

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

**ИНТЕГРАЦИОННЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ,
ОЦЕНИВАЮЩИЙ ТЯЖЕСТЬ ТЕЧЕНИЯ COVID-19 И РИСК
ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА**

Нестерова И. В.^{1,2},

Атажахова М. Г.¹,

Матушкина В. А.¹,

Тетерин Ю. В.¹,

Городин В. Н.¹,

Чудилова Г. А.¹,

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия

**INTEGRATION DIAGNOSTIC CRITERION FOR EVALUATION OF THE
SEVERITY OF COVID-19 AND THE RISK OF POST-COVID SYNDROME**

Nesterova I. V.^{a,b}

Atazhakhova M. G.^a

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

Matushkina V.A.^a

Teterin Y. V.^a,

Gorodin V. N.,

Chudilova G. A.^a

^a Federal State Budgetary Institution of Higher Professional Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnodar, Russian Federation

^b Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

Резюме

Патофизиология тяжелой формы COVID-19 характеризуется изменением количества, фенотипа и функций нейтрофильных гранулоцитов (НГ). Среди эффекторных противовирусных механизмов НГ одними из наиболее важных являются нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs), но чрезмерное их образование усугубляет воспаление при остром респираторном дистресс-синдроме и способствует тромбозу микрососудов. Их обнаружение и количественная оценка могут иметь важное значение при различных формах течения COVID-19 для определения корреляции с исходом заболевания, оценки риска развития постковидного синдрома и, возможно, мониторинга будущей целевой терапии.

Цель исследования: разработать новый диагностический интеграционный критерий, позволяющий оценить тяжесть течения COVID-19 и риск развития осложнений в постковидном периоде, в т.ч. постковидного синдрома в периферической крови.

Материалы и методы: Исследованы образцы периферической крови (ПК) 31 пациента с острым течением COVID-19 (среднетяжелого течения (n=15) и тяжелого течения (n=16)), 52 пациентов, выписанных из стационара после лечения COVID-19 тяжелой степени тяжести, в сроки от 30 до 60 дней, имеющие постковидный синдром (ПКС) и 100 условно-здоровых добровольцев. Оценивались показатели общеклинического анализа крови (MicroCC-20Plus), в мазках ПК проводился подсчет лейкоцитарной формулы с учетом количества образованных NET и НГ, ушедших в патологический апоптоз. На основе полученных результатов рассчитывался интеграционный диагностический критерий по формуле:
$$\text{ИДК} = \frac{\% \text{ неизмененных НГ}}{\% \text{ NET} + \% \text{ НГ в апоптозе}}$$

Результаты. Показано снижение ИДК при среднетяжелом течении заболевания в 8,5 раз ($p < 0,05$), а при тяжелом течении в 30 раз ($p < 0,05$) по сравнению со значениями в группе условно-здоровых лиц. Также установлено,

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

что у 88,5 % пациентов с ПКС перенесших SARS-CoV-2 в ПК не выявлено морфологически патологических измененных НГ. В тоже время у 11,5 % пациентов с ПКС отмечено появление NETs и клеток с патологическим апоптозом, при этом ИДК НГ-ПКС был в 8 раз меньше ($p < 0,05$), чем в группе сравнения и не отличался от показателей пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 ($p > 0,05$), что диктует необходимость дальнейшего диспансерного наблюдения таких пациентов.

Заключение. Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что разработанный интеграционный диагностический критерий позволяет оценить как тяжесть течения COVID-19 в острый период, так и риск возникновения постковидного синдрома. Следует подчеркнуть, что выявленные при COVID-19 характерные изменения НГ можно легко идентифицировать в ПК и последовательно отслеживать по расчетному интегральному диагностическому критерию. Значительное снижение ИДК свидетельствует о сохраняющейся гиперактивации НГ и необходимости проведения таргетной иммунотерапии, направленной на модулирование дисфункций НГ.

Ключевые слова: COVID-19, постковидный синдром, интегральный диагностический критерий, нейтрофильные гранулоциты, NET, апоптоз

Abstract.

The pathophysiology of severe COVID-19 is characterized by changes in the number, phenotype, and function of neutrophil granulocytes (NG). Among the effector antiviral mechanisms of NC, neutrophil extracellular traps (NETs) are one of the most important, but their excessive formation exacerbates inflammation in acute respiratory distress syndrome and contributes to microvascular thrombosis. Their detection and quantification may be important in various forms of the course

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

of COVID-19 to determine the correlation with the outcome of the disease, assess the risk of developing post-COVID syndrome, and possibly monitor future targeted therapy.

Purpose of the study: to develop a new diagnostic integration criterion to assess the severity of COVID-19 and the risk of complications in the post-COVID period, including post-COVID syndrome in peripheral blood.

Materials and Methods: Peripheral blood (PB) samples were studied from 31 patients with acute COVID-19 (moderate (n=15) and severe (n=16)), 52 patients discharged from the hospital after severe COVID-19 treatment severity, in terms of 30 to 60 days, with post-COVID syndrome (PCS) and 100 healthy volunteers. The parameters of the general clinical blood test (MicroCC-20Plus) were evaluated, the leukocyte formula was calculated in PC smears, taking into account the number of formed NETs and NGs that went into pathological apoptosis. Based on the obtained results, an integration diagnostic criterion was calculated using the formula: $IDK =$

$$\frac{\% \text{ unchanged NG}}{(\% \text{NET} + \% \text{ NG in apoptosis})}$$

Results. A decrease in IDC was shown in the moderate course of the disease by 8,5 times ($p < 0,05$), and in severe cases by 30 times ($p < 0,05$) compared with the values in the group of healthy individuals. It was also found that in 88,5% of patients with PCS who underwent SARS-CoV-2, no morphologically pathologically altered NG were detected in the PB. At the same time, in 11.5% of patients with PCS, the appearance of NETs and cells with pathological apoptosis was noted, while the IDC of NG-PCS was 8 times less than in the comparison group and did not differ from the parameters of patients with moderate COVID-19 ($p > 0,05$), which dictates the need for further dispensary observation of such patients.

Conclusion. The data obtained in this study indicate that the developed integration diagnostic criterion allows us to assess both the severity of COVID-19 in the acute period and the risk of post-COVID syndrome. It should be emphasized that the characteristic changes in NG detected in COVID-19 can be easily identified

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

in PB and consistently monitored by the calculated integral diagnostic criterion. A significant decrease in IDC indicates the persisting hyper activation of NG and the need for targeted immunotherapy aimed at modulating NG dysfunctions.

Keywords: COVID-19, post-COVID syndrome, integral diagnostic criterion, neutrophil granulocytes, NET, apoptosis

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

1 **Введение.** Иммунологический фенотип COVID-19, характеризуется
2 истощением лимфоцитов и повышенным числом нейтрофильных
3 гранулоцитов (НГ), что необычно для вирусной инфекции [19]. При этом
4 установлено, что соотношение НГ к лимфоцитам в периферической крови
5 (ПК) пациентов с COVID-19 коррелирует с тяжестью заболевания и высокой
6 экспрессией связанных с НГ цитокинов IL-8 и IL-6 в сыворотке крови, а
7 нейтрофилия была описана как показатель тяжести респираторных симптомов
8 и предиктор неблагоприятного исхода [11]. Патопфизиология тяжелой формы
9 COVID-19 характеризуется изменением количества, морфологического
10 фенотипа и функциональности НГ [18].

11 Наиболее важным среди эффекторных механизмов НГ при вирусных
12 заболеваниях являются нейтрофильные внеклеточные ловушки (NET) [4, 8].
13 NET представляют собой сети внеклеточных волокон, состоящих из
14 деконденсированного хроматина ядер НГ, содержащих в себе гистоны, белки
15 цитоскелета, ферменты гранулярного происхождения: эластазу,
16 миелопероксидазу (МПО), кателицидины, кальпротектин и α -дефенсины [15,
17 29]. Процесс образования NET НГ, называемый NETosis, широко изучен.
18 Первым этапом NETosis при вирусных инфекциях является клеточная
19 активация через Toll-подобные рецепторы TLR4, TLR7 и TLR8 [22, 29].
20 Впоследствии образуются активные формы кислорода (ROS), что приводит к
21 активации протеинаргиназы деиминазы 4 (PAD4), которая отвечает за
22 деконденсацию хроматина [13]. Эластаза НГ (NE), белок гранул, вызывает
23 разрушение ядерной мембраны НГ, в то время как белок гранулы гасдермин D
24 способствует образованию пор в клеточной мембране и опосредует
25 высвобождение NET во внеклеточное пространство [5].

26 NET действительно играют существенную роль в элиминации вируса,
27 но чрезмерная продукция NET усугубляет воспаление при остром
28 респираторном дистресс-синдроме (ОРДС) и способствует тромбозу
29 микрососудов [10]. Это потенциально связано с чрезмерной активацией пути

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

30 стимулятора генов интерферона (STING) через циклическую GMP-AMP-
31 синтазу (сGAS) в фагосомах и с самой инфекцией SARS-CoV-2 через
32 ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) [4, 6]. За период пандемии
33 короновиральной инфекции было убедительно продемонстрировано, что
34 усиленное образование NET коррелирует с тяжестью протекания
35 воспалительного процесса [6, 37].

36 Широкое распространение ACE2 рецепторов и прежде всего на
37 альвеолоцитах II типа, эндотелиоцитах сосудов и клетках проксимальных
38 канальцев почек [37] объясняет системность поражения организма вирусом
39 SARS-CoV-2 [4]. Цитопатическое действие SARS-CoV-2 на данные клетки
40 приводит к их повреждению с высвобождением паракринных факторов с
41 последующим привлечением в места деструкции тканей макрофагов и НГ.
42 Образующиеся в этих местах NET, благодаря своему богатому арсеналу
43 катионных белков и ферментов, вызывают повреждение соседних клеток [25]
44 с еще большим привлечением в очаг воспаления НГ. Действуя на
45 эндотелиоциты, SARS-CoV-2 приводит к развитию эндотелиальной
46 дисфункции и провоцирует активацию коагуляционного гемостаза с
47 развитием иммунотромбозов и ДВС синдрома [1, 2, 17, 21]. Дисфункцию
48 эндотелия и развитие иммунотромбозов усиливает SARS-CoV-2-
49 индуцированный цитокиновый шторм [24, 28]. Подобная цепь событий
50 приводит к развитию острого респираторного дистресс синдрома [7].

51 Избыточное образование NET подтверждается данными аутопсии,
52 которая демонстрирует усиленную инфильтрацию легочной ткани НГ и
53 конгломератами, состоящими из NET и фибрина [9, 3, 32]. Было так же
54 отмечено, по данным компьютерной томографии, что нейтрофильный
55 лейкоцитоз и усиленное образование NET коррелируют с высоким процентом
56 поражения ткани легкого [33]. Важно отметить, что SARS-CoV-2 может
57 напрямую индуцировать высвобождение NET «здоровыми» НГ и, что зависит
58 от оси ACE2-сериновая протеаза, репликации вируса и передачи сигналов

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

59 PAD-4. Наконец, NET высвобождаемые активированными SARS-CoV-2 НГ,
60 способствуют апоптозу эпителия легких. Эти результаты описывают новые
61 клеточные и молекулярные механизмы, участвующие в образовании сетей при
62 инфекции SARS-CoV-2, и их пагубную роль в патофизиологии COVID-19 [30].

63 В условиях тяжелого течения COVID-19, когда считается, что
64 активность тканевых НГ чрезвычайно высока, вполне вероятно, что
65 активированные НГ постоянно циркулируют в ПК [11]. Их обнаружение и
66 количественная оценка могут иметь важное значение при COVID-19 для
67 определения корреляции с исходом заболевания, улучшения нашего
68 понимания патофизиологии заболевания и, возможно, мониторинга будущей
69 целевой терапии.

70 Описан метод обнаружения активированных НГ в ПК и подтверждена
71 его клинико-диагностическая ценность с использованием флуоресцентной
72 проточной цитометрии на гематологическом анализаторе Sysmex™ XN-9100
73 (Япония). Эта сложная технология предлагает в дополнение к оценке общего
74 анализа крови, ядерных эритроцитов и незрелых гранулоцитов, набор
75 гематологических параметров воспаления, которые обеспечивают
76 улучшенную дифференциацию подгрупп НГ на основе прямого и бокового
77 светорассеяния, а также содержания РНК оценить статус активации НГ [35].

78 Учитывая вышесказанное, существует необходимость в новых и
79 доступных методах определения и оценки активации НГ у пациентов с
80 COVID-19 .

81 **Цель исследования:** разработать новый диагностический
82 интеграционный критерий, позволяющий оценить тяжесть течения COVID-19
83 и риск развития осложнений в постковидном периоде, в т.ч. постковидного
84 синдрома в периферической крови.

85 **Материалы и методы:** В исследование были включены: пациенты
86 поступившие в стационар с острым течением COVID-19 (n=31) на 9 (6; 14)
87 день от начала заболевания и появления симптомов коронавирусной

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

88 инфекции, в возрасте 61 (57; 71) год, обоего пола (58% мужчины, 42%
89 женщины): группа 1 – 15 пациентов со среднетяжелым течением заболевания,
90 группа исследования 2 -16 пациентов с тяжелым течением заболевания; 52
91 пациента, выписанных из стационара после лечения COVID-19 тяжелой
92 степени тяжести, в сроки от 30 до 60 дней, имеющие постковидный синдром
93 (ПКС) с широким спектром клинических проявлений - группа исследования 3.
94 Группу сравнения составили 100 условно-здоровых добровольцев
95 соответствующего возраста и пола. Исследовано 183 образца периферической
96 крови (ПК), оценивались показатели общеклинического анализа крови на
97 гематологическом анализаторе MicroCC-20Plus. Параллельно
98 приготавливались мазки ПК, с последующей фиксацией и окраской по
99 Романовскому-Гимзе. Окрашенные мазки крови оценивались с помощью
100 световой микроскопии при увеличении 100x10 (масляная иммерсия).
101 Проводился подсчет относительного количества популяций лейкоцитов
102 (лейкоцитарная формула) с учетом количества образованных NET и НГ,
103 ушедших в патологический апоптоз на 100 НГ. На основе полученных
104 результатах рассчитывался интеграционный диагностический критерий по
105 формуле:

$$106 \quad \text{ИДК} = \frac{\% \text{ неизмененных НГ}}{\% \text{ NET} + \% \text{ НГ в апоптозе}}$$

107 Статистическую обработку данных проводили в StatSoft Statistica 10.0.
108 Проверку нормального распределения производили методом Колмогорова–
109 Смирнова. Результаты описаны с использованием медиан (Me) с
110 межквартильными диапазонами ($Q_{0,25}$; $Q_{0,95}$). Для сравнения групп по
111 количественным признакам использовали непараметрические критерии: U-
112 критерий Манна-Уитни. Различие показателей исследуемых групп полагали
113 статистически значимым при $p < 0,05$.

114 **Результаты.** Анализ уровня лейкоцитов и морфологической картины
115 крови у пациентов группы 1 выявил изменения показателей при

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

116 среднетяжелом течении COVID-19. Так у пациентов на фоне тенденции
117 снижения общего количества лейкоцитов до 5,8 (4,6; 6,0) $\times 10^9$ /л против 6,25
118 (4,25; 6,75) в группе сравнения ($p > 0,05$), отмечено снижение относительного
119 количества лимфоцитов (27,0 (17,0; 30,5)% против 34,0 (31,0; 36,0)% в группе
120 сравнения, $p < 0,05$) и повышение содержания НГ (69,5 (67,5; 78,0) против 60,0
121 (56,0; 63,0)% в группе сравнения, $p < 0,05$) и доли палочкоядерных форм (ПЯЛ)
122 (Табл. 1).

123 Таблица 1. Морфологические показатели крови пациентов со
124 среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 и пациентов с постковидным
125 синдромом

126 Table 1. Blood morphological parameters of patients with moderate and severe
127 COVID-19 and patients with post-COVID syndrome

128

129 Обращают внимание еще более выраженные сдвиги в общеклиническом
130 анализе крови, выявленные при анализе показателей в группе 2 тяжёлого
131 течения COVID-19. Был обнаружен лейкоцитоз, значимое повышение
132 содержания НГ, сдвиг нейтрофильного ростка в сторону молодых форм 15,0
133 (10,0; 24,0), при этом у 100% пациентов отмечалась относительная
134 лимфопения 11,0 (8,0; 17,0)% против 34,0 (31,0; 36,0)% в группе сравнения.

135 Нами дополнительно было проведено расширенное морфологическое
136 исследование системы НГ и выявлено, что в ПК пациентов со среднетяжелым
137 и тяжелым течением COVID-19 содержатся НГ сформировавшие NET, и
138 клетки в апоптозе (Рис.1).

139

140 Рисунок 1. Нейтрофильные гранулоциты в апоптозе (1) и NETos (2) (указаны
141 стрелками) 1000х, окраска по Романовскому-Гимзе.

142 Figure 1. Neutrophilic granulocytes in apoptosis (1) and NETos (2) (indicated by
143 arrows) 1000x, Romanowsky-Giemsa stain.

144

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

145 Так в группе 1 на 100 просчитанных НГ выявлялось 3,5 (2,5; 4,0)%
146 клеток вошедших в NETos и 3,0 (3,0; 3,5)% клеток в апоптозе. В группе 2 при
147 тяжелом течении заболевания выявлялось в 4 раза большее количество NET и
148 апоптических клеток - 13,0 (9,0;16,0)% и 12,0 (10,0; 16,5)% соответственно.
149 При этом у пациентов группы сравнения выявлялись только единичные
150 клетки с физиологическим апоптозом 1,0 (1,0; 2,0)%. Принимая во внимание
151 полученные данные, нами был разработан новый интеграционный
152 диагностический критерий (ИДК), характеризующий состояние системы НГ у
153 пациентов в остром периоде коронавирусной инфекции, который с учетом
154 частоты встречаемости НГ, формирующих NET в периферической крови и
155 находящихся в состоянии патологического апоптоза рассчитывается по
156 формуле, представленной в материалах и методах.

157 Данный интеграционный критерий в группе сравнения составил 99,0
158 (99,0; 99,0), в группе 1 он составил 11,6 (8,8; 13,6), что в 8,5 раз меньше, чем
159 в группе сравнения ($p<0,05$) (Рис. 2). Стоит отметить, что наибольшее
160 снижение данного интеграционного диагностического критерия отмечалось у
161 пациентов, имеющих более тяжелое течение коронавирусной инфекции,
162 сопровождающееся более выраженными признаками нарушения
163 гемодинамики, с высоким процентом поражения легочной ткани на снимках
164 компьютерной томографии и более высоким риском развития
165 иммунотромбозов у которых ИДК составил 3,2 (2,5; 9,5), что в 30 раз ($p<0,05$)
166 ниже показателя группы сравнения и в 3,6 раз ниже значений группы
167 1($p<0,05$).

168

169 Рисунок 2. Интеграционный диагностический критерий у пациентов со
170 среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 и пациентов с постковидным
171 синдромом.

172 *Примечание: *- различия показателей пациентов с COVID-19 и постковидным*
173 *синдромом по сравнению с показателями условно-здоровых лиц; ^- различия*

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

174 показателей в группах пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением
175 COVID-19, статистически обоснованы с ошибкой 1 рода $p < 0,05$ (критерий
176 Манна-Уитни).

177 Figure 2. Integration diagnostic criterion in patients with moderate to severe
178 COVID-19 and patients with post-COVID syndrome.

179 Note: * - differences in the indicators of patients with COVID-19 and post-covid
180 syndrome compared with those of healthy individuals; ^- differences in indicators in
181 groups of patients with moderate and severe COVID-19, statistically substantiated
182 by type 1 error $p < 0,05$ (Mann-Whitney test).

183

184 Для оценки регрессии изменений, наблюдаемых в нейтрофильном
185 гранулоцитарном компартменте во время острого COVID-19, были
186 исследованы образцы ПК пациентов, перенесших COVID-19 тяжелой степени
187 через 3-6 месяцев после выписки из стационара. Исследованные образцы
188 продемонстрировали нормализацию общего количества лейкоцитов ($p > 0,05$),
189 но при этом в группе 3 отмечалось достоверное повышение уровней НГ до 78,0
190 (76,0; 81,0)%, против 60,0 (56,0; 63,0)% в группе сравнения ($p < 0,05$), на фоне
191 сохраняющейся относительной лимфопении – 18,0 (15,0; 21,0)% против – 34,0
192 (31,0; 36,0) ($p < 0,05$).

193 При морфологической оценке НГ в группе 3 с ПКС у 6 пациентов из 52
194 человек (11,5 % случаев) были выявлены NETs – 5,5 (5,0; 6,0) % и НГ в
195 состоянии апоптоза – 2,0 (1,25; 2,75) %, неизмененные НГ составили 92,5
196 (91,25; 93,75)% (Табл.1).

197 При расчете интеграционного критерия НГ в группе 3 ИДК составил
198 12,4 (10,5; 15,0), что в 8 раз меньше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). При
199 этом выявлено, что снижение ИДК наиболее выражено у лиц с большим
200 количеством клинических проявлений ПКС основными жалобами которых
201 являлись: сохраняющийся кашель и одышка, снижение работоспособности,
202 утомляемость, головная боль, головокружение, ощущение тумана в голове,

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

203 возникшие проблемы с памятью, усвоение новой информации, нарушение
204 внимания, понимания, проблемы в общении с окружающими, а также
205 нарушения засыпания и сна. Оценка степени выраженности хронической
206 усталости и симптомов когнитивных расстройств (в баллах) проводилась с
207 использованием Шкалы, разработанной Нестеровой И.В. и соавторами (2021):
208 0-отсутствие симптомов; 1-минимальные симптомы; 2-средняя тяжесть
209 симптомов; 3-тяжелая степень симптомов; 4-очень тяжелая степень [23]
210 (Табл.2).

211

212 Таблица 2. Выраженность клинических проявлений постковидного
213 синдрома в раннем постковидном периоде (30-60 дней) у пациентов,
214 перенесших COVID-19 тяжелой степени (в баллах)

215 Table 2. Severity of clinical manifestations of post-COVID syndrome in the
216 early post-COVID period (30-60 days) in patients with severe COVID-19 (in points)
217

218 Необходимо отметить, что исследуемые показатели НГ, лимфоцитов, а
219 также содержание NETs и клеток в апоптозе в образцах ПК пациентов с
220 постковидным синдромом значимо не отличаются от показателей группы 1
221 пациентов с острой вирусной инфекцией среднетяжелого течения (Табл. 1).
222 Наиболее показательным явился предложенный расчетный интеграционный
223 диагностический критерий, низкие значения которого могут служить
224 фактором риска развития осложнений таких как, системный васкулит и
225 коагулопатии, учитывая роль NET в патогенезе этих заболеваний.

226 **Обсуждение.** Полученные нами в стандартных лабораторных тестах
227 данные соответствуют описанным в научной литературе, в которых
228 констатируется, что клинические синдромы COVID-19 имеют несколько
229 уникальных особенностей, в том числе, повышение уровня НГ и снижение
230 содержания лимфоцитов, а отношение НГ к лимфоцитам являются
231 предикторами критических случаев COVID-19 [12, 14, 16, 26, 31, 34].

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

232 При COVID-19 выявлены характерные изменения, лейкоцитов которые
233 можно легко идентифицировать в периферической крови и которые можно
234 легко и последовательно отслеживать, что может помочь в диагностике,
235 прогнозировании и протоколах лечения. Сообщалось об атипичных
236 лимфоцитах, циркулирующих в крови у пациентов с COVID-19 [20, 27].
237 Предполагалось, что их присутствие отражает повышенное образование
238 специфичных к вирусу Т-клеток, что объясняет лучший исход у пациентов, у
239 которых эти клетки циркулируют в крови. [20, 29]. Были замечены
240 активированные моноциты, которые демонстрировали выраженный
241 анизоцитоз с заметной вакуолизацией цитоплазмы и небольшим количеством
242 гранул, связанные с воспалением, тяжесть которых коррелирует с исходом
243 пациента с COVID-19 [36]. В тоже время при морфологической оценке НГ
244 описано только повышение конденсированного хроматина ядра, токсические
245 гранулы и вакуоли в цитоплазме [34].

246 В настоящем исследовании установлено, что в остром периоде
247 среднетяжелой и тяжелой короновирусной инфекции у всех пациентов,
248 отмечается появление в крови NET и клеток с патологическим апоптозом. НГ
249 с одной стороны участвуют в клиренсе вируса посредством NETs, но при
250 гиперактивации могут оказывать пагубное воздействие, способствуя
251 патогенезу SARS-CoV-2 и усугубляя осложнения COVID-19, такие как ОРДС,
252 тромбоз, развитие эндотелиита и васкулита. Расчет диагностического
253 интеграционного критерия у пациентов с COVID-19 с учетом частоты
254 встречаемости НГ, формирующих NET в периферической крови и
255 находящихся в состоянии патологического апоптоза позволяет оценить
256 тяжесть течения заболевания: при среднетяжелом течении ИПК снижается в
257 8,5 раз ($p < 0,05$), а при тяжелом течении в 30 раз ($p < 0,05$) по сравнению с
258 группой условно-здоровых лиц. Кроме того установлено, что у 88,5 %
259 пациентов с ПКС, перенесших SARS-CoV-2, в ПК не выявлено патологически
260 измененных НГ. В тоже время у 11,5 % пациентов с ПКС отмечено появление

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

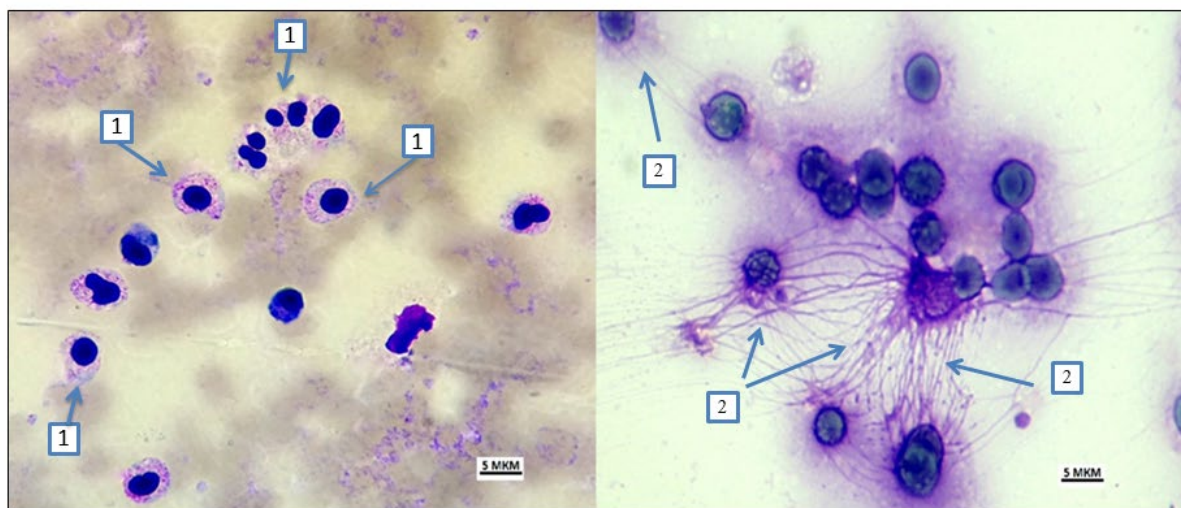
261 NETs и НГ находящихся в апоптозе, при этом интеграционный критерий НГ-
262 ПКС был в 8 раз меньше ($p < 0,05$), чем в группе сравнения и не отличался от
263 показателей пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 ($p > 0,05$), что
264 диктует необходимость дальнейшего диспансерного наблюдения таких
265 пациентов.

266 **Заключение.** Таким образом, полученные в настоящем исследовании
267 данные свидетельствуют о том, что разработанный интеграционный
268 диагностический критерий позволяет оценить как тяжесть течения COVID-
269 19, так и риск возникновения постковидного синдрома. Следует подчеркнуть,
270 что выявленные при COVID-19 характерные изменения НГ можно легко
271 идентифицировать в ПК и последовательно отслеживать по расчетному
272 интегральному диагностическому критерию. Значительное снижение ИДК
273 свидетельствует о сохраняющейся гиперактивации НГ и необходимости
274 проведения таргетной иммунотерапии, направленной на модулирование
275 дисфункций НГ.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Нейтрофильные гранулоциты в апоптозе (1) и NETos (2) (указаны стрелками) 1000х, окраска по Романовскому-Гимзе.

Figure 1. Neutrophilic granulocytes in apoptosis (1) and NETos (2) (indicated by arrows) 1000x, Romanowsky-Giemsa stain.



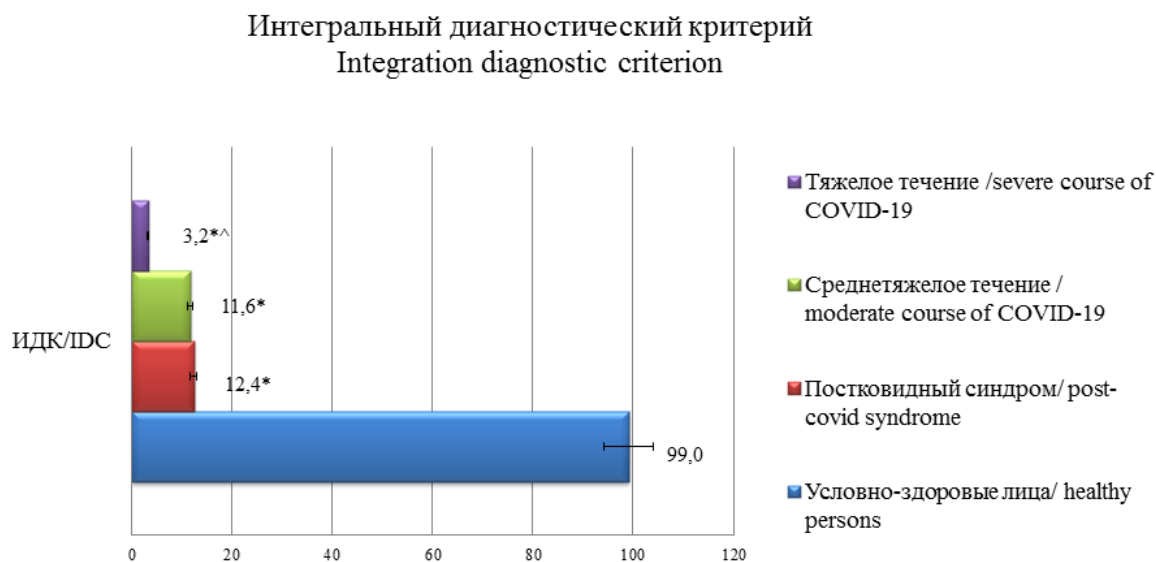
CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

Рисунок 2. Интеграционный диагностический критерий у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 и пациентов с постковидным синдромом.

Figure 2. Integration diagnostic criterion in patients with moderate to severe COVID-19 and patients with post-COVID syndrome.

Примечание: *- различия показателей пациентов с COVID-19 и постковидным синдромом по сравнению с показателями условно-здоровых лиц; ^- различия показателей в группах пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19, статистически обоснованы с ошибкой 1 рода $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Note: * - differences in the indicators of patients with COVID-19 and post-covid syndrome compared with those of healthy individuals; ^- differences in indicators in groups of patients with moderate and severe COVID-19, statistically substantiated by type 1 error $p < 0,05$ (Mann-Whitney test).



CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Морфологические показатели крови пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 и пациентов с постковидным синдромом

Table 1. Blood morphological parameters of patients with moderate and severe COVID-19 and patients with post-COVID syndrome

Показатель index Me(Q1;Q3)	Группа со среднетяжелым течением заболевания Group with moderate course diseases (n=15)	Группа с тяжелым течением заболевания Severe group diseases (n=16)	Группа с постковидным синдромом Group with post-covid syndrome (n=52)	Группа сравнения условно- здоровые добровольцы Group comparisons healthy volunteers (n=100)
WBCx 10 ⁹ /л	5,8 (4,6; 6,0)	11,95* [^] (10,2; 16,1)	6,75 (5,75; 6,75)	6,25 (4,75; 6,75)
ЛФ,% LY, %	27,0* (17,0; 30,5)	11,0* (8,0; 17,0)	18,0* (15,0; 21,0)	34,0 (31,0; 36,0)
НГ,% NG,%	69,5* (67,5; 78,0)	77,5* (75,8; 86,5)	78,0* (76,0; 81,0)	60,0 (56,0; 63,0)

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

СЯЛ,% Segmented NG,%	61,5 (51,5; 71,5)	57,0 (47,0; 73,8)	75,0* (73,0; 78,7)	55,5 (54,25;59,75)
ПЯЛ,% Banded NG,%	7,0* (6,0; 8,5)	15,0*^ (10,0; 24,0)	2,0 (1,0; 2,5)	3,0 (1,0; 4,5)
NET,%	3,5* (2,5;4,0)	13,0*^ (9,0;16,0)	5,5* (5,0; 6,0)	0
НГ в апоптозе, % NG in apoptosis, %	3,0* (3,0; 3,5)	12,0*^ (10,0; 16,5)	2,0 (1,25; 2,75)	1,0 (1,0; 2,0)
ИДК IDC	11,6* (8,8; 13,6)	3,2*^ (2,5; 9,5)	12,4 * (10,5; 15,0)	99,0 (99,0; 99,0)

*Примечание: * - различия показателей пациентов с COVID-19 и постковидным синдромом по сравнению с показателями условно-здоровых лиц; ^ - различия показателей в группах пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19, статистически обоснованы с ошибкой 1 рода $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).*

*Note: * - differences in the indicators of patients with COVID-19 and post-covid syndrome compared with those of healthy individuals; ^ - differences in indicators in groups of patients with moderate and severe COVID-19, statistically substantiated by type 1 error $p < 0,05$ (Mann-Whitney test).*

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

Таблица 2. Выраженность клинических проявлений постковидного синдрома в раннем постковидном периоде (30-60 дней) у пациентов, перенесших COVID-19 тяжелой степени (в баллах)

Table 2. Severity of clinical manifestations of post-COVID syndrome in the early post-COVID period (30-60 days) in patients with severe COVID-19 (in points)

Симптомы Symptoms	Группа сравнения Comparison group	Группа исследования 3 Study Group 3
Синдром хронической усталости, непереносимость физической нагрузки, снижение работоспособности, повышенная утомляемость Chronic fatigue syndrome, exercise intolerance, decreased performance, increased fatigue	0,5 (0,1; 1,0)	3,0 (3,0; 3,0)
Головная боль, головокружение, мигрень Headache, dizziness, migraine	0,5 (0,1; 1,0)	2,5 (2,0; 3,75)
Боли в суставах, миалгии Joint pain, myalgia	0	2,0 (1,25; 2,0)

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

Снижение процессов запоминания, трудности с концентрацией внимания, ощущение тумана в голове Decreased memory processes, difficulty concentrating, feeling of fog in the head	0	3,0 (3,0; 3,75)
Панические атаки, расстройства настроения, эмоциональная лабильность, психогенная депрессия Panic attacks, mood disorders, emotional lability, psychogenic depression	0	2,0 (2,0; 2,75)
Нарушения засыпания и сна Sleep and sleep disturbances	0	2,0 (1,25; 2,0)
Повышенная потливость, субфебрилитет Increased sweating, subfebrile condition	0	1,5 (1,0; 2,0)
Кашель и одышка Cough and shortness of breath	0	1,5 (1,0; 2,0)
Общее количество баллов Total points	1,0 (0,5; 2, 0)	13,0 (10,75; 17,25)

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

МЕТАДААННЫЕ

Нестерова Ирина Вадимовна^{1,2}, доктор медицинских наук, профессор, ¹главный научный сотрудник отдела клиническо-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории Кубанского государственного медицинского университета; ² профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии факультета непрерывного медицинского образования Медицинского института РУДН. E-mail: inesterova1@yandex.ru ORCID: 0000-0002-5339-4504

¹ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, 350063, г. Краснодар, Россия

²ФГАБОУ ВО Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки России, 117198, г. Москва, Россия;

Адрес для переписки:

Нестерова Ирина Вадимовна

117513, г.Москва, Ленинский проспект, 123- 1

Телефон: 8-916-187-73-41,

E-mail: inesterova1@yandex.ru

Nesterova Irina Vadimovna^{a, b}, Doctor of Medical Sciences, Professor,

^aChief Researcher, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Scientific Research Laboratory

^bProfessor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Adaptology, Faculty of Continuing Medical Education, RUDN Medical Institute

^aFSBEI HE «Kuban State Medical University» of Ministry of Health Development of Russia, Central Research Laboratory. 350063, Krasnodar, Russia

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

^bFSABEI HE University «RUDN» of Ministry of Education and Science of Russia,
117198, Moscow, Russia;

Contacts:

Nesterova Irina Vadimovna

117513, Moscow, Leninsky prospect, 123- 1

Phone: 8-916-187-73-41,

E-mail: inesterova1@yandex.ru

Атажахова М.Г.¹, аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов

Матушкина В.А.¹, аспирант кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов

Тетерин Ю.В.¹, аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов

Городин В.Н.¹, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов

Чудилова Г.А.¹, доктор биологических наук, доцент, заведующая отделом клиническо-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии ЦНИЛ, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

лабораторной диагностики факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов

Atazhakhova M. G.^a, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FAT and PRS

Matushkina V.A.^a, Postgraduate Student, Department of Infectious Diseases and Epidemiology of FAT and PRS

Teterin Yu.V.^a, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FAT and PRS

Gorodin^a V.N., Doctor of Medical Sciences (MD), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology of FAT and PRS

Chudilova G.A.^a, Doctor of Biological Sciences (DB), associate professor, head of the department of clinical and experimental immunology and molecular biology of the Central Scientific Research Laboratory, Professor, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FAT and PRS

**ИНТЕГРАЦИОННЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ,
ОЦЕНИВАЮЩИЙ ТЯЖЕСТЬ ТЕЧЕНИЯ COVID-19 И РИСК
ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА**

Количество страниц текста: 8

Количество рисунков: 2

Количество таблиц: 2

Раздел журнала: «Оригинальная статья». Дата отправления: 14.10.2022

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ

УДК:616-003.215:578.834.1:616-091.818

**ИНТЕГРАЦИОННЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ,
ОЦЕНИВАЮЩИЙ ТЯЖЕСТЬ ТЕЧЕНИЯ COVID-19 И РИСК
ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА**

***Нестерова Ирина Вадимовна**, доктор медицинских наук, профессор,
¹главный научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной
иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-
исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г.
Краснодар, Россия,

²профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии
факультета непрерывного медицинского образования Медицинского
института, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г.
Москва, Россия

Атажахова Маргарита Галимовна¹, аспирант кафедры клинической
иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС,
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия

Матушкина Валерия Александровна¹, аспирант кафедры инфекционных
болезней и эпидемиологии ФПК и ППС, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава
России, г. Краснодар, Россия

Тетерин Юрий Валерьевич¹, аспирант кафедры клинической иммунологии,
аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС, ФГБОУ ВО КубГМУ
Минздрава России, г. Краснодар, Россия

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

Городин Владимир Николаевич¹, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФПК и ППС, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия

Чудилова Галина Анатольевна, доктор биологических наук, доцент, заведующая отделом клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия

Краткое название: Критерий тяжести течения COVID-19

Ключевые слова: COVID-19, постковидный синдром, интегральный диагностический критерий, нейтрофильные гранулоциты, NET, апоптоз,

Адрес для переписки:

Нестерова Ирина Вадимовна

117513, г. Москва, Ленинский проспект, 123- 1

Телефон: 8-916-187-73-41, E-mail: inesterova1@yandex.ru

INTEGRATION DIAGNOSTIC CRITERION FOR EVALUATION OF THE SEVERITY OF COVID-19 AND THE RISK OF POST-COVID SYNDROME

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

***Nesterova Irina Vadimovna**, MD, PhD, Professor,

^aChief Researcher of Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Scientific Research Laboratory, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation,

^bProfessor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Adaptology, Faculty of Continuing Medical Education, RUDN Medical Institute, Moscow, Russian Federation

Atzhakhova Margarita Galimovna, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FAT and PRS, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

Matushkina Valeriya.Aleksandrovna^a, Postgraduate Student, Department of Infectious Diseases and Epidemiology of FAT and PRS, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

Teterin Yuri Valerievich.^a, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FAT and PRS, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

Gorodin^a Vladimir Nikolaevich., Doctor of Medical Sciences (MD), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology of FAT and PRS, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

Chudilova Galina Anatolievna^a, Doctor of Biological Sciences(DB), associate professor, head of the department of clinical and experimental immunology and molecular biology of the Central Scientific Research Laboratory, professor,

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FAT and PRS, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

^a Federal State Budgetary Institution of Higher Professional Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnodar, Russian Federation

^b Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Short title of the article: Criteria for the severity of the course of COVID-19

Key words: COVID-19, post-COVID syndrome, integral diagnostic criterion, neutrophil granulocytes, NET, apoptosis.

Contacts:

Nesterova Irina Vadimovna

117513, Moscow, Leninsky prospect, 123- 1

Phone: 8-916-187-73-41,

E-mail: inesterova1@yandex.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

№ п/п	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Al-Kuraishy H.M., Al-Gareeb A.I., Abdullah S.M., Cruz-Martins N., Batiha G.E. Case Report: Hyperbilirubinemia in Gilbert Syndrome Attenuates Covid-19-Induced Metabolic Disturbances. <i>Frontiers in Cardiovascular Medicine</i> , 2021, Vol.8, pp.642181.		DOI: 10.3389/fcvm.2021.642181
2	Al-Kuraishy H.M., Al-Gareeb A.I., Qusti S., Alshammari E.M., Atanu F.O., Batiha G.E. Arginine vasopressin and pathophysiology of COVID-19: An innovative perspective. <i>Biomed Pharmacotherapy</i> , 2021, Vol.143, pp.112193.		DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112193
3	Al-Kuraishy H.M., Al-Gareeb A.I., Qusty N., Cruz-Martins N., El-Saber Batiha G. Sequential doxycycline and colchicine combination therapy in Covid-19: The salutary effects. <i>Pulmonary Pharmacology Therapeutics</i> . 2021, Vol.67, p.102008.		DOI: 10.1016/j.pupt.2021.102008.
4	Apel F., Andreeva L., Knackstedt L., Streeck R., Frese C., Goosmann C., Zychlinsky A. The Cytosolic DNA Sensor cGAS Recognizes Neutrophil Extracellular Traps. <i>Science Signaling</i> , 2021, Vol.14, pp.7942.		DOI: 10.1126/scisignal.aax7942
5	Barnes B.J., Adrover J.M., Baxter-Stoltzfus A., Borczuk A., Cools-Lartigue J., Crawford J.M., Daßler-Plenker J., Guerci P., Huynh C., Knight J.S., Loda M., Looney M.R., McAllister F., Rayes R., Renaud S., Rousseau S., Salvatore		DOI: 10.1084/jem.20200652

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

	S., Schwartz R.E., Spicer J.D., Yost C.C., Weber A., Zuo Y., Egeblad M. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. <i>Journal of Experimental Medicine</i> , 2020, Vol.217, no.6, pp.20200652.		
6	Berthelot J., Drouet L., Lioté F., Kawasaki-Like Diseases and Thrombotic Coagulopathy in COVID-19: Delayed Over-Activation of the STING Pathway? <i>Emerging Microbes and Infections</i> , 2020, no.9, pp.1514–22.		DOI: 10.1080/22221751.2020.1785336
7	Bonow R.O., Fonarow G.C., O'Gara P.T., Yancy C.W. Association of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) With Myocardial Injury and Mortality. <i>JAMA Cardiology</i> , 2020, Vol.5, no.7, pp.751-753.		DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1105
8	Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. <i>Science</i> , 2004, Vol.303, pp.1532–1535.		DOI: 10.1126/science.1092385
9	Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. <i>Lancet</i> , 2020, Vol.395, no.10223, pp.507-513.		DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
10	Darcy C., Minigo G., Piera K., Davis J., McNeil Y., Chen Y., Volkheimer A.D., Weinberg J.B., Anstey N. M., Woodberry T. Neutrophils With Myeloid Derived Suppressor Function Deplete Arginine and Constrain T		DOI: 10.1186/cc14003

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

	Cell Function in Septic Shock Patients. Crit Care. 2014, Vol.18, pp.163.		
11	Dennison D., Al Khabori M., Al Mamari S., Aurelio A., Al Hinai H., Al Maamari K., Alshekaili J., Al Khadouri G. Circulating activated neutrophils in COVID-19: An independent predictor for mechanical ventilation and death. International Journal of Infectious Diseases, 2021, Vol.106, pp.155-159.		DOI: 10.1016/j.ijid.2021.03.066.
12	Fois A.G., Paliogiannis P., Scano V., Cau S., Babudieri S., Perra R., Ruzzittu G., Zinellu E., Pirina P., Carru C., Arru L. B., Fancellu A., Mondoni M., Mangoni A. A., Zinellu A. The Systemic Inflammation Index on Admission Predicts In-Hospital Mortality in COVID-19 Patients. Molecule, 2020, Vol.25, pp.5725.		DOI: 10.3390/molecules25235725.
13	Hiroki C., Toller-Kawahisa J., Fumagalli M., Colon D., Figueiredo L., Fonseca B., Franca R. F.O., Cunha F.Q. Neutrophil Extracellular Traps Effectively Control Acute Chikungunya Virus Infection. Frontiers in Immunology, 2020, Vol.10, pp.3108.		DOI: 10.3389/fimmu.2019.03108
14	Jimeno S., Ventura P.S., Castellano J.M., García-Adasme S.I., Miranda M., Touza P., Lllana I. L, López-Escobar A. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. European Journal of Clinical Investigation, 2021, Vol.51, no.1, pp.13404.		DOI: 10.1111/eci.13404

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

15	Jorch S.K., Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. <i>Nature Medicine</i> , 2017, Vol. 23, pp.279–287.	DOI: 10.1038/nm.4294
16	Kantri A., Ziati J., Khalis M., Haouadar A., Aidaoui K.E., Daoudi Y., Chikhaoui I., Yamani K.E., Mouhaoui M., Bakkouri J.E., Dini N., Mahi M., Naitlho A., Bahlaoui A., Bennana A., Noussair M., Belyamani L., Kettani Ch.El. Hematological and Biochemical Abnormalities Associated with Severe Forms of COVID-19: A Retrospective Single-Center Study from Morocco. <i>PLoS ONE</i> , 2021, Vol.16, pp.0246295.	DOI: 10.1371/journal.pone.0246295.,
17	Lefrançais E., Mallavia B., Zhuo H., Calfee C.S., Looney M.R. Maladaptive role of neutrophil extracellular traps in pathogen-induced lung injury. <i>JCI Insight.</i> , 2018, Vol.3, no.3, pp.98178.	DOI: 10.1172/jci.insight.98178.
18	Masso-Silva J., Moshensky A., Lam M., Odish M., Patel A., Xu L., Hansen E., Trescott S., Nguyen C., Kim R., Perofsky K., Perera S., Ma L., Pham J., Rolfsen M., Olay J., Shin J., Dan J. M., Abbott R. K., Ramirez S., Alexander T.H., Lin G. Y., Fuentes A. L., Advani I., Gunge D., Pretorius V., Malhotra A., Sun X., Duran J., Hepokoski M., Crotty Sh, Coufal N. G., Meier A., Crotty A. L. E. Increased Peripheral Blood Neutrophil Activation Phenotypes and Neutrophil Extracellular Trap Formation in Critically Ill Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Patients: A Case Series and Review of the Literature. <i>Clinical Infectious Diseases</i> , 2022, Vol.74, pp.479–89.	DOI: 10.1093/cid/ciab437

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

19	McKenna E., Wubben R., Isaza-Correa J.M., Melo A.M., Mhaonaigh A.U., Conlon N., O'Donnell J.S., Ní Cheallaigh C., Hurley T., Stevenson N.J., Little M.A., Molloy E.J. Neutrophils in COVID-19: Not Innocent Bystanders. <i>Frontiers in Immunology</i> , 2022, Vol.13, pp.864387.	DOI: 10.3389/fimmu.2022.864387
20	Merino A., Vlagea A., Molina A., Egri N., Laguna J., Barrera K., Boldú L., Acevedo A., Díaz-Pavón M., Sibina F., Bascón F., Sibila O., Juan M., Rodellar J. Atypical lymphoid cells circulating in blood in COVID-19 infection: morphology, immunophenotype and prognosis value. <i>Journal of Clinical Pathology</i> , 2022, Vol.75, pp.104-111.	DOI: 10.1136/jclinpath-2020-207087
21	Middleton E.A., He X.Y., Denorme F., Campbell R.A., Ng D., Salvatore S.P., Mostyka M., Baxter-Stoltzfus A., Borczuk A.C., Loda M., Cody M.J., Manne B.K., Portier I., Harris E.S., Petrey A.C., Beswick E.J., Caulin A.F., Iovino A., Abegglen L.M., Weyrich A.S., Rondina M.T., Egeblad M., Schiffman J.D., Yost C.C. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. <i>Blood</i> , 2020, Vol.136, no.10, pp.1169-1179.	DOI: 10.1182/blood.2020007008.
22	Naumenko V., Turk M., Jenne C., Kim S. Neutrophils in Viral Infection. <i>Cell Tissue Res</i> , 2018, Vol. 371, pp.505–516.	DOI: 10.1007/s00441-017-2763-0
23	Nesterova, I.V. ,Khalturina E.O., Malinovskaya V.V., Nguen Duen L. Recombinant IFN α 2b in complex with immunotropic drugs restored antiviral functions of subset	DOI: 10.26352/F624R900

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

	IFN α / β R1 ⁺ IFN γ R ⁺ TLR ₄ ⁺ neutrophilic granulocyte and demonstrated good clinical efficacy in patients with active chronic herpes-viral infections and chronic fatigue syndrome. Ebook Edition, Filodiritto Publisher, 2021, pp. 70-78.		6_ALLERGY-ASTHMA2021
24	Nicolai L., Leunig A., Brambs S., Kaiser R., Joppich M., Hoffknecht M.L., Gold C., Engel A., Polewka V., Muenchhoff M., Hellmuth J.C., Ruhle A., Ledderose S., Weinberger T., Schulz H., Scherer C., Rudelius M., Zoller M., Keppler O.T., Zwißler B., von Bergwelt-Baildon M., Kääb S., Zimmer R., Bülow R.D., von Stillfried S., Boor P., Massberg S., Pekayvaz K., Stark K. Vascular neutrophilic inflammation and immunothrombosis distinguish severe COVID-19 from influenza pneumonia. <i>Thrombosis and Haemostasis</i> , 2021, Vol.19, no.2, pp.574-581.		DOI: 10.1111/jth.15179.
25	Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. <i>Nature Reviews Immunology</i> , 2018, Vol.18, no.2, pp.134-147.		DOI: 10.1038/nri.2017.105.
26	Qu R., Ling Y., Zhang Y.H., Wei L.Y., Chen X., Li X.M., Liu X.Y., Liu H.M., Guo Z., Ren H., Wang Q. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with coronavirus disease-19. <i>Journal of Medical Virology</i> , 2020, Vol.92, no.9, pp.1533-1541.		DOI: 10.1002/jmv.25767.
27	Singh A., Sood N., Narang V., Narang V., Goyal A. Morphology of COVID-19-affected cells in peripheral		http://dx.doi.org/10.1136/bcr-2020-236117

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

	blood film. BMJ Case Reports CP 2020, Vol.13, pp.236117.		
28	Teluguakula N. Neutrophils Set Extracellular Traps to Injure Lungs in Coronavirus Disease 2019. The Journal of Infectious Diseases, 2021, Vol.223, no.9, pp.1503-1505.		DOI: 10.1093/infdis/jiab053
29	Thiam H., Wong S., Wagner D., Waterman C. Cellular Mechanisms of NETosis. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2020, Vol. 36, pp.191–218.		DOI: 10.1146/annurev-cellbio-020520-111016
30	Veras F.P., Pontelli M.C., Silva C.M., Toller-Kawahisa J.E., de Lima M., Nascimento D.C., Schneider A.H., Caetité D., Tavares L.A., Paiva I.M., Rosales R., Colón D., Martins R., Castro I.A., Almeida G.M., Lopes M.I.F., Benatti M.N., Bonjorno L.P., Giannini M.C., Luppino-Assad R., Almeida S.L., Vilar F., Santana R., Bollela V.R., Auxiliadora-Martins M., Borges M., Miranda C.H., Pazin-Filho A., da Silva L.L.P., Cunha L.D., Zamboni D.S., Dal-Pizzol F., Leiria L.O., Siyuan L., Batah S., Fabro A., Mauad T., Dolhnikoff M., Duarte-Neto A., Saldiva P., Cunha T.M., Alves-Filho J.C., Arruda E., Louzada-Junior P., Oliveira R.D., Cunha F.Q. SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. Journal of Experimental Medicine, 2020, Vol.217, no.12, pp.20201129.		DOI: 10.1084/jem.20201129.
31	Wang X., Li X., Shang Y., Wang J., Zhang X., Su D., Zhao S., Wang Q., Liu L., Li Y., Chen H. Ratios of neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte predict all-cause		DOI: 10.1017/S0950268820002071

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

	mortality in inpatients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): a retrospective cohort study in a single medical centre. <i>Epidemiol Infection</i> , 2020, Vol.148, pp.211.		
32	Wang Y., Luo L., Braun O.Ö., Westman J., Madhi R., Herwald H., Mörgelin M., Thorlacius H. Neutrophil extracellular trap-microparticle complexes enhance thrombin generation via the intrinsic pathway of coagulation in mice. <i>Scientific Reports</i> , 2018 ,Vol.8, no.1, pp.4020.		DOI: 10.1038/s41598-018-22156-5.
33	Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J., Zhou X., Xu Sh., Huang H., Zhang Li, Zhou X., Du Ch, Zhang Y., Song J., Wang S., Chao Y., Yang Z., Xu J., Zhou X., Chen D., Xiong W., Xu L., Zhou F., Jiang J., Bai Ch., Zheng J., Song Y. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. <i>JAMA Intern Med.</i> , 2020, Vol.180, no.7, pp.934–943.		DOI:10.1001/jamainternmed.2020.0994
34	Yang A.-P., Liu J., Tao W., Li H. The Diagnostic and Predictive Role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 Patients. <i>Int. Immunopharmacol.</i> , 2020, Vol.84, pp.106504.		DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106504.
35	Yip C.Y.C., Yap E.S., De Mel S., Teo Z. Y., Lee Ch.-T., Kan S., Lee M. C. C., Loh W. N. H., Lim E.L., Lee Sh. Y. Temporal changes in immune blood cell parameters in COVID-19 infection and recovery from severe infection.		DOI: 10.1111/bjh.16847.

CRITERIA FOR THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19

	British Journal of Haematology, 2020, Vol.190, no.1, pp.33-36.		
36	Zhang D., Guo R., Lei L., Liu H., Wang Y., Wang Y., Qian H., Dai T., Zhang T., Lai Y., Wang J., Liu Z., Chen T., He A., O'Dwyer M., Hu J. COVID-19 infection induces readily detectable morphological and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes, the severity of which correlate with patient outcome. MedRxiv, 2020.03.24.20042655.		DOI: 10.1101/2020.03.24.20042655.
37	Zuo Y., Zuo M., Yalavarthi S., Gockman K., Madison J., Shi H., Madison J.A., Woodard H.Sh.W., Lezak S. P., Lugogo N.L., Knight J. S., Kanthi Y. Neutrophil Extracellular Traps and Thrombosis in COVID-19. Journal of Thrombosis and Thrombolysis, 2021, Vol. 51, pp.446–53.		DOI: 10.1007/s11239-020-02324-z