

чего серо-голубое ядро не различимо, бокаловидные экзокриноциты почти не окрашиваются, имеют очень светлую цитоплазму (рисунок 2).

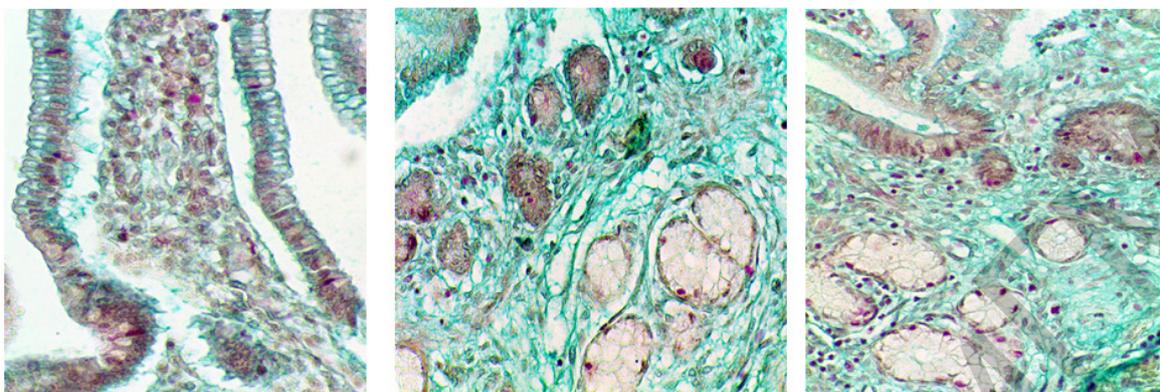


Рисунок 2 — Двенадцатиперстная кишка плодов крысы на 21 сутки эмбриогенеза.
Окраска трехцветной смесью Гомори, увеличение $\times 400$.

Заключение

Эндокринные клетки в дуоденальных железах плодов беспородной белой крысы выявляются на 19-е сутки эмбриогенеза. Увеличение плотности распределения аргирофильных клеток в эпителии крипт наблюдается при закладке и дальнейшем формировании дуоденальных желез. Качественные изменения в структуре аргирофильных клеток дуоденальных желез наблюдаются у крысы к моменту рождения, что проявляется в изменении коэффициента вариации и средней площади клеток и сопровождается секреторной активностью железистых клеток, интенсивным развитием сосудов микроциркуляторного русла.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пузырев, А. А. Закономерности цитогенеза эндокринной гастроэнтеропанкреатической системы позвоночных / А. А. Пузырев, В. Ф. Иванова, С. В. Костюкевич // Морфология. – 2003. – Т. 124, Вып. 4 – С. 11–19.
2. Артишевский, А. А. Становление эндокринной регуляции и процессы органогенеза у плодов человека / А. А. Артишевский, И. Л. Кравцова // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 20(2). – С. 51–55.
3. Юлдашев, А. Ю. Особенности структурно-функционального становления двенадцатиперстной кишки и бруннеровых желез в раннем постнатальном периоде жизни приматов / А. Ю. Юлдашев, З. А. Каххаров, А. А. Нишанова // Совр. пробл. науки и образ. – 2009. – № 3. – С. 77–80.
4. Кравцова, И. Л. Влияние инкорпорации радионуклидов на дуоденальные железы белых крыс / И. Л. Кравцова, Н. Г. Мальцева // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – № 1(43). – С. 75–79.

УДК [616.155.34:616-091.818]:[616.98:578.834.1]

Н. Г. Мальцева, И. Л. Кравцова, П. А. Кислякова, А. И. Лащенко
Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

НЕТОЗ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ COVID-19

Введение

Нетоз (англ. NETosis) — это форма программируемой клеточной гибели, сопровождаемая деконденсацией хроматина, фрагментацией и дезагрегацией ядерных мембран,

смешиванием ядерных структур с цитоплазмой и высвобождением их вместе с содержимым гранул во внеклеточное пространство при нарушении целостности цитоплазматической мембраны [3]. Образующиеся сетевые структуры называются внеклеточными ловушками. Деконденсированный хроматин используется для защиты от различных патогенов вне клетки.

Образование внеклеточных ловушек показано у разных типов иммунных клеток — эозинофилов и тучных клеток, базофилов, моноцитов и макрофагов [1]. Более всего к нетозной трансформации склонны нейтрофилы. Нейтрофилы - самая многочисленная популяция лейкоцитов. Они не только служат маркером острой инфекции, но и являются основным поставщиком нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ). При развитии болезни нетоз нейтрофилов оказывает двойственное влияние на патологический процесс. С одной стороны - это защитная иммунная реакция, направленная на улавливание и обезвреживание проникших в организм патогенов (бактерий, вирусов и грибов), с другой стороны нетоз при его чрезмерной активации может, напротив, способствовать прогрессированию заболевания, вызывая аутоиммунизацию, повреждение окружающей ткани или возникновение атеротромботических событий. На сегодняшний день в литературе недостаточно данных о роли НВЛ в инфекции Covid-19.

Распространяясь по организму, вирус SARS-CoV-2 вызывает сильнейший иммунный ответ, сопровождаемый значительным выбросом цитокинов. На борьбу с вирусом расходуется слишком большое количество лимфоцитов. Их уровень в крови падает. Это снижает защитные способности иммунной системы и может приводить к обострению различных хронических заболеваний. Синдром высвобождения цитокинов (цитокиновый шторм) — это угрожающий жизни системный воспалительный ответ организма на возбудителя. При этом повышается уровень различных интерлейкинов ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-18 и ИЛ-6, коррелирующего с дыхательной недостаточностью, ОРДС и осложнениями. Повышению уровня провоспалительных цитокинов и развитию тромбоза, являющихся основной причиной тяжелого течения COVID-19, способствуют НВЛ [4].

Цель

Систематизировать и обобщить результаты исследований лейкоцитарных показателей анализа крови у пациентов с различной тяжестью течения COVID-19. Выявить диагностическое значение уровня внеклеточных нейтрофильных ловушек у пациентов с COVID-19.

Материал и методы исследования

Для исследования использовались мазки крови и выписные эпикризы пациентов с подтвержденным COVID-19. Возрастной диапазон пациентов от 45 до 75 лет. Первую исследуемую группу составили больные (20 мужчин и 20 женщин), страдающие средней тяжестью заболевания. Ко второй группе были отнесены пациенты отделения реанимации с тяжелой формой заболевания (20 мужчин и 20 женщин). Для контроля использовали мазки крови здоровых людей того же возраста архива 2018 года.

Цитологические исследования проводились на световом микроскопе «LEICA DM LB» (увеличение ×10, 20, 40, 100). В мазках, окрашенных по Романовскому — Гимзе, подсчитывали 200 клеточных структур, включая нативные неразрушенные нейтрофилы (N) и НВЛ. Уровень НВЛ (%НВЛ) в мазке, отражающий долю нетотически трансформированных нейтрофилов, циркулирующих в периферической крови [5] рассчитывали по формуле:

$$\%НВЛ = N / (N + НВЛ), \quad (1)$$

где НВЛ — количество нейтрофильных внеклеточных ловушек; N — количество нативных нейтрофилов.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы «Statistica10».

Результаты исследования и их обсуждение

При сравнении клинических групп пациентов были статистически выявлены наиболее характерные особенности лейкоцитарных показателей крови сопряженные со стадией течения болезни (таблица 1).

Таблица 1 — Характерные особенности лейкоцитарных показателей крови сопряженные со стадией течения болезни

	Средняя тяжесть заболевания	Реанимация	контроль
Показатель	Среднее значение	Среднее значение	Среднее значение
WBC [$10^9/L$]	7,92	11,28	5,2
NEUT [%]	55,3	89,9	53,1
LYMPH [%]	33,6	5,6	29,6
NLR (Neutrophils/Lymphocytes)	1,65	16,05	1,7
НВЛ [%]	6,7	12,1	1,7

Исследования показали, что выраженную корреляционную взаимосвязь с клиническим состоянием пациентов с COVID-19 имеют лейкоцитоз и нейтрофилия ($r = 0,62$, $r = 0,71$). Несмотря на то, что средний показатель количества лейкоцитов в группе со средней формой тяжести заболевания не выходил за пределы нормы, в 50 % случаев уровень лейкоцитов был повышен и максимально достигал значения $22,69 \times 10^9/L$. У 92 % пациентов отделения реанимации данный показатель значительно превышал норму.

Увеличенное количество нейтрофилов у среднетяжелых больных отмечено только в 22% случаев. При тяжелой форме заболевания все пациенты (100%) имели значительное повышение этого показателя. Лейкоцитоз и нейтрофилия при коронавирусной инфекции имеют отрицательное прогностическое значение и могут свидетельствовать о тяжелом течении респираторного процесса и его исходе [4].

В нашем исследовании при среднетяжелой форме заболевания мы не выявили выраженную лимфопению, описанную многими авторами. В 15 % случаев лимфоциты даже превышали норму. Резкое снижение лимфоцитов отмечено только в группе реанимации (минимально до 1 %). Тоже можно сказать о соотношении нейтрофилы/лимфоциты. Только у тяжелых пациентов этот показатель вышел за пределы критического значения (величина 3,13 определена как критическое значение). Вероятно, это можно объяснить стадийностью развития иммунного ответа на SARS-CoV-2. До определенного момента происходит защитная пролиферативная реакция лимфоцитов, и их уровень не падает. Когда резервные возможности истощены, происходит массовая гибель этих клеток. Снижение защитной способности иммунной системы может приводить к обострению различных хронических заболеваний.

В нашей работе повышенный уровень нейтрофилов стал источником образования избыточных НВЛ. Исследуемый уровень НВЛ здоровых людей составил 1,7 % (0,8– 2,2 %), тогда как у пациентов с COVID-19 % НВЛ был статистически значимо ($p < 0,0001$) увеличен в зависимости от тяжести заболевания: от 6,7 до 12,1% (в отдельных случаях до 18–19 %) ($p < 0,05$). По данным исследований Кассиной Д.В. выявление в циркуляции высокого (более 16 %) уровня неточно трансформированных нейтрофилов может служить критерием негативного прогноза исхода заболевания [2].

Считается, что основная причина тяжести заболевания и смерти у пациентов с COVID-19 — чрезмерная воспалительная реакция, связанная с высоким уровнем цир-

кулирующих цитокинов. НВЛ играют значимую роль в негативной регуляции прогрессирующего системного воспаления. Неконтролируемый нетоз, приводящий к появлению избыточного количества НВЛ, токсичных для организма, усиливает «цитокиновый шторм», способствует прогрессированию воспалительных и аутоиммунных процессов, провоцирует развитие тромбозов и может быть причастным к патогенезу сердечнососудистых и онкологических заболеваний [4].

При массовом образовании НВЛ происходит высвобождение биологически активных и агрессивных клеточных факторов (лейкотриенов, протеаз, оксидантов, фактора агрегации тромбоцитов и др.). Как результат - повышение проницаемости сосудов, микротромбообразование, отложение фибрина в альвеолах и накопление в них жидкости. Это способствует нарушению процессов вентиляции легких и провоцируют развитие ОРДС, коагулопатию, полиорганную недостаточность и аутоиммунные заболевания [6].

Заключение

Проведенные исследования позволили выявить наиболее типичные изменения лейкоцитарных показателей крови у пациентов с COVID-19. Отмечено: высокое содержание лейкоцитов, значимая лимфопения и ярко выраженная нейтрофилия с высоким уровнем нетозно трансформированных нейтрофилов. Это свидетельствует о сбое иммунных механизмов защиты и развитии прогрессирующего воспалительного ответа.

Подученные результаты могут учитываться как диагностические и прогностические критерии тяжести заболевания COVID-19.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воробьева, Н. В. Нетоз: молекулярные механизмы, роль в физиологии и патологии / Н. В. Воробьева, Б. В. Черняк // Биохимия. – 2020. – Т. 85. – № 10. – С. 1383–1397.
2. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: значение для диагностики и прогноза COVID-19 / Д. В. Кассина [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2020. – 48(S1):S43–50.
3. Морфологические особенности быстрого и классического нетоза / С. Н. Плескова [и др.] // Цитология. – 2019. – Т. 81, № 9. – С. 704–712.
4. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps / B. J. Barnes [et al.] // J. Exp. Med., 217.
5. Prognostic value of cellular markers in sepsis: extracellular DNA traps and platelet count relation / A. Gur'ev [et al.] // Intensive Care Med Exp. – 2019;7, Suppl 3:55.
6. A novel cell-based assay for dynamically detecting neutrophil extracellular traps-induced lung epithelial injuries / D. Lv [et al.] // Exp Cell Res. – 2020. – Vol. 394(2). – P. 112101.

УДК [616.98:578.834.1]-074/-078

Н. Г. Мальцева, И. Л. Кравцова, П. А. Кислякова, А. И. Лащенко
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ АНАЛИЗА КРОВИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТЬЮ COVID-19

Введение

Инфекционное заболевание COVID-19, вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2, стало серьезной мировой проблемой и привело к колоссальным человеческим трагедиям. Решение этой проблемы — одна из важнейших задач исследователей всего мира.