

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ 8- DIFF КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРИЗНАКОВ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ТЯЖЕЛОЕ ТЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ

Слесарева Т.А., Груздева О.В.

*Кузбасский клинический кардиологический диспансер имени академика
Л.С. Барбараша,
Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых
заболеваний, г. Кемерово*

Ключевые слова: Covid-19, гематологические показатели, степень тяжести

Резюме: в статье приведены результаты изучения 8- diff клинического анализа крови пациентов, имеющих диагноз новая коронавирусная инфекция, проведенного в первый день госпитализации, в зависимости от степени тяжести течения болезни, степени дыхательной недостаточности, а также статуса жизни.

Resume: the article presents the results of a study of an 8-diff clinical blood test of patients diagnosed with a new coronavirus infection, carried out on the first day of hospitalization, depending on the severity of the course of the disease, the degree of respiratory failure, as well as the status of life.

Актуальность. Новая коронавирусная инфекция вызывает нетипичные для вирусной инфекции изменения в картине крови, которые могут коррелировать с тяжестью течения болезни. Исследование гематологических параметров на современных анализаторах позволяет не только определиться с количеством клеток в объеме образца, но оценить их функцию и выразить в числовом значении. Так, на смену 5 – diff анализу приходит 8 –diff с выделением популяций незрелых гранулоцитов, реактивных и антителсинтезирующих лимфоцитов, активированных нейтрофилов и нейтрофилов с высокой флюоресценцией. Также в исследование был включен показатель - ядросодержащие эритроциты в периферической крови, как патофизиологический показатель нарушения гемопоэза. Изучение данных показателей и выявление закономерностей их изменений у больных новой коронавирусной инфекцией может дать возможность диагностировать ухудшение состояния больного и вносить изменения в тактику лечения без дополнительных исследований и финансовых затрат.

Цель: изучить гематологические показатели, для установления закономерности изменений в картине крови у пациентов в зависимости от степени тяжести течения новой коронавирусной инфекции, степени дыхательной недостаточности и исхода заболевания.

Материалы и методы. В исследование были включены 149 пациентов с коронавирусной инфекцией разной степени тяжести. Материалом для исследования послужили образцы крови, полученные в первый день госпитализации в ГБУЗ «Кузбасский клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша» отделение для лечения больных ССЗ и Covid-19. В зависимости от степени тяжести пациенты были распределены на 3 группы: группа 1–20 пациентов с легкой степенью тяжести, группа 2–96 пациентов со средней степенью, группа 3–33 паци-

ента с тяжелой степенью тяжести. В зависимости от исхода заболевания: 1 группа – 28 пациентов с летальным исходом, группа 2 – 121 пациента с благоприятным исходом. В зависимости от степени дыхательной недостаточности пациенты были разделены на 4 группы: группа 0 – 40 пациентов не имеющих признаков дыхательной недостаточности, группа 1 – 69 пациентов с легкой степенью ДН, группа 2 – 18 пациентов со средней степенью, группа 3 – 17 пациентов с тяжелой степенью.

Образцы крови исследовались на гематологическом анализаторе Sysmex XN-1000, в технологии измерения, которого используется проточная цитофлуориметрия, что позволяет выделять дополнительные популяции клеток на основе их морфологии и функциональных особенностей, что обеспечивает проведение 8 – diff анализа. Были проанализированы такие показатели, как общее количество лейкоцитов, абсолютное и относительное количество нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, базофилов, эозинофилов, незрелых гранулоцитов, ядродержащих эритроцитов, показатели активации нейтрофилов и лимфоцитов.

Neut-Ri – параметр отражает интенсивность реакции нейтрофилов, соответствующую их метаболической активности, и выражается в единицах интенсивности флуоресценции (fl)

Neut-Gi – параметр отражает изменение морфологии нейтрофилов (гиперсегментация ядра, нейтрофильная зернистость, последнее является общепринятым признаком активного инфекционного процесса. Выражается в единицах светорассеивания (si)

Re-Lymph – параметр отражает количество лимфоцитов обладающих более высоким флуоресцентным сигналом в сравнении с нормальной популяцией лимфоцитов, что соответствует повышенной активности данных клеток.

As-Lymph – является субпопуляцией Re-Lymph, отражает количество активированных В-лимфоцитов (плазматических клеток), синтезирующих антитела. Появление этих клеток свидетельствует об активации гуморального ответа.

Статистическая обработка данных проводили с использованием программы Statistica 10.0. Для оценки различий количественных признаков при сравнении более двух независимых групп с отличным от нормального распределения был использован непараметрический критерий Краскела-Уолиса, при парном сравнении – U-тест Манн-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Гематологические параметры больных новой коронавирусной инфекции, в зависимости от степени тяжести изменялись следующим образом. Общее количество лейкоцитов у больных с тяжелым течением превышало референсные интервалы в 1,2 раза, и было в 1,5 раза больше, чем у больных с легким течением болезни. Выявлено достоверное увеличение количества нейтрофилов ($p=0,006$), их значение в группе 3 превышало референсные интервалы в 1,2 раза и было в 1,5 раза больше чем у пациентов 1 группы. Количество лимфоцитов достоверно снижалось ($p=0,000$) у пациентов с тяжелым течением болезни, их количество было в 2 раза меньше, чем у пациентов с легким течением, но в пределах референсных интервалов. Содержание моноцитов в крови достоверно снижалось ($p=0,02$). Количество эозинофильных гранулоцитов в группе 3 было в 3 раза меньше чем в группе 1. У больных группы 3 отмечалось появление в крови незрелых грану-

лоцитов, в количестве выше референсных интервалов. Содержание реактивных лимфоцитов (Re-lymph) не различалось между группами, но выявлено достоверное увеличение плазматических клеток во второй группе (As-Lymph, $p=0.01$). Различий между группами по параметрам активации нейтрофилов не установлено. В крови всех групп пациентов отмечалось появление ядросодержащих эритроцитов, но их количество в группе 3 было в 5 раз больше, чем в группе 1 или 2.

При анализе гематологических показателей, в зависимости от степени дыхательной недостаточности не установлено различий по общему количеству лейкоцитов и содержанию нейтрофилов. При межгрупповом сравнении выявлено, что наибольшее различия имеют группы 0 (без признаков дыхательной недостаточности) и 3 (дыхательная недостаточность 3 степени). Количество лимфоцитов в группе 3 в 2,5 раза меньше, чем в группе 0 и ниже уровня референсного интервала. Содержание моноцитов в крови больных группы 3 было в 1,75 раз меньше, чем в группе 0, а базофильных и эозинофильных гранулоцитов в 2 раза меньше. За пределы референсных интервалов данные параметры не выходили. Количество незрелых гранулоцитов достоверно увеличивалось, по отношению к группе 0, в группе 1, 2 и 3 данный показатель выходил за пределы референсных интервалов. Наибольшее содержание IG отмечалось в группе 3, и было в 2,5 раза больше, чем в группе 0. Показатель Re-lymph не различался между группами и не выходил за пределы нормальных значений. Параметр As-lymph который у здорового человека равен нулю, определялся во всех группах, достоверно увеличивался со степенью тяжести и достигал максимальных значений в группе 3. Параметры Neut-Ri и Neut-Gi не отличались между группами. Отмечается резкое возрастание количества нормобластов в крови больных группы 3, их количество в 10 раз больше, чем в группе 0 и 3, и в 2,7 раза больше чем в группе 2.

При анализе показателей крови, в зависимости от исхода заболевания новой коронавирусной инфекцией, выявлено, что общее количество лейкоцитов в группах пациентов достоверно не различалось. В группе 1 содержание нейтрофилов было в 1,5 раза выше, чем в группе 2 и выходило за верхние пределы референсных интервалов. Увеличение нейтрофилов в первой группе сопровождается статистически значимым снижением лимфоцитов ($p=0,03$), их количество меньше в 1,3 раза, чем в группе 2, но не выходит за границы референсных интервалов. Содержание моноцитов между группами различалось ($p=0,018$) и в первой группе было незначительно снижено. Количество базофилов между группами не различалось. Отмечалось значительное снижение эозинофилов ($p=0,02$) в первой группе их количество было в 2 раза меньше, чем во второй. Количество незрелых гранулоцитов в первой группе было больше, чем во второй и выходило за пределы референсных интервалов. Параметры активации лимфоцитов и нейтрофилов в 2х группах достоверно не различались. Картина крови больных с неблагоприятным исходом характеризовалась появлением в крови значительного количества ядросодержащих эритроцитов, различие между группами статистически значимо ($p=0,000$), количество нормобластов в группе 1 в 6 раз больше, чем в группе 2.

В результате исследования было установлено, что картина крови тяжелых больных в первый день госпитализации характеризовалась снижением количества

лейкоцитов, что подтверждает предыдущие исследования, опубликованные Чан Дж.Ф.[1]. Лимфопения является общим признаком у пациентов с COVID-19 и может быть критическим фактором, связанным с тяжестью заболевания и смертностью. Снижение количества эозинофилов также сопровождается тяжелым течением инфекции. Наши данные подтверждает опубликованное исследование о корреляции эозинопении с тяжестью течения болезни[2]. Появление в крови нормобластов свидетельствует о тяжелом течении инфекции, что обуславливается гипоксемией, и служит прогностическим признаком летального исхода пациента[3]. В крови больных с тяжелым течением болезни увеличивается количество нейтрофилов и незрелых гранулоцитов. Параметры, характеризующие реактивность лимфоцитов в меньшей степени имеют связь с тяжестью клинической картины, но обращает на себя внимание то, что в крови всех больных присутствуют антителсинтезирующие лимфоциты и их количество наибольшее в крови тяжелых больных.[4]

Выводы: установлено, что картина крови больных новой коронавирусной инфекцией, в зависимости от степени тяжести и степени дыхательной недостаточности характеризуется снижением количества лимфоцитов, как в пределах референсных интервалов, так и ниже за их границ. Уменьшалось содержание в крови моноцитов, эозинофилов. Отмечалось увеличение количества незрелых гранулоцитов, выше референсных интервалов, появление в крови нормобластов. При нормальных значениях реактивных лимфоцитов, увеличивалась доля в них плазматических клеток, что свидетельствует об активации В-клеточного иммунного ответа и уменьшение активности Т-клеточного.

Параметры крови больных с неблагоприятным исходом болезни указывают на увеличение количества нейтрофилов и незрелых гранулоцитов. Обращает на себя внимание, значительное количество в периферической крови нормобластов. Снижение количества лимфоцитов, моноцитов и базофилов также являлось характерной особенностью картины крови пациентов с летальным исходом.

Литература

1. Чан Дж.Ф., Юань С., Кок К.Х. Семейный кластер пневмонии, связанный с новым коронавирусом 2019 года, указывающий на передачу от человека к человеку: исследование семейного кластера. *Ланцет*. 2020; 395 : 514–523.
2. Tanni, Fahmina, Akker, Eleonora, Zaman, Muhammad M., Figueroa, Nilka, Tharian, Biju and Nupart, Kenneth H. "Eosinopenia and COVID-19" *Journal of Osteopathic Medicine*, vol. 120, no. 8, 2020, pp. 504-508.
3. Kuert S, Holland-Letz T, Friese J, Stachon A. Association of nucleated red blood cells in blood and arterial oxygen partial tension. *Clin Chem Lab Med*. 2011 Feb;49(2):257-63. doi: 10.1515/CCLM.2011.041. Epub 2010 Dec 1. PMID: 21118046.
4. Chong VCL, Lim KGE, Fan BE, Chan SSW, Ong KH, Kuperan P. Реактивные лимфоциты у пациентов с COVID-19. *Бр Дж Гематол* . 2020;189(5):844. doi: 10.1111/bjh.16690