

Морфология лейкоцитов периферической крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19)

Л.М. Сомова¹, Е.И. Дробот¹, Е.В. Пустовалов^{1,2}, С.А. Абрамова¹,
Н.Г. Плехова³, А.И. Симакова³, С.А. Сокогутун³, А.О. Михайлов³,
И.Н. Ляпун¹, М.Ю. Щелканов^{1,2,4}

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

² Дальневосточный Федеральный университет, Владивосток, Россия

³ ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, Владивосток, Россия

⁴ ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия

Резюме. *Введение.* Стремительное развитие пандемии COVID-19, вызванной SARS-CoV-2, изначально свидетельствовало о значительном вовлечении в патологический процесс иммунной системы, включая лейкоциты периферической крови. Гематологические изменения были описаны уже при первых случаях COVID-19, тем не менее лишь в единичных работах сообщается о морфологических аномалиях клеток в мазках периферической крови. Цель настоящего исследования – охарактеризовать морфологию лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19, определить значение ее изменений в развитии дисфункции иммунной системы и для диагностики заболевания.

Материалы и методы. Исследована кровь 30 пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, находившихся на лечении в стационаре краевой клинической больницы № 2 Владивостока. Диагноз COVID-19 был подтвержден с помощью ПЦР-теста. Фиксированные в тетраоксиде осмия образцы лейкоконцентрата периферической крови были залиты в эпоксидную смолу с последующим приготовлением полутонких и ультратонких срезов.

Результаты. При световой и электронной микроскопии лейкоконцентрата периферической крови впервые у пациентов с коронавирусной инфекцией обнаружены кариопатологические изменения в нейтрофилах и моноцитах, составляющих базальный уровень иммунной системы. Эти изменения характеризовались ядерным дисморфизмом с появлением аномальных форм, отсутствующих у здоровых людей. Выявленные морфологические аномалии лейкоцитов следует рассматривать как признаки гипореактивности этих клеток, которые косвенно указывали на снижение их бактерицидного потенциала при COVID-19. При этом слабо визуализировалась секреторная дегрануляция нейтрофилов с выделением содержимого гранул во внеклеточное пространство, наблюдались сглаженность плазмалеммы лейкоцитов с малым числом микроворсинок, участвующих в захвате объектов фагоцитоза, отмечалось большое количество апоптотических лейкоцитов, у которых фагоцитарная способность редуцирована.

Заключение. Выявление морфологических аномалий циркулирующих лейкоцитов у пациентов с COVID-19 имеет диагностическое и прогностическое значение при данной патологии.

Ключевые слова: кровь, нейтрофилы, моноциты, морфология, COVID-19, SARS-CoV-2, кариопатологические изменения

Для корреспонденции: Лариса Михайловна Сомова. E-mail: l_somova@mail.ru

Для цитирования: Сомова Л.М., Дробот Е.И., Пустовалов Е.В., Абрамова С.А., Плехова Н.Г., Симакова А.И., Сокогутун С.А., Михайлов А.О., Ляпун И.Н., Щелканов М.Ю. Морфология лейкоцитов периферической крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). Клиническая морфология. 2023;12(3):41–49. DOI: 10.31088/CEM2023.12.3.41-49.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора (№ 122041800135-3) при поддержке гранта РФФИ № 20-04-60212 «Комплексный эколого-вирусологический мониторинг коронавирусов в экосистемах Дальнего Востока».

Статья поступила 11.01.2023. **Получена после рецензирования** 24.01.2023. **Принята в печать** 10.04.2023.

Morphology of peripheral blood leukocytes in patients with new coronavirus infection (COVID-19)

L.M. Somova¹, E.I. Drobot¹, E.V. Pustovalov^{1,2}, S.A. Abramova¹,
N.G. Plekhova³, A.I. Simakova³, S.A. Sokotun³, A.O. Mikhailov³,
I.N. Lyapun¹, M.Yu. Shchelkanov^{1,2,4}

¹ Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia

³ Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

³ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

⁴ Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch, Vladivostok, Russia

Abstract. Introduction. The rapid spread of the COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2 initially indicated a significant immune system involvement, including peripheral blood leukocytes. Hematologic changes have already been described in the first cases of COVID-19; however, only few studies reported morphological cell abnormalities in peripheral blood smears. The aim of the study was to characterize the morphology of peripheral blood leukocytes in patients with COVID-19 and determine the significance of its changes in the immune system dysfunction and for the disease diagnosis.

Materials and methods. We studied blood samples of 30 patients infected by SARS-CoV-2 virus (confirmed with PCR tests) who were treated in Regional Clinical Hospital No. 2 in Vladivostok. Peripheral blood buffy coat samples fixed in osmium tetroxide were embedded in epoxy with subsequent preparation of semithin and ultrathin sections.

Results. To the best of our knowledge, it is the first study to show nuclear pathological changes in neutrophils and monocytes in blood buffy coat of the patients with coronavirus infection with light and electron microscopy of peripheral blood. We found cells with abnormal nuclear shape and leukocyte apoptotic degeneration absent in healthy individuals. The identified morphological leukocyte abnormalities should be considered as signs of hyporeactivity of these cells, which indirectly indicate a decrease in their bactericidal potential in COVID-19. At the same time, the secretory degranulation of neutrophils with the release of the contents of the granules into the extracellular space was poorly visualized. We observed smooth plasmalemma of leukocytes with a small number of microvilli involved in phagocytosis and numerous apoptotic leukocytes with reduced phagocytic ability.

Conclusion. The detection of morphological abnormalities of circulating leukocytes in patients with COVID-19 is of diagnostic and prognostic value in this pathology.

Keywords: blood, neutrophils, monocytes, morphology, COVID-19, SARS-CoV-2, karyopathological changes

Corresponding author: Larisa M. Somova. E-mail: l_somova@mail.ru

For citation: Somova L.M., Drobot E.I., Pustovalov E.V., Abramova S.A., Plekhova N.G., Simakova A.I., Sokotun S.A., Mikhailov A.O., Lyapun I.N., Shchelkanov M.Yu. Morphology of peripheral blood leukocytes in patients with new coronavirus infection (COVID-19). Clin. exp. morphology. 2023;12(3):41–49 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.3.41-49.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology (No. 122041800135-3) and was supported by the RFBR Project No. 20-04-60212 “Integrated ecological and virological monitoring of coronaviruses in the ecosystems of the Far East”.

Received 11.01.2023. **Received in revised form** 24.01.2023. **Accepted** 10.04.2023.

Введение

Впервые изолированный в китайском городе Ухань (провинция Хубэй) в декабре 2019 года коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) продемонстрировал свой пандемический потенциал уже весной 2020 года, и с этого времени этиологически связанная с ним инфекция COVID-19 (Coronavirus disease 2019) остается наиболее актуальным инфекционным заболеванием во всем мире [1, 2]. Стремительное развитие пандемии COVID-19, вызванной SARS-CoV-2, изначально свидетельствовало

о значительном вовлечении иммунной системы в патологический процесс, включая лейкоциты периферической крови [3]. Количественные гематологические изменения были описаны при первых исследованиях пациентов с болезнью, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Наиболее частые гематологические признаки включают лимфоцитопению [4–6], нейтрофилию [7–9], эозинопению [10, 11], легкую тромбоцитопению (35%) или, реже, тромбоцитоз [5].

Лишь в единичных работах сообщается о морфологических аномалиях клеток периферической крови [12–14], однако в доступной литературе нам

не удалось встретить работы об ультраструктурных исследованиях этих клеток. Абсолютное количество нейтрофилов часто повышалось ($>5 \times 10^9/\text{л}$) в первые дни после поступления в стационар, до начала лечения или сразу после него с тенденцией к снижению через 1 неделю после этого ($1,48\text{--}3,23 \times 10^9/\text{л}$). В ранней фазе нарастания симптомов, обычно совпадающей с госпитализацией, в периферической крови выявляли выраженную гранулоцитарную реакцию с незрелостью, дисморфизмом и апоптозно-дегенеративной морфологией [12–14].

Сообщается, что чувствительность и специфичность доступных в настоящее время диагностических методов сильно различаются [15]. Существуют различные проблемы с постановкой точного диагноза у пациентов с COVID-19, тем более что часть больных может быть бессимптомными носителями. В связи с этим изучение клеток периферической крови морфологическими методами у пациентов с COVID-19 может помочь в диагностике и, в некоторой степени, прогнозе заболевания. За эти изменения могут быть ответственны воспалительная реакция и вирусные эффекты на лейкоциты, которые возможно отслеживать в динамике заболевания. Учитывая патогенетическое значение иммунных нарушений при COVID-19, исследование морфофункциональных изменений клеток периферической крови имеет научное и практическое значение.

Цель настоящего исследования – охарактеризовать морфологию лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19, определить значение ее изменений в развитии дисфункции иммунной системы и для диагностики заболевания.

Материалы и методы

Материал. Для изучения морфологии циркулирующих лейкоцитов была взята кровь от 30 пациентов (18 женщин, 12 мужчин), инфицированных вирусом SARS-CoV-2, находившихся на лечении в стационаре красной клинической больницы № 2. Наличие коронавирусной инфекции (COVID-19) подтверждено с помощью ПЦР-теста. Диапазон возраста пациентов составил от 24 до 89 лет (средний возраст 61 год), из них до 30 лет – два пациента, 31–50 лет – три, 51–80 лет – 22, старше 80 лет – три пациента. При поступлении в стационар получено информированное добровольное согласие пациентов на медицинское вмешательство (приложение № 2 к приказу Минздрава России от 12.11.2021 № 1051н). На проведение морфологического исследования крови пациентов с COVID-19 получено разрешение локального этического комитета НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора (протокол № 2 от 16.11.2021).

Методы. Методической особенностью данной работы является исследование лейкоконцентрата периферической крови с использованием комплексного подхода, сочетающего световую микроскопию клеток

на полутонких срезах, окрашенных по Романовскому–Гимзе, и электронную микроскопию ультратонких срезов. Это позволило дать детальную морфологическую характеристику большого количества клеток, чем при исследовании мазков крови пациентов с COVID-19.

Получение лейкоконцентрата проводили по методике [16] в собственной модификации. В мерную центрифужную пробирку с антикоагулянтом (гепарин в количестве 5 единиц на 1 мл крови) брали самотеком 10 мл крови из локтевой вены, осторожно смешивали и помещали в термостат под углом 45° при температуре 37° на 20–30 минут. Верхний слой отделившихся 2–3 мл плазмы аккуратно отсасывали пастеровской пипеткой и удаляли. Нижний слой плазмы и лейкоцитарную пленку отбирали в чистую центрифужную пробирку, центрифугировали 7–10 минут со скоростью 800–1000 об./мин, при которой не происходит разрушение клеток. После центрифугирования надосадочную жидкость отсасывали из пробирки и получали осадок лейкоконцентрата с минимальным объемом жидкости для морфологического исследования.

Полученные образцы лейкоконцентрата фиксировали при комнатной температуре в течение 1 часа фиксатором Ито, содержащим растворы параформальдегида и пикриновой кислоты на 0,15 М фосфатном буфере, pH 7,3. Образцы трехкратно отмывали от фиксатора Ито 0,15 М фосфатным буфером, pH 7,3, путем центрифугирования по 15 минут каждый цикл, дофиксировали 1% раствором тетраоксида осмия (OsO_4) в течение 2 часов при комнатной температуре, а затем трехкратно отмывали от осмиевого фиксатора 0,15 М фосфатным буфером, pH 7,3, путем центрифугирования, по 15 минут каждый цикл.

Далее образцы лейкоконцентрата обезвоживали в 50° и 70° этаноле и заливали в эпоксидную смолу White resin, согласно инструкции производителя, в полихлорвиниловые капсулы. Для полимеризации смолы использовались два температурных режима: 37°C (в течение 1 суток), 60°C (в течение 2 суток). Для обработки материала применяли реактивы и эпоксидную смолу фирмы Sigma-Aldrich (США).

На ультрамикротоме LKB Bromma 2088 Ultrame V (Швеция) готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм, которые помещали на предметные стекла и окрашивали метиленовым синим – азуром II – эозином (по Гимзе). Исследование окрашенных полутонких срезов проводили в световом микроскопе МИКМЕД-6 (ЛОМО, Россия) с компьютерным анализом видеоизображения. Ультратонкие срезы толщиной около 80 нм контрастировали насыщенным раствором уранилацетата и дополнительно щелочным раствором 0,02% цитрата свинца, просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100S (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Микрофотосъемку производили на фотопластинки для промышленных и научных целей размерами 6×9 см ПФП-01Т («Славич», Россия).

Результаты

При световой микроскопии полутонких срезов у всех обследованных пациентов с COVID-19 в периферической крови обнаружены морфологические изменения лейкоцитов (рис. 1, 2). У пациентов с COVID-19 среднее число морфологически измененных лейкоцитов, включая нейтрофилы и моноциты, составило 69%.

В нейтрофилах периферической крови выявлены отчетливые изменения формы ядра (рис. 1 А–С) и наличие двухъядерных клеток (рис. 1 D). Среди них встречались нейтрофилы с крупно- и мелковакуольной дегенерацией цитоплазмы (рис. 1 А, В, 2 А, В), вероятно, вследствие токсического действия вируса. В моноцитах крови, в норме имеющих эксцентрично расположенное бобовидное ядро [17], обнаружены аномальные формы ядра, имеющие глубокую вырезку (рис. 2 С). В части моноцитов, как и в нейтрофилах, обнаружена цитоплазматическая вакуолизация. Кроме того, к характерным изменениям клеток периферической крови при COVID-19 следует отнести апоптотную дегенерацию. Во многих полях зрения обнаруживались апоптотические лейкоциты (рис. 2 D), в цитоплазме которых были видны округлые фрагменты конденсированного ядерного хроматина. Таким образом, выявленные изменения лейкоцитов периферической крови пациентов с COVID-19 можно трактовать как патоло-

гические (дегенеративные) формы, индуцированные коронавирусом SARS-CoV-2.

Исследование субмикроскопической организации эукариот дает возможность углубленного понимания сущности и механизмов патологических изменений клеток при различных заболеваниях, в том числе при вирусных инфекциях. В нашей работе впервые изучена ультраструктура лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19, что позволило детализировать аномалии этих клеток, вызванные коронавирусом SARS-CoV-2, и оценить их патогенетическое значение.

Установлено, что в ядрах как нейтрофилов, так и моноцитов преобладал транскрипционно неактивный (конденсированный) хроматин, расположенный под ядерной оболочкой (плазмалеммой) (рис. 3 А, В). Это указывало на то, что коронавирус SARS-CoV-2 не вызывал отчетливого стимулирующего действия на циркулирующие лейкоциты крови. При этом на поверхности наружной цитоплазматической мембраны лейкоцитов наблюдалась редукция микроворсинок с наличием лишь единичных выростов цитоплазмы (рис. 3 В). Цитоплазма нейтрофилов плотно заполнена секреторными гранулами (рис. 5). Однако в наших исследованиях при коронавирусной инфекции в нейтрофилах периферической крови не удалось визуализировать экзоцитоз

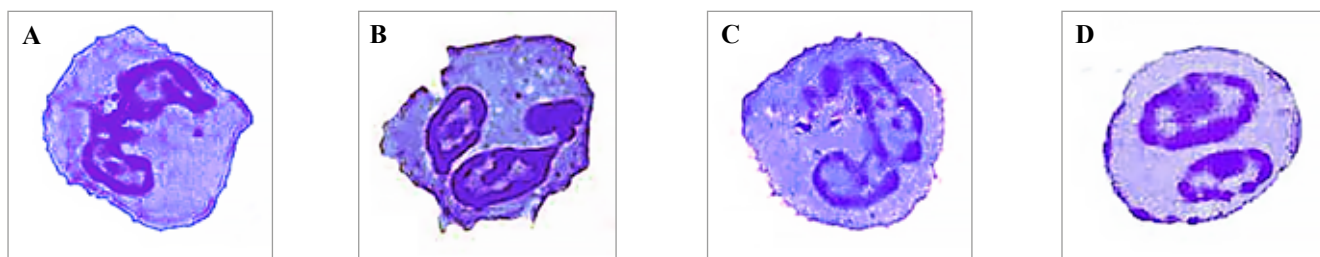


Рис. 1. Морфологическая аномалия лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19.

А–С – нейтрофилы с сегментированным ядром причудливой формы, D – двухъядерный нейтрофил, $\times 1000$.

Полутонкий срез, окраска по Гимзе

Fig. 1. Morphological abnormality of peripheral blood leukocytes in patients with COVID-19.

A–C – neutrophils with a bizarre segmented nucleus, D – binuclear neutrophil, $\times 1000$. Semi-thin section, Giemsa stain

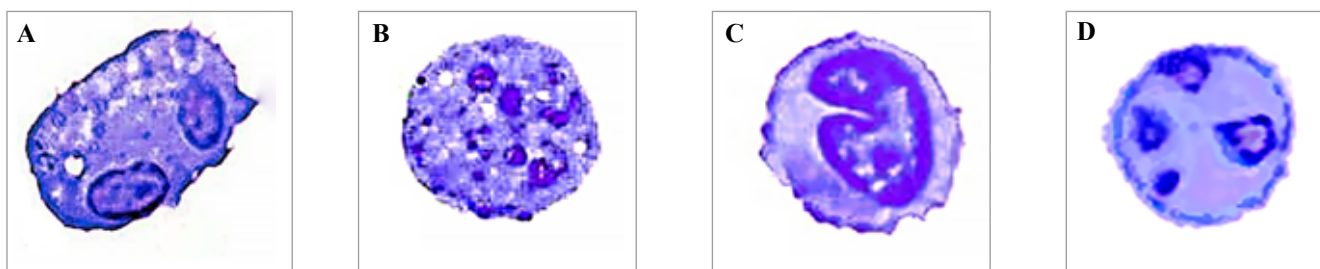


Рис. 2. Морфологическая аномалия лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19.

А – двухъядерный нейтрофил с вакуолизированной цитоплазмой, В – нейтрофил с кариорексисом и мелковакуольной дегенерацией, С – моноцит с ядром неправильной формы, D – апоптотический лейкоцит. Полутонкий срез, окраска по Гимзе, $\times 1000$

Fig. 2. Morphological abnormality of peripheral blood leukocytes in patients with COVID-19.

A – binuclear neutrophil with vacuolated cytoplasm, B – neutrophil with karyorrhexis and small vacuolar degeneration, C – monocyte with an irregular nucleus, D – apoptotic leukocyte. Semi-thin section, Giemsa stain, $\times 1000$

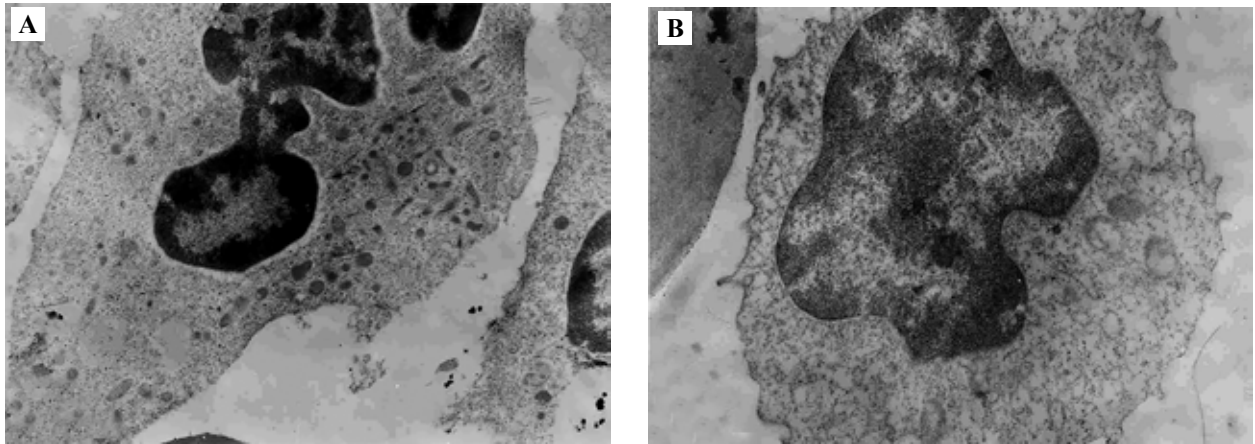


Рис. 3. Ультраструктура лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19.

А – нейтрофил с ядром аномальной формы, маргинальным конденсированным хроматином, $\times 6000$,
 В – моноцит с ядром аномальной формы и преобладанием конденсированного, неактивного хроматина;
 отсутствие псевдоподий на поверхности плазмалеммы, $\times 8000$. ТЭМ

Fig. 3. Ultrastructure of peripheral blood leukocytes in patients with COVID-19.

А – a neutrophil with an abnormal nuclear shape, marginal condensed chromatin, $\times 6000$, В – a monocyte with an abnormal nuclear shape and a predominance of condensed inactive chromatin; the absence of pseudopodia on the surface of the plasmalemma, $\times 8000$. TEM

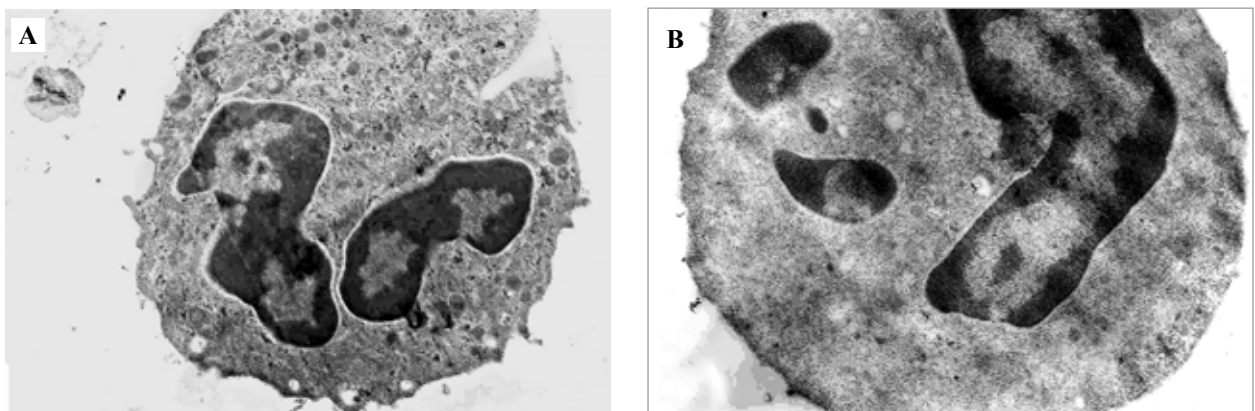


Рис. 4. Ультраструктура лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19.

А, В – нейтрофилы с аномальной формой ядра, редукцией микроворсинок на плазмалемме. ТЭМ, А – $\times 8000$, В – $\times 10\ 000$

Fig. 4. Ultrastructure of peripheral blood leukocytes in patients with COVID-19.

А, В – neutrophils with an abnormal nuclear shape, reduction in microvilli on the plasmalemma. TEM, А – $\times 8000$, В – $\times 10\ 000$

гранулярного содержимого во внеклеточное пространство с появлением запустевших гранул. Это позволяет предположить нарушение одной из важных эффекторных функций нейтрофилов, а именно секреторной дегрануляции, обычно сопутствующей респираторному взрыву. В части клеток выявлена вакуолизация цитоплазмы разной степени выраженности (рис. 5).

При электронной микроскопии лейкоконцентрата периферической крови пациентов с COVID-19 также обращало на себя внимание наличие большого количества клеток с измененной формой ядра (рис. 4) и апоптотических лейкоцитов, содержащих однотипные по размерам фрагменты ядерной ДНК (рис. 6). Таким образом, электронномикроскопические исследования ультратонких срезов лейкоконцентрата

периферической крови пациентов с COVID-19 показали, что выявленные морфологические аномалии лейкоцитов можно рассматривать как маркеры гипореактивности этих клеток со снижением их бактерицидного потенциала. К ним отнесены 1) нарушение секреторной дегрануляции нейтрофилов, при которой обычно происходит выделение содержимого гранул во внеклеточное пространство и проявляется его бактерицидное действие на нефагоцитированные микроорганизмы; 2) сглаженность плазмалеммы лейкоцитов с малым числом микроворсинок – цитоплазматических выростов на поверхности лейкоцитов, участвующих в захвате объектов фагоцитоза; 3) большое количество апоптотических лейкоцитов, у которых фагоцитарная способность редуцирована.

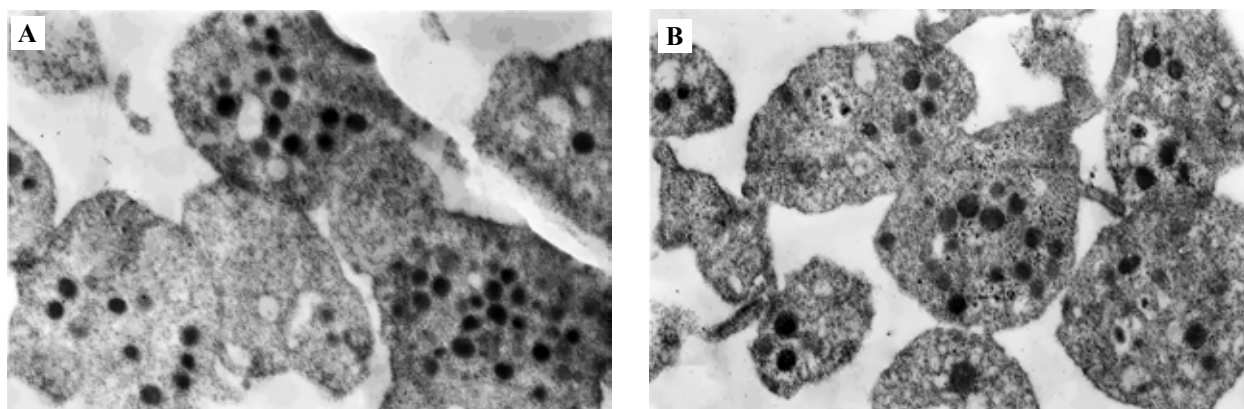


Рис. 5. Ультраструктура лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19.

А, В – характерные секреторные гранулы в цитоплазме нейтрофилов без явных проявлений экзоцитоза их содержимого во внеклеточное пространство, вакуолизация цитоплазмы. ТЭМ, А – $\times 10\,000$, В – $\times 8000$

Fig. 5. Ultrastructure of peripheral blood leukocytes in patients with COVID-19.

А, В – characteristic secretory granules in the cytoplasm of neutrophils without obvious manifestations of exocytosis of their contents into the extracellular space, vacuolization of the cytoplasm. TEM, А – $\times 10\,000$, В – $\times 8000$

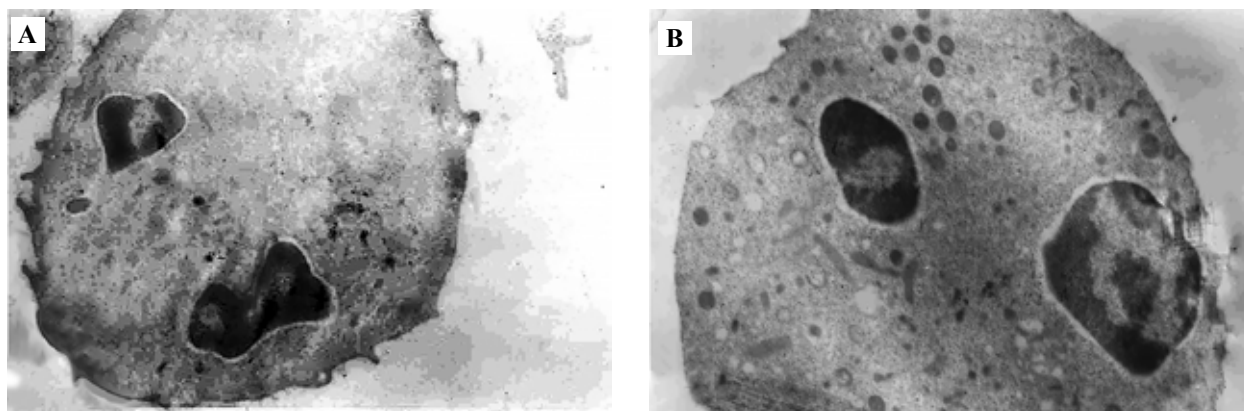


Рис. 6. Ультраструктура лейкоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19.

А, В – апоптотические лейкоциты, в цитоплазме которых видны ядерные фрагменты. ТЭМ, А – $\times 6000$, В – $\times 8000$

Fig. 6. Ultrastructure of peripheral blood leukocytes in patients with COVID-19.

А, В – apoptotic leukocytes, in the cytoplasm of which there are nuclear fragments. TEM, А – $\times 6000$, В – $\times 8000$

Обсуждение

Нейтрофилы и моноциты/макрофаги являются ключевыми клетками воспаления при инфекционных болезнях и как профессиональные фагоциты вносят вклад в защиту хозяина от инфекционных агентов, удаляя патогены, мертвые клетки и клеточный детрит во время воспаления [18, 19]. За последние два десятилетия взгляд на нейтрофильные лейкоциты (гранулоциты) претерпел изменения и значительно расширился [20, 21]. На сегодняшний день доказано, что нейтрофилы участвуют в инициации, модуляции, регулировании и разрешении реакций врожденного и адаптивного иммунитета через прямые (путем межклеточного контакта) и опосредованные (через продукцию цитокинов и других биологически активных медиаторов) механизмы. При этом отмечаются функциональная и фенотипическая гетерогенность и пластичность этих клеток [22–24]. Недавно стало известно [25], что в за-

висимости от тканевого микроокружения моноциты/макрофаги могут приобретать разный фенотип, что обуславливает их провоспалительную (M1 фенотип) или противовоспалительную (M2 фенотип) активность. Сообщается, что у пациентов с COVID-19 на тяжелых стадиях заболевания наступает моноцитопения и появляются крупные моноциты с вакуолизированной цитоплазмой [26], что, вероятно, свидетельствует о деструктивном воздействии SARS-CoV-2 на моноциты [27].

Стимуляция патогенами радикально меняет метаболический профиль нейтрофилов [28]. К наиболее ярким проявлениям реактивности нейтрофилов относится респираторный взрыв, который обычно сопутствует фагоцитозу патогенов. Однако в нашем исследовании морфологические изменения лейкоцитов при COVID-19 свидетельствуют о гипореактивности этих клеток, на что указывают отмеченные выше маркеры. Выявленные аномалии лейкоцитов в целом согласуются с данными

зарубежных авторов, исследовавших мазки крови пациентов с этой инфекцией [12, 14]. В начальные сроки инфекции, совпадающие с госпитализацией пациентов, в препаратах лейкоконцентрата обращали на себя внимание аномальные формы лейкоцитов [17].

В начале 2000-х годов особое место заняла проблема кариопатологических (ядерных) изменений в иммунокомпетентных клетках, вызванных факторами инфекционной природы [29]. При инфекциях именно эти клетки поражаются в первую очередь, поэтому ядерные аномалии играют ключевую роль в последствиях инфекционного процесса. В своей работе И.Н. Ильинских и соавторы комплексно изучили цитологические изменения интерфазных ядер, митотического режима и кариотипа иммунокомпетентных клеток в условиях *in vivo* и *in vitro* и показали, что не только инфекционные вирусы, являющиеся внутриклеточными патогенами, но и живые вирусные вакцины вызывают кариопатологические (хромосомные) изменения в лимфоцитах крови человека и животных, что сопровождается иммунодепрессивным состоянием организма [29]. Кариопатологические изменения возникают в первые дни после начала инфекционного процесса, вызываемого многими вирусами, и постепенно исчезают на протяжении 1–3 месяцев после выздоровления.

При этом авторы не касались различий кариопатологических изменений в клетках при разных заболеваниях. В доступной литературе мы также не обнаружили таких данных. Тем не менее в работах о морфологических аномалиях клеток периферической крови при COVID-19 [12–14] авторы отмечают клинико-диагностическую и прогностическую значимость этих изменений, что требует дальнейших исследований. В этом плане особый интерес представляет сообщение А. Singh et al. [14], в котором обнаружены специфические морфологические изменения нейтрофилов периферической крови называют ядрами COVID.

Много дискуссий ведется о значении нейтрофилов в противовирусном иммунитете. Показаны взаимозависимость и функциональная кооперация разнотипных эффекторных механизмов, выполняющих общую задачу в рамках системы иммунологического надзора [21, 22]. Стимулированный патогенами нейтрофил воспринимается как важнейший эффектор гомеостаза, который включается в реализацию защитных функций и клинически значимых осложнений воспалительного процесса. Деактивация, которой завершаются многие реакции нейтрофила, обязательно связана с истощением клеток. Несомненно, дефекты фагоцитоза служат одним из реальных факторов, запускающих «иммунодефицитный процесс», что подтверждают полученные нами результаты о морфологии циркулирующих лейкоцитов при COVID-19.

Заключение

В проведенной работе у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, нами впервые с использованием электронной микроскопии

показаны кариопатологические изменения в нейтрофилах и моноцитах периферической крови, характеризующих уровень врожденного иммунитета. Выявленные морфологические аномалии лейкоцитов периферической крови, вероятно, могут лежать в основе депрессии их бактерицидного потенциала при коронавирусной инфекции. Полученные результаты указывают на клинико-диагностическую и прогностическую значимость выявления морфологических аномалий циркулирующих лейкоцитов у пациентов с COVID-19.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.М. Сомова.
Сбор материала – А.И. Симакова, С.А. Сокотун, А.О. Михайлов.
Обработка материала – Е.И. Дробот, С.А. Абрамова, Л.М. Сомова, Е.В. Пустовалов, Н.Г. Плехова, И.Н. Ляпун.
Написание текста – Л.М. Сомова.
Редактирование – Л.М. Сомова, М.Ю. Щелканов.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.M. Somova.
Collected the data – A.I. Simakova, S.A. Sokotun, A.O. Mikhailov.
Processed the data – E.I. Drobot, S.A. Abramova, L.M. Somova, E.V. Pustovalov, N.G. Plekhova, I.N. Lyapun.
Wrote the paper – L.M. Somova.
Edited the manuscript – L.M. Somova, M.Yu. Shchelkanov.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

- Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae). Инфекция и иммунитет. 2020;10(2):221–246. DOI: 10.15789/2220-7619-NOI-1412.
Shchelkanov MYu, Popova AYu, Dedkov VG, Akimkin VG, Maleev VV. History of investigation and current classification of coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet. 2020;10(2):221–246 (In Russ.). DOI: 10.15789/2220-7619-NOI-1412.
- Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А., Кружкова И.С., Малеев В.В. COVID-19: этиология, клиника, лечение. Инфекция и иммунитет. 2020;10(3):421–445. DOI: 10.15789/2220-7619-CEC-1473.
Shchelkanov MYu, Kolobukhina LV, Burgasova OA, Kruzhkova IS, Maleev VV. COVID-19: etiology, clinical picture, treatment. Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet. 2020;10(3):421–445 (In Russ.). DOI: 10.15789/2220-7619-CEC-1473.
- Сомова Л.М., Коцюрбий Е.А., Дробот Е.И., Ляпун И.Н., Щелканов М.Ю. Клинико-морфологические проявления дисфункции иммунной системы при новой коронавирусной инфекции COVID-19. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(1):11–20. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.11-20.

- Somova LM, Kotsyurbiy EA, Drobot EI, Lyapun IN, Shchelkanov MYu.* Clinical and morphological manifestations of immune system dysfunction in new coronavirus infection (COVID-19). *Clinical and experimental morphology.* 2021;10(1):11–20 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.11-20.
4. *Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX et al.* Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.
 5. *Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J.* Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020;46(5):846–8. DOI: 10.1007/s00134-020-05991-x.
 6. *Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L et al.* Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis.* 2020;221(11):1762–9. DOI: 10.1093/infdis/jiaa150.
 7. *Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
 8. *Mo P, Xing Y, Xiao Y, Deng L, Zhao Q, Wang H et al.* Clinical characteristics of refractory COVID-19 pneumonia in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020;73(11):e4208–13. DOI: 10.1093/cid/ciaa270.
 9. *Qian GQ, Yang NB, Ding F, Ma AHY, Wang ZY, Shen YF et al.* Epidemiologic and clinical characteristics of 91 hospitalized patients with COVID-19 in Zhejiang, China: A retrospective, multi-centre case series. *QJM.* 2020;113(7):474–81. DOI: 10.1093/qjmed/hcaa089.
 10. *Liu F, Xu A, Zhang Y, Xuan W, Yan T, Pan K et al.* Patients of COVID-19 may benefit from sustained Lopinavir-combined regimen and the increase of eosinophil may predict the outcome of COVID-19 progression. *Int J Infect Dis.* 2020;95:183–91. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.013.
 11. *Zhang JJ, Dong X, Cao YY, Yuan YD, Yang YB, Yan YQ et al.* Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy.* 2020;75(7):1730–41. DOI: 10.1111/all.14238.
 12. *Zini G, Bellesi S, Ramundo F, d'Onofrio G.* Morphological anomalies of circulating blood cells in COVID-19. *Am J Hematol.* 2020;95(7):870–2. DOI: 10.1002/ajh.25824.
 13. *Мишура Л.Г., Ногина Р.Г., Липова В.А., Гайковская Л.Б.* Особенности изменения морфологии клеток периферической крови и выпотных жидкостей у пациентов с новой коронавирусной инфекцией. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2021;66(S4):45. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=45607844> (получено 09.01.2023).
Mishura LG, Nogina RG, Lipova VA, Gaykovaya LB. Features of changes in the morphology of peripheral blood cells and effusion fluids in patients with a new coronavirus infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2021;66(S4):45 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=45607844> (accessed 09.01.2023).
 14. *Singh A, Sood N, Narang V, Goyal A.* Morphology of COVID-19-affected cells in peripheral blood film. *Brit Med J Case Rep.* 2020;13(5):e236117. DOI: 10.1136/bcr-2020.
 15. *Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M et al.* Diagnostic testing for severe acute respiratory Syndrome-Related Coronavirus-2: A narrative review. *Ann Intern Med.* 2020;172(11):726–34. DOI: 10.7326/M20-1301.
 16. *Карпищенко А.И., Андреев В.А., Антонов В.Г., Асеев М.В., Баранов В.С., Берестовская В.С. и др.* Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 692 с.
Karpishchenko AI, Andreev VA, Antonov VG, Aseev MV, Baranov VS, Berestovskaya VS et al. Medical laboratory diagnostics: programs and algorithms. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 692 p. (In Russ.).
 17. *Андерсон Ш.К., Поулсен К.Б.* Атлас гематологии. Пер. с англ. / Под ред. В.П. Сапрыкина. Москва: Логосфера, 2007. 608 с.
Anderson SC, Poulsen KB. Atlas of Hematology. Transl. from Eng. / Ed. by V.P. Saprykin. Moscow: Logosfera, 2007. 608 p. (In Russ.).
 18. *Kolaczowska E, Kubes P.* Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(3):159–75. DOI: 10.1038/nri3399.
 19. *Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA.* The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:181–218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
 20. *Долгушин И.И., Мезенцева Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К.* Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы. *Инфекция и иммунитет.* 2019;9(1):9–38. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38.
Dolgushin II, Mezentseva EA, Savochkina AYu, Kuznetsova EK. Neutrophil as a multifunctional relay in immune system. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet.* 2019;9(1):9–38 (In Russ.). DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38.
 21. *Johansson C, Kirsebom FCM.* Neutrophils in respiratory viral infections. *Mucosal Immunol.* 2021;14(4):815–27. DOI: 10.1038/s41385-021-00397-4.
 22. *Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтаидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А. и др.* Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2. *Инфекция и иммунитет.* 2018;8(1):7–18. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230.
Nesterova IV, Kolesnikova NV, Chudilova GA, Lomtadze LV, Kovaleva SV, Evglevsky AA et al. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet.* 2018;8(1):7–18 (In Russ.). DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230.
 23. *Perobelli SM, Galvani RG, Goncalves-Silva T, Xavier CR, Nobrega A, Bonomo A.* Plasticity of neutrophils reveals modulatory capacity. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48(8):665–75. DOI: 10.1590/1414-431X20154524.
 24. *Silvestre-Roig C, Hidalgo A, Soehnlein O.* Neutrophil heterogeneity: implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood.* 2016;127(18):2173–81. DOI: 10.1182/blood-2016-01-688887.
 25. *Сахаров В.Н., Литвицкий П.Ф.* Роль различных фенотипов макрофагов в развитии заболеваний человека. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2015;70(1):26–31. DOI: 10.15690/vramn.v70i1.1228.
Sakharov VN, Litvitsky PF. Roles of different macrophage phenotypes in the pathogenesis of some human diseases. *Annals of*

- the Russian Academy of Medical Sciences. 2015;70(1):26–31 (In Russ.). DOI: 10.15690/vramn.v70i1.1228.
26. Zhang D, Guo R, Lei L, Liu H, Wang Y, Wang Y et al. Front-line science: COVID-19 infection induces readily detectable morphologic and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes. *J Leukoc Biol.* 2021;109(1):13–22. DOI: 10.1002/JLB.4HI0720-470R.
27. Kazancioglu S, Yilmaz FM, Bastug A, Sakalli A, Ozbay BO, Buyuktarakci C et al. Lymphocyte subset alteration and monocyte CD4 expression reduction in patients with severe COVID-19. *Viral Immunol.* 2021;34(5):342–51. DOI: 10.1089/vim.2020.0166.
28. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Неважай Т.А., Полутов Н.В. Морфофункциональные и метаболические особенности гранулоцитов периферической крови. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015;4(2):285–9. Доступно по адресу: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=6636> (получено 09.01.2023).
- Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Неважай Т.А., Полутов Н.В. Morphofunctional and metabolic features of peripheral blood granulocytes. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2015;4(2):285–9 (In Russ.). Available from: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=6636> (accessed 09.01.2023).
29. Ильинских И.Н., Новицкий В.В., Ильинских Е.Н., Ильинских Н.Н., Ткаченко С.Б. Инфекционная кариопатология. Томск: Издательство Томского университета, 2005. 168 с. Ilyinskikh IN, Novitsky VV, Ilyinskikh EN, Ilyinskikh NN, Tkachenko SB. *Infectious karyological pathology.* Tomsk: Tomsk University Press, 2005. 168 p.

Информация об авторах

Лариса Михайловна Сомова – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Елена Игоревна Дробот – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Евгений Вячеславович Пустовалов – доктор физико-математических наук, ведущий инженер лаборатории патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, профессор департамента информационных и компьютерных систем Дальневосточного федерального университета.

Светлана Алексеевна Абрамова – младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Наталья Геннадьевна Плехова – доктор биологических наук, доцент, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Анна Ивановна Симакова – кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Светлана Анатольевна Сокотун – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Александр Олегович Михайлов – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Ирина Николаевна Ляпун – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Михаил Юрьевич Щелканов – доктор биологических наук, доцент, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, заведующий кафедрой эпидемиологии, микробиологии и паразитологии школы биомедицины Дальневосточного федерального университета, заведующий лабораторией вирусологии ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН.

Author information

Larisa M. Somova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0003-2023-1503>

Elena I. Drobot – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0001-7672-1582>

Evgeny V. Pustovalov – Dr. Sci. (Phys. and Math.), Leading Engineer, Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Software and Computer Systems, Far Eastern Federal University.

<http://orcid.org/0000-0003-1036-3975>

Svetlana A. Abramova – Junior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0002-2428-3186>

Natalya G. Plekhova – Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Head of the Central Scientific Research Laboratory, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-8701-7213>

Anna I. Simakova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-3334-4673>

Svetlana A. Sokotun – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-3807-3259>

Alexander O. Mikhailov – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-2719-3629>

Irina N. Lyapun – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>

Mikhail Yu. Shchelkanov – Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Director of Somov Institute of Epidemiology and Microbiology; Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Parasitology, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University; Head of the Virology Laboratory, Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences.

<https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>