

## НЕВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ В КОНТЕКСТЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ COVID-19.

Мельник А.А., к.б.н.

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.

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

Интерлейкин-10	Повышение
----------------	-----------

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

## I. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ.

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

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

Табл.2. Изменения гематологических показателей при COVID-19.

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- $\alpha$ ), интерлейкин-6 (IL-6) и другие провоспалительные цитокины могут индуцировать дефицит лимфоцитов (13). Ингибирование лимфоцитов возможно под влиянием метаболитических молекул при гиперлактической 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).

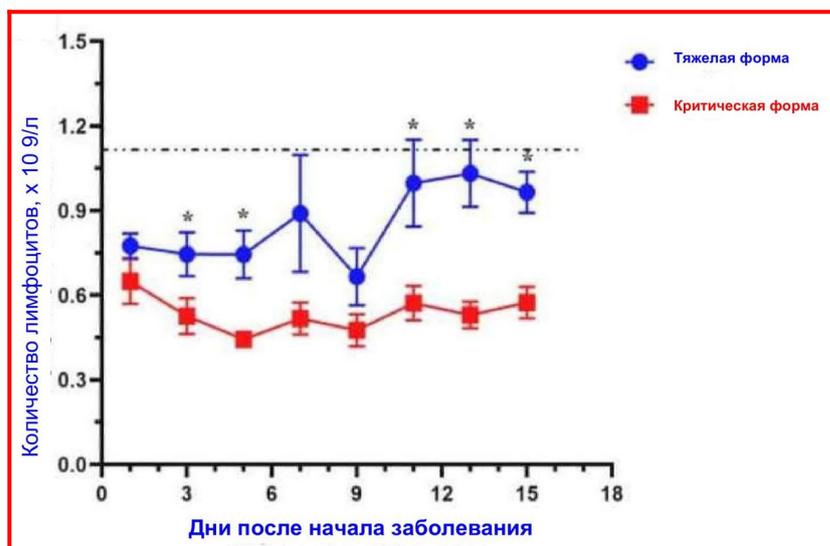


Рис.1. Снижение количества лимфоцитов при тяжелой и критической форме COVID-19.

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.

## 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 неудивительно, поскольку подсчет тромбоцитов используется такими системами как Multiple Organ Dysfunction Score (MODS), Simplified Acute Physiology Score (SAPS) II, Acute Physiology и 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), аспаратамино-трансфераза (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).

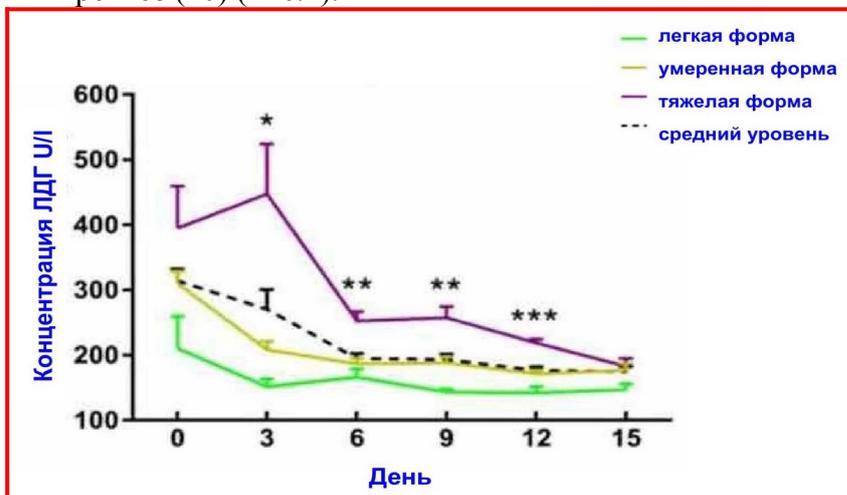


Рис.2. Динамический профиль лактатдегидрогеназы при различных формах COVID-19.

### 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 тромбоэмболизму из-за активации коагуляции, вызванной сочетанием чрезмерного воспаления, активации тромбоцитов, эндотелиальной дисфункции. Поэтому измерение маркеров коагуляции очень важно для лучшего понимания патогенеза тромбоэмболических заболеваний 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 изменения 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.

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

Табл.3. Изменение параметров гемостаза при COVID-19.

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

#### 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 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IFN- $\alpha/\beta$ , 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 активирует макрофаги, которые продуцируют IL-6, TNF- $\alpha$  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<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Тяжелые формы COVID-19 дополнительно увеличивают продуцирование IL-6, IL-2R, IL-10 и TNF- $\alpha$ , в то время как количество Т-лимфоцитов, особенно CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, а также IFN- $\gamma$  существенно снижаются. Уровень «цитокинового шторма» и Т-клеточная лимфопения связаны с повреждением легких, дыхательной недостаточностью и неблагоприятным исходом.

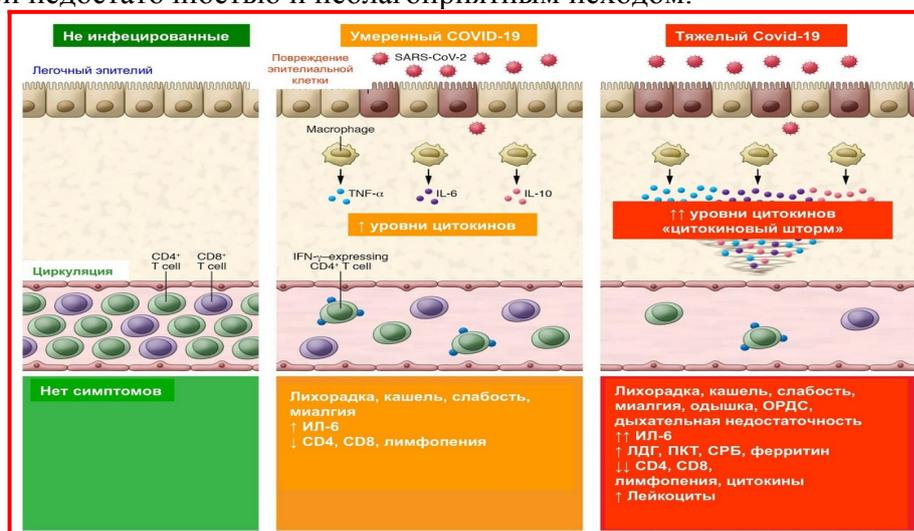


Рис.3. «Цитокиновый шторм» и Т-клеточная лимфопения., связанные с тяжестью COVID-19.

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- $\alpha$  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.

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
NK	%	n=44	17.20	16.90	Снижение
Tрег-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- $\alpha$	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	$\leq 0.5$	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

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

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

## 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

1. 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>.
2. Brandon Michael Henry, Maria Helena Santos de Oliveira, Stefanie Benoit, Mario Plebania 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>.
3. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
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.
8. 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.
9. 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.
10. 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).
11. 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-alpha and results in cell apoptosis through TNF-alpha. *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.
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, Favalaro 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>.