

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАЗМЕННОЙ ТЕРАПИИ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ У ДВУХ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ РЕСПИРАТОРНЫМ СИНДРОМОМ COVID-19 В КОРЕЕ

Коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19), вызванная тяжелым острым респираторным синдромом Коронавирус-2, пока не установлена, но ожидается, что выживаемость восстановительной плазмы увеличится, как и в случае с другими возникающими вирусными инфекциями. Мы описываем два случая лечения COVID-19 при помощи восстановительной плазменной инфузии. Оба пациента страдали тяжелой пневмонией с синдромом острого респираторного дистресса и показали благоприятный исход после применения восстановительной плазмы в дополнение к системному Кортикостероиду. Насколько нам известно, это первый доклад об использовании восстановительной плазменной терапии для COVID-19 в Корее.

Введение

Вспышка тяжелой коронавирусной инфекции острого респираторного синдрома-2 (SARS-CoV-2), начавшаяся в китайском городе Ухань, стала основной проблемой во всем мире. Всемирная организация здравоохранения объявила об оценке риска коронавирусной болезни 2019 года (COVID-19) как очень высокого на глобальном уровне, и число смертельных случаев быстро растет. К 24 марта 2020 года в Южной Корее было инфицировано более 9000 человек и 126 человек умерло.

Без специального лечения от вируса, в дополнение к вспомогательному лечению, изучаются варианты лечения. Опыт показывает, что использование восстановительной плазмы для лечения появляющихся вирусных инфекций, включая атипичную пневмонию, ближневосточный респираторный синдром (MERS), вирусную болезнь Эбола или птичий грипп, может улучшить показатели выживаемости пациентов, состояние которых ухудшается даже при обычном лечении^{1,2}. Однако безопасность и эффективность лечения восстановительной плазмой COVID-19 не известны. Здесь мы сообщаем о двух случаях тяжелой формы COVID-19 у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС), которые показали благоприятное клиническое течение после вливания после вливания выздоравливающей плазмы. Это первое сообщение об использовании восстановительной плазмы для лечения случаев инфекции SARS-CoV-2 в Корее.

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЕВ

Случай 1

Ранее здоровый 71-летний мужчина посетил Общинный центр здоровья 22 февраля, подарив 12 дней лихорадки и кашля. Он прошел обследование SARS-CoV-2 с помощью обратной транскрипции полимеразной цепной реакции (rRT-PCR) в режиме реального времени и был диагностирован как COVID-19. Он поступил в местный общественный медицинский центр и ежедневно принимал 400 мг гидроксихлорокина. Рентгенограмма грудной клетки, полученная на 2-й день, показала легкие помутнения в правом нижнем легком, лопинавир/ритонавир 400 мг/100 мг давали дважды в день. Однако на 3-й день потребность в кислороде увеличилась, поэтому он был переведен в больницу третьего уровня.

На момент прибытия у пациента не было субъективной одышки ниже 4 л/мин при потоке кислорода через носовую канюлю, но частота дыхания была более 30 раз в минуту. Рентгенограмма грудной клетки показала быстрое обострение двусторонней инфильтрации. Обычные анализы крови показали, что лейкоциты (лейкоциты) при $3,53 \times 10^3/\mu\text{L}$, с лимфопенией $0,4 \times 10^3/\mu\text{L}$. С-реактивный белок (С-реактивный белок) и молочная дегидрогеназа (ЛДГ) повышены до 59,7 мг/л и 814 МЕ/л. Обычные тесты на химию, электролиты и свертываемость крови не выявили никаких аномалий, за исключением слегка повышенной аспартат-трансаминазы. Уровень интерлейкина 6 (ИЛ-6) был увеличен как 101,3 пг/мл. Серийная культура бактерий и полимеразная цепная реакция (ПЦР) на другие респираторные вирусы были отрицательными.

Интубационный и механический уход за вентилятором начался в соответствии с ведением ОРДС. Несмотря на постоянное использование лопинавира/ритонавира, гидроксихлорокина и эмпирических антибиотиков, лихорадка не проходила с обостренными оксигенационными профилями и изображениями грудной клетки.

Лабораторные испытания показали дальнейшее повышение уровня С-реактивного белка (172,6 мг/л), ИЛ-6 (208,2 пг/мл).

На 9-й день анализ газов артериальной крови показал PaO₂/FiO₂ 86, что соответствует тяжелому ОРДС. Назначили внутривенный метилпреднизолон (1 мг/кг/сут.). На 10-й день восстановительная плазма была получена от мужчины-донора в возрасте 20 лет, который восстанавливался от COVID-19 в течение 21 дня. Ему поставили диагноз - COVID-19, в результате чего у него появилась лихорадка, кашель и пневмония, однако, показал полное выздоровление и не имел никаких симптомов на момент донорства плазмы. Он соответствовал критериям приемлемости доноров крови для донорства плазмы, включая возраст, вес, разумные размеры антекубитальных вен. Кроме того, аллогенные скрининг-тесты доноров, определенные в соответствии с правилами применения Закона об обращении с кровью в Корею, были приемлемы.

. Донорский аферезис проводился с помощью системы аферезиса Spectra Optia (программное обеспечение CMNC; трубочный комплект Spectra Optia IDL; Terumo BCT, Lakewood, CO, США), было собрано 500 мл восстановительной плазмы. Анти-SARS-CoV-2 IgG антитела в плазме крови измеряли методом иммуносорбентного анализа (ИФА) (набор ИФА-19 IgG Novel Coronavirus COVID; Эпитопная диагностика, Сан-Диего, Калифорния, США) и отношение оптической плотности (ОП) для IgG было 0,586 (значение отсечения 0,22). Плазма была разделена на две дозы и введена пациенту с интервалом в 12 часов. Каждая доза выдавалась в течение 1 часа. После введения восстановительной плазмы побочные реакции не возникали.

Лихорадка спала, а потребность в кислороде снизилась с 11-го дня. Состояние пациента значительно улучшилось при снижении С-реактивного белка и ИЛ-6 до нормального диапазона (5,7 мг/л и < 1,5 мкг/мл соответственно), а на 18-й день PaO₂/FiO₂ увеличился до 300 (рис. 1). Рентгенограмма грудной клетки выявила дальнейшее разрешение обоих легких инфильтратов (рис. 2). Количественное определение SARS-CoV-2 осуществлялось по обнаружению РНК-зависимой области РНК-полимеразы гена ORF1b на рентгеновском снимке, значение порога цикла (Ct) изменялось с 24,98 на 10-е сутки до 33,96 на 20-е сутки после плазменной инфузии (рис. 1). SARS-CoV-2 был отрицательным на 26-й день. Пациентка прошла трахеостомию и в настоящее время успешно отлучается от механического аппарата искусственной вентиляции легких.

Случай 2

У 67-летней женщины с гипертонической болезнью в анамнезе развилась лихорадка и миалгия, и 6 марта был поставлен диагноз - COVID-19 через SARS-CoV-2 rRT-PCR. На следующий день она была принята в местный государственный медицинский центр и получала гидроксихлорохин 400 мг один раз в день и лопинавир/ритонавир 400 мг/100 мг дважды в день с эмпирическими антибиотиками. Однако на 3-й день она была переведена в больницу третичного ухода в связи с повышенной потребностью в кислороде и обострением инфильтративных теней в левом нижнем легком. В это время насыщенность кислородом проверяла 93% при потоке кислорода 4 л/мин через носовую канюлю с частотой дыхания 24 раза в минуту. Обычные анализы крови показали легкий лейкоцитоз (12,67 × 10³/μL) с лимфопенией (0,7 × 10³/μL), повышенным С-реактивным белком, ИЛ-6 и LDH. (131,1 мг/л, 474,7 пг/мл, 344 МЕ/л, соответственно) Обычные тесты на химию, электролиты и свертываемость крови не выявили отклонений.

Культуры бактерий и ПЦР других респираторных вирусов были отрицательными.

Она получила кислородную терапию высокого потока, но двусторонняя инфильтрация и насыщение кислородом были ухудшены, поэтому интубация и механический уход за вентилятором начали на 4-й день. Добавляли также внутривенно метилпреднизолон (0,5 мг/кг/сут.). У нее была высокая температура с быстро растущим СИЧ (314 мг/л), СИЧ (21,79 × 10³/мкл) и стойкой лимфопенией (0,5 × 10³/μL). PaO₂/FiO₂

упал до 76, что соответствует тяжелой ОРДС. После применения ОРДС с использованием стероидов в положении предрасположенности, стали улучшаться изображения грудной клетки и потребность в кислороде.

На 6-й день восстановительная плазма была получена от мужчины-донора в возрасте 20 лет, который восстанавливался от COVID-19 в течение 18 дней. Ему поставили диагноз COVID-19 - жар, кашель и пневмония, однако после выписки из больницы он полностью выздоровел, а серийные ПЦР-диагностики атипичной пневмонии (SARS-CoV-2) были отрицательными. Скрининг доноров и сбор плазмы были выполнены, как упоминалось выше в примере 1. Соотношение ОД для IgG составляло 0,532, и плазма назначалась пациенту так же, как и в случае 1. Во время переливания плазмы побочных реакций не наблюдалось. Лейкоцитоз и лимфопения восстанавливались сразу же после выздоровления при инфузии плазмы. На 9-й день плотность двусторонней инфильтрации на рентгеновском снимке грудной клетки значительно улучшилась с увеличением PaO₂/FiO₂ до 230. Уровень С-реактивного белка и ИЛ-6 также восстановился до нормального диапазона (рис. 3 и 4). SARS-CoV-2 количественно определяли по rRT-PCR; значение Ct изменилось с 20,51 на 5-й день до 36,33 на 9-й день после плазменной инфузии (рис. 3). Пациента успешно экстубируют и выписывают из стационара на 24-й день. Показатель TOPC-KOB-2 был отрицательным на 20-й день.

Этическая комиссия

Данное исследование было одобрено Институциональной ревизионной комиссией (IRB) больницы "Северенс" (IRB № 4-2020-0076) и с письменного информированного согласия участников. Изображения публикуются с согласия пациентов.

ДИСКУССИЯ

Изучение лечебных преимуществ переливания плазмы излеченного от инфекционных заболеваний человека началось в 20 веке². По мере разработки новых антибиотиков, противовирусных препаратов и вакцин, назначение восстановительной плазмы не является обычным лечением, но может быть все же важным средством лечения при отсутствии специфического лечения новых инфекционных заболеваний³. На протяжении десятилетий плазма выздоровления доказала свою эффективность в качестве потенциального метода лечения у пациентов с MERS-CoV,⁴ H1N1⁵ и H5N1 птичьим гриппом,⁵ и SARS-CoV.⁶ Системный обзор и мета-анализ для оценки клинического эффекта плазмы выздоровления показывает статистически значимое снижение смертности.¹ В этом контексте, плазма выздоровления может быть перспективным вариантом лечения для пациентов с тяжелыми формами COVID-19.

Как видно из двух случаев, оба получали лопинавир/ритонавир и гидроксихлорохин, но демонстрировали стойкую температуру, быстро обостряющуюся гипоксемию и прогрессирующие билатеральные инфильтрации в соответствии с критериями тяжелой формы ОРДС. После восстановительной плазменной инфузии у пациентов наблюдалась улучшенная оксигенация и рентгенограмма грудной клетки со сниженными маркерами воспаления и вирусными нагрузками.

В обоих случаях внутривенное введение метилпреднизолона начиналось непосредственно перед восстановительным настоем плазмы. Кортикостероиды с самого начала не применялись в качестве рутинного препарата. Современные рекомендации рекомендуют не назначать системные кортикостероиды в качестве рутинного препарата для лечения COVID-19 в связи с отсутствием доказательств его клинической эффективности с точки зрения снижения смертности.^{7,8} Однако, мы решили начать применение кортикостероидов, когда состояние пациентов быстро ухудшилось до уровня ОРДС. Метилпреднизолон вводили за один день и за два дня до плазменной инфузии в случае 1 и 2 соответственно. Серийные лабораторные и оксигенационные параметры показали быстрое улучшение сразу после введения кортикостероидов еще до выздоровления плазменной инфузии.

ОРДС частично вызвана цитокиновой бурей и иммунными ответами хозяев.⁷ Вскрытие пациентов, умирающих от COVID-19, показывает диффузное альвеолярное повреждение с экссудатом и воспалением, очень похожее на те, которые наблюдались при атипичной пневмонии и MERS-KOB инфекции.⁹

Теоретически, системные кортикостероиды могут играть определенную роль в увлажнении чрезмерного поражения легких вследствие воспалительных реакций¹⁰. В недавней статье о факторах риска, связанных с ОРДС и смертью пациентов с COVID-19, показано, что лечение метилпреднизолоном может быть полезным для снижения риска смерти пациентов, у которых развивается ОРДС¹¹. Однако считается, что кортикостероиды также подавляют правильную иммунную реакцию и клиренс вируса и замедляют выработку антител^{12,13}.

Восстановительная плазменная инфузия может играть роль в сосуществовании преимуществ и опасностей, связанных с использованием кортикостероидов. Антитела, содержащиеся в восстановительной плазме, будут подавлять вирусы.¹⁴ В исследованиях на животных пассивно переносимые антитела могут обеспечить полную защиту, а также поддержание высокого уровня титра антител до тех пор, пока иммунная реакция хозяина не будет увеличена, чтобы очистить вирусную инфекцию. Кроме того, исследования *in vivo* показали, что воздействие нейтрализующие антитела не только ограничивались очищением от вирусов, но и включали ускорение очищения инфицированных клеток¹⁵.

В наших случаях вирусная нагрузка, оцениваемая по значениям КТ, имела тенденцию к увеличению непосредственно перед инфузией плазмы, но начала уменьшаться сразу после использования восстановительной плазмы. Хотя улучшение маркера воспаления и оксигенации могло способствовать комбинированному применению кортикостероидов, снижение вирусной нагрузки SARS-CoV-2 может означать эффективность восстановительной плазмы в лечении COVID-2.

Плазму выздоровления назначали через 22 дня с момента появления симптомов в случае 1 и через 7 дней в случае 2, соответственно. Поскольку они не находятся в ранней фазе заболевания, трудно однозначно определить, что снижение вирусной нагрузки, показанное в обоих случаях, связано с плазмой выздоровления или естественной патологией COVID-19. Другие исследования вирусной кинетики COVID-19 показывают естественное снижение вирусных титров через 7-10 дней после начала заболевания у большинства пациентов.^{16,17} Однако Лю и его коллеги сообщили, что у тяжелых пациентов, нуждающихся в интенсивной терапии из-за COVID-19, вирусная нагрузка была высокой в течение более длительного периода времени, чем у легких пациентов.¹⁶ В обоих случаях были обнаружены тяжелые формы ОРДС, а вирусная нагрузка в момент введения плазмы крови имела тенденцию к увеличению независимо от даты начала заболевания.

В случае 2, у пациента с 1-го дня наблюдалась лимфопения, которая сохранялась даже после клинического улучшения при применении кортикостероидов. При введении восстановительной плазмы на 6-й день количество лимфоцитов сразу же возросло до нормального уровня (с $0,52 \times 10^3/\mu\text{L}$ до $1,21 \times 10^3/\mu\text{L}$), а затем осталось в нормальном диапазоне. Пациенты с тяжелой формой пневмонии COVID-19 и ОРДС также страдали лимфопенией в других исследованиях.¹¹ Некоторые авторы предполагали, что для иммунитета против ТОРС может потребоваться непрерывное и постепенное увеличение количества лимфоцитов.

Инфекция CoV-2.¹¹ У больных с атипичной пневмонией лимфопения существовала в начале заболевания и сохранялась до периода выздоровления.^{18,19} Эти результаты согласуются с восстановлением количества лимфоцитов с клиническим улучшением случая 2 после использования восстановительной плазмы.

Мы не смогли оценить нейтрализующие титры антител из плазмы выздоровления. Плазма с высоким содержанием титров нейтрализующих антител, скорее всего, будет доступна пациентам в фазе выздоровления, восстановленным после тяжелой инфекции.²⁰ Для использования плазмы для лечения предлагается провести тест на нейтрализацию в качестве оптимального анализа для оценки надлежащего донора или плазмы. Однако некоторые исследования показали, что ИФА IgG хорошо коррелирует с титрами нейтрализации в случаях МЕРС, так что это может быть подходящим скрининговым тестом для донорства плазмы.^{20,21} В наших случаях доноры представляли двустороннюю пневмонию в ходе COVID-19 и оба показали положительные результаты в тесте ИФА IgG для атипичной пневмонии SARS-CoV-2.

По-прежнему существуют ограничения для использования восстановительной плазмы. Научных данных недостаточно в связи с отсутствием крупномасштабных клинических испытаний, которые могли бы быть репрезентативными для целевых групп населения. Во-вторых, количество антител, вводимых каждому

пациенту, не стандартизировано. Наконец, в восстановительной плазме обычно применяются другие методы лечения, такие как противовирусные препараты и стероиды, которые могут влиять на соотношение между восстановительной плазмой и антителами, что сбивает с толку результаты.

Несмотря на ограничения, наши случаи позволяют предположить, что восстановленная плазма из пациентов, восстановившихся после инфекции COVID-19, может быть дополнительным вариантом лечения пациентов, не вызывающим каких-либо тяжелых побочных эффектов. Кроме того, при использовании с системными кортикостероидами можно ожидать возможности снижения чрезмерной воспалительной реакции со стороны кортикостероидов, а также содействия одновременному снижению вирусной нагрузки восстановительной плазмой. Для демонстрации эффективности и безопасности трансфузии восстановительной плазмы у пациентов с COVID-19 необходимы дальнейшие хорошо продуманные исследования.

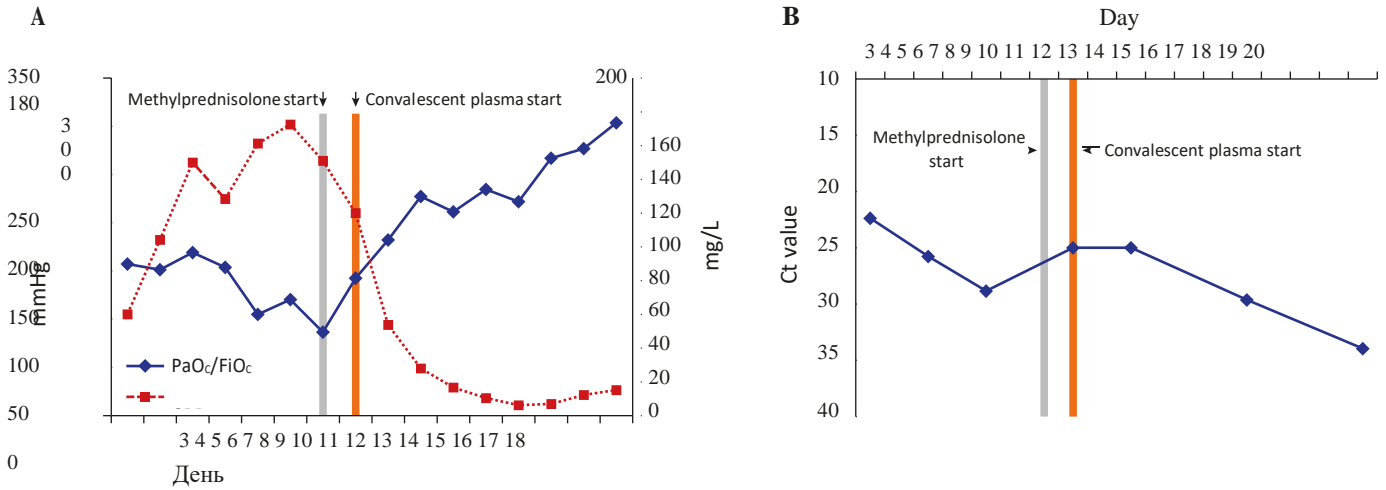


Рис. 1. Случай 1, реакция на лечение. (А) Сроки изменения PaO₂/FiO₂ и CRP во время госпитализации. (Б) Сроки выявления РНК-зависимой области РНК-полимеразы гена ORF1b тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса-2 в мокроте методом обратнo-транскрипционной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени; показан порог цикла.

CRP = С-реактивный белок.

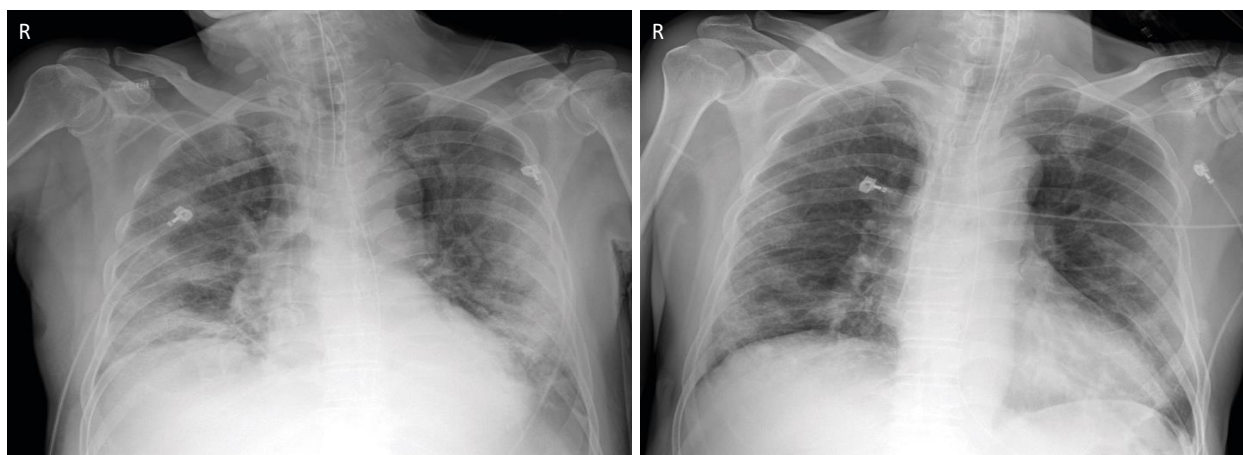


Рис. 2. Рентгенограмма грудной клетки случая 1, сделанная до и после восстановительной плазменной инфузии. Взяты на 7-й день, непосредственно перед восстановительным настоем плазмы (слева). Взятие на 13-й день показывает заметное улучшение билатеральных инфильтраций (справа). Изображения публикуются по согласованию с пациентом.

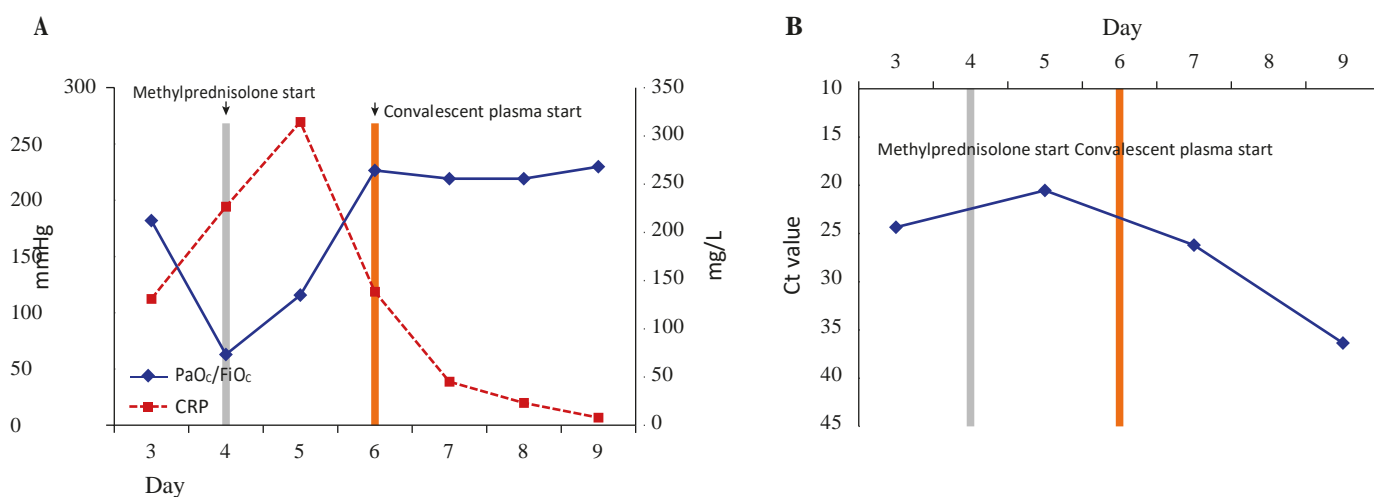


Рис. 3. Случай 2, реакция на лечение. (А) Сроки изменения PaO₂/FiO₂ и CRP во время госпитализации. (Б) Сроки выявления РНК-зависимой области РНК-полимеразы гена ORF1b тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса-2 в мокроте методом обратнo-транскрипционной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени; показан порог цикла.

CRP = С-реактивный белок.

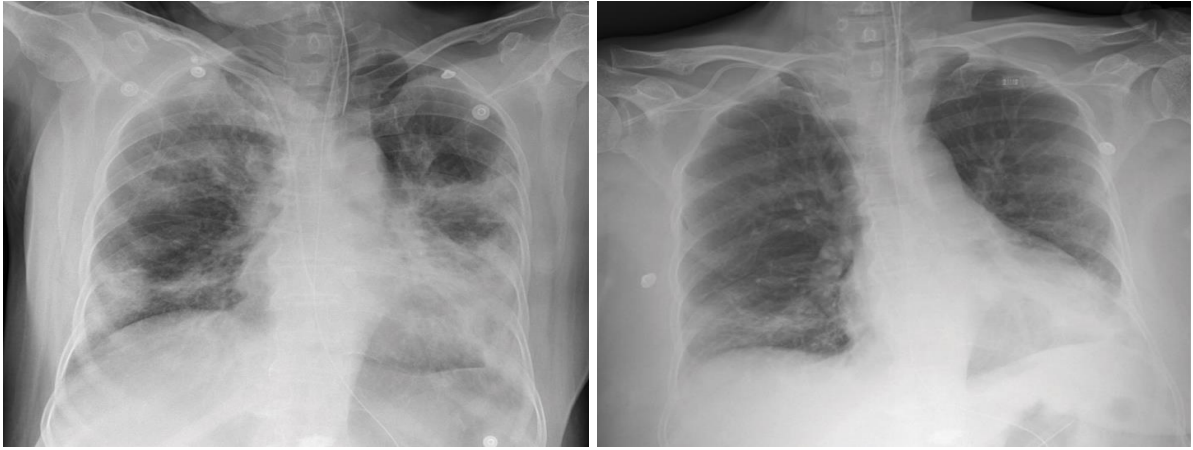


Рис 4. Рентгенограмма грудной клетки случая 2, сделанная до и после восстановительной плазменной инфузии. Взяты на 2-й день, перед восстановительным настоем плазмы (слева). Взятие на 6-й день показывает заметное улучшение билатеральных инфильтраций (справа). Изображения публикуются по согласованию с пациентом.