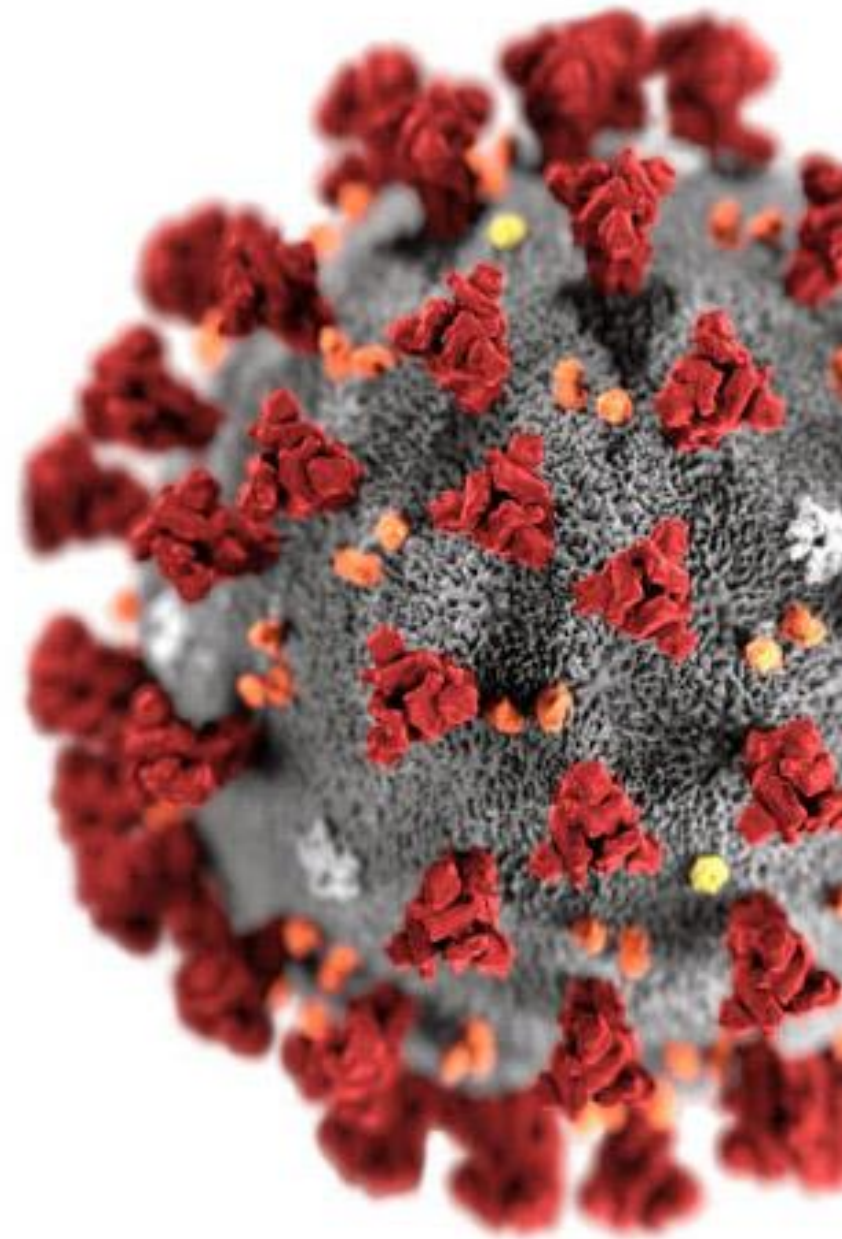


**Principiile de acțiune și utilizare  
a preparatelor în infecția  
SARS-CoV-2 și COVID-19**

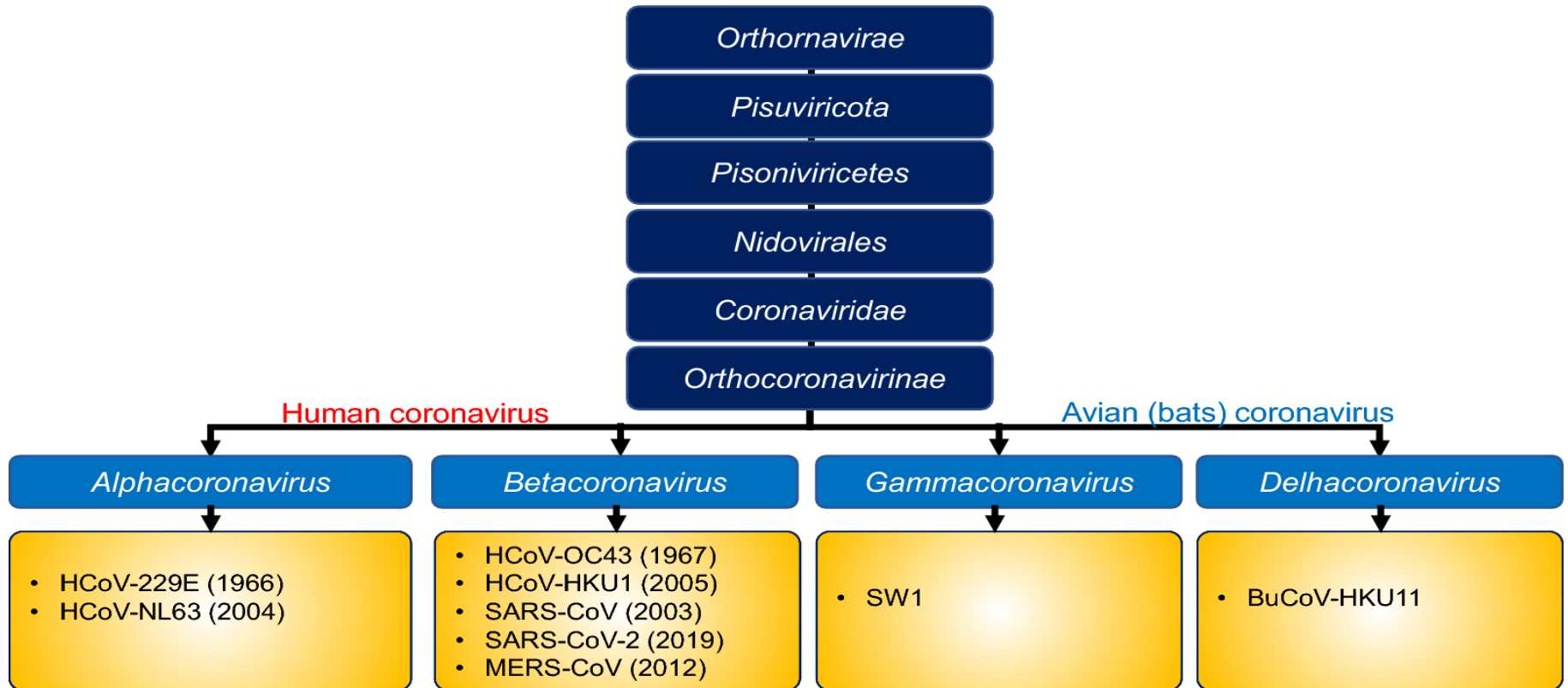
**Bacinschi Nicolae  
profesor universitar**

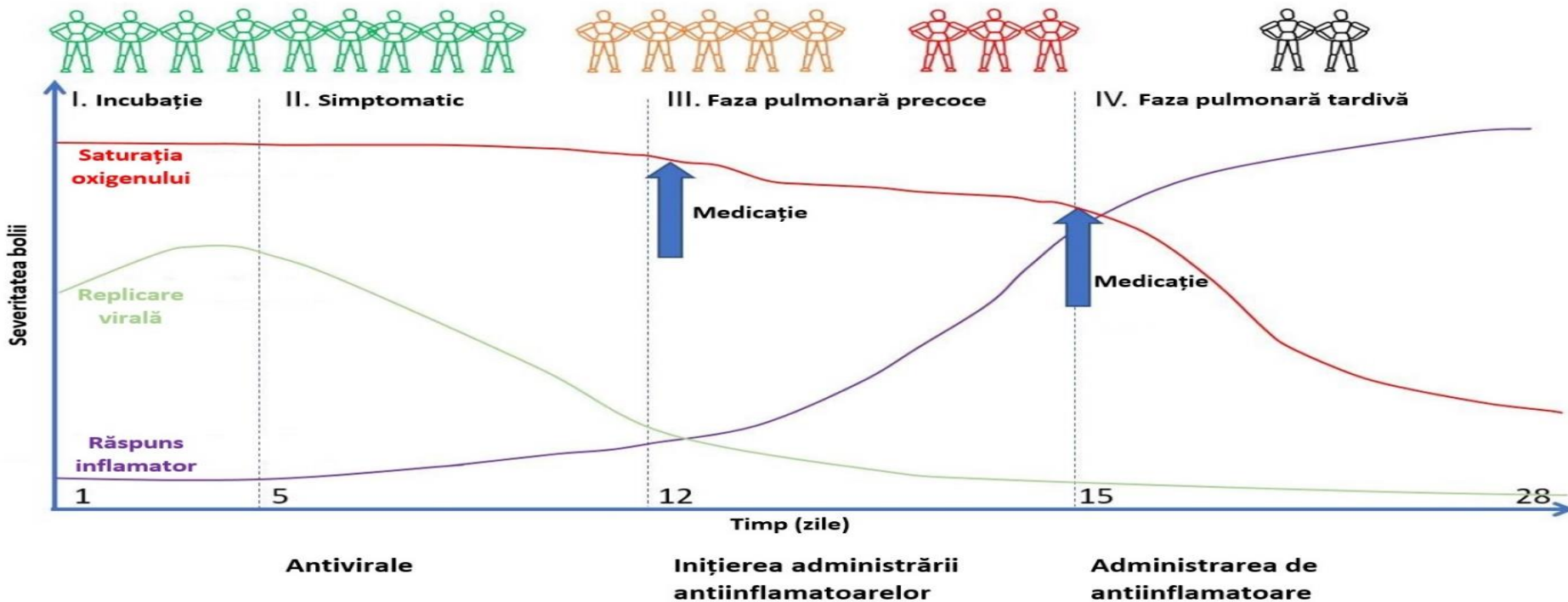
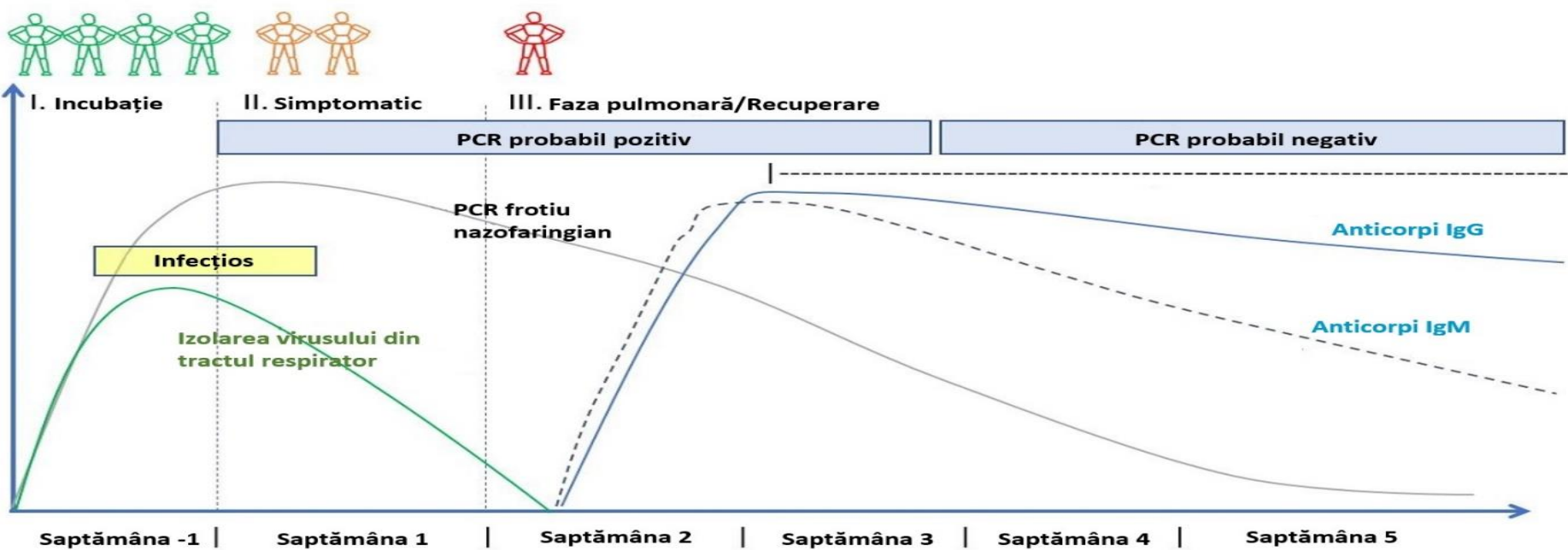
**Catedra farmacologie și  
farmacologie clinică**



# Taxonomia Coronavirusurilor

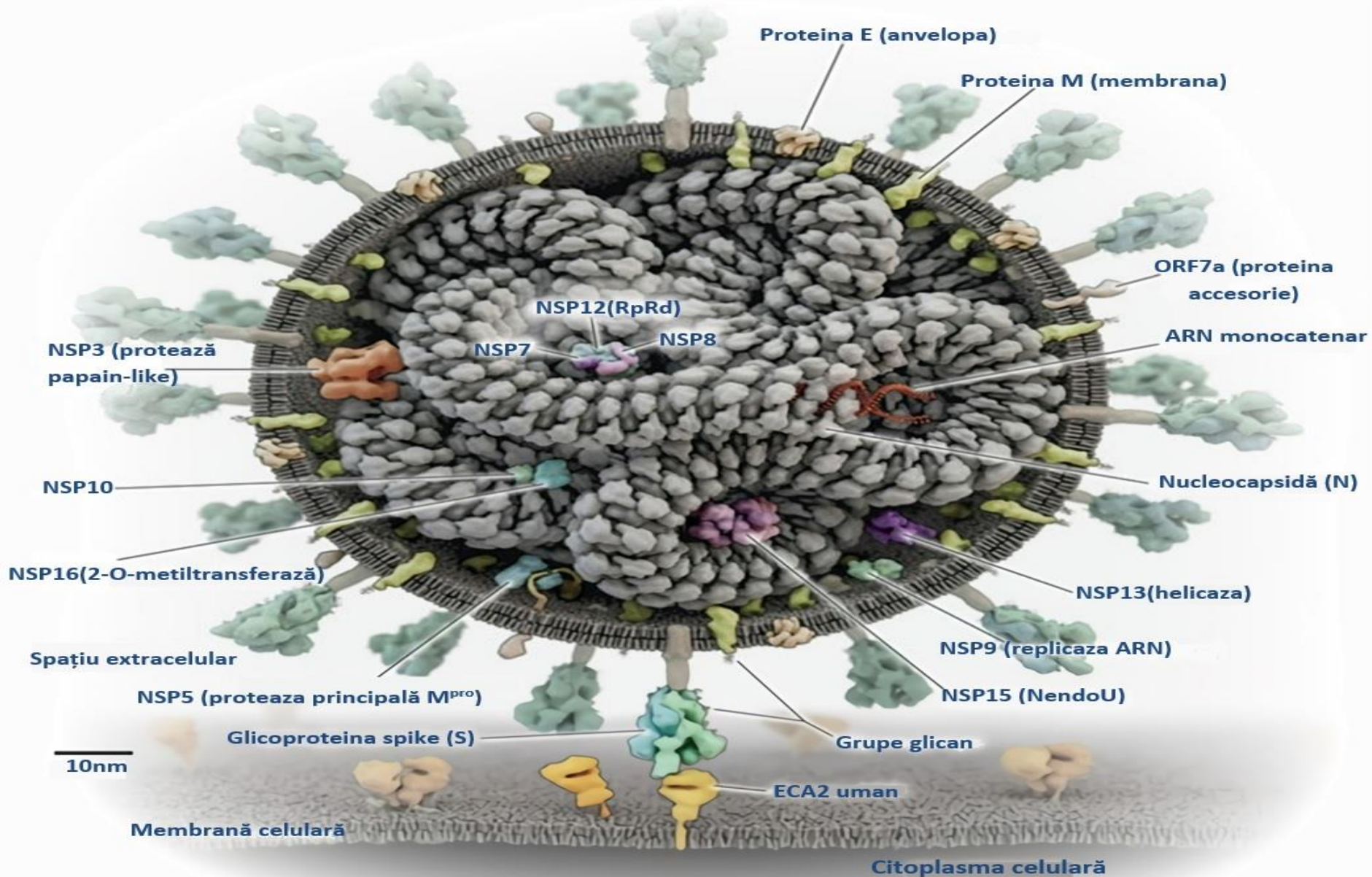
(Kumar M., Al Khodor S., 2020).



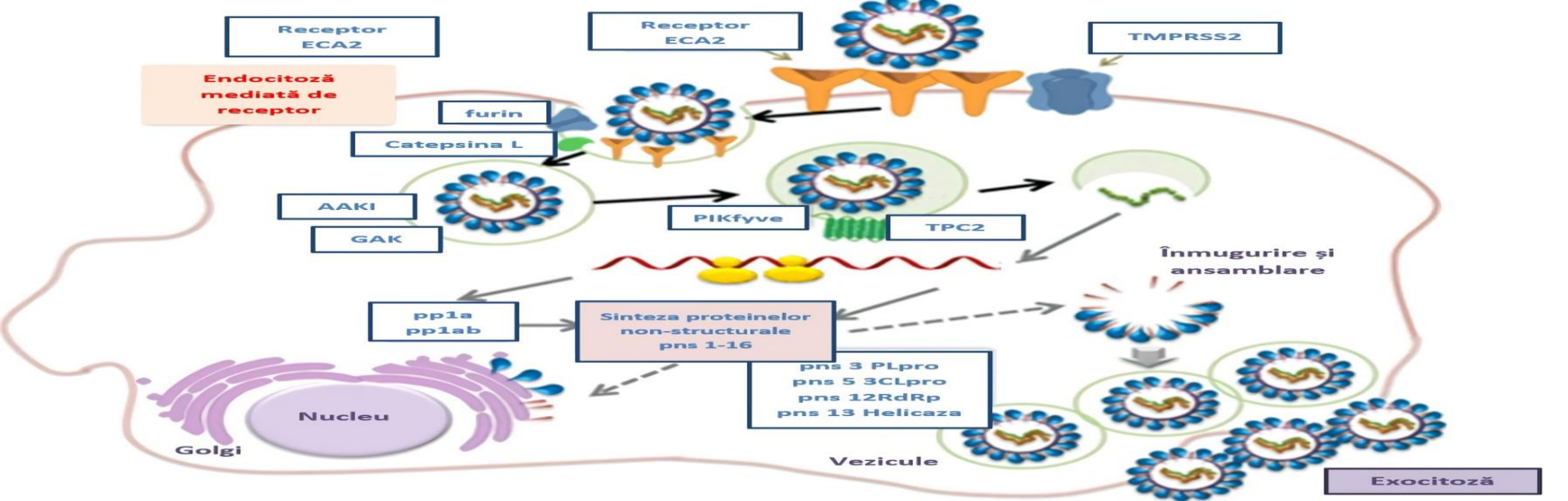
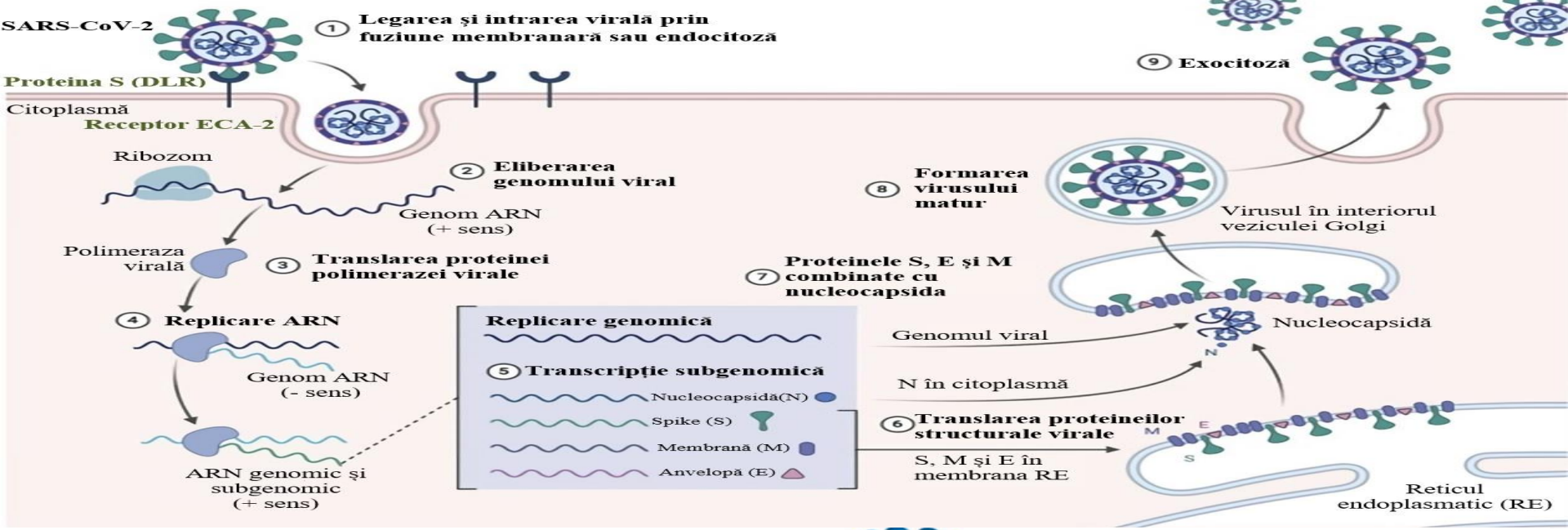




# Virionul SARS CoV-2 și proteinele sale (Parks J.M.et al.,2020 )

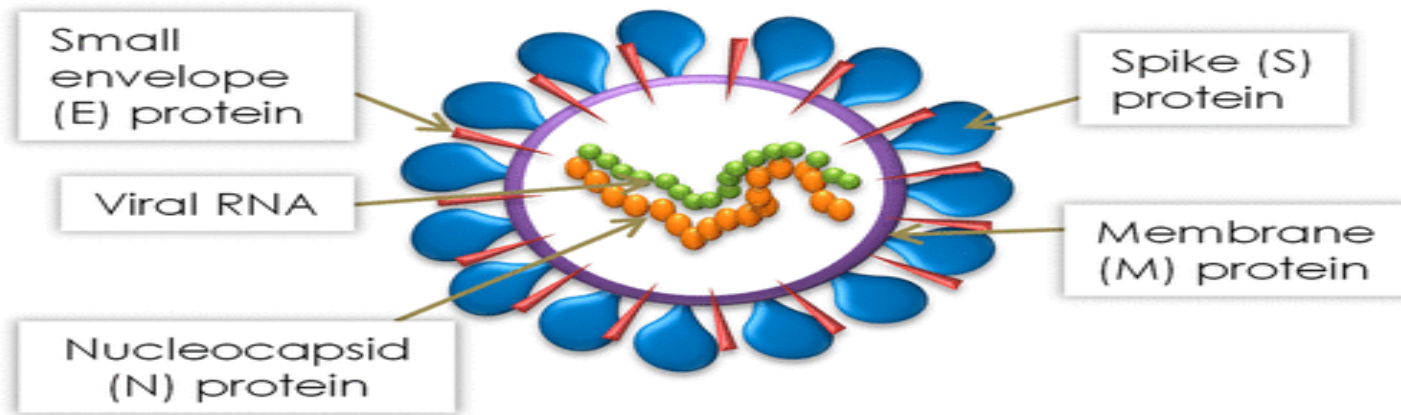


# SARS-CoV-2 și ciclul infecțios (Gil C. et al., 2020, Alturki S.O. et al., 2020).





# Proteinele structurale ale SARS-CoV-2



(Dhama K. et al., 2020; Kumar M., Al Khodor S., 2020, Gil C. et al., 2020). Parks J.M. et al., 2020

Proteinele structurale ale coronavirusului care formează particula virală sunt glicoproteina de suprafață (S), proteina de înveliș (E), proteina membrana (M) și proteina nucleocapsidă (N). Aceste proteine sunt mai puțin conservate decât nsps, jucând funcții importante în ciclul de viață viral.

**Proteina (S)** - are un rol important în patogeneza virusului și în tropismul de organe, fiind responsabilă de intrarea virală prin recunoașterea receptorilor și fuziunea membranelor.

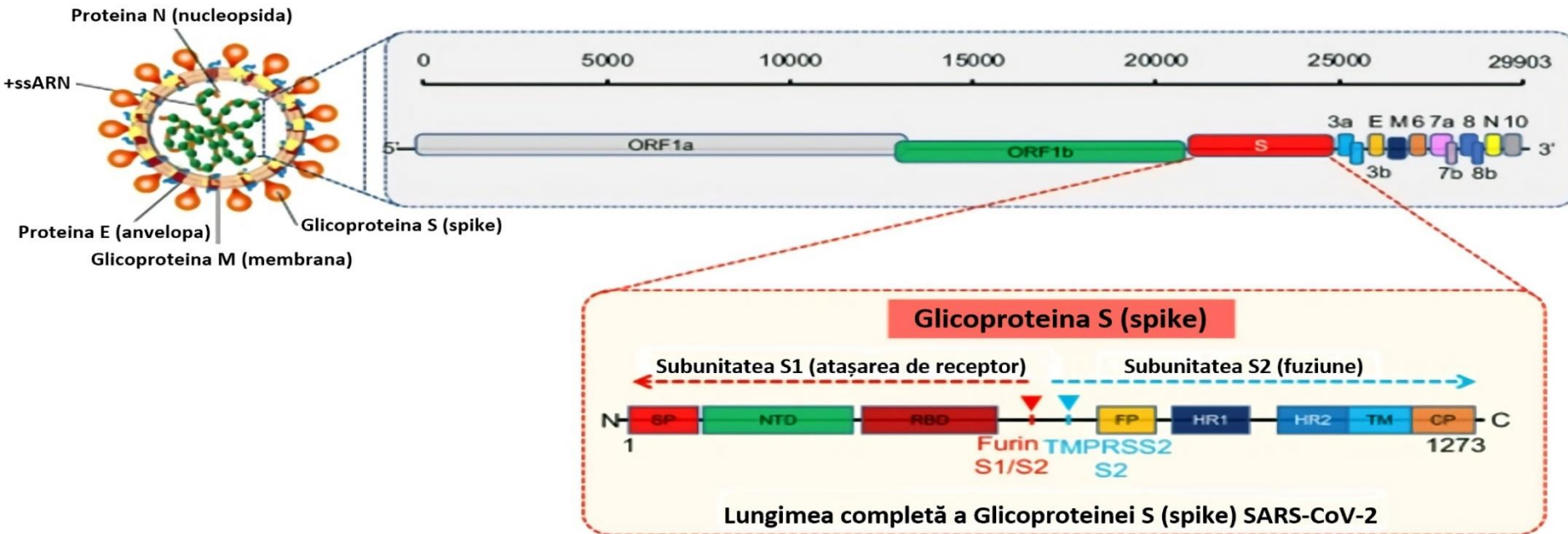
**Proteina (E)** - cea mai mică dintre proteinele structurale cu rol crucial în asamblare, înmugurire, formarea învelișului și virulență.

**Proteina (M)** - funcția principală de a promova asamblarea virală datorită proprietăților sale de îndoire a membranei care împachetează genomul ARN viral într-un complex ribonucleoproteic numit nucleocapsidă pentru a proteja genomul.

**Proteina (N)** - proteină multifuncțională de legare a ARN, transcriere și replicare a ARN-ului viral.

Conține: domeniu de legare a ARN-N-terminal și domeniu de dimerizare C-terminal, împreună cu un linker central bogat în Ser/Arg. Domeniul N-terminal este responsabil pentru legarea ARN, C-terminal pentru oligomerizare și linkerul bogat în Ser/Arg pentru fosforilarea primară.

# SARS-CoV-2 Structură și fiziopatologie



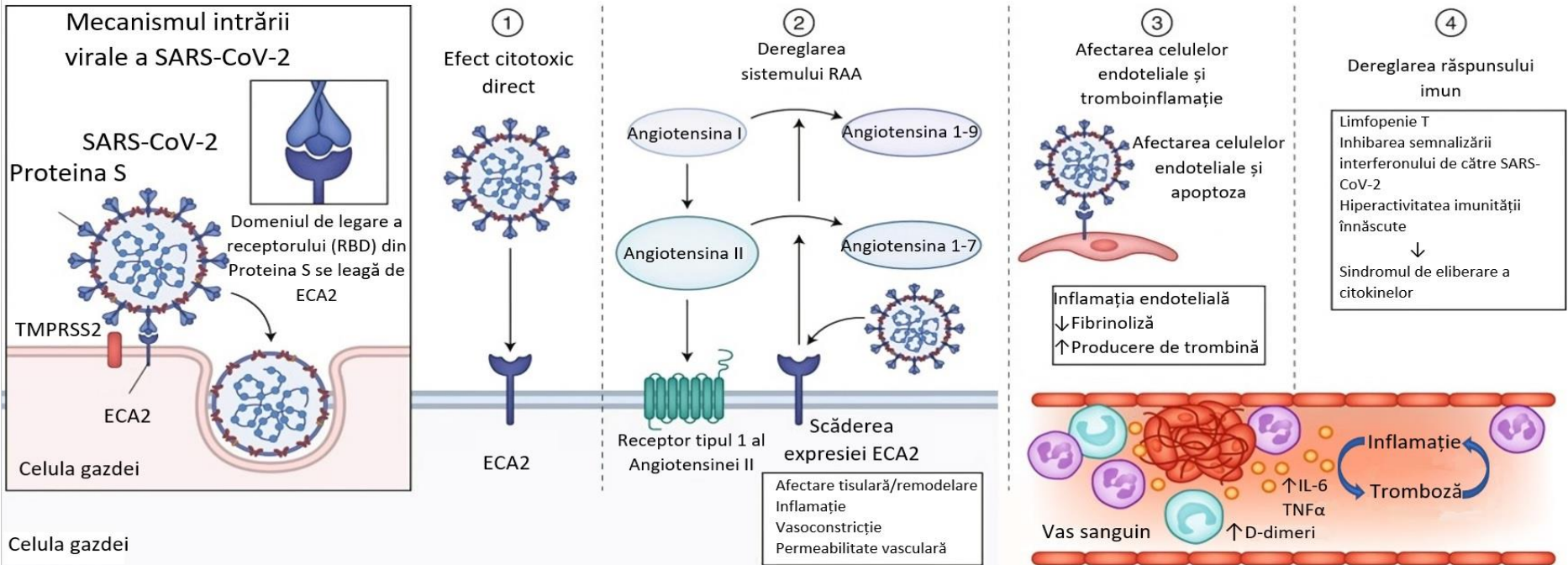
Reprezentarea schematică a structurii SARS-CoV-2, genomului și domeniului funcțional al proteinei SARS-CoV-2 S (Dhama K.et al., 2020; Kumar M., Al Khodor S.,2020, Gil C.et al., 2020).

Proteinele virale de suprafață (S), membrană (M) și înveliș (E) sunt încorporate într-un strat lipidic, în timp ce ARN-ul viral cu sens pozitiv monocatenar (SS-ARN) este asociat cu proteina nucleocapsidică (N).

Proteinele spike (S) conțin subunități S1 și S2 și locurile de scindare pentru furină și TMPRSS2. Proteinele S mediază atașamentul viral la celulele gazdă după activarea de către enzima TMPRSS2.

**SP-peptid semnal; NTD-domeniul N-terminal; RBD- domeniul de legare a receptorilor, conține motiv de legare a nucleului în subdomeniul extern; FP- peptidă de fuziune; HR-heptad repetă 1 și heptad repetă 2; TM- domeniul transmembranar; CP-domeniul citoplasmei**

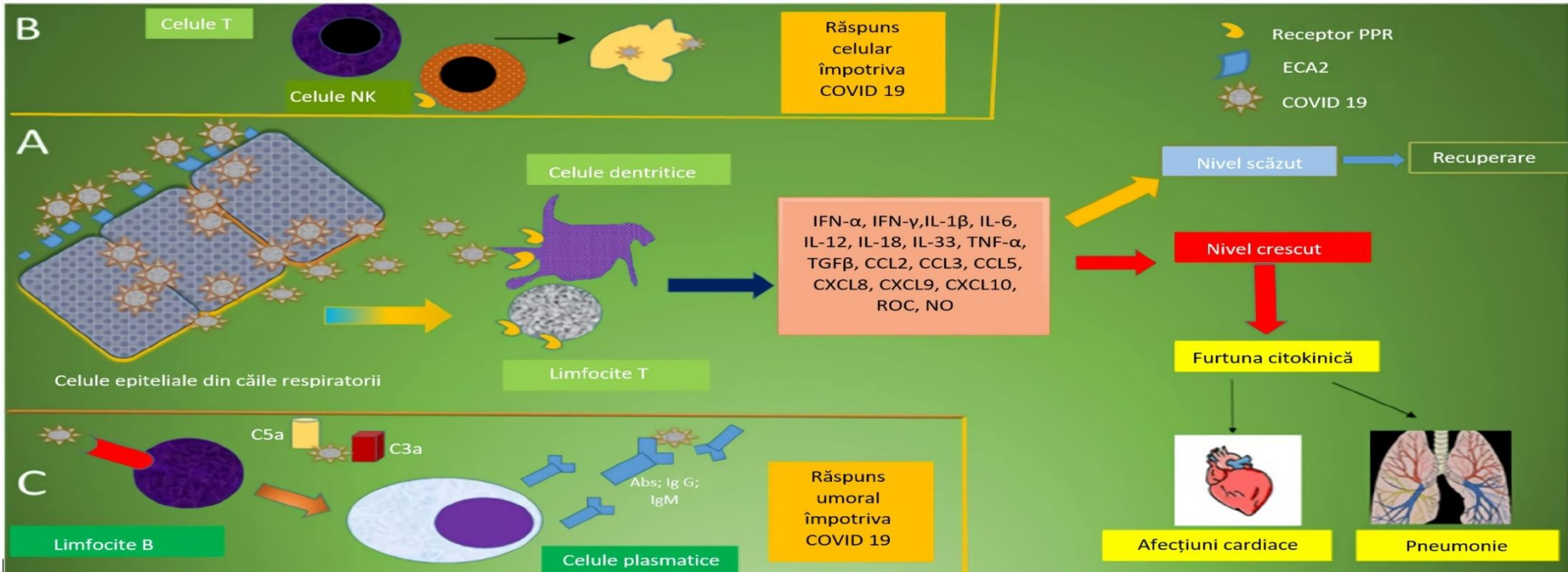
# Fiziopatologia COVID-19 (Gupta, A.et al., 2020)



SARS-CoV-2 intră în celulele gazdă prin interacțiunea proteinei sale spike cu receptorul de intrare ECA2 în prezența TMPRSS2 (extrem stânga). Mecanismele propuse pentru COVID-19 includ:

1. leziuni directe celulare mediate de virus;
2. dereglarea SRAA ca o consecință a reglării descendente a ECA2 legată de intrarea virală, ceea ce duce la scăderea scindării angiotensinei I și angiotensinei II;
3. afectarea celulelor endoteliale cu formarea de trombi și inflamație;
4. dereglarea răspunsului imun și hiperinflamația cauzată de inhibarea semnalizării interferonului de către virus, limfopenie T și producerea de citokine proinflamatorii, în special IL-6 și TNF $\alpha$ .





### Răspunsuri imune la SARS-CoV-2

(A) virusul SARS-CoV-2 invadează gazda  $\Rightarrow$  este recunoscut mai întâi de receptorul ECA 2 prezent pe celulele epiteliale respiratorii  $\Rightarrow$  intrarea virală. După replicarea virală virusul este eliberat  $\Rightarrow$  este întâmpinat de sistemul imun înăscut. Limfocitele T și celulele dendritice sunt activate prin intermediul receptorilor paterni de recunoaștere (PRR) Toll receptori (TLR), receptor de tip NOD (NLR) și receptor de tip RIG-I (RLR). Virusul induce expresia a numeroși factori inflamatori, maturarea celulelor dendritice și sinteza IFN de tip I  $\Rightarrow$  limitează răspândirea virală și accelerează fagocitoza antigenelor virale de macrofage  $\Rightarrow$  recuperarea clinică. Proteina N a SARS-CoV poate ajuta virusul să scape de răspunsurile imune  $\Rightarrow$  reacția exagerată a sistemului imun  $\Rightarrow$  generează niveluri ridicate de mediatori inflamatori și radicali liberi  $\Rightarrow$  induc leziuni locale severe în plămâni și alte organe  $\Rightarrow$  insuficiență poliorganică  $\Rightarrow$  deces.

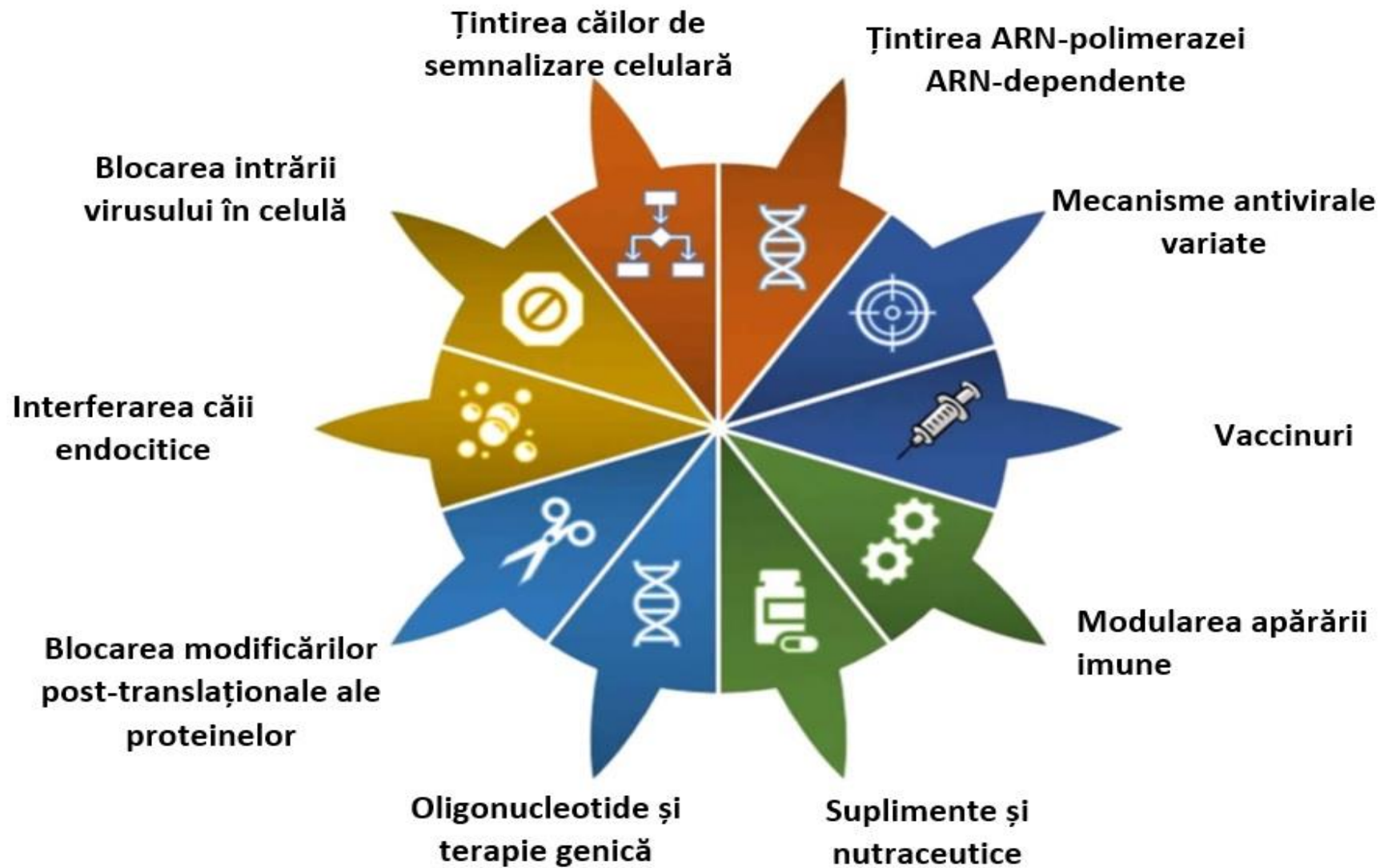
(B) Răspunsul imun adaptiv se alătură luptei împotriva virusului. Limfocitele T: Celulele T CD4 + stimulează celulele B să producă anticorpi specifici virusului, celulele T CD8 + sunt capabile să distrugă direct celulele infectate cu virus. Celulele T helper produc citokine proinflamatorii  $\Rightarrow$  apărare.

SARS-CoV-2 poate inhiba celulele T prin inducerea morții celulare programate (apoptoză).

(C) Imunitatea umorală. factorii complementului - C3a și C5a și anticorpi specifici derivați din celule B, sunt esențiali în combaterea infecției cu SARS-CoV-2.

# Tratamentul infecției COVID-19

- **I. etiologic antiviral nespecific** (inhibitorii penetrării, inhibitorii fuziunii membranare, replicării și asamblării);
- **II. tratamentul patogenetic** (corecția dereglărilor imune, proceselor inflamatorii și tromboembolice, neutralizarea virusului etc.);
- **tratamentul simptomatic** (tratament suportiv în caz de sindrom de detresă respiratorie acută, sepsis, șoc etc.);



**Strategii majore în infecția SARS CoV-2 - COVID-19  
(Nitulescu G. M.et al.,2020).**



### Modularea răspunsului imun

- tocilizumab, siltuximab, clazakizumab
- adalimumab, eculizumab
- IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$
- metotrexat, imatinib, colchicină
- talidomida, lenalidomida
- glucocorticosteroizi



### Blocarea modificărilor post-tranlaționale ale proteinelor

- lopinavir/ritonavir
- nelfinavir



### Blocarea intrării virusului în celulă

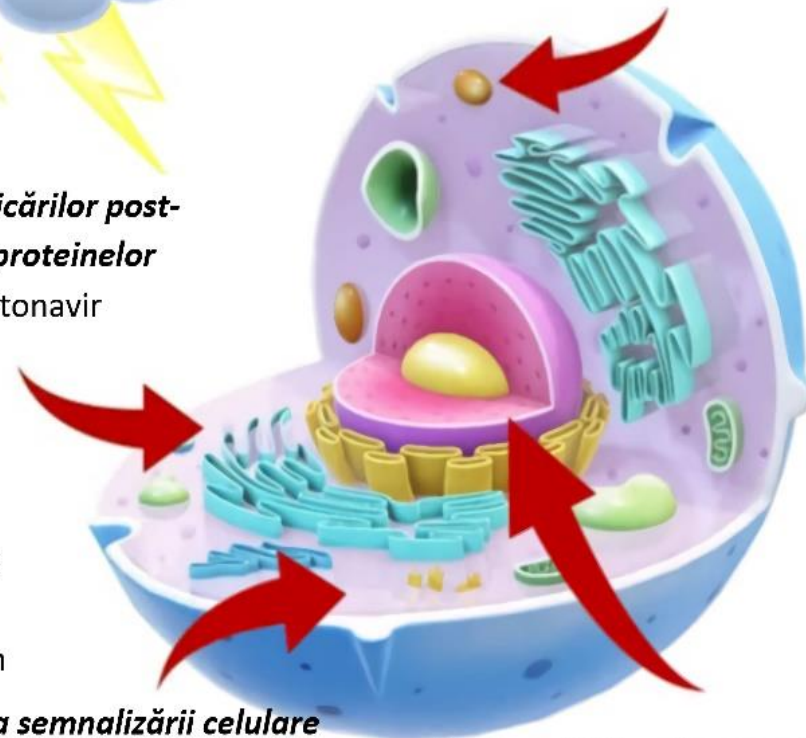
- rhACE2(APN01)
- losartan, telmisartan, valsartan
- camostat, nafamostat
- bromhexină
- aprotinină
- clorpromazină
- ruxolitinib, baricitinib

### Țintirea semnalizării celulare

- niclosamidă, nitrazoxanidă
- sirolimus
- MK-2206
- valinomicina

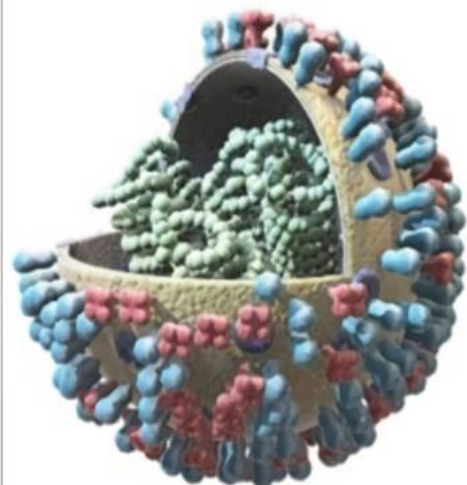
### Interferarea căii endocitice

- clorochină, hidroxiclorochină



### Țintirea ARN-polimerazei ARN-dependente

- Remdesivir, favipiravir, galidesivir
- 6-D-N4-hidroxicitidină



### Mecanisme antivirale variate

- umifenovir
- ivermectină
- emetină, zotatifin
- homoharingtonină

Ținte moleculare în tratamentul COVID-19 treatments.  
(Nitulescu G. M. et al. 2020,)

# Evaluarea dovezilor pentru tratamentele legate de COVID-19 (actualizat 19.11.2020) ASHP COVID-19 Resource Center

## Preparate antivirale:

- BALOXAVIR
- FAVIPIRAVIR
- INHIBITORII HIV  
PROTEAZEI (LPV/RTV)
- CLOROCHINA,  
HIDROXICLOROCHINA
- INHIBITORII  
NEURAMINIDAZEI  
(oseltamivir)
- REMDESIVIR
- ANTICORPI  
MONOCLONALI  
SPECIFICI SARS-CoV-2
- UMIFENOVIR  
(Arbidol®)

## Preparate patogenetice

- ANAKINRA (Kineret•)
- AZITROMICINA
- BARICITINIB
- COLCHICINA
- CORTICOSTEROIZII (sistemici)
- CORTICOSTEROIZII (inhalatori)
- PROSTACICLINE INHALATORII
- INTERFERONI
- OXID NITRIC (inhalator)
- RUXOLITINIB
- SARILUMAB
- SILTUXIMAB
- SIROLIMUS
- TOCILIZUMAB
- ASCORBIC ACID
- VITAMIN D
- ZINC

## Alte preparate

- IECA, BRA
- ANTICOAGULANTE
- PLASMA
- CONVALESCENȚĂ COVID-19
- FAMOTIDINA
- INHIBITORII HMG-CoA  
REDUCTAZEI (statine)
- IMMUNOGLOBULINE
- IVERMECTINA
- NICLOSAMIDA
- NITAZOXANIDA
- AINS
- FIBRINOLITICE (t-PA -  
alteplasa, tenecteplasa)
- PREPARATE  
INHALATOARE

# Grupele de preparate recomandate și de perspectivă în SARS CoV-2 (COVID-19) (Sarkar C.et al., 2020)

1. **Antivirale nonspecifice:** imunoglobulinele; IFN- $\beta$ 1a; IFN-  $\beta$ 1b; Interleukin-2; Baloxavir marboxil;
2. **Antivirale cu spectru larg:** Remdesivir; Favipiravir; Galidesivir; Umifenovir ( Arbidol);
3. **Antivirale antiretrovirale:** Azvudina; Danoprevir; Darunavir +Cobicistat; Lopinavir + Ritonavir;
4. **Inhibitorii serin proteazei membranare 2:** camostat; nafamostat;
5. **Inhibitorii JAK kinazei:** ruxolitinib, baricitinib, tofacitinib, imatinib, jacotinib;
6. **Antiinflamatoare și imunodeprepsive nespecifice:**
  - ✓ glucocorticoizii (dexametazona, metilprednisolon); fingolimod;
  - ✓ antiinflamatoare antireumatice specifice (leflunomid, talidomid);
  - ✓ AINS (ibuprofen, naproxen); colchicina;
7. **Anticorpi monoclonali:**
  - Antagoniștii IL-6: tocilizumab, clazachizumab,sarilumab,
  - Antagoniștii TNF-alfa: etanercept, tozumab+adamumab,
  - Antagoniștii IL-1: anakinra, canakinumab
  - Antagoniștii complementului C5: ravulizumab,
  - Anticorpi monoclonali IgG4: nivolumab, leronlimab, avdoralimab;
  - Anticorpi monoclonali umanizați: meplazumab, eculizumab, gimsilimab;
  - Anticorpi monoclonali IgG1: bevacizumab, lenzilumab;
8. **Antibiotice:** azitromicina; doxicilcina; carimicina;
9. **Antiparazitare:** Antimalarice (antiinflamatoare antireumatice specifice): cloroquina, hidroxiclороchina; dihidroartemisina+piperachina, nitazoxanida; Antihelmintice: ivermectina;
10. **Preparate hormonale:** estradiol, progesterone, triiodtironina;
11. **Inhibitorii fosfodiesterazei:** sildenafil, apremilast;
12. **Preparate cardiovasculare:** IECA (ramipril), BRA (losartan, valsartan); AA (spironolactona);
13. **Vitamine și suplimente:** acid ascorbic (vit.C), ergocalciferol (vit.D),



# Preparatele antivirale (Elshabrawy H., 2020, Shyr Z.A.et al.,2020 )

- **Antivirale împotriva SARS-CoV-2 includ:**

- **inhibitori de penetrare:**

- plasma convalescentă,
- anticorpi monoclonali (47D11, HA001, B38, H4 și CR3022);
- Inhibitorii ECA – lisinopril etc.
- Blocantele receptorilor angiotensinici – losartan, telmisartan etc.;
- ECA2 recombinat - rhACE2; APN01, GSK2586881.
- Lectinele – grifitsina etc.

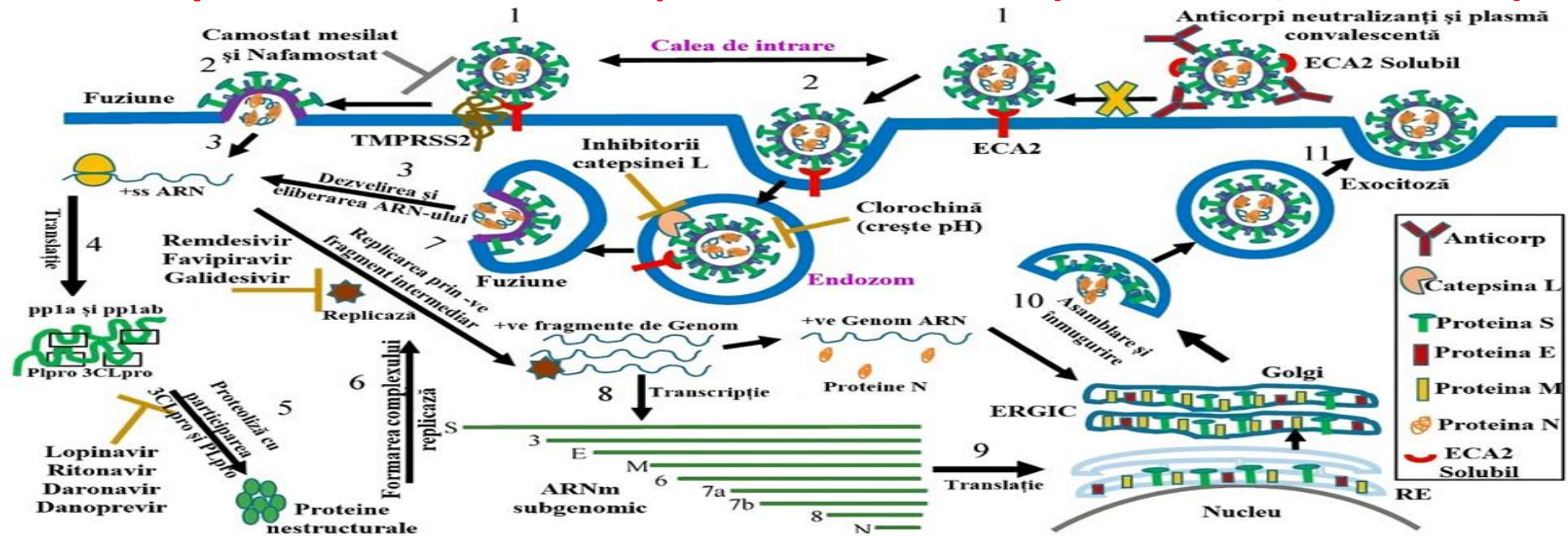
- **Inhibitorii endocitozei (fuziunii):**

- ✓ Antimalarice: clorochină, hidroxiclorochina;
- ✓ Inhibitorii TMPRSS2: camostat, nafamostat, bromhexina, estrogenii (estradiol, genisteina), antiandrogenii (enzatulamida).
- ✓ inhibitorii catepsinei L - E-64D;
- ✓ Inhibitorii clatrinei – clorpromazina etc.
- ✓ Umifenovir.

- **Inhibitorii 3CLpro:**

- **Inhibitorii de protează HIV-1:** lopinavir/ritonavir, nelfinavir, darunavir etc.;
- **inhibitori ai proteazei HCV:** danoprevir, ledipasvir, velpatasvir, velpatasvir/sofosbuvir ledipasvir/sofosbuvir etc.;
- **inhibitori ai ARN polimerazei:** remdesivir, favipiravir și galidesivir, ribavirina.

# Ținte terapeutice antivirale potențiale care vizează diferite etape ale ciclului de viață al SARS-CoV-2 (Elshabrawy H., 2020.)



## Etapele ciclului de viață al SARS-CoV-2:

- (1) atașarea la enzima de conversie a angiotensinei 2 (ECA2) pe celulele țintă,
- (2) intrarea în celulă prin endocitoză (scindarea proteinei S de catepsina L) sau prin membrana plasmatică (scindarea proteinei S mediată de TMPRSS2),
- (3) dezvelirea și eliberarea ARN-ului viral,
- (4) traducerea ARN-ului viral la capătul 5' (ORF1a și ORF1b),
- (5) proteoliza pp1a și pp1ab de 3CLpro și PLpro în proteine nestructurale,
- (6) formarea complexului de replicază,
- (7) replicarea ARN-ului viral,
- (8) transcrierea genomului viral în ARNm subgenomici,
- (9) traducerea ARNm subgenomici în proteine structurale și nestructurale,
- (10) asamblare și înmugurire de noi particule virale prin intermediul aparatului Golgi
- (11) exocitoză și ieșire de noi particule virale din celulă.

## Antivirale împotriva SARS-CoV-2 includ:

- **inhibitori de penetrare:** plasma convalescentă și anticorpi monoclonali (de exemplu, 47D11, HA001, B38, H4 și CR3022);
  - **Inhibitorii endocitozei:** clorochină, camostat, nafamostat, inhibitorii ai catepsinei L, ACE2 solubil;
  - **Inhibitorii 3CLpro:** inhibitorii proteazei HIV (lopinavir, ritonavir, darunavir) și inhibitorul proteazei virusului hepatitei C (VHC) danoprevir;
  - **inhibitori ai ARN polimerazei:** remdesivir și galidesivir.
- ER; reticul endoplasmatic, ERGIC; reticul endoplasmatic – compartiment intermediar Golgi și ORF; cadru de lectură deschis.

# Clorochina și hidroxiclorochina

**Acțiunea antivirală s-a determinat a fi realizată prin:**

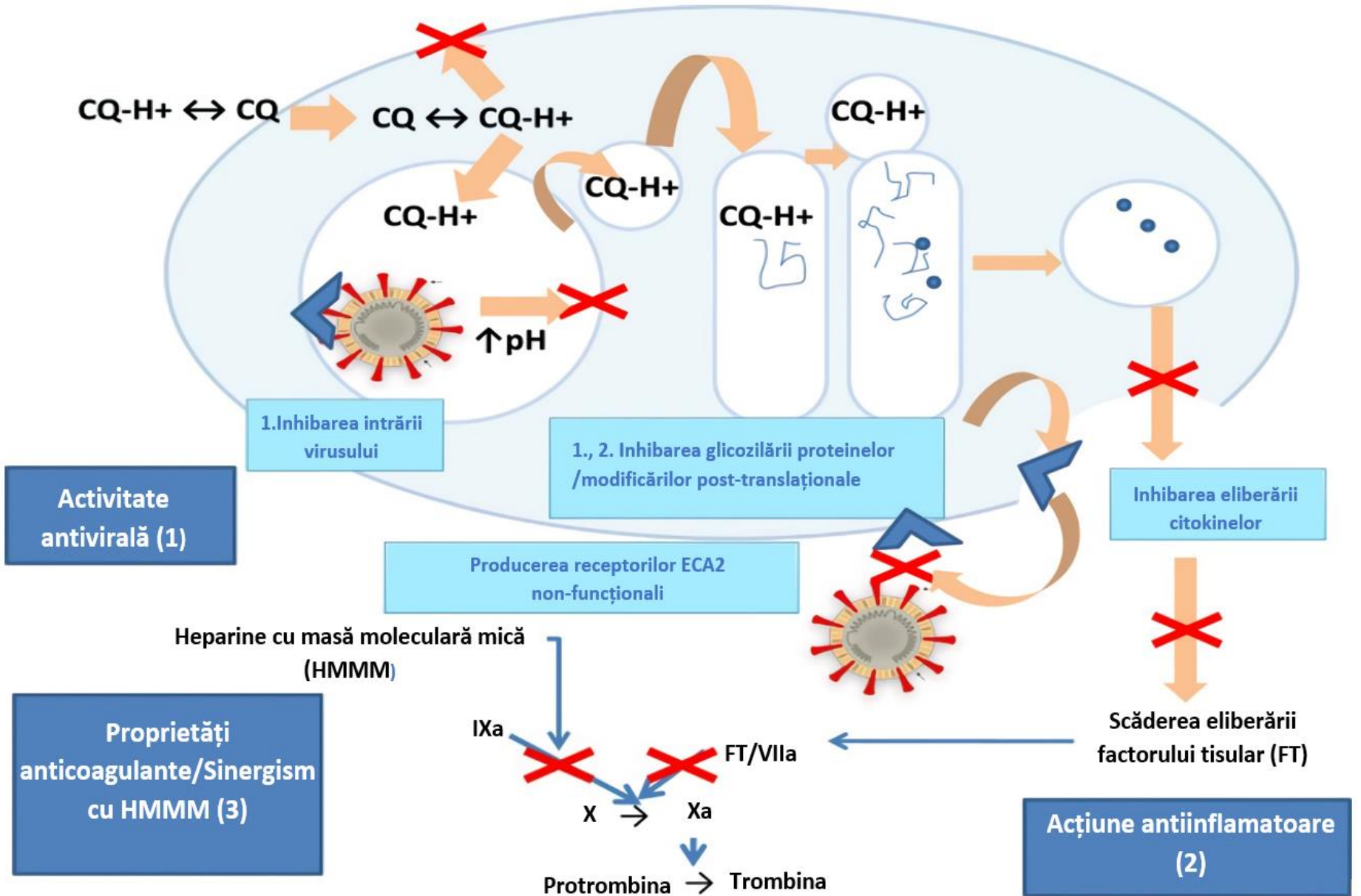
- **inhibarea sintezei acizilor sialici, componenți membranari esențiali pentru recunoașterea ligandului, glicozilării și fosforilării ECA-2;**
- **alcalinizarea pH-ului în endosomi și abrogarea fuziunii;**
- **inhibarea sintezei ARN-viral;**
- **modificarea post-translațională a proteinelor virale;**
- **afectarea maturării adecvate a proteinei virale și recunoașterea antigenului viral de către celulele dendritice;**
- **împiedicarea asamblării virionului;**
- **afectarea eliberării virusului.**

**Proprietățile imunomodulatoare, relevate prin:**

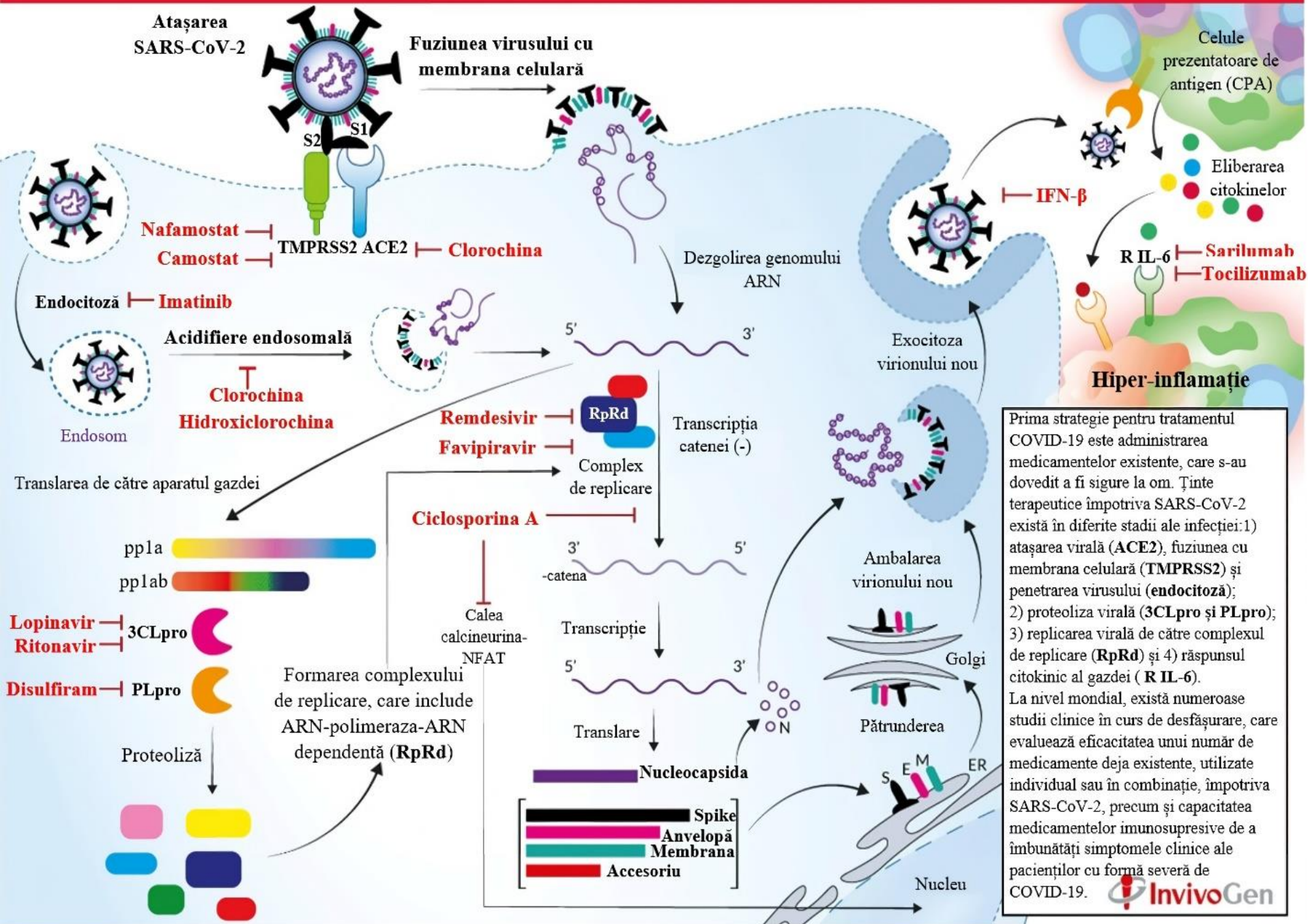
- ❖ **modularea imunității celulare,**
- ❖ **reducerea proteolizei, chimiotaxiei, fagocitozei, reciclării receptorilor;**
- ❖ **interferarea cu procesarea epitopilor pe celulele prezentatoare de antigen,**
- ❖ **reglarea producerii și eliberării citokinelor pro-inflamatorii (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ).**



# Acțiunea clorochinei



# Medicamente aprobate contra SARS-CoV-2

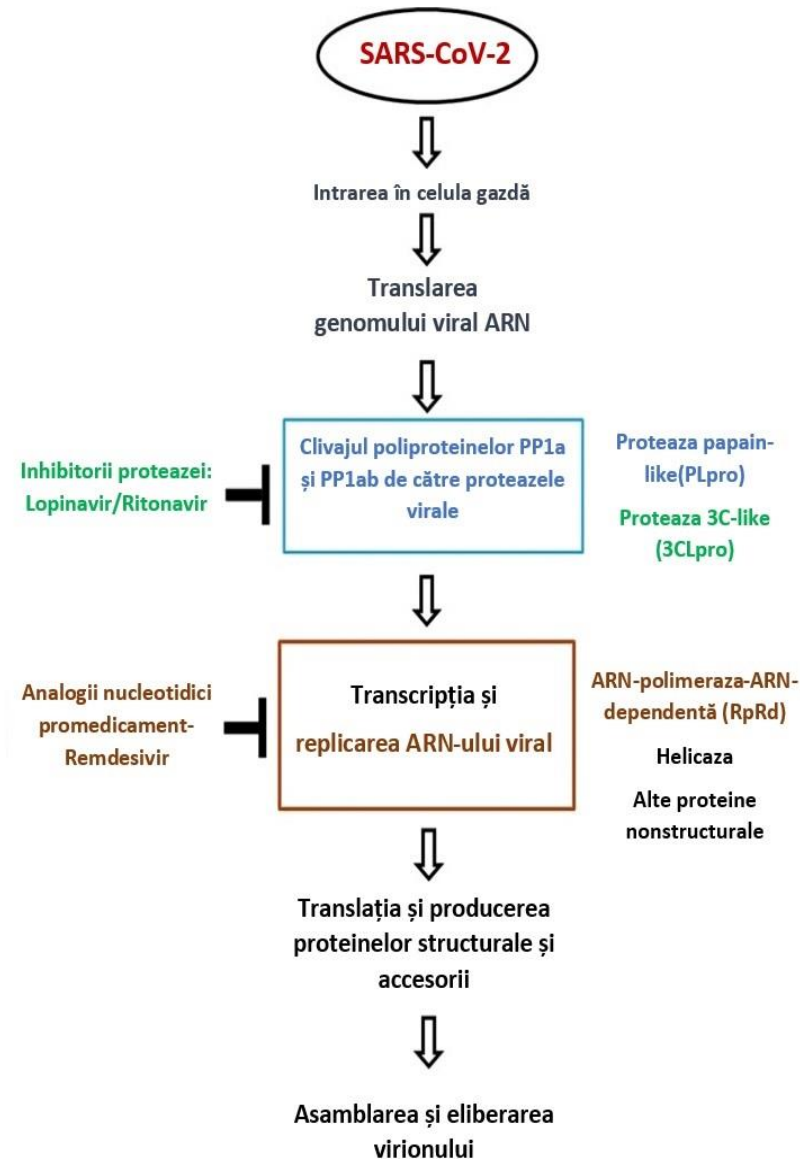


Prima strategie pentru tratamentul COVID-19 este administrarea medicamentelor existente, care s-au dovedit a fi sigure la om. Ținte terapeutice împotriva SARS-CoV-2 există în diferite stadii ale infecției: 1) atașarea virală (ACE2), fuziunea cu membrana celulară (TMPRSS2) și penetrarea virusului (endocitoză); 2) proteoliza virală (3CLpro și PLpro); 3) replicarea virală de către complexul de replicare (RpRd) și 4) răspunsul citokinic al gazdei (RIL-6). La nivel mondial, există numeroase studii clinice în curs de desfășurare, care evaluează eficacitatea unui număr de medicamente deja existente, utilizate individual sau în combinație, împotriva SARS-CoV-2, precum și capacitatea medicamentelor imunosupresive de a îmbunătăți simptomele clinice ale pacienților cu formă severă de COVID-19.

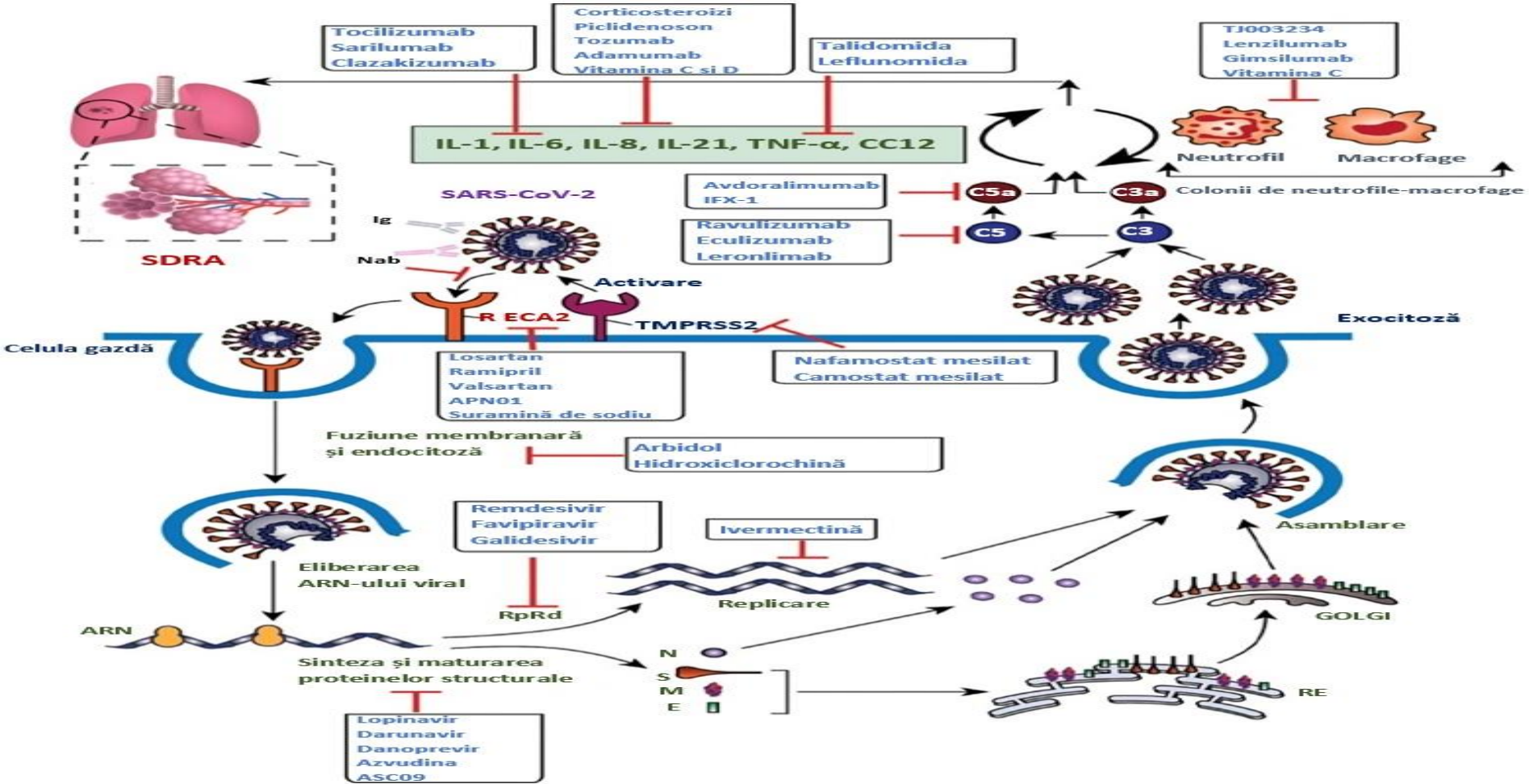
**InvivoGen**

# Analogii nucleozidici (remdesivir, favipiravir, geldesivir, ribavirina)

- **Inhibitorii de proteaze lopinavir/ritonavir** influențează replicarea SARS-CoV-2 prin blocarea proteazei asemănătoare 3-chimotripsinei (3CLpro) și proteazei asemănătoare papainei (PLpro) ce asigură clivajul poliproteinelor dependente de ARN polimeraza și elicaza.
- **Remdesivirul** -promedicament, analog de adenozină, care se supune fosforilării ce substituie adenozina în timpul sintezei ARN prin inhibarea ARN-polimerazei.
- **Favipiravirul** reprezintă un promedicament, care în celule se transformă în metabolitul activ trifosfat cu încorporarea lui ulterioară în lanțul de ARN în creștere sau cuplarea cu ARN-polimeraza și prevenirea replicării virale.
- **OMS nu recomandă utilizarea remdesivir la pacienții cu COVID-19 spitalizați, indiferent de severitatea bolii, deoarece în prezent nu există dovezi că remdesivirul îmbunătățește supraviețuirea și alte rezultate la acești pacienți.**
- **Dovezile nu au sugerat niciun efect important asupra mortalității, nevoia de ventilație mecanică, timpul până la îmbunătățirea clinică și alte rezultate importante pentru pacient.**







Reprezentarea schematică a ciclului de replicare al SARS-CoV-2 și locul de acțiune a preparatelor (Sarkar C.et al., 2020)

ACE2R - receptorul enzimei 2 de conversie a angiotensinei;

ARDS - sindrom de detresă respiratorie acută (SDRA);

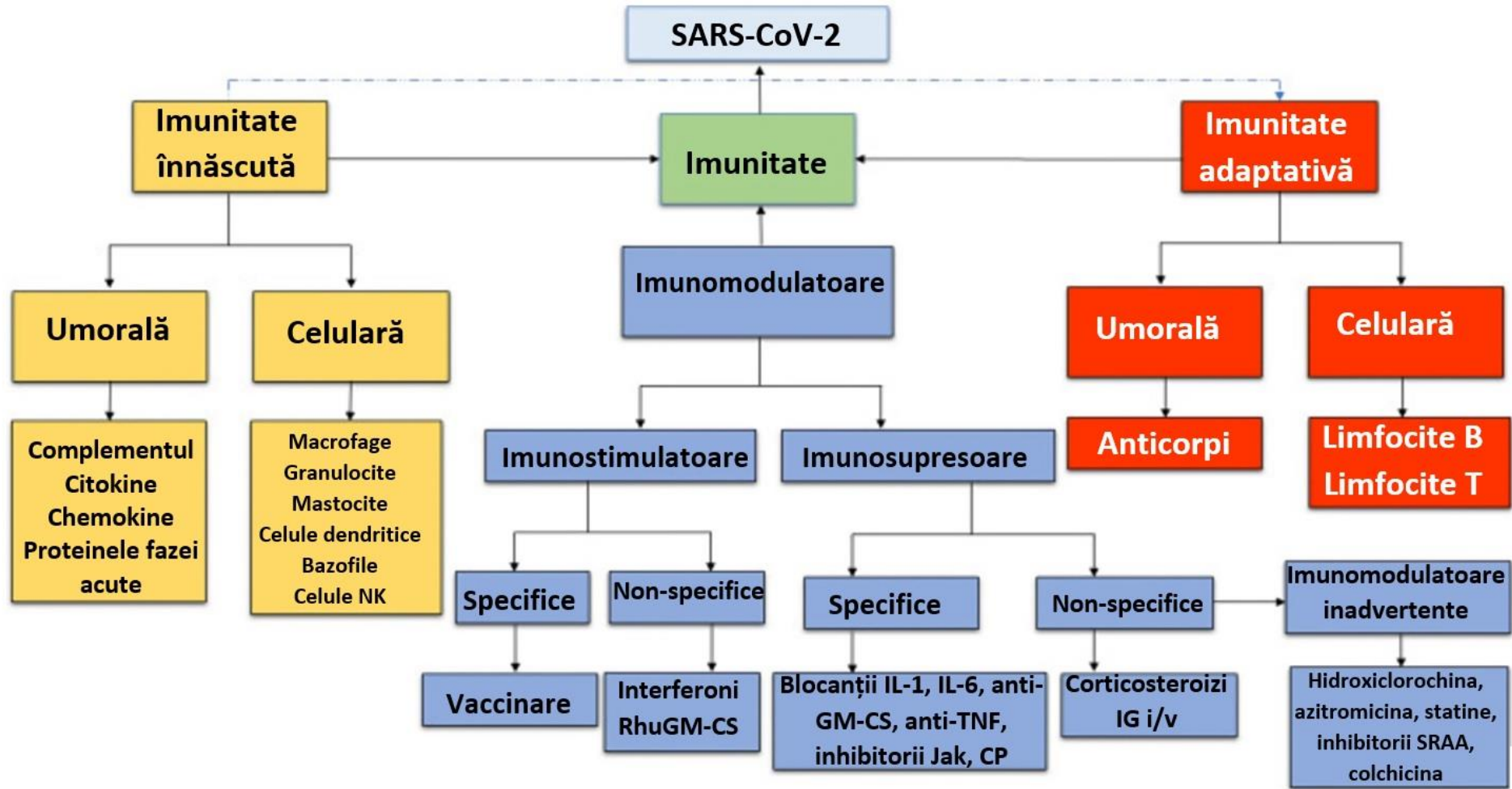
ER - reticul endoplasmatic; Ig - imunoglobulină;

S - glicoproteină de suprafață; E - proteina anvelopei; M - proteina membranară; N -

proteina nucleocapsidică; Nab - anticorp neutralizant; TMPRSS2 - serin-proteaza

transmembranară tip 2 RdRp – ARN-polimeraza ARN dependentă;





**Sistemul imun - înnăscut și adaptiv** (Rizk JG.et al., 2020).

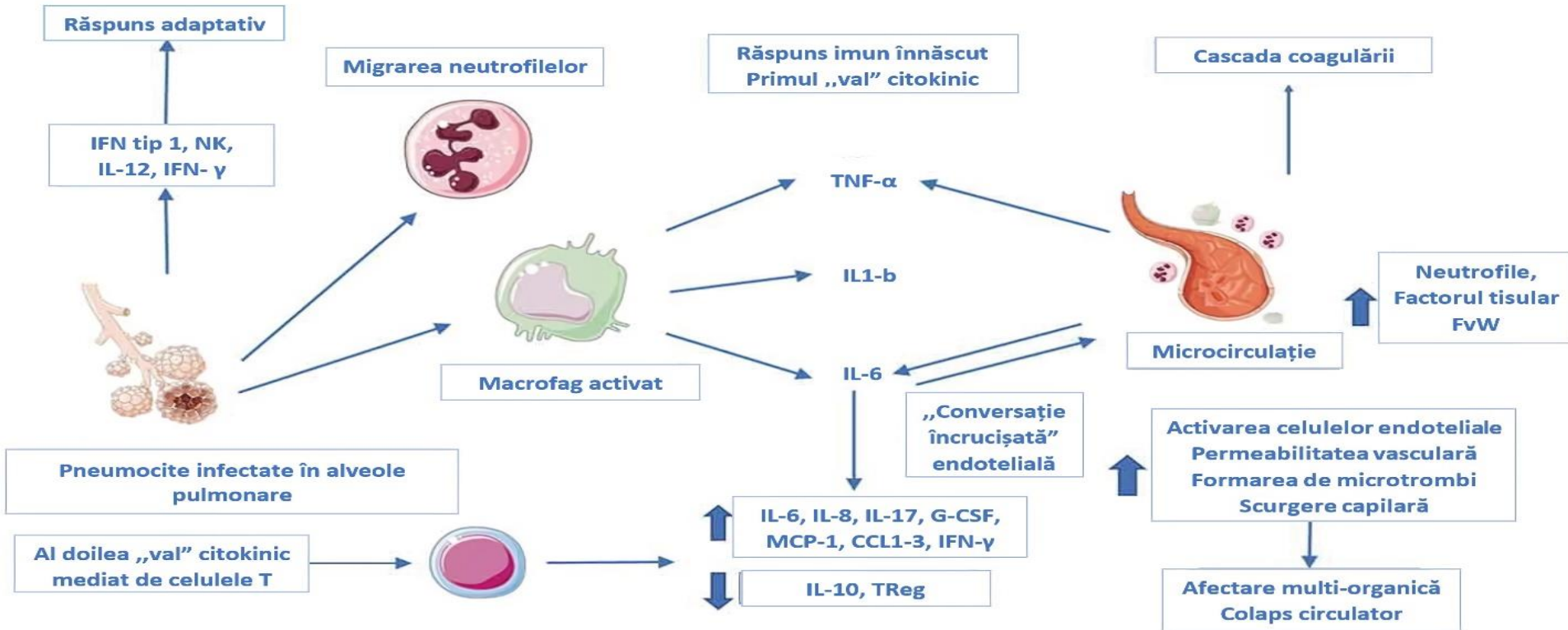
**Sistemul imun înnăscut** oferă rezistență nespecifică la agenții patogeni,

**Sistemul imun adaptiv** se caracterizează prin specificitatea antigenului și memoria imunologică.

**Imunomodulatorii** - imunostimulatori și imunosupresive.

Cele două sisteme imune, împreună cu imunomodulatorii, lucrează împreună pentru a preveni și controla infecția.

# Procesul inflamator în SARS CoV-2



Virusul SARS-CoV-2 infectează pneumocitele de tip II din pulmoni ([Pearce L.et al., 2020](#)).

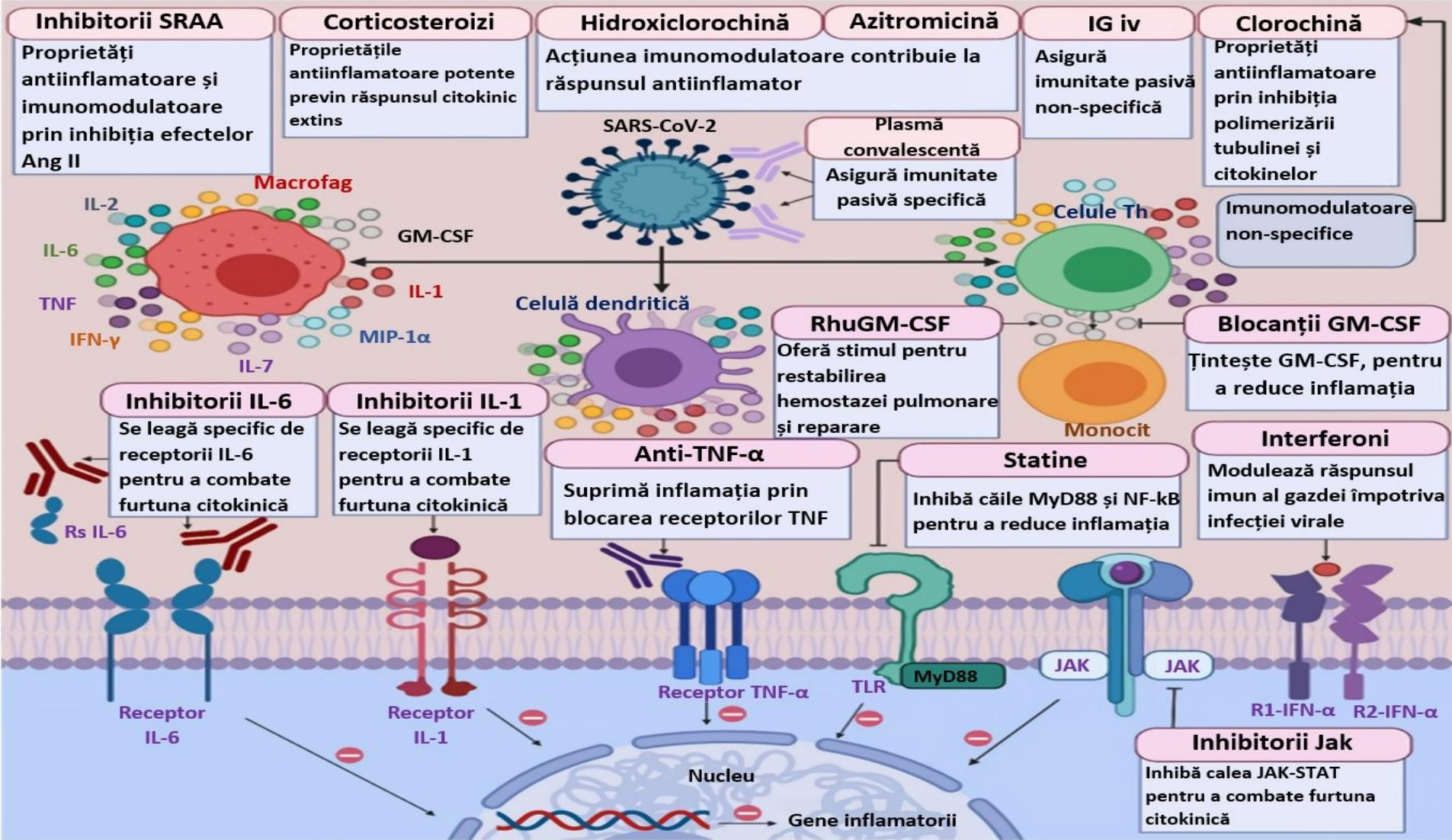
- Macrofagele locale răspund la material genetic străin. Citokinele cu răspuns de fază acută (TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  și IL-6) declanșează o primă undă de citokine,
- IFN de tip I inițiază diferențierea celulelor KillerNatural (NK) și răspunsul imun adaptativ.
- Citokina IL-6 induce activarea endotelială și migrarea celulelor inflamatorii.
- Neutrofilele î $\hat{t}$  secreția factorului tisular și activarea cascadei de coagulare  $\Rightarrow$  tromboza mediată imun.
- Activarea endotelială stimulează inflamația  $\Rightarrow$  doilea val de citokine.

Abrevieri: IFN - Interferon, NK - celule ucigașe naturale, VWF - Factor Von Willebrand, G-CSF - Factor de stimulare a coloniilor de granulocite, MCP-1 - proteină chimiotratantă monocită 1, CCL - ligand chemokine

# **Preparatele cu acțiune imunomodulatoare - antiinflamatoare**

- **Antagoniștii receptorilor IL-6: tocilizumab, sarilumab;**
- **Inhibitorii IL-6 : siltuximab;**
- **Antagoniștii IL-1: anakinra, canakinumab etc.**
- **Antagoniștii TNFalfa: adalimumab, infiximab, etanercept etc.**
- **Inhibitorii JAK-kinazei: ruxolitinib, baricitinib, tofacitinib, imatinib;**
- **Inhibitorii complementului: eculizumab;**
- **Inhibitorii IgG4 (PD-L1): nivolumab etc.;**
- **Glucocorticoizii:**
  - a) **sistemici: dexametazona, metilprednisolon,**
  - b) **inhalatori: fluticazona, ciclesonida,**
- **Imunoglobulinele: IgG;**
- **Inhibitorii calcineurinei: ciclosporina, tacrolimus;**
- **Statinele:simvastatina, rosuvastatina etc.;**
- **Antimalaricele: clorochina, hidroxiclorochina;**
- **Anticoagulantele: heparina, HMMM**



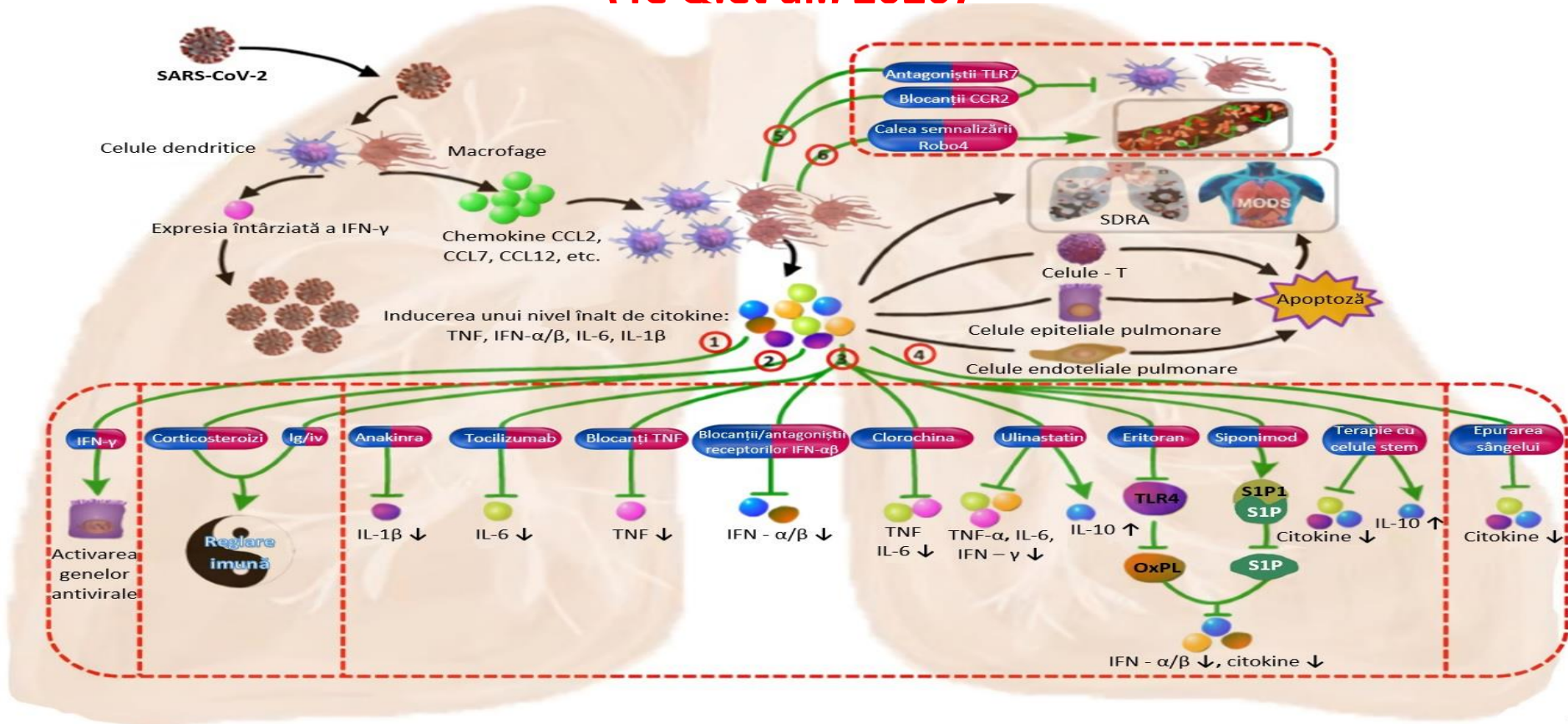


## Reprezentarea schematică a locului de acțiune al imunomodulatorilor (Rizk JG.et al., 2020).

Ang II - Angiotensina II; GM-CSF - factor de stimulare a coloniilor granulocite-macrofage; IFN – interferon; IL - interleukină, interleukină-6 - receptor IL-6R, IVIG - imunoglobulină intravenoasă, JAK - Janus kinază; JAK-STAT - Janus kinază-traductor de semnal și activator al transcripției; MIP-1α - Proteină inflamatorie macrofagă 1-α, MyD88 - răspuns primar diferențierea mieloidă 88; factor nuclear NF-κB-κB, RAAS - sistem renină-angiotensină-aldosteron; rhuGM-CSF factor uman recombinant granulocitde stimulare a coloniilor macrofage; sIL-6R - receptor solubil IL-6; TLR - receptor asemănător, TNF - factorului de necroză tumorală



# Mecanismele furtunii citokinice și țintele terapeutice (Ye Q.et al.. 2020)



- ① Supliment cu IFN- $\lambda$  pentru a activa imunitatea înăscută;
- ② Utilizarea imunomodulatorului pentru restabilirea echilibrului imunitar;
- ③ Inhibarea producției de citokine;
- ④ captarea citokine;
- ⑤ Inhibarea recrutării și funcției macrofagelor mononucleare;
- ⑥ Consolidarea barierei vasculare prin activarea căii semnalului endotelial Slit-Robo4.

# Preparatele antiinflamatoare în COVID

## Indicațiile:

- Afectarea pulmonară 50-75% cu 2 sau mai multe semne;
- Micșorarea saturației cu O<sub>2</sub>;
- Proteina C reactivă > 60 mg/l sau majorarea ei de 3 ori în ziua 8-14 a maladiei;
- Febra >38 0C timp de 5 zile;
- Leucocitele < 3,0-3,5\*10<sup>9</sup> /l;
- Limfocitele < 1\*10<sup>9</sup> /l și/sau < 15%;
- Feritina > 1000 ng/ml

# Glucocorticoizii în SARS CoV-2

Ahmed M.H., Hassan A. 2020 Oct ,Tang Y.et al., 2020.

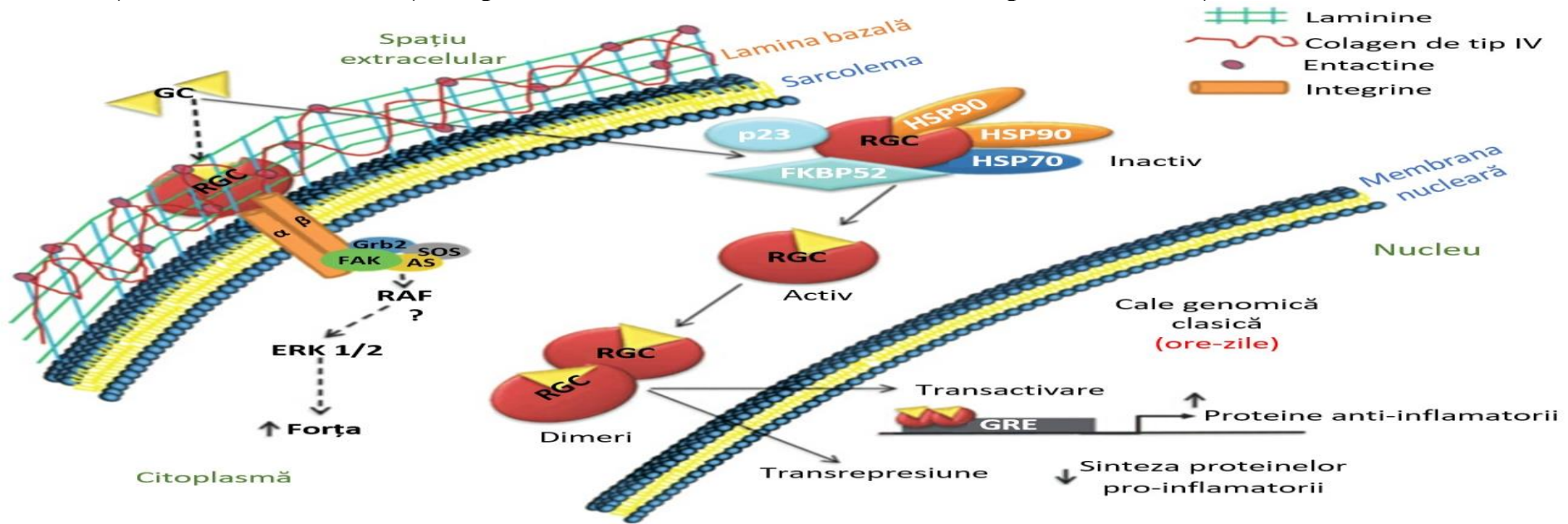
## Mecanismul de acțiune al dexametazonei depinde de doza utilizată:

• **mecanismele genomice** (în cazul dozelor mici) – efecte ce se dezvoltă lent

Dexametazona se leagă de receptorul glucocorticoid (GR) de pe membrana celulară, ⇒ translocarea corticosteroidului în celulă ⇒ cuplarea cu receptorul citoplasmatic ⇒ deplasează către nucleu ⇒ 1) se leagă reversibil de mai multe site-uri ADN specifice ⇒ stimularea (transactivarea) și suprimarea (trans-reprimarea) unei mari varietăți de transcripție a genelor ⇒ inhiba producerea de citokine pro-inflamatorii (interleukina IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF, IFN-gamma, VEGF și prostaglandine). 2) poate induce și sinteza elementului de răspuns glucocorticoid ⇒ activarea sintezei citokinelor antiinflamatorii (în special IL-10 și lipocortina-1.)

• **non-genomice** (cu doze mari de dexametazonă) - apar mai rapid, cu riscul de a avea mai multe efecte secundare. dexametazona se leagă de GR membranei (limfocitele T) ⇒ afectarea semnalizării receptorilor și un răspuns imun mediat de limfocitele T. Receptorul glucocorticoid se combină cu integrinele ⇒ activarea FAK (kinaza de adeziune focală)

Influențează translocarea Ca și Na prin membrana celulară ⇒ o scădere rapidă a inflamației.

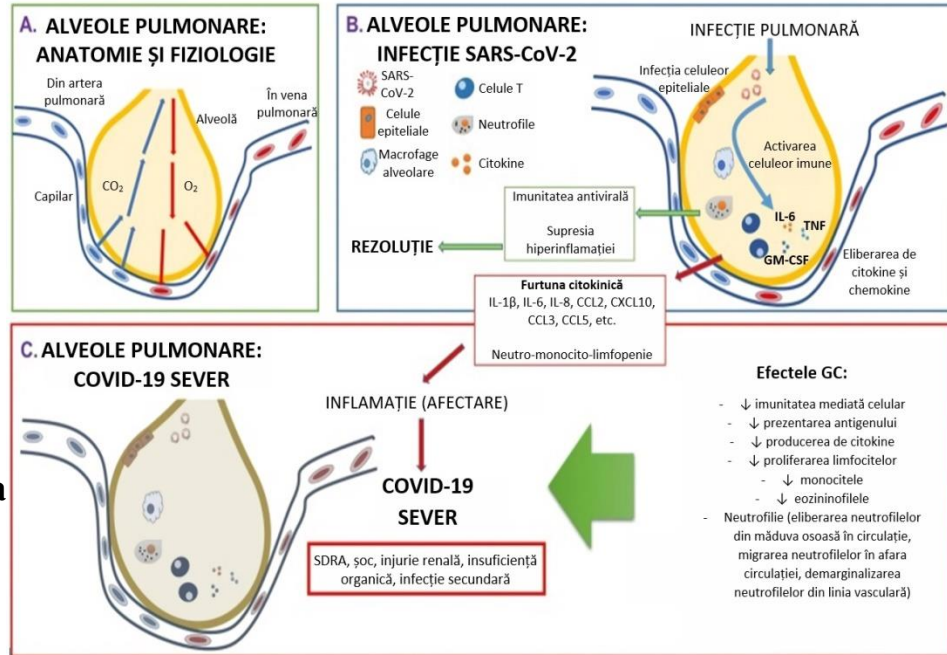


# Glucocorticoizii în SARS CoV-2

- GC provoacă efect imunodepresiv și antiinflamator.
- Prin suprimarea răspunsului imun adaptiv GC joacă un rol important în modularea mai multor funcții biologice în celulele imune și în diferite organe și țesuturi.
- GC ar putea avea atât efecte stimulatorii, cât și inhibitori asupra răspunsului imun, în funcție de concentrația lor în sânge și de durata utilizării
- Din punct de vedere clinic, principalul motiv pentru utilizarea GC este că ar putea fi benefice în prevenirea deteriorării structurilor (pulmonar în cazul SARS-CoV-2), prin inhibarea producției de citokine.
- O serie de studii au fost efectuate cu privire la utilizarea GC pentru tratarea stărilor hiperinflamatorii secundare infecțiilor virale cauzate de virusul sincițial respirator (RSV); MERS; gripa; SARS-CoV-2.
- În stadiul primar al inflamației, GC scad exsudația celulară inflamatorie, fagocitoza și dilatarea capilară.
- În stadiul inflamator sever, poate inhiba fibroblastele și proliferarea excesivă a acestora ⇒ ↓ fibroza.
- GC inhibă transcrierea și acțiunile citokinelor pro-inflamatorii IL-1β, IL-2, IL-6, TNF-α și IL-17 pe bază de Th1 și macrofage

Ahmed M.H., Hassan A, 2020 Oct;

Tang Y.et al., 2020; Zhang J.et al., 2020



## Fiziologie și fiziopatologie a alveolelor pulmonare în timpul infecției cu SARS-CoV-2.

(A) Anatomia și fiziologia alveolelor pulmonare sănătoase, reprezentând spații mici de aer în plămâni de unde iese dioxidul de carbon și oxigenul intră în sânge. În timpul inhalării, aerul intră în plămâni, călătorește prin bronhii, bronșiole și apoi curge în aproximativ 300.000.000 de alveole. În timpul expirației, aerul încărcat cu dioxid de carbon este forțat să iasă din alveole prin aceleași pasaje.

(B) Fiziopatologia alveolelor pulmonare în timpul infecției cu SARS-CoV-2. Infecția noul Coronavirus, numit SARS-CoV-2 creează o leziune epitelială, urmată de un răspuns imun care este generat de o eliberare de citokine și chemokine. Acest lucru ar putea duce la activarea celulelor imune, care ar putea duce la rezoluție și COVID-19 sever, cu dezvoltarea consecventă a ARDS și a insuficienței multi-organe.

(C) COVID-19 sever: aspecte biologice imune. O furtună de citokine susținută generează o inflamație care provoacă daune epiteliului alveolar, dând naștere ARDS, șoc, leziuni renale, alte insuficiențe de organ și infecție secundară.

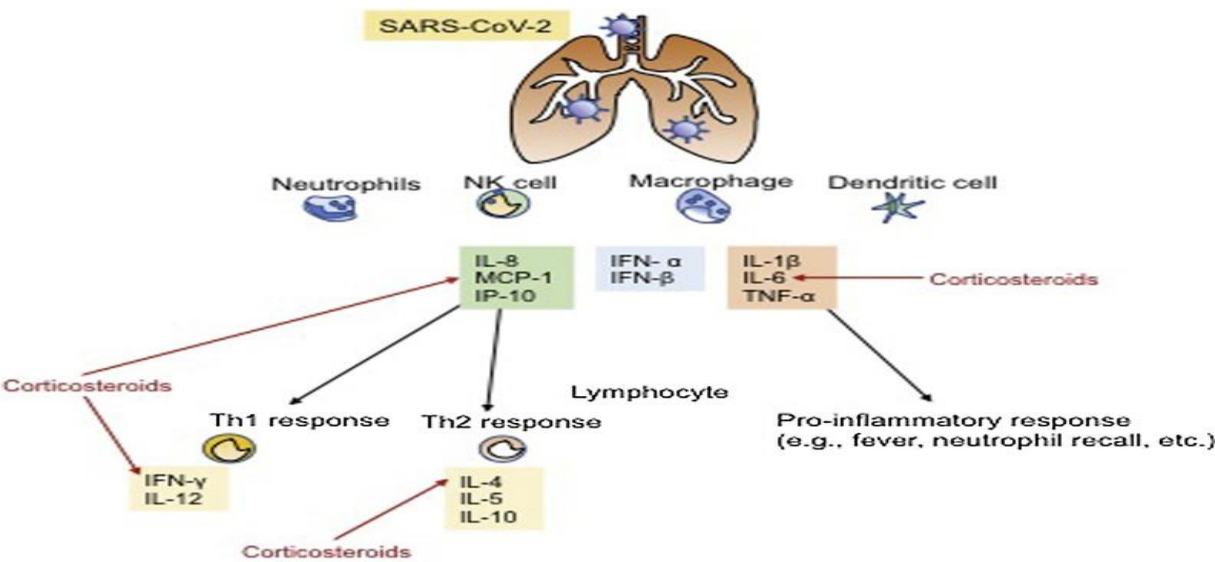


# Glucocorticoizii în SARS CoV-2

- **Tratamentul cu o doză mică – medie (0,5-1 mg/kg/zi) GC timp de până la 10 zile nu a determinat efecte secundare. Beneficiile medicamentului au fost mai clare la pacienții care au fost tratați timp de mai mult de 7 zile de la debutul inițial al simptomelor, când este probabil ca leziunile inflamatorii pulmonare să fi fost mai frecvente.**
- **GC nu au avut niciun beneficiu asupra rezultatelor pacienților care prezentau simptome ușoare**
- **GC sunt indicați numai pentru pacienții aflați în spital, sub ventilație mecanică (situație severă). GC au redus mortalitatea, durata spitalizării, înrăutățirea parametrilor ventilației și au îmbunătățit oxigenarea pacienților cu formă severă de COVID-19.**
- **Dozele mari de GC pot provoca efecte nedorite dacă tratamentul este administrat într-un moment în care există replicare virală necontrolată, dar cu un nivel scăzut de inflamație.**
- **Pericolele potențiale asociate cu doze mari de GC la tratarea pacienților cu pneumonie SARS-CoV-2 (infecții secundare și replicare prelungită a virusului) la pacienții gravi pot fi mai puțin importante decât, dacă starea hiperinflamatorie nu este controlată cu lezarea citokinică a pulmonilor cu dezvoltarea pneumoniei rapid progressive cu rezultate nefavorabile și ireversibile pe termen lung.**
- **OMS a salutat rezultatele preliminare privind utilizarea dexametazonei în tratamentul pacienților cu SARS-CoV-2, deoarece acest tratament medicamentos a dovedit că salvează vieți.**

# Terapia cu GC (beneficii în șocul septic)

- ❖ stabilizarea hemodinamicii, reducerea vasodilatației periferice;
- ❖ scurtarea șederii în unități de terapie intensivă;
- ❖ durata ventilației mecanice;
- ❖ atenuarea furtunii de citokine cauzată de SARS-CoV-2;
- ❖ rezultate radiografice mai bune;
- ❖ durată mai scurtă a terapiei cu oxigen suplimentar;
- ❖ reducerea mortalității (1/3) la pacienții care necesită ventilație mecanică;
- ❖ reducerea (1/5) la pacienții care aveau nevoie de oxigen, dar fără ventilație invazivă;
- OMS și mai multe institute naționale de sănătate își actualizează ghidurile pentru a recomanda administrarea dexametazonei pacienților cu COVID-19 cu insuficiență respiratorie hipoxemică.
- A recomanda GC, mai degrabă decât lipsa lor (de preferință dexametazonă, alternativ metilprednisolon sau prednison) la pacienții spitalizați cu COVID-19 sever. Terapia cu steroizi rămâne descurajată la pacienții fără hipoxemie (Mattos-Silva P.,2020, Solinas C., 2020).



Modularea răspunsului inflamator de către corticosteroizi.

- GC reduc IL-8,; MCP-1, proteina chimiotratantă monocitară 1; IP-10, interferon- $\gamma$ -proteină inductibilă 10.
- GC inhibă răspunsurile ale IL-6,; IFN- $\gamma$ , interferon gamma (răspuns Th1) și IL-4, (răspuns Th2).

## **Dezavantajele GC în COVID-19** (Mattos-Silva P.,2020, Solinas C., 2020):

- creșterea mortalității și a duratei de ședere în secția de reanimare la pacienții cu pneumonie gripală;
- efectul imunosupresor ⇒ viremie prelungită, risc crescut de suprainfecție bacteriană;
- riscul apariției altor complicații sistemice (evenimente autoimmune, cardiovasculare, DZ, psihoză);
- pot promova rezistența la agenții de blocare neuromusculare, care sunt utilizate pe scară largă în timpul ventilației mecanice;
- reducerea celulelor CD4 +, CD8 + și CD3 + ⇒ imunosupresia ⇒ riscul de infecții secundare grave;
- creșterea încărcăturii virale;
- necesitate crescută de ventilație mecanică, vasoconstrictoare și terapie de substituție renală;

### **Societatea Toracică Chineză (CTS) a lansat un consens de experți cu privire la utilizarea GC:**

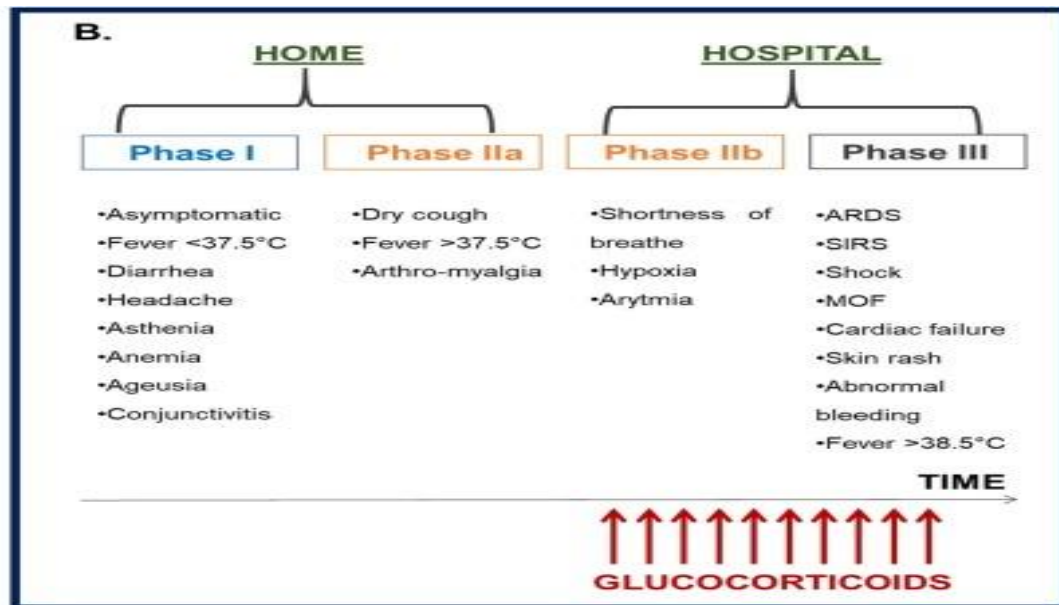
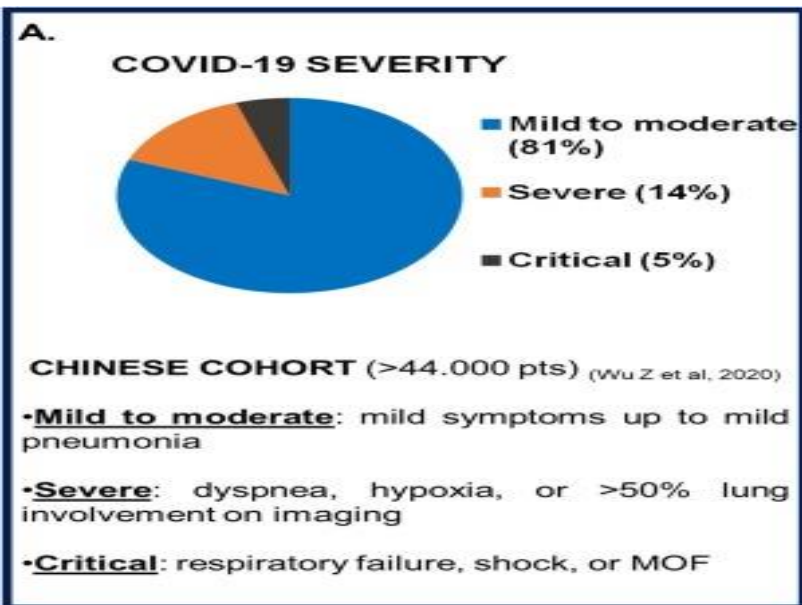
- beneficiile și riscurile trebuie cântărit cu atenție înainte de a utiliza steroizi;
- steroizii trebuie utilizați cu precauție la pacienții cu boli critice;
- trebuie acordată o prudență sporită pacienților cu hipoxemie cauzată de boli subiacente sau care utilizează în mod regulat steroizi pentru boli cronice;
- doza administrată trebuie să fie mică până la moderată ( $\leq 0,5 - 1$  mg/kg/zi metilprednisolon sau echivalent), iar durata să fie scurtă ( $\leq 7$  zile).

# Recomandări GC în baza metaanalizei studiilor clinice randomizate

1. La pacienții cu COVID-19 sever și critic, se recomandă corticosteroizi sistemici - recomandare puternică, dovezi de calitate moderată.

2. La pacienții cu COVID-19 fără un curs sever (care nu îndeplinesc criteriile pentru un curs sever sau critic al bolii), nu se recomandă utilizarea glucocorticoizilor - recomandare condiționată (relativă), calitate scăzută a dovezilor.

- Dacă terapia cu GC a fost începută pentru alte indicații (de exemplu, exacerbarea bolii pulmonare obstructive cronice, boli cronice autoimune), tratamentul nu trebuie oprit.
- Deteriorarea stării pacientului, care a fost diagnosticat inițial cu COVID-19 fără un curs sever, este o indicație pentru începerea terapiei cu glucocorticoizi.



- Severitatea și fazele COVID-19 (Solinas C., Perra L., Aiello M. et al. 2020)



# Recomandări GC în baza metaanalizei studiilor clinice randomizate

**Calea de administrare:** În tratamentul COVID-19, GC pot fi administrați atât inter, cât și i/v

**Dozare:** doza de 6-20 mg/zi de **dexametazonă** sau 0,5-2 mg/kg de **metilprednisolon**

**6 mg dexametazonă** este echivalentă cu o doză zilnică totală de 150 mg de **hidrocortizon** (de exemplu, 50 mg la fiecare 8 ore), 32 mg de **metilprednisolon** (de exemplu, 8 mg la fiecare 6 ore sau 16 mg la fiecare 12 ore) sau 40 mg de **prednisolon, prednison**. Utilizarea medicamentelor într-o doză unică pe zi poate avea un efect pozitiv asupra complianței la regimul de tratament.

**Inițierea tratamentului:** săptămâna a II-a de la debutul simptomelor (8-14 zi)

**Durata tratamentului:** Durata recomandată a tratamentului GC pentru COVID-19 de până la 7-10 zile.

**Monitorizare:** nivelul glicemiei trebuie monitorizat la pacienții care iau GC, indiferent dacă au fost diagnosticați anterior cu diabet zaharat.

**Măsuri de precauție suplimentare:**

- ❖ în funcție de situația clinică și epidemiologică, înainte de inițierea tratamentului cu GC, trebuie luat în considerare riscul de exacerbare a simptomelor unei infecții deja existente (de exemplu, strongiloidoza).
- ❖ În cazuri justificate (regiunea endemică a bolii, istoric), terapia cu GC poate fi însoțită de un diagnostic adecvat sau de un tratament empiric.
- ❖ Nu este clar ce efect au GC sistemici asupra replicării virale, precum și asupra imunității și a riscului de complicații infecțioase, care pot afecta supraviețuirea la 28 de zile de la debutul bolii. Datorită lipsei de date, ar trebui să se acorde prudență și atunci când se generalizează recomandările pentru grupurile subreprezentate în studiile analizate, cum ar fi copiii, pacienții imunocompromiși și pacienții cu tuberculoză.

## Dozele glucocorticoizilor la pacienții cu COVID-19

Preparat ul (DCI)	Forma de livrare	Regimul de dozare	Contraindicații
Metilprednisolon	Fiole 40 mg/ml flacoane pulbere liofilizată 250 mg	1 mg/kg i/v fiecare 12 ore timp de 3 zile cu micșorarea treptată a dozei cu 20-25% fiecare 1-2 zile timp de 3-4 zile, apoi cu 50% fiecare 1-2 zile până la suspendarea deplină. La progresarea sindromului de activare a macrofagilor (majorarea nivelului feritinei, PCR, dezvoltarea citopeniei) metilprednisolonul se va administra după schema – 120-125 mg i/v fiecare 6-8 ore sau dexametazona câte 20 mg / i/v în 2 prize timp de cel puțin 3 zile cu micșorarea treptată ulterior (reducerea dozelor metilprednisolonului/dexametazonei cu condiția micșorării nivelului feritinei cu cel puțin 15%).	Cu precauție în: Diabet zaharat Obezitate Semne de infecție bacteriană activă Deregări trombotice
	Comprimate 4 și 16 mg	6-12 mg – doză unică dimineața după masă cu 12 ore înainte de inițierea micșorării dozei metilprednisolonului i/v timp de 7 zile, din a 8-a zi micșorarea treptată cu 2 mg/zi	
Dexametazona	Fiole 0,4% 1 și 2 ml	20 mg/zi i/v timp de 3 zile sau 6 mg/zi timp de 10 zile cu micșorarea treptată a dozei cu 20-25% la administrare fiecare 1-2 zile timp de 3-4 zile, apoi câte 50% fiecare 1-2 zile până la suspendarea deplină	
Hidrocortizon	Fiole 25 mg Flacoane 50 și 100 mg	I/v prin bolus 50-100 mg cu administrarea lentă ulterioară timp de 1 oră a dozei de 200 mg numai la dezvoltarea insuficienței suprarenale	

\* Utilizarea suplimentară a inhibitorilor IL-6 în aceleași doze peste 12 ore:  
absența sau insuficiența efectului clinic (nu scade febra) sau  
absența micșorării concentrației PCR < 30-50% de la inițial, și/sau  
Absența micșorării concentrației D-dimerilor, fibrinogenului sau feritinei.

# Antagoniștii IL-6.

- IL-6 este mediatorul major în furtuna citokinelor, iar nivelul ei corelează cu severitatea și rezultatul SDRA, precum și cu sarcina virală SARS-CoV-2 și riscul de dezvoltare a pneumoniei fatale.
- Actualmente sunt propuși: **inhibitorii receptorilor IL-6** (tocilizumab, sarilumab) și **inhibitori IL-6** (siltuximab, clazakizumab, sirukumab).

## Tocilizumabul:

- este o imunoglobulină umanizată care blochează receptorul IL-6.
- este eficient în suprimarea sindromului furtunii de citokine, asociat cu forma severă sau critică de COVID-19.
- În studiile clinice s-a raportat că la pacienți cu COVID-19 forma severă sau critică, tocilizumabul a determinat: micșorarea febrei, ameliorarea simptomelor clinice și a saturației de oxigen, evoluția markerilor inflamației
- Antagoniștii IL-6 cresc riscul de infecții, de aceea trebuie folosiți cu precauție la pacienții cu evoluție severă și încărcare virală marcată împreună cu tratamentele antivirale.
- S-au constatat și alte reacții adverse, inclusiv perforația intestinală și infecțiile oportuniste. Cu toate acestea, dovezile actuale sunt insuficiente pentru a susține utilizarea tocilizumab în afara studiilor clinice.

Liu B.et al., 2020; [Toniatu P.](#)et al., 2020; [Xu X.](#)et al., 2020; [Jamilloux Y.](#)et al., 2020; Delang L.et al., 2020

# Antagoniștii TNF- $\alpha$ (etanercept)

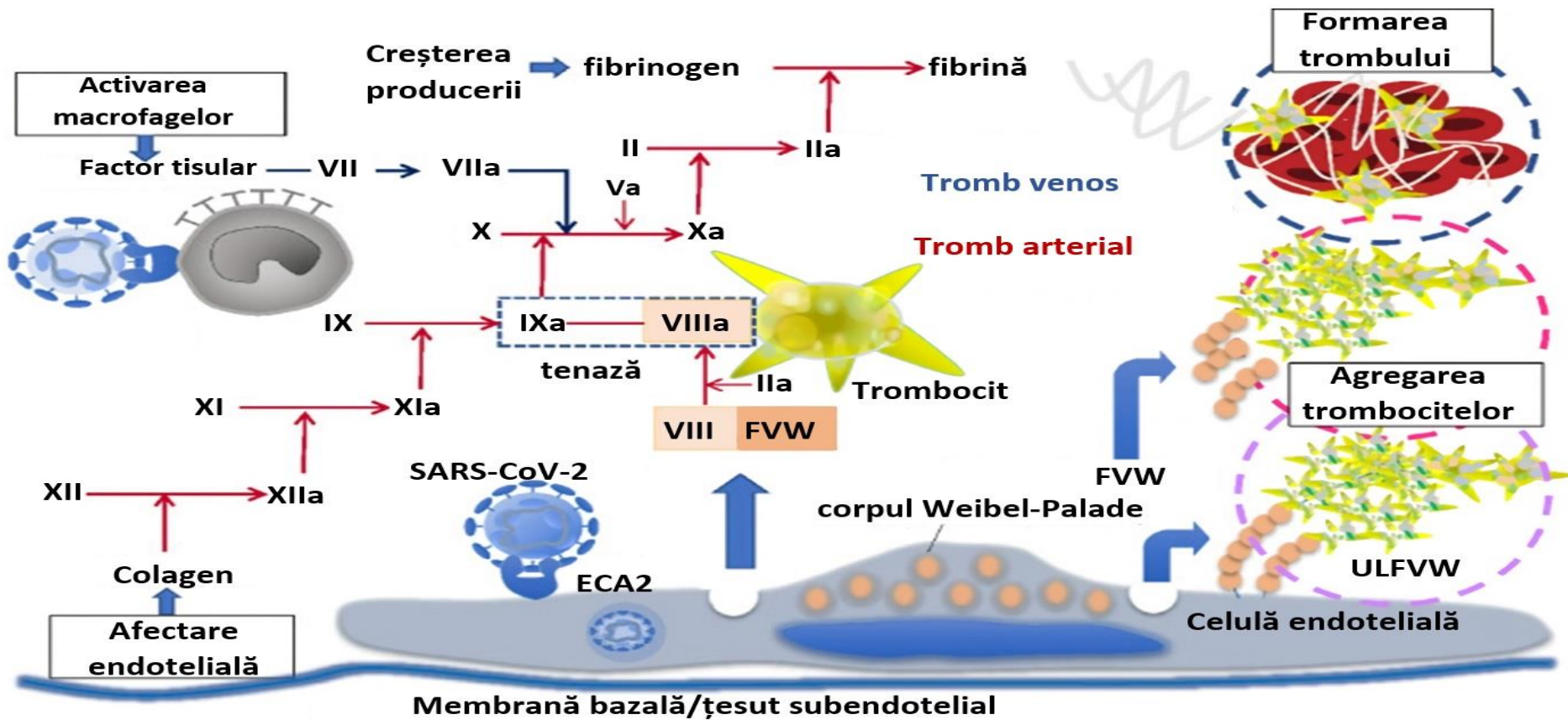
Argumentele pentru utilizarea antagoniștilor TNF în COVID-19 se reduc la:

- neutralizarea TNF oferă protecție împotriva infecției SARS-CoV în condiții experimentale;
  - inducerea scăderii rapide a concentrațiilor IL-6 și IL-1 la pacienții cu artrită reumatoidă activă;
  - declanșarea reducerii moleculelor de adeziune și factorului de creștere endotelială vasculară;
  - diminuarea migrării leucocitelor către țesuturile inflamate datorită reducerii moleculelor de adeziune și chemokinelor cu micșorarea exudatului.
- Se sugerează că evaluările inițiale ale inhibitorilor TNF trebuie făcute la pacienții cu boală moderată, cât mai curând posibil după internarea lor în spital [[Jamilloux](#) Y.et al., 2020; ].





# Mecanisme de formare a trombilor în COVID-19 (Iba T. et al., 2020).



SARS-CoV-2 infectează monocite/macrofage și celule endoteliale vasculare, cele două verigi ale ciclului vicios al formației trombului.

Monocitul/macrofagul infectat exprimă factorul tisular la suprafață și inițiază cascada de coagulare.

Lezarea endoteliului expune colagenul cu inițierea cascadei de coagulare pe cale intrinsecă.

Factorul VIII, eliberat a celulelor endoteliale infectate, și factorul von Willebrand (VWF), eliberat din corpuscul Weibel – Palade, accelerează coagularea. VWF eliberat stimulează agregarea plachetară și VWF neobișnuit de mare (ULVWF) activează aderența trombocitelor la celula endotelială.

Aceste modificări protrombotice multifactoriale au ca rezultat tromboza arterială, venoasă și microvasculară

# Preparatele utilizate în dereglările tromboembolice

## Anticoagulantele:

- Heparina nefracționată;
- HMMM: enoxaparina, dalteparina, bemiparina, nadroparina etc.;
- Pentazaharide: fondaparinux;
- Antagoniștii direcți ai trombinei: dabigatran etc.
- Antagoniști direcți ai Fxa: rivaroxaban, apixaban, endoxaban etc.;
- Antagoniștii vitaminei K: warfarina, acenocumarol etc.;

## • Antiagregantele:

- ❖ Inhibitorii ciclooxygenazai: acidul acetilsalicilic etc.;
  - ❖ inhibitorii fosfodiesterazei: dipiridamol, pentoxifilina etc.;
  - ❖ Blocantele rec GP Iib/IIIa: abciximab, tirofiban etc.;
  - ❖ Blocantele rec.ADP (P2Y12) și expunerii receptorilor GP Iib/IIIa : ticlopidina, clopidogrel, ticagrelor, prazugrel;
- **Fibrinoliticele:** streptochinaza, anistreplaza, nasaruplaza etc.

# Anticoagulantele în COVID-19

## Efectul antiviral al heparinei și HMMM

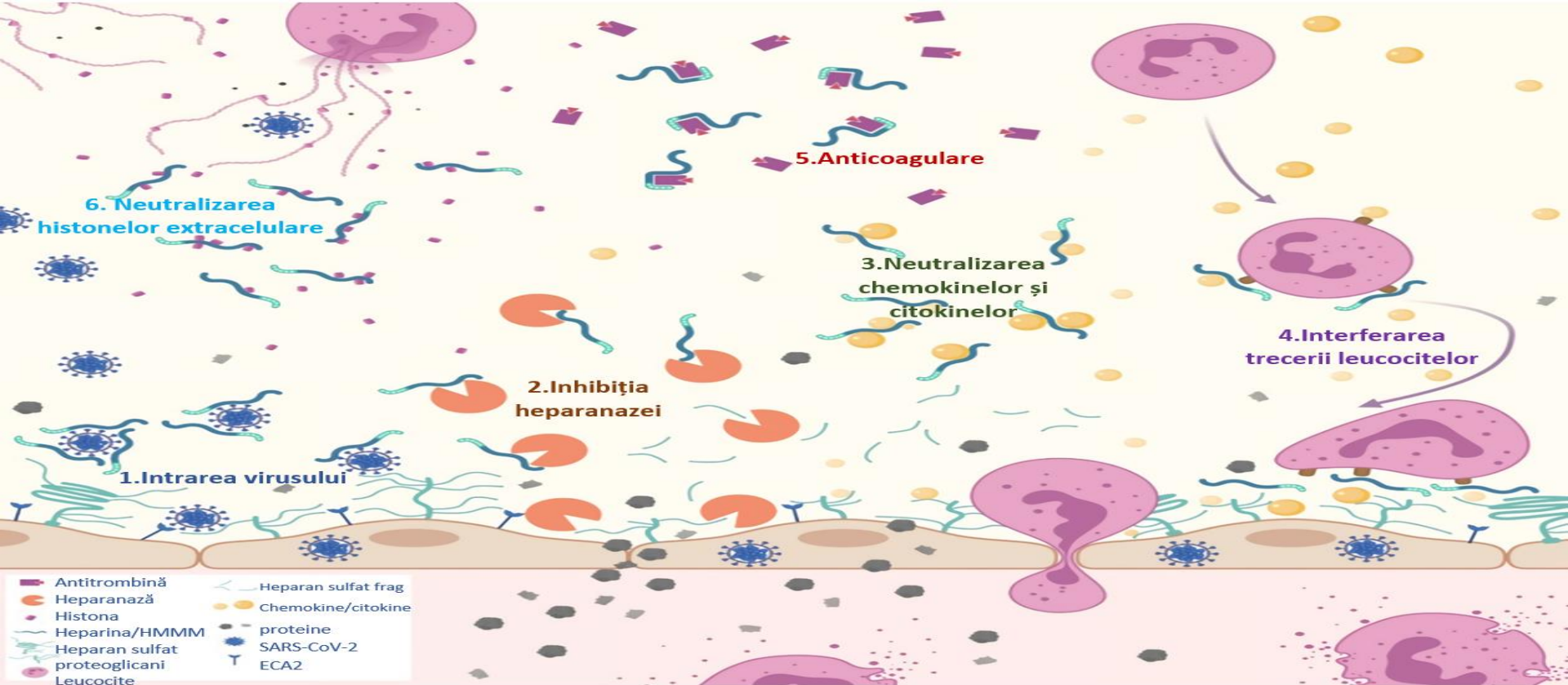
- heparinele concurează eficient cu sulfatul de heparan și prin aceasta atenuază atașamentul viral și infecția celulară;
- produce schimbări în domeniul de legare a Ssubunității S1 SARS CoV-2 cu receptorul ECA2;
- inhibă proteoliza proteazelor celulare, serin proteaza transmembranară a suprafeței celulare (TMPRSS), catepsinele, factorul Xa, furina, tripsina, necesare pentru aderența subunității S2 și fuziunea în celulă;
- inhibă factorul Xa, care facilitează activarea intrării SARS-CoV în cellule;

## Efectul antiinflamator al heparinei și HMMM

- ❖ blochează P-selectina,
- ❖ implicarea trombocitelor și neutrofilelor ,
- ❖ inhibă răspunsul neutrofilelor
- ❖ reduc eliberarea de IL-1 $\beta$ , IL-6, E-selectină și ICAM-1.

Citokinele joacă un rol important în inflamație și au efect direct asupra moleculelor plasmatiche, eritrocitelor și a trombocitelor  $\Rightarrow$  hipercoagulabilitate și afectarea fibrinolizei sunt de obicei mărcile comerciale ale mai multor afecțiuni inflamatorii.





**Potențialele mecanisme benefice ale heparinei/HMMM care stau la baza tratamentului pacienților cu COVID-19 (Buijsers B. et al., 2020).**

- 1. Reducerea intrării virale.** S-a demonstrat că sulfatul de heparan și heparina / LMWH interacționează cu glicoproteina S SARS-CoV-2.
- 2. Heparina /HMMM inhibă activitatea heparanazei,** care este crescută în COVID-19 și asociată cu severitatea bolii.
- 3. Neutralizarea efectului biologic al chemokinelor și citokinelor.** Heparina /HMMM interacționează cu chemokine și citokine, inclusiv cele produse în „furtuna de citokine” din COVID-19.
- 4. Interferența cu migrarea leucocitelor.** Neutralizarea prin heparină/HMMM a chemokinelor și citokinelor poate avea impact asupra recrutării și migrării leucocitelor către locurile de inflamație, fie prin neutralizarea chemokinei și citokinelor, fie prin interacțiunea directă cu liganzii de suprafață a leucocitelor, adică selectinele și integrinele, pentru a preveni atașarea leucocitelor, și extravazare.
- 5. Heparina /HMMM manifestă efect anticoagulant** prin legarea anti-trombinei III.
- 6. Neutralizarea histonelor citotoxice extracelulare.** Heparina/HMMM acționează ca un compus neutralizant pentru histone prin interacțiuni ionice ale grupurilor chimice încărcate negativ cu histonele extracelulare încărcate pozitiv eliberate în timpul COVID-19.

# Preparatele anticoagulante pentru tratamentul pacienților adulți cu COVID-19

Preparatul	Doza profilactică	Doza intermediară	Doza curativă
<b>Heparina nefracționată</b>	S/c 5000 UA 2-3 ori/zi.	S/c 7500 UA 2-3 ori/zi.	I/v perfuzie sub controlul activității anti-Xa (TPAT se poate majora în COVID-19, de aceea poate fi parametru nesigur). Doza inițială în complicațiile tromboembolice venoase – i/v bolus 80 UA/kg (maxim 5000 UA) și perfuzia cu viteza inițială de 18 UA/kg/oră.
<b>Dalteparina de natriu*</b>	S/c 5000 anti-Xa UI 1 dată/zi.	Подкожно 5000 anti-Xa UI 2 ori/zi.**	S/c 100 anti-Xa UI/kg 2 ori/zi
<b>Nadroparina de calciu*</b>	ПС/c 3800 anti-Xa UI (0,4 ml) 1 dată/zi la masa ≤70 kg sau 5700 anti-Xa UI (0,6 ml) 1 dată/zi la masa >70 kg.	Подкожно 5700 anti-Xa UI (0,6 мл) 2 ori/zi.**	S/c 86 anti-Xa UI/kg 2 ori/zi
<b>Enoxaparina de natriu*</b>	S/c 4000 anti-Xa UI (40 mg) 1 dată/zi	S/c 4000 anti-Xa UI (40 mg) 2 ori/zi; posibil majorarea dozei până la 50 UI (0,5 mg/kg) 2 ori/zi.**	S/c 100 anti-Xa UI (1 mg/kg) 2 ori/zi, La clearansul creatininei 15-30 ml/min 100 anti-Xa UI (1 ml/kg) 1 dată/zi.
<b>Parnaparina de natriu*</b>	S/c 0,3 ml (3200 анти-Xa ME) или 0,4 мг (4250 анти-Xa ME) 1 dată/zi	S/c 0,3 ml (3200 anti-Xa UI) 2 ori/zi	S/c 0,6ml (6400 anti-Xa UI) 2 ori/zi
<b>Fondaparinux natriu*</b>	S/c 2,5mgr 1 dată/zi		Tratamentul complicațiilor tromboembolice venoase: 5mg 1 dată/zi la masa până la 50 kg; 7,5 mg 1 dată/zi la masa 50-100kg; 10 mg 1 dată/zi la masa peste 100 kg.

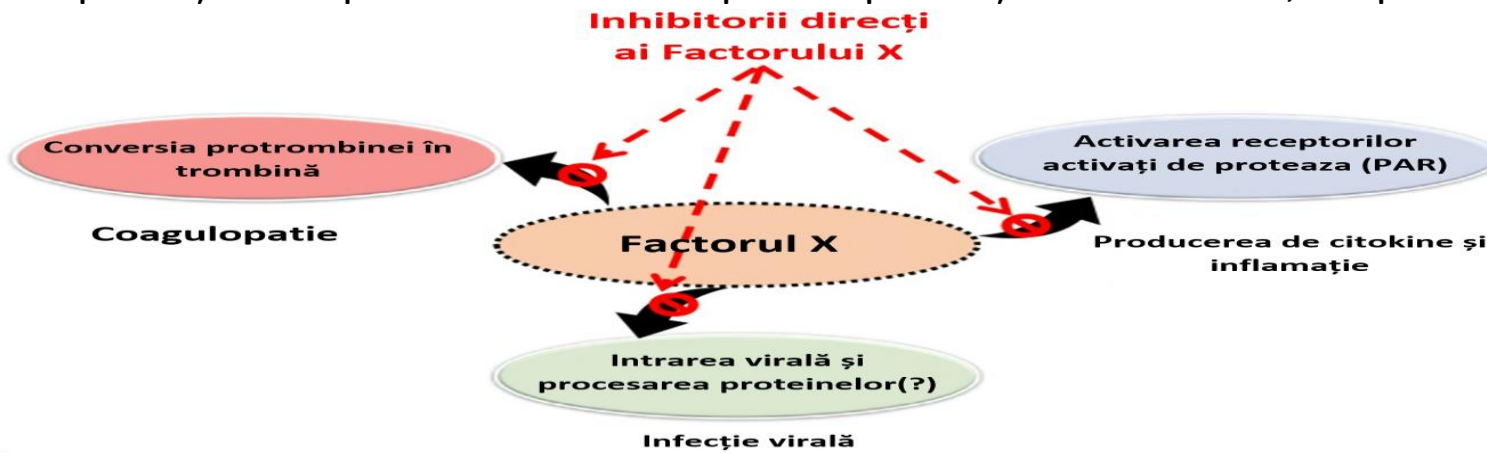
\*în caz de insuficiența renală gravă contraindicat;

\*\* nu este o determinare a dozelor intermediare.

Monitorizarea de ritună a anti-Xa în sânge la administrarea s/c nu este necesară. Poate fi utilă la ajustarea dozelor la pacienții cu risc de hemoragii și/sau tromboză. Valorile pentru scopurile profilactice constituie 0,2-0,6 anti-Xa UA/ml, curative - 0,6-1,0 anti-Xa UA/ml. La utilizarea HMMM pentru determinarea activității anti-Xa sângele se colectează peste 4-6 ore după administrarea preparatului (optimal după 3-4 iniecții). La administrarea s/c a heparinei nefracționate – la mijlocul dintre iniecții, iar la i/v – peste 6 ore după administrarea fiecărei doze.

# Antagoniștii direcți ai factorului Xa și infecția SARS CoV-2 (rivaroxaban, apixaban, edoxaban, betrixaban etc.).

- La pacienții cu COVID-19 s-a constatat o stare de hipercoagulabilitate manifestată prin nivelurile crescute de **D-dimer și fibrinogen, prelungirea timpului de protrombină**.
- S-a raportat că acești parametri ai hemostazei coincideau cu majorarea semnificativă în stadiul sever al bolii a markerilor inflamației: **proteina C reactivă, feritină, interleukine (IL-1 $\beta$ , IL-6), proteina chimiotratantă monocitartă-1 (MCP-1), factorul de stimulare a coloniilor de granulocite (G-CSF), chemokina CXC ligandul-10 (CXCL-10), chemokina C-C ligandul 3 (CCL3), factor de necroză tumorală alfa (TNF- $\alpha$ ) etc.**
- În procesele de hipercoagulabilitate factorul Xa (FXa- serină protează) joacă un rol crucial prin inducerea formării trombinei și ulterior a trombusului. S-a raportat că FXa influențează procesele de inflamație și infecții virale.
- În acest context inhibitorilor direcți ai FXa li se atribuie o serie de efecte farmacologice, precum **activitate anticoagulantă, antiinflamatoare și antivirală**, date ce pot avea un potențial terapeutic semnificativ pentru pacienții cu COVID-19, în special în stări critice



# Activitatea anticoagulantă a inhibitorilor direcți FXa.

## Inhibitorii direcți ai FXa:

- ❖ sunt inhibitori competitivi și foarte selectivi;
- ❖ spre deosebire de heparine, inhibă direct (fără antitrombină) atât FXa liber, cât și FXa legat de cheag;
- ❖ În comparație cu alte clase de anticoagulante (warfarina, heparine și inhibitori direcți ai trombinei) prezintă un risc relativ mai mic de hemoragie, deși există antidot - andexanet alfa.
- ❖ mai rar se asociază cu o hipercoagulare rebound, stare mai frecventă pentru heparine și inhibitori direcți ai trombinei.
- ❖ prezintă interes semnificativ în tratarea pacienților cu COVID-19 în stare critică datorită dezvoltării rezistenței la heparină.

**Cumularea dovezilor asupra eficacității și siguranței inhibitorilor FXa pot juca un rol major în tratarea coagulopatiilor ⇒ să atenueze manifestările bolii și să reducă rata mortalității pacienților cu COVID-19.**

(Al-Horani R.A.2020).



# Activitatea antiinflamatoare și antivirală a inhibitorilor direcți ai FXa.

**Activitatea antiinflamatoare.** S-a constatat că FXa joacă un rol substantial în inflamație prin:

- ❖ funcționarea ca mediator al inflamației;
- ❖ stimularea producției de celulele endoteliale a citokinelor (IL-6, IL-8 și MCP-1);
- ❖ expresia moleculelor de adeziune (E-selectinei, moleculei de adeziune intercelulară -1 și molecula de adeziune a celulelor vasculare-1);
- ❖ creșterea aderenței leucocitelor la celulele endoteliale;
- ❖ amplificarea acțiunii trombinei de mobilizare de calciu și reacțiilor proinflamatorii ale celulelor endoteliale;
- ❖ stimularea răspunsurilor proinflamatorii și profibrotice.

Aceste date semnalizează că FXa este implicat în patogeneza mai multor maladii inflamatoare, bolile cardiovasculare, nefropatia diabetică și cancerul

**Activitatea antivirală.** Virusul SARS-CoV-2 prin subunitatea S2 asigură fuziunea virusului cu membrana celulei gazdă printr-o activare proteolitică mediată de proteazele gazdă (furina, proteaza transmembranară serina 2 (TMPRSS2), catepsinele lizozomale și alte, precum FXa), care rup legătura dintre subunitățile S1 și S2.

**Inhibitorii direcți ai FXa:**

- Pot bloca intrarea virală a SARS-CoV în celulele gazdă prin prevenirea clivajului proteinei S în subunitățile S1 și S2, cu prevenirea intrării coronavirusului în celulele umane.
- pot fi ca potențiali inhibitori ai TMPRSS2.
- pot promova o activitate antivirală directă împotriva unei game de viruși ARN și ADN prin blocarea etapei de intrare virală și posibil prin alte mecanisme,

**Aceste date ce oferă beneficii terapeutice suplimentare la pacienții cu COVID-19.**

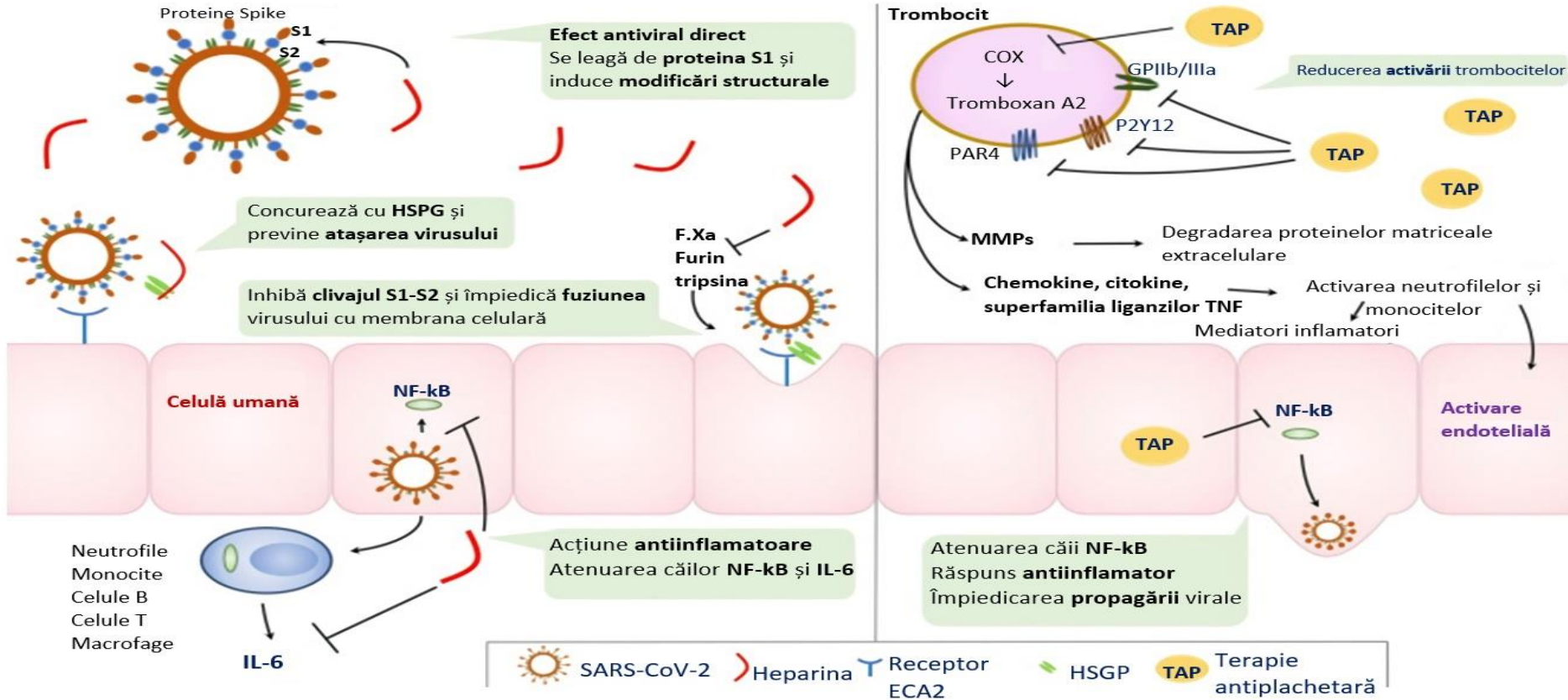
(Al-Horani R.A.2020).

# Antiagregantele în tratamentul Covid-19

- SARS-CoV-2 infectează celulele endoteliale utilizând receptorii ECA2, care sunt exprimate pe scară largă pe paturile vasculare ale diferitelor organe (rinichi, inimă, creier, intestin și ficat) ⇒ endoteliita limfocitară ⇒ inflamație și disfuncție endotelială ⇒ aderența și agregarea trombocitelor ⇒ proces tromboinflamator.
- În infecțiile virale trombocitele activate eliberează molecule proinflamatorii (citokine, chemokine, grupul 1 cu mobilitate ridicată, metaloproteinaze și P-selectină) ⇒ rulara, aderența și recrutarea neutrofilelor ⇒ degradarea proteinelor matricei extracelulare și activarea ulterioară a endoteliului și generarea trombinei.
- Prin urmare este rațională utilizarea unor terapii specifice pentru stabilizarea endoteliului și a trombocitelor în timpul replicării virale, în special cu terapia antiplachetară, precum și cu medicamente antiinflamatoare (GC) și anti-citokinice (tocilizumab, anakinra, reparixin, canakinumab, inhibitor de interleukină-1 $\beta$  și interferon- $\beta$ 1).

Godino C. et al. Antithrombotic therapy in patients with COVID-19? -Rationale and Evidence. Int J Cardiol. 2020 Sep 28:S0167-5273(20)33894-8

# Antitromboticele în COVID-19



COX = cyclooxygenase; HSPG = heparan sulfate proteoglycan; MMPs = matrix metalloproteinases; NF-kb = nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; SARS-COV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; TNF = Tumor necrosis factor.

Godino C. et al. Antithrombotic therapy in patients with COVID-19? -Rationale and Evidence. Int J Cardiol. 2020 Sep 28:S0167-5273(20)33894-8

# Interacțiunea preparatelor antitrombotice cu medicamentele utilizate în Covid-19

Preparatul	Favipiravir	Hidroxiclorochina	Tocilizumab, sarilumab	Baricitinib	Dexametazona	Azitromicina
Acenocumarol	↔	↔	↓	↔	↑	Nu sunt date
Apixaban	↔	↑	↓	↔	↓	Nu sunt date
Acid acetilsalicilic	↔	↔	↔	↔		↔
Clopidogrel	↔	↔*	↓	↔		↔
Dabigatran	↔	↑	↔	↔	↓	↑
Dipiridamol	↔	↔	↔	↔		Nu sunt date
Enoxaparina	↔	↔	↔	↔		↔
Fondaparinux	↔	↔	↔	↔		↔
Heparina nefracționată	↔	↔	↔	↔		↑
Prezugrel	↔	↔	↓	↔		↔
Rivaroxaban	↔	↑	↓	↔	↓	↑
Streptochinaza	↔	↔	↔	↔		↔
Ticagrelor	↔	↔	↓	↔		↔
Warfarina	↔	↔	↓	↔	↑	↑

↑	Crește expoziția preparatului antitrombotic
↓	Reduce expoziția preparatului antitrombotic
↔	Nu influențează expoziția preparatului antitrombotic

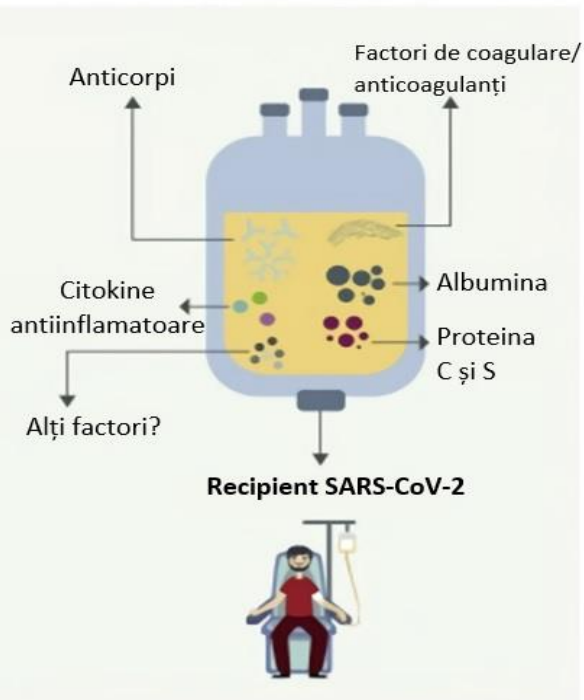
	Preparaatele nu trebuie administrate concomitent
	Preparatele pot potențial interacționa ce va necesita corecția dozelor și monitorizarea
	Interacțiunea preparatelor e puțin posibilă
	Preparatele nu interacționează



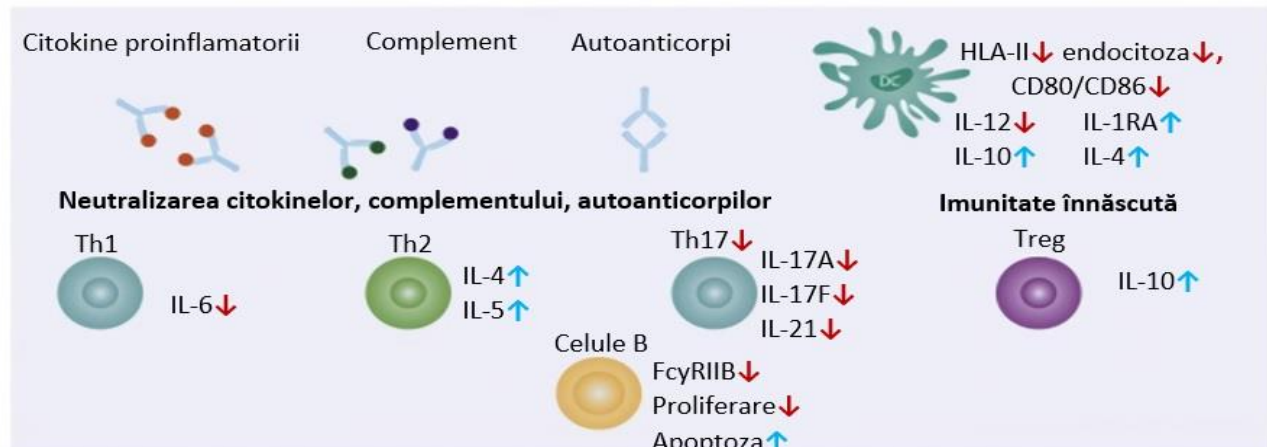
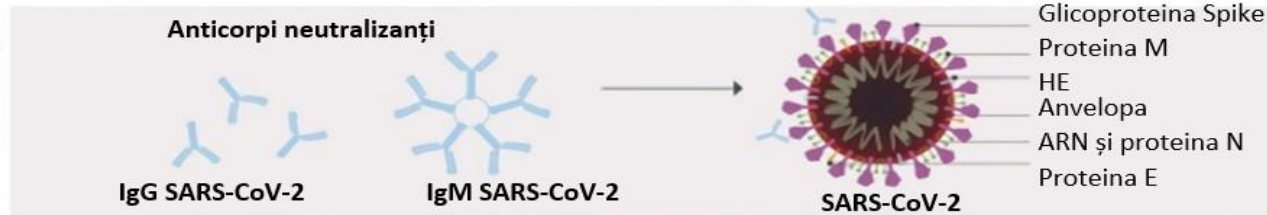
# Plasma convalescentă. [Rojas M.et al., 2020; Wooding D.J.et al., 2020].

- Plasma conține un amestec de anticorpi monoclonali (ACM), săruri anorganice, compuși organici, apă și mai mult de 1000 de proteine, inclusiv albumină, imunoglobuline, complement, factori de coagulare și antitrombotici.
- Se presupune că plasma de la donatori sănătoși oferă efecte imunomodulatoare prin infuzia de citokine antiinflamatoare și anticorpi care blochează complementul, citokinele inflamatoare și autoanticorpii.
- Acești factori pot influența efectul imunomodulator al plasmei convalescente la pacienții cu COVID-19

## B. PLASMĂ CONVALESCENTĂ



## A. EFECTE ANTIVIRALE



# Efectele plasmei convalescente

Imunitatea pasivă determinată de plasma convalescentă (PC) se datorează:

## •Anticorpii monoclonali (ACM):

□sunt cruciali în eliminarea virusului și au fost considerate esențiale în protejarea împotriva bolilor virale;

□În SARS-CoV și MERS - ACM se leagă de proteina de legare a receptorului spike1 (S1-RBD), domeniul S1-N-terminal și S2 ⇒ inhibă intrarea și fuziunea⇒ limitând amplificarea virală.

□pot activa complementul, citotoxicitatea celulară dependentă de anticorpi și /sau fagocitoza.

□la pacienții recuperați cu SARS-CoV-2 s-au depistat variații ale titrilor ACM, aproximativ 30% dintre pacienți nu au dezvoltat titri mari de ACM după infecție, posibil fiind asociate cu vârsta, numărul de limfocite și nivelul proteinei C reactive din sânge, sugerând că alte componente din plasmă contribuie la recuperarea acestor pacienți.

□a arătat că donatorii recuperați din infecția cu COVID-19 aveau titri de anticorpi specifici SARS-CoV-2 variind între 1.800 și 16.200 și titrurile ACM- între 80 și 480.

□Titrurile ACM la pacienții infectați cu SARS-CoV-2 au fost scăzute înainte de debutul zilei 10 după boală și apoi au crescut, cu un maxim din a 10 până la 15 zile după debutul bolii, rămânând stabil după aceea la toți pacienții.

•Alți anticorpi de protecție, inclusiv **imunoglobulina G (IgG)** și **imunoglobulina M (IgM)**, care se leagă de virus, dar nu afectează capacitatea acestuia de a se replica, ar putea contribui la profilaxie și/sau la îmbunătățirea recuperării;

(Rojas M.et al., 2020).

# Utilizarea plasmei reconvalescente

## Cerințe față de donator\*

- Vârsta - 18-55 ani;
- Masa peste 50 kg;
- Peste 14 zile după dispariția simptomelor;
- 2 rezultate negative la prezența ARN SARS CoV-2 în lavajul orofaringean la un interval de 24 ore;
- Activitatea de neutralizare a plasmei în diluție 1:160 (în absența donatorului cu nivelul necesar e posibil și o plasmă de 1:80);
- Concentrația proteinelor totale în sânge de nu mai puțin de 65 g/l;
- Interval între donații de 14 zile.

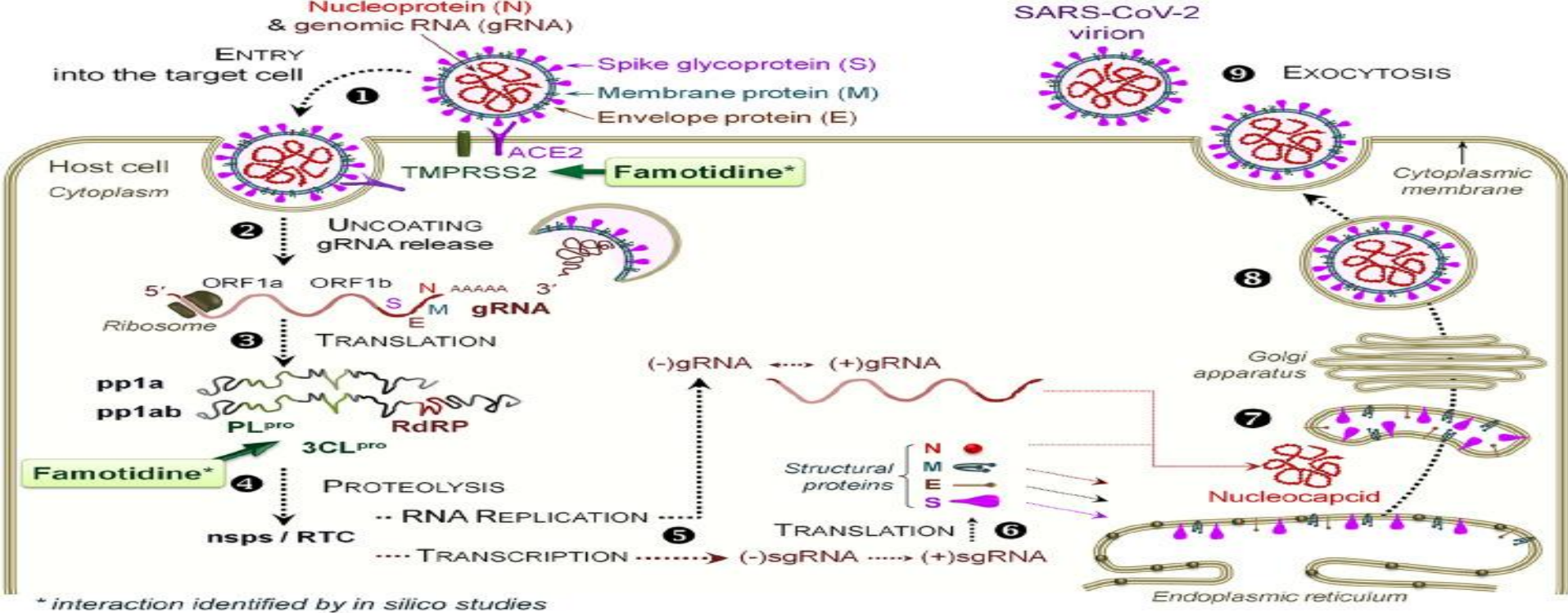
## Indicații clinice

### Simptome clinice

1. De la 3 până la 7 zile
  - În cazul stării grave a pacientului cu rezultat pozitiv de laborator la SARS-CoV-2;
  - În stare de gravitate medie cu manifestări ale SDRA.
2. Peste 21 zile
  - În caz de ineficacitate a terapiei efectuate și rezultat pozitiv la ARN SARS-CoV-2.

## Contraindicații în utilizare

- Reacții alergice în anamneză la proteinele plasmatică sau citrat de sodiu;
- Pacienților cu maladii autoimune sau deficit selectiv de IgA în anamneză e necesar de analizat probabilitatea reacțiilor adverse posibile.



Prezentarea schematică a ciclului de viață al SARS-CoV-2 în celula gazdă și a siturile presupuse de acțiune a famotidinei (Ennis M, Tiligada K.,2020).

- (1) Atașarea și intrarea virusului în celula gazdă necesită interacțiunea enzimei de conversie a angiotensinei 2 (ACE2) cu glicoproteina S virală, care este procesată de serin proteaza celulară transmembranară 2 (TMPRSS2).
- (2) După fuziunea virală cu membrana citoplasmatică a celulei țintă, ARN-ul genomic monocatenar cu sens pozitiv [(+) gARN] al virusului este eliberat în citoplasma gazdă;
- (3) ribozomii celulei gazdă transformă ORF1a și 1b în poliproteinele pp1a și pp1ab.
- (4) Acestea sunt scindate de proteazele asemănătoare papainei virale (PL<sup>pro</sup>) și 3C-asemănătoare (3CL<sup>pro</sup>) pentru a genera 16 proteine nestructurale (nsps), inclusiv ARN polimeraza dependentă de ARN (RdRP), un constituent central al complexului de replicare-transcripție (RTC).
- (5) În timpul replicării, ARN-ul genomic cu sens negativ [(-) gARN] servește drept șablon pentru (+) gARN,
- (6) în timp ce ARN-urile subgenomice imbricate [(+) sgRNA] produse prin transcripție fragmentată prin intermediari cu catenă negativă [(-) SGRNA] sunt traduse în proteine structurale și accesorii SARS-CoV-2.
- (7) Nucleocapsidele asamblate din ARNc încapsulat de proteina N și proteinele structurale S, E și M inserate în reticulul endoplasmatic se deplasează de-a lungul căii secretorii;
- (8) formează virioni maturi care sunt transportați la suprafața celulei în vezicule;
- (9) eliberarea virionilor din celula infectată prin exocitoză.



# Terapia antibacteriană în COVID-19



Se indică la prezența semnelor convingătoare de asociere a infecției bacteriene (majorarea procalcitoninei peste 0,5 ng/ml, leucocitoză >  $10 \times 10^9/L$ , sputa purulentă) cu luarea în considerație a stării pacientului, riscului contaminării cu m/o rezistente; rezultatetele diagnosticului microbiologic. E rațional de utilizat formele perorale, terapia în trepte.

## La pacienții în stare critică se recomandă terapia combinată:

- Aminopeniciline protejate;
- Cefalosporinele III generație  
+ azitromicină sau claritromicină.

Sau

- Fluorchinolonele respiratorii + Cefalosporinele III generație

## La pacienții cu risc de infectare cu

**Ps. aeruginosa** se recomandă asocierea  $\beta$ -lactaminelor cu activitate antipseudomonazică (piperacilină/tazobactam, meropenem, doripenem, imipenem+cilastatină) cu:

- Ciprofloxacina sau levofloxacină;
- aminoglicozide II-III generație și macrolide;
- fluorchinolone respiratorii.

## Categorii separate de pacienți

(intervenții chirurgicale recente, aflarea în azilurile pentru bătrâni, cateter intravenos permanent, dializa):

Antibiotice antistafilococice (ceftarolina, vancomicina), chimioterapice sintetice antistafilococice (linesolid )

+

Fluorchinolone respiratorii

În caz de ineficiență clinică, dezvoltarea infecțiilor nozocomiale – ceftolozolan+tazobactam, piperacilină+tazobactam, cefepim+sulbactam, ceftazidim+avibactam, tigeciclină, aztreonam, ampicilină, telavancină etc.).

# Vitaminele în Covid-19

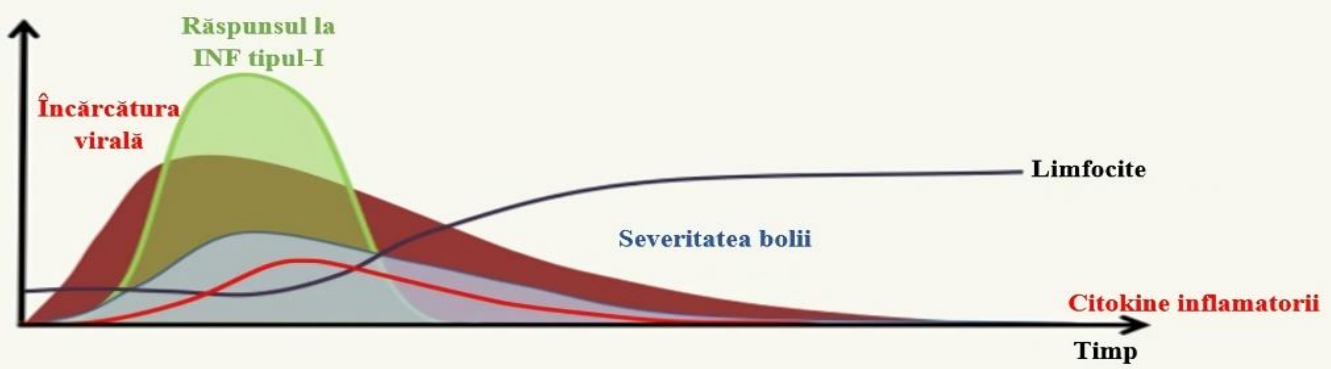
## **Vitamina C:**

- efecte pleiotrope în modularea sistemului imun prin:
- stimularea producției de IFN,
- susținerea proliferării limfocitelor
- creșterea capacității fagocitare a neutrofilelor
- proprietățile antioxidante;
- protejează funcția barierei pulmonare și reduce leziunile vasculare pulmonare prin reducerea răspunsurilor inflamatorii și modificări ale coagulabilității;
- reduce gradul de insuficiență poliorganică și atenuează nivelurile biomarkerilor de leziuni circulante (Zhang J.et al., 2020).

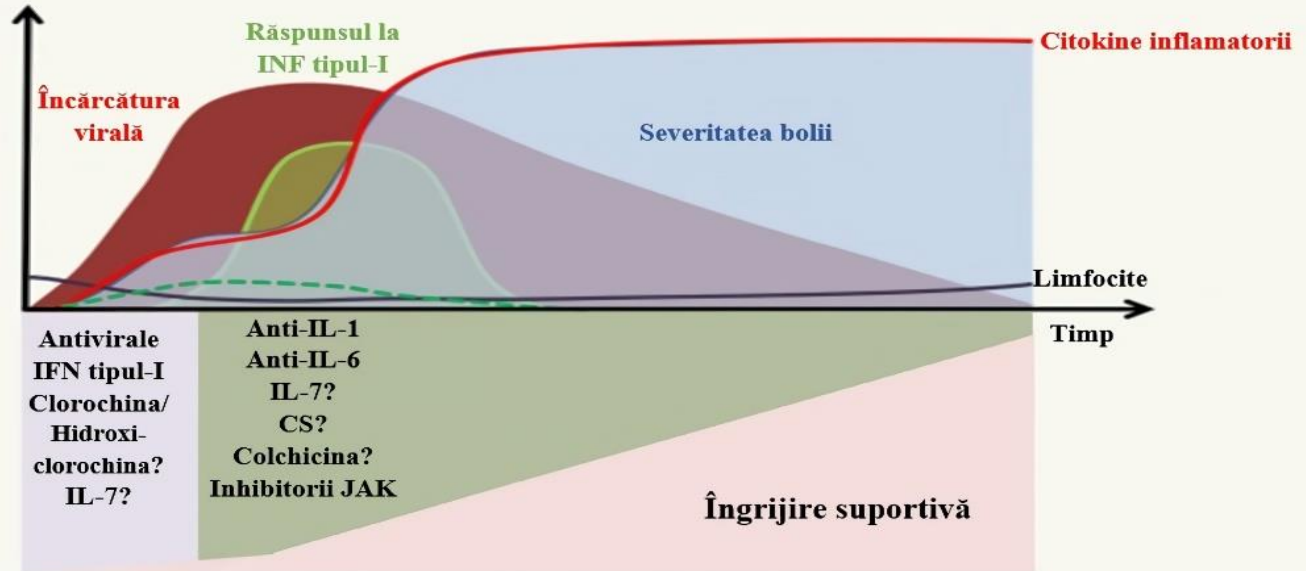
## **Vitamin D:**

- modulează sistemul imunr înnăscut și adaptativ cu reducerea susceptibilității la infecție;
- mecanismul vitaminei D include: inducerea peptidelor antimicrobiene (catelicidine, defensine) care pot reduce rata de replicare virală și împiedică citokinele pro-inflamatorii. (Zhang J.et al., 2020).

## Formă ușoară/moderată

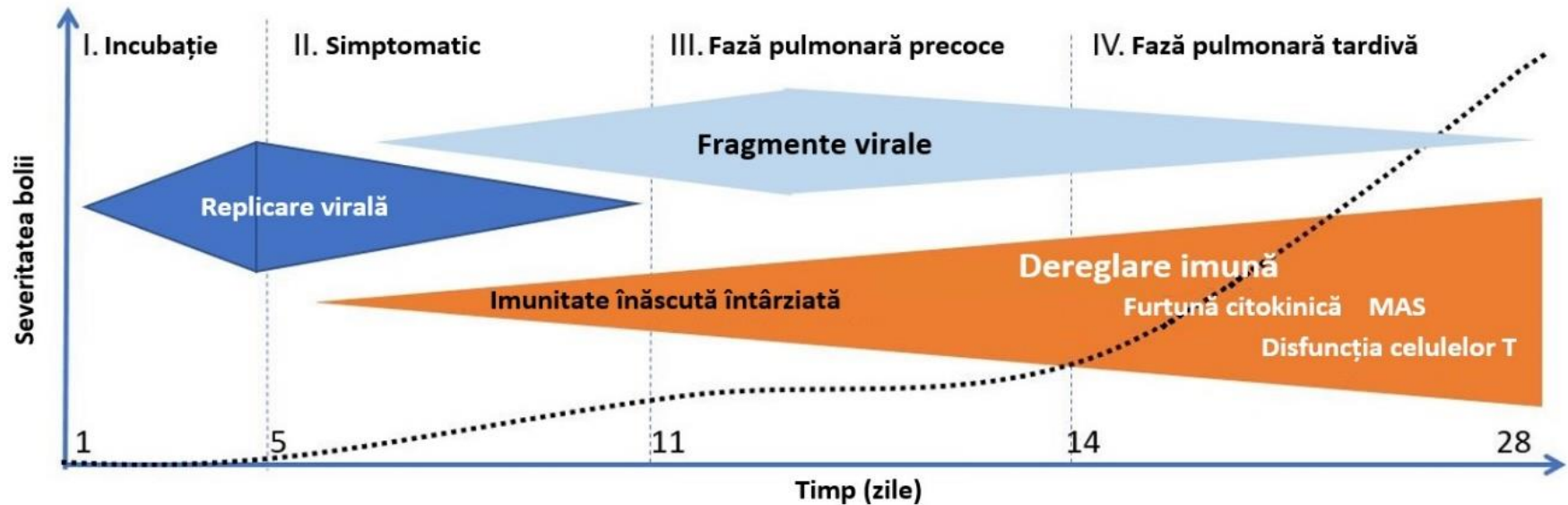


## Formă severă



Cinetica și intensitatea răspunsului antiviral sunt decisive în evoluția COVID-19. În COVID-19, forma ușoară până la moderată, răspunsul antiviral timpuriu, în mare parte interferonul de tip I (IFN), permite reducerea rapidă a încărcăturii virale și previne depleția celulelor T și hiperцитokinemia. În COVID-19, forma severă, răspunsul antiviral întârziat (linia verde continuă) sau scăzut (linia verde întreruptă) determină valori ridicate de citokine / chemokine pulmonare, răspunsuri virus-specifice inadecvate a celulelor T și deteriorare clinică acută. Sunt propuse perioade optime pentru intervenții terapeutice.

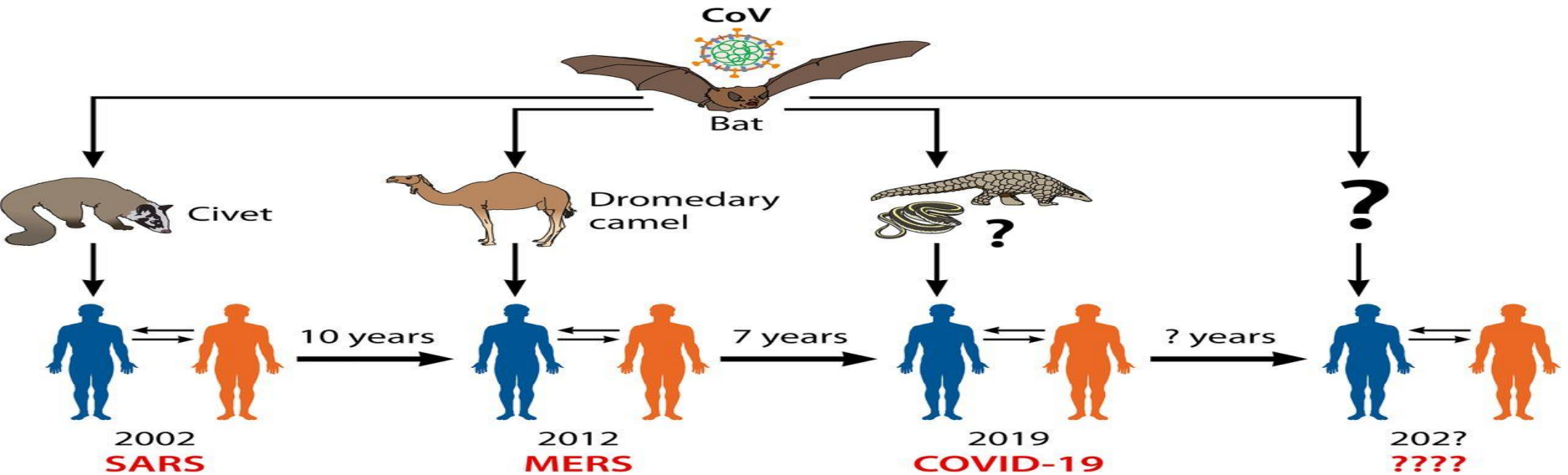
# Replicarea virală și intervențiile medicamentoase



Infiltrate în sticlă mată	+		++		+++		++++			
Simptome clinice	Febră, tuse, cefalee, indispoziție, diaree		Dificultăți de respirație – hipoxie moderată ≤ 4 L/min N/C și sat. ≤ 94 %		Hipoxie progresivă					
Abordarea tratamentului	Antivirale		Antiinflamatoare							
Terapii potențiale	Ivermectina		Metilprednisolon 40 mg/12 ore până la 80 mg/12 ore la necesitate				Enoxaparină 60 mg/zi		Enoxaparină 1 mg/kg s/c fiecare 12 ore	
	Remdesivir (i/v)									
	Vitamina C + Vitamina D + Quercetină + Zinc									



# Evoluția coronavirusurilor



## Originile Coronavirusurilor.

Coronavirusul este cel mai prominent exemplu de virus emergent care a trecut bariera speciilor de la animale sălbatice la oameni, cum ar fi SARS și MERS. Originea SARS-CoV-2 este, de asemenea, suspectată de la o gazdă intermediară de animale. Posibilitatea de a trece din nou bariera speciei pentru a patra oară nu poate fi exclusă.

(Dhama K., Khan S., Tiwari R. et al. Coronavirus disease 2019 –COVID-19. Clin Microbiol Rev. 2020; 33: e00028-20. doi.org/10.1128/CMR.00028-20)

## EVMS CRITICAL CARE COVID-19 MANAGEMENT PROTOCOL

Developed and updated by Paul Marik, MD Chief of Pulmonary and Critical Care  
Medicine Eastern Virginia Medical School, Norfolk, VA October 22nd, 2020

Assessment of Evidence for COVID-19-Related Treatments: Updated 11/19/2020  
ASHP's patient medication information is available at  
<http://www.safemedication.com/>.

# Mulțumesc pentru atenție !

Rădăcinile învățării  
sunt amare, iar roadele  
ei sunt dulci

ARISTOTEL



# Preparatele surfactantului:

## I. Naturale:

### A. Nemodificate:

- ✓ alveofact;
- ✓ surfactant-BL;
- ✓ salfarctant (infasurf)

### B. Modificate:

- Surfactant TA (Surfacten);
- Beractant (Survanta);
- Poractant alfa (Curosurf) ;
- Surfactant HL10

### C. Umane:

- surfactant-HL;
- fluid amniotic.

## II. Sintetice:

- ❖ pumactant (ALEC);
- ❖ colfosceril (exosurf);
- ❖ Lucinactant (Sinapultide, Surfaxin);
- ❖ Lusupultide (Venticute).



# Indicațiile preparatelor surfactantului

Deficiența și/sau modificările calitative ale surfactantului au fost descrise în:

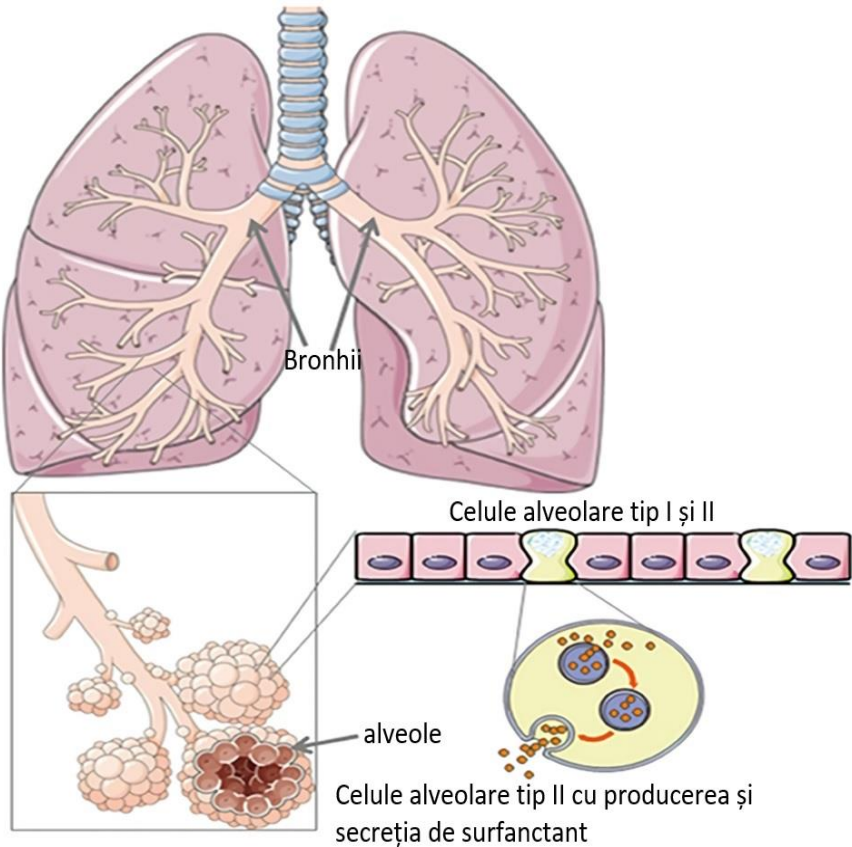
- ❖ sindromul de detresă respiratorie neonatal,
- ❖ sindromul de leziuni pulmonare acute,
- ❖ sindromul de detresă respiratorie acută la adulți,
- ❖ pneumonia,
- ❖ atelectazie,
- ❖ fibroza cistică a pancreasului,
- ❖ alveolită fibroasă idiopatică,
- ❖ leziuni ale plămânilor prin radiații,
- ❖ astm bronșic,
- ❖ bronhopneumopatia obstructivă cronică (BPOC),
- ❖ sarcoidoză, tuberculoză etc.

# Surfactantul și SARS-CoV-2

- Infecția virală și distrugerea celulelor alveolare atrag celulele imune cu o reacție inflamatorie exudativă alveolară excesivă și interstițială.
- Furtuna de citokine și chemokine determină distrugerea țesutului pulmonar cu dezvoltarea sindromului de detresă respiratorie acută severă (SDRA).
- SARS-CoV-2 intră în celule prin receptorul enzimei de conversie a angiotensinei 2 (ACE2), extrem de exprimat pe suprafața apicală a epiteliiilor căilor respiratorii, îndeosebi celulele alveolare de tip II cu distrugerea lor.
- Deteriorarea celulelor alveolare de tip II reduce drastic producția de surfactant pulmonar și secreția în spațiul alveolar, urmată de atelectazie datorată disfuncției surfactantului pulmonar care reduce în continuare complianța pulmonară ⇒ o oxigenare redusă a sângelui, pneumonie, fibroză pulmonară, edem, diminuarea regenerării ⇒ la insuficiență respiratorie.
- SARS-CoV-2 induce distrugerea celulelor alveolare de tip II și produce o limfocitopenie cu eliberare masivă de citokine ⇒ duce la insuficiență pulmonară și deces în cazurile severe de pacienți cu COVID-19.

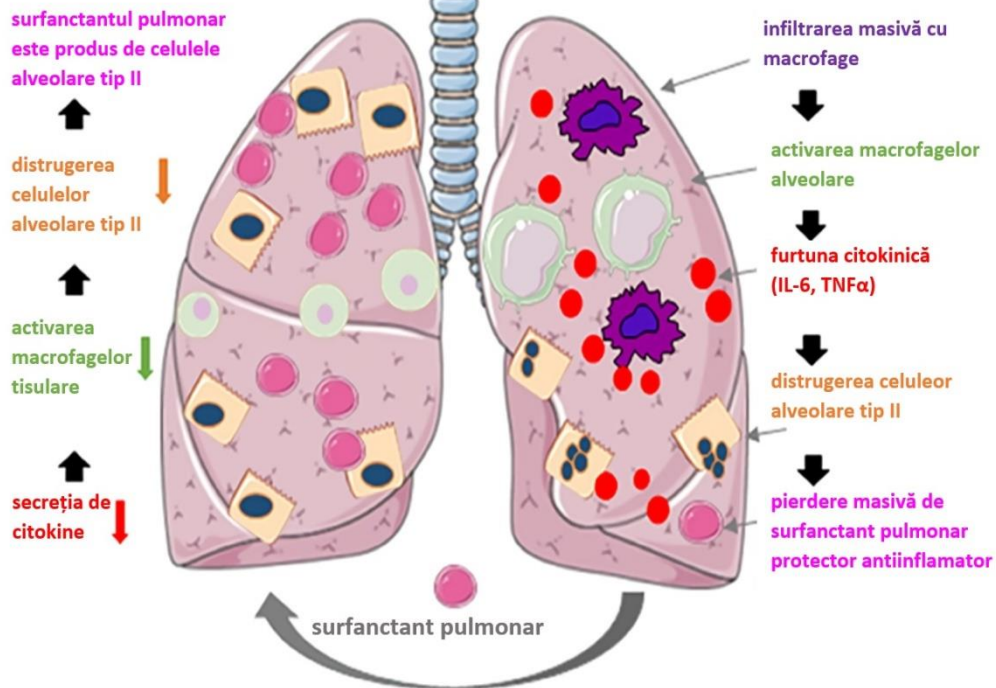
# Surfactantul și SARS-CoV-2

- ❖ **Fracția lipofilă a surfactantului pulmonar are proprietăți antiinflamatoare la aplicarea intratraheală în pulmoni, cu reducerea TNF- $\alpha$  și IL-6, care sunt crescute la pacienții cu COVID-19 grav afectați.**
- ❖ **Efectele benefice ale terapiei cu surfactant la pacienții cu SDRA asociați cu COVID-19 sunt de conceput, mai ales atunci când sunt aplicate la începutul strategiei de tratament împotriva insuficienței pulmonare.**
- ❖ **Datorită datelor insuficiente a efectelor antiinflamatoare și de protecție a plămânilor și a nevoii urgente de terapie de susținere a plămânilor, se poate propune tratamentul adjuvant al pacienților cu pneumonie COVID-19 pe terapii intensive cu surfactanți pulmonari naturali în plus față de standardul actual de tratament cu terapie intensivă SDRA.**
- ❖ **Dovezile actuale sugerează că acest lucru ar crește oxigenarea sângelui, ar reduce edemul pulmonar și ar ameliora reacția inflamatorie excesivă găsită în autopsiile pulmonare ale pacienților cu COVID-19.**



Plămân tratat / normal

COVID-19 asociat cu SDRA



**Figura 2.** Mecanismul hipotetic al surfactantului pulmonar aplicat extern pentru protecția pulmonară în SDRA sever asociat COVID-19. SDRA asociat COVID-19 se caracterizează prin infiltrare masivă de macrofage, activarea macrofagelor alveolare tisulare și o potențare a producției de citokine în plămâni („furtuna” de citokine), ceea ce duce la distrugerea celulelor alveolare de tip II care produc surfactanți, ceea ce agravează situația prin pierderea surfactantului pulmonar antiinflamator, anti-fibrotic. Surfactantul exogen poate reduce inflamația și astfel poate restabili supraviețuirea pulmonară.

pulmonare și alveolare.

Surfactantul pulmonar este produs de celulele alveolare de tip II.