




AKADÉMIAI KIADÓ

Vörösvértest morfológiai eltérések COVID-19 fertőzésben

Szerafin László^{1*} , Czibere Bernadett¹, Czine Zsigmond², Misák Viktor³, Szűcs Attila³ és Jakó János¹

Hematológia-
Transzfuziológia

55 (2022) 1, 10-14

DOI:
10.1556/2068.2022.00143
© 2022 Akadémiai Kiadó, Budapest

¹ Jósa András Oktatókórház Hematológiai Osztály, Nyíregyháza, Magyarország

² Jósa András Oktatókórház IV. Belgyógyászati Osztály, Nyíregyháza, Magyarország

³ Jósa András Oktatókórház Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Osztály, Nyíregyháza, Magyarország

Beérkezett: 2022. február 4. - Elfogadva: 2022. március 29.

EREDETI KÖZLEMÉNY



Bevezetés: A COVID-19 betegség okozta hematológiai eltérések közül a hemosztázis eltérések, citopéniák irodalma bőséges. A vörösvértestek morfológiai eltéréseit azonban még kevésbé vizsgálták. Közleményünkben COVID-19 betegek vérkép és vörösvértest-morfológiai változásait elemeztük. **Módszer:** 44 igazoltan COVID-19 fertőzött, kórházunkban kezelt (17 fő intenzív osztályon, 27 fő általános COVID-osztályon) beteg vérképének mennyiségi jellemzőit ADVIA 2120i hematológiai automatával határoztuk meg. A vörösvértestek morfológiáját May-Grünwald-Giemsa szerint festett kenetek mikroszkópos vizsgálatával tanulmányoztuk. Mértük a C-reaktív protein szintjét, és az intenzív osztályon kezelt betegeinknél d-dimer- és fibrinogénszint meghatározása is történt. **Eredmények:** A betegek 90,9%-ának vérkenetében láttunk vörösvértest-morfológiai eltérést (intenzív osztályon kezelt betegek 88,2%-ában, általános COVID-osztályon kezelt betegek 92,6%-ában). A leggyakoribb vörösvértest-morfológiai elváltozások: pénztekercképződés (70,6%, illetve 44,4%), basophil punktáció (35,3%, illetve 74,1%), acanthocytosis (17,6%, illetve 55,6%) volt. Ezenkívül stomatocytosis, sphaerocytosis, fragmentocytosis, elliptocytosis és dakryocytákat is megfigyeltünk kisebb számban. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a vörösvértest-átmérő variációs koefficiens (RDW) értéke és a betegség kórlefolyásának súlyossága között. **Következtetések:** COVID-19 fertőzésben a vörösvértestek morfológiai eltérései igen gyakran megfigyelhetők a betegség súlyosságától függetlenül. Ezek háttérében a fertőzés okozta nagymértékű oxidatív stressz, a vörösvértestmembrán szerkezeti fehérjéinek és a membrán lipid homeosztázisának sérülései és autoagglutináció állnak.

KULCSSZAVAK

COVID-19 fertőzés, vörösvértest morfológia, oxidatív stressz

Erythrocyte morphological abnormalities in COVID-19 infection

Introduction: Among the haematological abnormalities caused by COVID-19 disease, the literature on hemostasis abnormalities and cytopenias is abundant. However, the morphological differences of the red blood cells have been studied even less. In our paper, we analyzed the morphological changes of blood counts and red blood cells in COVID-19 patients. **Methods:** Quantitative characteristics of the blood counts of 44 COVID-19-infected patients treated in our hospital (17 in the intensive care unit, 27 in the general COVID ward) were determined with an ADVIA 2120i hematology machine. The morphology of erythrocytes was studied by microscopic examination of smears stained according to May-Grünwald-Giemsa. C-reactive protein levels were measured and d-dimer and fibrinogen levels were determined in our intensive care unit patients. **Results:** Red blood cell morphological abnormalities were seen in the blood smears of 90.9% of patients (88.2% of patients treated in the intensive care unit and 92.6% of patients treated in the general COVID department). The most common erythrocyte morphological changes: rouleaux formation (70.6% and 44.4%, respectively), basophil puncture (35.3% and 74.1%, respectively), acanthocytosis (17.6% and 55.6%, respectively). In addition, stomatocytosis, sphaerocytosis, fragmentocytosis, elliptocytosis, and dacryocytes were observed in smaller numbers. No significant correlation was found between the coefficient of variation of the red blood cell diameter (RDW) and the severity of the disease. **Conclusions:** Morphological abnormalities of erythrocytes in COVID-19 infection are very common regardless of the severity of the disease. These are due to high

*Levelező szerző/Corr. address:
Dr. Szerafin László, 4400 Nyíregyháza,
Szent István u. 68.;
E-mail: dr.szerafin.laszlo@szszbmk.hu



levels of oxidative stress due to infection, damage to erythrocyte membrane structural proteins and membrane lipid homeostasis, and autoagglutination.

KEYWORDS

COVID-19 infection, erythrocyte morphology, oxidative stress

BEVEZETÉS

A koronavírus betegség (COVID-19) okozta hematológiai eltérések közül a hemosztázis eltérések, citopéniák irodalma bőséges (emelkedett fibrinogénszint, magas d-dimer-szint, trombocitopénia, leukopénia, limfopénia, protrombotikus állapot, disszeminált intravaszkuláris koaguláció) [1]. A vörösvértestek (vvt) morfológiai eltéréseit azonban még kevésbé vizsgálták. Közleményünkben COVID-19 betegek vérkép és vörösvértest-morfológiai eltéréseit elemeztük.

MÓDSZER

2021 tavaszán, a pandémia harmadik hulláma idején kórházunkban kezelt 44 COVID-fertőzött beteg vérképét és vérkenetét vizsgáltuk (életkor 18–90 év, 20 férfi, 24 nő). A betegek közül 17 főt intenzív osztályon, 27 beteget általános COVID-osztályon kezeltek. A vörösvértestek morfológiáját May-Grünwald-Giemsa festett kenet mikroszkópos vizsgálatával (600× nagyítás) tanulmányoztuk, párhuzamosan készült egészséges kontroll vérkenetekkel összehasonlítva. Mértük a C-reaktív protein (CRP) szinteket, és az intenzív osztályon kezelt betegeinknél d-dimer- és fibrinogénszint-meghatározás is történt. 31 esetben szérum összbilirubin és direkt bilirubin, valamint 38 esetben laktát-dehidrogenáz enzimszint meghatározása is történt. A statisztikai vizsgálatot khí-négyzet próbával végeztük, a $P < 0,05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

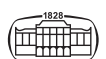
Az intenzív osztályon kezelt 17 betegből 9 (52,9%), az általános COVID-osztályon kezelt 27 betegből 8 (29,6%) hunyt el. A hemoglobinszint csökkenését intenzív osztályon kezeltéknél 4/17, általános osztályon kezeltéknél 11/27 esetben észleltük, de transfúziós igény nem volt. A fehérvérsejtszám az intenzív osztályon kezeltéknél 7/17, az általános osztályon kezeltéknél 9/27 esetben volt a normálnál alacsonyabb vagy magasabb. A trombocitaszám az intenzív ellátásban részesülőknél 1/17, a nem intenzív kezelésben részesülők között 6/27 esetben volt a normálnál alacsonyabb. A vvt-átmérő variációs koefficiense (RDW) az intenzív osztályon kezeltéknél 12 fő esetében, az általános osztályon kezeltéknél 22 fő esetében volt magasabb 13%-nál. Kóros, 16% feletti értéket egyik betegcsoportban sem találtunk. A CRP-szint intenzív osztályon kezelt esetekben 16/17, általános osztályon kezeltéknél 22/

27 esetben volt emelkedett. D-dimer- és fibrinogénszint-vizsgálat minden esetben csak az intenzív osztályon kezeltéknél történt. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a hemoglobinszint, az RDW, a fehérvérsejtszám, a trombocitaszám és a CRP-szintek, valamint a betegség súlyossága, valamint a halálos kimenetel között.

A betegek döntő többségénél, 40/44 esetben (90,9%) kimutatható volt a vérkenetben valamilyen vvt morfológiai eltérés, különböző gyakorisággal (az intenzív osztályon kezeltéknél 15/17 esetben, 88,2%-ban, az általános osztályon kezeltéknél 25/27 esetben, 92,6%-ban). A leggyakoribb vvt morfológiai elváltozás a pénztekercképződés (70,6%, illetve 44,4%), a basophil punktáció (35,3%, illetve 74,1%) és az acanthocytosis (17,6%, illetve 55,6%) volt. Ezenkívül stomatocytosis, sphaerocytosis, fragmentocytosis, elliptocytosis és dakryocytákat is megfigyeltünk kisebb számban (1. táblázat). A megfigyelt vvt morfológiai eltéréseket az 1. ábrán mutatjuk be. Az egészséges egyénektől származó, párhuzamosan készült perifériás vérkenetekben lényeges vvt morfológiai eltérést nem láttunk.

MEGBESZÉLÉS

A COVID-19 fertőzés hematológiai vonatkozásai közül a hemosztázis eltéréseknek, citopéniáknak kiterjedt irodalma van [1]. A vérkép változatos mennyiségi eltérései közül a betegség során növekvő eosinophil és basophil arány kedvezőbb körlefolásra, gyorsabb felépülésre utal egyes szerzők szerint [2]. A vérkép morfológiai eltéréseit azonban csak kevesen vizsgálták [3]. Saját betegek között egyaránt észleltünk csökkent és emelkedett hemoglobinszintet, fehérvérsejtszámot és trombocitaszámot. Munkánk középpontjába a vvt-k morfológiai eltéréseinek vizsgálatát helyeztük. Leggyakoribb eltérésként a vvt-k pénztekercképződését láttuk (COVID intenzív osztályon 70,6%, általános osztályon 44,4%). Abramson betegek 85%-ában észlelt autoagglutinációt [4], amit a megnövekedett immunglobulinok és a fibrinogén mennyiségének tulajdonítanak. A spontán vvt-agglutináció a komplement és/vagy a vvt-eket fedő antitestek mennyiségétől is függ [5]. Ez is közrejátszik a COVID-19 fertőzés miatt kórházban kezelt betegek egy részének transfúziós igényében [6]. A második leggyakoribb vvt-eltérés a basophil punktáció volt (általános COVID-részlegen fekvők 74,1%-ában, COVID intenzív osztályon kezelték 35,3%-ában). Ezt más szerzők is gyakorinak találták, és a megnövekedett retikulocitaszámot valószínűsítették a háttérben [7, 8]. Ugyancsak érdekes és jellemző eltérés az acanthocyták jelenléte (saját betegek között általános COVID-osztályon 55,6%-ban, intenzív osztályon 17,6%-ban). Erről az általunk ismert irodalomban adatot nem találtunk. Sphaerocytákat a betegek 30%-ában



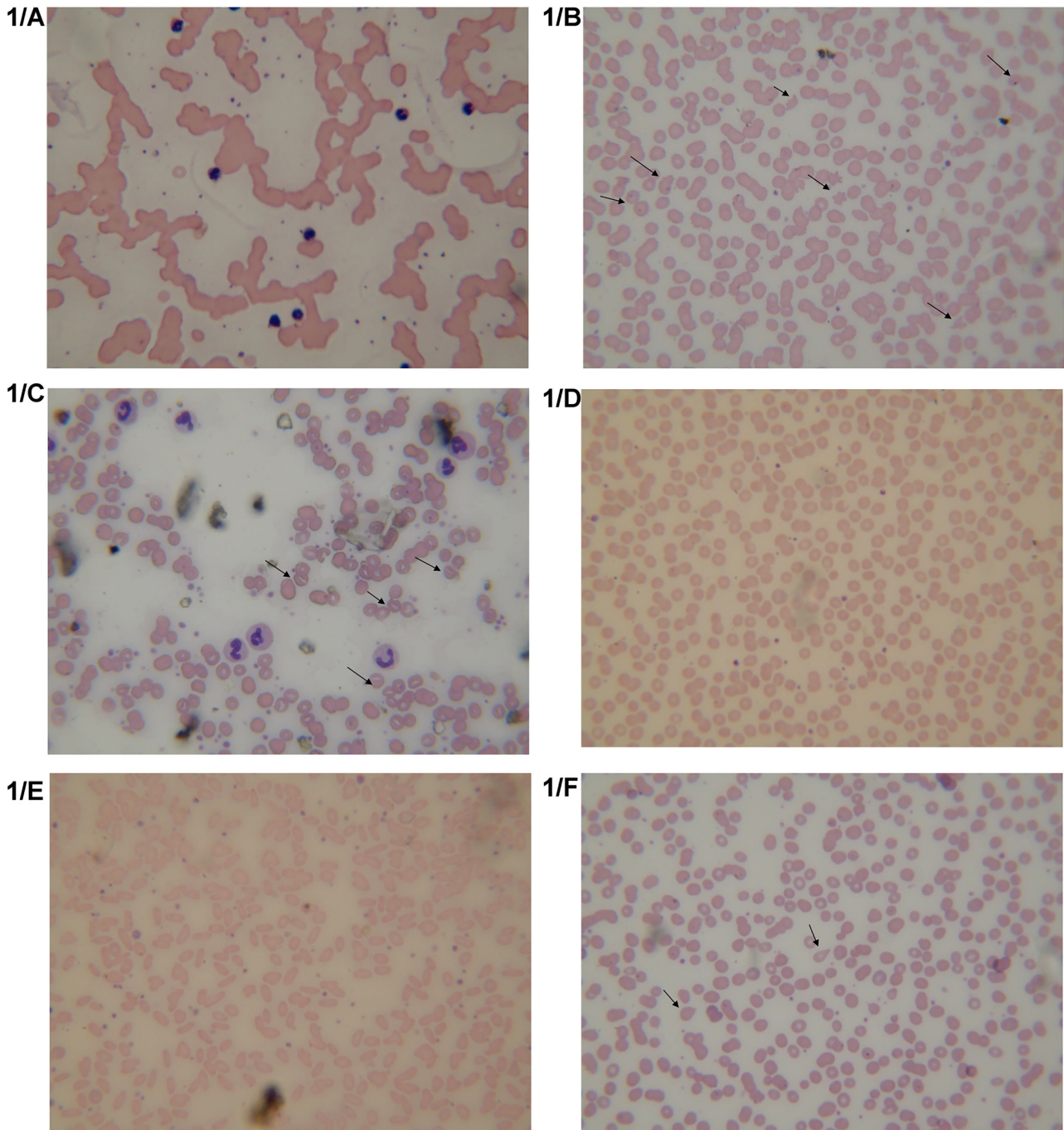
1. táblázat. Vörösvértest morfológiai eltérések COVID-19 betegekben (+: több látóteret vizsgálva csak néhányban észlelhető morfológiai elváltozás, ++: minden látóterben megfigyelhető 1-2 morfológiai elváltozás, +++: minden látóterben több sejtben figyelhető meg morfológiai elváltozás)

Vörösvértest morfológiai eltérés Gyakorisága	COVID – Általános osztály (n = 27)				COVID – Intenzív osztály (n = 17)			
	*	**	***	Összes	*	**	***	Összes
Pénztekercsképződés	0 (0%)	5 (18,5%)	7 (25,9%)	12 (44,4%)	3 (17,6%)	5 (29,4%)	4 (23,5%)	12 (70,6%)
Stomatocytosis	2 (7,4%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (7,4%)	2 (11,8%)	1 (5,9%)	0 (0%)	3 (17,6%)
Acanthocytosis	7 (25,9%)	2 (7,4%)	6 (22,2%)	15 (55,6%)	2 (11,8%)	0 (0%)	1 (5,9%)	3 (17,6%)
Sphaerocytosis	2 (7,47%)	2 (7,4%)	1 (3,7%)	5 (18,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Fragmentocytosis	1 (3,7%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,7%)	1 (5,9%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5,9%)
Elliptocytosis	2 (7,4%)	0 (0%)	1 (3,7%)	3 (11,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Basophil punktáció	6 (22,2%)	10 (37,0%)	4 (14,8%)	20 (74,1%)	5 (29,4%)	0 (0%)	1 (5,9%)	6 (35,3%)
Dakryocyt	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5,9%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5,9%)
Vörösvértest morfológiai elváltozás összesen				25 (92,6%)				15 (88,2%)
Vörösvértest morfológiai elváltozás általános + intenzív osztályon összesen				40 (90,9%)				

írtak le, amely a hemolízis markere is [5]. Saját betegeink között általános COVID-osztályon kezelték esetében 18,5%-ban talákoztunk ezzel az eltéréssel, intenzív osztályon kezelték keneteiben azonban nem láttuk. Előbbiek kivül néhány esetben megfigyeltünk stomatocytákat, fragmentocytákat, elliptocytákat és dakryocytákat is. Más szerzők leírtak gombafejszerű elváltozást mutató vvt-eket (mushroom-shaped erythrocytes), amelyek kialakulásában az oxidatív stressznek van szerepe [9, 10], valamint schistocytákat [11], knizocytákat [12]. Mi az utóbbi elváltozásokkal nem talákoztunk. Valamilyen vvt morfológiai elváltozást a vérkenetek 70%-ában találtuk [3], mi szintén gyakorinak találtuk ezeket (az összes beteg 90,9%-ában). A vvt-átmérő variációs koefficiensét (RDW) többen a várható élettartammal hozzák összefüggésbe főleg idősebb korban, és néhány tanulmány szerint a magasabb RDW-érték (>13%) – elsősorban az RDW hospitalizáció alatti változása, emelkedése – rosszabb prognózisra, nagyobb mortalitásra utalhat [13–15]. Mi saját betegeink között a normálisnál magasabb (>16%) RDW-értéket nem láttunk, az irodalom szerinti 13%-os küszöbértéket vizsgálva sem találtunk szignifikáns összefüggést a COVID-os betegek mortalitása és RDW-szintje között ($P = 0,30$, n. sz.), de mi az RDW-értéket csak egy időpontban, a felvételnél vizsgáltuk. A 13%-ot meghaladó RDW-szint azonban betegeink között is gyakori volt (COVID intenzív osztályon kezelték 70,6%-ában, általános osztályon kezelték 81,5%-ában). A szórványos irodalmi adatokkal megegyezően vizsgált betegeink nagy részében észleltünk valamilyen vvt morfológiai eltérést, az esetek zömében több fajtát is egy azonos betegben (1. ábra). Ezek hátterében a fertőzés okozta jelentős oxidatív stressznek, a megváltozott vvt anyagcsere következtében módosult fehérje- és lipid-szerkezetnek, a csökkent hemoglobin oxigénsaturációnak és immunmediált mechanizmusoknak van szerepe [3, 16, 17]. Ugyanezek

az elváltozások szerepet játszhatnak a COVID-19 fertőzésben előforduló mikroangiopathiák kialakulásában is. A COVID-osztályokon fekvő betegektől történő tervezett vérvétel a betegellátás nehézségei és a változó egészségügyi személyzet miatt nehézségekbe ütközött. A vvt morfológiai eltérések egyéb okainak kizárása (pl. hemolízis) céljából a nem intenzív osztályon kezelt betegek közül 19/27 fő esetében történt szérumbilirubinszint meghatározás, közülük csupán egy betegnek volt emelkedett minimálisan az összbilirubin szintje, de a direkt bilirubinszint alapján ez nem hemolízisre utalt. Az intenzív részlegen fekvő betegeknél 12/17 esetben történt bilirubinszint meghatározás, közülük csupán két betegnél emelkedett kissé a bilirubinszint, de nem utalt hemolízisre. Laktát-dehidrogenáz enzimszint meghatározás az általános COVID-részlegen fekvő 27 betegből 21 esetben történt, közülük 12 főnél mértünk emelkedett enzimszintet. Az intenzív részlegen fekvő betegek közül 12/17 esetben történt laktát-dehidrogenáz enzimszint meghatározás, 11 esetben az enzimszint-emelkedés jelentős volt, ami a kórlefolyás súlyosságával mutatott összefüggést. Összességében a szérumbilirubinszint és laktát-dehidrogenáz enzimszint változások nem utaltak hemolízisre, ami befolyásolhatta volna a vvt-morfológiát. Retikulocitaszám meghatározása sajnos nem történt. Ennek ellenére a betegek vérkeneteivel párhuzamosan készült és festett egészséges kontroll vérkenetekben nem láttunk lényeges vvt morfológiai eltérést, a különbség a betegek keneteivel összehasonlítva szembetűnő volt. Ezek alapján a laboratóriumi vizsgálatok hiányosságai ellenére is az észlelt vvt morfológiai eltérések a COVID-fertőzés következményének tarthatók, nem pedig morfológiai artefaktumnak. Bár az általunk vizsgált betegek, vérkenetek száma nem nagy, a talált, gyakran többszörös vvt morfológiai eltérések aránya magas, ami megegyezik az irodalmi adatokkal. További nagyobb esetszámú vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy az észlelt vvt





1. ábra. Morfológiai eltérések COVID-19 fertőzött betegek vörösvértestein (May-Grünwald-Giemsa festés, 600× nagyítás). 1/A: Pénz-tekerésképződés, 1/B: Acanthocytosis, Basophil punctatio, Fragmentocyták, 1/C: Stomatocytosis, 1/D: Sphaerocyták, 1/E: Elliptocytosis, 1/F: Dakryocyták (Forrás: Dr. Szerafin László felvételei)

morfológiai eltérések mennyiben jelezhetik a betegség várható kórlefolását.

Nyilatkozat: A közlemény nem jelent meg más folyóiratban és nem áll publikáció alatt. A levelező szerző a szerzői útmutatót elolvasta.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Támogatás: A közlemény megírása anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: Sz. L.: témafelvetés, irodalomkutatás, adatok feldolgozása, eredmények összegzése, közlemény megírása; Cz. B.: adatfeldolgozás; Cz. Zs., M. V., Sz. A.: a betegek kezelése, adatszolgáltatás; J. J.: a közlemény megírása.

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

COVID-19	koronavírus betegség 2019
CRP	C-reaktív protein
RDW	red cell distribution with = vörösvértest- átmérő variációs koefficiense
vvt	vörösvértest

IRODALOM

- [1] Mina A, van Besien K, Platanius LC. Hematological manifestations of COVID-19. *Leuk Lymphoma* 2020; 61(12): 2790–8.
- [2] Mao J, Dai R, Du RC, et al. Hematologic changes predict clinical outcome in recovered patients with COVID-19. *Ann Hematol.* 2021; 100(3): 675–89.
- [3] Berzuini A, Bianco C, Migliorini AC, et al. Red blood cell morphology in patients with COVID-19-related anaemia. *Blood Transfus.* 2021; 19(1): 34–6.
- [4] Abramson N. Rouleaux formation. *Blood* 2006; 107(11): 4205.
- [5] Packman CH. The clinical pictures of autoimmune hemolytic anemia. *Transfus Med Hemother.* 2015; 42(5): 317–24.
- [6] Berzuini A, Bianco C, Paccapelo C, et al. Red cell bound antibodies and transfusion requirements in hospitalized patients with COVID-19. *Blood* 2020; 136(6): 766–8.
- [7] Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. *N Engl J Med.* 2005; 353(5): 498–507.
- [8] Jones J, Ireland R. Morphological changes in a case of SARS-CoV-2 infection. *Blood* 2020; 135(25): 2324.
- [9] Gérard D, Brahim SB, Lesesve JF, et al. Are mushrooms-shaped erythrocytes an indicator of COVID-19? *Br J Haematol.* 2021; 192(2): 230.
- [10] Lesesve JF. Mushroom-shaped red blood cells in protein band-3 deficiency. *Am J Hematol.* 2011; 86(8): 694.
- [11] Ackermann M, Verleden S, Kuechnel M, et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis and angiogenesis in COVID-19. *N Engl J Med.* 2020; 383(2): 120–8.
- [12] Bessis M. Spherocytes and knizocytes. In: Bessis M, editor. *Corpuscles.* Berlin, Heidelberg: Springer; 1974; 65–70.
- [13] Henry BM, Bnoit JL, Benoit S, et al. Red Blood cell distribution width (RDW) predicts COVID-19 severity: a prospective, observational study from the Cincinnati SARS-CoV-2 emergency department cohort. *Diagnostics* 2020; 10: 618; <https://doi.org/10.3390/diagnostics10090618>.
- [14] Foy BH, Carson JCT, Reinertsen E, et al. Association of red blood cell distribution width with mortality risk in hospitalized adults with SARS-CoV-2 infection. *JAMA Netw Open.* 2020; 3: e 2022058.
- [15] Lorente L, Martin MM, Argueso M, et al. Association red blood cell distributions width and mortality of COVID-19 patients. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2021; 40: 100777.
- [16] Murphy P, Glavey S, Quinn J. Anemia and red blood cell abnormalities in COVID-19. *Leuk Lymphoma* 2021; 63: 1539; <https://doi.org/10.1080/10428194.2020.1869967>.
- [17] Thomas T, Stefanoni D, Dzieciatkowska M, et al. Evidence of structural protein damage and membrane lipid remodeling in red blood cells from COVID-19 patients. *J Proteome Res.* 2020; 19(11): 4455–69.

