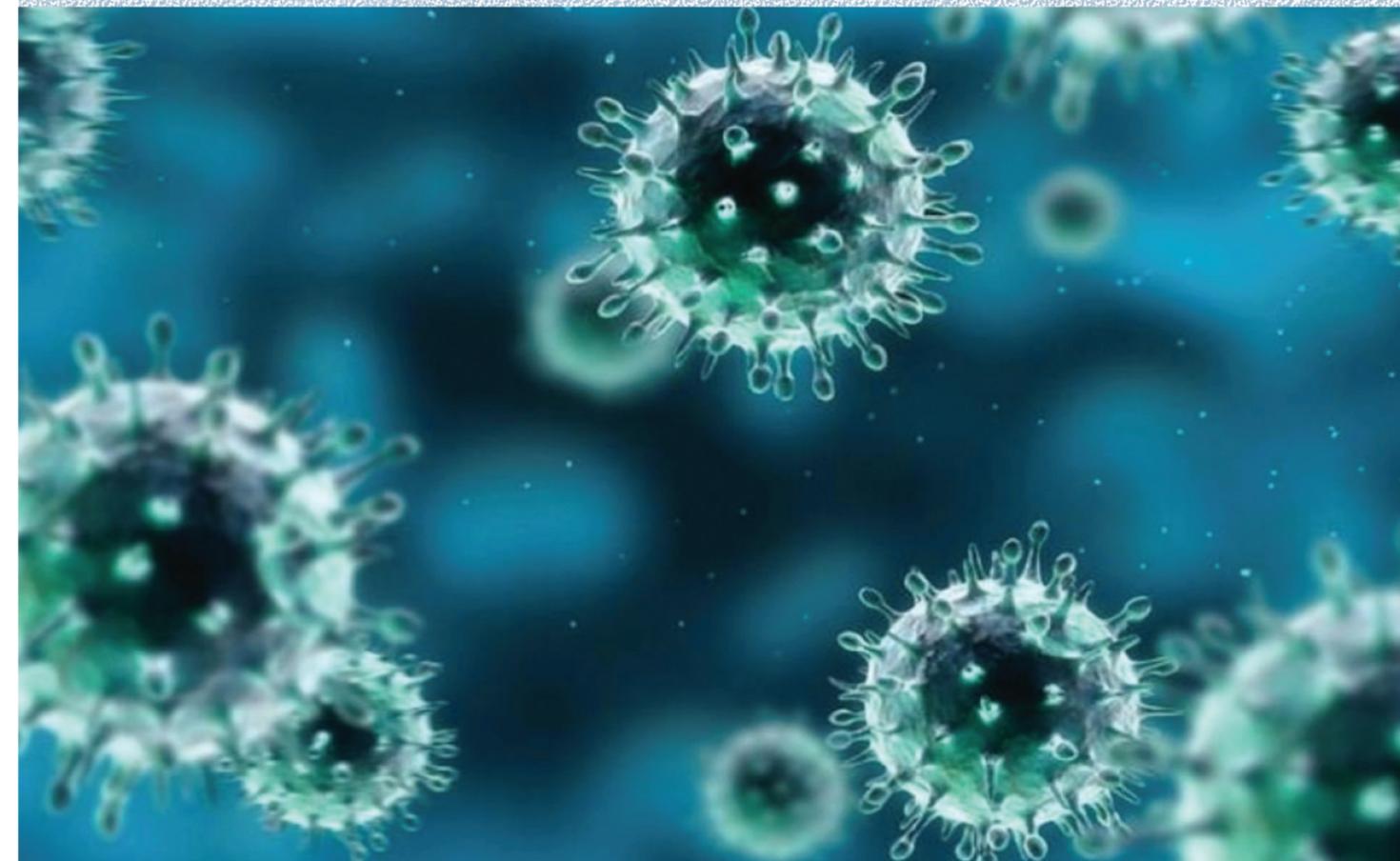


ДІАГНОСТИКА І ЛЕЧЕННЯ COVID-19



ТОВ "LABIX"
www.labix.com.ua
Київ, 2020 р.

УДК

ISBN

© Мельник А.А., 2020

СОДЕРЖАНИЕ

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ НОВОГО КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2, ВЫЗЫВАЮЩЕГО ОПАСНОЕ ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ COVID-19	
ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ COVID-19, ВЫЗВАННОЙ НОВЫМ КОРОНАВИРУСОМ SARS-CoV-2.....	
COVID-19 И СОПУТСТВУЮЩИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ	
НЕВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ В КОНТЕКСТЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ COVID-19	
МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 И МОНИТОРИНГ МАРКЕРОВ КОАГУЛЯЦИИ	
АНТИТРОМБОЦИТАРНАЯ И АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ COVID-19	

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ НОВОГО КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2, ВЫЗЫВАЮЩЕГО ОПАСНОЕ ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ COVID-19

Несмотря на огромные усилия и значительные достижения в области общественного здравоохранения, борьба с инфекционными заболеваниями остается сложной задачей. Инфекционные заболевания создают значительный риск для здоровья человека и приводят к четверти смертельных случаев во всем мире (1, 2). Коронавирусы являются представителями обширного семейства Coronaviridae из отряда Nidovirales, подсемейства Cornidovirineae и могут вызывать респираторные заболевания (3). Первый коронавирус был открыт в 1931 году (вирус инфекционного бронхита, IBV – Infectious bronchitis virus) или коронавирус птиц, а в 1965 году открыты коронавирусы человека (HCoV – Human Coronaviruses). До настоящего времени были идентифицированы шесть коронавирусов человека (HCoV), а именно HCoV-229E, HCoV-NKU1, HCoV-OC43, HCoV-NL63, а также вирусы, которые относятся к особо

опасным SARS-CoV (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома) и MERS-CoV (коронавирус ближневосточного респираторного синдрома) (4, 5).

Первый случай появления нового коронавируса SARS-CoV-2 выявлен 12 декабря 2019 года в городе Ухань (провинция Хубей, КНР). Он представляет собой одноцепочечный РНК-содержащий вирус и относится к семейству Coronaviridae, линии Beta-CoV B. Как и другие представители этого семейства – SARS-CoV и MERS-CoV относится к II-й группе патогенности. Генетическая последовательность SARS-CoV-2 сходна с последовательностью SARS-CoV по меньшей мере на 70%. По состоянию на конец марта 2020 г. SARS-CoV-2, вызывающий опасное инфекционное заболевание COVID-19, проник уже в 168 стран и территорий мира, им заразилось около 300 тысяч человек, более 13 тысяч скончались.

МОРФОЛОГИЯ ВИРИОНОВ КОРОНАВИРУСОВ

Оболочечные вирусные частицы имеют округлую плеоморфную форму. Булавовидные поверхностные пепломеры, формирующие «зубцы короны» длиной из тримеров гликопротеина S. Белок М является трансмембранным. Пентамеры белка Е формируют ионные каналы и представляют собой важный фактор вирулентности коронавирусов. Нуклеокапсид спиральной симметрии формируется фосфорилированным белком N в комплексе с геномной вирионной РНК (6) (рис. 1).

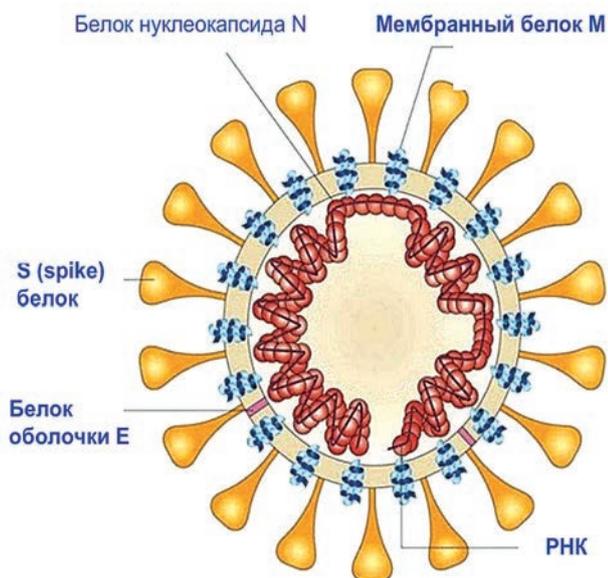
Жизненный цикл коронавирусов представлен на рисунке 2.

С помощью сканирующего трансмиссионного электронного микроскопа представлено изображение вируса SARS-CoV-2, выделенного у пациента из США (рис. 3).

Патогенез новой коронавирусной инфекции COVID-19.

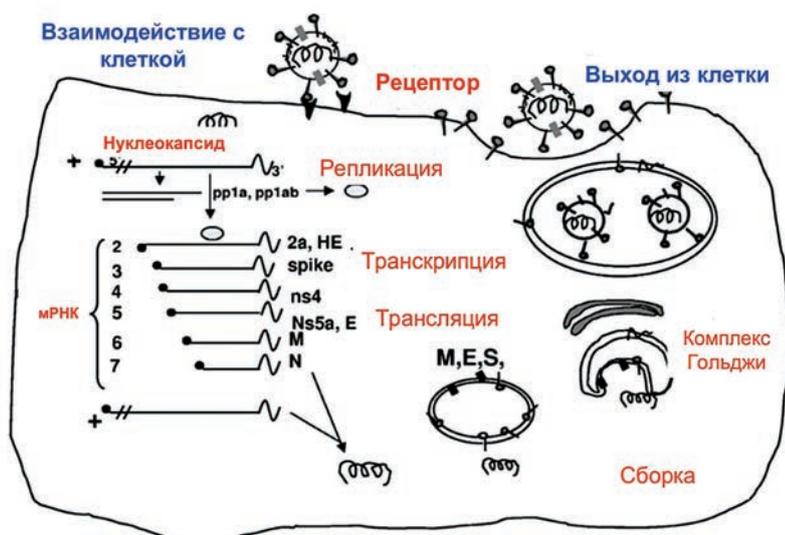
Размножение вируса происходит в эпителии верхних и нижних дыхательных путей с диффузным повреждением альвеоцитов и развитием пневмонии. При этом вирус вызывает повышение проницаемости клеточных мембран и усиленный транспорт жидкости, богатой альбумином в интерстициальную ткань легкого и просвет альвеол с развитием интерстициального и альвеолярного отека. Разрушается сурфактант, что ведет к коллапсу альвеол. В результате резкого нарушения газообмена развивается острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС).

Предполагается, что SARS-CoV-2 (рис. 4) (вверху слева) передаются через промежуточного хозяина для заражения дыхательных путей человека (вверху справа). При инфекции (нижняя панель) происходит взаимодействие шипов S-белка с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента (ACE-2).



- ♦ Сферические частицы диаметром 120 нм;
- ♦ Оболочка вириона содержит булавовидные отростки (S-поверхностный гликопротеин, обеспечивает проникновение в клетку);
- ♦ Белки оболочки E (сборка и выход);
- ♦ Мембранный белок M (форма вириона);
- ♦ Нуклеокапсидный белок N;
- ♦ Геном + РНК длиной примерно 30000 нт;
- ♦ РНК содержит кэпструктуру и поли А последовательность (чтобы не распознаваться системами внутриклеточного иммунного ответа, разрушающими РНК, не имеющими таких структур)

Рис. 1. Принципиальная схема структуры коронавируса SARS



- ♦ Проникновение вируса в клетку с помощью S белка (рецептор для 2019-nCoV-ангиотензин-связывающий белок);
- ♦ Трансляция полипротеинов и процессинг репликативного комплекса;
- ♦ Репликация и транскрипция вируса;
- ♦ Синтез структурных белков;
- ♦ Сборка и отпочковывание вирусных частиц от ЭПР и комплекса Гольджи;
- ♦ Выход вируса посредством экзоцитоза

Рис. 2. Жизненный цикл коронавирусов

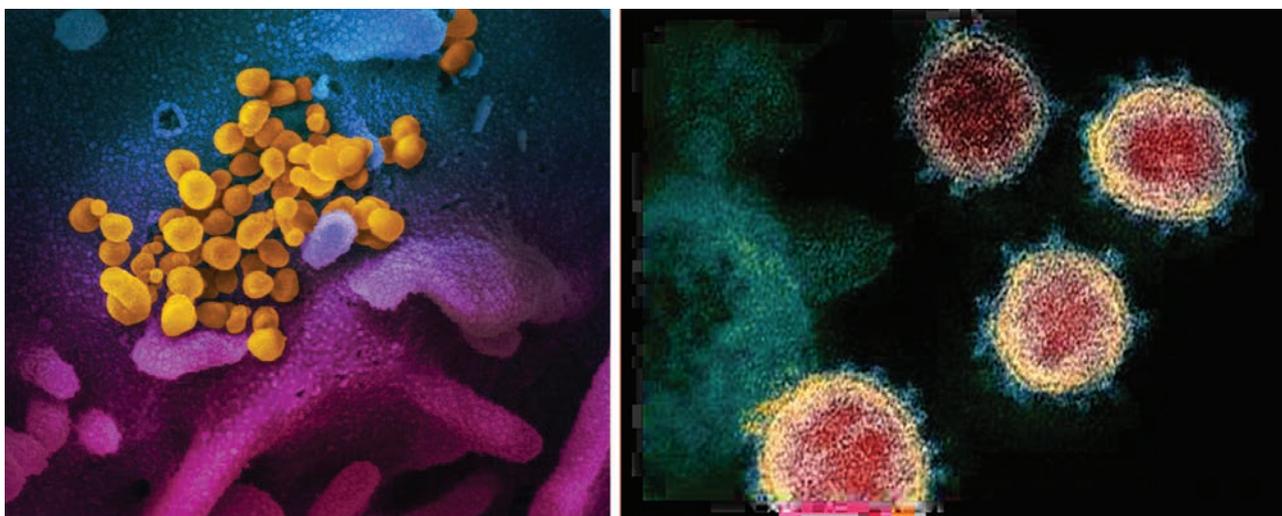


Рис. 3. Изображение вируса SARS-CoV-2, вызывающего COVID-19 на поверхности культивируемых клеток (синий/розовый)

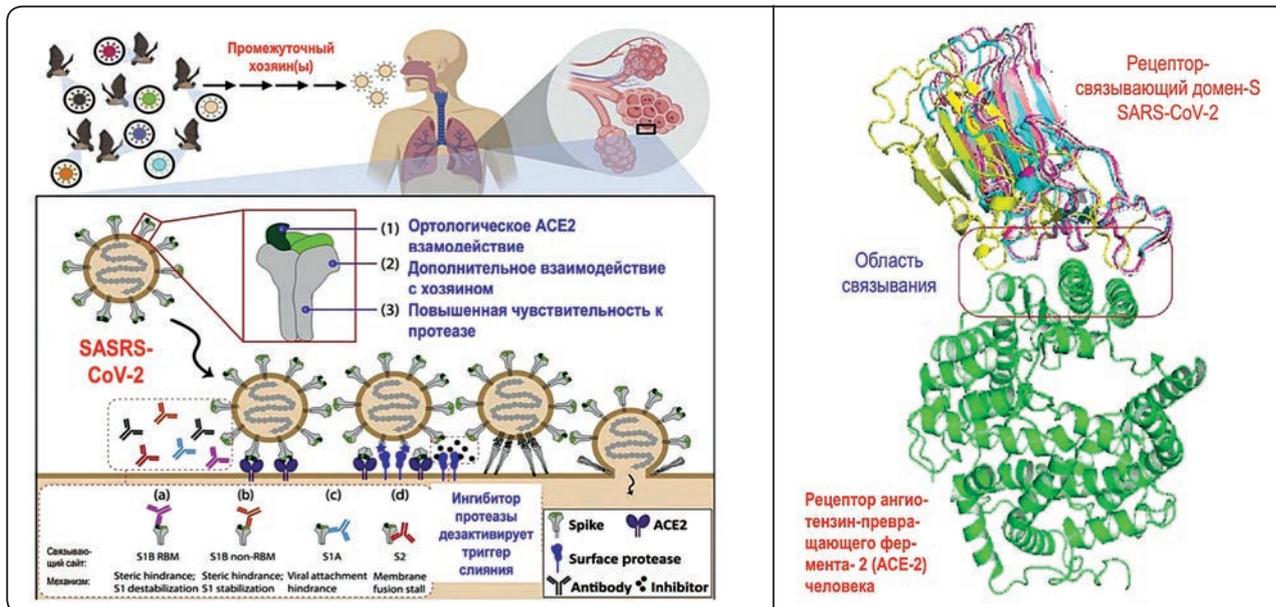


Рис. 4. Механизм проникновения SARS-CoV-2 в клетку и связывание с рецептором ACE-2

Впоследствии поверхностные протеазы расщепляют S2, опосредующую слияние субъединицы S, которая запускает серию конформационных изменений, которые приводят к слиянию между вирусной оболочкой и мембраной клетки-мишени (7).

Клинические особенности коронавирусной инфекции COVID-19 представлены в табл. 1.

В группу риска тяжелого течения заболевания входят люди старше 60 лет, пациенты с сахарным диабетом, болезнями органов дыхания, сердечно-сосудистой системы и онкологическими заболеваниями. Летальность составляет от 1 до 4 %.

В настоящее время основным источником инфекции является больной человек, в том числе находящийся в инкубационном

Табл. 1. Клинические особенности коронавирусной инфекции COVID-19

Степени тяжести течения	Клинические симптомы	Клинические варианты и проявления
<ul style="list-style-type: none"> ♦ легкая – с поражением только верхних дыхательных путей, ♦ средне-тяжелая (пневмония без дыхательной недостаточности), ♦ тяжелая (пневмония с развитием дыхательной недостаточности, ЧДД ≥ 30 в мин, сатурации $\leq 93\%$, $PaO_2/FiO_2 < 300$ или появлением инфильтратов в легких в виде матового стекла», занимающих более 50% легких в течение 24–48 ч); ♦ очень тяжелая/критическая форма (пневмония, ОРДС, сепсис, септический шок, полиорганная недостаточность). 	<ul style="list-style-type: none"> ♦ повышение температуры тела ($> 90\%$); ♦ кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты) в 80% случаев; ♦ одышка (55%); ♦ миалгии и утомляемость (44%); ♦ ощущение заложенности в грудной клетке ($> 20\%$). <p>Наиболее тяжелая одышка развивается к 6–8-му дню от момента заражения.</p> <p>Среди первых симптомов могут быть головные боли (8%), кровохарканье (5%), диарея (3%), тошнота, рвота, сердцебиение.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Острая респираторная вирусная инфекция легкого течения. 2. Пневмония без дыхательной недостаточности. 3. Пневмония с ОДН. 4. ОРДС. 5. Сепсис. 6. Септический (инфекционно-токсический) шок. <p>Гипоксемия (снижение SpO_2 менее 88%) развивается более чем у 30% пациентов.</p>

периоде заболевания. Коронавирус имеет относительно низкую вирулентность – т.е. для инфицирования необходимо достаточно продолжительное время контакта с больным человеком (более 15 минут). Больной может заразить от 0 до 11 других людей. Средний инкубационный период 5–6 дней, однако может затянуться и до 14 дней, а по некоторым данным и до 24 дней. Скрининг на коронавиральную инфекцию при помощи безконтактного измерения температуры не очень эффективен, потому что во время инкубационного периода (т.е. уже после заражения, но еще до начала появления клинических симптомов) температура у зараженного остается нормальной. По опубликованным литературным данным, у 81% заболевших клиника легкая

(они могут лечиться дома, главное – носить маску для ограничения инфицирования других, не выходить на улицу, не ходить в магазины и другие людные места). У 14% клиника тяжелая (они требуют госпитализации и возможно ингаляции кислорода для насыщения им крови), у 5% клиника критическая (они госпитализируются в реанимационные отделения). У заболевших коронавирусом людей средняя длительность от момента диагностики до прекращения выделения вируса составляет 20 дней (интерквартильный размах от 17 до 24 дней, максимальная длительность 37 дней). Поэтому перед выпиской, вне зависимости от наличия или отсутствия симптомов необходимо лабораторное тестирование – перестал ли выделяться коронавирус.

АЛГОРИТМ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТА С ПОДОЗРЕНИЕМ НА НОВУЮ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ, ВЫЗВАННУЮ COVID-2019

Диагноз устанавливается на основании наличия клинических признаков COVID-19, данных эпидемиологического анамнеза, клинического обследования и результатов лабораторных исследований.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Лабораторную диагностику COVID-19 разделяют на общую и специфическую (табл. 2).

Табл. 2. Общая и специфическая лабораторная диагностика COVID-19

Общая лабораторная диагностика	Специфическая лабораторная диагностика
Общий анализ крови (лейкопения 33,7%, лимфопения 82,1%, тромбоцитопения 36,2%)	Латеральный проточный иммуноанализ (экспресс-тесты)
Биохимический анализ крови (мочевина, креатинин, электролиты, печеночные ферменты, билирубин, глюкоза, альбумин). Биохимический анализ крови не дает какой-либо специфической информации, но обнаруживаемые отклонения могут указывать на наличие органной дисфункции. Имеют определенное прогностическое значение, оказывают влияние на выбор лекарственных средств и/или режим их дозирования	Выявление РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР (обратная транскриптаза-полимеразная цепная реакция)
Газы артериальной крови с определением PaO_2 , $PaCO_2$, pH, бикарбонатов, лактата, коагулограмма (ПВ, АЧТВ) для пациентов с признаками острой дыхательной недостаточности	Микрочиповая технология
C-реактивный белок (> 10 мг/мл) 60,7%	Петлевая изотермическая амплификация нуклеиновых кислот (LAMP)
D-димер (увеличение более 1000 нг/мл), прокальцитонин, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , TNF- γ	Микробиологическая диагностика (культуральное исследование)
Пульсоксиметрия	Новые перспективные методы

ОТБОР И ТРАНСПОРТИРОВКА ОБРАЗЦОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ COVID-19

Рекомендации Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) для сбора и хранения образцов для лабораторного тестирования на COVID-19 представлены в таблице 3 (8).

Табл. 3. Сбор и хранение образцов для тестирования COVID-19

Тип образца	Сбор материала	Температура хранения до тестирования в лаборатории	Рекомендуемая температура хранения до отправки в соответствии с ожидаемым временем отправки
Носоглоточный и ротоглоточный мазок	Тампоны с дакроном и полиэстером*	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 5 дней, – 70 °С (сухой лед) если > 5 дней
Бронхоальвеолярный лаваж	Стерильный контейнер*	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 2 дней, – 70 °С (сухой лед) если > 2 дней
Эндотрахеальный аспират, носоглоточный смыв/аспират	Стерильный контейнер*	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 2 дней – 70 °С (сухой лед) если > 2 дней
Мокрота	Стерильный контейнер	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 2 дней – 70 °С (сухой лед) если > 2 дней
Биопсия ткани, в том числе из легкого	Стерильный контейнер с физиологическим раствором	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 24 часа – 70 °С (сухой лед) если > 24 часа
Сыворотка	Пробирки для отделения сыворотки (взрослые: собрать 3–5 мл, цельная кровь)	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 5 дней – 70 °С (сухой лед) если > 5 дней
Цельная кровь	Пробирки для сбора	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 5 дней – 70 °С (сухой лед) если > 5 дней
Кал	Контейнер для кала	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 5 дней – 70 °С (сухой лед) если > 5 дней
Моча	Контейнер для сбора мочи	2–8 °С	2–8 °С если ≤ 5 дней – 70 °С (сухой лед) если > 5 дней

* Для транспортировки образцов для обнаружения вируса используйте транспортную среду (VTM), содержащую противогрибковые и антибиотические добавки. Избегайте повторного замораживания и оттаивания образцов. Если VTM не доступен, может использоваться стерильный физиологический раствор вместо VTM (в этом случае продолжительность хранения образца при 2–8 °С может отличаться от указанной выше).

Рекомендуется использование образцов материала из верхних дыхательных путей, например, носоглоточных и ротоглоточных мазков, для выявления вируса. Однако, необходимо следить за тем, чтобы носоглоточные мазки брались не просто из ноздрей, а непосредственно из носоглотки. Для взятия мазков из носоглотки и ротоглотки должны использоваться предназначенные для этой цели зонды, снабженные пробиркой с вирусологической транспортной средой. По возможности следует брать пробы как из верхних, так и из нижних дыхательных путей. Для под-

тверждения отсутствия вируса у клинически выздоровевших пациентов следует продолжать отбор образцов материала из дыхательных путей вплоть до получения двух подряд отрицательных результатов исследования. Частота взятия образцов зависит от конкретных обстоятельств. Тем не менее, их следует отбирать не реже одного раза в 2–4 дня. Если для перевода пациента из изолятора требуется несколько отрицательных результатов ПЦР-диагностики подряд, отбор образцов может выполняться ежедневно. Для выявления антител и подтверждения инфекции

требуется анализ парных образцов сыворотки, однако одинарные образцы могут также быть использованы для выявления случаев с подозрением на заражение. По возможности парные образцы сыворотки следует отбирать с промежутком от 14 до 21 дня. При этом пер-

вый образец должен быть взят в течение первой недели заболевания. При использовании только одной пробы сыворотки, ее необходимо брать по меньшей мере через 14 дней после обнаружения симптомов заболевания.

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ SARS-CoV-2

I. ЛАТЕРАЛЬНЫЙ ПРОТОЧНЫЙ ИММУНОАНАЛИЗ (ЭКСПРЕСС-ТЕСТЫ)

Для диагностики острых инфекций существует лаг-период, так как антитела против вируса обычно появляются через 7–14 дней после начала заболевания. Иммуноанализ с использованием тест-полосок может обеспечить быстрое качественное обнаружение антител для скрининга с последующим проведением подтверждающих тестов. Исследователи из Сингапура (Медицинская школа Duke-NUS) разработали тесты для определения антител к SARS-CoV-2 (9,10). Тест-полоски для быстрого определения антител IgM (руководитель Dr Zhong Nanshan, Гуанчжоуский медицинский университет) используются в Китае (11). Такие компании как Guangzhou Wondfo Biotech и Innovita Biological Technology получили одобрение EUA от Китайской национальной медицинской службы по надзору за продукцией для применения их наборов при определении антител (12–15). Компания Guangzhou Wondfo Biotech также получила знак CE для набора Wondfo SARS-CoV-2 для определения антител (метод латерального потока), который тестирует антитела IgM и IgG (16,17). Компания Pharmact AG из Германии (18), Zhejiang Orient Gene Biotech (19,20) и SD Biosensor (21) имеют коммерчески доступные тест-полоски для иммуноанализа для качественного обнаружения антител, которые могут использоваться для тестирования в месте оказания медицинской помощи. Также предпринимаются другие усилия по разработке и коммерциализации наборов для экспресс-тестирования Jiangsu Medomics Medical Technologies (22) Shenzhen Tisenc Medical Devices (23) и Nankai University

(24). Ожидается, что время проведения с использованием этих тест-полосок будет от 15 до 20 минут, что значительно меньше по сравнению с использованием ОТ-ПЦР. Компания Jiangsu Medomics Medical Technologies разработала иммуноанализ латерального потока в месте оказания медицинской помощи, который одновременно обнаруживает антитела IgM и IgG против SARS-CoV-2.

Экспресс-кассета IgG/IgM 2019-nCoV (цельная кровь/сыворотка/плазма) представляет собой иммунохроматографический анализ с боковым течением. В тесте используются антитела против IgM человека (тестовая линия IgM), IgG против человека (тестовая линия IgG) и анти-кроличьи IgG (контрольная линия C), иммобилизованные на нитроцеллюлозной мембране. Подложка для конъюгата бордового цвета содержит коллоидное золото, конъюгированное с рекомбинантными антигенами COVID-19, конъюгированным с коллоидным золотом и кроличьими конъюгатами IgG-золота. Когда образец, за которым следует буфер для анализа, добавляют в лунку образца, антитела IgM и / или IgG, если они присутствуют, будут связываться с конъюгатами COVID-19, образуя комплекс антигенных антител. Этот комплекс мигрирует через нитроцеллюлозную мембрану под действием капиллярной силы. Когда комплекс встречается с линией соответствующего иммобилизованного антитела (человеческого IgM и / или человеческого IgG), происходит его захват. При этом образуется полоска бордового цвета, что подтверждает положительный результат теста. Отсутствие цветной полосы в тестовой области свидетельствует об отрицательном результате. Тест содержит внутренний контроль (C-полоса), который должен

иметь бордовую цветную полосу иммунокомплексного козьего анти-кроличьего IgG/кроличьего IgG-конъюгата золота независимо от развития цвета на любой из тестируемых полос. В противном случае результат теста является недействительным и образец должен быть повторно протестирован на другом устройстве (рис. 5).

Непосредственно процедура проведения теста представлена на рисунке 6.

Репрезентативное фото для различных результатов анализа крови пациентов представлено на рисунке 7.

Преимущества. Этот новый набор для быстрого тестирования комбинированных антител SARS-CoV-2 IgG-IgM имеет несколько

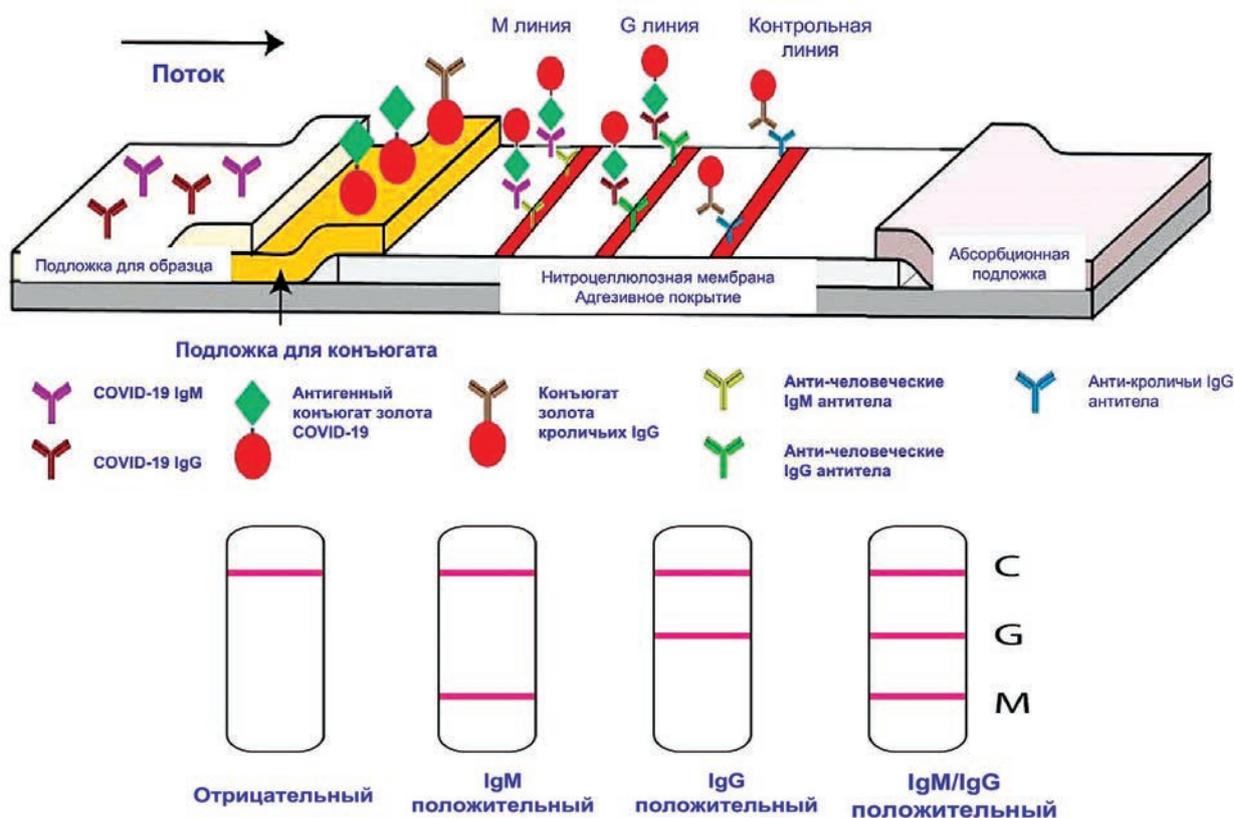


Рис. 5. Схематическая иллюстрация быстрого комбинированного теста на антитела SARS-CoV-2 IgM-IgG. Иллюстрация различных результатов тестирования

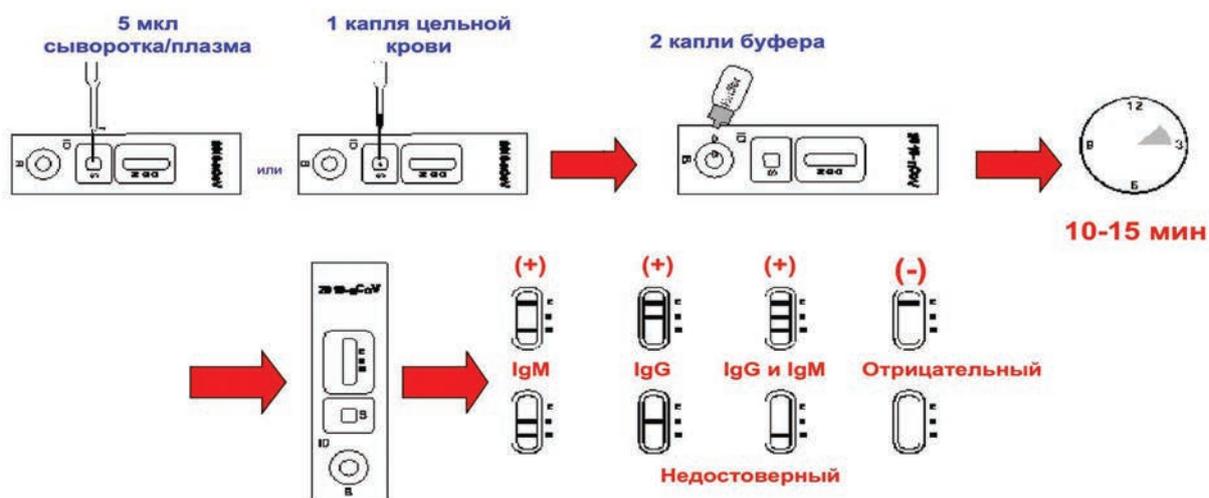


Рис. 6. Процедура проведения теста



Рис. 7. Фото различных результатов анализа крови пациента

(№ 13 – IgM и IgG положительный, № 14 – IgM слабоположительный, № 15 – IgM и IgG отрицательные, № 16 – IgG слабоположительный, № 17 – IgG положительный, № 18 – IgM положительный)

преимуществ. По сравнению с методом ОТ-ПЦР он экономит время и не требует оборудования, простой в исполнении и требует лишь минимального обучения. Этот анализ может быть выполнен у постели больного, в любой клинике или лаборатории, в аэропорту или на вокзале (25). Для внеклинического скрининга будет удобнее использовать кровь из пальца или пятки вместо крови из вены. Другим потенциальным применением этого теста является скрининг бессимптомных носителей SARS-CoV-2, которые могут распространять данный вирус (26, 27). Этот набор для тестирования комбинированных антител IgM/IgG дает возможность проводить крупномасштабный скрининг бессимптомных носителей. По крайней мере, некоторые, если не все носители, вероятно, имеют антитела против SARS-CoV-2, что продемонстрировано бессимптомными носителями вируса Зика (28). Поскольку этот тест может одновременно определять IgM и IgG, его можно использовать как для ранней диагностики (IgM), так и для мониторинга во время лечения. Инфекция SARS-CoV-2 начинается в легких, а не в верхних дыхательных путях (29), поэтому отбор проб на ранней стадии инфекции с использованием мазка из горла или мокроты может не обнаружить вирус. Это одно из возможных объяснений высоких ложноотрицательных результатов в тесте ОТ-ПЦР.

Ограничения. Причины ложноотрицательных результатов могут быть связаны,

во-первых, с низкими концентрациями антител. Когда уровни IgM и IgG ниже предела обнаружения (пока не определено) результаты теста будут отрицательными. Во-вторых, разница в выработке антител индивидуального иммунного ответа может быть одной из причин ложноотрицательных результатов у пациентов с COVID-19. И последнее, но не менее важное: антитела IgM снижаются и исчезают через 2 недели. В некоторых случаях трудно точно знать, когда пациент был инфицирован или как долго он был инфицирован. Таким образом, когда пациент проходил тестирование, уровень IgM мог быть значительно ниже его пика и не обнаруживаться этим тестом.

II. ОТ-ПЦР (ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПТАЗА – ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ)

Для обнаружения вирусного генетического материала Китайские органы здравоохранения опубликовали полный геном SARS-CoV-2 в GenBank и на портале GISAID (30) (рис. 8).

ВОЗ на своей веб-странице опубликовала пять протоколов диагностики с применением полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой. К ним относятся протоколы Института вирусологии Charité в Германии и Гонконгского университета (HKU), а также протоколы из Таиланда, Японии и Китая. Шестой протокол Центров США по контролю и

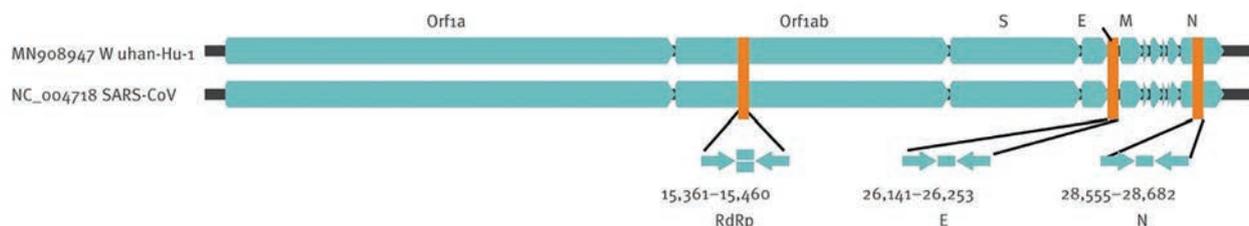


Рис. 8. Относительные положения ампликон-мишеней на коронавирусе SARS и новом геноме коронавируса 2019

профилактике заболеваний (CDC) был добавлен на веб-страницу ВОЗ 29 января 2020 года (31). С тех пор веб-страница ВОЗ была обновлена с использованием другого URL-адреса и дополнена руководящими документами (32). Седьмой протокол их Института Пастера в Париже (Франция) был добавлен в марте 2020 года (33). Следует отметить, что протоколы диагностики с использованием ОТ-ПЦР, опубликованные на веб-странице ВОЗ, являются именно Руководствами, а не исчерпывающими документами. Различные учреждения и Правительства разработали свои собственные протоколы, которые ВОЗ может не публиковать на своих старницах.

Первый валидированный диагностический тест был разработан группой профессора Christian Drosten's из Института вирусологии Charité в Берлине (34). Первоначальный дизайн анализа ОТ-ПЦР основан на совпадении вирусов SARS-CoV или SARS с вирусом из Уханя. Для диагностики использовали RdRP и E гена, где E выступал в качестве инструмента первой линии, а анализ гена RdRP – в качестве подтверждающего. Все анализы были высокочувствительными и специфич-

ными, не реагировали перекрестно с другими коронавирусами, а также с клиническими образцами человека, которые содержали респираторные вирусы.

US CDC поделился протоколом для анализа ОТ-ПЦР с праймерами и зондами, предназначенными для универсального обнаружения SARS-подобного коронавируса и специфического обнаружения SARS-CoV-2 (35,36).

Некоторые группы исследователей также поделились своими протоколами. В некоторых случаях они будут готовы отправлять реагенты или смеси реагентов с соответствующей оплатой или без нее (Табл. 3).

Тест концерна ROCHE под торговым наименованием cobas® SARS-CoV-2 получил разрешение на экстренное использование (Emergency Use Authorization – EUA) Управления по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (Food and Drug Administration, FDA) и будет доступен на рынках, поддерживающих маркировку «CE». Об этом компания сообщила 2 марта 2020 г. Молекулярный тест на SARS-Co-2 позволит провести ускоренное тестирование

Табл. 3. Сводная таблица доступных протоколов для диагностики SARS-CoV-2

Страна	Институт	Целевые гены
Китай	China CDC	ORF1ab и N
Германия	Шарите	RdRP, E, N
Гонконг	HKU	ORF1b-nsp14, N
Япония	Национальный Институт инфекционных заболеваний, факультет вирусологии	Pancorona and multiple targets, Spike protein
Таиланд	Национальный Институт Здоровья	N
США	US CDC	Three targets in N gene
Франция	Институт Пастера, Париж	Two targets in RdRP

при помощи автоматизированных систем Roche Cobas® 6800 и Cobas® 8800. Их пропускная способность позволяет получать 1440 результатов (Cobas® 6800) и 4128 результатов (Cobas® 8800) за 24 часа. При этом результаты первых 96 тестов получают через 3,5 часа, а в дальнейшем – по 96 тестов каждые 30 или 90 минут. Больницы и референтные лаборатории могут проводить тестирование на полностью автоматизированных системах Roche Cobas® 6800 и Cobas® 8800, которые широко доступны в США и во всем мире.

Многими международными организациями с помощью ОТ-ПЦР тест-систем коронавируса SARS-CoV-2 рекомендуется выявлять по следующим генетическим маркерам – RdRP-gene, N-gene и E-gene.

Процедура проведения теста для выявления SARS-CoV-2 гибридно-флуоресцентной детекцией. Выявление РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией включает в себя три этапа: экстракцию РНК из образцов исследуемого материала, реакцию обратной транскрипции и амплификацию участка кДНК данного коронавируса с гибридно-флуоресцентной детекцией, которая производится непосредственно в ходе ПЦР. Экстракция РНК из биологического материала проводится в присутствии внутреннего контрольного образца, который позволяет контролировать выполнение процедуры исследования для каждого образца. Отдельно используется положительный контроль экстракции и отрицательный контроль экстракции РНК. Реакция обратной транскрипции проводится с целью образования комплементарной ДНК (кДНК) на матрице РНК. Затем

с полученными пробами кДНК проводится реакция амплификации участков при помощи специфичных к этим участкам кДНК праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарными участками амплифицируемых мишеней кДНК, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Пример процедуры проведения теста для детекции 3-х генов представлен на рисунке 10.

Ограничения ПЦР

Несколько последовательных отрицательных результатов тестирования совсем не исключают возможности наличия инфекции. К появлению ложноотрицательных результатов приводит ряд факторов:

- низкое качество образцов;
- образец был взят слишком рано или слишком поздно в течение заболевания;
- при обращении с образцом или в ходе его транспортировки не были соблюдены необходимые требования;
- технические факторы, связанные с выполнением теста, например мутация вируса или ингибирование ПЦР.



Рис. 9. Автоматизированные системы Roche Cobas® 6800, Cobas® 8800 и набор cobas® SARS-CoV-2 для выявления COVID-19

9. Procedure

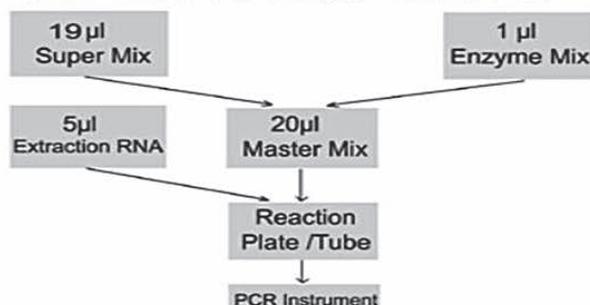
9.1 RNA-Extraction

Different brand RNA extraction kits are available. You may use your own extraction systems or the commercial kits based on the yield. For the RNA extraction, please follow the manufacturer's instructions. The recommended extraction kits are as follows:

Nucleic Acid Isolation Kit	Cat. Number	Manufacturer
RNA Isolation Kit	ME-0010/ME-0012 /ME-0044	ZJ Biotech
QIAamp Viral RNA Mini extraction Kit (50)	52904	QIAGEN

9.2 RT-PCR Protocol

The Master Mix volume for each reaction should be pipetted as follows:



- 1) The volumes of Super Mix and Enzyme Mix per reaction multiply with the number of samples, which includes the number of controls, standards, and sample prepared. Molecular Grade Water is used as the negative control. For reasons of unprecise pipetting, always add an extra virtual sample. Mix completely then spin down briefly with a centrifuge.
- 2) Pipet 20µl Master Mix with micropipets of sterile filter tips to each of the Real time PCR reaction plate/tubes. Separately add 5µl RNA template (nucleic acid extracted from negative control, positive control and specimens) to different reaction plate/tubes. Immediately close the plates/tubes to avoid contamination.
- 3) Spin down briefly in order to collect the Master Mix in the bottom of the reaction tubes.
- 4) Perform the following protocol in the instrument of **ABI Prism®7500/7900;Bio-Rad CFX 96;Rotor Gene™6000; Bio-Rad CFX96;SLAN:**

45°C for 10min	1cycle	Selection of fluorescence channels	
95°C for 3min	1cycle	FAM	Gene RdRP
95°C for 15sec, 58°C for 30sec (Fluorescence measured at 58°C)	45cycles	HEX/VIC/JOE	Gene N
		Cal Red 610/ROX/TEXAS RED	Gene E

▲: Perform the following protocol in the instrument of **MIC POC Dx48:**

45°C for 10min	1cycle
95°C for 90sec	1cycle
95°C for 15sec, 58°C for 20sec (Fluorescence measured at 58°C)	45cycles

- 5) ▲ If you use ABI Prism® system, please choose “none” as passive reference and quencher.

10.Threshold Setting: Just above the maximum level of molecular grade water.

11.Quality control: Negative control, and positive control must be performed correctly, otherwise the sample results are invalid.

Control	Channel	Ct value		
		FAM (Gene RdRP)	HEX/VIC/JOE (GeneN)	Cal Red 610 (Gene E)
Negative Control		UNDET	UNDET	UNDET
Positive Control		≤35	≤35	≤35

12. Data Analysis and Interpretation

The following sample results are possible:

	Ct value			Result Analysis
	FAM	HEX/VIC/JOE	Cal Red 610	
1#	UNDET	UNDET	UNDET	Below the detection limit or negative.
2#	≤43	UNDET	≤43	the specimen is 2019-nCoV positive.
	≤43	≤43	UNDET	
	≤43	≤43	≤43	
3#	≤43	UNDET	UNDET	Re-test; If Channel FAM is still ≤43, report as 2019-nCoV Positive.
4#	UNDET	≤43	≤43	Re-test; If both Channel HEX/VIC/JOE and Channel Cal Red 610 is still ≤43, report as 2019-nCoV Positive.

Рис. 10. Процедура проведения теста и интерпретация результатов для определения 3-х генов нового коронавируса COVID-19 с использованием метода ОТ-ПЦР

III. МЕТОДЫ НА ОСНОВЕ МИКРОЧИПОВ

Метод обнаружения коронавируса на основе микрочипов, является быстрым, с высокой пропускной способностью анализом. Принцип метода состоит в том, что с помощью обратной транскриптазы РНК коронавируса продуцирует кДНК, меченную специфическими зондами. Затем эти меченные кДНК помещаются в лунки и гибридизуются с твердо-фазными олигонуклеотидами, закрепленными на микрочипе с последующей промывкой для удаления свободных ДНК. В результате РНК коронавируса может быть определена путем исследования специфических зондов (37). Shi et al. (38) разработали 60-мерный олигонуклеотидный микрочип и успешно применили его для обнаружения коронавируса ОРВИ Тем не менее, учитывая быструю мутацию SARS-CoV исследователи Guo et al. (39) разработали микрочип для обнаружения однонуклеотидного полиморфизма (SNP) мутации в гене spike (S) SARS-CoV с точностью, составляющую 100%. Поскольку коронавирус может привести к внезапной вспышке эпидемии, большое значение имеет обнаружение широкого спектра коронавирусов. При этом диагностика должна проводиться Point of Care (анализ по месту лечения). В связи с этим Luna et al. (40) разработали недорогой нефлуоресцентный олигонуклеотид низкой плотности для обнаружения всего рода коронавирусов с чувствительностью равной ОТ-ПЦР в реальном времени. Hardick et al. (41) создали новую, портативную РОС-диагностическую платформу на основе микрочипов – Mobile Analysis Platform (MAP), кото-

рая имеет отличные показатели в выявлении вирусов и допустимы предел обнаружения.

Уникальная технологическая платформа компании Randox позволяет используя технологию Biochip проводить экспресс-анализ SARS-CoV-2, обрабатывая одновременно 54 образца пациентов, представляя результаты 540 анализов в течение 5 часов на анализаторе Evidence Investigator (рис. 11).

IV. ПЕТЛЕВАЯ ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ (LAMP)

Петлевая изотермическая амплификация (LAMP) является новым методом амплификации нуклеиновых кислот, которая была разработана Tsugunori Notomi и его коллегами в 2000 г. (42). Сущность данного метода заключается в удвоении участка ДНК с высокой специфичностью, эффективностью и скоростью в условиях постоянной температуры. При совмещении с обратной транскрипцией, LAMP может с высокой эффективностью амплифицировать РНК последовательности. Данный метод основан на автоматическом цикле синтеза ДНК цепи со смещением при использовании ДНК-полимераз с высокой активностью смещения и четырех (шести) специально созданных праймеров. Четыре праймера сконструированы таким образом, чтобы быть нацеленными на шесть определенных регионов гена-мишени. LAMP-анализ является быстрым, не требует дорогостоящего оборудования и реагентов, что может снизить стоимость обнаружения коронавируса (43). Poon et al. (44) сообщили о простом



Рис. 11. Биочип и анализатор Evidence Investigator компании Randox для обнаружения SARS-CoV-2

LAMP-анализе и продемонстрировали возможность использовать данную технологию для обнаружения SARS-CoV. Область ORF1b SARS-CoV была выбрана для диагностики SARS и усилена LAMP-реакцией в присутствии 6 праймеров, после чего амплифицированные продукты были проанализированы с помощью электрофореза. Частота обнаружения и чувствительность к SARS-CoV в анализе LAMP аналогична обычным методам на основе ПЦР. Анализ RT-LAMP разработан Shirato et al (45), который способен обнаруживать всего 3 копии РНК MERS-CoV и является высокоспецифичным без перекрестной реакции с другими респираторными вирусами. Thai et al. (46) разработали одношаговую единичную пробирку для количественного анализа RT-LAMP в реальном времени с измерением окрашивания раствора для ранней и быстрой диагностики SARS-CoV. Этот анализ в 100 раз более чувствительный, чем обычная ОТ-ПЦР.

В работе Zhang et al. (47) представлено тестирование и валидизация 5 наборов праймеров LAMP как целевых для двух фрагментов SARS-CoV-2 с использованием коротких (~300 bp) РНК фрагментов, полученных транскрипцией *in vitro* и образцов РНК пациентов (рис. 12).

V. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВИРУСА

ВОЗ не рекомендует культивирование вируса в качестве рутинной диагностической процедуры.

VI. ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МЕТОДЫ ДЛЯ

ДИАГНОСТИКИ SARS-COV-2.

РНК-таргетированный CRISP-ассоциированный фермент Cas13 недавно был адаптирован для быстрого определения нуклеиновых кислот (48,49). С.А. Freije et al. (50) показали, что Cas13 может быть запрограммирован для разрушения геномов разнообразных вирусов одноцепочечной РНК (рис. 12).

Они разработали платформу, названную SHERLOCK (специфический высокочувствительный ферментативный репортер разблокировки), которая объединила изотермическую преамплификацию с Cas13 для обнаружения отдельных молекул РНК или ДНК (51). Их последний протокол для COVID-19 под названием «Протокол обнаружения COVID-19 с использованием диагностики CRISP» опубликован на веб-сайте (<https://broad.io/herlockprotocol>), что может представлять интерес для исследователей в дальнейшем развитии данной системы диагностики и как платформу для обнаружения нуклеиновых кислот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для подтверждения случаев COVID-19 такие клинические симптомы как лихорадка, кашель, миалгия или повышенная усталость не являются уникальными признаками, так как они могут быть похожими на симптомы других вирусных заболеваний – ОРВИ, грипп и др. В настоящее время для подтверждения COVID-19 основным инструментом является использование лабораторных методов иссле-



Рис. 12. Обнаружение SARS-CoV-2 в образцах пациентов из г.Ухань (Китай) с использованием колориметрического анализа LAMP с таргетными праймерами против ORF1a (A) и GeneN (B). Желтый цвет указывает на положительное обнаружение через 30 минут инкубации, а розовый цвет – отрицательный результат

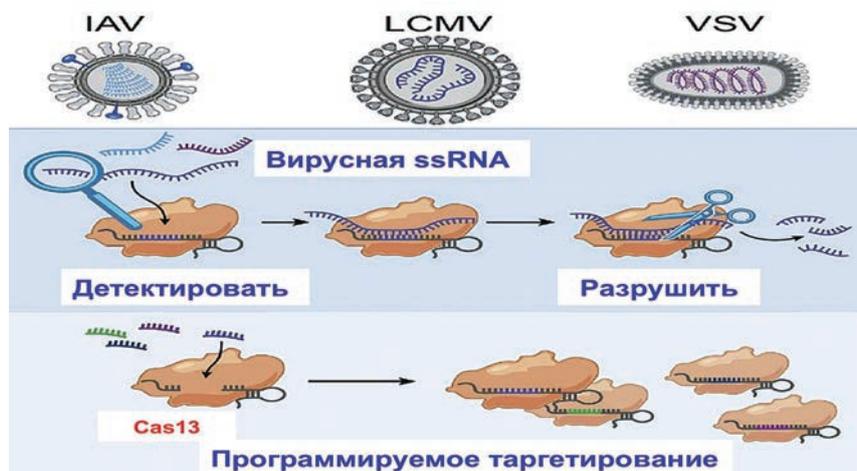


Рис. 12. Программирование и использование Cas13 для разрушения геномов разнообразных вирусов

дования. К ним относятся латеральная иммунодиффузия (экспресс-тесты), ОТ-ПЦР, микрочиповая технология и др. При этом очень важно выбрать методы обнаружения ввиду

того, что каждый метод имеет свои уникальные преимущества и, безусловно, недостатки.

ЛИТЕРАТУРА

1. D.M. Morens, A.S. Fauci, Emerging infectious diseases: threats to human health and global stability, *PLoS Pathog.* 9 (2013), e1003467.
2. H. Kim, M. Park, J. Hwang, et al., Development of label-free colorimetric assay for MERS-CoV using gold nanoparticles, *ACS Sens.* 4 (2019) 1306e1312.
3. N. Zhang, L. Wang, X. Deng, et al., Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans, *J. Med. Virol.* 92 (2020) 408e417.
4. P. Huang, H. Wang, Z. Cao, et al., A rapid and specific assay for the detection of MERS-CoV, *Front. Microbiol.* 9 (2018) 1101.
5. S.B. Jiang, S. Xia, T.L. Ying, et al., A novel coronavirus (2019-nCoV) causing pneumonia-associated respiratory syndrome, *Cell. Mol. Immunol.* (2020), <https://doi.org/10.1038/s41423-41020-40372-41424>.
6. J S M Peiris, Y Guan & K Y Yuen. *Nature Medicine Supplement*, Vol., N 12, December 2004.
7. Enya Qing and Tom Gallagher. *SARS Coronavirus Redux. Trends in Immunology*, Month 2020, Vol. xx, No. xx, in Press.
8. WHO. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance, 2 March 2020.
9. Channel News Asia (2020) Duke-NUS used COVID-19 antibody tests to establish link between church clusters in a world-first. 26 Feb 2020. Available at: <https://www.channelnewsasia.com/news/singapore/covid19-coronavirus-duke-nus-antibody-tests-12469184> (accessed 26 Feb 2020).
10. Chew E (2020) Singapore Researchers Make Advances in Coronavirus Test Method. *Bloomberg*. 26 Feb 2020. Available at: <https://www.bloomberg.com/news/articles/2020-02-26/singapore-researchers-make-breakthrough-in-coronavirus-testing> (accessed 26 Feb 2020).
11. Cao Q (2020) China develops COVID-19 detection kit that delivers results in 15 minutes. *CGTN*. 15 Feb 2020. Available at: <https://news.cgtn.com/news/2020-02-15/China-develops-COVID-19-detection-kit-that-delivers-results-in-15-min--O6aPGKuzGo/index.html> (accessed 20 Feb 2020).
12. Global Times (2020) New COVID-19 drugs approved for fast and accurate diagnosis: China's top epidemiologist. 23 Feb 2020. Available at: <http://www.globaltimes.cn/content/1180544.shtml> (accessed 26 Feb 2020)
13. Gao Y (2020) China greenlights new testing kits to identify COVID-19. *CGTN*. 24 Feb 2020. Available at: <https://news.cgtn.com/news/2020-02-24/China-greenlights-new-testing-kits-to-identify-COVID-19-0l9QqDDWRa/index.html> (accessed 26 Feb 2020)/
14. GBI Source (2020) Wondfo Bio's 2 coronavirus detection kits super fast-track in China. 20 Feb 2020. Available at: <https://source.gbihealth.com/News/NewsDetail?news-ID=2033702&newsType=news> (accessed 26 Feb 2020)/
15. Qiu Q (2020) China greenlights new coronavirus detection method. 23 Feb 2020. Available at: <https://www.chinadaily.com.cn/a/202002/23/WS5e528b42a3101282172799b6.html> (accessed 26 Feb 2020)/
16. Guangzhou Wondfo Biotech (2020) Guangzhou Wondfo Biotech's New Coronavirus Test Products Receive CE Mark. 06 Mar 2020. Available at: <http://www.szse.cn/disclosure/listed/bulletinDetail/index.html?445b33ef-b062-46f0-9a1a-0801d94c1dc9> (accessed 12 Mar 2020)
17. Reuters (2020) Guangzhou Wondfo Biotech's Three New Coronavirus Test Products Receive CE Mark, Qualified To Enter EU Market. 06 Mar 2020. Available at: <https://www.reuters.com/article/brief-guangzhou-wondfo-biotechs-three-new-coronavirus-test-products-receive-ce-mark-qualified-to-enter-eu-market-idUSL4N2AZ2WK> (accessed 12 Mar 2020).
18. PR Newswire (2020) German Company Pharmact AG Develops a Point-of-Care Rapid Test for the Detection of the Coronavirus (SARS-CoV-2). 10 Mar 2020. Available at: <https://www.prnewswire.com/news-releases/german-company-pharmact-ag-develops-a-point-of-care-rapid-test-for-the-detection-of-the-coronavirus-sars-cov-2-301020339.html> (accessed 11 Mar 2020).

19. 360Dx (2020) Aytu BioScience Licenses US Rights to Point-of-Care Coronavirus Test. 10 Mar 2020. Available at: <https://www.360dx.com/infectious-disease/aytu-bioscience-licenses-us-rights-point-care-coronavirus-test#.XmhTLKgzUk> (accessed 11 Mar 2020).
20. Accesswire (2020) Aytu BioScience Secures Exclusive U.S. Distribution Agreement for Coronavirus 2019 (COVID-19) Point-of-Care Rapid Test. 10 Mar 2020. Available at: <https://www.accesswire.com/579898/Aytu-BioScience-Secures-Exclusive-US-Distribution-Agreement-for-Coronavirus-2019-COVID-19-Point-of-Care-Rapid-Test> (accessed 11 Mar 2020).
21. SD Biosensor (2020) STANDARD Q COVID-19 IgM IgG Duo. Available at: <http://sdbiosensor.com/x/product/7662> (accessed 12 Mar 2020).
22. Xinhua (2020) Chinese researchers develop rapid antibody test kit for coronavirus. 21 Feb 2020. Available at: http://www.xinhuanet.com/english/2020-02/21/c_138805748.htm (accessed 09 Mar 2020).
23. China Plus (2020) Researchers develop quick test for novel coronavirus. 12 Feb 2020. Available at: <http://chinaplus.cri.cn/recommended/1661/419776> (accessed 20 Feb 2020).
24. Xinhua (2020) Chinese university develops rapid test kit for novel coronavirus 17 Feb 2020. Available at: www.xinhuanet.com/english/2020-02/17/c_138791386.htm (accessed 18 Feb 2020).
25. Singer AJ, Williams J, Taylor M, Le Blanc D, Thode HC, Jr. Comprehensive bedside point of care testing in critical ED patients: a before and after study. *The American journal of emergency medicine.* 2015;33(6):776-780.
26. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, et al. Transmission of COVID-19 Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *N Engl J Med.* 2020.
27. Zou L, Ruan F, Huang M, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.* 2020.
28. Turner LH, Kinder JM, Wilburn A, et al. Preconceptual Zika virus asymptomatic infection protects against secondary prenatal infection. *PLoS pathogens.* 2017;13(11):e1006684.
29. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506.
30. V.M. Corman, O. Landt, M. Kaiser, et al., Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR, *Euro Surveill.* 25 (2020) 23e30.
31. World Health Organization (2020) Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases - Interim Guidance 2020. 17 Jan 2020. Available at: <https://www.who.int/healthtopics/coronavirus/laboratory-diagnostics-for-novel-coronavirus>. (accessed 28 Jan 2020).
32. World Health Organization (2020) Novel Coronavirus (2019-nCoV) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans. 31 Jan 2020. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance> (accessed 31 Jan 2020).
33. Institut Pasteur (2020) Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. 02 Mar 2020. Available at: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2 (accessed 09 Mar 2020).
34. Charité Virology (2020) Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 (17 Jan 2019). 17 Jan 2020. Available at: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2 (accessed 28 Jan 2020).
35. U.S. Department of Health & Human Services (2020) Real-Time RT-PCR Panel for Detection 2019-Novel Coronavirus. 24 Jan 2020. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/rt-pcr-panel-for-detection-instructions.pdf> (accessed 28 Jan 2020).
36. U.S. Department of Health & Human Services (2020) 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel Primers and Probes. 24 Jan 2020. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/rt-pcr-panel-primer-probes.pdf> (accessed 28 Jan 2020).
37. Q. Chen, J. Li, Z.R. Deng, et al., Comprehensive detection and identification of seven animal coronaviruses and human respiratory coronavirus 229E with a microarray hybridization assay, *Intervirology* 53 (2010) 95e104.
38. R. Shi, W.L. Ma, Q.H. Wu, et al., Design and application of 60mer oligonucleotide microarray in SARS coronavirus detection, *Chin. Sci. Bull.* 48 (2003)1165e1169.
39. X. Guo, P. Geng, Q. Wang, et al., Development of a single nucleotide polymorphism DNA microarray for the detection and genotyping of the SARS coronavirus, *J. Microbiol. Biotechnol.* 24 (2014) 1445e1454.
40. L.K.D. Luna, V. Heiser, N. Regamey, et al., Generic detection of coronaviruses and differentiation at the prototype strain level by reverse transcription-PCR and nonfluorescent low-density microarray, *J. Clin. Microbiol.* 45 (2007) 1049e1052.
41. J. Hardick, D. Metzgar, L. Risen, et al., Initial performance evaluation of a spotted array Mobile Analysis Platform (MAP) for the detection of influenza A/B, RSV, and MERS coronavirus, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 91 (2018)245e247.
42. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., Hase T. Loop-Mediated Isothermal Amplification Of DNA // *Nucleic Acids Re—* 2000. — Vol. 28, No. 12. — P. E63.
43. M. Enosawa, S. Kageyama, K. Sawai, et al., Use of loop-mediated isothermal amplification of the IS900 sequence for rapid detection of cultured *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *J. Clin. Microbiol.* 41 (2003) 4359e4365.
44. L.L.M. Poon, C.S.W. Leung, M. Tashiro, et al., Rapid detection of the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a loop-mediated isothermal amplification assay, *Clin. Chem.* 50 (2004) 1050e1052.
45. K. Shirato, T. Yano, S. Senba, et al., Detection of Middle East respiratory syndrome coronavirus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP), *Virol. J.* 11 (2014) 139.
46. H.T.C. Thai, M.Q. Le, C.D. Vuong, et al., Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus, *J. Clin. Microbiol.* 42 (2004) 1956e1961.
47. Yinhu Zhang¹, Nelson Odiwuor, Jin Xiong, Luo Sun, Raphael Ohuru Nyaruaba, Hongping Wei and Nathan A. Tanner. Rapid Molecular Detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) Virus RNA Using Colorimetric LAMP.
48. A.V. Wright, J.K. Nunez, J.A. Doudna, Biology and applications of CRISPR systems:harnessing nature's toolbox for genome engineering, *Cell* 164 (2016) 29e44.
49. J.S. Gootenberg, O.O. Abudayyeh, J.W. Lee, et al., Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2, *Science* 356 (2017) 438e442.
50. C.A. Freije, C. Myhrvold, C.K. Boehm, et al., Programmable inhibition and detection of RNA viruses using Cas13, *Mol. Cell.* 76 (2019) 826e837.
51. J.S. Gootenberg, O.O. Abudayyeh, M.J. Kellner, et al., Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6, *Science* 360 (2018) 439e444.

MICROS ES 60 OT/CT

АВТОМАТИЧНИЙ
ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ
АНАЛІЗАТОР



Основні характеристики

Продуктивність	60 зразків/годину
Об'єм зразка	10 мкл
Співвідношення розведень	WBC: 1/250 RBC/PLT: 1/15000
Методи вимірювання і розрахунку	WBC, RBC, PLT, LYM%, MON%, GRA%: метод імпендансу HGB: спектрофотометрія HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, MPV, LYM#, MON#, GRA#, PCT, PDW – математичне обчислення після прямих вимірювань
Діаметр апертури	WBC: 80 мкм RBC: 50 мкм
Вимірювання гемоглобіну	камера WBC/HGB джерело світла – світлодіод з довжиною хвилі 550 нм
Контроль якості	Графіки Леві-Дженінгса
Калібрування	автоматичне калібрування з прямим введенням калібрувальних коефіцієнтів калібратор: ABX Minocal (2 мл)
Контролі	Три рівня контролю (низький, нормальний, високий) - ABX MINOTROL (2x2,5мл)
Реагенти	3 робочих реагенти: Ізотонічний: ABX Minidil LMG (20л) Очищуючий розчин: ABX Miniclean (1л)/ ABX Cleaner (1л)/ ABX Minocclair (0.5л) Лізуючий розчин: ABX Minilyse LMG (1л)
Програмне забезпечення	Оригінальна розробка HORIBA Medical, встановлена на Flash EPROM
Об'єм пам'яті	10 000 результатів
Дисплей	Сенсорний екран LVDC: 8,4 дюйми, 640x480
Отримання результатів	Друк результатів (вбудований або зовнішній принтер), передача даних через послідовний інтерфейс
Зчитувач штрих-кодів	Зчитування даних з різних типів штрих-кодів (C 39, C 128, ISBT C128, ITF (2of5), CODABAR з/без контрольної суми)
Вбудований принтер	Так
Вимоги до електроживлення	Електроживлення: 100 В, 240 В (+/-10%), 50/60 Гц
Габарити, вага	43x36x36 см, 14 кг



Параметри

№	Параметр	Назва
1	WBC	Лейкоцити
2	LYM%	Лімфоцити (%)
3	LYM#	Лімфоцити (кількість)
4	MON%	Моноцити (%)
5	MON#	Моноцити (кількість)
6	GRA%	Гранулоцити (%)
7	GRA#	Гранулоцити (кількість)
8	PDW	Ширина кривої розподілу тромбоцитів
9	PCT	Тромбоцит
10	RBC	Еритроцити
11	HGB	Гемоглобін
12	HCT	Гематокрит
13	MCV	Середній об'єм еритроциту
14	MCH	Середній вміст гемоглобіну в еритроциті
15	MCHC	Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті
16	RDW	Ширина кривої розподілу еритроцитів
17	PLT	Тромбоцити
18	MPV	Середній об'єм тромбоциту
Гістограми розподілу WBC, RBC і PLT		

Лінійність

Параметри	Діапазон лінійності	Видимий діапазон	Межа помилки
WBC (10 ⁹ /мм ³)	0-100	100-150	±5%
RBC (10 ⁶ /мм ³)	0 - 8	8 - 18	±3%
PLT (10 ⁹ /мм ³)	0-4000	4000-6000	±10
HGB (г/дл)	0-26	26-30	±3

Точність

Параметри	Діапазон	%CV
WBC	4 - 10 x 10 ³ /мкл	< 2,5%
RBC	4 - 7 x 10 ⁶ /мкл	< 2,0%
HGB	12 - 18 г/дл	< 1,5%
PLT	200 – 500 x 10 ³ /мкл	< 5 %



ТОВ «ЛАБІКС» - офіційний представник європейських виробників лабораторного обладнання та витратних матеріалів в Україні.
м.Київ, тел.(044)-227-18-33, www.labix.com.ua

YUMIZEN H550

(27 параметрів)

6-Diff АВТОМАТИЧНИЙ
ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗАТОР



Yumizen H550 – компактний аналізатор, розроблений для швидкого тестування зразків з вбудованою автоматичною стійкою та можливістю безперервного завантаження 40 зразків, що забезпечує повний, розгорнутий аналіз крові пацієнта.

Основні характеристики

Продуктивність	43 зразка/годину
Об'єм зразка	у режимі CBC: 20 мкл у режимі DIF: 20 мкл
Автономність	40 пробірок (4 штативи по 10 пробірок), безперервне завантаження
Реагенти	3 робочих реагенти: Ізотонічний розчин: ABX Diluent (20L) Очищуючий розчин: ABX Cleaner (1L), ABX Minocclair (1л) Лізуючий розчин: Whitediff 1L (безціанідний)
Принципи вимірювання	Метод імпедансу: RBC, WBC, PLT Спектрофотометрія: HGB Обчислювальні параметри: MCV, MPV, MCH, MCHC, PDW-CV, PDW, PCT, PDW-SD, P-LCC, P-LCR Проточна цитометрія: LYM, MON, NEU, EOS, BAS, LIC
Контроль якості	графіки Леві-Дженінгса, радарні графіки
Калібрування	калібратор: ABX Minocal (1x2 мл)
Контролі	три рівня контролю (низький, нормальний, високий) - ABX Diffrol (2 x 3 мл)
Ідентифікація пробірок	За допомогою зовнішньої клавіатури (додатково), віртуальної клавіатури, вбудованого зчитувача штрих-кодів, зовнішнього зчитувача штрих-кодів (опційно)
Програмне забезпечення	операційна система Linux
Архів результатів пацієнтів і контролю якості	10 000 результатів + графіки
Дисплей	сенсорний екран LCD: 12 дюймів
Можливість підключення зовнішніх пристроїв	клавіатура, зчитувач штрих-кодів, принтер через USB, RS-232 або стандартний мережевий інтерфейс
Підключення до ЛІС	через RS-232 або стандартний мережевий інтерфейс
Вимоги до електроживлення	Електроживлення: 100 В, 240 В (+/-10%), 50/60 Гц
Габарити, вага	53 x 66,8 x 62,1 см; 35,8 кг

27 параметрів гематологічного аналізатора Yumizen H550

1. RBC – еритроцити
2. WBC – лейкоцити
3. PLT – тромбоцити
4. HGB – гемоглобін
5. HCT – гематокрит
6. MCV – середній об'єм еритроцитів
7. MCH – середній вміст гемоглобіну в еритроциті
8. MCHC – середня концентрація гемоглобіну в еритроциті
9. PDW – ширина розподілу тромбоцитів
10. RDW-CV – відносна ширина розподілу еритроцитів за об'ємом, коефіцієнт варіації
11. MPV – середній об'єм тромбоцитів
12. PCT – тромбокрит
13. RDW-SD – відносна ширина розподілу еритроцитів за об'ємом, стандартне відхилення
14. LYM% – лімфоцити, %
15. LYM# – лімфоцити, #
16. MON% – моноцити, %
17. MON# – моноцити, #
18. NEU% – нейтрофіли, %
19. NEU# – нейтрофіли, %
20. EOS% – еозинофіли, %
21. EOS# – еозинофіли, #
22. BAS% – базофіли, %
23. BAS# – базофіли, #
24. LIC# – великі незрілі клітини, #
25. LIC% – великі незрілі клітини, %
26. P-LCC – фракція великих тромбоцитів
27. P-LCR – коефіцієнт великих тромбоцитів

Лінійність

Параметр	Межа лінійності	Видима область лінійності	Одиниці вимірювання
WBC	0 - 300	300 - 600	10 ⁹ /L
RBC	0 - 8	8-18	10 ¹² /L
HGB	0 - 240	240 - 300	g/L
HCT	0 - 67	67-80	%
PLT	0-2500	3000-5000	10 ⁹ /L
PLT (концентрат)	0-4000	4000-5000	10 ⁹ /L

Показник LIC

LIC (від англ. Large Immature Cells) – це великі незрілі клітини, які включають наступні субпопуляції лейкоцитів:

- IMM (Immature monocytes - незрілі моноцити);
- IML (Immature lymphocytes - незрілі лімфоцити);
- IMG (Immature granulocytes - незрілі гранулоцити).

Незалежно від типу LIC, наявність цих клітин в периферичній крові найчастіше розцінюється як ознака патології. В ідеалі, вони повинні повністю бути відсутніми в лейкоцитарній формулі або перебувати в мінімальній кількості.

Точність

Параметри	CV (%)	Область Одиниці вимірювання
WBC	<3	4 - 100 x 10 ⁹ /L
RBC	<2	3,6-6,2 x 10 ¹² /L
HGB	<1,5	120 - 180 g/L
HCT	<2	0,36 - 0,54 л/л
MCV	<1,5	80 - 100 fL
RDW-CV	<4	10 - 16%
RDW-SD	<4	37 - 49 fL
PLT	<5	180 - 500 x 10 ⁹ /L
P-LCR	<15	15-35% і PLT > 50000
LYM%	<5	25 - 50%
MON%	<15	5 - 10%
NEU%	<3,5	45 - 80%
EOS%	<20	2 - 5%
BAS%	<40	1 - 2



ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ COVID-19, ВЫЗВАННОЙ НОВЫМ КОРОНАВИРУСОМ SARS-CoV-2

Вспышка новой коронавирусной инфекции COVID-19, которая сейчас официально называется тяжелый острый респираторный синдром, связанный с коронавирусом SARS-CoV-2 представляет пандемическую угрозу для здоровья людей во всем мире (1,2). Хотя эпицентр вспышки COVID-19 в декабре 2019 года находился в городе Ухань (Китай), на момент подготовки данного материала это заболевание распространилось в более чем 180 странах, с 1 000 000 подтвержденными случаями, которые привели к 50 000 летальных исходов. В результате этого миллионы людей изменили свой привычный образ жизни путем изоляции или карантина. Волновой эффект от вспышки COVID-19 может создать серьезные проблемы в системе здравоохранения многих стран и иметь далеко идущие последствия для мировой экономики, если распространение вируса не будет остановлено, а в дальнейшем эффективно контролироваться (3,4).

Коронавирусы (CoVs) представляют собой относительно крупные вирусы, содержащие инкапсулированный одноцепочечный РНК-геном. На мембране вируса расположены гликопротеиновые шипы, которые создают короноподобный внешний вид. Вирион проникает в клетку путем эндоцитоза. В процессе этого S-белок, связывается с рецептором ангиотензин-превращающего фермента (АПФ-2), затем расщепляется, вследствие чего мембраны вируса и эндосомы сливаются и РНК выходит. Геном транслируется в полипротеины (pp1a и 1ab) с помощью которых формируется копия РНК вируса и восемь мРНК-шаблонов для генерации его белков в просвете (ERGIC) между эндоплазматическим ретикулумом (ER) и аппаратом Гольджи. Вирионы собираются в цитоплазме и выходят из клетки путем экзоцитоза (5) (рис. 1).

Существует четыре класса коронавирусов, которые обозначаются как альфа, бета, гамма и дельта. Класс бета-коронавирусов включа-

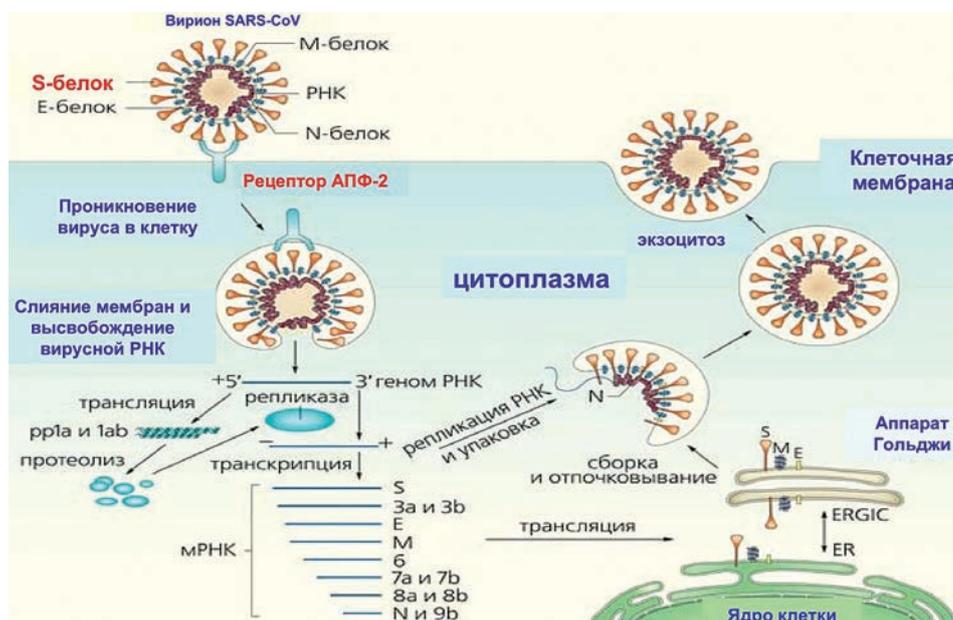


Рис. 1. Иллюстрация структуры коронавируса SARS-CoV и его жизненный цикл

ет тяжелый острый респираторный синдром (SARS) – вирус SARS-CoV, ближневосточный респираторный синдром (MERS) – вирус MERS-CoV и заболевание COVID-19 – вирус SARS-CoV-2. Так же как SARS-CoV и MERS-CoV вирус SARS-CoV-2 действует на нижнюю дыхательную систему, вызывая вирусную пневмонию. Однако он может повлиять на желудочно-кишечную и нервную системы, сердце, почки, печень, что приведет к полиорганной недостаточности (6,7). Текущая информация из научных изданий указывает на то, что SARS-CoV-2 более контагиозный и трансмиссивный, чем SARS-CoV (8).

Геном бета-коронавируса кодирует несколько структурных белков, в том числе гликозированный белок S (S-белок), который функционирует в качестве основного индуктора иммунного ответа хозяина. Белок S опосредует инвазию клеток хозяина как SARS-CoV, так и SARS-CoV-2 посредством связывания с рецепторным белком называемым АПФ-2, который находится на поверхности мембраны (9-11). Кроме того, геном вируса также кодирует несколько неструктурных белков, включая РНК-зависимую РНК-полимеразу полимеразу (RdRp), главную коронавирусную протеазу (3CLpro) и папаинподобную протеазу (PLpro) (12,13). Взаимодействие между вирусным белком S и АПФ-2 на поверхности клетки-хозяина представляет значительный интерес, так как это инициирует инфекци-

онный процесс. Cry-EM структурный анализ показал, что аффинность связывания SARS-CoV-2 с АПФ-2 в 10-20 раз выше, чем у SARS-CoV (14). Это может способствовать более высокой контагиозности по сравнению с SARS-CoV.

На сегодняшний день задача перед учеными состоит в исследовании целевых терапевтических агентов, связанных как с SARS-CoV, так и с SARS-CoV-2 (15-17). RdRp и 3CLpro SARS-CoV-2 имеют более 95% сходства последовательностей с SARS-CoV несмотря на то, что эти два вируса демонстрируют только 79% сходства последовательностей в геноме (рис. 2).

МЕХАНИЗМ, СИМПТОМЫ И ДИАГНОСТИКА COVID-19

Zhao et al. (18) обнаружили, что АПФ-2 является рецептором для SARS-CoV-2. В нормальном легком человека АПФ-2 экспрессируется на альвеолярных эпителиальных клетках I и II типа. Среди них 83% альвеолярных клеток типа II экспрессируют АПФ-2. У мужчин уровень АПФ-2 в альвеолярных клетках выше, чем у женщин. Азиаты имеют уровень экспрессии АПФ-2 выше по сравнению с белой и афроамериканской популяциями. Присоединение SARS-CoV-2 к АПФ-2 вызывает повышенную экспрессию АПФ-2, что может привести к повреждению альвеолярных кле-

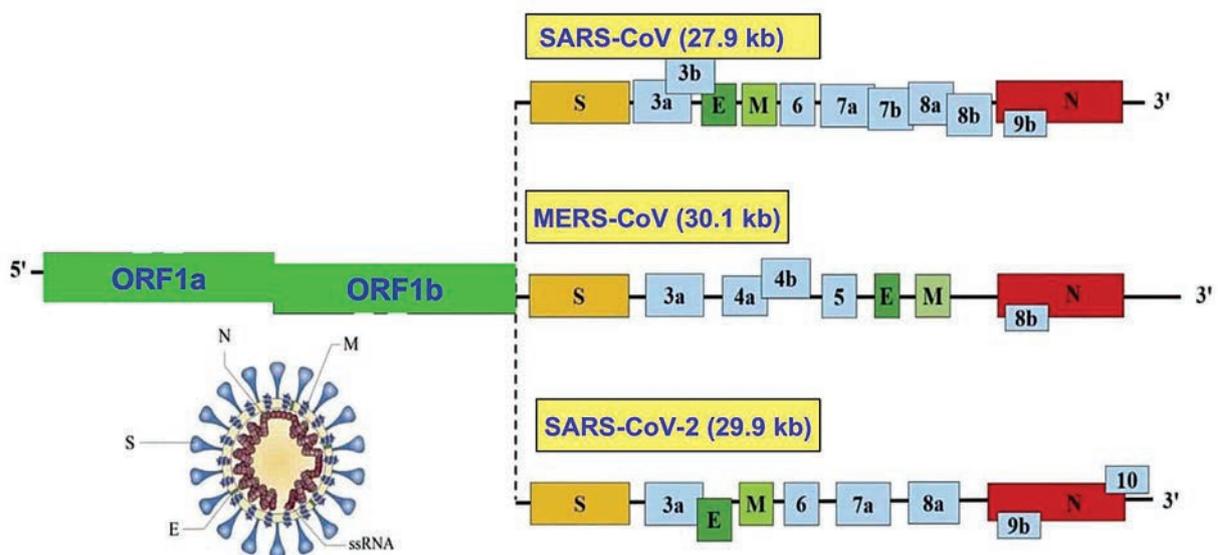


Рис. 2. Последовательности генома SARS-CoV, MERS-CoV и SARSCoV-2

ток. Это, в свою очередь, вызывает ряд системных реакций и даже смерть.

В работе Huang et al. (19) было показано, что пациенты с SARS-CoV-2 имели следующие симптомы: лихорадка – 98%, температура выше 38 °C – 78%, кашель – 76 %, усталость и мышечные боли – 44%, одышка – 55%. У небольшого числа пациентов появилась мокрота (28%), головные боли (8%), кровохарканье (5%) и диарея (2%). Лабораторные тесты обнаружили, что 25% инфицированных пациентов имели лейкопению и 63% лимфоцитопению. Уровень аспаратаминотрансферазы повышен у 73% пациентов. Миокардит диагностирован у 12% пациентов, а уровень тропонина I лишь незначительно увеличен у этих пациентов. Специфические изменения картины с использованием компьютерной томографии обнаружены в 100% случаев. Анализ почти 140 сканирований коронавируса показал многочисленные уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла» на обоих легких, что является отличительной чертой вируса и встречается у 98% инфицированных.

К сожалению, для лечения инфекции COVID-19, вызванной новым коронавирусом SARS-CoV-2 на сегодняшний день ни лекарственных препаратов, ни вакцины не существует.

В зависимости от поставленных целей потенциальная антикоронавирусная терапия может быть разделена на две категории, одна из которых воздействует на иммунную систему человека или клетки, а другая на сам коронавирус.

Для этого ученые используют три стратегии для разработки новых лекарственных препаратов. Первая стратегия заключается в тестировании существующих противовирусных средств широкого спектра действия. Преимуществом этих препаратов является то, что их метаболизм, дозирование, потенциальная эффективность и побочные эффекты очевидны, поскольку они одобрены для лечения вирусных инфекций. Однако недостатком является то, что эти методы слишком «широкого спектра» и не могут целенаправленно воздействовать на коронавирусы. Вторая стратегия заключается в использовании существующих

баз данных для выявления молекул, которые могут оказывать влияние на коронавирус. Третья стратегия напрямую основана на геномной информации и патологической особенности различных коронавирусов для разработки новых целевых препаратов с нуля. Теоретически, лекарственные препараты, найденные с помощью этих методов, будут проявлять лучшие противокоронавирусные эффекты, однако эта процедура может длиться до 10 лет. В целом, эти три стратегии взаимодополняющие и способны помочь человечеству победить COVID-19. Поэтому работы ведутся во всех направлениях.

В настоящее время для лечения COVID-19 применяется симптоматическая терапия и специфическое лечение.

I. Симптоматическая и поддерживающая терапия вирусной инфекции COVID-19

Согласно рекомендациям ВОЗ при тяжелой острой респираторной вирусной инфекции (SARI) с подозрением на инфекцию коронавирусом SARS-CoV-2 предполагается проведение ряда поддерживающих мероприятий:

- незамедлительная кислородная терапия при дыхательной недостаточности, гипоксемии или шоке;
- консервативная инфузионная терапия, если нет признаков шока;
- эмпирическая противомикробная терапия, нацеленная на все вероятные патогены, вызывающие SARI. В случае сепсиса ее следует назначить в течение часа после поступления пациента;
- не следует назначать кортикостероиды в плановом порядке ввиду отсутствия пользы на фоне возможного вреда, что было засвидетельствовано в ряде систематических обзоров терапии пациентов с SARS-CoV, MERS-CoV;
- необходимо внимательно отслеживать состояние пациента для раннего выявления признаков клинического ухудшения, таких как быстро прогрессирующая дыхательная недостаточность и сепсис. В этом случае следует незамед-

лительно принять все необходимые меры;

- необходимо выяснить наличие сопутствующих болезней, чтобы оценить прогноз и откорректировать терапию критического заболевания: какие лекарственные препараты оставить, а какие временно отменить.

II. Специфическое лечение коронавирусной инфекции COVID-19

1. Ремдесивир. Remdesivir (Gilead Sciences, Inc., Foster City, California, US) – нуклеозидный аналог, являющийся пролекарством и ингибирующий РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp). В результате отложенного прекращения роста РНК-цепи останавливается синтез новых РНК по матрице РНК, что делает невозможной репликацию вируса. Ремдесивир имитирует собой АТФ, конкурируя с ней. В ходе лечения первого заболевшего COVID-19 человека в США ввиду ухудшения клинического статуса кроме стандартной поддерживающей терапии ему назначили ремдесивир. Согласно данным Holshue ML et al. (20) все симптомы заболевания устранились (за исключением кашля). В Китае ремдесивир проходит рандомизированное двойное слепое, контролируемое клиническое исследование III фазы, которое установит – действительно ли ремдесивир безопасен и эффективен в лечении COVID-19. С 20 марта 2020 года, несмотря на то, что ремдесивир пока не одобрен FDA, решено использовать его для лечения пациентов с положительным результатом на COVID-19, находящихся в критическом состоянии. По предварительным данным препарат хорошо себя зарекомендовал. Так как препарат зарегистрирован фирмой Gilead Sciences как орфанный, это предоставляет ряд льгот его производителям. Рекомендуемая доза составляет 200 мг в 1-й день (в/в в течение 30 мин), затем 100 мг (один раз в день) с 2-го по 10-й день.

2. Лопинавир и ритонавир. Комбинация Lopinavir/Ritonavir, известная под названием Kaletra/Aluvia (AbbVie, Deutschland GmbH, Germany) входит в состав схем высокоактивной антиретровирусной терапии

вируса иммунодефицита человека-1. Лопинавир является ингибитором протеазы (PI), препятствующий синтезу вирусных белков, что приводит к формированию незрелого и неспособного к инфицированию вируса. Ритонавир также относится к классу PI, но самостоятельно не используется, а находит применение в качестве «усилителя» других PI. Он ингибирует цитохром P450 3A4 (CYP3A4) – печеночный фермент, который метаболизирует ксенобиотики. Назначение лопинавира и ритонавира вместе с рибавирином, индуцирующим гипермутации в механизме репликации РНК-вирусов пациентам с инфекцией SARS-CoV проявилось в более мягком течении заболевания. Потенциал лопинавира подтвердила компания Innophore (Германия), специализирующаяся на структурной энзимологии. Поскольку основная протеаза, известная как химотрипсинподобная протеаза (3CLpro) в случае SARS-CoV-2 на 96% гомологична SARS-CoV, поэтому против новой коронавирусной инфекции COVID-19 можно применять препараты этого класса. В Китае применяли комбинацию лопинавира и ритонавира (400 и 100 мг соответственно дважды в день) в течение 10–14 дней вместе с интраназальным интерфероном альфа-2b. В результате были отмечены многочисленные случаи полного излечения (21–23). Между тем в исследовании В. Сао et al. (24) при использовании лопинавира/ритонавира не было обнаружено снижение вирусной нагрузки РНК по сравнению с стандартным лечением.

3. Галидесивир. Galidesivir (BioCryst Pharmaceuticals, Inc., Darham, North Carolina) – это нуклеозидный аналог, ингибирующий РНК-репликазу, что вызывает преждевременное прекращение роста РНК-цепи. In vitro галидесивир показал антивирусное действие против РНК-вирусов из девяти различных семейств.

Другие потенциальные ингибиторы протеаз:

- Indinavir (Crixivan) компания Merck&Co;
- Saquinavir (Invirase/Fortovase) компания Roche;
- Atazanavir (Reyataz) компания Bristol-Myers Squibb;

- Darunavir (Prezista) компания Janssen/Johnson&Johnson;
- Tipranavir (Aptivus) компания Boehringer Ingelheim;
- Foseprenavir (Lexiva/Telzir) компания Viiv Healthcare/GlaxoSmithKline.

Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (NRTI):

- Abacavir (Ziagen) компания Viiv Healthcare/GlaxoSmithKline.

Ингибиторы интегразы:

- Elvitegravir (Vitekta) компания Gilead Sciences;
- Raltegravir (Isentress) компания Merck&Co.

Протеасомные ингибиторы:

- Bortezomib (Velcade) компания Millennium Pharmaceuticals/Takeda Pharmaceutical
- Carfilzomib ((Kuprolis) компания Onyx Pharmaceuticals/Amgen

Ингибиторы белка слияния:

- Enzaplatovir компания Takeda;
- Tibeglusid компания Amo Pharma;
- TDZD-8 компания Panther Biotechnology.

4. Арбидол. Arbidol (Фармстандарт, Россия). К запуску готовят клинические исследования NCT04246242 фазы IV (рандомизированные, двойные слепые, плацебоконтролируемые), которые проверят эффективность арбидола в лечении новой коронавирусной инфекции COVID-19. Пациентам (n=500) в 3-х группах будут назначать стандартную противовирусную терапию, при этом две группы будут получать поверх нее арбидол в дозе 200 или 400 мг три раза в день на протяжении пяти дней. Первичная конечная точка установлена показателем летальности по прошествии 28 дней. Среди вторичных конечных точек: время нахождения в реанимационном отделении, период в необходимости искусственной вентиляции легких и др.

5. Хлорохин. Хлорохин используется для лечения и профилактики малярии и в качестве иммуномодулятора при ревматоидном артрите и системной красной волчанке. При множественных инфекциях вирусами хлорохин ингибирует pH-зависимые стадии репликации вируса *in vitro*. Хлорохин обладает

иммуномодулирующими свойствами, которые потенциально могут влиять на течение заболевания COVID-19. Рекомендуемая доза: 500 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней (25–27). В связи с возможностью возникновения побочных реакций (гипогликемия и кардиотоксичность) необходимо измерение уровня глюкозы и ЭКГ.

6. Гидроксихлорохин. Гидроксихинолин (коммерческое название Plaquenil®) используется более 70 лет при лечении малярии, ревматоидного артрита и красной волчанки. Препарат имеет похожую структуру с хлорохином, но для снижения токсичности к нему добавлена гидроксипропиловый эфир. Исследователи из Франции Gautret et al. (28) провели исследование с выборкой из 36 пациентов у которых был обнаружен SARS-CoV-2. Шестнадцати пациентам проводили обычное симптоматическое лечение, предупреждая развитие бактериальных осложнений при помощи антибиотиков, а двадцати другим назначен экспериментальный курс, который включал 200 мг гидроксихлорохина сульфата трижды в день (перорально), а также шестерым пациентам – по 500 мг азитромицина (для предупреждения пневмонии) в первый день, а затем четыре дня – по 250 мг. На рисунке 3 представлены данные влияния гидроксихлорохина у пациентов с положительным тестом на SARS-CoV-2.

Рекомендуемая дозировка гидроксихлорохина сульфата для лечения COVID-19 составляет 400 мг 2 раза в первые сутки, затем 200 мг 2 раза в сутки в течение 6 дней (29).

7. Аскорбиновая кислота. Аскорбиновая кислота (витамин С) широко используется в качестве терапии коронавирусной инфекции, однако протоколы лечения варьируются от пациента к пациенту, в зависимости от решения лечащего врача.

Рекомендуемая доза: пациенты с коронавирусной инфекцией немедленно получают 1500 мг витамина С внутривенно, затем повторно такое же количество три или четыре раза в день. Эта схема основана на экспериментальном методе лечения пациентов с коронавирусом, который практиковали врачи в Шанхае.

8. Азитромицин. Азитромицин приме-

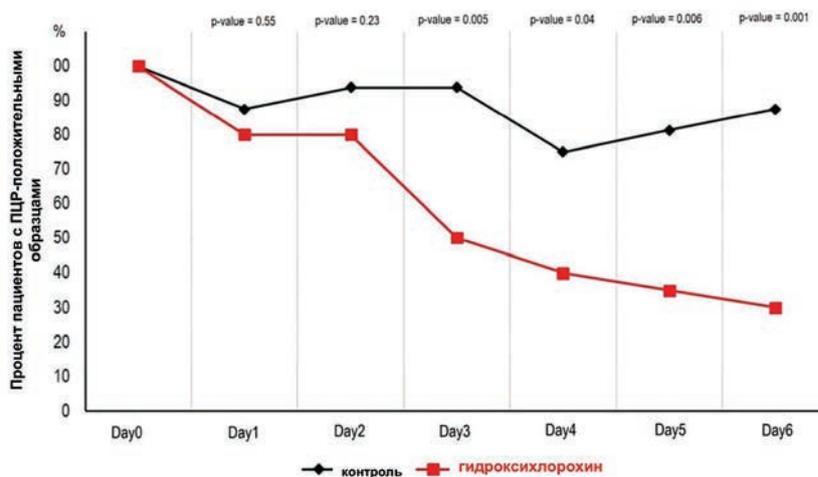


Рис. 3. Процент пациентов с ПЦР-положительными образцами SARS-CoV-2 от момента включения в исследование до 6 дня (контроль: черная линия, гидроксихлорохин: красная линия)

няется при лечении воспалительных заболеваний легких. Обладает иммуномодулирующими свойствами и снижает выработку цитокинов. Иммуномодулирующие механизмы включают снижение хемотаксиса нейтрофилов в легкие путем ингибирования цитокинов, снижение продукции активных форм кислорода, ускорение апоптоза нейтрофилов и блокирование активации ядерных факторов транскрипции (30). В открытом нерандомизированном клиническом исследовании азитромицин вводили в комбинации с гидроксихлорохином для предотвращения бактериальной инфекции (28). На 6-й день у всех пациентов, получавших комбинацию (гидроксихлорохин и азитромицин) не обнаружен SARS-CoV-2 по сравнению с пациентами, получавшими только гидроксихлорохин (рис. 4). Эти предварительные данные пред-

полагают потенциальную выгоду в качестве дополнительной терапии.

9. Рибавирин. Рибавирин (таблетки, перорально) используется в комбинации с интерфероном. Действие изучалось у пациентов с другими коронавирусами (31). Отмечен ряд значительных побочных эффектов (анемия) особенно в дозах для MERS-Cov (800–3600 мг/день). Кроме того, необходимая концентрация, приводящая к ингибированию репликации вируса *in vitro* не может быть достигнута при введении людям. Поэтому рибавирин не считается вариантом для лечения COVID-19.

10. Интерфероны. Обычно используемые в комбинации с рибавирином, интерфероны были изучены у пациентов с другими коронавирусами. Отмечено их неблагоприятное воздействие. Вопрос о том, возможно ли их ис-

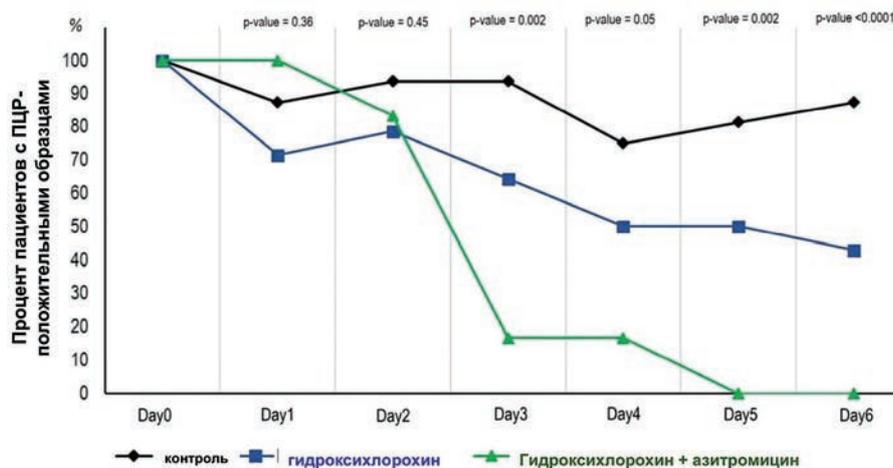


Рис. 4. Использование комбинации гидроксихлорохина и азитромицина для лечения COVID-19

пользовать для лечения инфекции, связанной с SARS-CoV-2 отсается до конца не ясным и спорным.

11. Реконвалесцентная сыворотка. Антитела к SARS-Cov-2, имеющиеся в сыворотке крови недавно переболевших этим коронавирусом пациентов, могут затем вводиться другим людям. Это не вакцинация и такая мера не будет предотвращать заболевания долго, но она обеспечит еще не болевшим кратковременную защиту.

В исследовании Arturo Casadevall (32) отмечается то, что получить антитела сегодня несложно. Хорошая изученность самого метода (опирается на стандартную практику работы банков крови) позволит быстро развернуть систему помощи, тогда как многие разрабатываемые сейчас методы защиты требуют еще достаточно длинных проверок. Если извлечь и обработать антитела, их можно будет вводить прежде всего людям из групп риска, неинфицированным членам семьи зараженного пациента или для укрепления иммунитета медицинских работников, подвергающихся постоянному воздействию патогенов. Исследователи отмечают, что пассивное введение таких антител – единственное средство обеспечения немедленного иммунитета восприимчивых людей. Они могут, в зависимости от количества и состава вводимого препарата антител, защищать от нескольких недель до нескольких месяцев. Необходимо отметить, что заражение медработников – одна из ключевых проблем в эпицентрах заболевания: их не хватает, даже если все здоровы, а каждый заболевший врач или медсестра – потерянные жизни пациентов. Ученые подчеркивают, что вместе с карантинными мерами и усилиями по повышению уровня личной гигиены

метод может помочь сгладить кривую роста числа заболевших. Это, в свою очередь, поможет системам здравоохранения не захлебнуться в потоке больных и не терять пациентов из-за одномоментной нехватки персонала и оборудования. Вместе с тем пока неизвестно, сколько такой сыворотки необходимо для эффективной защиты (рис. 5). В Китае, по неподтвержденным данным, уже начали подобную терапию, так как сам факт формирования антител у переболевших подтвержден. Исторический опыт показывает, что реконвалесцентные сыворотки могут быть более эффективными в профилактике заболеваний, чем в лечении установленных заболеваний.

12. Фавипиравир. Favipiravir (коммерческое название Avigan, компания-производитель Fujifilm Toyama Chemical, Япония) является ингибитором вирусной полимеразы и зарегистрирован в Японии для лечения гриппа. Китайское правительство официально решило использовать разработанный в Японии противогриппозный препарат Avigan для лечения COVID-19. Препарат был признан эффективным в клинических исследованиях двумя медицинскими организациями в Китае. Исследования проводились в городе Ухань (240 пациентов) и Шэньчжень (80 пациентов). При использовании данного препарата было показано, что в среднем температура у тех, кто принимал Avigan, возвращалась к норме в течение 2,5 дней, избавление от кашля за 4,57 дня, отрицательный тест на коронавирус после 4-дней по сравнению с пациентами не получавшими препарат (соответственно – 4,2; 5,98; 11). Рентгеновские снимки подтвердили улучшение состояние легких примерно у 91% пациентов, против 62% кто не получал препарат. Сейчас проводятся ис-

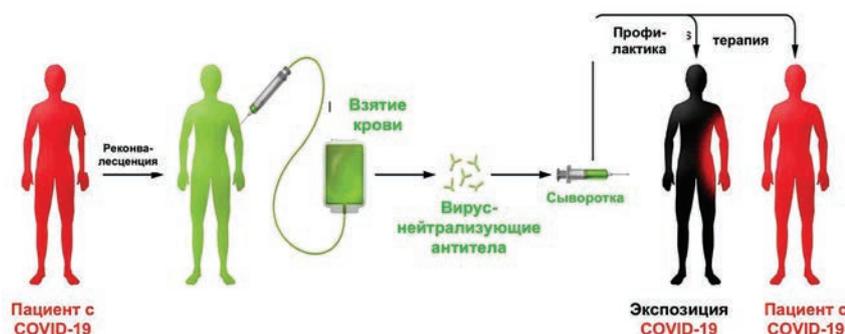


Рис. 5. Схема использования реконвалесцентных сывороток для лечения COVID-19

следования в Китае и Японии фавипиравира в качестве терапевтического средства для лечения COVID-19.

13. Осельтамавир. Oseltamavir (Tamiflu, Hoffmann-LaRoche Ltd., Швейцария) является пролекарством. Его активный метаболит (осельтамивира карбоксилат) конкурентно и избирательно ингибирует нейраминидазу вирусов гриппа типов А и В, фермент, который катализирует процесс высвобождения вновь вирусных частиц из инфицированных клеток, их проникновения в неинфицированные клетки и дальнейшее распространение вируса в организме.

В систематическом обзоре (33) установлено, что осельтамавир и занамивир оказывают решительно незначительный неспецифический терапевтический эффект: они сокращают время, которое проходит до избавления от симптомов гриппа лишь на пол дня – на медианных 16,4 и 14,4 часа. Они не способствуют снижению риска госпитализации и серьезных осложнений гриппа.

С учетом того, что осельтамавир обнаружил некоторую активность в ходе эмпирической терапии инфекции MERS-CoV, его массово назначили в больницах Китая пациентам с диагнозом COVID-19 или подозрением на нее. Подобная специфическая антивирусная терапия никак не отразилась выраженным улучшением клинических исходов (34-36). Тем не менее в Таиланде удалось вылечить пациента, получавшего осельтамавир. Однако терапия была комплексной (пациенту назначили лопинавир/ритонавир).

14. Тоцилизумаб. Tocilizumab (Aktegra®, Roche) – рекомбинантное гуманизованное моноклональное антитело к человеческому рецептору интерлейкина-6 (ИЛ-6) из подкласса иммуноглобулинов IgG1. Тоцилизумаб селективно связывается и подавляет как растворимые, так и мембранные рецепторы ИЛ-6 (sIL-6R и mIL-6R). ИЛ-6 является многофункциональным цитокином, вырабатываемым различными типами клеток, участвующих в паракринной регуляции, системных физиологических и патологических процессах, таких как стимуляция секреции иммуноглобулинов, активация Т-клеток, стимуляция выработки белков острой фазы в печени и

стимуляция гемопоэза. ИЛ-6 вовлечен в патогенез различных заболеваний, в т.ч. воспалительных, остеопороза и новообразований. Показанием для применения является ревматоидный артрит со средней или высокой степенью активности у взрослых как в виде монотерапии, так и в комбинации с метотрексатом и/или с другими базисными противовоспалительными препаратами.

Тоцилизумаб для лечения COVID-19 был успешно использован для лечения «тяжелых» пациентов в Китае и Италии. Однако препарат имеет много побочных реакций, лечение им переносится тяжело.

19 марта 2020 г. компания Roche объявила о проведении совместной работы с Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) по запуску рандомизированного, двойного слепого плацебо-контролируемого клинического исследования III фазы с целью оценки безопасности и эффективности препарата тоцилизумаб (Aktegra®) в дополнение к стандартной терапии у взрослых госпитализированных пациентов с тяжелой COVID-19-ассоциированной пневмонией.

15. Дарунавир. Дарунавир (тоговая марка Prezista) является антиретровирусным препаратом, используемым для лечения и профилактики ВИЧ/СПИДа. Обычно рекомендуется для использования с другими антиретровирусными препаратами.

Компания Janssen, входящая в состав Johnson&Johnson уведомила о бессмысленности клинической проверки препарата (дарунавир+кобистат) в задаче терапии COVID-19. Как утверждает фармпроизводитель, нет никаких клинических или фармакологических доказательств, которые с достаточной достоверностью и убедительностью поддерживали бы идею включения этого препарата в протоколы лечения COVID-19. Результаты клинических исследований DACO-nCoV фазы III (рандомизированных, открытых) в Китае засвидетельствовали неэффективность добавления дарунавира к стандартной терапии COVID-19. Структурный анализ установил, что дарунавир характеризуется незначительным взаимодействием с активным сайтом основной протеазы (Mpro) коронавируса SARS-

CoV-2 и не способен заблокировать этот фермент, необходимый для репликации вируса. Поэтому дарунавир не является терапевтически вариантом для лечения COVID-19.

16. Моноклональные антитела. Иммуно-терапия рассматривается как эффективный метод клинического лечения инфекционных заболеваний. Использование моноклональных антител – это новая эра в профилактике инфекционных заболеваний, которая имеет преимущества с точки зрения специфичности, чистоты, низкого риска заражения переносимым кровью патогеном и является безопасной (37–40). В последние годы были разработаны многие моноклональные антитела против вирусов для применения в клинической практике (41–43). Инфекция CoV начинается с взаимодействия рецептор-связывающего домена, расположенного в белке S и рецептора-мишени на поверхности клетки-хозяина такого АПФ-2. Эффективные варианты лечения SARS-CoV-2 могут основываться либо на использовании противовирусных препаратов широкого спектра действия, либо на использовании специфических терапевтических молекул, которые напрямую прерывают любые стадии жизненного цикла вируса или белка-рецептора, расположенные на поверхности клетки-хозяина, сдерживая связывание вируса и, тем самым, блокируя прикрепление и его проникновение в клетку. Это может быть достигнуто с помощью пептидных ингибиторов слияния, моноклональных антител, нейтрализующих анти-SARS-CoV-2, моноклональных антител против АПФ-2 и ингибиторов протеаз. S-белок, присутствующий на мембране вируса играет жизненно важную роль в этом процессе и является основным антигенным компонентом, ответственным за индукцию иммунного ответа хозяина (44). Следовательно он рассматривается в качестве ключевой цели для разработки потенциальных эффективных терапевтических средств против коронавирусной инфекции. Связывающий рецептор, расположенный в рецептор-связывающем домене (RBD) субъединицы S-белка взаимодействует с клеточным рецептором и опосредует прикрепление вируса к клетке-хозяина (45, 46). Специфические нейтрализую-

щие моноклональные антитела против рецепторсвязывающего домена (RBD) в S-белке или специфические антитела, которые связываются с АПФ-2, могут эффективно блокировать проникновение вируса (рис. 6).

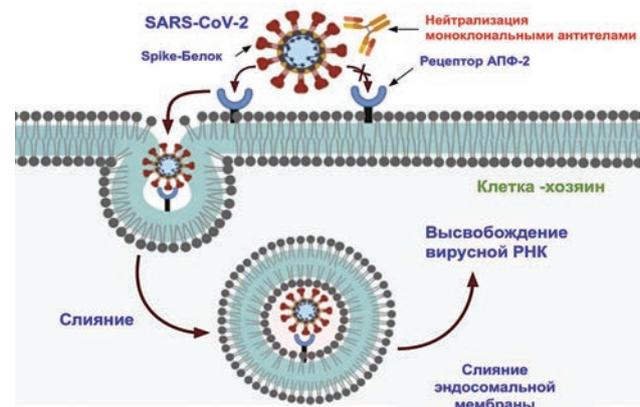


Рис. 6. Схематическое изображение механизма нейтрализации SARS-CoV-2

Эффективность и безопасность этих методов лечения оцениваются в проводимых сейчас клинических исследованиях.

Взаимодействие S-белка и клеточного рецептора необходимо для слияния мембран и проникновения в клетку-мишень. Моноклональные антитела, нацеленные на S-белок SARS-CoV-2 могут потенциально ингибировать связывание вируса с его клеточным рецептором, предотвращая тем самым его проникновение в клетку.

17. Кортикостероиды. Кортикостероидная терапия не рекомендуется при вирусной пневмонии. Тем не менее, ее использование может рассматриваться для пациентов с рефрактерным шоком или острым респираторным дистресс-синдромом (47,48).

18. Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (иАПФ). При введении иАПФ происходит увеличение количества рецепторов АПФ-2, с которыми связывается вирус SARS-CoV-2. Поэтому увеличивается вероятность попадания вируса в клетку. Эта гипотеза доказана по итогам исследования в рамках которого ученые изучили состояние здоровья почти 1100 пациентов в Китае. Однако профессиональные общества в области кардиологии и нефрологии, проанализировав текущие данные, пришли к выводу, что пациентам, которым назначены иАПФ не должны прекращать эту терапию (49).

Табл. 1. Некоторые из проектов для лечения COVID-19

Исследователи	Лекарственный препарат
Synairgen pls	Исследование SNG001 (ингаляционная форма интерферона бета-1а)
Mateon Therapeutics	Исследование OT-101 (ингибитор TGF-β2, фаза III)
Mallinckrodt Pharmaceuticals	Ингаляционный оксид азота при легочных осложнениях
Emergen Biosolutions	Дериваты плазмы с антителами к SARS-CoV-2
Mesoblast Ltd.	Оценивается remestemcel-L при рес-пираторном дистресс-синдроме, обусловленном COVID-19. Препарат представляет собой готовую суспензию культивируемых ex-vivo мезенхиальных стволовых клеток взрослого человека
Nascent Biotech	Исследование Pritumumab
CytoDyn	Исследование Leronlimab (Pro14) как антагонист CCR5

19. Ибупрофен. Обновленные рекомендации ВОЗ и Европейского агентства по лекарственным средствам (EMA) подтверждают отсутствие современных научных доказательств против использования ибупрофена для лечения симптомов COVID-19. В организации заявили, что на основании имеющейся на данный момент информации сообщает следующее:

- ВОЗ не предоставляет рекомендаций против применения ибупрофена;
- ВОЗ консультируется с врачами, которые лечат пациентов с COVID-19 и не имеет сообщений о каких-либо негативных эффектах ибупрофена, кроме уже известных побочных явлениях, которые ограничивают его использование у определенных групп пациентов;
- По информации EMA на данный момент нет научных доказательств, устанавливающих связь между ибупрофеном и ухудшением состояния при COVID-19.

20. Иммуносупрессанты. Проявляют ли противовирусный эффект такие иммуносупрессанты препараты как циклоспорин, микофенолата мофетил и др. пока не известно

III. Разрабатываемые лекарственные препараты

В обзоре реестров клинических исследований по данным на 24 марта 2020 года зарегистрировано 536 исследований, из которых 332 связаны с COVID-19 (50, 51).

Некоторые из проектов для лечения COVID-19 представлены в таблице 1.

IV. Вакцинация

Согласно реестрам исследований и объявлениям компаний сейчас в разработке принимает участие более 40 вакцин.

1. NIAID. Государственное финансирование. Исследования, проводимые в академических учреждениях спонсируемых Национальным институтом аллергии и инфекционных заболеваний США (NIAID) и его собственных научных лабораториях, основываются на массиве предшествующих работ, сделанных во время эпидемий коронавирусов MERS-CoV и SARS-CoV. Имеющиеся наработки, адаптированные под создание вакцины против нового коронавируса SARS-CoV-2 позволят существенно сократить время, которое понадобится для полного цикла разработки.

2. CEPI. Созданная в январе 2017 года Коалиция за инновации в сфере готовности к эпидемиям (CEPI) – некоммерческая организация (спонсируется правительствами Норвегии, Германии, Японии и некоторыми благотворительными фондами). Выделила денежные средства трем разработчикам Moderna, Inovio Pharmaceuticals, CureVac и поставила цель получить вакцину, готовую к испытаниям на людях за 16 недель. За полгода CEPI надеется предоставить полностью рабочую вакцину для профилактики коронавирусной инфекции COVID-19. Американская биотехнологическая компания Moderna

направила первую партию экспериментальной вакцины mRNA-1273 для защиты от COVID-19 в NIAID для проведения клинических исследований первой фазы. По словам специалистов из Moderna, первую партию mRNA-1273 удалось предоставить спустя всего 42 дня с момента секвенирования генома вируса, а клиническое испытание должно начаться к концу апреля. Если оно будет успешным, то далее следует длительный процесс исследований и одобрения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Всемирная организация здравоохранения объявила о начале масштабных исследований известных лекарственных препаратов, которые могут показать результаты при лечении новой коронавирусной инфекции. Учитыва-

вая длительный, дорогостоящий и сложный процесс разработки новых лекарственных средств, в настоящее время стратегия их репрофилирования является приоритетной задачей для немедленного лечения пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2. По мнению ВОЗ, наиболее перспективными и многообещающими вариантами терапии COVID-19 могут стать ремдесивир, хлорохин и гидроксихлорохин, комбинация лопинавир-ритонавир, а также комбинация лопинавир-ритонавир с интерфероном-бета. Разработка и практическое применение вакцины также является еще одним важным аспектом для профилактики COVID-19. В Украине для лечения COVID-19 действует Приказ МОЗ Украины от 02.04.2020 №762 «Надання медичної допомоги для лікування коронавірусної хвороби (COVID-19)».

ЛИТЕРАТУРА

1. Gorbalenya, A. E. et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology* 2020, DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z
2. Kupferschmidt, K.; Cohen, J. Will novel virus go pandemic or be contained? *Science* 2020, 367 (6478), 610–611.
3. Coronavirus Disease (COVID-2019) Situation Reports 1–45; World Health Organization, 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>.
4. Coronavirus is now expected to curb global economic growth by 0.3% in 2020. <https://www.forbes.com/sites/sergeiklebnikov/2020/02/11/coronavirus-is-now-expected-to-curb-global-economic-growthby-03-in-2020/#5de149ad16da>.
5. Du, L.; He, Y.; Zhou, Y.; Liu, S.; Zheng, B.-J.; Jiang, S. The spike protein of SARS-CoV - A target for vaccine and therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, 7 (3), 226–236.
6. Su, S.; Wong, G.; Shi, W.; Liu, J.; Lai, A. C.K.; Zhou, J.; Liu, W.; Bi, Y.; Gao, G. F. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016, 24 (6), 490–502.
7. Zhu, N.; Zhang, D.; Wang, W.; Li, X.; Yang, B.; Song, J.; Zhao, X.; Huang, B.; Shi, W.; Lu, R.; Niu, P.; Zhan, F.; Ma, X.; Wang, D.; Xu, W.; Wu, G.; Gao, G. F.; Tan, W. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 2020, 382 (8), 727–733.
8. Tang, B.; Bragazzi, N. L.; Li, Q.; Tang, S.; Xiao, Y.; Wu, J. An updated estimation of the risk of transmission of the novel coronavirus (2019-nCoV). *Infect Dis Model* 2020, 5, 248–255.
9. Du, L.; He, Y.; Zhou, Y.; Liu, S.; Zheng, B.-J.; Jiang, S. The spike protein of SARS-CoV - A target for vaccine and therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, 7 (3), 226–236.
10. Wrapp, D.; Wang, N.; Corbett, K. S.; Goldsmith, J. A.; Hsieh, C.-L.; Abiona, O.; Graham, B. S.; McLellan, J. S. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV Spike in the prefusion conformation. *Science* 2020, eabb2507.
11. Hoffmann, M.; Kleine-Weber, H.; Schroeder, S.; Kruger, N.; Herrler, T.; Erichsen, S.; Schiergens, T. S.; Herrler, G.; Wu, N.-H.; Nitsche, A.; Muller, M. A.; Drosten, C.; Pohlmann, S. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 2020, DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
12. Gorbalenya, A. E.; Snijder, E. J.; Ziebuhr, J. Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales. *J. Gen. Virol.* 2000, 81 (4), 853–879.
13. Baez-Santos, Y. M.; St. John, S. E.; Mesecar, A. D. The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds. *Antiviral Res.* 2015, 115, 21–38.
14. Lu, R.; Zhao, X.; Li, J.; Niu, P. et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020, 395, 565–574.
15. Morse, J. S.; et al. Learning from the past: possible urgent prevention and treatment options for severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV. *ChemBioChem* 2020, 21 (5), 730–738.
16. Chan, J. F.-W.; Kok, K.-H.; Zhu, Z.; Chu, H.; To, K. K.-W.; Yuan, S.; Yuen, K.-Y. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes Infect.* 2020, 9 (1), 221–236.
17. Dong, N., et al. Genomic and protein structure modelling

- analysis depicts the origin and infectivity of 2019-nCoV, a new coronavirus which caused a pneumonia outbreak in Wuhan, China, bioRxiv 2020, DOI: 10.1101/2020.01.20.913368.
18. Zhao Y, Zhao Z, Wang Y, et al. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCoV. bioRxiv. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.26.919985>
 19. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395:497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).
 20. Holshue ML, De Bolt C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *N Engl J Med* 2020. Available from: <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001191>.
 21. Dayer M.R. et al. Lopinavir; A Potent Drug against Coronavirus Infection: Insight from Molecular Docking Study // *Arch Clin Infect Dis*. 2017 ; 12(4):e13823. doi: 10.5812/archcid.13823.
 22. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Biosci Trends*. 2020 Jan 28. doi: 10.5582/bst.2020.01020. [Epub ahead of print].
 23. China CDC. Diagnosis and treatment protocol for COVID-19 patients (trial version 7, revised).
 24. B. Cao, Y. Wang, D. Wen, A Trial of Lopinavir–Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N engl j med.*, P1-13, 20 March, 2020.
 25. Cortegiani, A., Ingoglia, G., Ippolito, M., Giarratano, A., & Einav, S. (2020). A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. *Journal of Critical Care* .
 26. Gao, J., Tian, Z., & Yang, X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *BioScience Trends* 2020.
 27. Touret, F., & de Lamballerie, X. Of chloroquine and COVID-19. *Antiviral Research*, 104762.
 28. Gautret et al. (2020) Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International Journal of Antimicrobial Agents* – In Press 17 March 2020 – DOI : 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949
 29. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Interim guidance for healthcare professionals on human infections with 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/hcp/index.html>.
 30. Amsden GW. Anti-inflammatory effects of macrolides - an underappreciated benefit in the treatment of community-acquired respiratory tract infections and chronic inflammatory pulmonary conditions? *J Antimicrob Chemother* 2005;55:10-21. PMID: 15590715
 31. Arabi YM, et al. Ribavirin and Interferon Therapy for Critically Ill Patients With Middle East Respiratory Syndrome: A Multicenter Observational Study. *Clin Infect Dis*. 2019 Jun 25. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31925415>.
 32. Arturo Casadevall, Liise-anne Pirofski, The convalescent sera option for containing COVID-19, *J Clin Invest*. 2020. <https://doi.org/10.1172/JCI138003>.
 33. Jefferson T, Jones MA, Doshi P, DelMar CB, Hama R, Thompson MJ, Spencer EA, Onakpoya IJ, Mahtani KR, Nunan D, Howick J, Heneghan CJ. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in adults and children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 4. Art. No.: CD008965. DOI: 10.1002/14651858.CD008965.pub4.
 34. Bleibtreu et al. Clinical management of respiratory syndrome in patients hospitalized for suspected Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in the Paris area from 2013 to 2016 *BMC Infectious Diseases* (2018) 18:331 <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3223-5>.
 35. Nanshan Chen, Min Zhou, Xuan Dong et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study *Lancet* 2020; 395: 507–13.
 36. Chaolin Huang, Yeming Wang, Xingwang Li et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497–506.
 37. Sui J, Li W, Roberts A, Matthews LJ, Murakami A, Vogel L, et al. Evaluation of human monoclonal antibody 80R for immunoprophylaxis of severe acute respiratory syndrome by an animal study, epitope mapping, and analysis of spike variants. *J Virol*. 2005;79(10):5900-6.
 38. Bayry J, Lacroix-Desmazes Sb, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Monoclonal antibody and intravenous immunoglobulin therapy for rheumatic diseases: rationale and mechanisms of action. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007;3(5):262-72.
 39. Both L, Banyard AC, Dolleweerd CV, Wright E, Ma JK-C, Fooks AR. Monoclonal antibodies for prophylactic and therapeutic use against viral infections. *Vaccine*. 2013;31(12):1553-9.
 40. Marasco WA, Sui J. The growth and potential of human antiviral monoclonal antibody therapeutics. *Nat Biotechnol*. 2007;25(12):1421-34.
 41. Davey RT Jr, Dodd L, Proschan MA, Neaton J, Neuhaus Nordwall J, Koopmeiners JS, et al. A randomized, controlled trial of ZMapp for Ebola Virus infection. *N Engl J Med*. 2016;375(15):1448-56.
 42. Gupta P, Kamath AV, Park S, Chiu H, Lutman J, Maia M, et al. Preclinical pharmacokinetics of MHAA4549A, a human monoclonal antibody to influenza A virus, and the prediction of its efficacious clinical dose for the treatment of patients hospitalized with influenza A. *MAbs*. 2016;8(5):991-7.
 43. Caskey M, Klein F, Lorenzi JCC, Seaman MS, West AP Jr, Buckley N, et al. Viraemia suppressed in HIV-1-infected humans by broadly neutralizing antibody 3BNC117. *Nature*. 2015;522(7557):487-91.
 44. Du L, Yang Y, Zhou Y, Lu L, Li F, Jiang S. MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals. *Expert Opin Ther Targets*. 2017;21(2):131-43.
 45. Song Z, Xu Y, Bao L, Zhang L, Yu P, Qu Y, et al. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. *Viruses*. 2019;11(1)(59).
 46. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol* [Preprint]. 2020 [cited 2020 Feb 18]: [25 p.] Available from: <https://jvi.asm.org/content/jvi/early/2020/01/23/JVI.00127-20.full.pdf>
 47. Jin Y., Cai, L., Cheng, Z. et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Military Med Res* 7, 4 (2020).
 48. ESICM, SCCM. Surviving sepsis campaign rapid guidelines of the management of critically ill adults with coronavirus disease 2019 (pre-publication). Available on the World Wide Web at: <https://www.esicm.org/ssc-covid19-guidelines/>.
 49. NephJC (nephrology online journal club) detailed review with links to society statements. Accessed 2020 Mar 16. <http://www.nephjc.com/news/covidace2>.
 50. Maguire BJ, Guirrin PJ. A living systematic review protocol for COVID-19 clinical trial registrations. *Wellcome Open Res* 2020; published online April 2. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.15821.1>.
 51. Infectious Diseases Data Observatory (IDDO), University of Oxford, UK. Living systematic review COVID-19. Coronavirus disease 2019 registered clinical trials. 2020. <https://www.iddo.org/research-themes/covid-19>.

PENTRA C200

АВТОМАТИЧНИЙ БІОХІМІЧНИЙ
АНАЛІЗАТОР



Основні характеристики

Продуктивність	90 тестів/годину, до 270 тестів з ISE-модулем (Na+, K+, Cl-) опційно
Тип зразків	сироватка, плазма, сеча, спинномозкова рідина, гемолізат (HbA1c)
Система для зразків	15 позицій для зразків лоток легко виймається ідентифікація зразків: вбудований зчитувач штрих-кодів та детектор наявності пробірки мікروشприць для зразків: від 2 до 45 мкл (з кроком 0,1 мкл) визначення рівня рідини та присутність фібринового згустку внутрішня та зовнішня промивка пробозабірника
Система для реагентів	15 позицій для реагентів на борту (моно-або двокомпонентні): автоматична ідентифікація та реєстрація регенту ємність касети з реагентом: від 10 до 100 мл (моно-або двокомпонентні) мікروشприць для реагентів: від 20 до 350 мкл (з кроком 0,1 мкл) визначення рівня реагенту доступні відкриті канали
Методи дослідження	абсорбційна фотометрія, турбідиметрія, потенціометрія (опційно)
Реакційні кювети	одноразові кювети 192 кювети (2 штативи x 96 кювет) автоматична система завантаження/видалення кювет
Оптична система	Галогенова лампа 12 В, 20 Вт Світлофільтри: 340, 405, 510, 546, 570, 600, 660, 700 нм
STAT-дослідження	Так
Реакційна система	реакційний об'єм: від 120 до 450 мкл міксер для перемішування коефіцієнт розведення: від 1/2 до 1/30 625 температура реакції: 37 ° C +/- 0,3 ° C
Комп'ютер і програмне забезпечення	Операційна система: Windows XP 10,4 дюймовий кольоровий сенсорний екран база даних: 100 000 результатів можливість підключення до одно-або двонаправленого ЛІС (Лабораторна Інформаційна Система)
Контроль якості	Графіки Леві-Дженінгса, 10 правил Вестгарда
Принтер	Лазерний принтер (опційно)
Вода	Дистильована, ємність 5 л, при максимальному завантаженні витрати 2,1 л/годину
Габарити, вага	75,5x72,5x57 см, 95 кг

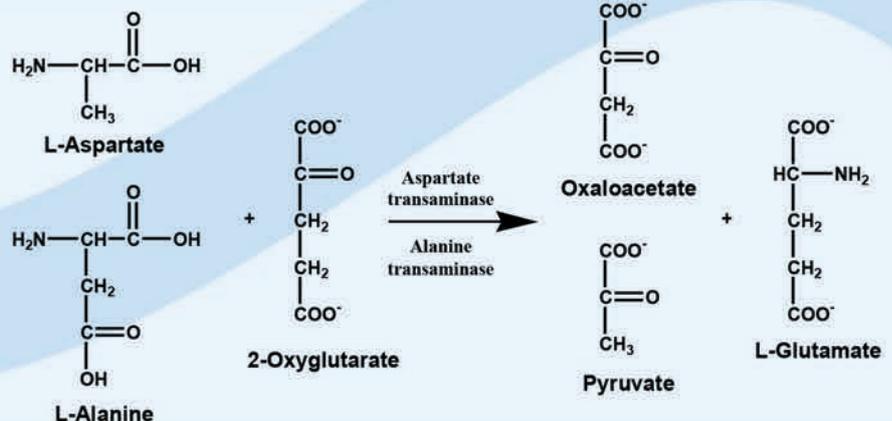
РЕАГЕНТИ ДО БІОХІМІЧНОГО АНАЛІЗАТОРА PENTRA C200

Економічне використання завдяки високій стабільності і компактному розміру реагентних касет (рідинний формат, готові до використання).



Ферменти		Субстрати			
Тест	К-ть в касеті	Тест	К-ть в касеті	Тест	К-ть в касеті
ALP CP	120	Albumin CP	295	Iron CP	350
ALT CP	325	Total Bilirubin CP	135	Lactic acid	240 (10x24)
AST CP	325	Direct Bilirubin CP	115	Magnesium RTU	170 (2x85)
Amylase CP	120	Calcium AS CP	265	Phosphorus CP	100
CK NAC CP	120	Cholesterol CP	305	Total Protein CP	265
CK-MB RTU	90	HDL, Direct CP	235	Total Protein 100 CP	100
GGT CP	275	LDL, Direct CP	100	Triglycerides CP	265
LDH CP	120	CO2 RTU	170 (2x85)	Uric Acid CP	270
		Creatinine 120 CP	130	Urea CP	270
		Glucose PAP CP	265	Urinary Proteins CP	110
Специфічні білки					
Тест	К-ть в касеті	Тест	К-ть в касеті	Тест	К-ть в касеті
ASO CP	100	IgA	80	Transferrin	80
CRP CP	175	IgG	80	HbA1c WB	300
RF CP	120	IgM	80	μ-Albumin CP	136
				Ferritin 2 CP	75

Калібратори і контролю			
Назва калібратору	Розмір	Назва контролю	Розмір
MultiCal	10x3 мл	N Control	10 x 5 мл
HDL Cal	2 x 1 мл	P Control	10 x 5 мл
LDL Cal	2 x 1 мл	CK Control	4 x 5 мл
TPU Cal	3 x 3 мл	Immuno I Control L/H	1x3мл + 1x3 мл
CRP Cal	5 x 1 мл	Immuno II Control L/H	1x3мл + 1x3 мл
CRP HS Cal	2 x 2 мл	μ-Alb Control L/H	1x10мл + 1x10 мл
ASO Cal	5 x 1мл	Low CRP Control	4 x 1 мл
RF Cal	5 x 1 мл	HbA1c WB Control	2x0,25мл + 2x0,25 мл
μ-Alb Cal	5 x 1 мл	Protein Control L/H	2x1мл + 2x1 мл
HbA1c WB Cal	1 x 8 мл + 5 x 2 мл	Urine Control L/H	1 x 10 мл
Protein Cal	4 x 1 мл	SP Control High	3 x 1 мл
SP Cal	5 x 1 мл	SP Control Low	3 x 1 мл



ТОВ «ЛАБІКС» - офіційний представник європейських виробників лабораторного обладнання та витратних матеріалів в Україні.
м.Київ, тел.(044)-227-18-33, www.labix.com.ua

PENTRA C400

АВТОМАТИЧНИЙ БІОХІМІЧНИЙ
АНАЛІЗАТОР



Основні характеристики

Продуктивність	300 тестів/годину, ISE-модуль (Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻) опційно
Тип зразків	сироватка, плазма, сеча, спинномозкова рідина, гемолізат (HbA1c)
Система для зразків	6 штативів з 10 позиціями для первинних чи вторинних пробірок безперервне завантаження ідентифікація зразків: інтегрований штрих-код рідер та детектор присутності пробірки формат пробірок: 2; 3; 4; 6; 7 та 10 мл (діаметр 16 мм) об'єм зразка: від 2 до 380 мкл визначення рівня рідини та присутність згустку автоматичне розведення зразків: від 1/2 до 1/22 500
Система для реагентів	52 позиції для реагентів на борту: 44 у закритій охолоджувальній області (2-10° C) та 8 при кімнатній температурі 25° C ідентифікація реагенту за допомогою інтегрованого штрих-код рідеру об'єм реагенту: від 2 до 600 мкл
Методи дослідження	спектрофотометрія (колориметрія та турбідиметрія) потенціометрія з використанням ISE модуля (прямий – сироватка чи плазма та непрямий – сеча) 7 алгоритмів інтегрованого обчислення
Реакційні кювети	одноразові полістеролові кювети автоматична заміна кювет загрузка кювет: 36 сегментів (432 кювети)
Оптична система	Високоточна оптична система з технологією дифракційної решітки (15 різних довжин хвиль від 340 до 700 нм)
STAT-дослідження	Так
Реакційна система	реакційний об'єм: від 150 до 600 мкл температура реакції: при 37° C реакційний цикл фотометру: 12 сек час реакції: від 1 до 100 циклів перемішування: автоматичний перемішувач з тефлоновим покриттям автоматичне пре-/пост-розведення
Комп'ютер і програмне забезпечення	Операційна система: Windows 10 12 дюймовий кольоровий тач-скрин екран 850 MHz процесор база даних: 10 000 пацієнтів можливість підключення до двонаправленого ЛІС (Лабораторна Інформаційна Система) інтегрована робоча станція перегляд журналу робочого процесу у режимі реального часу
Контроль якості	Графіки Леві-Дженінгса, правила Вестгарда
Принтер	Лазерний принтер
Вода	Дистильована (ємність 10 л), при максимальному завантаженні витрати 2,1 л/годину
Розміри, вага	101x71x63 см, 120 кг

COVID-19 И СОПУТСТВУЮЩИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Появление нового коронавируса, известного как SARS-CoV-2, создало беспрецедентную проблему для мирового медицинского сообщества. Высокая инфекционность, способность передаваться даже во время бессимптомной фазы и относительно низкая вирулентность привели к быстрому распространению вируса во всех географических регионах мира, что вызвало пандемию. Первый случай этого заболевания, известный как коронавирусная болезнь 2019 года или COVID-19, был зафиксирован 8 декабря 2019 г. в провинции Хубэй в Китае (1). С тех пор, в течение короткого времени, всего лишь за 5 месяцев, инфекция распространилась по всему миру. К середине мая 2020 г. уже зафиксировано 4,5 миллиона подтвержденных случаев заражения и более 300 тысяч летальных исходов.

Распространение коронавирусной инфекции представляет особую опасность в отношении людей, имеющих сопутствующие заболевания, особенно в случаях тяжелого течения, где отмечается высокий риск неблагоприятных исходов. Политропность вируса SARS-CoV-2 определяет полиморфность кли-

нических проявлений инфекции. Рецепторы ангиотензин-превращающего фермента-2 (АПФ-2), к которым прикрепляется вирус, представлены на клетках дыхательного тракта, сердца, почек, центральной нервной системы, пищевода, мочевого пузыря. Поэтому поражаться могут любые органы и системы человека. В группе риска находятся категории пациентов, имеющие следующие заболевания (табл. 1).

I. ПОРАЖЕНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ И COVID-19

Если сердечно-сосудистое заболевание (ССЗ) у пациента является основным среди других сопутствующих заболеваний, то при инфицировании вирусом SARS-CoV-2 оно представляет самый высокий уровень смертности.

Общими механизмами, ответственными за сердечно-сосудистые осложнения при COVID-19 являются следующие (2,3):

1. Прямое повреждение миокарда. Вирус SARS-CoV-2 попадает в организм человека и связывается с АПФ-2 на мембране клеток,

Табл.1. Сопутствующие заболевания как предикторы неблагоприятного исхода при заболевании COVID-19

Заболевания			
1.	Сердечно-сосудистые заболевания (ишемическая болезнь сердца, аритмия и др.)	8.	Аутоиммунные и ревматические заболевания
2.	Сахарный диабет (повышенный уровень глюкозы в крови)	9.	Цереброваскулярные заболевания
3.	Гипертония (повышенное давление)	10.	Болезнь почек
4.	Хронические респираторные заболевания (хронический бронхит, хроническая обструктивная болезнь легких)	11.	Болезнь печени
5.	Рак	12.	Метаболический синдром
6.	Цереброваскулярные заболевания	13.	Ожирение
7.	Иммунодефицит	14.	Тромбофилия, антифосфолипидный синдром

который высоко экспрессируется в сердце и легких. АПФ-2 играет важную роль в нейрогуморальной регуляции сердечно-сосудистой системы в норме и при патологии. Связывание SARS-CoV-2 с АПФ-2 приводит к изменению сигнальных путей АПФ-2, что способствует повреждению миокарда.

2. Системное воспаление. Характеризуется острым системным воспалительным ответом и «цитокиновым штормом». Это может вызвать повреждение некоторых органов и полиорганную недостаточность. В некоторых исследованиях были показаны высокие уровни провоспалительных цитокинов у пациентов с тяжелой/критической COVID-19 (4,5).

3. Сдвиг в соотношении метаболического спроса/предложения кислорода миокарду. Увеличение кардиометаболического спроса, связанного с системной инфекцией в сочета-

нии с гипоксией, вызванной острым респираторным заболеванием, может нарушить соотношение спроса и предложения кислорода при остром повреждении миокарда.

4. Разрыв бляшки и коронарный тромбоз. Системное воспаление увеличивает напряжение сдвига из-за повышения коронарного потока крови при разрыве бляшки, что приводит к острому повреждению миокарда. Протромботическое состояние, созданное системным воспалением еще больше увеличивает риск (например, тромбоз стента).

5. Побочные эффекты различных методов лечения. Некоторые противовирусные препараты, кортикостероиды и другие лекарственные средства, применяемые для лечения COVID-19, могут оказывать вредное воздействие на сердечно-сосудистую систему.

6. Электролитный дисбаланс. Электро-

Табл. 1. Сердечно-сосудистые осложнения при заболевании COVID-19

Проявления	Встречаемость	Примечания
Острое повреждение сердца (чаще всего определяется как повышение сердечного тропонина I выше 99-й перцентили)	В среднем 8–12% (7)	Наиболее часто встречается в сообщениях о сердечно-сосудистой патологии; <ul style="list-style-type: none"> ◆ Может возникнуть в результате любого из следующих механизмов: <ul style="list-style-type: none"> – прямое повреждение миокарда; – системное воспаление; – не соответствие потребности миокарда в кислороде; – острое коронарное событие; – ятрогенный. ◆ Сильное неблагоприятное прогностическое значение
Острое коронарное событие	Нет данных, но возможно низкое	Потенциальные механизмы: <ul style="list-style-type: none"> – Разрыв бляшки из-за воспаления; – Обострение ранее существовавшего заболевания коронарной артерии
Систолическая дисфункция левого желудочка	Нет данных	Любая из упомянутых выше причин дисфункции миокарда может привести к острой систолической дисфункции левого желудочка
Сердечная недостаточность	Встречается чаще у умерших пациентов по сравнению с выжившими (52 % против 12%) (4)	Любая из упомянутых выше причин дисфункции миокарда может привести к острой сердечной недостаточности. Повышение метаболической потребности системного заболевания может вызвать острую декомпенсацию ранее существовавшей стабильной сердечной недостаточности
Аритмия	В среднем 16,7% (44% при тяжелой форме и 8,9% при умеренной форме) (8)	Может возникнуть как тахикардия, так и брадикардия, однако точного характера не описано
Потенциально отдаленные долгосрочные осложнения	Слишком рано, чтобы оценить	Слишком рано, чтобы установить для COVID-19. Однако 12-летнее наблюдение пациентов, перенесших инфекцию SARS-CoV, продемонстрировало изменение метаболизма липидов и глюкозы (9)

литный дисбаланс может возникнуть при любом критическом состоянии, особенно у пациентов с заболеванием сердца. Из-за воздействия SARS-CoV-2 на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС) может развиваться гипокалиемия (6).

7. Микроваскулярное повреждение. Вследствие прямого повреждающего действия SARS-CoV-2 на эндотелий сосудов возможно микроваскулярное повреждение, повышенная сосудистая проницаемость.

Сердечно-сосудистые осложнения при COVID-19 представлены в таблице 2.

Контроль уровня биомаркеров

Для стратификации риска и определения тактики ведения пациентов могут быть использованы маркеры тяжести COVID-19 такие как тропонин, миоглобин, Д-димер, высокочувствительный С-реактивный белок, интерлейкин-6, фибриноген, глюкоза (10) (рис. 1).

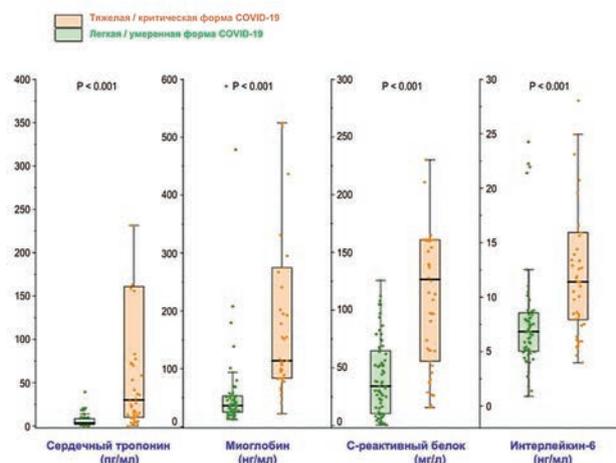


Рис. 1. Биомаркеры для оценки тяжести COVID-19

Рекомендации по определению тропонина. Для выявления пациентов групп риска необходимо проводить регулярный контроль уровня тропонина:

- ежедневно в отделении реанимации и интенсивной терапии;
- через день у стационарных пациентов.

Изолированное повышение тропонина недостаточно для диагностики инфаркта миокарда. Частота острого инфаркта миокарда при COVID-19 низкая.

Таким образом, сочетание COVID-19 с сердечно-сосудистыми заболеваниями создает дополнительные сложности в диагностике, определении приоритетной тактики, изменении порядков маршрутизации пациентов с неотложными состояниями, выбора терапии.

II. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ И COVID-19

Сахарный диабет (СД) является фактором риска смертности от инфекции COVID-19. В многочисленных исследованиях было показано, что смертность среди людей с диабетом примерно в три раза выше по сравнению с общей смертностью от COVID-19 (11-18).

Потенциальные механизмы, которые могут увеличить восприимчивость к COVID-19 у пациентов с СД включают: высокую аффинность клеточного связывания и эффективное проникновение вируса, снижение вирусного клиренса, снижение функции Т-клеток, повышенную восприимчивость к гипервоспалению и «цитокиновому шторму», присутствие сердечно-сосудистых заболеваний (рис. 2).

Повышенная экспрессия АПФ-2 в альвеолярных клетках, миокарде, почках и поджелудочной железе приводит к усилению связывания SARS-CoV-2 с клеткой (19). В рандомизированном исследовании Rao et al. (20) изучались заболевания, которые могли быть связаны с экспрессией АПФ-2 в легких. Интересным оказалось то, что СД имеет причинную связь с этим процессом. Циркулирующие уровни фурина, клеточной протеазы, участвующей в обеспечении проникновения вируса в клетку путем расщепления домена S1 и S2 белка-S, повышены у пациентов с СД (21). Эти исследования подтверждают гипотезу о том, что пациенты с СД более восприимчивы к SARS-CoV-2 инфекции. Недавнее исследование показало, что клиренс SARS-CoV-2 был отсрочен у пациентов с СД (22).

Введение инсулина приводит к снижению экспрессии АПФ-2 (23), в то время как гипогликемические агенты такие как глюкагоноподобный пептид-1, агонисты (лираглутид), тиазолидиндионы, гипотензивные средства (ингибиторы АПФ) и статины активируют АПФ-2.

У пациентов с СД нарушен иммунный от-

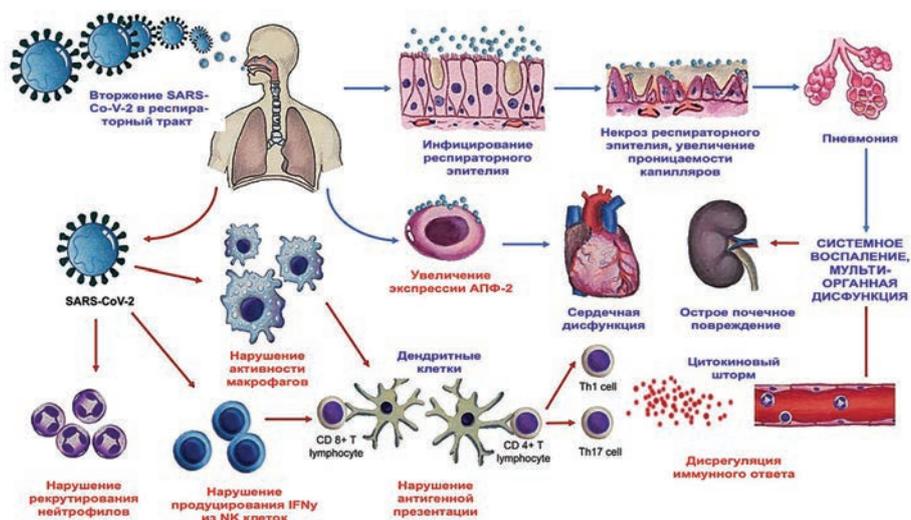


Рис. 2. Потенциальные механизмы, которые могут увеличить восприимчивость к COVID-19 у пациентов с СД

вет на инфекцию как в отношении профиля цитокинов, так и в изменении иммунного ответа, включая активацию Т-клеток и макрофагов. При диабетической патологии SARS-CoV-2 представляет серьезную угрозу из-за затяжного течения пневмонии, высокой вероятности дыхательной недостаточности. При этом пациентам важно контролировать уровень глюкозы в крови и корректировать гликемический индекс. Необходимо отметить, что наибольшее количество смертей от COVID-19 в Украине зафиксировано у тех, кто имел сахарный диабет.

III. АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ

Одной из часто сопутствующих патологий, которая приводит к летальному исходу больных COVID-19 является гипертония, которая считается одной из основных причин смертности в мире.

Ренин-ангиотезин-альдостероновая система (РААС) может быть связана с патогенезом вируса SARS-CoV-2. РААС представляет собой элегантный каскад вазоактивных пептидов, играющих ключевую роль в физиологии человека. Ренин или ангиотензиногеназа – это протеолитический фермент, секретируемый в юкстагломерулярном аппарате почек из предшественника проренина. При нарушении артериального давления происходит снижение почечного кровотока, что способствует выделению ренина, который воздействует на анги-

отензиноген. Ренин запускает преобразование ангиотензиногена в неактивный ангиотензин I (AT I). Далее ангиотензин-превращающий фермент (АПФ-1) преобразовывает AT I в активный сосудосуживающий ангиотензин II (AT II), который оказывает свое воздействие через связь с двумя подтипами рецепторов: AT1 и AT2 (24). При связывании ангиотензина II с рецепторами AT1 происходит высвобождение альдостерона из надпочечников, секреция вазопрессина из гипоталамуса и вазоконстрикция. Вазопрессин и альдостерон приводят к увеличению реабсорбции натрия и свободной воды в почках, что повышает артериальное давление. Ангиотензин II метаболизируется в Ang-(1-7) с помощью ангиотензинпревращающего фермента-2 (АПФ-2). Для проникновения в клетку-хозяина вирус SARS-CoV-2 должен связаться с рецептором АПФ-2, также как и ангиотензин II, что приведет к конкурентному ингибированию рецептора АПФ-2. Кроме того, связывание ангиотензина II с рецепторами AT1 приводит к интернализации, подавлению и расщеплению АПФ-2. Все эти метаболические пути могут помешать SARS-CoV-2 проникнуть в клетку (25) (рис. 3).

Артериальная гипертония может способствовать развитию сердечной недостаточности, инфаркту миокарда, мерцательной аритмии, инсульту и усугубить течение пневмонии в виде осложнений при инфицировании SARS-CoV-2.

В связи с тем АПФ-2 является функцио-

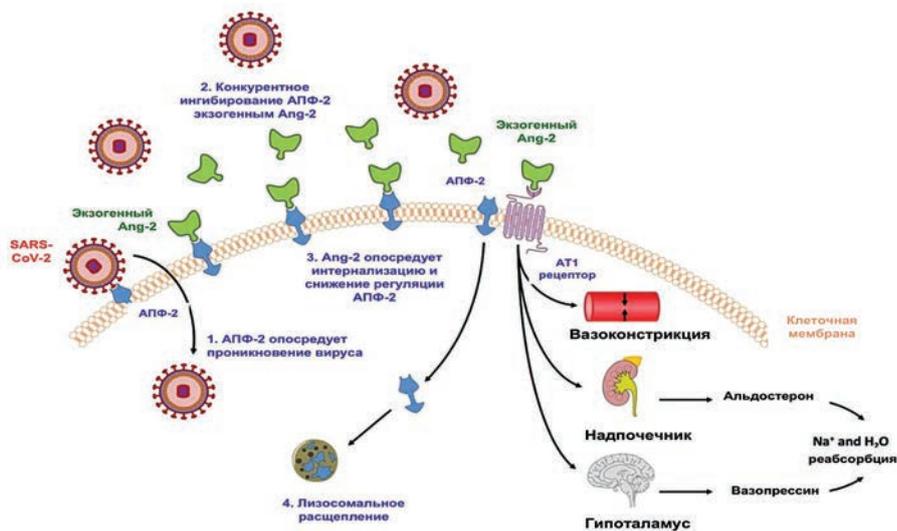


Рис. 3. Эффект ангиотензина II на ренини-ангиотензин-альдостероновую систему и связывание SARS-CoV-2

нальным рецептором для SARS-CoV-2, было высказано предположение, что это может объяснять высокий риск летального исхода при COVID-19 у пациентов с артериальной гипертензией, получающих препараты из группы ингибиторов АПФ или блокаторов рецепторов к ангиотензину. Эти опасения носили гипотетический характер и не получили практического подтверждения. Более того, имеются косвенные данные о возможном протективном действии этих препаратов при инфекции COVID-19. Экспертами Европейского общества кардиологов опубликовано заявление о том, что данных о неблагоприятных эффектах этих препаратов на течение COVID-19 нет и их прием настоятельно рекомендуется продолжать (26).

IV. ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Больные раком более восприимчивы к COVID-19 из-за системного иммуносупрессивного состояния, которое вызвано химиотерапией, таргетной и иммунотерапией, используемой для лечения злокачественного заболевания (27, 28). Потенциальными факторами риска являются люди старшего возраста и имеющие сопутствующие заболевания. Это позволит определить пациентов с плохим прогнозом на ранней стадии. Кроме этого, необходимо учитывать неблагоприятные исходы от COVID-19 при лечении онкологических пациентов после хирургии,

системной химио- или лучевой терапии. В таблице 2 представлены рекомендации по принятию решения о лечении рака при заболевании COVID-19 (29).

Окончательное принятие решения должно быть основано на экспертном онкологическом заключении с учетом состояния отдельных пациентов и локальной системы здравоохранения.

V. ХРОНИЧЕСКИЕ РЕСПИРАТОРНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Поскольку вирус SARS-CoV-2 поражает легкие, пациенты с хроническими заболеваниями легких, такими как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), астма и легочный фиброз более восприимчивы к инфекции COVID-19.

Заболевание COVID-19 можно разделить на три стадии, которые соответствуют различным клиническим стадиям:

1. Бессимптомное состояние (первые 1–2 дня инфекции);
2. Вирус распространяется и мигрирует вниз по дыхательным путям, активируется врожденный иммунный ответ (следующие несколько дней);
3. Гипоксия, инфильтраты «матового стекла» и прогрессирование до острого респираторного дистресс синдрома.

К сожалению, у 20% инфицированных пациентов вирусом SARS-CoV-2, заболева-

Табл. 2. Рекомендации по принятию решения о лечении рака при заболевании COVID-19

Решение относительно немедленного лечения рака при заболевании COVID-19		Риск заболевания от COVID-19 (необходимо учитывать сопутствующие заболевания)		
		Низкий (< 50 лет)	Средний (50-70 лет)	Высокий (> 70 лет)
Риск прогрессирования рака	<p>НИЗКИЙ (безопасно, возможно отложить > 3 месяца).</p> <p>Хирургия:</p> <ul style="list-style-type: none"> – немеланомный рак кожи; – HR+, HER2–, постменопаузальный, не локально распространенный рак молочной железы; – рак предстательной железы низкого или среднего риска; – рак эндометрия тип 1; – большинство раковых заболеваний щитовидной железы; – рак шейки матки стадия IA1. <p>Гематология/онкология:</p> <ul style="list-style-type: none"> – хронические онкологические заболевания. <p>Лучевая онкология:</p> <ul style="list-style-type: none"> – немеланомный рак кожи; – HR+, HER2–, постменопаузальный, не локально распространенный рак молочной железы; – рак предстательной железы низкого или среднего риска; – лимфома низкой степени злокачественности 			
	<p>СРЕДНИЙ (допустимо отложить ~ 3 месяца).</p> <p>Хирургия:</p> <ul style="list-style-type: none"> – рак предстательной железы высокого риска; – рак толстой кишки с низким риском; – рак шейки матки стадия IA1; – меланома низкого риска <p>Гематология/онкология:</p> <ul style="list-style-type: none"> – химиотерапия при распространенном раке молочной железы, толстой кишки, легких; <p>Лучевая онкология:</p> <ul style="list-style-type: none"> – пострезекционный рак эндометрия; – рак предстательной железы высокого риска 			
	<p>ВЫСОКИЙ (в идеале без задержки).</p> <p>Хирургия:</p> <ul style="list-style-type: none"> – рак толстой кишки; – рак эндометрия тип 2; – поджелудочная железа, яичники, печень с подозрением на злокачественную опухоль; – локализованный рак почки T1b; – рак шейки матки стадия IB; – опухоль легкого ≥ 2 см. <p>Гематология/онкология:</p> <ul style="list-style-type: none"> – химиотерапия яичек, прямой кишки; – мелкоклеточный рак легкого; – большинство раковых заболеваний головы и шеи, кроме щитовидной железы. <p>Лучевая онкология:</p> <ul style="list-style-type: none"> – рак легких, прямой кишки, головы и шеи; – гинекологические раковые заболевания 			

Примечание:



Приступить к немедленному лечению



Сбалансировать риски и преимущества немедленного лечения



Отложить немедленное лечение

ние будет прогрессировать до 3 стадии. Показатели смертности при этом составляют около 2%, что заметно изменяется с возрастом. Вирус преимущественно инфицирует альвеолярные клетки типа II по сравнению с клетками типа I (30, 31). Это происходит в периферических и субплевральных отделах легких (32, 33). Размножение SARS-CoV-2 происходит в клетках типа II с продуцированием большого количества вирусных частиц, в результате чего клетки подвергаются апоптозу и погибают (34). Конечным результатом является самореплицирующийся вирусный токсин в виде высвобожденных вирусных частиц, которые заражают соседние клетки типа II. Легкие теряют большое количество клеток типа II и запускается вторичный путь эпителиальной регенерации. Патологическим результатом COVID-19 является диффузное альвеолярное повреждение через богатые фибрином гиалиновые мембраны и некоторых многоядерных гигантских клеток (35). Не нормальное заживление раны может привести к серьезным рубцам и фиброзу. Для восстановления потребуется врожденный и приобретенный иммунный ответ и регенерация эпителия. Люди старшего возраста особенно подвержены риску из-за ослабленного иммунного ответа и снижения способности восстанавливать поврежденный эпителий. Они также имеют сниженный мукоцилиарный клиренс, что может позволить вирусу быстрее распространяться в газообменных отделах легкого (36).

Фенотипы пневмонии при COVID-19.

На основании наблюдений за больными COVID-19, находящимися в отделении интенсивной терапии, обнаружены некоторые различия в проявлении заболевания, которые зависят от взаимодействия трех факторов (37):

1. Тяжесть инфекции, ответ организма, физиологический резерв и коморбидность;
2. Ответная дыхательная реакция к гипоксемии;
3. Время, прошедшее между началом заболевания и наблюдением в стационаре.

Взаимодействие этих факторов приводит к развитию спектра заболеваний, связанных по времени двух фенотипов: тип L и H.

1. COVID-19 и пневмония, тип L:

- низкая эластичность, количество газа в легких практически нормальное;
- низкое соотношение вентиляции к перфузии;
- низкий вес легких;
- низкая рекрутируемость легких.

Можно избежать искусственную вентиляцию легких с соответствующей терапией кислородом. Пациент может реагировать на легочные вазодилататоры (например оксид азота).

2. COVID-19 и пневмония, тип H:

- высокая эластичность;
- высокий шунт справа налево;
- большой вес легких;
- высокая рекрутируемость легких.

Типичен для поздней стадии болезни и классического ОРДС, включая пациентов с длительной неинвазивной вентиляцией (повреждения легких от баротравмы) и сопутствующих заболеваний. Применяется обычная терапия при ОРДС включая «открытый доступ к легким».

Для идентификации пациентов с пневмонией типов L и H применяют компьютерную томографию. Понимание патофизиологии данного процесса имеет решающее значение для надлежащего лечения.

VI. COVID-19 И ПЕЧЕНЬ

Впервые сообщение о нарушении функционирования ферментов печени у пациентов с COVID-19 отмечено в работе Chen et al. (38). Из 99 зарегистрированных случаев с COVID-19 43% пациентов имели повышенные уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и лактатдегидрогеназы. У большинства из них было небольшое повышение аминотрансфераз и только в одном случае были зарегистрированы высокие уровни: АЛТ – 7590 Ед/л и АСТ – 1445 Ед/л. Не было отмечено ни одного случая с внутриспеченочным холестаазом или печеночной недостаточностью. В последнее время появляется все больше данных о связи нарушения биохимии печени с тяжестью COVID-19. Отмечено, что уровни трансаминаз и билирубина в тяжелой и критической

стадии были значительно выше, чем в легкой и тяжелой стадии заболевания (39–41).

Пока не ясно, может ли повреждение печени напрямую быть вызвано самим коронавирусом. В физиологических условиях печень является важным органом, который встречает и фильтрует большое количество инородного материала, а затем поддерживает иммунную толерантность через «ось кишечник-печень». Однако иммунная толерантность нарушается при психологическом стрессовом состоянии у пациентов с тяжелой формой COVID-19. Гиперактивированные иммунные ответы и системное воспаление при «цитокиновом шторме» поражают многие органы, включая кишечник и печень. У пациентов с тяжелой формой значительно повышены уровни Th17 и CD8 Т клетки, интерлейкин-2, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли альфа, гранулоцит-стимулирующий фактор, интерферон-индуцируемый протеин-10, моноцитарный хемотаксический протеин-1, макрофагальный воспалительный протеин-1-альфа (42,43). Стресс-индуцированное повреждение печени может быть связано с гипоксией-реоксигенацией, чрезмерной активацией клеток Купфера и окислительным стрессом, кишечной эндотоксемией, активацией симпатической нервной и адренкортикальной систем у пациентов с COVID-19. Сепсис не является редкостью при тяжелой и критической форме COVID-19, особенно у пациентов с дисбалансом микрофлоры кишечника и циррозом печени (44). Патофизиология, связанная с сепсисом при повреждении печени включает гипоксическое повреждение печени из-за ишемии и шока, холестаза из-за изменения обмена желчи, гепатоцеллюлярной травмы из-за лекарственной токсичности или воспаления (45). Ишемическое/гипоксическое повреждение печени связано с метаболическим ацидозом, перегрузкой кальцием и изменением проницаемости мембран митохондрий, что проявляется повышением аминотрансфераз в сыворотке (46). Умеренный микрососудистый стеатоз указывает на возможные иные причины повреждения печени.

В клинической практике большое количество пациентов используют жаропонижа-

ющие препараты, содержащие парацетамол, который приводит к повреждению печени. Кроме того, пациенты с COVID-19 применяют одновременно несколько противовирусных препаратов, например осельтамивир, арбидол и лопинавир/ритонавир (47,48). Таким образом, если повышение ферментов возникло после использования лекарственного препарата это должно быть подтверждено или исключено. К тому же, учитывая большое распространение хронических заболеваний печени, неалкогольное ожирение печени и др., которые также могут быть одними из альтернативных причин повреждения печени у пациентов с COVID-19. Поэтому в данном контексте вирус SARS-CoV-2 может рассматриваться как так называемый «второй удар».

VII. COVID-19 И ПОЧКИ

Хотя диффузное альвеолярное повреждение и острая дыхательная недостаточность являются основными особенностями COVID-19, тем не менее другие органы также подвергаются воздействию вируса SARS-CoV-2. После инфекции легких, вирус может попасть в кровь и накапливаться в почках, что приведет к повреждению резидентных клеток почки. В большом проспективном когортном исследовании впервые была показана связь между поражением почек и плохим исходом у пациентов с COVID-19 (49). Более 40 % пациентов имели нарушения функции почек, а у 13% отмечены повышенные уровни креатинина и азота мочевины крови. Эти показатели могут быть связаны с плохим прогнозом при COVID-19. Пациенты с повышенным уровнем креатинина в сыворотке более склонны к развитию острого повреждения почек (ОПП).

Поражение почек у пациентов с COVID-19 имеет многофакторный характер. Известно, что SARS-CoV-2 использует АПФ-2 в качестве рецептора для проникновения в клетку. Последние данные РНК-секвенирования показали, что экспрессия АПФ-2 в почках была почти в 100 раз выше, чем в легких (50). Следовательно, во-первых, заболевание почек может быть вызвано попаданием коронавируса в почки через АПФ-2 – зависимый

путь и оказывать прямое цитопатическое действие на ткани почек. Во-вторых, влияние вирус-индуцированного специфического иммунологического эффекта (специфические Т-клетки или антитело) может привести к повреждению почек. В третьих, вирус-индуцированные цитокины или посредники могут косвенно оказывать влияние на почечную ткань при гипоксии, шоке и рабдомиолизе. Врачи-клиницисты должны обладать информацией о заболевании почек у госпитализированных пациентов с COVID-19, так как ранняя диагностика и эффективное вмешательство может помочь снизить смертность пациентов с COVID-19.

Пациенты на гемодиализе. Хотя имеющиеся эпидемиологические данные подтвердили, что ОПП является одним из основных факторов риска COVID-19, необходимо также оценить влияние таких почечных состояний как терминальная стадия почечной недостаточности и трансплантация почки. Анализ образцов периферической крови пациентов с SARS-CoV-2, находящихся на гемодиализе, показал снижение количества Т-клеток и НК-клеток, а также снижение уровней воспалительных цитокинов (51). Это исследование показывает, что пациенты с COVID-19 на гемодиализе могут иметь легкую форму заболевания, которая не перейдет в пневмонию из-за снижения функции иммунной системы. Тем не менее предполагается, что для этих пациентов необходимо применение дополнительных профилактических мер (52).

VIII. НАРУШЕНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И COVID-19

Инфекция, вызванная вирусными, бактериальными или грибковыми патогенами вызывает комплексное системное воспаление. При заболевании COVID-19 происходит повреждение сосудистого эндотелия, активация тромбоцитов и лейкоцитов, что, в свою очередь, ведет к нарушению регуляции образования тромбина как системно, так и локально (например, в легких у больных тяжелой пневмонией). Это приводит к отложению фибрина с последующим повреждением тканей и развитием микроангиопатической патологии.

Активация системы защиты запускает активацию коагуляции, генерацию тромбина и перепроизводство провоспалительных цитокинов (53-55). Хотя основная функция тромбина заключается в образовании сгустка путем активации тромбоцитов и превращения фибриногена в фибрин, тем не менее тромбин оказывает множественные эффекты на клетки, которые в дальнейшем могут усилить воспаление через протеиназа-активированные рецепторы (PAR), главным образом PAR-1 (56). Генерация тромбина контролируется отрицательной обратной связью и физиологическими антикоагулянтами такими как антитромбин III, ингибитор пути тканевого фактора и протеинном С. При воспалении все эти три контрольных механизма могут быть повреждены. Результатом этого является снижение концентрации антикоагулянтов из-за сокращения их продуцирования и увеличения потребления. Такой дефект прокоагулянтно-антикоагулянтного баланса приводит к развитию микротромбоза, диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) и полиорганной недостаточности как свидетельство тяжелой формы COVID-19 с повышением концентрации Д-димера (57). Присутствие повышенного уровня Д-димера у пациентов с COVID-19 свидетельствует о присутствии венозного тромбоэмболизма, нарушении вентиляции-перфузии, рапространении легочной эмболии и является одним из предикторов смертности (58). Известно, что пациенты с сопутствующими заболеваниями и люди старшего возраста имеют повышенные уровни Д-димера, поэтому риск смертности у них значительно выше. Так, у умерших пациентов содержание Д-димера составляло в среднем 2,12 мкг/мл (0,77–5,27 мкг/мл), в то время как у выживших средний показатель составлял 0,61 мкг/мл (0,35–1,29 мкг/мл). Кроме того, у пациентов определяли количество тромбоцитов и протромбиновое время (ПВ). Было отмечено, что ПВ у пациентов с летальным исходом было незначительно увеличено и составляло в среднем 15,5 с (14,4–16,3 с) против 13,6 с (13,0–14,3 с) у выживших при норме 11,5–14,5 с. Известно, что тромбоцитопения является плохим прогностическим призна-

ком и приводит к более высокому проценту смертности (59).

Очень важным является проводить постоянный мониторинг показателей системы гемостаза, а именно определение уровней Д-димера, ПВ, количества тромбоцитов и фибриногена в отделениях реанимации и интенсивной терапии для выявления ухудшения состояния пациентов (табл. 3).

Табл. 3. Мониторинг показателей системы гемостаза для выявления ухудшения показателей у пациентов с COVID-19

Порядок проведения показателей системы гемостаза	
1.	Д-димер
2.	Протромбиновое время
3.	Тромбоциты
4.	Фибриноген

Основываясь на опубликованных данных по септической коагулопатии, проведение мониторинга значений Д-димера, ПВ, количества тромбоцитов и содержания фибриногена очень важны для определения показаний к назначению лечения и госпитализации у пациентов с COVID-19 (60,61). При ухудшении этих параметров должна проводиться более «агрессивная» реанимационная помощь.

Международное общество по тромбозу и гемостазу (International Society on Thrombosis and Haemostasis, ISTH) рекомендует опре-

делять уровень Д-димера, ПВ и количество тромбоцитов у всех пациентов с COVID-19 инфекцией. Падение количества тромбоцитов обусловлено образованием тромбоцитарных сгустков (тромбов), которые, в свою очередь, приводят к нарушению микроциркуляции в тканях (происходит повышенное потребление тромбоцитов для образования первичного тромбоцитарного тромба). Увеличение уровня Д-димера в плазме (продукт распада фибрина) указывает на фибринолитический процесс и является ключевым показателем тромботического состояния. ПВ (отражает время свертывания крови) при ДВС-синдроме увеличено. Снижение количества тромбоцитов и значительное повышение содержания Д-димера является прогностически неблагоприятным фактором.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекционный процесс может спровоцировать развитие и обострение болезни. Сопутствующие и хронические заболевания такие как ССЗ, гипертония, диабет, ХОБЛ, заболевания почек, печени и др. являются факторами риска и предикторами неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19. Тщательная оценка и знание этих факторов может установить риск стратификации и позволит более целенаправленно и конкретно осуществлять подходы к лечению данной категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese center for disease Control and prevention. J Am Med Assoc 2020.
2. Xiong TY, Redwood S, Prendergast B, Chen M. Coronavirus and the cardiovascular system: acute and long-term implications. Eur Heart J 2020.
3. Li B, Yang J, Zhao F, et al. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. Clin Res Cardiol 2020.
4. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Lancet 2020.
5. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet 2020;395:497e506.
6. Chen D, Li X, Song Q, Hu C, Su F, Dai J. Hypokalemia and clinical implications in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). medRxiv 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.27.20028530>.
7. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. Clin Chem Lab Med 2020.
8. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. J Am Med Assoc 2020.
9. Wu Q, Zhou L, Sun X, et al. Altered lipid metabolism in recovered SARS patients twelve years after infection. Sci Rep 2017;7:9110.
10. Tânia Mara Varejão Strabelli and David Everson Uip. COVID-19 and the Heart. Arq Bras Cardiol. 2020; [online]. ahead print.
11. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan,

- China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020; doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
12. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
 13. Zhang JJ, Dong X, Cao YY, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. 2020; doi: 10.1111/all.14238.
 14. Yang J, Zheng Y, Gou X, et al. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2020; pii: S1201-9712(20)30136-3. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.017.
 15. Ruan Q, Yang K, Wang W, et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*. 2020; doi: 10.1007/s00134-020-05991-x.
 16. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020; doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.
 17. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: Summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020; doi: 10.1001/jama.2020.2648.
 18. Leung C. Clinical features of deaths in the novel coronavirus epidemic in China. *Rev Med Virol*. 2020;e2103. doi: 10.1002/rmv.2103.
 19. Lukassen S, Chua RL, Trefzer T, Kahn NC, Schneider MA, Muley T, Winter H, Meister M, Veith C, Boots AW, Hennig BP, Kreuter M, Conrad C, and Eils R. SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are predominantly expressed in a transient secretory cell type in subsegmental bronchial branches. *bioRxiv*: 2020.2003.2013.991455, 2020.
 20. Rao S, Lau A, and So H-C. Exploring diseases/traits and blood proteins causally related to expression of ACE2, the putative receptor of 2019-nCov: A Mendelian Randomization analysis. *medRxiv*: 2020.2003.2004.20031237, 2020.
 21. Fernandez C, Rysa J, Almgren P, Nilsson J, Engstrom G, Orho-Melander M, Ruskoaho H, and Melander O. Plasma levels of the proprotein convertase furin and incidence of diabetes and mortality. *J Intern Med* 284: 377-387, 2018.
 22. Chen X, Hu W, Ling J, Mo P, Zhang Y, Jiang Q, Ma Z, Cao Q, Deng L, Song S, Zheng R, Gao S, Ke H, Gui X, Lundkvist Å, Li J, Lindahl JF, and Xiong Y. Hypertension and Diabetes Delay the Viral Clearance in COVID-19 Patients. *medRxiv*: 2020.2003.2022.20040774, 2020.
 23. Roca-Ho H, Riera M, Palau V, Pascual J, and Soler MJ. Characterization of ACE and ACE2 287 Expression within Different Organs of the NOD Mouse. *Int J Mol Sci* 18, 2017.
 24. Dihn D.T., Frauman A.G., Jonston C.I., Fabiani M.E. Angiotensin receptors:distribution, signaling and function // *Clinical Sci.* – 2001. – 100. – P. 481–492.
 25. Busse et al. COVID-19 and the RAAS—a potential role for angiotensin II? *Critical Care* (2020) 24:136 <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02862-1>.
 26. Giovanni de Simone, Chair ESC Council on Hypertension. Position Statement of the ESC Council on Hypertension on ACE-Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers, 13 Mar 2020.
 27. Abhishek Shankar, Deepak Saini, Shubham Roy et al. Cancer Care Delivery Challenges Amidst Coronavirus Disease – 19 (COVID-19) Outbreak: Specific Precautions for Cancer Patients and Cancer Care Providers to Prevent Spread. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* · April 2020. DOI:10.31557/APJCP.2020.21.3.569.
 28. Liang W, Guan W, Chen R, et al. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol*. 2020;21:335-337. [PMID: 32066541] doi:10.1016/S1470-2045(20)30096-6
 29. Kutikov A., Weinberg D.S., Edelman E.M. A War on Two Fronts: Cancer Care in the Time of COVID-19. *Annals of Internal Medicine* © 2020 American College of Physicians
 30. Mossel EC, Wang J, Jeffers S, et al. SARS-CoV replicates in primary human alveolar type II cell cultures but not in type I-like cells. *Virology* 2008; 372: 127–135.
 31. Weinheimer VK, Becher A, Tonnie M, et al. Influenza A viruses target type II pneumocytes in the human lung. *J Infect Dis* 2012; 206: 1685–1694.
 32. Wu J, Wu X, Zeng W, et al. Chest CT findings in patients with corona virus disease 2019 and its relationship with clinical features. *Invest Radiol* 2020; in press.
 33. Zhang S, Li H, Huang S, et al. High-resolution CT features of 17 cases of corona virus disease 2019 in Sichuan province, China. *Eur Respir J* 2020; in press.
 34. Qian Z, Travanty EA, Oko L, et al. Innate immune response of human alveolar type II cells infected with severe acute respiratory syndrome-coronavirus. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013; 48: 742–748.
 35. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 420–422.
 36. Ho JC, Chan KN, Hu WH, et al. The effect of aging on nasal mucociliary clearance, beat frequency, and ultrastructure of respiratory cilia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 983–988.
 37. Gattinoni L, Chiumello D, Pietro Caironi P. et. al. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? *Intensive Care Med*. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06033-2>.
 38. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet* 2020;395:507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
 39. Lu H, Ai J, Shen Y, Li Y, Li T, Zhou X, et al. A descriptive study of the impact of diseases control and prevention on the epidemics dynamics and clinical features of SARS-CoV-2 outbreak in Shanghai, lessons learned for metropolis epidemics prevention. *medRxiv* 2020 (v1). doi: 10.1101/2020.02.19.20025031.
 40. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395: 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
 41. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
 42. Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L, et al. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP). *medRxiv* 2020 (v1). doi: 10.1101/2020.02.10.20021832.
 43. Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L, et al. Reduction and functional exhaustion of t cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *medRxiv* 2020 (v1). doi: 10.1101/2020.02.18.20024364.
 44. Joung JY, Cho JH, Kim YH, Choi SH, Son CG. A literature review for the mechanisms of stress-induced liver injury. *Brain Behav* 2019;9:e01235. doi: 10.1002/brb3.1235.
 45. Strnad P, Tacke F, Koch A, Trautwein C. Liver - guardian, modifier and target of sepsis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:55–66. doi: 10.1038/nrgastro.2016.168.

46. Li J, Li RJ, Lv GY, Liu HQ. The mechanisms and strategies to protect from hepatic ischemia-reperfusion injury. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19: 2036–2047.
47. Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020. pii: S2468-1253(20)30057-1. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30057-1.
48. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J Gen Intern Med* 2020. doi: 10.1007/s11606-020-05762-w.
49. Cheng Y, Luo R, Wang K et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney International* (2020).
50. Li Z, Wu M, Guo J, et al. Caution on kidney dysfunctions of 2019-nCoV patients 2020. *MedRxiv preprint*. Available at: <https://doi.org/10.1101/2020.02.08.20021212>. Accessed March 14, 2020.
51. Ma Y, Diao B, Lv X, Zhu J, Liang W, Liu L, et al. 2019 novel coronavirus disease in hemodialysis (HD) patients: report from one HD center in Wuhan, China. *medRxiv*. 2020 Feb; 2020.02.24.20027201.
52. CDC. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 Feb [cited 2020 Mar 12]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/infection-control/control-recommendations.html>
53. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013;13:34-45.
54. Delabranche X, Helms J, Meziani F. Immunohaemostasis: a new view on haemostasis during sepsis. *Annals of intensive care* 2017;7:117.
55. Jackson SP, Darbousset R, Schoenwaelder SM. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood* 2019;133:906-18.
56. Jose RJ, Williams AE, Chambers RC. Proteinaseactivated receptors in fibroproliferative lung disease. *Thorax* 2014; 69: 190–92.
57. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 844–47.
58. Chen J, Wang X, Zhang S, et al. Findings of acute pulmonary embolism in COVID-19 patients. *SSRN Electron J* 2020; published online April 11. DOI:10.2139/ssrn.3548771.
59. Vanderschueren S., De Weerd A., Malbrain M. et al. Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. *Crit Care Med*. 2000;28(6):1871–6. DOI: 10.1097/00003246-200006000-00031.
60. Levi M., Toh C.H., Thachil J., Watson H.G. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. *British Committee for Standards in Haematology. Br J Haematol*. 2009;145(1):24–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07600.x.
61. Di Nisio M., Baudo F, Cosmi B. et al; Italian Society for Thrombosis and Haemostasis. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation: Guidelines of the Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISST). *Thromb Res*. 2012;129(5):e177–84. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.08.028.

BIOSEN C_line

Современный автоматический анализатор определения глюкозы и лактата для профессионального применения в клиниках, лабораториях, спортивной медицине...



- Производительность:
60 / 100 / 120 / 150 проб в час, в зависимости от модификации прибора, и соответственно имеют кассету на 1 / 5, ротор на 15 / 20 позиций для проб
- Диапазон измерения
глюкоза: 0,5 – 50 ммоль/л (9 – 900 мг/дл)
лактат: 0,5 – 40 ммоль/л (5 – 360 мг/дл)
- Чип-сенсор (без мембран!) для удобного и быстрого применения
- Тип пробы: цельная кровь, плазма, сыворотка
- Объем пробы 20 мкл
- Встроенная программа контроля качества
- Автоматическая калибровка
- Простая пробоподготовка (не требует дополнительного разведения, капилляр с кровью помещаются в пробирку содержащую гемолизирующий раствор)
- Русскоязычное меню

Дистрибутируется через:

LABIX Аналізатори
ТОВ «ЛАБІКС» реактиви
сервіс
(044) 227-18-33
(044) 227-98-33
www.labix.com.ua

BIOSEN C-LINE

Измерение
глюкозы/лактата
ориентировано на
ваши нужды

НЕВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ В КОНТЕКСТЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ COVID-19

Более 100 лет назад пандемия гриппа или так называемая «испанка» в 1918 году унесла по меньшей мере 50 миллионов жизней по всему миру (по некоторым данным 100 миллионов). Теперь человечество сталкивается с другой пандемией – вспышкой нового коронавируса SARS-CoV-2, заставляя нас жить с этим вирусом, возможно, в течение длительного времени. С декабря 2019 года ученым и врачам много стало известно об этом заболевании под названием COVID-19 (1). Уровень смертности для COVID-19 оценивается в диапазоне от 0,5 до 3,5%, а клинический прогноз по заболеванию составляет: 40% – легкая форма, 40% – умеренная, 15% – тяжелая, 5% – критическая. К группам повышенного риска относятся лица с коморбидностью и пожилые люди (сердечно-сосудистые заболевания, диабет, гипертония, респираторные заболевания), лица с иммунодефицитом (ВИЧ-инфекция, низкий уровень CD4), беременные женщины.

На данном этапе в борьбе с COVID-19 очень важным является определение лабораторных предикторов, которые позволят стратифицировать риск развития легких и тяжелых форм заболевания, дифференцировать низкий и высокий риск смертности, что предоставит возможность оптимизировать лечение (2).

Важными лабораторными показателями, которые изменяются у пациентов с COVID-19 представлены в таблице 1.

Табл. 1. Изменение лабораторных показателей у пациентов с COVID-19

I. Гематологические параметры	
Лейкоциты (количество)	Повышение
Нейтрофилы (количество)	Повышение
Лимфоциты (количество)	Снижение
Эозинофилы (количество)	Снижение
Тромбоциты (количество)	Снижение
Гемоглобин	Снижение
II. Биохимические параметры	
Альбумин	Снижение
Аланинаминотрансфераза	Повышение
Аспаратаминотрансфераза	Повышение
Общий билирубин	Повышение
Азот мочевины	Повышение
Креатинин	Повышение
Креатинкиназа	Повышение
Креатинкиназа-MB	Повышение
Лактатдегидрогеназа, лактат	Повышение
Миоглобин	Повышение
Сердечный тропонин I	Повышение
III. Параметры гемостаза	
Д-димер	Повышение
Протромбиновое время	Повышение
IV. Маркеры воспаления	
С-реактивный белок	Повышение
Ферритин сыворотки	Повышение
Прокальцитонин	Повышение
Интерлейкин-2R	Повышение
Интерлейкин-6	Повышение
Интерлейкин-8	Повышение
Интерлейкин-10	Повышение

I. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

Изменения гематологических параметров были описаны в первых исследованиях у пациентов с COVID-19 (табл. 2) (3).

Наиболее распространенные гематологические изменения включают лимфоцитопению (4,5), нейтрофилию (6–8), легкую тромбоцитопению (35%) или реже тромбоцитоз (9). О присутствии атипичных, реактивных лимфоцитах имеются лишь единичные сообщения (10).

1. Лимфоцитопения

Лимфоцитопения – это снижение количества лимфоцитов в абсолютных значениях в общем анализе крови ниже $1,0 \times 10^9/\text{л}$. Лимфоциты играют решающую роль в поддержании иммунного гомеостаза организма и принимают участие в ответе на действие внешних патогенных факторов. В основе возможности обеспечить эффективную стратегию лечения COVID-19 лежит понимание механизмов снижения уровня лимфоцитов в крови. Было предложено четыре потенциальных механизма, ведущих к дефициту лимфоцитов (11,12):

1. вирус может напрямую воздействовать на лимфоциты, что приводит к их гибели;

2. лимфоциты экспрессируют коронавирусный рецептор АПФ-2 (ангиотензин-превращающий фермент-2), который является мишенью вируса;
3. вирус может непосредственно разрушать лимфатические органы;
4. острое снижение лимфоцитов связано с дисфункцией лимфоцитов при прямом повреждении вирусом таких органов как тимус и селезенка.

Фундаментальные исследования подтвердили, что фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкин-6 (IL-6) и другие провоспалительные цитокины могут индуцировать дефицит лимфоцитов (13). Ингибирование лимфоцитов возможно под влиянием метаболитических молекул при гиперлактатической ацидемии, связанной с повышенным уровнем лактата, что приводит к подавлению пролиферации лимфоцитов (14). Поэтому показатель лимфоцитопении является надежным и эффективным маркером тяжести течения COVID-19 (рис. 1).

У детей лимфопения встречается значительно реже. В одном из мета-анализов (15) сообщается о выявлении лимфоцитопении только у 3% детей в отличие от других подобных вирусных инфекций, таких как SARS при которых лимфоцитопения была значительно более распространенным явлением у детей.

Табл. 2. Изменения гематологических показателей при COVID-19

Показатель	Единицы	Выборка	Контроль	Тяжелые проявления COVID-19	Изменение
Лейкоциты	$\times 10^9/\text{л}$	n=187	4.64	7.39	Увеличение
Лейкоциты	$\times 10^9/\text{л}$	n=452	4.90	5.60	Увеличение
Моноциты	%	n=452	8.40	6.60	Снижение
Эозинофилы	%	n=452	0.20	0.00	Снижение
Базофилы	%	n=452	0.20	0.10	Снижение
Лимфоциты	$\times 10^9/\text{л}$	n=5700	1.14	0.74	Снижение
Лимфоциты	$\times 10^9/\text{л}$	n=452	1.00	0.80	Снижение
Нейтрофилы	$\times 10^9/\text{л}$	n=187	3.07	6.01	Увеличение
Нейтрофилы	$\times 10^9/\text{л}$	n=452	3.20	4.30	Увеличение

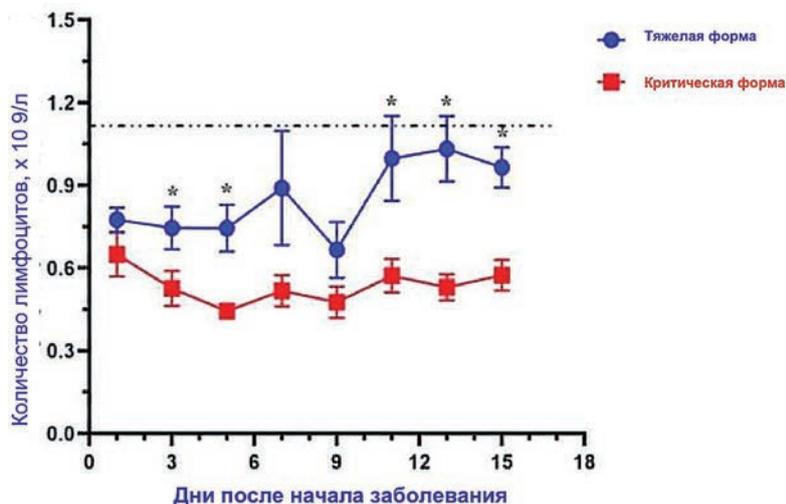


Рис. 1. Снижение количества лимфоцитов при тяжелой и критической форме COVID-19

2. Лейкоцитоз

Лейкоцитоз, независимо от того, представляет ли он нейтрофилию, лимфоцитоз или оба вместе отмечается у немногих пациентов, инфицированных SARS-CoV-2. Так, лейкоцитоз был выявлен у 11,4% пациентов с тяжелой формой заболевания по сравнению с 4,8 % пациентами с легкой или средней формой (16).

3. Нейтрофилия

Данные по нейтрофилии являются неполными. Тем не менее, полученные результаты свидетельствуют о том, что нейтрофилия является выражением «цитокинового шторма» и гипервоспалительного состояния, которые играют важную роль в патогенезе COVID-19 (17). Описаны циркулирующие гранулоциты с цитоплазматическими и ядерными морфологическими аномалиями. Они обычно предшествуют увеличению реактивных лимфоцитов (18). Нейтрофилия может также указывать на наложение бактериальной инфекции.

4. Тромбоцитопения

Тромбоцитопения является показателем тяжелого заболевания у пациентов с COVID-19 о чем свидетельствует недавний обзор доступных рецензируемых данных. Это не удивительно, поскольку подсчет тромбоцитов используется такими системами как

Multiple Organ Dysfunction Score (MODS), Simplified Acute Physiology Score (SAPS) II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II как индикатор тяжести заболевания. Метаанализ девяти исследований показал, что тромбоцитопения отмечалась у большинства пациентов. У пациентов с тяжелой формой тромбоцитопения выявляется в 57,7% случаев, против 31,6% с менее значительными симптомами (19). Кроме того, развернутый общий анализ крови, при котором определяется средний объем тромбоцитов и количество ретикулярных тромбоцитов может быть полезен при стратификации риска и принятии клинического решения.

5. NLR – коэффициент соотношения нейтрофилов к лимфоцитам как индикатор прогноза COVID-19

Исследования в Китае в период борьбы с коронавирусом показали, что пороговое значение $NLR = 3,13$ (чувствительность – 0,87, специфичность – 0,71).

Рекомендации:

- если $NLR > 3,13$ (возраст > 50 лет), то пациенты должны быть переведены в палату интенсивной терапии;
- если $NLR < 3,13$ (возраст < 50 лет), то пациенты должны могут самоизолироваться дома или в стационаре больницы.

NLR считается важным параметром для прогнозирования и управления рисками при COVID-19.

II. БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

Биохимический мониторинг пациентов с COVID-19 с помощью диагностических исследований *in vitro* имеет решающее значение для оценки тяжести и прогрессирования заболевания и служит для мониторинга при терапевтическом вмешательстве. К таким тестам относятся лактатдегидрогеназа (ЛДГ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), азот мочевины, креатинин, креатинкиназа, общий билирубин, миоглобин, тропонины, С-реактивный белок, ферритин, альбумин, калий, лактат.

1. Лактатдегидрогеназа

Лактатдегидрогеназа представляет собой фермент, экспрессируемый почти во всех клетках организма человека, включая клетки сердца, печени, мышцы, легкие, почки и катализирует превращение пирувата в лактат. Повышенный уровень ЛДГ в сыворотке может быть выявлен после повреждения любого из множества типов клеток, которые обычно экспрессируют ЛДГ. Как и следовало ожидать, повышение лактатдегидрогеназы часто встречается у пациентов с COVID-19 в отделениях интенсивной терапии и указывает на неблагоприятный прогноз (20) (Рис.2).

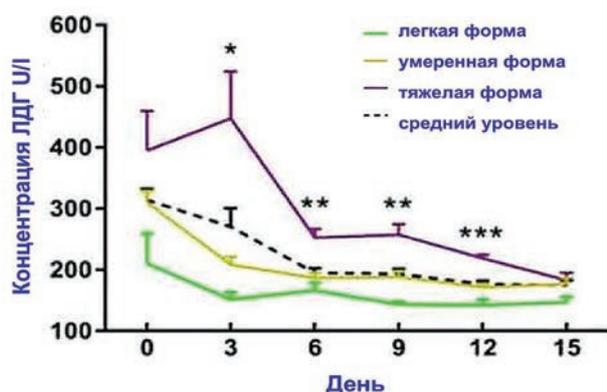


Рис. 2. Динамический профиль лактатдегидрогеназы при различных формах COVID-19

2. Аланинаминотрансфераза

Аланинаминотрансфераза является ферментом, который продуцируется гепатоцитами и повышается при заболевании печени.

АЛТ, как и многие другие биохимические маркеры увеличена у пациентов с тяжелой формой COVID-19. Измерение активности фермента может быть полезна при наблюдении за пациентами, поступившими в отделение интенсивной терапии.

3. Билирубин

Повышение уровня билирубина сыворотки отмечается при ряде заболеваний, связанных с печенью и желчевыводящей системой. Отмечены увеличенные уровни билирубина у пациентов, поступившими в отделение интенсивной терапии по сравнению с пациентами, имеющими менее тяжелые формы.

4. Креатинин

Креатинин сыворотки является важным показателем функции почек. Это продукт постоянного метаболизма белка в печени, который выводится почками. Повышение уровня креатинина в сыворотке указывает на снижение скорости клубочковой фильтрации. Повышенный креатинин чаще выявляется у пациентов с хронической почечной недостаточностью в сочетании с увеличением азота мочевины в сыворотке.

5. Альбумин

Альбумин относится к водорастворимым белкам. Снижение альбумина в сыворотке крови связано с различными заболеваниями, такими как недоедание, ожоги, сепсис, повреждение почек. У пациентов с COVID-19 уровень сывороточного альбумина свидетельствует о плохом прогнозе.

6. Тропонины

Повышенные уровни в сыворотке специфичных для сердца тропонинов (тропонин I и тропонин T) являются основными индикаторами для диагностики инфаркта миокарда и острого коронарного синдрома. Сейчас известно, что тропонины являются значимым показателем при тяжелой форме у пациентов с COVID-19. У пациентов с гипертонией и

другими сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями необходимо проводить исследование уровней тропонина для оценки повреждения миокарда (21).

III. ПАРАМЕТРЫ ГЕМОСТАЗА

Заболевание COVID-19 предрасполагает как к венозному, так и артериальному тромбозу из-за активации коагуляции, вызванной сочетанием чрезмерного воспаления, активации тромбоцитов, эндотелиальной дисфункции. Поэтому измерение маркеров коагуляции очень важно для лучшего понимания патогенеза тромбозов у пациентов с COVID-19. Кроме того, нарушение параметров гемостаза служит важными показателями заболевания начиная от незначительного увеличения Д-димера и пролонгирования времени коагуляционных тестов до диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром).

Наиболее общие нарушения параметров гемостаза у пациентов с COVID-19 включают повышение уровней Д-димера, фибриногена, продуктов деградации фибрина, протромбинового времени (ПВ), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), фактора Виллиебранда, фактора VIII, снижение количества тромбоцитов и нормальные уровни природных антикоагулянтов таких как протеины С и S, антитромбина III (табл. 3). Для мониторинга тяжести заболевания рекомендовано прежде всего измерить уровни Д-димера, фибриногена, протромбиновое время и количество тромбоцитов.

Табл. 3. Изменение параметров гемостаза при COVID-19

Параметры	COVID-19
Д-димер	Повышение
Фибриноген	Повышение
Продукты деградации фибрина	Повышение
ПВ	Удлинение
АЧТВ	Удлинение
Тромбиновое время	Удлинение
Фибриноген	Повышение
Фактор VIII	Повышение
Тромбоциты	Снижение

В совокупности все эти гемостатические изменения указывают на некоторые формы коагулопатии, которые могут свидетельствовать о предрасположенности к тромбозам.

IV. МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ

Воспаление, подавление иммунной системы и активация цитокинов играют ключевую роль в протекании COVID-19. На ранних стадиях коронавирусной инфекции происходит активация эпителиальных и дендритных клеток, которые экспрессируют провоспалительные цитокины и хемокины включая IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IFN- α/β , фактор некроза опухоли (TNF), хемокины (CCL2, CCL3, CCL5), IP-10 и т. д., которые находятся под контролем иммунной системы. В большинстве случаев этот процесс предотвращает дальнейшее развитие инфекции. Однако иногда возникает дисфункциональный иммунный ответ, который может вызвать тяжелую системную патологию (25–27). Это происходит при усилении воспалительного ответа, что приводит к апоптозу клеток или некрозу с последующим увеличением проницаемости кровеносных сосудов и накоплением макрофагов, моноцитов и нейтрофилов в альвеолах легких (28).

«Цитокиновый шторм». Синдром высвобождения цитокинов (CSR), также известный под названием «цитокиновый шторм», является одним из явлений, который играет существенную роль при COVID-19. CRS был описан как острый системный воспалительный синдром или чрезмерный иммунный ответ, характеризующийся лихорадкой и полиорганной дисфункцией. CRS-подобный синдром, который развивается после тяжелой вирусной инфекции, часто называют «цитокиновым штормом», а не CRS. Патология «цитокинового шторма» до конца не изучена, однако известно, что вирусы обычно атакуют клетки респираторного эпителия, которые запускают цитокиновый ответ. При этом рецепторы иммунных клеток распознают вирус и высвобождают провоспалительные цитокины такие как гамма-интерферон (INF-g), фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкины (IL) и хемокины. INF-g активи-

рует макрофаги, которые продуцируют IL-6, TNF- α и IL-10. Макрофаги являются основными клетками, рекрутируемые первоначально в альвеолярное пространство в ответ на вирусную инфекцию. Они увеличивают выработку цитокинов и привлекают дополнительные иммунные клетки в пораженную область (CD4 и CD8). На рисунке 3 представлена модель «цитокинового шторма» и Т-клеточной лимфопении, связанной с COVID-19. По сравнению с не инфицированными пациентами, умеренные формы COVID-19 демонстрируют увеличение IL-6 и снижение общего количества Т-лимфоцитов, особенно CD4+ и CD8+ Т-клеток. Тяжелые формы COVID-19 дополнительно увеличивают продуцирование IL-6, IL-2R, IL-10 и TNF- α , в то время как количество Т-лимфоцитов, особенно CD4+ и CD8+, а также IFN- γ существенно снижаются. Уровень «цитокинового шторма» и Т-клеточная лимфопения связаны с повреждением легких, дыхательной недостаточностью и неблагоприятным исходом.

Как только происходит очищение организма от вируса, иммунная система прекращает свою деятельность. Однако при «цитокиновом шторме» этот процесс не завершается как обычно. Воспалительные цитокины проникают в кровообращение, вызывая системные цитокиновые бури и, в конечном итоге, полиорганную дисфункцию. В этом случае

IL-6 влияет на процесс свертывания крови, вызывая ДВС-синдром и кардиомиопатию, INF-g может вызвать лихорадку, озноб, головную боль, головокружение и усталость, тогда как TNF- α приводит к лихорадке, недомоганию, кардиомиопатии и повреждению клеток. Генетические особенности организма могут быть одним из факторов, которые объясняют почему у некоторых людей развиваются только легкие формы, в то время как у других тяжелые.

Маркеры «цитокинового шторма» при COVID-19 тяжелого течения представлены в таблице 4.

Нерегулируемый и избыточный иммунный ответ потенциально может привести к повреждению легких и снижению выживаемости. При инфицировании SARS-CoV-2 характерны следующие изменения показателей иммунной системы:

- IL-6, IL-10 и TNF- α возрастают во время болезни и снижаются при выздоровлении;
- пациенты, нуждающиеся в госпитализации, имеют значительно более высокие уровни IL-6, IL-10 и TNF- α и сниженное количество CD4 и CD8 Т-клеток;
- уровень IL-6, IL-10 и фактора некроза опухоли- α обратно коррелирует с количеством CD4 и CD8 ассоциированных с лимфопенией.

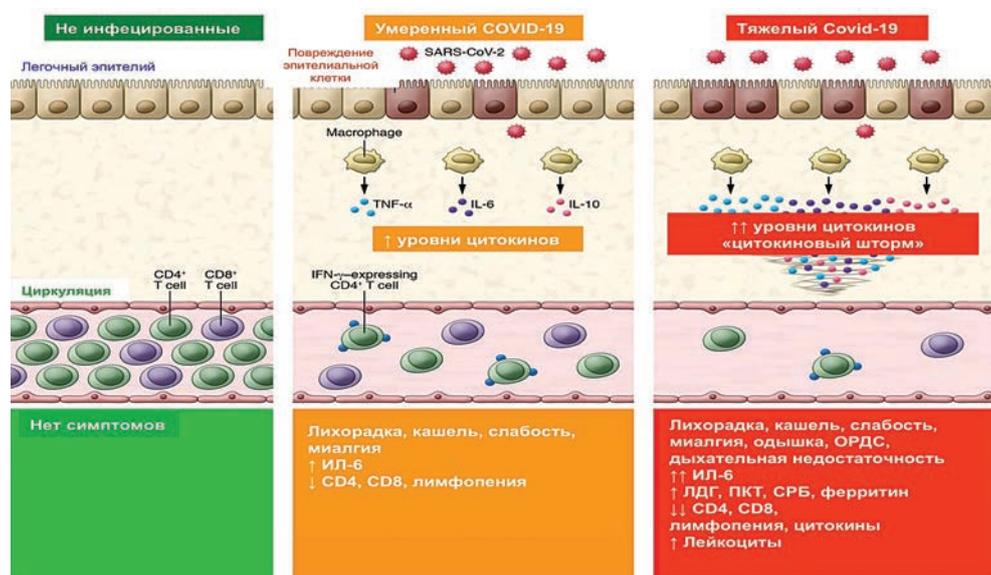


Рис. 3. «Цитокиновый шторм» и Т-клеточная лимфопения, связанные с тяжестью COVID-19

Табл. 4. Маркеры «цитокинового шторма» при COVID-19 тяжелого течения

Показатель	Единицы	Выборка	Контроль	Тяжелые проявления COVID-19	Изменение
В-клетки	%	n=44	18.5	21.80	Увеличение
Т-клетки	%	n=44	63.40	60.00	Снижение
НК	%	n=44	17.20	16.90	Снижение
Трег-клетки	кл/мкл	n=44	4.50	3.70	Снижение
IL-2R	Ед./мл	n=452	663.5	757.0	Увеличение
IL-6	пг/мл	n=452	13.30	25.20	Увеличение
IL-8	пг/мл	n=452	13.70	18.40	Увеличение
IL-10	пг/мл	n=452	5.00	6.60	Увеличение
TNF- α	пг/мл	n=452	8.40	8.70	Увеличение
ЛДГ	МЕ/л	n=10	135-225	433-537	Увеличение
Д-димер	мкг/мл	n=10	≤ 0.5	0.6-18.7	Увеличение
Ферритин	мкг/мл	n=10	250	1424-2036	Увеличение
CRP	мг/л	n=10	< 0.5	8.7-16.5	Увеличение

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Спустя 6 месяцев от выявления первых случаев COVID-19, которые обусловлены наличием в организме вируса SARS-CoV-2, применение методов лабораторной диагностики может служить надежной системой для оценки тяжести и последствий этого нового заболевания. В клинической практике врачам необходимо обращать внимание на изменение гематологических, биохимических, гемостазиологических параметров и маркеров воспаления у носителей SARS-CoV-2.

ЛИТЕРАТУРА

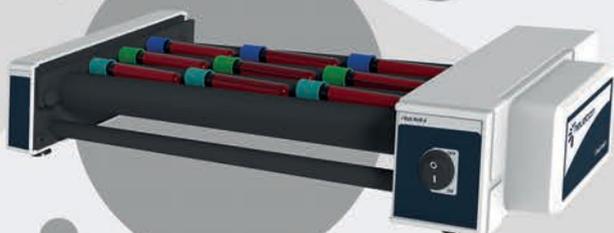
- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England journal of medicine*. 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>.
- Brandon Michael Henry, Maria Helena Santos de Oliveira, Stefanie Benoit, Mario Plebani and Giuseppe Lippia. 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; aop. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0369>.
- Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020.
- Ruan Q, Yang K, Wang W, et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*. 2020. Mar 3. doi: 10.1007/s00134-020-05991-x.
- Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, et al. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis*. 2020 Mar 30. pii: jiaa150. doi: 10.1093/infdis/jiaa150.
- Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- Qian GQ, Yang NB, Ding F, et al. Epidemiologic and Clinical Characteristics of 91 Hospitalized Patients with COVID-19 in Zhejiang, China: A retrospective, multi-centre case series. *QJM*. 2020 Mar 17. pii: hcaa089. doi: 10.1093/qjmed/hcaa089.
- Mo P, Xing Y, Xiao Y, et al. Clinical characteristics of refractory COVID-19 pneumonia in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 16. pii: ciaa270. doi: 10.1093/cid/ciaa270.
- Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2020 Mar 13;506:145-148. doi: 10.1016/j.cca.2020.03.022.
- Fan BE, Chong VCL, Chan SSW, et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol*. 2020 Mar 4. doi: 10.1002/ajh.25774. Epub ahead of print. Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 395, 507–513 (2020).
- Zhu, N. et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med*. 382, 727–733 (2020).

12. Wang, D. et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 323, 1061–1069 (2020).
13. Liao, Y. C. et al. IL-19 induces production of IL-6 and TNF- α and results in cell apoptosis through TNF- α . *J. Immunol.* 169, 4288–4297 (2002).
14. Fischer, K. et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood* 109, 3812–3819 (2007).
15. Henry BM, Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in children with novel coronavirus disease 2019. *Clin Chem Lab Med.* 2020.
16. Lippi G, Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clin Chem Lab Med.* 2020.
17. Mehta P, McAuley DF, Brown M, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020;395(10229):1033-1034. doi: 10.1002/ajh.25824.
18. Zini G, Rotundo F, Bellesi S, d'Onofrio G. Morphological anomalies of circulating blood cells in COVID-19 infection. *Am J Hematol.* 2020; (accepted on 6-4-2020) doi: 10.1002/ajh.25824.
19. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2020;506:145-148.
20. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med.* 2020.
21. Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis.* 2020.
22. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020.
23. Zhang L, Xinsheng Y, Qingkun Fan et al. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. doi: 10.1111/JTH.14859.
24. Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer is associated with severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pooled analysis. *Thromb Haemost* In press.
25. C.Y. Cheung, L.L.M. Poon, I.H.Y. Ng, W. Luk, S.-F. Sia, M.H.S. Wu, K.-H. Chan, K.-Y. Yuen, S. Gordon, Y. Guan, J.S.M. Peiris, Cytokine responses in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected macrophages in vitro: possible relevance to pathogenesis. *J. Virol.* 79 (2005) 7819–7826, <https://doi.org/10.1128/JVI.79.12.7819-7826.2005>.
26. H.K.W. Law, C.Y. Cheung, H.Y. Ng, S.F. Sia, Y.O. Chan, W. Luk, J.M. Nicholls, J.S.M. Peiris, Y.L. Lau, Chemokine up-regulation in SARS-coronavirus-infected, monocyte-derived human dendritic cells, *Blood* 106 (2005) 2366–2374, <https://doi.org/10.1182/blood-2004-10-4166>.
27. H. Chu, J. Zhou, B.H.-Y. Wong, C.C. Li, J.F.-W. Chan, Z.-S. Cheng, D. Yang, D. Wang, A.C.-Y. Lee, C.C. Li, M.-L. Yeung, J.-P. Cai, I.H.-Y. Chan, W.-K. Ho, K.K.-W. To, B.-J. Zheng, Y. Yao, C. Qin, K.-Y. Yuen, Middle east respiratory syndrome coronavirus efficiently infects human primary T lymphocytes and activates the extrinsic and intrinsic apoptosis pathways, *J. Infect. Dis.* 213 (2016) 904–914, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv380>.
28. R. Channappanavar, A.R. Fehr, R. Vijay, M. Mack, J. Zhao, D.K. Meyerholz, S. Perlman, Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice, *Cell Host Microbe* 19 (2016) 181–193, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.01.007>.



АВТОМАТИЧНІ ПРИЛАДИ ДЛЯ РОЗМІШУВАННЯ ЗРАЗКІВ У ПРОБІРКАХ

Продукція компанії Neuation Technologies відповідає системі управління якістю ISO 9001:2015 та сертифікована ISO 13485:2003 підприємством з виробництва лабораторного обладнання. Усі прилади розробляються і виготовляються на підприємствах в Індії та використовуються для розмішування зразків крові, в'язких рідин та суспензій.



iRollRnR4

Прилад для розмішування

Технічні характеристики

до 9 пробірок по 7 мл зразка	тип руху: прокручування і розхитування
швидкість: 30 об/хв	розмір ролика: 300 мм x 30 мм
точність швидкості: +/- 2 об/хв	робоча температура: 5-40° C
кут нахилу: +/- 3°	зйомні ролики: так
тривалість роботи: безперервно	розміри: 475x210x80 мм
тип мотору: синхронний мотор змінного струму	вага: 2 кг

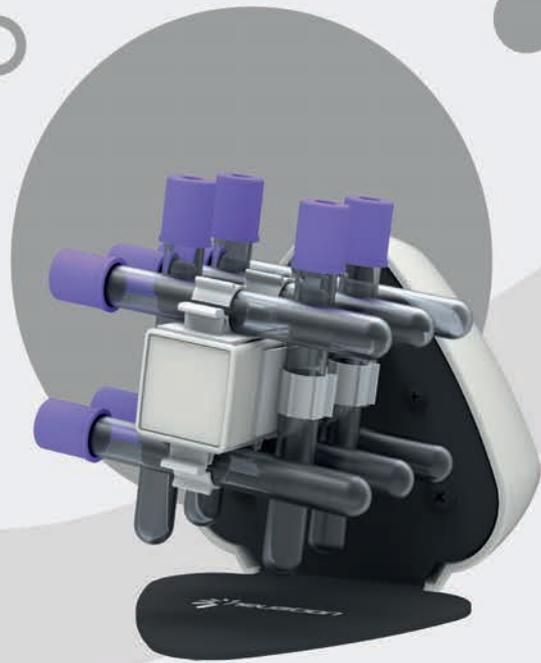


iRollRnR6

Прилад для розмішування

Технічні характеристики

до 15 пробірок по 7 мл зразка	програмований імпульсний режим
швидкість: від 10 до 80 об/хв. з кроком 1 об/хв	робоча температура: 5-40° C
тривалість роботи: від 1 до 99 хв. або безперервно	зйомні ролики: так
кут нахилу: +/- 30	розміри: 505x293x90 мм
цифровий дисплей для простого налаштування	вага: 5,5 кг



iRollRnJr

Прилад для розмішування

Технічні характеристики

до 10 пробірок по 6 мл	тип руху: ротація під фіксованим кутом 90°
компактний дизайн	робоча температура: 5 - 40° C
круговий рух забезпечує м'яке й ефективне перемішування	рівень вологості: < 80%
міцна металева конструкція	робоча напруга: 110-220 В
швидкість: 30 об/хв	споживання енергії: 110 В:3 Вт, 220 В:6Вт
точність швидкості: +/- 2 об/хв	зйомні ролики: так
режим таймера: безперервний	розміри: 190x135x133 мм
тип мотору: синхронний мотор змінного струму, безшумна робота	вага: 760 г
дозволяє легко знімати та встановлювати насадки для заміни та чищення	



ТОВ «ЛАБІКС» - офіційний представник європейських виробників лабораторного обладнання та витратних матеріалів в Україні.
м.Київ, тел.(044)-227-18-33, www.labix.com.ua

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 И МОНИТОРИНГ МАРКЕРОВ КОАГУЛЯЦИИ

К настоящему времени подтверждена связь между инфекциями и нарушением системы гемостаза (1). Так, в частности, бактериальные инфекции, вызванные грамотрицательными микроорганизмами, способны активировать систему свертывания путем высвобождения тканевого фактора, с последующей активацией внешнего пути и индуцировать активацию тромбина клеточной стенкой бактерий (2). Ранняя фаза бактериальной инфекции приводит к состоянию гиперкоагуляции, которая характеризуется увеличением уровня D-димера и может привести к ДВС-синдрому (3). С другой стороны, вирусные инфекции также могут вызвать такие серьезные осложнения как острый респираторный дистресс синдром (ОРДС) и полиорганную недостаточность (ПОН), являющимися состояниями, связанными с гиперкоагуляцией (4). Появление нового вируса под названием SARS-CoV-2 в конце декабря 2019 г. привело к пандемии в мире (5). Болезнь, которую вызывает данный вирус или COVID-19, затронула более 10 миллионов человек и по состоянию на конец июня 2020 года умерло около 500 000 человек. Заболевание протекает от бессимптомного или легкого течения до тяжелой формы с полиорганной недостаточностью и летальным исходом (6–8).

Коагулопатия в форме венозной и артериальной тромбоэмболии является одним самых тяжелых последствий заболевания с неблагоприятным прогнозом (9–12). Несмотря на применение в профилактических и терапевтических целях антикоагулянтов, остается повышенным риск тромбоза, что может свидетельствовать о специфических патофизиологических механизмах нарушения гемостаза при COVID-19 (13,14). У пациентов с тяжелой формой COVID-19 (5–10%) развивается не

только гипоксия и чрезмерное воспаление, но и частые тромботические проявления, такие как ТЭЛА (тромбоэмболия легочной артерии) в 20–30% случаев, ТГВ (тромбоз глубоких вен), катетер-связанный и артериальный тромбоз, ишемический инсульт (15–18). Кроме этого наблюдается микрососудистый тромбоз, акросиндром, синдром капиллярной утечки с повреждением легких, почек и сердца, что приводит к полиорганной недостаточности.

На рисунке 1 схематически представлена легочная внутрисосудистая коагулопатия при COVID-19. Провоспалительные и прокоагулянтные агенты получают доступ к капиллярной сети (нижний круг). Низкое давление сосудистой системы и тонких стенок сосудов в проксимальном направлении к альвеолярной сети запускает иммунотромбоз с помощью различных механизмов, таких как локальное повышение провоспалительных цитокинов, повреждение ткани стенки сосуда с продуцированием тканевого фактора и прямое повреждение мелких сосудов. Усиленная фибринолитическая активность (обнаруживается на ранних стадиях увеличением уровня D-димера) может не контролировать формирование обширного микротромбоза, что приводит к развитию легочного инфаркта, кровоизлиянию и легочной внутрисосудистой коагулопатии, вызванной COVID-19.

«Цитокиновый шторм» как индуктор синдрома системного воспалительного ответа. Вирус SARS-CoV-2 проникает в клетки-хозяина, связываясь с ангиотензин-превращающим ферментом (АПФ-2), который высоко экспрессируется в альвеолярных эпителиальных клетках легких, миоцитах сердца, сосудистой эндотелии и других клетках (рис. 2) (19, 20).

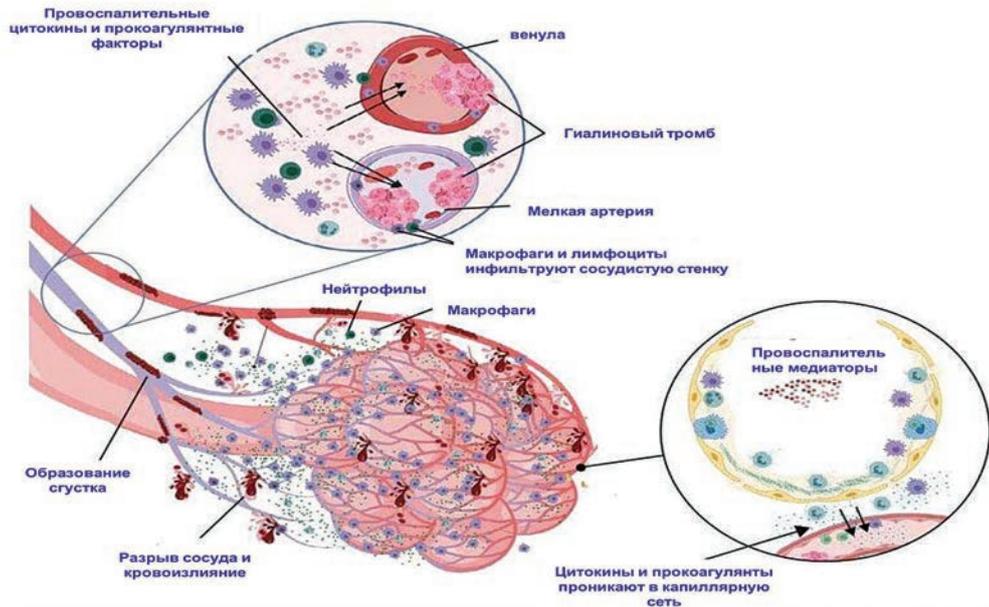


Рис. 1. Легочная внутрисосудистая коагулопатия при COVID-19

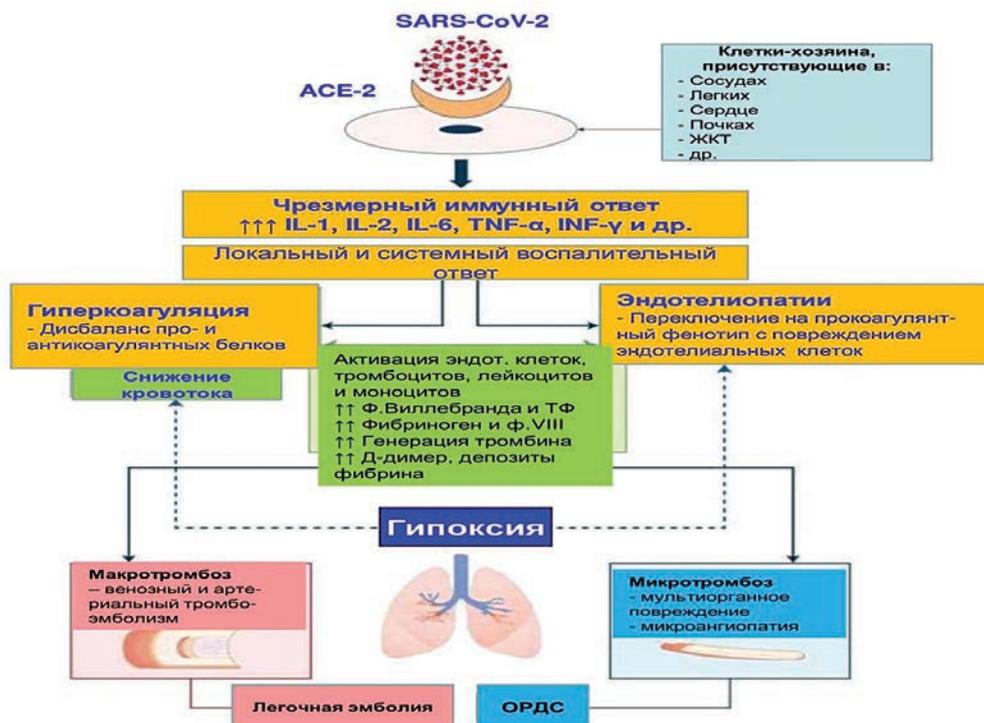


Рис. 2. Патофизиология тромбоза у критических больных пациентах с COVID-19

При агрессивном проникновении SARS-CoV-2 в легкие происходит нарушение функционирования эпителиальных и эндотелиальных клеток, что приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF α) (21,22).

Связь между SARS-Co-2-ассоциированной гипоксией, воспалительным ответом и гиперкоагуляцией с эндотелиопатией. В этой концепции центральная роль принад-

лежит эндотелию. Во-первых, COVID-19-ассоциированная гипоксия приводит к сужению сосудов и замедлению кровотока, что способствует эндотелиальной дисфункции. Во-вторых, гипоксия может сдвигать базальный антитромботический и противовоспалительный фенотип эндотелия в направлении прокоагулянтного и провоспалительного фенотипа путем изменения факторов транскрипции, таких как ген роста раннего ответа

1 (Egr1) и фактора индуцируемый гипоксией 1 (HIF-1). В третьих, COVID-19-связанные провоспалительные цитокины вызывают повреждение эндотелия в результате высвобождения сверхбольших мультимеров фактора Виллебранда (ULVWF), участвующих в первичном гемостазе и сверхэкспрессию тканевого фактора (23). Сверхбольшие мультимеры фактора Виллебранда действуют как мост между активированными тромбоцитами, поврежденными эндотелиальными клетками и субэндотелием. Циркулирующие моноциты, нейтрофилы, тромбоциты и микрочастицы связываются с активированным эндотелием, тем самым предоставляют возможность тканевому фактору и нейтрофильным внеклеточным ловушкам (NETs) инициировать коагуляцию через TF/FVIIa. Это приводит к генерированию чрезмерного количества тромбина с последующим состоянием гиперкоагуляции (24) и усилению дисбаланса между прокоагулянтными факторами (FV, FVIII, фибриноген) и природными антикоагулянтами (антитромбин III, протеины C и S).

Макро- и микротромбозы при гиперкоагуляции и эндотелиопатии. Снижение кровотока, вызванное вазоконстрикцией и стазом вместе с эндотелиальным повреждением и гиперкоагуляцией (триада Вирхова) приводит к повышенному риску тромбоза у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (25,26). Возникновение венозного микротромбоза (тромбоз глубоких вен и легочная эмболия) усиливается при чрезмерном образовании тромбина и усугубляется дисбалансом между про- и антикоагулянтными факторами, тогда как при артериальном микротромбозе (инсульт) наблюдается увеличение уровней ULVWF (27). Интересно, что патофизиология COVID-19-связанного системного микротромбоза может быть специфична и, в частности, отличаться от диссеминированной внутрисосудистой коагуляции. Действительно, в отличие от сепсис-индуцированной коагулопатии, изменение количества тромбоцитов, коагуляционных факторов и фибриногена очень редко приводят к кровотечениям у пациентов с тяжелой формой COVID-19, что свидетельствует о том, что ДВС-синдром является не частым осложнением при COVID-19

(28). Микротромбоз легких является патофизиологической основой COVID-19-связанного острого респираторного дистресс синдрома. У критических пациентов с COVID-19 наблюдаются изменение альвеол и легочные микро васкулиты, связанные с образованием комплекса тромбоцит-ULVWF, которые прикрепляются к поврежденному эндотелию и приводят к внутриальвеолярному отложению фибрина, образуя локализованный диссеминированный микротромб (29). Это связано с локальным нарушением тонкого баланса между системой свертывания у пациента и фибринолитическими путями в альвеолярных пространствах. Этот микротромботический вазоокклюзивный процесс будет значительно усиливать сужение сосудов и снижать кровоток, индуцированный глубокой гипоксемией в легочных капиллярах.

Эндотелий сосудов и COVID-19. Эндотелий сосудов является активным паракринным, эндокринным и аутокринным органом, который необходим для регуляции тонуса сосудов в поддержании их гомеостаза (30). Эндотелиальная дисфункция приводит к смещению сосудистого равновесия в сторону вазоконстрикции с последующей ишемией органов, воспалением тканей и прокоагулянтному состоянию (31). Хотя вирус SARS-CoV-2 использует рецептор АПФ-2, экспрессируемый пневмоцитами и эпителиальной альвеолярной оболочкой для заражения хозяина, тем самым вызывая повреждение легких, но в тоже время рецептор АПФ-2 экспрессируется на эндотелиальных клетках многих органов, что приводит к их повреждению (рис.3).

Коронавирус SARS-CoV-2 получает доступ к клеткам-хозяевам посредством связывания его с АПФ-2, рецептором сиаловой кислоты, трансмембранной сериновой протеазой 2 (TMPRSS2), индуктором металлопротеиназы внеклеточного матрикса (CD147), В процессе проникновения вируса также участвуют катепсины В и L. Эндотелиальная дисфункция является общей чертой клинического проявления, наблюдаемая у больных с COVID-19.

Механизм активации эндотелия после «цитокинового шторма» включает мобилизацию кальция, окислительный стресс, снижение регуляции эндотелиальной нитрит ок-

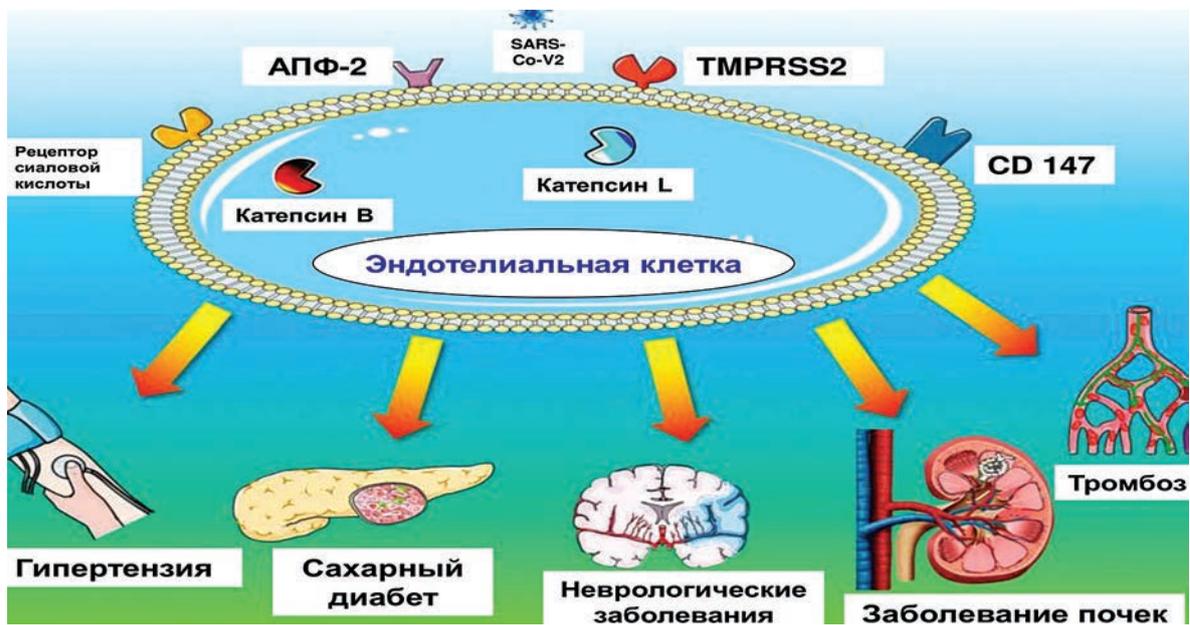


Рис. 3. Эндотелиальная дисфункция как основная детерминанта при COVID-19

сид синтазы, необходимой для образования оксида азота, ремоделирование плазматической мембраны, экспозицию таких прокоагулянтов как фосфатилсерина, микрочастиц, экспрессию тканевого фактора, нарушение экспрессии аннексина 5, молекулы адгезии сосудистых клеток 1, молекула межклеточной адгезии 1 и высвобождение цитокинов (хемоаттрактант белка-1 моноцитов).

В качестве примера на рисунке 4 представлена микроскопия почечной ткани, которая показывает наличие вирусных частиц в перитубулярном пространстве и в эндотелиальных клетках клубочковых капиллярных петель. Агрегаты вирусных частиц (показаны стрелкой) отображаются как плотная круглая поверхность с светлым центром. Звездоч-

кой на рис.2.Б обозначено перитубулярное пространство, соответствующее капилляру, содержащем вирусные частицы, а также клубочковая базальная мембрана с эндотелиальной клеткой и вирусной частицей (стрелка; около 150 нм в диаметре).

Таким образом, механизм гиперкоагуляции у пациентов с COVID-19 может быть связан с выраженной эндотелиальной дисфункцией.

Антифосфолипидные антитела.

Опубликованы отдельные серии работ, в которых отмечается, что у пациентов с COVID-19 и массивным тромбозом выявлено повышение титров антител к фосфолипидам. Однако подобные транзиторные изменения могут носить неспецифический характер, по-

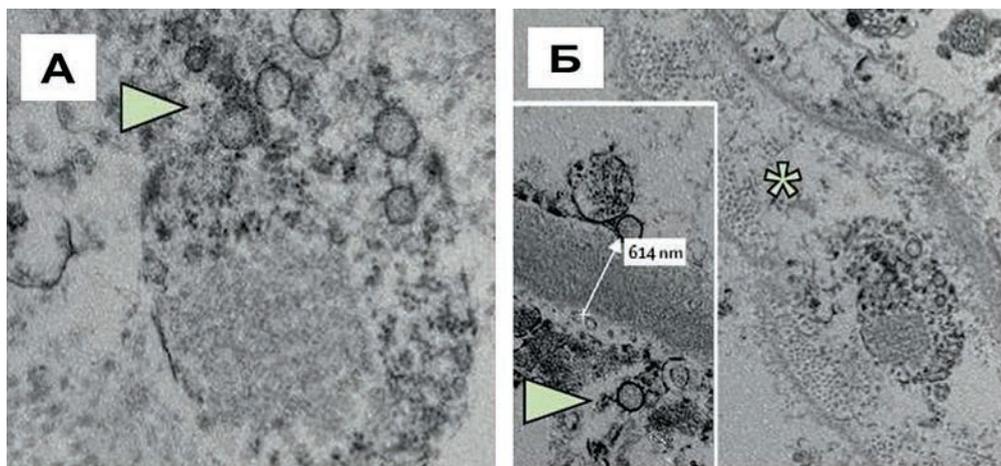


Рис. 4. Микроскопия почечной ткани с наличием вирусных частиц COVID-19

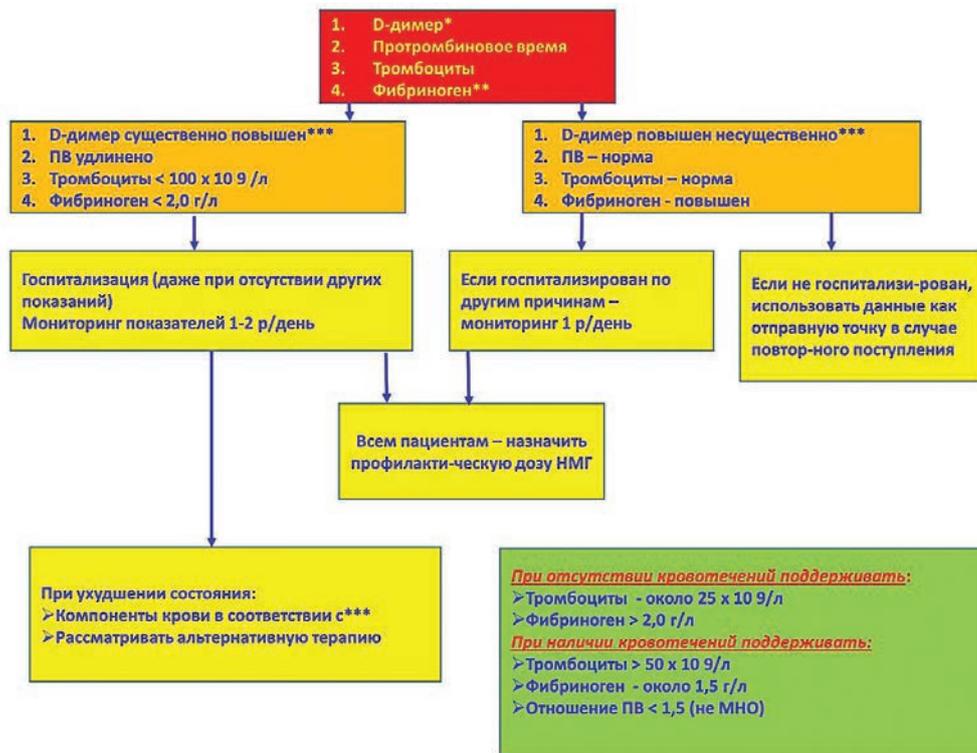


Рис. 5. Алгоритм проведения тестов для исследования гемостаза при COVID-19

сколькo часто выявляются при выраженной воспалительной реакции (32–37).

Мониторинг маркеров коагуляции. Для проведения мониторинга маркеров гемостаза у пациентов с COVID-19 рекомендовано проводить следующие тесты (38):

1. Определение количества тромбоцитов;
2. Протромбиновое время;
3. Активированное частичное тромбопластиновое время;
4. D-димер;
5. Фибриноген.

Клиническое значение параметров тромбоэластографии при COVID-19-ассоциированной коагулопатии продолжает изучаться, но она не должна использоваться рутинно при лечении пациентов.

У пациентов с COVID-19 отмечается нарастание уровня D-димера и продуктов деградации фибрина, удлинение протромбинового времени (сек), а также снижение концентрации фибриногена и антитромбина III.

На рисунке 5 представлен рекомендуемый алгоритм проведения тестов для исследования гемостаза при COVID-19 (ISTH, Международное общество по тромбозам и гемостазу) (39).

При использовании алгоритма необходимо учитывать влияние сопутствующих факторов, которые могут оказать влияние на показатели (например, заболевания печени, антикоагулянты и др.).

*Параметры указаны в порядке уменьшения значимости.

**Определение фибриногена может быть недоступно для части лабораторий, но мониторинг его уровня может быть полезен после госпитализации.

Несмотря на то, что для D-димера cut-off не определен, увеличение его уровня в 3–4 и более раз может рассматриваться как значительное. Другие числовые значения в данной схеме являются значимыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушение системы гемостаза у пациентов с COVID-19 связано с повышенным риском смерти. Актуальность этого становится все более очевидным, так как у значительной доли пациентов с тяжелой формой COVID-19 развиваются, однако иногда не распознаются артериальные и тромбоэмболические осложнения. Среди изменений показателей,

характеризующих состояние системы гемостаза и связанных с тяжестью заболевания и его прогнозом, при COVID-19 отмечается повышения в крови уровня D-димера, увеличение протромбинового времени, а также тромбинового и активированного частичного тромбопластинового времени. Тромбоцитопения также связана с тяжестью и прогнозом заболевания, однако редко бывает выраженной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stief, T.W.; Ijagha, O.; Weiste, B.; Herzum, I.; Renz, H.; Max, M. Analysis of hemostasis alterations in sepsis. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2007, 18, 179–186.
2. Di Micco, B.; Metafora, S.; Colonna, G.; Carteni, M.; Ragone, R.; Macalello, M.A.; Di Micco, P.; Baroni, A.; Catalanotti, P.; Tufano, M.A. Porins from *Salmonella typhimurium* accelerate human blood coagulation in vitro by selective stimulation of thrombin activity: Implications in septic shock DIC pathogenesis. *J. Endotoxin. Res.* 2001, 7, 211–217.
3. Iba, T.; Levi, M.; Levy, J.H. Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Semin Thrombhemost* 2020, 46, 89–95.
4. Chang, J.C. Acute Respiratory Distress Syndrome as an Organ Phenotype of Vascular Microthrombotic Disease: Based on Hemostatic Theory and Endothelial Molecular Pathogenesis. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2019, 25, 1–20.
5. Zhu, H., L. Wei, and P. Niu, The novel coronavirus outbreak in Wuhan, China, in *Glob Health Res Policy*. 2020.
6. Emami, A., et al., Prevalence of Underlying Diseases in Hospitalized Patients with COVID-19: a Systematic Review and Meta-Analysis, in *Arch Acad Emerg Med*. 2020.
7. Yi, Y., et al., COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease, in *Int J Biol Sci*. 2020. p. 1753-66.
8. Severe Outcomes Among Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) - United States, February 12-March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020. 69(12): p. 343-346.
9. Zhou, F., et al., Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020. 395(10229): p. 1054-1062.
10. Guan, W.J., et al., Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 2020.
11. Huang, C., et al., Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020. 395(10223): p. 497-506.
12. Tang, N., et al., Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*, 2020. 18(4): p. 844-847.
13. Klok, F., et al., Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19, in *Thromb Res*.
14. Llitjos, J.F., et al., High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients. *J Thromb Haemost*, 2020.
15. Klok FA, Kruij MJHA, van der Meer NJM et al (2020) Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*.
16. Helms J, Tacquard C, Severac F et al (2020) High risk of thrombosis in patients in severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med*.
17. Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L et al (2020) Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res* 191:9–14.
18. Bikdeli B, Madhavan MV, Jimenez D et al (2020) COVID-19 and thrombotic or thromboembolic disease: implications for prevention, antithrombotic therapy, and follow-up. *J Am Coll Cardiol*.
19. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P et al (2020) Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*.
20. Liu PP, Blet A, Smyth D, Li H (2020) The science underlying COVID-19: implications for the cardiovascular system. *Circulation*.
21. Zhang W, Zhao Y, Zhang F et al (2020) The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. *Clin Immunol* 214:108393.
22. Tu W-J, Cao J, Yu L et al (2020) Clinicolaboratory study of 25 fatal cases of COVID-19 in Wuhan. *Intensive Care Med*.
23. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z (2020) Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 18:844–847.
24. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P et al (2020) Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit. A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J Thromb Haemost*.
25. Tang N, Bai H, Chen X et al (2020) Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost* 18:1094–1099
26. Thachil J, Tang N, Gando S et al (2020) ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost*.
27. Chang JC (2019) Acute respiratory distress syndrome as an organ phenotype of vascular microthrombotic disease: based on hemostatic theory and endothelial molecular pathogenesis. *Clin Appl Thromb Hemost* 25:1–20.
28. Fogarty H, Townsend L, Ni Cheallaigh C et al (2020) COVID-19 coagulopathy in Caucasian patients. *Br J Haematol*.
29. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio AM et al (2020) Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS):an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *CritCare Resusc* [Epub ahead of print].
30. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, et al. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation* 2012; 126: 753-67.
31. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction - a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscl Thromb Vas* 2003; 23: 168–75.
32. Galeano-Valle F, Oblitas CM, Ferreira-Mazon MM, Alonso-Munoz J, del Toro-Cervera, Demelo-Rodriguez P. Antiphospholipid antibodies are not elevated in patients with severe COVID-19 pneumonia and venous thromboembolism. *Thromb Res* 2020, in Press.
33. Harzallah I, Debliquis A, Drénou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. *Thromb Haemost* 2020; Apr 23. Doi: 10.1111/jth.14867.
34. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, et

- al. Lupus anticoagulant and abnormal coagulation tests in patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2020 May 5; NEJMc2013656. doi: 10.1056/NEJMc2013656.
35. Devreese KMJ, Ortel TL, Pengo V, de Laat B for the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid antibodies. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2018; 16:809-813.
36. Pengo V, Testa S, Martinelli I, Ghirarduzzi A, Legnani C, Gresele P, et al. Incidence of a first thromboembolic event in carriers of isolated lupus anticoagulant. *Thromb Res* 2015; 135 (1):46-49.
37. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand H, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (10):1737-1740.
38. Wada H, Thachil J, Di Nisio M, et al. Guidance for diagnosis and treatment of DIC from harmonization of the recommendations from three guidelines. The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis. *J Thromb Haemost*. 2013.
39. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Marco Cattaneo M, Levi M, Cary Clark C, Iba T. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19 *J Thromb Haemost*. 2020;18:1023-1026.

ВИРОБНИК:
Sanguis Counting (Німеччина)



ШПРИЦИ ДЛЯ АНАЛІЗУ АРТЕРІАЛЬНОЇ КРОВІ IN VITRO

(рН, оксиметрія, електроліти, метаболіти)

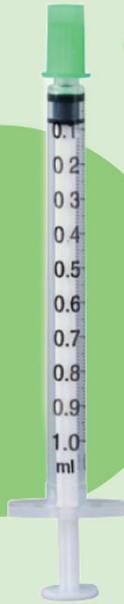
З 1991 року компанія SC-Sanguis Counting (Німеччина) спеціалізується на розробці та виробництві одноразових медичних виробів, таких як шприци для дослідження артеріальної крові, пластикові капіляри для забору крові та ін. Все більш суворі вимоги до сучасної технології проведення лабораторних аналізів спонукає компанію бути в постійному розвитку даного виду продукції, в якій використовується сировина, що не містить важких металів та латексу. Продукція компанії Sanguis Counting відповідає міжнародним сертифікатам DIN ISO 9001: 2000 і EN ISO 13485: 2003.



ТОВ «ЛАБІКС» - офіційний представник
європейських виробників лабораторного
обладнання та витратних матеріалів в Україні.
м.Київ, тел.(044)-227-18-33, www.labix.com.ua

Шприци з Li-Непарин 1 мл

(індивідуальна стерильна уп.,
50 штук в коробці)



Шприци з Li-Непарин 2 мл

(індивідуальна стерильна уп.,
50 штук в коробці)



Повна назва виробника: SC-Sanguis
Counting Kontrollblutherstellungs- und
Vertriebs GmbH, im Lochelchen 11 D-51588
Numbrecht, Germany

- використовуються з більшістю аналізаторів газів крові
- містять ліпофільно висушений гепарин, збалансований по кальцію (*напилення на внутрішній стінці шприца*)
- стерильні та індивідуально упаковані
- резиновий поршень з подвійним виступом легко переміщується, що забезпечує коректне взяття крові
- мають добре видимі шкали для точного дозування необхідного обсягу крові
- максимально безпечні для ефективного забору крові
- відповідають міжнародним стандартам та мають сертифікати якості
- стандартна утилізація (*автоклавізація в спеціальних контейнерах або пакетах*)

Технічні характеристики:

- кількість гепарину у шприці:
 1. шприци 1 мл: 50 I.U. гепарину
 2. шприци 2 мл: 50 I.U. гепарину
- наявність Люер-роз`єму для Люер-голки або голки-«метелика» (*постачається окремо, до складу не входить*)
- виготовлений з пластику низької газопроникливості
- малий «мертвий» об`єм шприца (*менше 5%*) дозволяє досягати високої точності результатів
- Термін придатності – 24 міс.



ТОВ «ЛАБІКС» - офіційний представник
європейських виробників лабораторного
обладнання та витратних матеріалів в Україні.
м.Київ, тел.(044)-227-18-33, www.labix.com.ua

Новый коронавирус, известный как SARS-CoV-2, приводящий к заболеванию под названием COVID-19, первоначально был зарегистрирован в городе Ухане (КНР) в конце 2019 года. В течение следующих 8 месяцев это заболевание стало пандемией в мире с более 25 миллионами случаев инфицирования и около одним миллионом летальных исходов. Клиническая картина при COVID-19 достаточно широкая и классически включает лихорадку, кашель, одышку, недомогание и двусторонние инфильтраты при визуализации грудной клетки. К менее типичным симптомам относятся диарея, миалгия, спутанность сознания, потеря обоняния и вкуса. У пациентов с COVID-19 наблюдается лимфопения, повышенный уровень лактатдегидрогеназы, а также увеличение маркеров воспаления таких как ферритин и С-реактивный белок. Появляется все больше доказательств того, что COVID-19 является эндотелиальным заболеванием с проявлением гиперкоагуляции (1).

Патогенез гиперкоагуляции при COVID-19

С начала 2020 года внимание международного медицинского сообщества приковано к проблеме диагностики и терапии пациентов с COVID-19. Одним из наиболее значимых неблагоприятных прогностических признаков для пациентов с COVID-19 является развитие коагулопатии. Патогенез гиперкоагуляции, связанной с COVID-19 до конца не изучен. В некоторых исследованиях были предложены механизмы, заключающиеся в том, что SARS-CoV-2 непосредственно проникает в эндотелиальные клетки и опосредованно вызывает повреждение клеток через цитокиновый воспалительный ответ или реактивацию комплемента.

Патофизиология COVID-19, приводящее к коагулопатии состоит в двунаправленных перекрестных реакциях между воспалением (желтые стрелки) и тромбозом (черные стрел-

ки) (рис. 1). При тяжелой форме COVID-19 отмечается воспалительный ответ, возникающий в альвеолах. Освобождение воспалительных цитокинов способствует активации эпителиальных клеток, моноцитов и макрофагов, а непосредственное прямое инфицирование эндотелия клетки через рецептор АПФ-2 (ангиотензин-превращающий фермент-2) приводит к дисфункции эндотелия, экспрессии TF (тканевой фактор) и активации тромбоцитов с увеличением уровней VWF (фактор Виллебранда) и FVIII (фактор VIII). Этот процесс сопровождается образованием тромбина и фибринового сгустка. Тромбин, в свою очередь, вызывает воспаление через его действие на тромбоциты, которые способствуют образованию NET (нейтрофильные внеклеточные ловушки). Активация эндотелия также происходит через рецептор PAR (протеаза активированный рецептор), что приводит к продуцированию C5a (компонент системы комплемента) и активации моноцитов. Однако, следует отметить, что эти механизмы имеют гипотетический характер.

У пациентов с тяжелой формой COVID-19 обнаружено повышение уровней D-димера и фибриногена, однако не ясно, отражает ли это гиперкоагуляцию или является основным воспалительным состоянием, таким как сепсис (2,3). Так, в работах Tang N. et al. (4), Yin S. et. al. (5) показано, что повышенный уровень D-димера связан с неблагоприятным исходом у госпитализированных пациентов с COVID-19. В отличие от ДВС-синдрома (диссеминированное внутрисосудистое свертывание), которое включает кровотечение и снижение уровня фибриногена, отличительной особенностью при COVID-19 является тромбоз и воспаление без значительного потребления коагуляционных маркеров.

В настоящее время разрабатываются стратегии использования антиагрегантов и антикоагулянтов, которые могут иметь определенный потенциал для лечения пациентов с COVID-19 (6) (рис. 2).

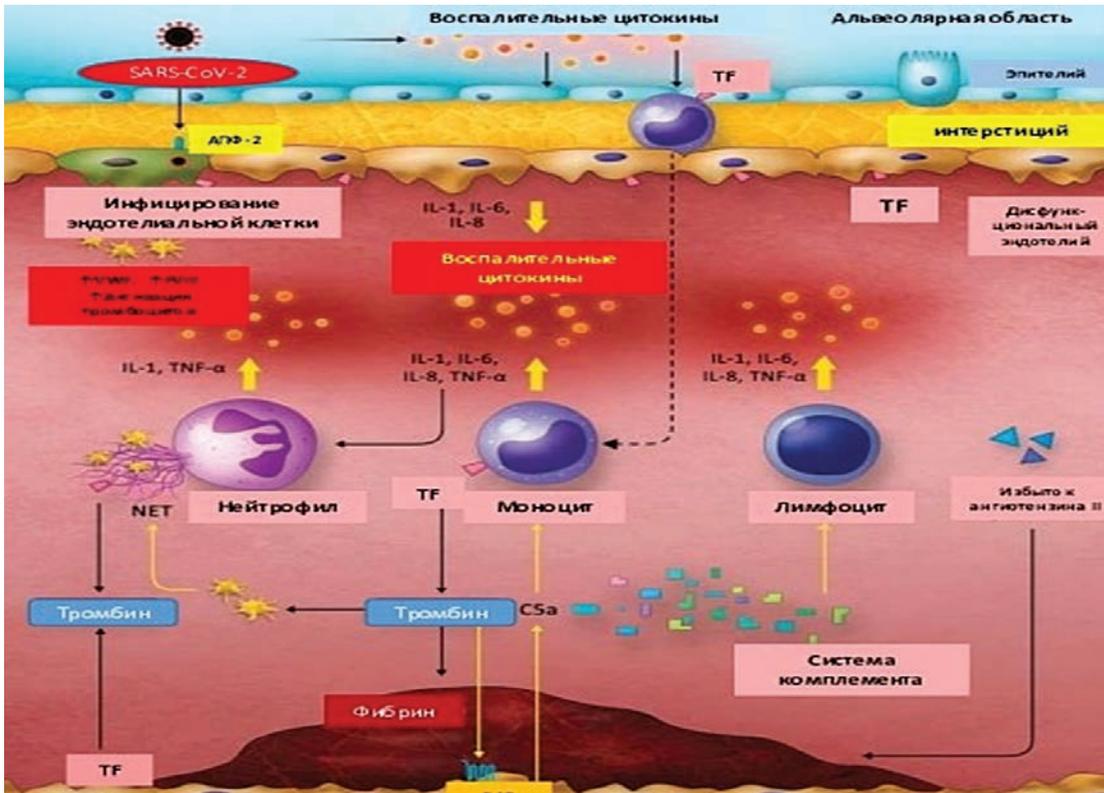


Рис. 1. Патопизиология гиперкоагуляционного состояния при COVID-19

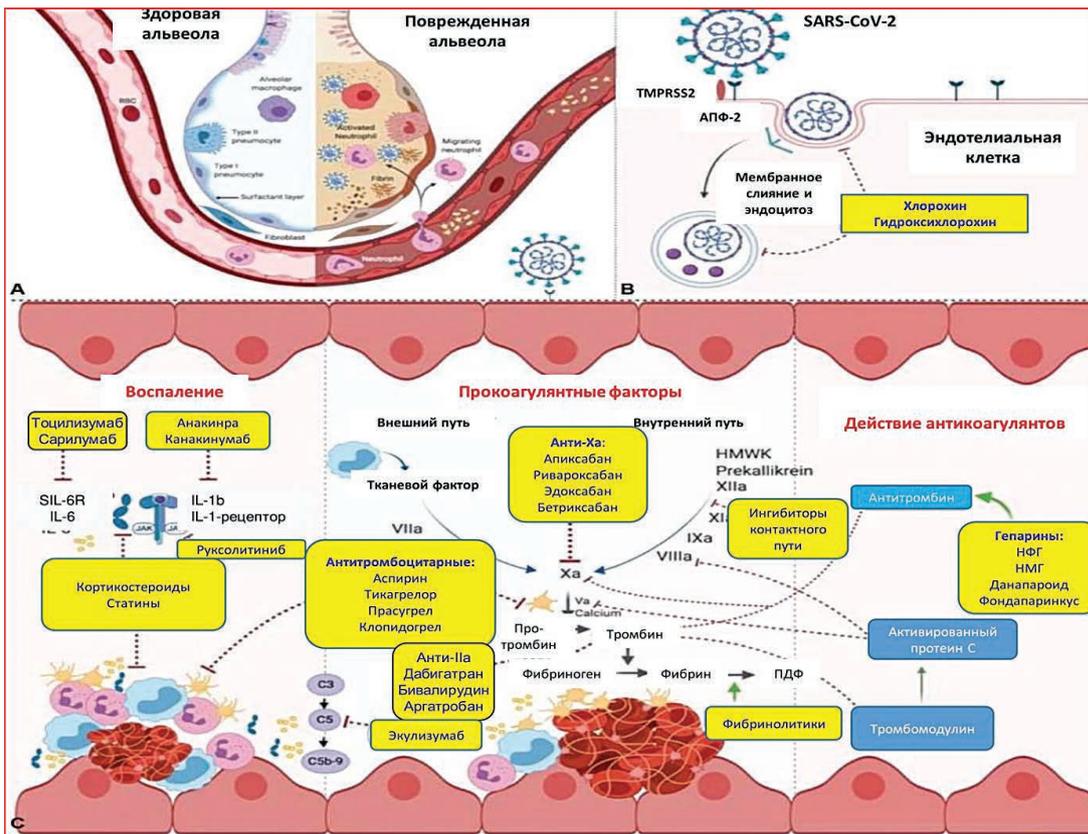


Рис. 2. Возможный механизм действия различных препаратов с антитромботическими свойствами для снижения риска тромботических осложнений при COVID-19

I. АНТИАГРЕГАНТЫ

1. Аспирин (ацетилсалициловая кислота)

Нарушение регуляции иммунного ответа и патологическая коагуляция часто встречаются при сепсисе, вызванной вирусами, острым респираторном дистресс-синдроме (ОРДС) и органной недостаточностью при COVID-19 (7). Тромбоциты играют ключевую роль в патогенезе сепсиса и тромбоза, являясь тем самым потенциальной мишенью для предотвращения этих осложнений. Кроме этого, тромбоциты обладают иммуномодулирующей активностью, включая воспалительные и противовоспалительные ответы, что влияет на антимикробную защиту хозяина (8,9). Имеются доказательства того, что начальная внутренняя защита от инфекций опосредуется тромбоцит-нейтрофильной кросс-коммуникацией, которая строго регулирует иммунные реакции и систему комплемента. Эти взаимодействия могут сопровождаться рядом провоспалительных эффектов, таких как высвобождение цитокинов, активацией эндотелиальных клеток, формированием тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов, образованием внеклеточных ловушек нейтрофилов, фибрин/микротромбозом, что является потенциально опасным, так как может подавлять макрофагозависимую реакцию и, в конечном итоге, нарушить защитный баланс организма (10-12). Аспирин хорошо изучен при ОРДС. Так, введение аспирина в профилактических дозах при ОРДС, показало высокую выживаемость при остром повреждении легких на моделях животных и в клинических исследованиях с участием людей (13–17). Некоторые исследователи предполагают, что для достижения желаемого противовоспалительного эффекта у пациентов с специфическим иммунным ответом необходимы более высокие дозы аспирина (325–650 мг/сут) (18–19).

2. Антагонисты рецепторов P2Y₁₂

В некоторых исследованиях изучалась роль ингибиторов рецепторов P2Y₁₂ при ОРДС и сепсисе. Аденозиндифосфат-опосредованная

активация рецепторов P2Y₁₂ может возникать при многих воспалительных процессах и типах иммунных клеток, включая тромбоциты, лейкоциты и дендритные клетки. Так, среди 224 пациентов с диагнозом внебольничная пневмония, которые получали антиагреганты (аспирин и/или тиенопиридины) как минимум 6 месяцев, количество оставшихся в больнице было меньше по сравнению с контрольной группой того же возраста (20). В ретроспективном исследовании PLATO было показано, что пациенты с острым коронарным синдромом (ОКС), получавшие тикагрелор и аспирин имели меньше побочных эффектов со стороны легких и меньшую смертность по сравнению с пациентами с менее сильным ингибитором рецепторов P2Y₁₂ клопидогрелем и аспирином (21). Исследование XANTIPPE (изучение действия тикагрелора на активацию тромбоцитов, агрегаты тромбоциты-лейкоциты и острое повреждение легких при пневмонии) является первым двойным слепым, плацебо-контролируемым рандомизированным исследованием для оценки действия тикагрелора на воспаление, активацию тромбоцитов и функцию легких у пациентов с внебольничной пневмонией (22). Среди 60 рандомизированных пациентов введение тикагрелора в течение 48 часов после постановки диагноза пневмонии связан с противовоспалительным эффектом о чем свидетельствует снижение тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов в кровотоке, уменьшение уровня интерлейкина-6 (IL-6) и улучшение функции легких с снижением потребности в дополнительном кислороде. Однако, учитывая потенциальный риск кровотечения, эти результаты исследований не нашли применения в рутинной клинической практике.

Что касается COVID-19 и антиагрегантов, то здесь имеются много вопросов относительно их использования и полезности. Во-первых, не ясно, при какой фазе заболевания лучше назначать лечение. Во-вторых, какой из антиагрегантов является оптимальным и в какой дозе может быть эффективным для минимизации риска кровотечения. Например, тикагрелор из-за своего плейотропного эффекта может иметь более

сильные противовоспалительные и бактерицидные действия, чем другие препараты (23,24). В рандомизированном исследовании (NCT04333407) оценивается роль аспирина и клопидогреля у пациентов с COVID-19 с высоким сердечно-сосудистом риске. В третьих, антиагрегантная терапия может иметь побочные лекарственные взаимодействия с препаратами, которые применяются для лечения COVID-19, такими как лопинавир/ритонавир, ремдесивир (25,26). В четвертых, тромбоцитопения связана с повышенным риском неблагоприятных клинических исходов при COVID-19 (27,28). И наконец, до конца не известно, на сколько повышаются риски кровотечения, особенно у пациентов с ДВС-синдромом.

3. Дипиридамо́л

Дипиридамо́л – ингибитор фосфодиэстеразы, подавляющий агрегацию тромбоцитов за счет увеличения внутриклеточной концентрации циклического аденозинмонофосфата (29). Как производное пиримидина, дипиридамо́л является индуктором интерферона и оказывает модулирующее действие на функциональную активность системы интерферона и неспецифическую резистентность к вирусным инфекциям (30). Дипиридамо́л оказывает противовирусное действие *in vitro*, что подтверждается его высокой аффинностью к протеазе (M_{pro}) вируса SARS-CoV-2 (31). На сегодняшний день в одном исследовании изучается дипиридамо́л при лечении COVID-19. Пациенты с COVID-19 были рандомизированы в группу (150 мг 3р/сутки в течение 7 дней) в сравнении с контрольной группой. В этом небольшом исследовании было показано, что у тех пациентов, кто лечился дипиридамо́лом наблюдалась тенденция к более высоким показателям излечения и выписки из медицинского учреждения. Также у пациентов было отмечено увеличение количества тромбоцитов и снижение уровня D-димера (32). Для оценки терапевтического потенциала против SARS-CoV-2 необходимы дальнейшие клинические исследования.

4. Ворапаксар

Ворапаксар – антагонист активируемого протеазой рецептора-1 (PAR-1), экспрессируемого на тромбоцитах. Является антиагрегантом, который ингибирует агрегацию тромбоцитов, индуцированную тромбином и пептидом-агонистом рецептора тромбина (33). У пациентов с инфарктом миокарда в анамнезе или заболеванием периферических артерий, ворапаксар снижал тромботические сердечно-сосудистые события (34). Основная проблема, связанная с ворапаксаром – это повышенный риск кровотечений и сообщения об внутричерепных кровоизлияниях у пациентов, перенесших инсульт в анамнезе. Так как PAR-1 играет важную роль в тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов, а также участвует в взаимодействии между коагуляцией и воспалением, исследованию варопакса у пациентов с COVID-19 уделяется особое внимание (35). Пока нет зарегистрированных рандомизированных исследований применения варопакса у пациентов с COVID-19.

На рисунке 3 представлены некоторые из используемых и одобренных антиагрегантных препаратов и их мишени.

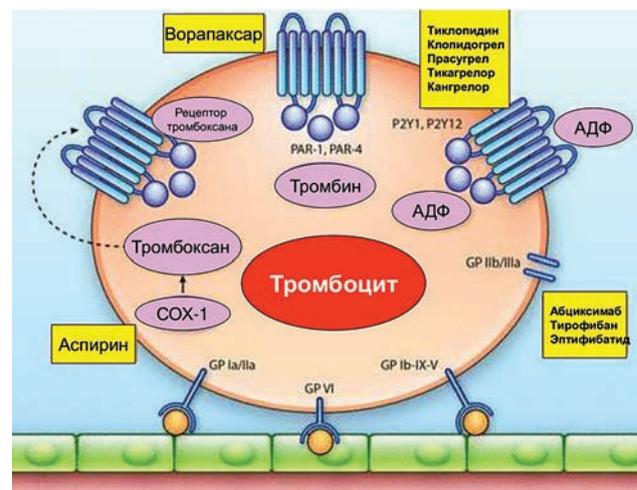


Рис. 3. Некоторые из антиагрегантных препаратов и их мишени

II. АНТИКОАГУЛЯНТЫ

1. Антагонисты витамина К

Действие антагонистов витамина К (АВК), включая варфарин, заключается в ингибировании эпоксид редуктазы витамина К, что приводит к предотвращению рециркуляции эпоксида витамина К обратно в его активную форму (36). Активная форма витамина К необходима для синтеза факторов свертывания, таких как FII, FVII, FIX и FX. Антагонисты витамина К приводят к снижению этих факторов. Эти лекарственные препараты используются для лечения установленных тромботических заболеваний (тромбоз глубоких вен, легочная эмболия) или в профилактических целях у пациентов с специфическими показаниями (фибрилляция предсердий, протезирование механических сердечных клапанов). Однако, в случае COVID-19, есть несколько проблем при использовании АВК, которые заключаются в лекарственных взаимодействиях АВК с другими препаратами и необходимостью постоянного мониторинга международного нормализованного отношения (МНО) (37). В настоящее время нет активных исследований, оценивающих использование АВК при COVID-19.

2. Пероральные антикоагулянты

Пероральные антикоагулянты (ПОАК) кроме их антикоагулянтного действия, особенно ингибитор фактора Ха, могут оказывать противовоспалительный эффект при COVID-19. Как было показано ранее, ривароксабан предотвращает артериальный и венозный тромбоз у пациентов с острым коронарным синдромом в анамнезе, стабильное атеросклеротическое заболевание (38,39). Кроме того, ривароксабан и бетриксабан снижают риск венозного тромбоза (40–42). В связи с этим ПОАК рассматривают для лечения пациентов с COVID-19. Сейчас зарегистрировано одно клиническое исследование (C-19-ACS) для оценки низких доз ривароксабана вместе с двойной антиагрегатной терапией, статинами и ингибитором протонной помпы у пациентов с COVID-19. Однако

имеются опасения по поводу использования ПОАК у пациентов, имеющих осложнения в связи с COVID-19, а именно возможность проявления острой почечной недостаточности, необходимость проведения инвазивных процедур (например, диализ) (43,44). Наконец, необходимо также учитывать лекарственное взаимодействие ПОАК с другими препаратами. ПОАК не назначают пациентам с COVID-19, которые имеют тяжелые нарушения функции почек, механические сердечные клапаны, антифосфолипидный синдром, а также тем, кто принимает противовирусные и иммуномодулирующие препараты, связанные с лекарственными взаимодействиями.

3. Нефракционированный и низкомолекулярные гепарины

Нефракционированный (НФГ) и низкомолекулярные гепарины (НМГ) наиболее часто используемые антикоагулянты, которые вводятся парентерально (45). Помимо их антикоагулянтной активности, они обладают противовоспалительными и противовирусными свойствами (46,47). Гепарин связывается со многими белками и модулирует их активность, которые опосредуют воспаление, включая интерлейкин-8, фактор роста тромбоцитов 4, фактор 1а стромального происхождения, эластазу нейтрофилов, Р- и L-селектин, CD11b/CD18, эозинофил катионный белок (48,49). Противовоспалительные эффекты гепарина и входящего в его состав фрагментов гепарансульфат гликозаминогликана состоят из двух основных механизмов:

1. т.н. «тушение воспаления» через взаимодействие с провоспалительными белками;
2. предотвращение адгезии и притока воспалительных клеток в поврежденную область.

Многочисленные исследования показали, что гепарин может ослабить воспаление за счет взаимодействия с ключевыми медиаторами воспаления. Провоспалительный транскрипционный ядерный фактор-В (NF-κB), который участвует в патогенезе вируса SARS-CoV, лежащего в основе тяжелого

острого респираторного синдрома (SARS), эпидемии 2003 года, приводит к образованию воспалительных цитокинов и других белков иммунного ответа, включая фактор некроза опухоли, IL-1, IL-6 и IL-8. Было обнаружено, что гепарин непосредственно ослабляет передачу сигналов от NF-κB в LPS-стимулированные эндотелиальные клетки человека и моноциты (50). Этот феномен наблюдается при COVID-19, когда гепарин напрямую взаимодействует с эндотелиальными клетками сосудов, что приводит к прямому ингибированию активации нейтрофилов (51).

Резюмируя потенциальные терапевтические эффекты гепарина при COVID-19 можно сделать следующие выводы (рис. 4):

1. Классическая функция гепарина как антикоагулянта при COVID-19 состоит в его взаимодействии с антитромбином III (АТ III), что может быть чрезвычайно полезным, учитывая высокую распространенность коагулопатии и клинически значимого тромбоза при данном заболевании;
2. Считается, что проникновение вируса SARS-CoV-2 в эндотелиальные и эпителиальные клетки зависит от его взаимодействия с гепарансульфатом кле-

точной поверхности. Таким образом, гепарин или его синтетические гепариноподобные препараты, могут ингибировать это взаимодействие и блокировать проникновение вируса. Гепарин может связываться с spike-белком вируса SARS-CoV-2 и функционировать как конкурентный ингибитор для входа вирусов, тем самым снижая инфекционность процесса.

3. Гепарин обладает противовоспалительным действием, которое может принести пользу при лечении COVID-19.

Одной из потенциальных проблем при использовании нефракционированного гепарина является использование для мониторинга гепаринотерапии такого лабораторного теста как активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ). У пациентов с COVID-19 наблюдается неоднородность ответа при определении АЧТВ. Это может быть обусловлено высоким уровнем фактора VIII, фибриногена или присутствием волчаночного антикоагулянта. При введении низкомолекулярного гепарина необходимо измерение уровня анти-Ха фактора для того, чтобы убедиться в том, достигнут ли терапевтический уровень гепарина.

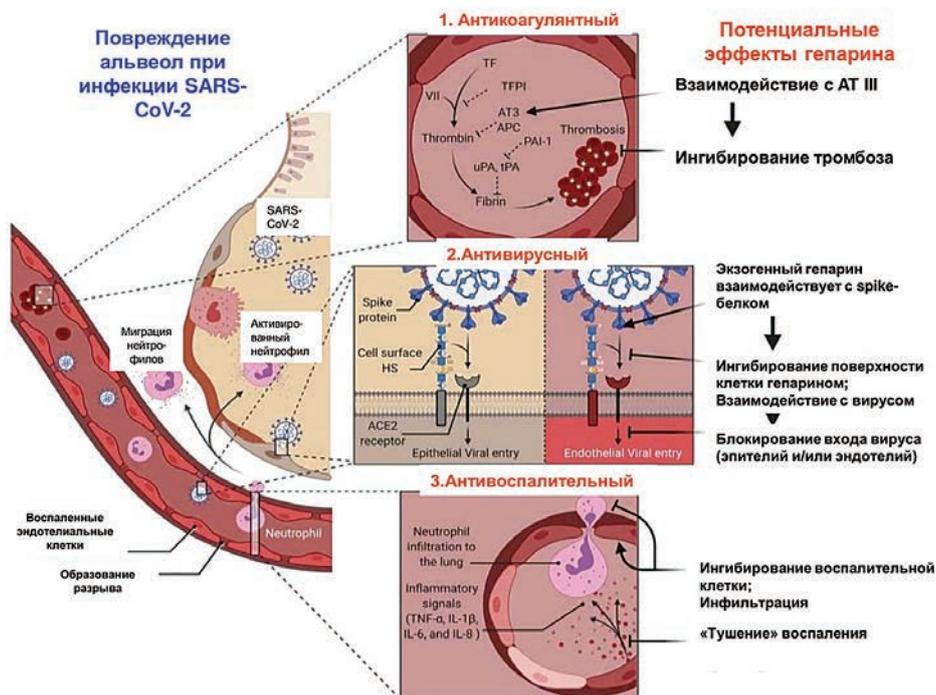


Рис. 4. Потенциальные эффекты гепарина при COVID-19

Продолжаются испытания ингаляционного гепарина для лечения COVID-19. Эти исследования направлены на изучение влияние гепарина, способного нарушить взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с рецептором АПФ-2.

Потенциальные побочные эффекты при терапии гепарином

Использование гепарина в качестве терапевтического антикоагулянта связано с 10–15 % риском значительного кровотечения (52). Факторы, которые могут увеличить риск кровотечения – это пожилой возраст, недавно полученная травма или проведенная операция, длительное пребывание пациента в стационаре, снижение количества лейкоцитов и тромбоцитов. Многие из этих факторов риска наблюдаются у пациентов с COVID-19. Еще одним фактором риска при гепаринотерапии является гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ), встречающаяся у 0,2–3% пациентов. Этот нежелательный эффект вызван появлением антител, специфичных к белку тромбоцитарного фактора 4, что приводит к опасной для жизни тромбоцитопении и развитию парадоксального тромбоза.

Антикоагулянтная терапия у пациентов с COVID-19

У всех пациентов, госпитализированных с подозрением и подтверждением на COVID-19 рекомендуется использовать препараты гепарина (предпочтительно низкомолекулярные гепарины) (Табл. 1) (53).

Схема антикоагулянтной терапии при COVID-19 на основании данных измерения уровня D-димера, которая используется в университетской клинике Московского Государственного Университета представлена в таблице 2.

1. Антикоагулянты назначаются всем госпитализированным пациентам (при отсутствии противопоказаний).
2. При клинических либо инструментальных признаках тромбоза, а также при инициации пульс-терапии, использовать лечебные дозы НМГ:

Эноксапарин – 1 мг/кг 2 раза в день или Надропарин – 0,4 мл (при массе < 50 кг), 0,6 мл (при массе 50–70 кг) или 0,8 мл (при массе > 80 кг) 2 раза в день;

3. При выраженном снижении функции почек (рСКФ < 30 мл/мин/1,73 м²) использовать индивидуальный режим дозирования или нефракционированный гепарин;
4. Стартовая терапия лечебными дозами используется в случаях, когда до госпитализации пациенты получали антикоагулянты в связи с фибрилляцией предсердий, после острого эпизода ВТЭ (венозный тромбоемболизм), после имплантации механических протезов клапанов сердца.

Менеджмент коагулопатии у пациентов с COVID-19

Выбор антикоагулянтов или антиагрегантов для пациентов с COVID-19:

1. Каждый раз, когда используется антикоагулянтная или антитромбоцитарная терапия, необходимо учитывать потенциальные лекарственные взаимодействия с другими сопутствующими лекарственными средствами;
2. Нефракционированный гепарин или низкомолекулярные гепарины могут быть предпочтительными у госпитализированных, тяжело больных пациентов из-за их более коротких периодов полувыведения, способности вводиться внутривенно или подкожно и меньшего количества лекарственных взаимодействий по сравнению с пероральными антикоагулянтами;
3. Для амбулаторных пациентов, получающих варфарин и которые не могут измерить МНО во время изоляции, рекомендуется применение ПОАК. Пациенты с механическими сердечными клапанами, фибрилляцией предсердий, антифосфолипидным синдромом или пациенты, которые кормят грудью, должны продолжать лечение варфарином;

Табл. 1. Дозы антикоагулянтов для парентерального введения

Лекарственный препарат	Доза препарата
Нефракционированный гепарин	Профилактическая доза: подкожно 5000 ЕД 2–3 раза в сутки
	Промежуточная доза: подкожно 7500 ЕД 2–3 раза в сутки
	Лечебная доза: внутривенная инфузия под контролем анти-Ха активности в крови, которая должна составлять 0,6–1,0 ЕД / мл (АЧТВ повышается при COVID-19 и поэтому ненадежно)
	Начальная доза при ОКС: внутривенно болюсом 60–70 ЕД/кг (максимально 5000 ЕД) и инфузия 12–15 ЕД / кг/ч (максимально 1000 ЕД/ч)
	Начальная доза при тромболитической терапии: внутривенно болюсом 60 ЕД / кг (максимально 4000 ЕД) и инфузия 12 ЕД /кг/ч (максимально 1000 ЕД/ч)
	Начальная доза при ТГВ/ТЭЛА: внутривенно болюсом 80 ЕД / кг (максимально 5000 ЕД) и инфузия 18 ЕД/кг/ч
	Лечебная доза при ТГВ/ТЭЛА (как альтернатива внутривенной инфузии): внутривенно болюсом 80 ЕД / кг (альтернативно 5000 ЕД) и подкожно 17 500 ЕД (альтернативно 250 ЕД / кг) 2 раза в сутки с последующей коррекцией дозы по анти-Ха активности (альтернативно – подкожно 333 ЕД / кг, затем по 250 ЕД / кг 2 раза в сутки без контроля анти-Ха активности)
Далтепарин	Профилактическая доза: подкожно 5000 МЕ 1 раз в сутки
	Промежуточная доза: подкожно 5000 МЕ 2 раза в сутки
	Лечебная доза: подкожно 100 МЕ / кг 2 раза в сутки
Надропарин кальция	Профилактическая доза: подкожно 3800 МЕ (0,4 мл) 1 раз в сутки при массе тела ≤ 70 кг или 5700 МЕ (0,6 мл) 1 раз в сутки при массе тела > 70 кг
	Промежуточная доза: подкожно 5700 МЕ (0,6 мл) 2 раза в сутки
	Лечебная доза: подкожно 86 МЕ/кг 2 раза в сутки
Эноксапарин натрия	Профилактическая доза: подкожно 4000 МЕ (40 мг) 1 раз в сутки
	Промежуточная доза: подкожно 4000 МЕ (40 мг) 2 раза в сутки; возможно увеличение до 50 МЕ (0,5 мг)/ кг 2 раза в сутки
	Лечебная доза: подкожно 100 МЕ (1 мг)/кг 2 раза в сутки, при клиренсе креатинина 15–30 мл/мин 100 МЕ (1 мг)/кг 1 раз в сутки
Фондапаринукс натрия	Профилактическая доза: подкожно 2,5 мг 1 раз в сутки. Доза для лечения венозных тромбозмболических осложнений: 5 мг 1 раз в сутки при массе тела до 50 кг; 7,5 мг 1 раз в сутки при массе тела 50–100 кг; 10 мг 1 раз в сутки при массе тела более 100 кг

Табл. 2. Схема антикоагулянтной терапии при COVID-19 на основании данных измерения уровня D-димера

Вес пациента	D-димер < 5 мкг/мл	D-димер ≥ 5 мкг/мл
<80 кг	Эноксапарин – 40 мг 1 раз в день или Надропарин – 0,4 мл 1 раз в день	Эноксапарин – 80 мг 1 раз в день или Надропарин – 0,6 мл 1 раз в день
80-120 кг	Эноксапарин – 80 мг 1 раз в день или Надропарин – 0,6 мл 1 раз в день	Эноксапарин – 120 мг 1 раз в день или Надропарин – 0,8 мл 1 раз в день
>120 кг	Эноксапарин – 120 мг 1 раз в день или Надропарин – 0,8 мл 1 раз в день	Эноксапарин – 80 мг 2 раза в день или Надропарин – 0,6 мл 2 раза в день

Рекомендации по антикоагулянтной или антиагрегантной терапии:

1. Пациенты с COVID-19, которые принимают антикоагулянтную или антиагрегантную терапию для лечения основных заболеваний, должны продолжать лечение, если не развивается значительное кровотечение или другие противопоказания.

Пациенты с COVID-19, которые находятся на амбулаторном лечении:

- для не госпитализированных пациентов с COVID-19 не следует начинать антикоагулянтную или антиагрегантную терапию для профилактики венозного тромбоза или в терапевтических целях;

Госпитализированные пациенты с COVID-19:

- для взрослых, поступивших в больницу с COVID-19, профилактика ВТЭ, если она не противопоказана (например, пациент имеет активное кровотечение или тяжелую тромбоцитопению), должна назначаться с использованием рекомендаций для пациентов, поступивших в больницу по другим показаниям. Хотя данные, подтверждающие эту рекомендацию, ограничены, ретроспективное исследование показало снижение смертности у пациентов, получавших профилактическую антикоагулянтную терапию.
2. Учитывая недостаточные данные относительно COVID-19 у детей рекомендации по профилактике ВТЭ для госпитализированных детей не должны меняться.
 3. Антикоагулянтная или антиагрегантная терапия не должна использоваться для предотвращения артериального тромбоза, выходящего за рамки стандарта лечения лиц без COVID-19.
 4. Пациентам с COVID-19, у которых имеются тромбоэмболические осложнения или существует их высокая вероятность (визуализация в данный момент невозможна), следует назначать терапевтиче-

ские дозы антикоагулянтной терапии в соответствии со стандартом лечения для пациентов без COVID-19.

5. В настоящее время недостаточно данных для того, чтобы рекомендовать как за, так и против использование терапевтических доз антитромботических или тромболитических средств для COVID-19 у пациентов, поступающих в больницу. Нет убедительных доказательств того, что какое-либо конкретное антитромботическое лечение будет влиять на результаты у пациентов с или без COVID-19.
6. Пациенты с COVID-19, которым требуется экстракорпоральная мембранная оксигенация, постоянная заместительная почечная терапия, у которых имеется тромбоз катетеров или экстракорпоральных фильтров, должны проходить лечение в соответствии со стандартными протоколами для пациентов без COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на усилия международных медицинских и научных сообществ, а также снижение количества госпитализаций, заболевание COVID-19 по-прежнему представляет собой беспрецедентную проблему. Прогноз для госпитализированных пациентов с COVID-19, особенно при критической форме, продолжает оставаться неблагоприятным. Хотя это заболевание считается многофакторным, тем не менее тромботические осложнения играют важную роль в дальнейшем прогнозе у этой категории пациентов. Разработка безопасной и эффективной тромбопрофилактики и стратегии лечения тромботических заболеваний зависит от глубокого и всестороннего понимания со стороны врачей-клиницистов патологических основ таких осложнений. Поэтому выбор оптимального препарата, его дозы и продолжительность терапии для профилактики и лечения тромботических осложнений при COVID-19 является важной задачей на сегодняшний день.

ЛИТЕРАТУРА

1. Magro C, Mulvey J, Berlin D, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: a report of five cases. *Transl Res*. Published online April 15, 2020.
2. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, et al. Hypercoagulability of COVID-19 patients in Intensive Care Unit. A Report of Thromboelastography Findings and other Parameters of Hemostasis. *J Thromb Haemost*. Published online April 17, 2020.
3. Ranucci M, Ballotta A, Di D, et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *J Thromb Haemost*. Published online April 17, 2020.
4. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-847.
5. Yin S, Huang M, Li D, Tang N. Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *J Thromb Thrombolysis*. Published online April 3, 2020.
6. Behnood Bikkdeli, Mahesh V. Madhavan, Aakriti Gupta et al. Pharmacological Agents Targeting Thromboinflammation in COVID-19: Review and Implications for Future Research. *Thromb Haemost*, 2020 Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York.
7. Li H, Liu L, Zhang D, et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet* 2020;395(10235):1517-1520.
8. Koupenova M, Corkrey HA, Vitseva O, et al. The role of platelets in mediating a response to human influenza infection. *Nat Commun* 2019;10(01):1780.
9. de Stoppelaar SF, van 't Veer C, Claushuis TA, Albersen BJ, Roelofs JJ, van der Poll T. Thrombocytopenia impairs host defense in gram-negative pneumonia-derived sepsis in mice. *Blood* 2014; 124(25):3781-3790.
10. Semple JW, Italiano JE Jr, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol* 2011;11(04):264-274.
11. Yeaman MR. Platelets in defense against bacterial pathogens. *Cell Mol Life Sci* 2010;67(04):525-544.
12. Xiang B, Zhang G, Guo L, et al. Platelets protect from septic shock by inhibiting macrophage-dependent inflammation via the cyclooxygenase 1 signalling pathway. *Nat Commun* 2013;4(01):2657.
13. Looney MR, Nguyen JX, Hu Y, Van Ziffle JA, Lowell CA, Matthay MA. Platelet depletion and aspirin treatment protect mice in a two-event model of transfusion-related acute lung injury. *J Clin Invest* 2009;119(11):3450-3461.
14. Wang L, Li H, Gu X, Wang Z, Liu S, Chen L. Effect of antiplatelet therapy on acute respiratory distress syndrome and mortality in critically ill patients: a meta-analysis. *PLoS One* 2016;11(05):e0154754
15. Boyle AJ, Di Gangi S, Hamid UI, et al. Aspirin therapy in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) is associated with reduced intensive care unit mortality: a prospective analysis. *Crit Care* 2015;19(01):109.
16. Chen W, Janz DR, Bastarache JA, et al. Prehospital aspirin use is associated with reduced risk of acute respiratory distress syndrome in critically ill patients: a propensity-adjusted analysis. *Crit Care Med* 2015;43(04):801-807.
17. Panka BA, de Grooth HJ, Spoelstra-de Man AM, Looney MR, Tuinman PR. Prevention or treatment of ARDS with aspirin: a review of preclinical models and meta-analysis of clinical studies. *Shock* 2017;47(01):13-21.
18. Kuschner RA. Aspirin and acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 2016;316(12):1317-1318.
19. Mezidi M, Guérin C. Aspirin for prevention of acute respiratory distress syndrome (ARDS): let's not throw the baby with the water!. *Ann Transl Med* 2016;4(19):376.
20. Gross AK, Dunn SP, Feola DJ, et al. Clopidogrel treatment and the incidence and severity of community acquired pneumonia in a cohort study and meta-analysis of antiplatelet therapy in pneumonia and critical illness. *J Thromb Thrombolysis* 2013;35(02): 147-154.
21. Storey RF, James SK, Siegbahn A, et al. Lower mortality following pulmonary adverse events and sepsis with ticagrelor compared to clopidogrel in the PLATO study. *Platelets* 2014;25(07):517-525.
22. Sexton TR, Zhang G, Macaulay TE, et al. Ticagrelor reduces thromboinflammatory markers in patients with pneumonia. *JACC Basic Transl Sci* 2018;3(04):435-449.
23. Aungraheeta R, Conibear A, Butler M, et al. Inverse agonism at the P2Y12 receptor and ENT1 transporter blockade contribute to platelet inhibition by ticagrelor. *Blood* 2016;128(23):2717-2728.
24. Lancellotti P, Musumeci L, Jacques N, et al. Antibacterial activity of ticagrelor in conventional antiplatelet dosages against antibiotic-resistant Gram-positive bacteria. *JAMA Cardiol* 2019;4(06):596-599.
25. Itkonen MK, Tornio A, Lapatto-Reiniluoto O, et al. Clopidogrel increases dasabuvir exposure with or without ritonavir, and ritonavir inhibits the bioactivation of clopidogrel. *Clin Pharmacol Ther* 2019;105(01):219-228.
26. Marsousi N, Daali Y, Fontana P, et al. Impact of boosted antiretroviral therapy on the pharmacokinetics and efficacy of clopidogrel and prasugrel active metabolites. *Clin Pharmacokinet* 2018;57(10):1347-1354.
27. Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Elalamy I, et al. Hematological findings and complications of COVID-19. *Am J Hematol* 2020.
28. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020;506:145-148.
29. Gresele P, Momi S, Falcinelli E. Anti-platelet therapy: phosphodiesterase inhibitors. *Br J Clin Pharmacol* 2011;72(04):634-646.
30. Tonew E, Indulen MK, Dzeguze DR. Antiviral action of dipyridamole and its derivatives against influenza virus A. *Acta Virol* 1982;26(03):125-129.
31. Li Z, Li X, Huang Y-Y, et al. FEP-based screening prompts drug repositioning against COVID-19. *bioRxiv* 2020: 2020.03.23. 004580.
32. Liu X, Li Z, Liu S, et al. Potential therapeutic effects of dipyridamole in the severely ill patients with COVID-19. *Acta Pharm Sin B* 2020. Doi: 10.1016/j.apsb.2020.04.008.
33. Baker NC, Lipinski MJ, Lhermusier T, Waksman R. Overview of the 2014 Food and Drug Administration Cardiovascular and Renal Drugs Advisory Committee meeting about vorapaxar. *Circulation* 2014;130(15):1287-1294.
34. Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, et al; TRA 2P-TIMI 50 Steering Committee and Investigators. Vorapaxar in the secondary prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2012;366(15):1404-1413.
35. Jose RJ, Manuel A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. *Lancet Respir Med* 2020:S2213-2600(20)30216-2.
36. Schein JR, White CM, Nelson WW, Kluger J, Mearns ES, Coleman CI. Vitamin K antagonist use: evidence of the difficulty of achieving and maintaining target INR range and subsequent consequences. *Thromb J* 2016;14:14.

37. Bikdeli B, Madhavan MV, Jimenez D, et al. COVID-19 and thrombotic or thromboembolic disease: implications for prevention, antithrombotic therapy, and follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2020. Doi: 10.1016/j.jacc.2020.04.031.
38. Mega JL, Braunwald E, Wiviott SD, et al; ATLAS ACS 2-TIMI 51 Investigators. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012;366(01):9–19.
39. Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, et al; COMPASS Investigators. Rivaroxaban with or without aspirin in stable cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2017;377(14):1319–1330.
40. Cohen AT, Spiro TE, Büller HR, et al; MAGELLAN Investigators. Rivaroxaban for thromboprophylaxis in acutely ill medical patients. *N Engl J Med* 2013;368(06):513–523.
41. Spyropoulos AC, Ageno W, Albers GW, et al; MARINER Investigators. Rivaroxaban for thromboprophylaxis after hospitalization for medical illness. *N Engl J Med* 2018;379(12):1118–1127.
42. Cohen AT, Harrington RA, Goldhaber SZ, et al; APEX Investigators. Extended thromboprophylaxis with betrixaban in acutely ill medical patients. *N Engl J Med* 2016;375(06):534–544.
43. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020;8(05):475–481.
44. Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, et al. Covid-19 in critically ill patients in the Seattle region - case series. *N Engl J Med* 2020;382:2012–2022.
45. Garcia DA, Baglin TP, Weitz JI, Samama MM. Parenteral anticoagulants: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141(02): e24S–e43S.
46. Poterucha TJ, Libby P, Goldhaber SZ. More than an anticoagulant: do heparins have direct anti-inflammatory effects? *Thromb Haemost* 2017;117(03):437–444.
47. Belen-Apak FB, Sarioluglu F. The old but new: can unfractionated heparin and low molecular weight heparins inhibit proteolytic activation and cellular internalization of SARS-CoV2 by inhibition of host cell proteases? *Med Hypotheses* 2020;142:109743.
48. Hao C, Xu H, Yu L, Zhang L. Heparin: an essential drug for modern medicine. *Prog Mol Biol Transl Sci* 163: 1–19, 2019. doi:10.1016/bs.pmbts.2019.02.002.
49. Young E. The anti-inflammatory effects of heparin and related compounds. *Thromb Res* 122: 743–752, 2008. doi:10.1016/j.thromres.2006.10.026.
50. Li X, Li L, Shi Y, Yu S, Ma X. Different signaling pathways involved in the anti-inflammatory effects of unfractionated heparin on lipopolysaccharide-stimulated human endothelial cells. *J Inflamm (Lond)* 17: 5, 2020. doi:10.1186/s12950-020-0238-7.
51. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet* 395: 1417–1418, 2020. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
52. Cossette B, Pelletier MÈ, Carrier N, Turgeon M, Leclair C, Charron P, Echenberg D, Fayad T, Farand P. Evaluation of bleeding risk in patients exposed to therapeutic unfractionated or low-molecular-weight heparin: a cohort study in the context of a quality improvement initiative. *Ann Pharmacother* 44: 994–1002, 2010. doi:10.1345/aph.1M615.
53. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020;jth.14810. [Epub ahead of print]. DOI: 10.1111/jth.14810.



Quo-Lab® Напівавтоматичний аналізатор глікованого гемоглобіну



Основні характеристики

Принцип дії	Принцип дії аналізатора заснований на вимірюванні значення інтенсивності флуоресценції, що виникає під час проходження біологічної проби через спеціальний картридж з реагентом – флуорофором (еозинфенілборонова кислота) в якому відбувається випромінювання флуорофора. Кількість випущених внаслідок флуоресценції фотонів перераховується аналізатором в концентрацію глікованого гемоглобіну щодо загального гемоглобіну і відображається на дисплеї аналізатора в одиницях виміру ммоль/моль або %.
Об'єм зразка	4 мкл (венозна або капілярна кров)
Час вимірювання	4 хвилини
Діапазон вимірювань	4-15% HbA1c DCCT (20-162 ммоль/моль) CV < 3% при 7% HbA1c DCCT
Калібрування	Система Quo-Lab сертифікована в рамках програми NGSP і IFCC. Тестові картриджи відкалібровані за зразками, наданими Європейською еталонною лабораторією (ERL) через мережу NGSP.
Контроль якості	Quo-Lab A1C Контрольний набір (поставляється окремо)
Зчитувач штрих-кодів	Зчитувач штрих-кодів для сканування даних калібрування, ID пацієнта.
Дисплей	Синій монохромний, рідко-кристалічний з підсвічуванням, 128 x 64 пікселів
Інтерфейс	Інтуїтивно-зрозумілий
Об'єм пам'яті	до 7000 результатів
Програмне забезпечення	Використовується вбудоване програмне забезпечення, встановлене заводом-виробником
Принтер	Зовнішній принтер (опційно, в комплект не входить)
Отримання результатів	Друк результатів через зовнішній принтер
Вимоги до електроживлення	Електроживлення: 100 В, 240 В, 50/60 Гц
Габарити, вага	95x205x135 мм, 0,7 кг

Просте 4-х крокове вимірювання на аналізаторі Quo-Lab®



1 Відскануйте штрих-код. Зніміть фольгу з картриджу та вставте його в аналізатор.



2 Натисніть на реагентну кульку в картридж, використовуючи зворотній кінець інструменту відбору зразків.

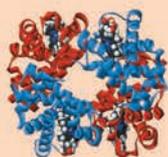


3 Вставте зразок у картридж.



4 Закрийте кришку аналізатора. Результат відображається протягом 4-х хвилин.

Гемоглобін



NH₂

CHO

H — C — OH

HO — C — H

H — C — OH

H — C — OH

CH₂OH

Глюкоза

Гемоглобін A1c



N

||

H — C — OH

HO — C — H

H — C — OH

H — C — OH

CH₂OH

Основи Шиффа

NH

H — C — OH

HO — C — H

H — C — OH

H — C — OH

CH₂OH

Амадори продукт

HbA1c Test



6.5%

Diabetes



6.0%

Pre-diabetes

Healthy