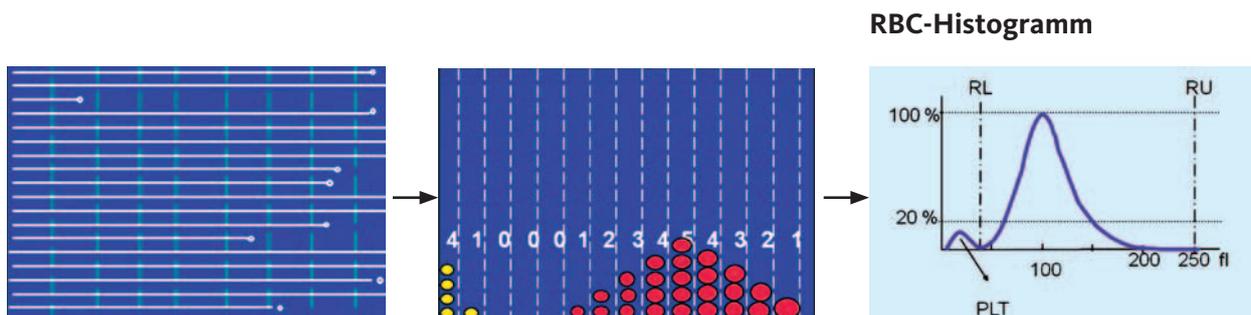


Abb: Impulse von RBC und PLT

Abb: Sortierung nach Grösse und Anzahl

Abb: Histogramm-Kurve

Wichtig bei der Beurteilung des Ergebnisses ist der Kurvenverlauf. Die Histogramm-Kurve sollte immer an der Basislinie beginnen und an der Basislinie wieder enden. Geschieht dies nicht, so gibt das System einen Hinweis und die Ursache ist zu klären. Gegebenenfalls muss der Wert mit anderen Methoden oder einer neuen Abnahme kontrolliert werden.

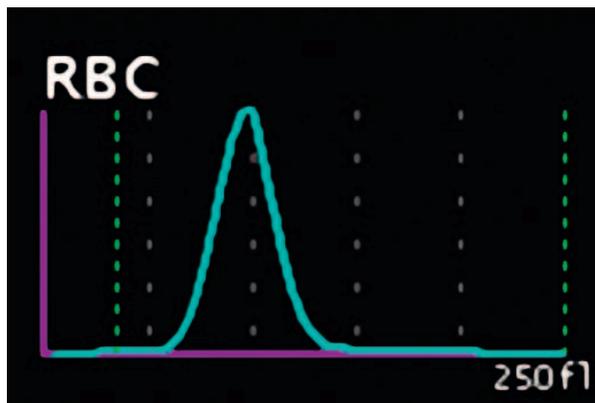


Abb: Korrektes RBC-Histogramm

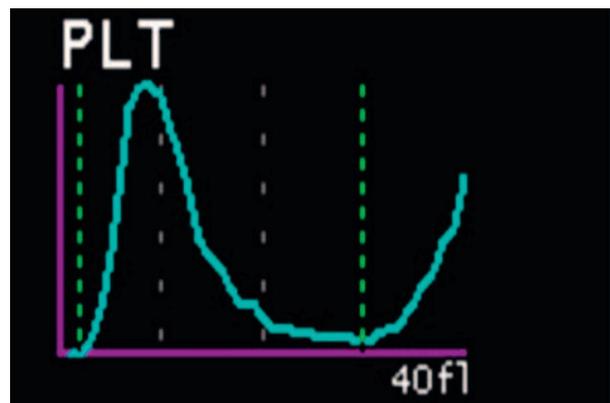


Abb: Korrektes PLT-Histogramm

Bei den Sysmex Geräten der K-Systeme (KX-21, K-4500) wird dies durch den Warnhinweis PL oder PU → anormale PLT-Kurve und RL oder RU → anormale RBC-Kurve angezeigt.

Bei den Sysmex Geräten der X-Systeme (XS, XT, XE) wird dies durch die Warnmeldungen PLT abnormale Verteilung → anormale PLT-Kurve und RBC abnormale Verteilung → anormale RBC-Kurve angezeigt.

Mögliche Ursachen können sein: Mikroerythrozyten, Fragmentozyten, Akanthozyten, Fragmente, Riesenthrombozyten, Thrombozytenaggregate.

Jede Messtechnik hat methodische Grenzen. Diese zu wissen hilft Interferenzen sicher zu erkennen. Die Impedanz-Messung, die auf Volumenmessung einer Zelle basiert, stösst bei einer pathologische Umkehrung oder Gleichsetzung der Volumenverhältnisse von Erythrozyten und Thrombozyten an ihre methodische Grenze. Es kommt zu einer Vermischung von Volumengrößen die sowohl RBC als auch PLT sein können. Die Folge ist ein anormaler Kurvenverlauf. Aufgrund der unterschiedlichen Zellkonzentrationen von Erythrozyten und Thrombozyten ist besonders auf die Thrombozytenzahl zu achten. Zum Beispiel können Fragmentozyten eine falsch-hohe Thrombozytenzahl vortäuschen und eine Thrombopenie verschleiern.

Interpretation

Befundbeispiel:



Abb: Impedanzmessung, PLT-I Histogramm mit Interferenzen (Fragmente). Kurve endet nicht an der Basis, Übergang direkt in den RBC-Messbereich, PLT-Zahl fraglich

| | | | |
|-------|------|---|---------------------|
| PLT | 854 | ✖ | 10 ⁹ /uL |
| PLT-I | 854 | ✖ | 10 ⁹ /uL |
| PLT-O | | | 10 ⁹ /uL |
| PDW | ---- | | fL |
| MPV | ---- | | fL |
| P-LCR | ---- | | % |
| PCT | ---- | | % |



Der PLT-Wert ist nicht zuverlässig. Einer Wiederholung mit derselben Methode ist nicht sinnvoll, da die Messmethode nicht in Erythrozyten und Thrombozyten zuverlässig trennen kann. Mikroerythrozyten oder Fragmentozyten könnten hier interferieren.

Um einen zuverlässigen Thrombozytenwert zu erhalten können diese Methoden verwendet werden:

- Die Fluoreszenz-Thrombozyten-Bestimmung (PLT-O) im Retikulozyten-Messkanal (Sysmex)
- Eine Kammerzählung
- Durchflusszytometrische Messung mit CD-Antikörpern
- Plausibilitätsprüfung der Thrombozytenzahl im Blutausstrich

Fluoreszenz-Thrombozyten-Bestimmung im Retikulozyten-Messkanal (Sysmex)

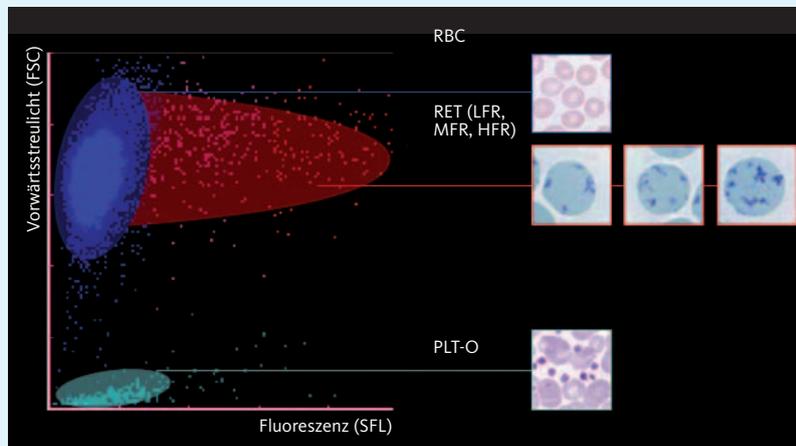
Der Retikulozyten-Messkanal an den Sysmex Geräten XT-2000, XT-4000, XE-2100 und XE-5000 arbeitet mit der Methode der Fluoreszenz-Durchflusszytometrie.

Mit einem Fluoreszenzfarbstoff werden in den Zellen DNA und RNA angefärbt. Anschliessend wird mit einem Halbleiterleser die Fluoreszenzintensität gemessen.

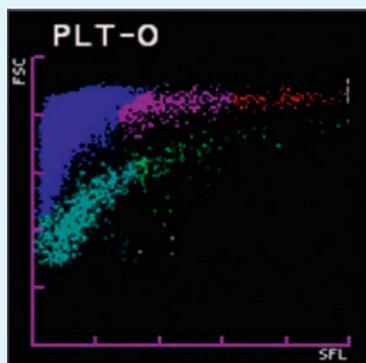
Erythrozyten → keine DNA oder RNA → keine Fluoreszenz

Retikulozyten → Substantia reticulogranulofilamentosa → Fluoreszenzintensität abhängig vom Reifegrad

Thrombozyten → enthalten RNA → Fluoreszenzintensität vorhanden (PLT-O)



Dieser Vorteil der Fluoreszenz anfärbbarkeit für die Thrombozyten kann bei Proben, die im Impedanzkanal mit Interferenzen durch Fragmentozyten, Akanthozyten oder extreme Mikroerythrozyten auffallen, genutzt werden, um eine korrekte Thrombozytenzahl zu bestimmen. Ein integrierter Algorithmus korrigiert dann automatisch den PLT-I Wert. Zur EDV wird dann der PLT-O Wert gesendet.



| Param. | Daten | Einheit |
|--------|--------|---------------------|
| FRC# | 0.0707 | 10 ⁶ /uL |
| FRC% | 1.42 | % |
| PLT & | 111 | 10 ³ /uL |
| PLT-I | 825 * | 10 ³ /uL |
| PLT-O | 111 | 10 ³ /uL |
| PDW | ---- | fL |
| MPV | ---- | fL |
| P-LCR | ---- | % |
| PCT | ---- | % |

RBC/RET
Fragmente?



Abb: PLT-O: Die Fluoreszenz-Thrombozyten wurden mit $111 \times 10^3/\mu\text{L}$ im RET-Kanal bestimmt. Durch einen speziellen Algorithmus im Gerät wird der Impedanz-Thrombozytenwert automatisch korrigiert. Der korrigierte Wert wird an die EDV übermittelt.

Abb: RET-Kanal mit Hinweis auf Fragmente, siehe Markierung Kreis. PLT-Zahl wurde korrekt über die Fluoreszenz-Methode bestimmt.

Kammerzählungen

Wenn das Labor keinen Retikulozyten-Kanal am Messgerät besitzt, sollte die Thrombozytenzahl mit der Zählammer verifiziert werden. Hersteller, wie z.B. die Firma Sarstedt, bieten dafür gebrauchsfertige Lösungen (Thrombo Plus) an.

Plausibilitätsprüfung der Thrombozytenzahl im Blutausstrich

Im normalen Blutbild ist das Verhältnis von Erythrozyten zu Thrombozyten etwa 1:10 bis 1:20 (z. B. 4.000.000 Erythrozyten und 200.000 Thrombozyten = 1:20). Durch Abschätzung dieses Verhältnisses in 10 – 20 Gesichtsfeldern mit dem 100er-Objektiv ergibt eine gut brauchbare Abschätzung der Thrombozytenzahl.

D) Quantifizierung der Fragmentozyten und Akanthozyten → was ist die richtige Methode?

D.1 Akanthozyten

Das Vorhandensein von Akanthozyten im peripheren Blutausstrich ist immer pathologisch. Eine semi-quantitative Beurteilung mit +, ++, +++ ist jedoch ausreichend. Eine Standardisierung in der Beurteilung ist aufgrund der Subjektivität des Betrachters nur bedingt möglich. Wenn folgendes Vorgehen bei der Beurteilung berücksichtigt wird, sind die Ergebnisse vergleichbar auch bei unterschiedlichen Betrachtern.

1. Richtige Stelle zur Beurteilung suchen: Erythrozyten liegen nebeneinander und berühren sich leicht
2. 10er Okular mit 100er Objektiv (ÖL, 1000-fache Vergrößerung)
3. Pro Gesichtsfeld 200 – 250 Erythrozyten
4. Ca. 10 Blickfelder beurteilen
5. Angaben der Akanthozyten, pro Gesichtsfeld gilt:

| | | | |
|----|--------|--------------------|------------------------|
| a. | normal | keine vorhanden <1 | |
| b. | 1+ | 2 – 5 | Akanthozyten/Blickfeld |
| c. | 2++ | 5 – 10 | Akanthozyten/Blickfeld |
| d. | 3+++ | 10 – 20 | Akanthozyten/Blickfeld |
| e. | 4++++ | > 20 | Akanthozyten/Blickfeld |

Angaben aus: Manual Hämatologie, 2009, Fuchs, Staib

D.2 Fragmentozyten

Fragmentozyten sind bei Normalpersonen nicht physiologisch. Sind Fragmentozyten vorhanden, so sind die Anzahl und die klinische Fragestellung diagnostisch entscheidend. Die wichtigste Fragestellung ist, ob ein Hyperfragmentationssyndrom vorliegt.

Werden in einem Ausstrich Fragmentozyten gefunden, sollte dies nicht, wie früher üblich, semiquantitativ mit +, ++, +++ angegeben werden, sondern quantitativ ermittelt werden. Die deutsche und österreichische Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO, ÖGHO) hat über ihren Arbeitskreis Laboratorien eine Empfehlung zur Zählung der Fragmentozyten herausgegeben (Fragmentozyten im peripheren Blut 09/2003)

Wenn eine Laboranforderung auf Fragmentozyten vorliegt oder im Ausstrich Fragmentozyten gefunden werden, so sollten sie gezählt und in der Dimension Promille angegeben werden.

1. Peripherer Blutausstrich, Blutabnahme nicht älter als 6 Stunden, technisch einwandfrei hergestellt, nach Pappenheim oder Wright gefärbt, korrekte Blutabnahme und -transport sind vorausgesetzt.
2. Optimale Stelle für die Erythrozytenbeurteilung suchen, Randbereiche meiden.
3. Ölimmersion mit 1000-fache Vergrößerung, (100er Objektiv)
4. Erythrozytenzahl pro Blickfeld bestimmen
5. Mindestens 1000 oder 2000 Erythrozyten auszählen (entsprechende Anzahl Blickfelder beurteilen)
6. Angabe der relativen Fragmentozytenzahl in Promille

Bewertung

| | |
|-----------------------------|---|
| Normalpersonen: | keine Fragmentozyten nachweisbar |
| Hyperfragmentationssyndrom: | initial und im Verlauf in der Regel > 5 Promille, |
| Graubereich 1 – 5 Promille: | zum Ausschluss des Hyperfragmentationssyndrom müssen weitere Untersuchungen angeschlossen werden (Gerinnungsuntersuchung, Nierenparameter, klinische Daten) |

Es werden gelegentlich Patienten mit 1 – 4 Promille Fragmentozyten gefunden, ohne das ein Hyperfragmentationssyndrom vorliegt.

E) XE-2100, XE-5000 → Fragmentozyten als Forschungsparameter vorhanden

Die Sysmex-Geräte XE-2100 und XE-5000 verfügen über die Möglichkeit einen quantitativen Wert für Fragmente auszugeben, der über eine Zusatzinfoseite am Gerät abzulesen ist. Es handelt sich dabei um einen Forschungsparameter und ist nicht als Screeningparameter für Fragmentozyten einzuordnen, da allein betrachtet die Spezifität zu gering ist.

Wird jedoch der Parameter Fragmentozyten vom Gerät intelligent mit anderen Blutbildparametern kombiniert, bekommt er wiederum eine ganz andere Bedeutung und kann wertvolle Informationen liefern. Im Case Manager am XE-5000 wird diese Kombination von Blutbildparametern verwendet, so dass der Parameter Fragmentozyten eine hohe Sensitivität erlangt.

Literatur

[1] *Fragmentozyten im peripheren Blut (09/2003), Empfehlung der Arbeitskreise »Laboratorium« der deutschen (DGHO) und Österreichischen (ÖGHO) Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie zum Thema Morphologie.*

[2] *Fuchs R, Staib P. (2009): Manual Hämatologie, Nora-Verlag GmbH.*

[3] *Sysmex Xtra Vol. 14, Nr.1, Themenblatt T052 Thrombozyten: Verteilungskurven und ihre Interpretation – Möglichkeiten und Grenzen der Impedanzmessung.*