

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 08/09/2024.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Larissa Rodrigues Pereira Santi

**Caracterização da expressão gênica do sistema renina-
angiotensina em pacientes com SARS-CoV-2 tratados ou
não com drogas anti-hipertensivas na presença e ausência
de comorbidades associadas**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em
Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Prof^o Dr^o Carlos Ferreira dos Santos

**Botucatu
2022**

Larissa Rodrigues Pereira Santi

CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA EM PACIENTES COM SARS-CoV-2 TRATADOS OU NÃO COM DROGAS ANTI-HIPERTENSIVAS NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE COMORBIDADES ASSOCIADAS

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Prof^o Dr^o Carlos Ferreira dos Santos

**Botucatu
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Santi, Larissa Rodrigues Pereira.

Caracterização da expressão gênica do sistema renina-angiotensina em pacientes com SARS-CoV-2 tratados ou não com drogas anti-hipertensivas na presença e ausência de comorbidades associadas / Larissa Rodrigues Pereira Santi. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Carlos Ferreira dos Santos
Capes: 40101096

1. Sistema renina-angiotensina. 2. Reação em cadeia da polimerase. 3. Expressão gênica. 4. Anti-hipertensivos. 5. COVID-19 (Doença). 6. SARS-CoV-2.

Palavras-chave: COVID-19; SARS-CoV-2; Sistema renina-angiotensina.

Larissa Rodrigues Pereira Santi

CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA EM PACIENTES COM SARS-CoV-2 TRATADOS OU NÃO COM DROGAS ANTI-HIPERTENSIVAS NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE COMORBIDADES ASSOCIADAS

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Coorientador: Prof^o Dr^o Carlos Ferreira dos Santos

Comissão examinadora:

Prof^a Dr^a Marília Afonso Rabelo Buzalaf
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) - Botucatu

Prof^a Dr^a Ana Carla Pereira Latini
Instituto Lauro de Souza Lima - Bauru

Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira
Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratórios Regionais - Bauru

Botucatu, 08 de setembro de 2022

Dedicatória

Gostaria de dedicar essa pesquisa, primeiramente, a todos os pacientes que, de alguma forma, colaboraram com o estudo, também gostaria de dedicar à todos os profissionais, professores e alunos que trabalharam intensamente na linha de frente para combater e estudar essa doença, à todos que trabalharam na coleta das amostras, nos laboratórios, nas análises, a todos que deixaram de lado o medo de contágio da doença para poder ajudar a população.

Em especial gostaria de dedicar esse trabalho a toda equipe de extração e análise da FOB-USP e do Instituto Adolfo Lutz e aos professores Virgínia Bodelão e Carlos Ferreira dos Santos, que encararam esse desafio com maestria e muita dedicação. A ajuda e união de todos fizeram com que esse trabalho árduo valesse a pena.

E por fim gostaria de dedicar a conclusão deste trabalho à minha família que esteve ao meu lado em todo momento, acreditando em mim.

Aos meus pais Luiz e Luciana e ao meu irmão Lucas, que me incentivaram e não deixaram eu desistir, à minha querida Vó Neise que esteve ao meu lado me ajudando em vários momentos, ao meu noivo Davi que me deu todo apoio para realizar esse projeto.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos que me ajudaram para que este trabalho se concretizasse, especialmente:

Ao meu coorientador, professor Dr^o Carlos Ferreira dos Santos (CROSP 49.884) por ter confiado essa pesquisa a mim e por ter me dado todo suporte necessário e a minha orientadora Prof^a Dr^a Virgínia Bodelão Richini Pereira (CRBIO n^o 035147/01 D), que também acreditou no meu potencial e me orientou com maestria. Agradeço a eles por toda ajuda e ensinamento.

Gostaria de agradecer imensamente a toda equipe multidisciplinar que foi treinada para a realização desse projeto:

Ao especialista de Laboratório, Dr^o Thiago José Dionísio (CROSP 3268) e a Especialista de Laboratório, Dr^a Marina Morettin Zupelari (CRFa 13827), agradeço por toda disponibilidade e ensinamento na parte de análise laboratorial.

À bióloga Dr^a Elza Araújo Torres (CRBio 270501/01- D) que nos auxiliou muito em relação aos documentos necessários, principalmente, em relação ao CEP. Agradeço à técnica de Laboratório Viviane Aparecida Parisi (CROSP 4059) e à Bióloga e doutora Thais Francini Garbieri (CRBio 97568/01-D) por toda ajuda e aprendizado na área de extração do material genético. Agradeço também à Biomédica e doutoranda Gabriela de Moraes Oliveira (CRBM/SP: 27846), à Dentista e doutoranda Isadora Prado Cano (CROSP:116831), à especialista em laboratório do departamento de bioquímica da FOB/USP Thelma Lopes Silva, ao Alexandre Simões Garcia, técnico de laboratório no setor de radiologia e estomatologia FOB/USP e aos demais colegas que nos auxiliaram em todo esse processo. À médica pneumologista e Diretora Executiva do Hospital Estadual de Bauru, Dr^a Deborah Maciel Cavalcanti Rosa (CRM/SP107135 / RQE 51303) que nos auxiliou em relação aos prontuários dos pacientes.

Agradeço ao Instituto Adolfo Lutz pela parceria para realização deste trabalho.

Agradeço ao CEP por ter aprovado a análise das amostras dos pacientes.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88887.508433/2020-00.

Gostaria de agradecer aos professores Prof^a Dr^a Marília Afonso Rabelo Buzalaf e Prof^o Dr^o Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza pelas contribuições científicas na banca da minha qualificação.

Sou imensamente grata aos meus pais que me incentivaram e apostaram em mim para realização dessa pesquisa, ao meu pai que me ajudou na elaboração das planilhas. Agradeço por conhecer cada um e por crescer tanto como pessoa e como profissional, foi uma experiência única, bem cansativa mas muito enriquecedora.

RESUMO

No início de 2020 a população mundial enfrentou um momento crítico, devido à *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19), doença que tem como agente causal o *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) que proporcionou vários desafios, afetando a saúde pública e também sistemas econômicos e padrões socioculturais. A Enzima Conversora de Angiotensina (ECA 2), um importante componente do Sistema Renina-Angiotensina (SRA), está relacionada ao processo de infecção do vírus às células do hospedeiro e diferenças em seus níveis de expressão nos diferentes tecidos podem contribuir com a capacidade de infecção do SARS-CoV-2. O objetivo do presente projeto foi caracterizar a expressão gênica, por RT-PCR em tempo real, dos componentes do SRA em pacientes: G1A: Positivos que fazem uso de fármacos anti-hipertensivos atuantes no SRA (tais como antagonistas dos receptores AT1, inibidores da ECA e da Renina) (n=47); G1B: Positivos que não fazem uso (n=49); G2A: Negativos que fazem uso (n=50); G2B: Negativos que não fazem uso (n=50), no momento do diagnóstico laboratorial e relacionar às informações dos registros clínicos como idade, sexo, desenvolvimento do quadro clínico para cura ou óbito, comorbidades associadas, em amostras que foram coletadas no Hospital Estadual de Bauru (HE). Os resultados mostraram um aumento da expressão do receptor MAS e da protease TMPRSS2 em pacientes positivos para COVID-19 que não utilizavam fármacos anti-hipertensivos e para *FURIN* a expressão foi aumentada nos pacientes sob tratamento anti-hipertensivo, não havendo diferença entre os pacientes positivos ou negativos. Em relação aos parâmetros analisados, foi possível identificar que as comorbidades, com destaque para a hipertensão arterial sistêmica, contribuem para um maior risco no agravamento do quadro clínico da infecção por COVID-19. Porém, o uso de terapia anti-hipertensiva com inibidores da ECA (iECAs) e antagonistas dos receptores (ARBs) não influenciou na expressão gênica dos componentes do SRA e desta forma foi possível uma melhor compreensão dos eventos moleculares relacionados à infecção e desenvolvimento da COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19, SARS-CoV-2, Sistema Renina-Angiotensina, Reação em Cadeia da Polimerase, Transcrição Reversa.

ABSTRACT

At the beginning of 2020, the world population faced a critical moment, due to the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a disease that has the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as its causal agent, which has provided several challenges, affecting the public health and also economic systems and sociocultural patterns. The Angiotensin Converting Enzyme (ACE 2), an important component of the Renin-Angiotensin System (RAS), is related to the process of virus infection to host cells and differences in their expression levels in different tissues may contribute to the ability to SARS-CoV-2 infection. The objective of the present project was to characterize the gene expression, by real-time RT-PCR, of the RAS components in patients: G1A: Positives who use antihypertensive drugs acting on the RAS (such as AT1 receptor antagonists, ACE and Renin) (n=47); G1B: Positives that do not use (n=49); G2A: Negatives that make use (n=50); G2B: Negatives that do not use (n=50), at the time of laboratory diagnosis and report to information from clinical records such as age, sex, development of the clinical condition for cure or death, associated comorbidities, in samples that were collected at the State Hospital from Bauru (HE). The results showed an increase in the expression of the MAS receptor and the TMPRSS2 protease in positive patients for COVID-19 who did not use antihypertensive drugs, and for *FURIN* the expression was increased in patients under antihypertensive treatment, with no difference between positive patients. or negative. Considering the parameters analyzed, it was possible to identify that comorbidities, especially systemic arterial hypertension, contribute to a greater risk of worsening the clinical picture of COVID-19 infection. However, the use of antihypertensive therapy with ACE inhibitors (ACE inhibitors) and receptor antagonists (ARBs) did not influence the gene expression of the RAS components and, in this way, a better understanding of the molecular events related to the infection and development of COVID-19 was possible.

Key-words: COVID-19, SARS-CoV-2, Renin-Angiotensin System, Polymerase Chain Reaction, Reverse Transcription.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	16
2.1. Primário	16
2.2. Secundário	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Aspectos éticos	18
3.2. Amostras e infraestruturas laboratoriais	18
3.3. Isolamento e purificação do RNA viral	20
3.4. Reação de RT-PCR em tempo real para identificação do SARS-CoV-2	20
3.5. Separação dos pacientes em grupos	22
3.6. Reação de PCR para os componentes do SRA	23
3.7. Análise estatística	24
4. RESULTADOS	27
4.1. Caracterização das amostras de COVID-19	27
4.2. Caracterização expressão gênica do Sistema Renina-Angiotensina	31
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	43
7. INTERCORRÊNCIAS	45
8. REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	54

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Coronavírus (CoVs) são membros da família Coronaviridae e representam um grupo diversificado de vírus capazes de causar infecções respiratórias e intestinais em humanos e animais (CUI *et al.*, 2019). No entanto, nas últimas décadas, alguns coronavírus altamente patogênicos, como o SARS-CoV e o *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV), surgiram causando doenças respiratórias graves com alta taxa de mortalidade e contaminação por volta dos anos de 2002 e 2012, respectivamente (GUO *et al.*, 2020; PINTO *et al.*, 2020; GORBALENYA *et al.*, 2020; WHO Interim Guidance 2020).

Em dezembro de 2019, os primeiros casos de uma pneumonia de etiologia desconhecida foram reportados em Wuhan (Hubei, China) (GUO *et al.*, 2020; LU *et al.*, 2020). O agente causal foi nomeado pelo *Coronavírus Study Group* (CSG) do *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como SARS-CoV-2. A doença foi denominada COVID-2019 pela OMS, que rapidamente se espalhou por diversos outros países e se transformou em uma pandemia global em 2020 (GUAN *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020; WHO, 2020). A infecção pelo SARS-CoV-2 pode variar de casos assintomáticos, oligossintomáticos, até quadros moderados, graves e críticos, sendo necessária atenção especial aos sinais e sintomas que indicam piora do quadro clínico que exijam a hospitalização do paciente (LONG *et al.*, 2022).

De acordo com a OMS, a maioria dos pacientes com COVID-19 (cerca de 80%) podem ser assintomáticos ou oligossintomáticos, cerca de 20% requerem atendimento hospitalar por dificuldade respiratória e, desses, aproximadamente 5% podem apresentar a forma crítica da doença, com complicações como falência respiratória, sepse e choque séptico, tromboembolismo e/ou falência múltipla de órgãos, incluindo lesão hepática ou cardíaca aguda e requerem cuidados intensivos (WHO, 2020).

O painel interativo de rastreamento de casos de COVID-19 em tempo real do *Center for Systems Science and Engineering* (CSSE) da Johns Hopkins University (JHU) (DONG *et al.*, 2020) informou que desde o início da pandemia

até julho de 2022 mais de 580 milhões de casos foram registrados no mundo, com mais de 6 milhões de mortes. No Brasil, foram confirmados mais de 34 milhões de casos e 680 mil óbitos. No Estado de São Paulo, os casos ultrapassaram 5,9 milhões e o número de óbitos 170 mil (SEADE, 2022).

Estudos a respeito das características epidemiológicas da COVID-19 revelaram condições e fatores de risco a serem considerados para possíveis complicações, tais como: idade igual ou superior a 60 anos, tabagismo, obesidade, miocardiopatias, hipertensão arterial, doença cerebrovascular, pneumopatias graves ou descompensadas, imunodepressão e imunossupressão, doenças renais crônicas em estágio avançado, diabetes, doenças cromossômicas com estado de fragilidade imunológica, neoplasia maligna, doença hepática crônica, algumas doenças hematológicas (CDC, 2020).

Porém, em decorrência da implementação das vacinas, iniciada em 2021, esse quadro se alterou. A vacinação, além de gerar proteção contra os sintomas graves da doença, diminuiu significativamente a propagação do vírus e conseqüentemente reduziu a taxa de infecção (VITIELLO *et al.*, 2021). Também é necessário considerar que mutações adaptativas no genoma viral aconteceram ao longo da pandemia, com o surgimento de variantes de preocupação (VOCs), tais como a *Alpha*, *Beta*, *Gamma*, *Delta* e *Ômicron*, associadas a maior transmissibilidade ou virulência, redução na neutralização por anticorpos e desta forma, ainda há dúvidas sobre o tempo de duração da imunidade natural ou obtida por meio da vacinação (ALEEM *et al.*, 2022; ZENG *et al.*, 2022).

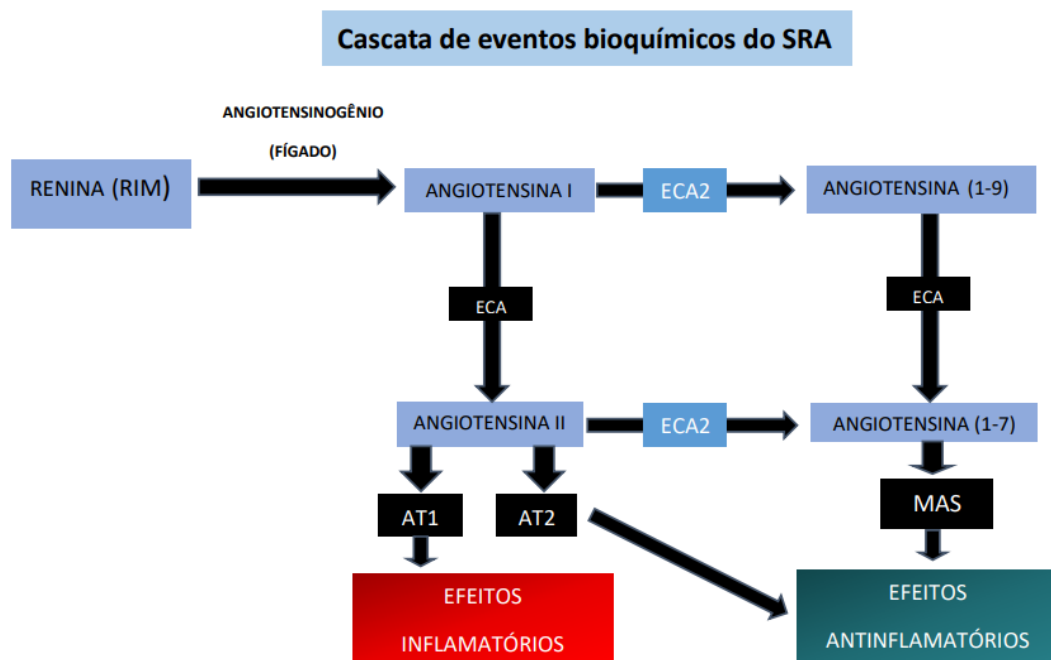
Alguns estudos demonstraram que certas comorbidades associadas contribuem para uma maior suscetibilidade a gravidade da doença e que o Sistema Renina-Angiotensina (SRA) desempenha uma participação importante, tanto na infecção pelo SARS-CoV-2, quanto na maioria das comorbidades associadas que parecem contribuir para uma evolução mais grave e intensa da doença e maior porcentagem dos casos de óbito, demonstrando seu grande envolvimento em ambas situações (INGRAHAM *et al.*, 2020; PINTO *et al.*, 2020; PATHANGEY *et al.*, 2021).

O SRA é conhecido, principalmente, por ser importante na regulação da pressão sanguínea e balanço eletrolítico. Além do SRA sistêmico, a existência

de SRA localmente em tecidos tem sido descrita, bem como, diversas outras funções vêm sendo atribuídas às moléculas deste sistema, como por exemplo na inflamação, participando de maneira endócrina, parácrina e autócrina (SANTOS *et al.*, 2015).

A cascata de eventos bioquímicos do SRA tem início com a liberação da renina (sintetizada nos rins) para a circulação, a qual atua clivando seu substrato, o angiotensinogênio (ANGT – liberado pelo fígado), no decapeptídeo Ang I ou Ang 1-10, ao qual não são atribuídas funções biológicas importantes. No entanto, quando clivado no octapeptídeo Ang II ou Ang 1-8, por meio da ação da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), torna-se uma das moléculas-chave deste sistema, e que tem sua atuação por meio da ligação em seus receptores específicos AT1 e AT2. Tanto a Ang I quanto a Ang II servem como substrato para síntese de outra molécula importante deste sistema, a Ang 1-7, por meio da atuação da ECA2, presente principalmente no endotélio dos pulmões (HAMMING *et al.*, 2004; FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008; BENIGNI; CASSIS; REMUZZI, 2010) (Figura 1). Essa mesma proteína de membrana, ECA2, que faz parte do SRA, tem sido considerada facilitadora da ligação entre o SARS-CoV-2 e a célula hospedeira, sendo crucial no processo de infecção (ZHOU *et al.*, 2020)

Figura 1- Esquema de eventos bioquímicos que ocorrem na cascata do Sistema Renina-Angiotensina.



Fonte: Adaptado de FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008.

Especificando, o SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples, de sentido positivo e envelopado de gênero *Betacoronavirus*. Ele é composto pelas proteínas estruturais: nucleocapsídeo, membrana, envelope e spike (JACKSON *et al.*, 2022).

A proteína estrutural spike realiza uma ligação com o domínio receptor da enzima conservadora de angiotensina-2 (ECA-2), facilitando dessa forma a entrada do patógeno na célula-alvo. Porém, para que ocorra a replicação viral intracelular, é necessária a coexpressão de ECA-2 e de uma outra protease, denominada TMPRSS2, na superfície da célula hospedeira. Essas duas proteases que participam da entrada do vírus na célula hospedeira, além de estarem presentes no trato respiratório, também estão nas células miocárdicas, células renais, gastrointestinais, hepatobiliares, pancreáticas e até em células neurológicas, ou seja, isso pode explicar a lesão múltipla dos órgãos e consequentemente a presença de sintomas variados (GONZALES; SOUZA, 2020).

Há, ainda, outras proteases celulares sendo consideradas importantes na infecção da célula hospedeira, como a *Furin* (codificada pelo gene *FURIN*) (MILLET; WHITTAKER, 2015; KLEINE-WEBER *et al.*, 2018; HOFFMANN *et al.*, 2020).

Existem diversas classes de medicamentos que atuam em diferentes pontos da cascata do SRA, sejam inibidores da ECA (por exemplo o Captopril e Enalapril) ou antagonistas dos receptores da angiotensina (por exemplo Losartan e Olmesartan) (RIBEIRO; FLORÊNCIO, 2000). Muitas dúvidas têm sido levantadas sobre a utilização destes fármacos nos pacientes durante a infecção pelo SARS-CoV-2, se elas podem diminuir o processo de infecção das células hospedeiras ou até mesmo piorar esse processo de infecção, uma vez que podem aumentar a expressão de ECA2, como é o caso dos bloqueadores dos receptores da angiotensina II, ou até mesmo aumentar as lesões no epitélio pulmonar por conta de uma maior disponibilidade de Ang II que, ligada ao receptor AT1, exerce atividades pró-inflamatórias. É evidente essa divergência

na comunidade científica, onde alguns defendem o uso de bloqueadores do receptor da angiotensina II como terapêutica para reduzir a gravidade dos casos de COVID-19 e outros argumentam que o uso destes fármacos pode ser potencialmente prejudicial e sugerem até mesmo que estes fármacos sejam substituídas por outras classes (ESLER; ESLER, 2020; GURWITZ, 2020). Diante desse impasse científico, essa avaliação dos aspectos moleculares associados ao SRA relacionados aos dados clínicos dos pacientes diagnosticados com COVID-19 é de extrema valia.

Uma revisão sistemática com meta-análise, demonstrou que a expressão de ECA2 é aumentada em pulmões de pacientes com comorbidades associadas, infectados pelo SARS-CoV-2 e considerados casos mais graves em comparação aos casos controle. Esse estudo verificou, ainda, que os alvos IL-6 e INS (gene que codifica o hormônio insulina) estavam associados a todas as doenças pesquisadas (PINTO *et al.*, 2020). Neste mesmo trabalho, os autores também verificaram aumento da expressão de *NAD-dependent histone deacetylase Sirtuin 1* (SIRT1) em mais da metade dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise. Além de estar envolvido na sinalização de insulina (LIANG; KUME; KOYA, 2009) o SIRT1 também pode regular epigeneticamente a ECA2, sob condições de estresse de energia celular (CLARKE *et al.*, 2014), o que demonstra a ligação entre fatores moleculares relacionados ao diabetes, uma doença de acometimento importante na população mundial atual, e a expressão de componentes do SRA que parecem interferir na infecção pelo SARS-CoV-2 e no desenvolvimento dos casos mais graves de COVID-19.

Assim, ponderando todo o exposto e considerando que a pandemia de COVID-19 está em curso, destaca-se a necessidade de cooperação científica global no avanço da compreensão dos mecanismos envolvidos no SRA e o comportamento da expressão gênica dos componentes do SRA nestas células onde o vírus se encontra e associar ao desenvolvimento do quadro clínico dos pacientes acometidos ou não pelo SARS-CoV-2 e que fazem uso crônico ou não de fármacos que atuam no SRA. Vale salientar que a enzima ECA2, além dos outros componentes do SRA, foi encontrada em glândulas salivares em trabalho publicado pelo nosso grupo de pesquisa (CANO *et al.*, 2019), bem como em células epiteliais orais (XU *et al.*, 2020) e nasais humanas (SUNGNAK *et al.*,

2020).

Portanto, as hipóteses do presente estudo foram que, a expressão gênica dos componentes do SRA é modulada de maneira diferente em sujeitos positivos ou negativos para a COVID-19, diferindo ainda quanto às comorbidades associadas e medicamentos atuantes na cascata de eventos bioquímicos do SRA utilizados previamente o diagnóstico.

E pacientes que fazem uso de bloqueadores do receptor AT1 da Ang II ou inibidores da ECA, previamente ao diagnóstico da COVID-19, possuem desenvolvimento clínico menos favorável dos sintomas relacionados à COVID-19 em comparação àqueles que não fazem o uso, devido à maior disponibilidade de ECA2 nos pacientes em tratamento com estas drogas, colaborando dessa forma com a tomada de decisões médicas, se esses pacientes, que fazem uso de medicamentos atuantes no SRA, devem parar ou não de tomar esses medicamentos uma vez que positivaram para o SARS-CoV 2.

OBJETIVOS

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, Enner et al. Investigating spatiotemporal patterns of the COVID-19 in São Paulo State, Brazil. **medRxiv**, 2020.

ALEEM, Abdul; SAMAD, Abdul Bari Akbar; SLENKER, Amy K. Emerging variants of SARS-CoV-2 and novel therapeutics against coronavirus (COVID-19). In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2022.

BARAL, Ranu et al. Association between renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors and clinical outcomes in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **JAMA network open**, v. 4, n. 3, p. e213594-e213594, 2021.

BENIGNI, Ariela; CASSIS, Paola; REMUZZI, Giuseppe. Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. **EMBO molecular medicine**, v. 2, n. 7, p. 247-257, 2010.

CANO, Isadora Prado et al. Losartan and isoproterenol promote alterations in the local renin-angiotensin system of rat salivary glands. **PLoS One**, v. 14, n. 5, p. e0217030, 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (US). Science Brief: Evidence Used to Update the List of Underlying Medical Conditions Associated with Higher Risk for Severe COVID-19

CLARKE, Nicola E. et al. Epigenetic regulation of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) by SIRT1 under conditions of cell energy stress. **Clinical Science**, v. 126, n. 7, p. 507-516, 2014.

COVID-19 Investigation Team. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. **Nat Med**. 2020.

CODO, Ana Campos et al. Elevated glucose levels favor SARS-CoV-2 infection and monocyte response through a HIF-1 α /glycolysis-dependent axis. **Cell metabolism**, v. 32, n. 3, p. 437-446. e5, 2020.

CUI, Jie; LI, Fang; SHI, Zheng-Li. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature reviews microbiology**, v. 17, n. 3, p. 181-192, 2019.

DE ALMEIDA, Gabriel Berg et al. Two hundred days of Covid-19 in São Paulo state, Brazil. **Epidemiology & Infection**, v. 148, 2020.

DE SOUSA, Jemilly Ferreira et al. Os efeitos da COVID-19 em pacientes com hipertensão arterial sistêmica: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e33711427282-e33711427282, 2022.

DE SOUZA, Dilma do Socorro Moraes et al. NA COVID-19 É REAL A NÃO

SUSPENSÃO DOS INIBIDORES DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA?. **Rev Bras Hipertens**, v. 28, n. 1, p. 20-6, 2021.

DENG, You-ping et al. Association of Hypertension with Severity and Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China: a single-centered, retrospective study. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 117, p. 911-921, 2021.

DONG, Ensheng; DU, Hongru; GARDNER, Lauren. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. **The Lancet infectious diseases**, v. 20, n. 5, p. 533-534, 2020.

DOS SANTOS DIAS, Giselle et al. Fatores de risco associados à Hipertensão Arterial entre adultos no Brasil: uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 962-977, 2021.

DU, Yanbin et al. Hypertension is a clinically important risk factor for critical illness and mortality in COVID-19: A meta-analysis. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 31, n. 3, p. 745-755, 2021.

ESLER, Murray; ESLER, Danielle. Can angiotensin receptor-blocking drugs perhaps be harmful in the COVID-19 pandemic?. **Journal of hypertension**, v. 38, n. 5, p. 781-782, 2020.

FORTALEZA, Carlos Magno Castelo Branco et al. The use of health geography modeling to understand early dispersion of COVID-19 in São Paulo, Brazil. **PloS one**, v. 16, n. 1, p. e0245051, 2021.

FYHRQUIST, Frej; SAIJONMAA, Outi. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of internal medicine**, v. 264, n. 3, p. 224-236, 2008.

GASMI, Amin et al. Interrelations between COVID-19 and other disorders. **Clinical Immunology**, v. 224, p. 108651, 2021.

GONZALES, Pedro Luiz da Veiga; SOUZA, Edvaldo da Silva. Principais complicações relacionadas à infecção por Sars-CoV-2. 2020.

GORBALENYA, Alexander E. et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses—a statement of the Coronavirus Study Group. **BioRxiv**, 2020.

GUAN, W. J.; NI, Z. Y.; HU, Y. Hui DSC, Du B, Li LJ, Zeng G, Yuen KY, Chen RC, Tang CL, Wang T, Chen PY, Xiang J, Li SY, Wang JJ, Liang ZJ, Peng YX, Wei L, Liu Y, Hu YH, Peng P, Wang JM, Liu JY, Cheng Z, Li G, Zheng ZJ, Qiu SQ, Luo J, Ye CJ, Zhu SY, Zhong NS. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. **N Engl J Med**, 2020.

GUO, Yan-Rong et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status.

Military medical research, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2020.

GURWITZ, David. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. **Drug development research**, v. 81, n. 5, p. 537-540, 2020.

HALLOW, K. M.; DAVE, I. RAAS blockade and COVID-19: Mechanistic Modeling of mas and AT1 Receptor Occupancy as Indicators of Pro-and Anti-Inflammatory Balance. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, 2021.

HAMMING, Inge et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 203, n. 2, p. 631-637, 2004.

KLEINE-WEBER, Hannah et al. Functional analysis of potential cleavage sites in the MERS-coronavirus spike protein. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

KONTOPANTELIS, Evangelos et al. Excess deaths from COVID-19 and other causes by region, neighbourhood deprivation level and place of death during the first 30 weeks of the pandemic in England and Wales: A retrospective registry study. **The Lancet Regional Health-Europe**, v. 7, p. 100144, 2021.

HOFFMANN, Markus et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **cell**, v. 181, n. 2, p. 271-280. e8, 2020.

HUANG, Chaolin et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

INGRAHAM, Nicholas E. et al. Understanding the renin–angiotensin–aldosterone–SARS-CoV axis: a comprehensive review. **European Respiratory Journal**, v. 56, n. 1, 2020.

JACKSON, Cody B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 23, n. 1, p. 3-20, 2022.

LI, Nanfang et al. Associations between genetic variations in the *FURIN* gene and hypertension. **BMC Medical Genetics**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2010.

LIANG, Fengxia; KUME, Shinji; KOYA, Daisuke. SIRT1 and insulin resistance. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 5, n. 7, p. 367-373, 2009.

LONG, Brit et al. Clinical update on COVID-19 for the emergency clinician: Presentation and evaluation. **The American Journal of Emergency Medicine**, 2022.

LOPES, Renato. D., et al. Continuing versus suspending angiotensin-converting

enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: Impact on adverse outcomes in hospitalized patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)-The BRACE CORONA Trial. **American Heart Journal**, v. 226, p.49-59, 2020.

LORENZ, Camila et al. COVID-19 no estado de São Paulo: a evolução de uma pandemia. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 24, 2021.

LU, Hongzhou; STRATTON, Charles W.; TANG, Yi-Wei. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 4, p. 401, 2020.

LUKASSEN, Soeren et al. SARS-CoV-2 receptor ACE 2 and TMPRSS 2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. **The EMBO journal**, v. 39, n. 10, p. e105114, 2020.

MARTÍN, Unai; BACIGALUPE, Amaia; JIMÉNEZ CARRILLO, M. J. COVID-19 y género: certezas e incertidumbres en la monitorización de la pandemia. **Rev Esp Salud Publica [Internet]**, v. 95, p. 1-11, 2021.

MAHAMAT-SALEH, Yahya et al. Diabetes, hypertension, body mass index, smoking and COVID-19-related mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **BMJ open**, v. 11, n. 10, p. e052777, 2021.

MILLET, Jean Kaoru; WHITTAKER, Gary R. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. **Virus research**, v. 202, p. 120-134, 2015.

NASCIMENTO, Israel Júnior Borges do et al. Clinical characteristics and outcomes among Brazilian patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: an observational retrospective study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 138, p. 490-497, 2020.

PAPA, Guido et al. Furin cleavage of SARS-CoV-2 Spike promotes but is not essential for infection and cell-cell fusion. **PLoS pathogens**, v. 17, n. 1, p. e1009246, 2021.

PATHANGEY, Girish et al. Angiotensin-converting enzyme 2 and COVID-19: patients, comorbidities, and therapies. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 320, n. 3, p. L301-L330, 2021.

PEACOCK, Thomas P. et al. The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 spike protein is required for transmission in ferrets. **Nature microbiology**, v. 6, n. 7, p. 899-909, 2021.

PECKHAM, Hannah et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2020.

PINTO, Bruna GG et al. ACE2 expression is increased in the lungs of patients

with comorbidities associated with severe COVID-19. **The Journal of infectious diseases**, v. 222, n. 4, p. 556-563, 2020.

RIBEIRO, Ana Cristina; UEHARA, Sílvia Carla da Silva André. Hipertensão arterial sistêmica como fator de risco para a forma grave de covid-19: scoping review. **Revista de Saúde Pública**, v. 56, 2022.

RIBEIRO, José Márcio; FLORÊNCIO, Leonardo P. Bloqueio farmacológico do sistema renina-angiotensina-aldosterona: inibição da enzima de conversão e antagonismo do receptor AT1. **Rev Bras Hipertens**, v. 7, n. 3, p. 293-302, 2000.

SANTOS, Carlos F. et al. Functional local renin-angiotensin system in human and rat periodontal tissue. **PloS one**, v. 10, n. 8, p. e0134601, 2015.

SEADE. Boletim Completo do Novo Coronavírus no Estado de São Paulo. Disponível em: <https://www.seade.gov.br/coronavirus/#>. Acesso em: 31 jul. 2022.

SEMENZATO, Laura et al. Antihypertensive drugs and COVID-19 risk: a cohort study of 2 million hypertensive patients. **Hypertension**, v. 77, n. 3, p. 833-842, 2021.

SIMPSON, Kerryn L.; MCCLELLAN, Karen J. Losartan. **Drugs & aging**, v. 16, n. 3, p. 227-250, 2000.

SINGH, Manoj Kumar et al. A meta-analysis of comorbidities in COVID-19: Which diseases increase the susceptibility of SARS-CoV-2 infection?. **Computers in biology and medicine**, v. 130, p. 104219, 2021.

SUNGNAK, Waradon et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. **Nature medicine**, v. 26, n. 5, p. 681-687, 2020.

STECKELINGS, U. Muscha; SUMNERS, Colin. Correcting the imbalanced protective RAS in COVID-19 with angiotensin AT2-receptor agonists. **Clinical Science**, v. 134, n. 22, p. 2987-3006, 2020.

SZABO, Romano; BUGGE, Thomas H. Proteases de serina transmembrana tipo II no desenvolvimento e na doença. **A revista internacional de bioquímica e biologia celular**, v. 40, n. 6-7, pág. 1297-1316, 2008.

Takeda, M. Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein. **Microbiology and Immunology**, v. 66(1), p.15-23, 2022.

TADIC, Marijana et al. Hypertension and COVID-19: ongoing controversies. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, p. 639222, 2021.

TORRE-FUENTES, Laura et al. ACE2, TMPRSS2, and Furin variants and

SARS-CoV-2 infection in Madrid, Spain. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 2, p. 863-869, 2021.

VERDECCHIA, Paolo et al. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. **European journal of internal medicine**, v. 76, p. 14-20, 2020.

VITIELLO, A. et al. COVID-19 vaccines and decreased transmission of SARS-CoV-2. **Inflammopharmacology**, v. 29, n. 5, p. 1357-1360, 2021.

WANG, Haidong et al. Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: a systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020–21. **The Lancet**, v. 399, n. 10334, p. 1513-1536, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020**. World Health Organization, 2020.

XU, Hao et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. **International journal of oral science**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2020.

YAMADA, Willian Hideo Miashiro et al. Complicações da COVID-19 em portadores de hipertensão arterial sistêmica: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e52911528646-e52911528646, 2022.

ZENG, Baoqi et al. Effectiveness of COVID-19 vaccines against SARS-CoV-2 variants of concern: a systematic review and meta-analysis. **BMC medicine**, v. 20, n. 1, p. 1-15, 2022.

ZHOU, Peng et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **nature**, v. 579, n. 7798, p. 270-273, 2020.

ZHU, Na et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **N Engl J Med**, v. 382, p. 727-733, 2020.

ANEXOS