

Массовый некроз нейтрофилов в мазке периферической крови человека как неблагоприятный прогностический фактор исхода вирусных инфекций на примере SARS-CoV-2

Н.С. Золотухина, С.М. Мирошниченко, А.И. Субботовская, М.И. Воевода

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия

Резюме. Введение. У пациентов с пневмонией, вызванной вирусом SARS-CoV-2, в мазке периферической крови обнаружены различные нарушения морфологии лейкоцитов. Цель исследования – поиск корреляций между морфологией лейкоцитов в периферической крови пациентов, госпитализированных с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), и прогнозом для них.

Материалы и методы. Проанализирована клиническая информация о 252 пациентах с COVID-19, проведен морфологический анализ мазков периферической крови для 28 пациентов, распределенных по трем группам в соответствии с известным исходом. Для поиска ключевых для прогноза морфологических параметров использовался ROC-анализ.

Результаты. У пациентов при инфицировании SARS-CoV-2 происходят качественные и количественные изменения лейкоцитов, включающие нарушения морфологии клеток всех лейкоцитарных ростков, массовую гибель клеток путем некроза, приводящую к появлению большого количества клеточного детрита, и появление в крови незрелых лейкоцитарных предшественников. Согласно результатам ROC-анализа, некроз более 14,6% нейтрофилов в мазке периферической крови, взятом в первый день, является предиктором детального исхода в течение одного года после госпитализации, а сочетание некроза более 15,0% нейтрофилов с некрозом более 16,1% лимфоцитов – предиктором летального исхода в стационаре.

Заключение. Рекомендуемые диагностические критерии могут быть использованы для уточнения краткосрочного и долгосрочного прогноза.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, лейкоциты, нейтрофилы, некроз, нетоз

Для корреспонденции: Надежда Сергеевна Золотухина. E-mail: nszolutuhina@frcftm.ru

Для цитирования: Золотухина Н.С., Мирошниченко С.М., Субботовская А.И., Воевода М.И. Массовый некроз нейтрофилов в мазке периферической крови человека как неблагоприятный прогностический фактор исхода вирусных инфекций на примере SARS-CoV-2. Клини. эксп. морфология. 2025;14(1):37–45. DOI: 10.31088/CEM2025.14.1.37-45.

Финансирование. Исследование выполнено с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Протеомный анализ».

Статья поступила 04.07.2024. Получена после рецензирования 26.07.2024. Принята в печать 26.09.2024.

Extensive necrosis of neutrophils in a peripheral blood smear of a human as a negative prognostic factor for the outcome of viral infections (SARS-CoV-2 case study)

N.S. Zolotukhina, S.M. Miroshnichenko, A.I. Subbotovskaya, M.I. Voevoda

Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

Abstract. Introduction. In patients with COVID-19 viral pneumonia, various abnormalities in the morphology of leukocytes were detected in a peripheral blood smear. The paper aimed to detect correlations between the morphology of leukocytes in the peripheral blood of patients hospitalized with COVID-19 and their prognosis.

Materials and methods. We analyzed clinical information on 252 patients with COVID-19 and performed a morphological analysis of peripheral blood smears for 28 patients of them. The 28 patients were divided into three groups depending on the outcome. ROC analysis was used to search for key morphological predictive parameters.

Results. In patients infected with SARS-CoV-2, leukocytes undergo qualitative and quantitative changes including altered cellular morphology of all leukocyte lineages and massive cell death from necrosis, lead-

ing to the appearance of a large amount of cellular debris and immature leukocyte precursors in the blood. ROC analysis showed that necrosis of more than 14.6% of neutrophils in a peripheral blood smear taken on day 1 was a predictor of a fatal outcome within 1 year after hospitalization, whereas necrosis of both neutrophils and lymphocytes, with their numbers exceeding 15.0% and 16.1%, respectively, was a predictor of death in the hospital.

Conclusion. The recommended diagnostic criteria can be used to clarify short- and long-term prognosis.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, leukocytes, neutrophils, necrosis, NETosis

Corresponding author: Nadezhda S. Zolotukhina. E-mail: nszolotuhina@freftm.ru

For citation: Zolotukhina N.S., Miroshnichenko S.M., Subbotovskaya A.I., Voevoda M.I. Extensive necrosis of neutrophils in a peripheral blood smear of a human as a negative prognostic factor for the outcome of viral infections (SARS-CoV-2 case study). *Clin. exp. morphology.* 2025;14(1):37–45 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.1.37-45.

Funding. The study was performed using the equipment of the Center for collective use “Proteomic Analysis.”

Received 04.07.2024. **Received in revised form** 26.07.2024. **Accepted** 26.09.2024.

Введение

Пандемия COVID-19 дала большой массив материала для исследования процессов, происходящих в организме при вирусных инфекциях. При изучении показателей крови пациентов с COVID-19 обнаруживались лейкопения, лимфоцитоз и нейтрофилия, которые были ассоциированы с более клинически тяжелым течением заболевания [1–4]. Проведение световой микроскопии мазков крови пациентов с COVID-19 по различным показателям позволило обнаружить изменение морфологии лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов [5, 6]. Были выявлены выраженные изменения формы ядер и структуры хроматина лейкоцитов, множественные аномальные формы ядер нейтрофилов, токсическая зернистость нейтрофилов [6–10], атипичные лимфоциты [11, 12]. При этом анализ литературы демонстрирует отсутствие специфических для SARS-CoV-2 морфологических изменений клеток крови. Обнаружено долгосрочное воздействие COVID-19 на систему кровотока: наблюдавшиеся изменения морфологии клеток крови сохранялись в течение 7 месяцев [7]. У людей, переживших острый этап коронавирусной инфекции, риск смерти в последующие 6 месяцев повышается на 60% в сравнении с людьми, не переболевшими коронавирусной инфекцией [13].

Целью нашего исследования было изучение состава и морфологии лейкоцитов в периферической крови пациентов с вирусной COVID-19 пневмонией и поиск корреляций с неблагоприятным исходом (в том числе в отдаленном периоде: через год после госпитализации).

Материалы и методы

Объектом исследования являются образцы мазков периферической крови, взятых у пациентов в первый день госпитализации в рамках стандартных диагностических процедур. Участие пациентов в исследовании было основано на их информированном добровольном согласии. Пациенты имели основной диагноз «новая коронавирусная инфекция COVID-19» (U07.1 по МКБ-10) и находились на лечении в городской клини-

ческой больнице № 11 (Новосибирск) в период с марта по ноябрь 2021 года.

Мы проанализировали клиническую информацию о 252 пациентах (возраст, пол, исход заболевания). Все пациенты были распределены в группы в соответствии с исходом: группа 1 – летальный исход в больнице; группа 2 – летальный исход в течение одного года после госпитализации; группа 3 – выжившие в течение одного года после госпитализации. Информация о выживаемости пациентов взята из базы данных единой государственной информационной системы в сфере здравоохранения (ЕГИСЗ). Работа была согласована с комитетом по биомедицинской этике при ФИЦ ФТМ (протокол № 60 от 17.09.2024). Случайным образом нами были выбраны 28 пациентов в возрасте $53,5 \pm 14,4$ года. Их мазки крови, рутинно окрашенные в больнице по Романовскому–Гимзе, проанализированы под микроскопом Axio Imager.M2 (Carl Zeiss, Германия) с окуляром $\times 10$ и объективом $\times 100$, подсчитывалось не менее 200 клеток на стекло. Программное оборудование для работы с микроскопом – ZEN 3.7 (Carl Zeiss, Германия). Проводился поиск корреляций между морфологическими изменениями лейкоцитов и исходом заболевания. Статистический анализ осуществляли с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, США), использовался статистический критерий Манна–Уитни для сравнения двух независимых групп по количественным признакам, критерий Краскела–Уоллиса для сравнения трех независимых групп по количественным признакам, критерий хи-квадрат при анализе таблиц сопряженности качественных признаков. С целью выявления прогностической значимости морфологических признаков был проведен ROC-анализ.

Результаты

При анализе клинической информации о 252 пациентах нами обнаружено, что более старший возраст ассоциирован с летальным исходом в стационаре или в течение одного года после госпитализации (табл. 1), что соответствует аналогичным результатам других авторов [14].

Таблица 1 | Table 1

Клиническая информация о 252 пациентах | Clinical information on 252 patients

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	p ^a
n	57	21	174	
Возраст, лет (среднее арифметическое ± стандартное отклонение) Age, years (Mean ± SE)	66,1± 12,5 (p ^b 1,3=0,0001)	69,3±13,7 (p ^b 2,3=0,0001)	56,2±14,9	<0,01
Мужчины, no. (%) Males, no. (%)	30 (52,6)	11 (52,4)	74 (42,5)	0,335
Женщины, no. (%) Females, no. (%)	27 (47,4)	10 (47,6)	100 (57,5)	

p^a – критерий Краскела–Уоллиса | Kruskal–Wallis testp^b – критерий Манна–Уитни | Mann–Whitney U test

Мы случайным образом выбрали 28 пациентов для морфологического анализа их мазков крови (табл. 2). Значимые различия по показателям общего анализа крови, взятого в первый день госпитализации, не обнаружены.

Микроскопическое исследование показало, что у пациентов имеются нарушения морфологии клеток всех лейкоцитарных ростков (рис. 1–4). Среди всех типов лейкоцитов были широко представлены как нарушения строения ядра (нарушения сегментации, нарушение

Таблица 2 | Table 2

Клиническая информация о 28 пациентах | Clinical information on 28 patients

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	p ^a
n	13	4	11	
Возраст, лет (среднее арифметическое ± стандартное отклонение) Age, years (Mean ± SE)	59,2 ± 17,4	64,3 ± 20,5	58,2 ± 8,0	0,616
Мужчины, no. (%) Males, no. (%)	9 (69,2)	3 (75,0)	4 (36,4)	0,198
Женщины, no. (%) Females, no. (%)	4 (30,8)	1 (25,0)	7 (63,6)	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л (среднее арифметическое ± стандартное отклонение) Leukocytes, 10 ⁹ /L, (Mean ± SE)	6,84 ± 3,57	5,89 ± 3,08	6,97 ± 2,19	0,723
Эритроциты, 10 ¹² /л (среднее арифметическое ± стандартное отклонение) Erythrocytes, 10 ¹² /L (Mean ± SE)	4,66 ± 0,46	4,15 ± 1,47	4,44 ± 0,50	0,654
Гемоглобин, г/л (среднее арифметическое ± стандартное отклонение) Hemoglobin, g/L, (Mean ± SE)	128,85 ± 22,73	129,25 ± 22,72	134,36 ± 13,63	0,767
Тромбоциты, 10 ⁹ /л (среднее арифметическое ± стандартное отклонение) Platelets, 10 ⁹ /L, Me (Q1; Q3)	197,0 (142,5; 262,5)	164,5 (120,8; 218,0)	205,0 (183,0; 261,0)	0,288
Гранулоциты, % (медиана, межквартильный размах) Granulocytes, % (Me, Q1; Q3)	76,1 (66,5; 83,4)	63,4 (52,3; 66,8)	78,6 (73,1; 82,8)	0,023*
Моноциты, % (медиана, межквартильный размах) Monocytes, % (Me, Q1; Q3)	1,4 (0,85; 3,18)	3,1 (2,6; 7,8)	2,4 (1,0; 5,1)	0,278
Лимфоциты, % (медиана, межквартильный размах) Lymphocytes, % (Me, Q1; Q3)	19,5 (15,1; 30,3)	34,0 (25,7; 44,5)	20,1 (14,3; 23,6)	0,057
Гранулоциты, # 10 ⁹ /л (медиана, межквартильный размах) Granulocytes, # 10 ⁹ /L, Me (Q1; Q3)	4,2 (3,3; 7,0)	2,5 (1,6; 5,3)	5,6 (4,0; 7,1)	0,098

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	p ^a
n	13	4	11	
Моноциты, # 10 ⁹ /л (медиана, межквартильный размах) Monocytes, # 10 ⁹ /L (Me, Q1; Q3)	0,1 (0; 0,2)	0,15 (0,1; 0,73)	0,15 (0,1; 0,4)	0,141
Лимфоциты, # 10 ⁹ /л (медиана, межквартильный размах) Lymphocytes, # 10 ⁹ /L (Me, Q1; Q3)	1,3 (1,2; 1,5)	1,8 (0,95; 2,2)	1,35 (0,98; 1,63)	0,621
Сопутствующие заболевания Comorbidities				
ожирение, no. (%) obesity, no. (%)	8 (61,5%)	1 (25,0%)	6 (54,5%)	0,439
без ожирения, no. (%) no obesity, no. (%)	5 (38,5%)	3 (75,0%)	5 (45,5%)	
без сахарного диабета, no. (%) no diabetes, no. (%)	10 (76,9%)	3 (75,0%)	9 (81,8%)	
заболевания сердечно-сосудистой системы, no. (%) cardiovascular diseases, no. (%)	10 (76,9%)	3 (75,0%)	5 (45,5%)	0,246
без заболеваний сердечно-сосудистой системы, no. (%) no cardiovascular diseases, no. (%)	3 (23,1%)	1 (25,0%)	6 (54,5%)	
другое, no. (%) other diseases, no. (%)	8 (61,5%)	3 (75,0%)	9 (81,8%)	0,541
Без других заболеваний, no. (%) No other diseases, no. (%)	5 (38,5%)	1 (25,0%)	2 (18,2%)	

p^a – критерий Краскела–Уоллиса | Kruskal–Wallis test

– число клеток | # – number of cells

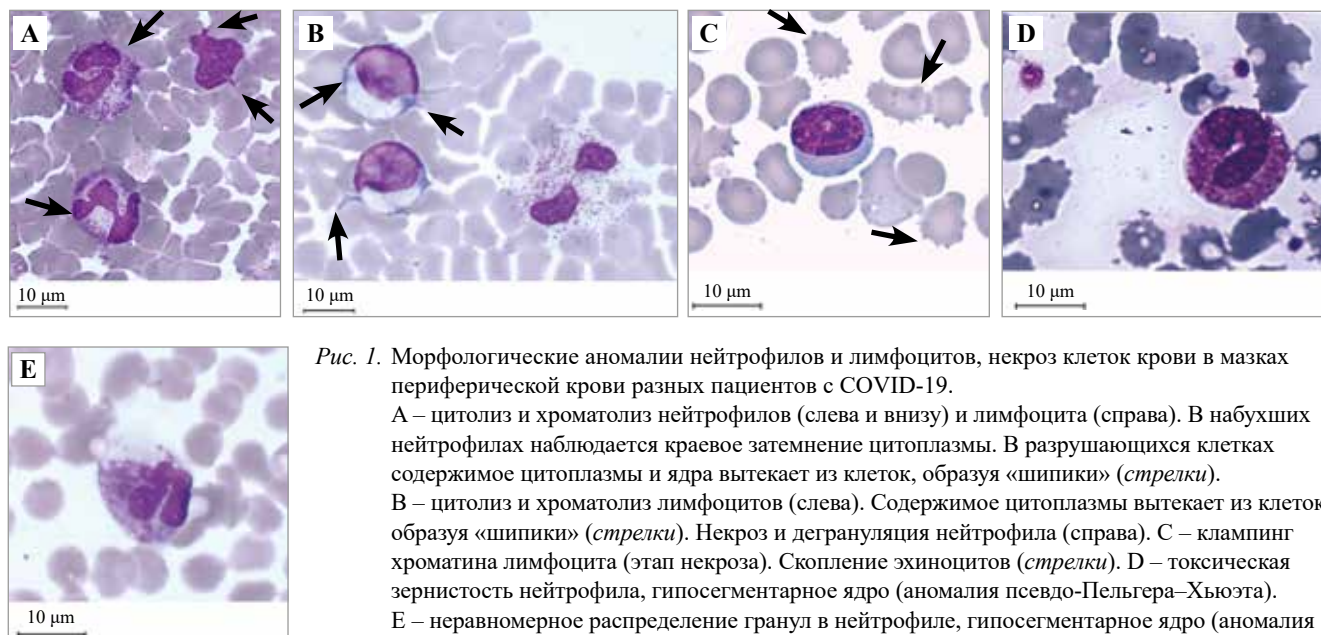


Рис. 1. Морфологические аномалии нейтрофилов и лимфоцитов, некроз клеток крови в мазках периферической крови разных пациентов с COVID-19.

А – цитоллиз и хроматолиз нейтрофилов (слева и внизу) и лимфоцита (справа). В набухших нейтрофилах наблюдается краевое затемнение цитоплазмы. В разрушающихся клетках содержимое цитоплазмы и ядра вытекает из клеток, образуя «шипики» (стрелки). В – цитоллиз и хроматолиз лимфоцитов (слева). Содержимое цитоплазмы вытекает из клеток, образуя «шипики» (стрелки). Некроз и дегрануляция нейтрофила (справа). С – клампинг хроматина лимфоцита (этап некроза). Скопление эхиноцитов (стрелки). D – токсическая зернистость нейтрофила, гипосегментарное ядро (аномалия псевдо-Пельгера–Хьюэта). E – неравномерное распределение гранул в нейтрофиле, гипосегментарное ядро (аномалия псевдо-Пельгера–Хьюэта). Окраска по Романовскому–Гимзе, ×1000, масляная иммерсия

Fig. 1. Morphological abnormalities of neutrophils and lymphocytes, necrosis of blood cells in peripheral blood smears of different patients with COVID-19.

A – cytolysis and chromatolysis of neutrophils (left and bottom) and lymphocytes (right). In swollen neutrophils, marginal darkening of the cytoplasm is observed. In disintegrating cells, the cytoplasmic and nuclear contents leak out of the cells forming “spines” (arrows). B – cytolysis and chromatolysis of lymphocytes (left). The cytoplasmic contents leak out of the cells forming “spines” (arrows). Necrosis and degranulation of neutrophils (right). C – chromatin clamping of lymphocytes (necrotic stage). Clumping of echinocytes (arrows). D – toxic granularity of neutrophils, hyposegmental nucleus (pseudo-Pelger-Huët anomaly). E – uneven distribution of granules in the neutrophil, hyposegmental nucleus (pseudo-Pelger-Huët anomaly). Romanovsky–Giemsa staining, ×1000, oil immersion

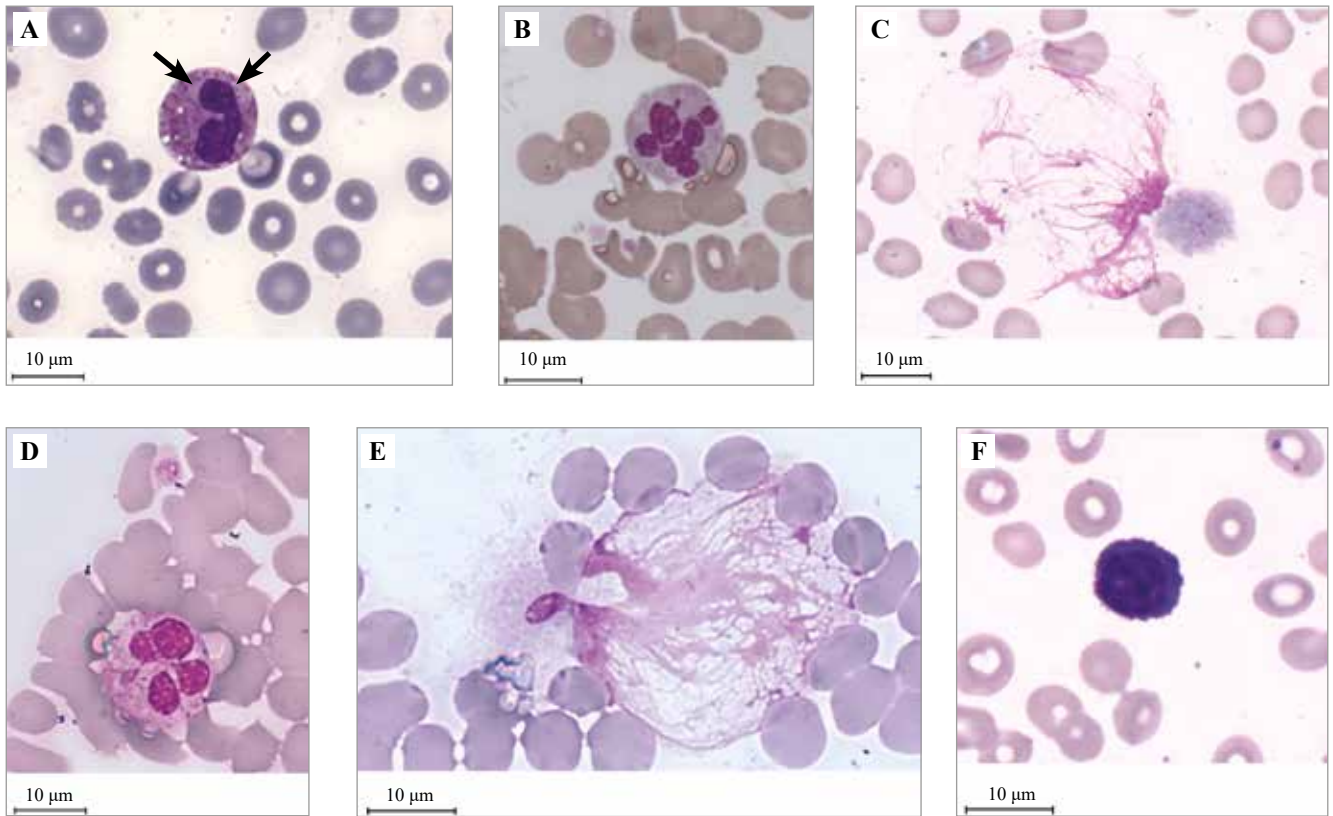


Рис. 2. Морфологические аномалии нейтрофилов и лимфоцитов, нетоз в мазках периферической крови разных пациентов с COVID-19.

А – гипосегментарное ядро нейтрофила, вакуолизация цитоплазмы. Токсическая зернистость. Неравномерное распределение гранул (стрелки). Выявленная вакуолизация эритроцитов. В – нарушение сегментации ядра нейтрофила. С, Е – нетоз нейтрофила, содержимое ядра формирует «сеть» на большой площади. D – нарушение сегментации ядра нейтрофила. F – волосатоклеточный лимфоцит с темно-синей цитоплазмой. Выраженная вакуолизация эритроцитов. Окраска по Романовскому–Гимзе, $\times 1000$, масляная иммерсия

Fig. 2. Morphological abnormalities of neutrophils and lymphocytes, NETosis in peripheral blood smears of different patients with COVID-19.

A – a hyposegmented neutrophil nucleus, cytoplasmic vacuolization. Toxic granularity. Uneven distribution of granules (arrows). Marked vacuolization of erythrocytes. B – disruption of neutrophil nuclear segmentation. C, E – neutrophil NETosis, the nuclear content forms a “network” over a large area. D – disruption of neutrophil nuclear segmentation. F – hairy cell lymphocyte with dark blue cytoplasm. Marked vacuolization of erythrocytes. Romanovsky–Giemsa staining, $\times 1000$, oil immersion

ния формы и размера ядра, гипо- и гиперконденсация хроматина), так и нарушения строения цитоплазмы (цитоплазматическая вакуолизация). Для нейтрофилов были характерны множественные аномальные формы ядер (включая кольцевое ядро, ядра в виде очков), аномалия псевдо-Пельгера-Хьюэта, токсическая зернистость цитоплазмы. Встречались апоптотические клетки, атипичные лимфоциты (большой гранулярный лимфоцит, большой лимфоцит, реактивный лимфоцит), кистевидные ядра у моноцитов, большое количество клеточного детрита – обломков клеток. Кроме того, нами обнаружено появление у пациентов с COVID-19 незрелых лейкоцитарных предшественников (миелобласты, миелоциты, метамиелоциты, пролимфоциты и промонобласты).

Самым распространенным нарушением морфологии лейкоцитов для пациентов с летальным исходом

являлся некроз. Такие лейкоциты подвергаются лизису: цитолизу (набухание цитоплазмы, сопровождающееся краевым затемнением цитоплазмы и оттеснением ядра и/или гранул к периферии клетки, а также нарушение целостности цитоплазматической мембраны) и хроматолизу (набухание ядра, нарушение целостности ядерной мембраны). Результаты подсчета доли погибающих лейкоцитов представлены в таблице 3.

Также в образцах мазков крови была оценена доля нейтрофилов, подвергшихся нетозу – специфической клеточной гибели, сопровождающейся энергозависимым выбросом из клетки нитей ДНК и некоторых белков в виде объемного облака, захватывающего и тормозящего собой патогены. У пациентов в группах 1 и 2 доля погибающих путем некроза нейтрофилов выше, чем погибающих нетозом ($p=0,000019$ и $p=0,026519$, соответственно).

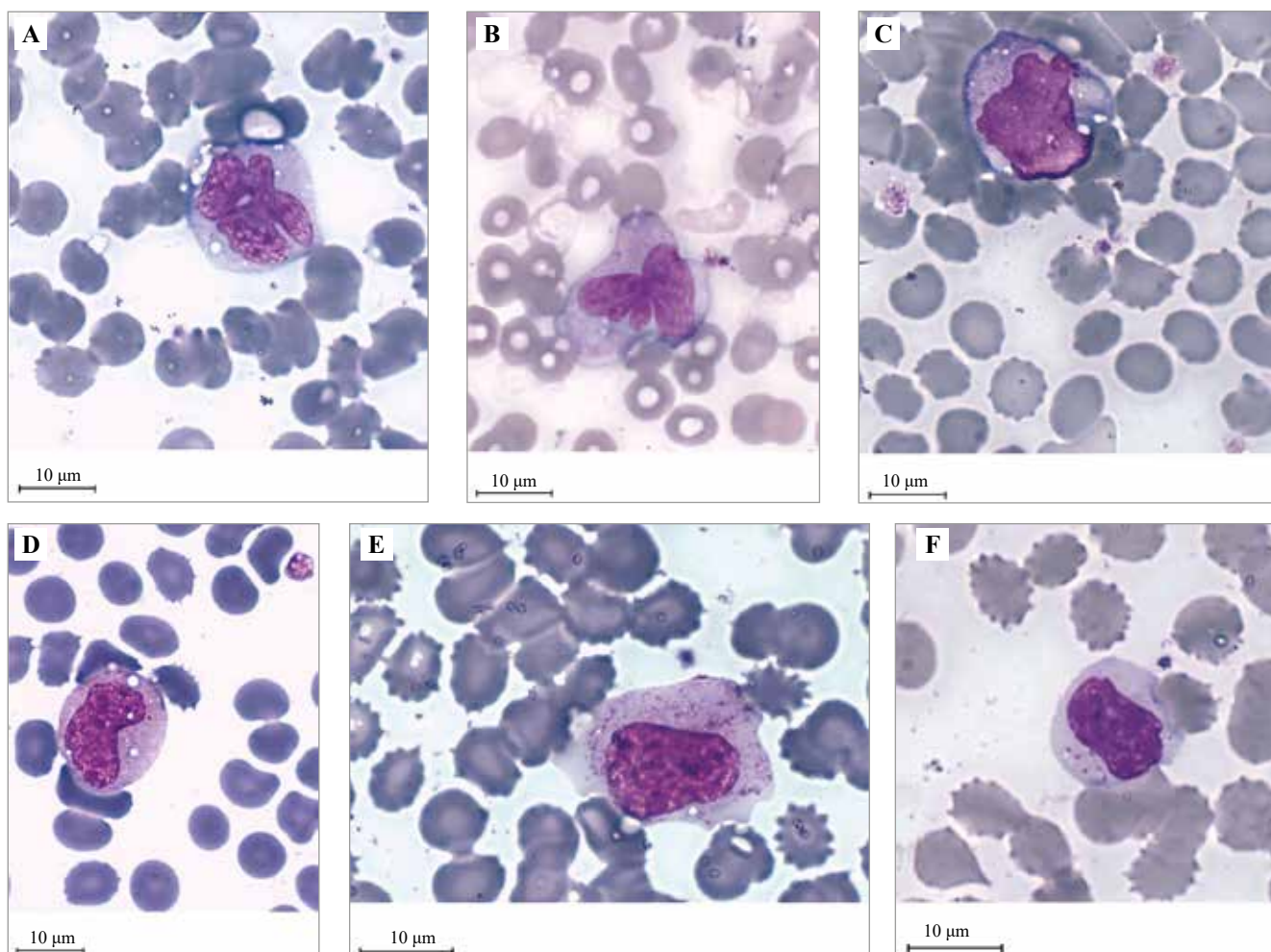


Рис. 3. Морфологические аномалии лимфоцитов и моноцитов в мазках периферической крови разных пациентов с COVID-19. А, В – кистевидное ядро моноцита, кламппинг хроматина (этап некроза). С – цитоллиз и хроматоллиз моноцита, в набухшей клетке наблюдается краевое затемнение цитоплазмы. D – миелоцит, кламппинг хроматина (этап некроза), вакуолизация ядра и цитоплазмы. E – миелоцит, кламппинг хроматина (этап некроза), вакуолизация цитоплазмы, коагуляция гранул. F – большой гранулярный лимфоцит. Окраска по Романовскому–Гимзе, $\times 1000$, масляная иммерсия

Fig. 3. Morphological abnormalities of lymphocytes and monocytes in peripheral blood smears of different patients with COVID-19. A, B – racemose nucleus of a monocyte, chromatin clumping (necrosis stage). C – cytolysis and chromatolysis of a monocyte, marginal darkening of cytoplasm is observed in the swollen cell. D – a myelocyte, chromatin clumping (necrosis stage), nuclear and cytoplasmic vacuolization. E – a myelocyte, chromatin clumping (necrosis stage), cytoplasmic vacuolization, coagulation of granules. F – a large granular lymphocyte. Romanovsky–Giemsa staining, $\times 1000$, oil immersion

Таблица 3 | Table 3

**Клиническая информация о 28 пациентах. Некоторые из морфологических нарушений лейкоцитов [Me (Q1; Q3)] |
Clinical information on 28 patients. Some morphological alterations of leukocytes [Me (Q1; Q3)]**

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U test			Критерий Краскела–Уоллиса Kruskal–Wallis test
				P _{1,2}	P _{1,3}	P _{2,3}	P
Нейтрофилы: некроз, % Neutrophils: necrosis, %	32,4 (19,2; 59,3)	30,4 (14,5; 50,8)	8,3 (7,0; 14,9)	>0,05	0,00152	0,047221	<0,01
Нейтрофилы: нетоз, % Neutrophils: NETosis, %	0,7 (0,0; 4,2)	0,0 (0,0; 7,8)	2,6 (0; 10,5)	>0,05	>0,05	>0,05	0,510
Лимфоциты: некроз, % Lymphocytes: necrosis, %	31,6 (21,3; 43,7)	28,6 (22,9; 32,0)	12,5 (6,7; 25,6)	>0,05	0,017934	>0,05	<0,01
Моноциты: некроз, % Monocytes: necrosis, %	25,0 (0,0; 50,0)	0 (0; 9,4)	10,8 (5,3; 30,6)	>0,05	>0,05	>0,05	0,160

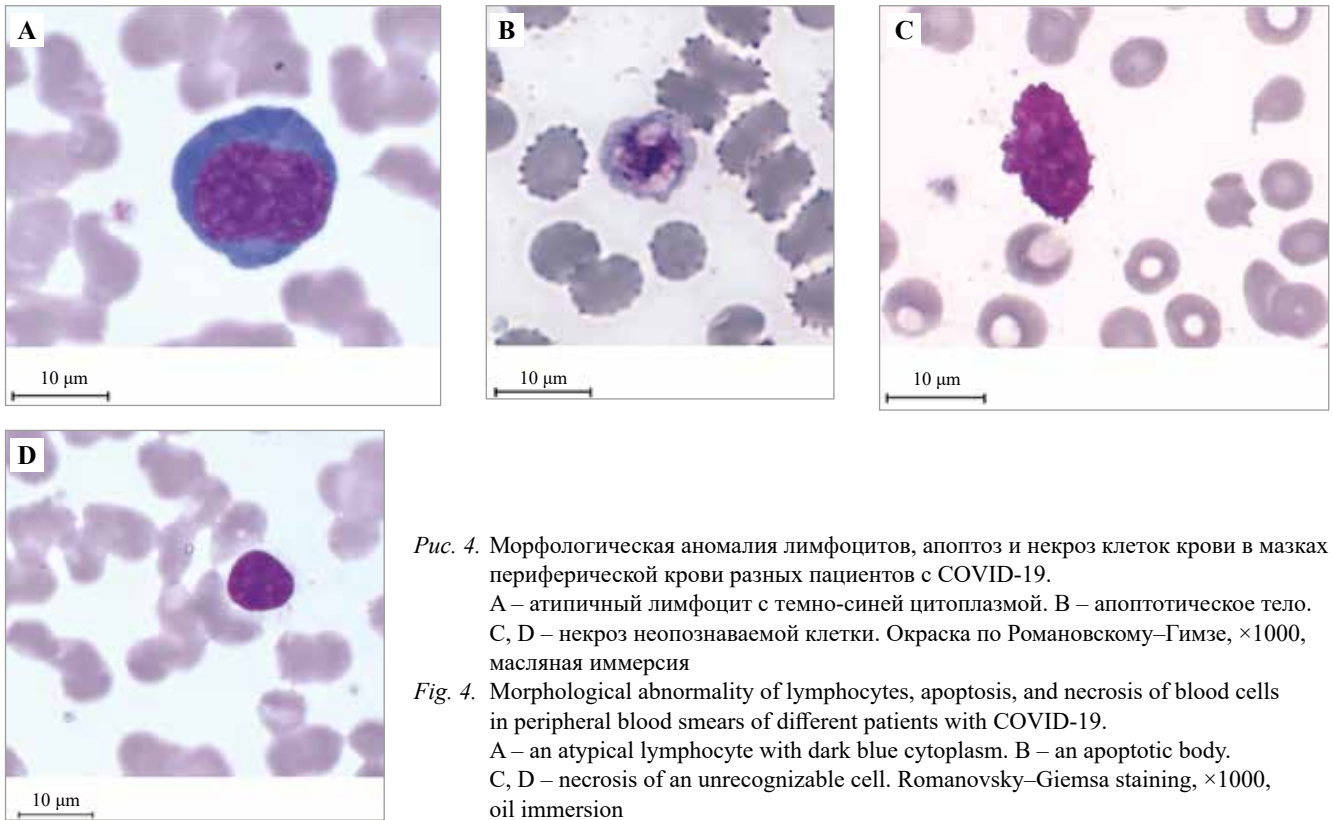


Рис. 4. Морфологическая аномалия лимфоцитов, апоптоз и некроз клеток крови в мазках периферической крови разных пациентов с COVID-19.

А – атипичный лимфоцит с темно-синей цитоплазмой. В – апоптотическое тело. С, D – некроз неопознаваемой клетки. Окраска по Романовскому–Гимзе, $\times 1000$, масляная иммерсия

Fig. 4. Morphological abnormality of lymphocytes, apoptosis, and necrosis of blood cells in peripheral blood smears of different patients with COVID-19.

A – an atypical lymphocyte with dark blue cytoplasm. B – an apoptotic body. C, D – necrosis of an unrecognizable cell. Romanovsky–Giemsa staining, $\times 1000$, oil immersion

С целью выявления прогностической значимости некоторых из обнаруженных морфологических признаков был проведен ROC-анализ (табл. 4).

Согласно результатам ROC-анализа, доля нейтрофилов, подвергающихся некрозу, повышалась как в группе тех пациентов, которые умерли в больнице, так и у тех, кто умер в течение одного года после госпитализации, а доля лимфоцитов, подвергающихся некрозу, повышалась в группе тех пациентов, которые умерли в больнице. Таким образом, лизис более 14,6% нейтрофилов является предиктором детального исхода в течение одного года после госпитализации, а сочетание лизиса более 15,0% нейтрофилов с лизисом более 16,1% лимфоцитов – предиктором летального исхода

в стационаре. ROC-анализ вклада нетоза в летальный исход не подтвердил значимость этого признака для такого исхода.

Обсуждение

Таким образом, у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, происходят разнообразные нарушения морфологии клеток всех лейкоцитарных ростков, включая некроз и нетоз. Насколько нам известно, массивный некроз лейкоцитов при COVID-19 ранее не был описан другими авторами. В то же время нетоз при COVID-19 описан [15].

Некроз лейкоцитов приводит к высвобождению во внеклеточное пространство содержимого клеток и об-

Таблица 4 | Table 4

Результаты ROC-анализа морфологических критериев лейкоцитов. Порог (%) указан для доли клеток среди общего числа всех клеток этого типа у пациента | ROC analysis results of morphological criteria of leukocytes. The threshold (%) is indicated for the percentage of cells in the total number of cells of this type in the patient

Параметры Parameters	AUC	Порог (%) Threshold (%)	Чувствительность (%) Sensitivity (%)	Специфичность (%) Specificity (%)	p
Нейтрофилы: некроз (%) в группе 1 Neutrophils: necrosis (%) in group 1	0,95	15,0	92	86	0,001
Нейтрофилы: некроз (%) в группе 2 Neutrophils: necrosis (%) in group 2	0,89	14,6	75	71	0,038
Лимфоциты: некроз (%) в группе 1 Lymphocytes: necrosis (%) in group 1	0,88	16,1	92	80	0,016

разованию большого количества химически активного клеточного детрита с формированием патологической петли воспаления с положительной обратной связью. Вследствие развития массового некроза лейкоцитов у пациентов мы предполагаем, что использование мембраностабилизаторов при лечении COVID-19 поможет уменьшить лавинообразный лизис клеток и улучшить прогноз.

Существует вероятность того, что часть погибших лейкоцитов, видимых на предметном стекле, могла быть результатом механического воздействия при приготовлении препарата, поскольку лейкоциты пре-активированы вирусом SARS-CoV-2, оказавшим свое цитопатическое действие. Тем не менее это обстоятельство не препятствует использованию обнаруженного феномена в качестве диагностического маркера летального исхода у пациентов как во время текущей госпитализации, так и в течение последующего года. Если бы разрушение лейкоцитов имело только вторичный характер, можно было бы ожидать ориентацию «хвостов» из клеточного содержимого исключительно вдоль предметного стекла. Дополнительными аргументами в пользу массовой гибели лейкоцитов у пациента являются активация кроветворения и появление в кровеносном русле клеток-предшественников, что указывает на дефицит лейкоцитов. Косвенным подтверждением массового некроза лейкоцитов и попадания внутриклеточного содержимого в кровеносное русло считается также цитокиновый шторм, часто регистрируемый у пациентов с тяжелым течением COVID-19.

Недостатками нашего исследования можно назвать небольшую выборку и отсутствие слепого контроля.

Заключение

При инфицировании SARS-CoV-2 происходит нарушение морфологии клеток всех лейкоцитарных ростков, включающее как массовую гибель клеток и появление клеточного детрита в крови, так и наличие незрелых лейкоцитарных предшественников. На базе ROC-анализа установлены диагностические пороги для показателей доли погибающих некрозом нейтрофилов и лимфоцитов как прогностического фактора летального исхода в больнице или в отдаленном периоде (в течение года после госпитализации), поэтому морфологический анализ лейкоцитов в мазке периферической крови, взятом у пациента с COVID-19 в первый день госпитализации, при увеличении объектива $\times 100$ может быть использован для уточнения краткосрочного и долгосрочного прогноза и коррекции тактики лечения. Данный метод не требует специального оборудования, кроме микроскопа.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – С.М. Мирошниченко.
Сбор и обработка материала – Н.С. Золотухина, М.И. Воевода.
Написание текста – Н.С. Золотухина.
Редактирование – С.М. Мирошниченко, А.И. Субботовская, М.И. Воевода.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – S.M. Miroshnichenko.
Collected the data and performed the analysis – N.S. Zolotukhina, M.I. Voevoda.
Wrote the paper – N.S. Zolotukhina.
Edited the manuscript – S.M. Miroshnichenko, A.I. Subbotovskaya, M.I. Voevoda.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

- Henry BM, de Oliveira MHS, Benoit S, Plebani M, Lippi G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7):1021–8. DOI: 10.1515/cclm-2020-0369.
- Zheng Y, Zhang Y, Chi H, Chen S, Peng M, Luo L et al. The hemocyte counts as a potential biomarker for predicting disease progression in COVID-19: a retrospective study. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7):1106–15. DOI: 10.1515/cclm-2020-0377.
- Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ.* 2020;368:m1091. DOI: 10.1136/bmj.m1091.
- Liu X, Zhang R, He G. Hematological findings in coronavirus disease 2019: indications of progression of disease. *Ann Hematol.* 2020;99(7):1421–8. DOI: 10.1007/s00277-020-04103-5.
- Pezeshki A, Vaezi A, Nematollahi P. Blood cell morphology and COVID-19 clinical course, severity, and outcome. *J Hematop.* 2021;14(3):221–8. DOI: 10.1007/s12308-021-00459-3.
- 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(4):45. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=45607844> (получено 02.07.2024).
Mishura LG, Nogina RG, Lipova VA, Gaykovskaya 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(4):45 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=45607844> (accessed 02.07.2024).
- Kubánková M, Hohberger B, Hoffmanns J, Fürst J, Herrmann M, Guck J et al. Physical phenotype of blood cells is altered in COVID-19. *Biophys J.* 2021;120(14):2838–47. DOI: 10.1016/j.bpj.2021.05.025.
- 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.
- Singh A, Sood N, Narang V, Goyal A. Morphology of COVID-19-affected cells in peripheral blood film. *BMJ Case Rep.* 2020;13(5):e236117. DOI: 10.1136/bcr-2020-236117.
- Kaur G, Sandeep F, Olayinka O, Gupta G. Morphologic changes in circulating blood cells of COVID-19 patients. *Cureus.* 2021;13(2):e13416. DOI: 10.7759/cureus.13416.

11. Weinberg SE, Behdad A, Ji P. Atypical lymphocytes in peripheral blood of patients with COVID-19. *Br J Haematol.* 2020;190(1):36–9. DOI: 10.1111/bjh.1684.
12. Sugihara J, Shibata S, Doi M, Shimmura T, Inoue S, Matsumoto O et al. Atypical lymphocytes in the peripheral blood of COVID-19 patients: a prognostic factor for the clinical course of COVID-19. *PLoS One.* 2021;16(11):e0259910. DOI: 10.1371/journal.pone.0259910.
13. Al-Aly Z, Xie Y, Bowe B. High-dimensional characterization of post-acute sequelae of COVID-19. *Nature.* 2021;594(7862):259–64. DOI: 10.1038/s41586-021-03553-9.
14. Li J, Huang DQ, Zou B, Yang H, Hui WZ, Rui F et al. Epidemiology of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of clinical characteristics, risk factors, and outcomes. *J Med Virol.* 2021;93(3):1449–58. DOI: 10.1002/jmv.26424.
15. Obermayer A, Jakob LM, Haslbauer JD, Matter MS, Tzankov A, Stoiber W. Neutrophil extracellular traps in fatal COVID-19-associated lung injury. *Dis Markers.* 2021;2021:5566826. DOI: 10.1155/2021/5566826.

Информация об авторах

Надежда Сергеевна Золотухина – младший научный сотрудник Научно-исследовательского института вирусологии ФИЦ ФТМ, аспирантка Института молекулярной патологии и патоморфологии ФИЦ ФТМ.

Светлана Михайловна Мирошниченко – научный сотрудник лаборатории исследования вирусных заболеваний растений и животных Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины ФИЦ ФТМ.

Анна Игоревна Субботовская – кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики, заведующая научно-клиническим диагностическим центром ФИЦ ФТМ.

Михаил Иванович Воевода – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФИЦ ФТМ.

Author information

Nadezhda S. Zolotukhina – Junior Researcher, Research Institute of Virology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine; Postgraduate Student, Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0001-9003-9774>

Svetlana M. Miroshnichenko – Researcher, Laboratory for the Study of Viral Diseases of Plants and Animals, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0002-6740-8241>

Anna I. Subbotovskaya – Cand. Sci. (Med.), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Head of the Scientific and Clinical Diagnostic Center, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0009-0004-1777-523X>

Mikhail I. Voevoda – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0001-9425-413X>