

Receptor angiotenzín konvertujúceho enzýmu 2 a COVID-19

Receptor of angiotensin-converting enzyme 2 and COVID-19

Péč, J. jr.¹, Péč, M. J.², Vorčáková, K.³, Hurtová, T.³, Stuller, F.⁴

¹Oddelenie intervenčnej kardiológie, Národný ústav srdcových a cievnych ochorení v Bratislave

²Prvá interná klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

³Klinika dermatovenerológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

⁴Súdnolekárske pracovisko Úradu pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou v Martine

korešpondencia: juraj.pec@gmail.com

Súhrn

Pandémia COVID-19 zasiahla ľudstvo a zdravotné systémy globálne. Vírusy ako SARS v roku 2002, MERS v roku 2012 a COVID-19, objavený v roku 2019, sú spôsobené koronavírusmi SARS-CoV, MERS-CoV a SARS-CoV-2. Pre lepšie pochopenie infekcie, imunitnej reakcie a liečby, najmä u ľudí s komorbiditami, sa zameriavame na angiotenzín konvertujúci enzým 2 (ACE2), ktorý je hlavný receptor pre vstup SARS-CoV-2 do buniek. ACE2 existuje v dvoch formách: plná dĺžka mACE2 na bunkových membránach a solubilná forma sACE2 v krvi. ACE2 je dôležitým terapeutickým cieľom v boji proti COVID-19, pričom ľudský rekombinantný ACE2 (hrACE2) môže potencionálne zabrániť vstupu vírusu do buniek. Napriek veľkému úsiliu stále nie je plne zodpovedané, ako kontrolovať hyperaktiváciu imunitného systému a zápal spôsobený SARS-CoV-2 a ako zamerať terapiu na ACE2.

Kľúčové slová: SARS-CoV-2, ACE2, viscerálne orgány, kardiovaskulárny systém, pľúca

Abstract

The COVID-19 pandemic has impacted humanity and healthcare systems globally. Viruses such as SARS in 2002, MERS in 2012, and COVID-19, discovered in 2019, are caused by coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2. To better understand the infection, immune response, and treatment, especially in people with comorbidities, we focus on the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), which SARS-CoV-2 uses to enter cells. ACE2 exists in two forms: full-length mACE2 on cell membranes and a soluble form sACE2 in the blood. ACE2 is an important therapeutic target in the fight against COVID-19, with recombinant ACE2 (hrACE2) potentially preventing the virus from entering cells. Despite significant efforts, it is still not fully understood how to control the hyperactivation of the immune system and inflammation caused by SARS-CoV-2 and how to target therapy on ACE2.

Key words: SARS-CoV-2, ACE2, visceral organs, cardiovascular system, lungs

Úvod

Pandémia COVID-19 výrazne zasiahla celé ľudstvo, pričom jej vplyv na zdravotné systémy bol enormný. Ochorenia ako SARS v roku 2002, MERS v roku 2012 a nedávno COVID-19, ktorý bol objavený v roku 2019 v čínskom meste Wuhan, sú spôsobené koronavírusmi SARS-CoV, MERS-CoV a SARS-CoV-2 [1]. Tieto vírusy sa prenášajú medzi ľuďmi vysokou rýchlosťou, čo z nich robí veľkú hrozbu pre spoločnosť a ekonomiku. Z tejto perspektívy je potrebné hlbšie pochopiť mechanizmus infekcie a zistiť, ako môžeme zabrániť hyperaktivácii imunitnej reakcie a aká liečba môže byť pacientom s ochorením COVID-19 poskytnutá, najmä pre ľudí

s početnými komorbiditami [2]. V tomto prehľadovom článku sa zameriavame na angiotenzín konvertujúci enzým 2 (ACE2), ktorý SARS-CoV-2 používa na vstup do ľudských buniek [3].

Existujú dve formy ACE2: plná dĺžka mACE2, ktorá sa nachádza na bunkových membránach, a solubilná forma sACE2, ktorá cirkuluje v krvi. mACE2 slúži ako receptor pre spike proteíny SARS-CoV-2, ktoré sú kľúčové pre infekciu hostiteľského druhu. Na druhej strane, sACE2 cirkuluje v nízkych koncentráciách a nemá membránové kotvy [4]. ACE2 hrá kľúčovú úlohu pri regulácii molekulárnych dráh, ktoré presahujú systém renín-angiotenzín-aldosterón (RAAS) a ktoré

boli doteraz prevažne ignorované. Úsilie smerujúce k plnému pochopeniu zložitých úloh ACE2 v udržiavaní fyziológie organizmu bude kľúčom k lepšiemu porozumeniu multisystémového ochorenia COVID-19 a pomôže nám vyvinúť lepšie terapie a diagnostické nástroje.

ACE2 hrá dôležitú úlohu pri udržiavaní fyziológie organizmu. ACE2 katalyzuje s vysokou účinnosťou konverziu vazokonstričného AngII na Ang1-7, ktorý sa viaže a aktivuje svoj vlastný sedem-transmembránový G-proteín viazaný receptor MAS, čím vykonáva protizápalové a proti-remodelovacie účinky. Interakcia medzi SARS-CoV-2 a ACE2 môže negatívne regulovať receptor, čo spôsobuje akumuláciu AngII, ktorá cez nepopulovanú RAAS aktiváciu prostredníctvom AngII/AT1R môže spôsobiť vazokonstrikciu, oxidačný stres, zápal, atrofiu a fibrózu.

Vstupné receptory buniek sú kľúčové faktory určujúce závažnosť infekcie konkrétnym vírusom. Napríklad CoV-NL63, SARS-CoV a SARS-CoV-2 používajú ACE2, ale CoV-NL63 vedie k miernemu ochoreniu dýchacích ciest pravdepodobne kvôli nízkej afinitnej interakcii s receptorom [5]. MERS-CoV sa na rozdiel od SARS-CoV-2 viaže na dipeptidyl peptidázu-4 (DPP4), ktorá hrá dôležitú úlohu v metabolizme glukózy, apoptóze a imunitnom systéme [6].

Biológia a tkanivová expresia ACE2 receptora

ACE2 bol prvýkrát identifikovaný v roku 2000 ako homológ ACE receptora, ktorý zdieľa 40 % identitu a 60 % podobnosť [7]. ACE2 sa nachádza na chromozóme X a presne na chromozómovej polohe Xp22. Skladá sa z 18 exónov a 20 intrónov, ktoré generujú 6 variantov. ACE2, pozostávajúci z 805 aminokyselín, má jedinú extracelulárnu N-terminálnu doménu obsahujúcu katalytické miesto, C-terminálnu membránovú kotvu a konzervovanú HEXXH zinkovú doménu [8].

Prekvapivo, analýza tkanivovej expresie ACE2 ukázala v experimentálnych modeloch, že jeho hladina v pľúcach je veľmi nízka, obmedzená hlavne na malú frakciu alveolárnych epiteliálnych buniek typu II [9]. Väčšina ľudí má však respiračné ťažkosti v reakcii na infekciu SARS-CoV-2, čo sa vysvetľuje uvoľňovaním zápalových cytokínov, ako sú interferóny, ktoré môžu zvýšiť expresiu ACE2 a zlepšiť infekciu. Ďalšie tkanivá s vysokou hladinou expresie ACE2 zahŕňajú tenké črevo, semenníky, obličky, srdcový sval, hrubé črevo a štítnu žľazu [10].

Od začiatku pandémie COVID-19 bola hypertenzia a diabetes spojené s vyšším rizikom úmrtnosti a počiatočné správy špekulovali, že inhibítory angiotenzín konvertujúceho enzýmu (ACEi) a blokátory angiotenzínových receptorov (ARBs), ktoré sú bežne používané ako terapeutické látky pre tieto ochorenia, by mohli zvyšovať expresiu ACE2, čím by sa zvýšilo riziko vážneho ochorenia. Viaceré dôkazy však túto hypotézu spochybnili, keď sa v rozsiahlych kohortných štúdiách ukázalo, že ACEi a ARBs nezvyšujú expresiu ACE2 a nie sú spojené so zvýšenou úmrtnosťou [11].

Zaujímavosťou je, že astma nebola hlásená ako rizikový faktor pre ochorenie COVID-19 a jeho progresiu. Kimura a kol. ukázali, že interleukín (IL)-13, cytokín zvýšený pri astme typu 2, znižuje hladinu ACE2 [12]. Ďalej Jackson a kol. preukázali negatívnu koreláciu medzi expresiou ACE2 a senzibilizáciou na alergény a astmou [13]. Peters a kol. zistili, že astmatici liečení inhalovanými kortikosteroidmi (ICS) mali nízku expresiu ACE2 v porovnaní s neliečenými subjektmi, čo naznačuje, že liečba ICS by mohla byť prediktorom zníženej náchylnosti na infekciu SARS-CoV-2 [14].

Posttranslačné modifikácie ACE2

ACE2 môže byť uvoľňovaný z bunkovej membrány rôznymi proteázami ako ADAM10, ADAM17 a TMPRSS2. Viazanie podjednotky S1 spike proteínu SARS-CoV-2 na receptor ACE2 spúšťa uvoľňovanie ACE2 ADAM17/*tumor necrosis factor-converting enzyme* (TACE), pričom vzniká solubilná forma sACE2, ktorá si zachováva svoju katalytickú aktivitu. Inhibítory TACE môžu znížiť vstup vírusu *in vitro* aj *in vivo*, čo demonštruje ich kľúčovú úlohu pri určovaní infekčnosti SARS-CoV a ich potenciálne použitie ako cieľov pre antivírusové terapie [15].

Orgánové komplikácie

Obličky exprimujú vysokú koncentráciu ACE2, TMPRSS2 a furínov. Zároveň zohrávajú dôležitú úlohu pri kontrolovaní krvného tlaku prostredníctvom rôznych mechanizmov, ako je RAAS [16]. SARS-CoV-2 sa môže šíriť po tele krvou, infikujúc orgány a tkanivá náchylné na prítomnosť alebo neprítomnosť receptorov potrebných pre vstup vírusu. Poškodenie obličiek nevzniká len priamym pôsobením vírusu, ale môže tiež vyplývať z nadmernej aktivity imunitného systému [17]. SARS-CoV-2 poškodzuje renálne tubuly tým, že indukuje infiltráciu makrofágov a komplementových proteínov, ako sú C3a a C5b-9, čo vedie k fibróze tkaniva. Toto poškodenie spôsobuje hromadenie odpadových látok v obličkách, čo má za následok rôzne multisystémové účinky [18]. Navyše, poškodenie obličiek vytvára nerovnováhu v osi ACE2/Ang 1-7/MasR, čo vedie k nerovnováhe v RAAS. Ak sa poškodenie obličiek vyskytne spolu s poškodením pľúc, vzniká hyperkapnická acidóza, ktorá prispieva k zhoršeniu multisystémového poškodenia [19]. Kumulatívne poškodenie spôsobené SARS-CoV-2 vedie k hromadeniu toxínov a organických odpadových látok. Ako ničí tkanivá, odpadové produkty vstupujú do krvného obehu, hromadia sa v obličkách už ohrozených vírusovou infekciou a hyperaktivovaným imunitným systémom [20]. To následne zhoršuje tento uzavretý kruh, než sa dosiahne kritický bod, kde množstvo toxínov a odpadov v organizme ohrozuje ďalšie tkanivá, čo nakoniec vyústi do zlyhania obličiek a/alebo pečene.

Keď SARS-CoV-2 dosiahne srdce, spôsobuje poškodenie myokardu, arytmie a zlyhanie srdca. Toto poškodenie môže byť spôsobené priamo vírusom alebo prehnanou imunitnou odpoveďou. Ľudia s ochorením srdca pred infekciou majú tendenciu mať vážnejšie príznaky alebo vyvinúť komplikácie počas a po ochorení COVID-19, vrátane vzniku hypoxémie, koagulopatií a zástavy srdca [21]. Počas infekcie uvoľňujú kardiomyocyty troponín a bolo preukázané, že koncentrácie troponínu korelujú so závažnosťou ochorenia a môžu byť považované za biomarker [22]. Synergicky, v dôsledku poškodenia srdca dochádza k poklesu krvného tlaku, čo vedie k aktivácii RAAS systému, ktorý následne spúšťa vazokonstrikciu, vaskulárny zápal a zvýšenie hladiny angiotenzínu 2, čo prispieva ku kardiovaskulárnym komplikáciám infikovaného jedinca [23]. Okrem toho bolo preukázané, že SARS-CoV-2 spôsobuje poruchy zrážanlivosti, čo vedie k hyperkoagulopatiám a tvorbe trombov, ktoré môžu spôsobiť embólie v rôznych orgánoch, čo následne vedie k odumieraniam tkanív alebo buniek, ktoré uvoľňujú toxíny [24].

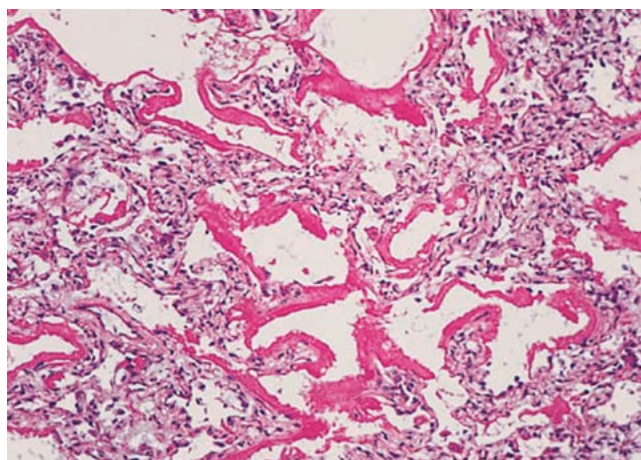
SARS-CoV-2 môže vyvolať rozsiahle metabolické účinky, vrátane inzulínovej rezistencie, dyslipidémie, diabetu a systémového zápalu [25]. Najmä zmeny v pankrease a pečeni u osôb infikovaných SARS-CoV-2 môžu viesť k stavu hyperglykémie v dôsledku metabolického stresu, čo vedie k rozvoju diabetes mellitus [26]. Presné mechanizmy, ktoré sú základom vzniku týchto komplikácií ešte neboli úplne objasnené. Jedným vysvetlením je, že infekcia SARS-CoV-2 v tukových bunkách môže spôsobiť zníženie citlivosti na inzulín, čo môže viesť k hyperglykémii a následne k zvýšeniu hladiny lipidov v tele, čo môže spôsobiť dyslipidémiu [27, 28]. To ovplyvňuje pankreas a pečeň, čo vedie k zhoršeniu funkcie týchto orgánov [29].

Plúcne komplikácie sú bežné počas a po infekcii SARS-CoV-2. Medzi najčastejšie komplikácie patria pľúcna fibróza, respiračné zlyhanie, pľúcna embólia a sekundárna bakteriálna pneumónia. Poškodenie pľúcneho epitelu je spôsobené buď priamym pôsobením vírusu, alebo účinkami imunitného systému v malom priestore [30]. Toto poškodenie vedie k pľúcnej fibróze, čo sťažuje dýchanie. Okrem toho sú rekrutované imunitné bunky, ktoré uvoľňujú TNF- α , IL-1 β , IFN- γ a GM-CSF [31]. Ďalej, keď dochádza k rekrutovaniu imunitných buniek na miesto poškodenia, tieto bunky tiež vylučujú proteolytické enzýmy, ako je matrix metaloproteináza (MMP), ktoré degradujú extracelulárnu matrix, čo spôsobuje uvoľňovanie cytokínov, TGF- β a chemoatraktantového proteínu (MCP) 1. To následne indukuje uvoľňovanie fibroblastov, kolagénu a komponentov bunkovej matrice, čo zhoršuje pľúcnu fibrózu [32] (Obr. 1, 2, 3).

Bolo zaznamenané, že ochorenie na COVID-19 spôsobuje gastrointestinálne komplikácie v dôsledku poškodenia epiteliálnych buniek čreva, čo aktivuje vrodenú imunitnú odpoveď. Aktívne dendritické bunky, makrofágy a NK bunky ciele na miesto infekcie vylučujú IL-1 β , IL-6 a TNF- α , zatiaľ čo aktívované CD4⁺ T a CD8⁺ T bunky produkujú IFN- γ spolu s ďalšími zápalovými cytokínmi, ktoré zhoršujú poškodenie tkaniva [33]. Ako sa poškodenie v čreve



Obr. 1 • Zvislý rez pľúcny krídlom s ochorením COVID-19. Makroskopický charakter patologických zmien v tkanive pľúc, ktoré nadobúda až vzhľad a kompaktnosť podobné mäsu, alebo hovädzej pečeni



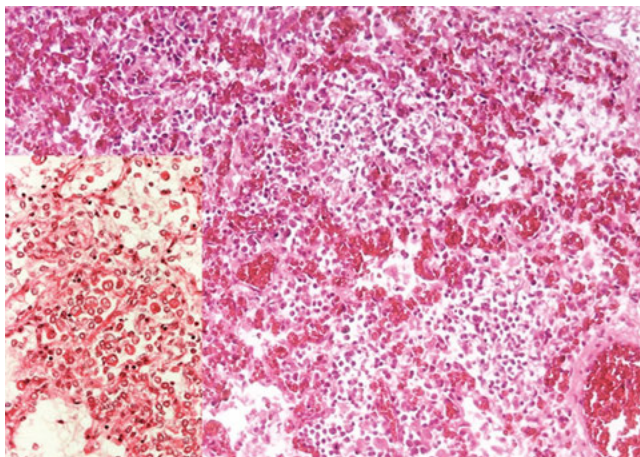
Obr. 2 • Mikroskopický obraz tkaniva pľúc s veľkými tmavými bunkami napadnutými vírusom COVID-19 a s hyalínymi membránami

zvyšuje, rastie aj úmrtnosť buniek, bunkové zmeny a patologické komplikácie, čo bráni absorpcii živín a zvyšuje črevnú priepustnosť, čo následne vedie k väčšej infiltrácii imunitných buniek, čím sa opakuje cyklus a poškodzujú sa gastrointestinálne slizničné bariéry [34]. To taktiež vedie k menšej reabsorpcii vody v obličkách a črevách, čo môže vysvetľovať pretrvávajúcu hnačku a zvýšené výživové poruchy, ktoré sa vyskytujú u pacientov s COVID-19. Navyše, intestinálne poškodenie zhoršuje gastrointestinálnu

motilitu, sekréciu tekutín a elektrolytov, čo prispieva k nevoľnosti, zvracaniu a abdominálnemu diskomfortu [35]. Poškodenie čriev spôsobuje, že makrofágy a T-lymfocyty sa presúvajú na miesto poškodenia a vylučujú IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ , CCL2, CCL5 a CXCL8, ktoré môžu synergicky pôsobiť na rekrutovanie ďalších zápalových buniek, čím sa zhoršuje črevný zápal [36].

ACE2 ako cieľ terapeutickkej stratégie proti SARS-CoV-2

ACE2 získal veľký záujem ako terapeutický cieľ v boji proti COVID-19. Bolo navrhnuté použitie ľudského rekombinantného ACE2 (hrACE2) proteínu na nasýtenie vírusového S-proteínu a tým zabrániť vstupu SARS-CoV-2 do buniek. Solubilný hrACE2 (shrACE2) si zachováva atraktívne fyziologické vlastnosti vďaka svojej schopnosti inaktivovať SARS-CoV-2 prítomný v extracelulárnom prostredí [37].



Obr. 3 • Ťažká forma intersticiálneho zápalu pľúc s výraznou hemoragickou zložkou

Záver

Od prvého výskytu v čínskom meste Wuhan sa SARS-CoV-2 rozšíril po celom svete. Rýchla miera adaptívnych mutácií v kombinácii s vysokou prenosnosťou robí koronavírusy pretrvávajúcou hrozbou, ktorá môže spôsobiť budúce pandémie.

Napriek množstvu vynaloženého času a úsilia, stále sme ďaleko od plného pochopenia, či sa hyperaktivácia imunitného systému a stav hyperzápalu spôsobený infekciou SARS-CoV-2 dá kontrolovať a či je možné zacieliť terapiu na ACE2.

Literatúra

1. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17(3):181-192. doi:10.1038/s41579-018-0118-9.
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020; 382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017.
3. Samavati L, Uhal BD. ACE2, Much More Than Just a Receptor for SARS-COV-2. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020; 10:317. Published 2020 Jun 5. doi:10.3389/fcimb.2020.00317.
4. Batlle D, Wysocki J, Satchell K. Soluble angiotensin-converting enzyme 2: a potential approach for coronavirus infection therapy? *Clin Sci (Lond).* 2020; 134(5):543-545. doi:10.1042/CS20200163.
5. Mathewson AC, Bishop A, Yao Y, et al. Interaction of severe acute respiratory syndrome-coronavirus and NL63 coronavirus spike proteins with angiotensin converting enzyme-2. *J Gen Virol.* 2008; 89(Pt 11):2741-2745. doi:10.1099/vir.0.2008/003962-0.
6. Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol.* 2020; 5(4):562-569. doi:10.1038/s41564-020-0688-y.
7. Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem.* 2000; 275(43):33238-33243. doi:10.1074/jbc.M002615200.
8. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res.* 2000; 87(5):E1-E9. doi:10.1161/01.res.87.5.e1.
9. Wang Y, Wang Y, Luo W, et al. A comprehensive investigation of the mRNA and protein level of ACE2, the putative receptor of SARS-CoV-2, in human tissues and blood cells. *Int J Med Sci.* 2020; 17(11):1522-1531. Published 2020 Jun 18. doi:10.7150/ijms.46695.
10. Zhuang MW, Cheng Y, Zhang J, et al. Increasing host cellular receptor-angiotensin-converting enzyme 2 expression by coronavirus may facilitate 2019-nCoV (or SARS-CoV-2) infection. *J Med Virol.* 2020; 92(11):2693-2701. doi:10.1002/jmv.26139.
11. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature.* 2020; 584(7821):430-436. doi:10.1038/s41586-020-2521-4.
12. Kimura H, Francisco D, Conway M, et al. Type 2 inflammation modulates ACE2 and TMPRSS2 in airway epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2020; 146(1):80-88.e8. doi:10.1016/j.jaci.2020.05.004.
13. Jackson DJ, Busse WW, Bacharier LB, et al. Association of respiratory allergy, asthma, and expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2. *J Allergy Clin Immunol.* 2020; 146(1):203-206.e3. doi:10.1016/j.jaci.2020.04.009.

14. Peters MC, Sajuthi S, Deford P, et al. COVID-19-related Genes in Sputum Cells in Asthma. Relationship to Demographic Features and Corticosteroids [published correction appears in *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 Dec 15; 202(12):1744-1746. doi: 10.1164/rccm.v202erratum7]. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020; 202(1):83-90. doi:10.1164/rccm.202003-0821OC.
15. Haga S, Nagata N, Okamura T, et al. TACE antagonists blocking ACE2 shedding caused by the spike protein of SARS-CoV are candidate antiviral compounds. *Antiviral Res*. 2010; 85(3):551-555. doi:10.1016/j.antiviral.2009.12.001.
16. Zhou L, Niu Z, Jiang X, et al. SARS-CoV-2 Targets by the pscRNA Profiling of ACE2, TMPRSS2 and Furin Proteases. *Science*. 2020; 23(11):101744. doi:10.1016/j.isci.2020.101744.
17. Wichmann D, Sperhake JP, Lütgehetmann M, et al. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19: A Prospective Cohort Study. *Ann Intern Med*. 2020; 173(4):268-277. doi:10.7326/M20-2003.
18. He W, Liu X, Hu B, et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 Infection-Induced Kidney Injury: A Literature Review. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022; 12:838213. Published 2022 Jun 14. doi:10.3389/fcimb.2022.838213.
19. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395(10234):1417-1418. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
20. Akwii RG, Sajib MS, Zahra FT, Mikelis CM. Role of Angiopoietin-2 in Vascular Physiology and Pathophysiology. *Cells*. 2019; 8(5):471. Published 2019 May 17. doi:10.3390/cells8050471.
21. Sato K, Sinclair JE, Sadeghirad H, Fraser JF, Short KR, Kulasinghe A. Cardiovascular disease in SARS-CoV-2 infection. *Clin Transl Immunology*. 2021; 10(9):e1343. Published 2021 Sep 7. doi:10.1002/cti2.1343.
22. Fernandez F, Vazquez-Muñoz M, Canals A, et al. Intrahospital supervised exercise training improves survival rate among hypertensive patients with COVID-19. *J Appl Physiol* (1985). 2023; 134(3):678-684. doi:10.1152/jappphysiol.00544.2022.
23. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395(10234):1417-1418. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
24. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study [published correction appears in *Lancet*. 2020 Mar 28; 395(10229):1038. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30606-1] [published correction appears in *Lancet*. 2020 Mar 28; 395(10229):1038. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30638-3]. *Lancet*. 2020; 395(10229):1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
25. Bornstein SR, Dalan R, Hopkins D, Mingrone G, Boehm BO. Endocrine and metabolic link to coronavirus infection. *Nat Rev Endocrinol*. 2020; 16(6):297-298. doi:10.1038/s41574-020-0353-9.
26. Unnikrishnan R, Misra A. Diabetes and COVID19: a bidirectional relationship. *Nutr Diabetes*. 2021; 11(1):21. Published 2021 Jun 23. doi:10.1038/s41387-021-00163-2.
27. Hussain A, Bhowmik B, do Vale Moreira NC. COVID-19 and diabetes: Knowledge in progress. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020; 162:108142. doi:10.1016/j.diabres.2020.108142.
28. Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, et al. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci*. 2021; 24(2):168-175. doi:10.1038/s41593-020-00758-5.
29. Guedj E, Champion JY, Dudouet P, et al. F-FDG brain PET hypometabolism in patients with long COVID. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2021; 48(9):2823-2833. doi:10.1007/s00259-021-05215-4.
30. She YX, Yu QY, Tang XX. Role of interleukins in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Cell Death Discov*. 2021; 7(1):52. Published 2021 Mar 15. doi:10.1038/s41420-021-00437-9.
31. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18):1708-1720. doi:10.1056/NEJMoa2002032.
32. Chen T, Wu D, Chen H, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study [published correction appears in *BMJ*. 2020 Mar 31; 368:m1295. doi: 10.1136/bmj.m1295]. *BMJ*. 2020; 368:m1091. Published 2020 Mar 26. doi:10.1136/bmj.m1091.
33. Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications. *Virus Res*. 2020; 285:198018. doi:10.1016/j.virusres.2020.198018.
34. He LH, Ren LF, Li JF, Wu YN, Li X, Zhang L. Intestinal Flora as a Potential Strategy to Fight SARS-CoV-2 Infection. *Front Microbiol*. 2020; 11:1388. Published 2020 Jun 9. doi:10.3389/fmicb.2020.01388.
35. Parasa S, Desai M, Thoguluva Chandrasekar V, et al. Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Faecal Viral Shedding in Patients With Coronavirus Disease 2019: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2020; 3(6):e2011335. Published 2020 Jun 1. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.11335.
36. Zuo T, Liu Q, Zhang F, et al. Depicting SARS-CoV-2 faecal viral activity in association with gut microbiota composition in patients with COVID-19. *Gut*. 2021; 70(2):276-284. doi:10.1136/gutjnl-2020-322294.
37. Carvajal JJ, García-Castillo V, Cuellar SV, et al. New insights into the pathogenesis of SARS-CoV-2 during and after the COVID-19 pandemic. *Front Immunol*. 2024; 15:1363572. Published 2024 Jun 7. doi:10.3389/fimmu.2024.1363572.