

MOLEKULARNI MEHANIZAM PATOGENOG DELOVANJA VIRUSA SARS-COV-2, ULOGA ACE2 RECEPTORA U GENERISANJU SURFAKTANTA I ODRŽANJU STABILNOSTI VELIKIH FUNKCIONALNIH POVRŠINA

Ljubiša Mihajlović (1), Milica Mihajlović (2), Vladan Mihajlović (3)

(1) AKADEMIJA TEHNIČKO VASPITAČKIH STUDIJA NIŠ; GENEINFO NIŠ; (2) CENTAR ZA FORENZIKU I PRIMENJENU MOLEKULARNU GENETIKU, BIOLOŠKOG FAKULTETA, UNIVERZITETA U BEOGRADU; (3) MEDICINSKI FAKULTET UNIVERZITETA U NIŠU

Sažetak: Virus SARS-CoV-2 uzrokuje COVID-19 vezivanjem za ACE2 receptor. SARS-CoV-2 se za razliku od ostalih korona virusa intenzivnije vezuje za ACE2 receptor. Ekspresija ACE2 receptora je posebno karakteristična za ćelije alveolarnog tipa 2, endotelne ćelije malih i velikih arterija i ćelije glatkih mišića arterija, enterocite tankog creva, Leidigove i Sertolijeve ćelije, proksimalne ćelije bubrežnih tubula i ćelija creva. Zajednička karakteristika ćelija, tkiva i organa, koji imaju visoku ekspresiju ACE2, je da imaju „veliku funkcionalnu površinu“. ACE2 receptor je kritičan za održavanje integriteta i stabilnosti „velikih funkcionalnih površina“ u tim organima. Stabilnost „velikih funkcionalnih površina“ ACE2 receptor realizuje produkcijom površinskih stabilizatora, surfaktanata. Uloga surfaktanata je stabilizacija i imunoprotekcija velikih funkcionalnih površina. Osobe sa manjom ekspresijom ACE2 receptora (gojazni, stariji, osobe sa komorbiditetima, muškarci) su podložnije COVID-19. Vezivanjem za ACE2 receptore, SARS-CoV-2 blokira produkciju surfaktanta u tolikoj meri da antigeni „velikih funkcionalnih površina“ postaju „vidljivi“ odbrambenom, imunološkom sistemu organizma. Tako nastaju upalne i druge simptomatske reakcije karakteristične za COVID-19. Odatle sledi, da je molekularni mehanizam patološkog dejstva virusa SARS-CoV-2 u slučaju COVID-19 najverovatnije uzrokovan inhibicijom ACE2 receptora i smanjenom produkcijom surfaktanta. Ostaju dalje provere u tom pravcu.

Ključne reči: Covid-19, SARS-CoV-2, ACE2, surfaktant, velike funkcionalne površine

Osetljive grupe na COVID-19 i komorbiditeti

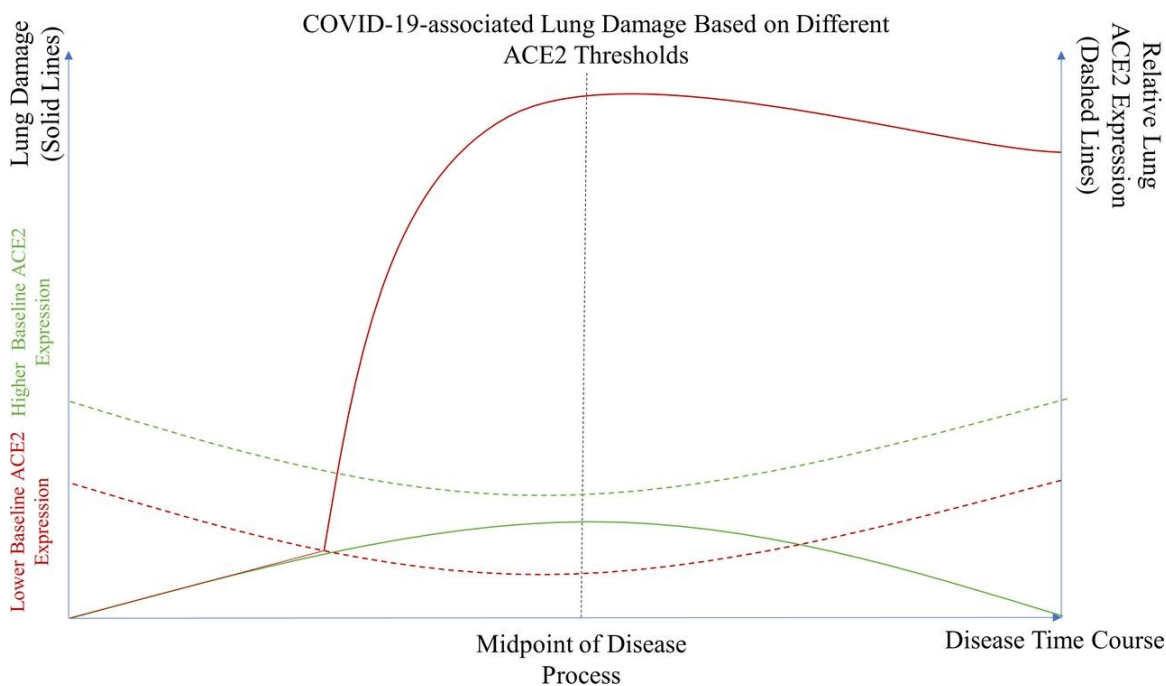
Stopa smrtnosti je u visokoj korelaciji sa godinama starosti, sa relativno niskom stopom za mlade i relativno visokim stopama među starijom populacijom [1, 2, 3]. Posebno su osetljive starije osobe od 65 praćene komorbiditetima (hipertenzija, dijabetes, gojaznost, kardiovaskularni bolesnici, bubrežni bolesnici). Većina onih koji umru od Covid-19 imaju već postojeća, osnovna stanja, uključujući hipertenziju, dijabetes melitus i kardiovaskularne bolesti [4]. Prema podacima iz marta iz Sjedinjenih Država, 89% hospitalizovanih imalo je već postojeće osnovno stanje [5]. Italijanski Institut Superiore de Sanita izvestio je da od 8,8% smrtnih slučajeva tamo gde su bili dostupni medicinski kartoni, 96,1% ljudi imalo najmanje jedan komorbiditet a prosek po pacijentu je bilo 3,4 bolesti [6]. Prema ovom izveštaju, najčešći komorbiditeti su hipertenzija (66% smrtnih slučajeva), dijabetes tipa 2 (29,8% smrtnih slučajeva), ishemijska bolest srca (27,6% smrtnih slučajeva), atrijska fibrilacija (23,1% smrtnih slučajeva) i hronična bubrežna insuficijencija (20,2% umrlih). Hipertenzija je snažno povezana sa upalom pluća u slučaju COVID-19 i jedan je od najčešćih komorbiditeta viđenih kod pacijenata sa ozbiljnom upalom pluća [7,8,9,10,11]. Takođe, gojaznost doprinosi povećanom zdravstvenom riziku od COVID-19 [12,13,14]. Takođe postoji i polni dimorfizam u pogledu osetljivosti na COVID-19. Muškarci su osetljiviji. Upravo, rani epidemiološki podaci za Kinu i Italiju su pokazali veću stopu smrtnosti kod muškaraca [15, 16,17]. Takođe, u Evropi je 57% zaraženih bilo muškarci, a 72% umrlih od Covid-19 bilo je muškaraca [18].

Smanjena ekspresija ACE2 receptora kod osetljivih grupa na COVID-19

Naime naučnici koji su analizirajući ACE2 u 30 različitih tkiva na hiljade pacijenata ustanovili značajno smanjenje ekspresije gena u starosnim grupama posebno nakon 60 godina [19]. To je u skladu sa

rezultatima iz prakse gde deca i mladi uglavnom asimptomatski podnose infekciju sa SARS-CoV2, a sa starošću se povećava verovatnoća da se uđe u teško stanje i nastane smrtni ishod. Isti naučnici koji su ustanovili da se tokom starenja smanjuje ekspresija ACE2 su ustanovili da i kod osoba sa dijabetesom tip 2 postoji značajno smanjenje ekspresije ACE2 gena [19]. Smanjenu glomerulna iu tubularna ekspresija ACE2 receptora je ustanovljena kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesom i bolestima bubrega [20]. Ekspresija ACE2 je posebno karakteristična za endotelijum bubrega i srca. ACE2 ekspresija u ovim organima je značajno niska kod modela spontano hipertenzivnih pacova. Sledi da je kod hipertenzije smanjena ekspresija ACE2 [21]. Pokazano je da se ekspresija ACE2 na životinjskim modelima smanjuje starenjem i niža je kod muškaraca nego kod žena, objašnjavajući tako fenomen da stariji muškarci imaju veću verovatnoću da podlegnu COVID-19 povezanih plućnih komplikacija [22,23]. Kako smo napred naveli posebno osetljive grupe sa hipertenzijom a poznato je da hipertenzija značajno smanjuje ekspresiju ACE2, zbog toga su pacijenti sa hipertenzijom skloniji da imaju nivo ACE2 ispod određenog praga, što ih čini ranjivijim za oštećenje pluća u slučaju COVID-19 [24]. Uostalom najbolji model Smanjene ekspresije ACE2 receptora preko određenog praga (tačka početka ARDS) je ključan proces za ozbiljnosti oštećenja pluća i potencijalne fibroze [25] (Slika 1).

Slika 1. Oštećenja pluća povezana sa SARS-CoV-2 na osnovu različite ekspresije ACE2 proteina.



Teorijski model koji ilustruje ozbiljnost oštećenja pluća kod pacijenta sa normalnom ili višom osnovnom ekspresijom (zelena puna linija) naspram onih koji imaju nižu osnovnu ekspresiju ACE2 receptora zbog određenih komorbiditeta ili faktora rizika (crvena puna linija). Pacijenti sa višom osnovnom ekspresijom ACE2 nikada ne ispunjavaju kritični prag ekspresije ACE2 (zelena tačkasta linija) i samim tim je manja verovatnoća da će doživeti značajna oštećenja pluća. Međutim, veća je verovatnoća da će pacijent sa nižom osnovnom ekspresijom ACE2 dostići prag ekspresije ACE2 (crvena tačkasta linija) i zbog toga pretrpeće teža oštećenja pluća.

Uloga ACE2 receptora sa aspekta patološkog delovanja SARS-CoV-2

Kada je Covid-19 u pitanju posebno su osetljivi organi u kojima postoji velika funkcionalna površina koju treba zaštititi od agresije imunološkog sistema. U tom smislu najbolji primer su pluća.

Bronhialna i alveolarna razgranatost. ACE2 se primarno eksprimira u ćelijama kluba (club cells) distalnih bronhiola i pneumocitama tipa 2 u alveolarnom epitelu. Obe vrste ćelija su uključene u Acute respiratory distress syndrome (ARDS). Ćelije kluba (club cells) luče rastvor sličan surfaktantu i proteinima koji štite od upale disajnih puteva (ataka imunološkog sistema) i oksidativnog stresa. Pneumociti tipa 2 su „branilac“ alveola i sintetišu, izlučuju i recikliraju sve komponente surfaktanta koji regulišu površinsku napetost alveola u plućima [28]. U prilog ovome ide i činjenica da su ACE2 receptori češće izraženi u ćelijama donjeg od gornjih respiratornih grana [27]. Ako pogledamo i ostale osetljive organe u slučaju COVID-19 zajednička karakteristika je velika funkcionalna površina. Tamo gde postoje, kanali i kanalići. Tako na primer, a jednoćelijskim RNK-sekvenciranjem pokazano je da se ACE2 prvenstveno eksprimira u alveolarnim ćelijama tipa II pluća, ćelijama proksimalnih tubula u bubregu, ćelijama miokrada, epitelnim ćelijama ileuma i jednjaka i uroteljalnim ćelijama mokraćne bešike [26]. Iz ovoga sledi zaštitna uloga ACE2 velikih površina od ataka imunološkog sistema. U prilog tome ide Akutni respiratorni distress sindrome (ARDS) koji je karakterističan za COVID-19. Biopsija pluća je ukazala na značajan inflamatorni odgovor i edem, poput onog koji se primećuje na životinjskim modelima sa smanjenom ekspresijom ACE2, kao i onima kod životinja zaraženih SARS-om i kod biopsije pluća ljudi zaraženih SARS-om [29,30]. Ovaj nalaz takođe korelira sa onima iz primeraka uzorka pluća zaraženih H5N1, pokazajući značajno oštećenje pluća usled prekomerne inflamatorne reakcije prekomernim oslobađanjem citokina [31].

Molekularna funkcija ACE2 receptora na ćelijskom nivou

ACE2 (angiotenzin konvertujući enzim 2) pripada porodici angiotenzin konvertujućih enzima dipeptidil karboksidipeptidaza. Između ostalih funkcija katalizuje cepanje angiotenzina I u angiotenzin 1-9, a angiotenzin II u vazodilatatorni angiotenzin 1-7. Značajan za renin-angiotenzin hormonski sistem koji je kritičan regulator blood volume, systemic vascular resistance, and thus cardiovascular homeostasis [32, 33]. Osim ovoga ACE2 uklanja C terminalne ostatke drugih vazoaktivnih peptida: neurotensin, kinetensin i des-Arg bradykinin [34,35]. Takođe cleaves (cepa) i druge biološki aktivne peptide kao što su: apelini, casomorphins i dynorphin A [35,36]. Važan je i za transport neutralnih aminokiselina u epitelnim ćelijama creva [37].

Ekspresija ACE2 receptora je posebno karakteristična za:

- alveolarne ćelije tip 2 [38,39,40],
- endotelne ćelije malih i velikih arterija, kao i glatke mišićne ćelije arterija [41],
- enterocite tankog creva, Leydigove i Sertolijeve ćelije [41],
- proksimalne tubule bubrega i tanko crevo [37],
- srce, bubreg, testis i gastrointestinalni sistem [34,42,43,44,45,46].

Zajednička karakteristika svih ovih ćelija, tkiva i organa sa izraženom ekspresijom ACE2 je značajna funkcionalna površinu. Postoje ogromne ćelijske, tkivne površine koje su bitne za realizaciju funkcije. Sa ovog aspekta jasno je da ACE2 ima značajnu ulogu u održavanju stabilnosti velikih funkcionalnih površina. U tom smislu njegova uloga u produkciji surfaktanta izuzetno značajna u realizaciji napred navedene funkcije. U tom pogledu posebno se ističu pluća sa njihovim velikim funkcionalnim površinama. Tako na primer U plućima ACE2 receptor se nalazi na vrhu plućnih ćelija poznatih kao ćelije alveolarnog epitela tipa 2 (AE2). Ove ćelije imaju važnu ulogu u stvaranju surfaktanta. Veruje se da plućni surfaktant reguliše površinski napon alveola u plućima sisara. Prema našim saznanjima, veruje se da ćelije ACE2 deluju kao imunoregulatorne ćelije [47]. Vezu između akutne povrede pluća praćeno inflamacijom, produkcije surfaktanta i ACE2 receptora odslikava eksperimentalni rad pacovima. Smanjena aktivnost ACE2 je direktno povezana sa smanjenom produkcijom surfaktanta [48]. O značaju surfaktanta proizvedenog u alveolarnim ćelijama pluća uloženi ACE2 i upalnih procesa pluća, kao i upotrebi sintetičkih i prirodnih surfaktanata u slučaju COVID-19 govore i autori [49].

Intenzivnim vezivanjem za ACE2 virus SARS-CoV-2 inhibira produkciju surfaktanata

Kao što je više puta ponovljeno virus SARS-CoV-2 koji je u osnovi pandemije COVID-19 se razlikuje od ostalih SARS virusa po tome što je usled novonastale mutacije u delu S proteina stekao sposobnost intenzivnijeg vezivanja za ACE2 receptor kao ulazna vrata za infekciju ćelije. Iz toga sledi da je on novonastalom promenom stekao uslov patogenosti a realizacije svoju patogenost intenzivnim vezivanjem i inaktivacijom ACE2 receptora. Potvrda ovoga je nefunkcionisanje ACE2 receptora usled mutacije ACE2 gena. Kod osoba sa mutiranim i nefunkcionalnim ACE2 genom nastaje Severe acute

respiratory syndrome (SARS) kao i sve ono što je tipično i prati COVID-19 [50,56]. Osim Severe acute respiratory syndrome (SARS) tipično za COVID-19 nefunkcionisanje ACE2 receptora povezano je i sa: hipertenzijom, bolestima bubrega, miokardijalnoj infarktaciji, dijabetes melitus, bolestima krvnih sudova [56]. Svuda tamo gde su velike funkcionalne površine, gde su u pitanju kanali. A površ svega ovo su sve komorbiditeti koji su u vezi sa COVID-19. Iz tog razloga u budućnosti poželjno je izučavati ulogu ACE2 receptora sa aspekte produkcije surfaktanta na hronična oboljenja ovog tipa. SARS-CoV-2 intenzivnim vezivanjem za ACE2 može suzbiti proizvodnju surfaktanta u ćelijama ćelije alveolarnog epitela tipa 2 (AE2) [47]. Da je klinička slika upalnih procesa na nivou pluća SARS and ARDS posledica smanjene produkcije surfaktanta je takođe mutacija, odnosno nefunkcionisanje gena odgovornih za produkciju pojedinih komponenti surfaktanta SFTPA, SFTPB, SFTBC, SFTBD, SFTA2, SFTA3. Posledica je ista kao i u slučaju inhibicije ACE2 receptora intenzivnim vezivanjem SARS-CoV-2 virusa. Nastaje Respiratory Distress Syndrome in Premature Infants Pulmonary Fibrosis, Interstitial Pneumonia [51,52,53,54,55]. Iz svega napred sledi da nefunkcionisanje ACE2 receptora, bilo intenzivnim vezivanjem SARS-CoV-2 ili njegovom mutacijom, kao i nefunkcionisanje odgovornih gena za sintezu pojedinih komponenti surfaktanta ima istu posledicu kada su u pitanju oštećenja na nivou pluća a nije isključeno i na nivou drugih organa SARS odnosno ARDS. Odavde sledi da molekularno mesto realizacije patološkog efekta virusa SARS-CoV-2 je vezana za održavanje stabilnosti površinski aktivnih komponenti, odnosno konkretno u ovom slučaju za inhibiciju produkcije surfaktanta.

Uloga surfaktanta u stabilizaciji velikih funkcionalnih površina i imunoprotektivna uloga

Kada su u pitanju velike funkcionalne površine surfaktanti imaju dvostruku ulogu: smanjenje površinskog napona i imunoprotektivnu ulogu. To su dve oprečne funkcije. Surfaktant sa svojim fizičko-hemijskim karakteristikama treba da istovremeno obezbedi biohemijsku funkcionalnost velikih površina ali istovremeno da štiti velike površine i njihove antigenske specifičnosti od sistemskog imuniteta. Iz tog razloga je hemijski sastav surfaktanta izuzetno značajan ali i izuzetno ranjiv. Svaka promena sastava i strukture ima sistemski značaj. Posebno za organe gde se funkcija realizuje na bazi velikih funkcionalnih površina. Kao što su mali krvni sudovi, grane i alveole pluća, nefronske cevčice bubrega, gastrointestinalni trakt, pa i krvne pločice. Jedan od značajnih dokaza molekularnog mehanizma patogenog delovanja virusa SARS-CoV-2 posredstvom blokade ACE2 receptora i inhibicije produkcije surfaktanta su osetljive grupe u slučaju COVID-19. U prvom redu osobe sa hipertenzijom, kardiovaskularni bolesnici, osobe sa opstruktivnim plućima, bubrežni bolesnici, starije osobe (smanjena elastičnost, krvnih sudova i disajnih puteva. U svim ovim slučajevima u osnovi komorbiditeta je funkcionalnos velikih funkcionalnih površina. Surfaktant je bitan na svim velikim funkcionalnim površinama, ali su u tom smislu su posebno ranjiva pluća [57,58]. Jer za razmenu gasova je neophodna ogroman funkcionalna površina, funkcionalna površina koja će obezbediti interakciju dve sredine gasovite i tečne [59,60] ali istovremeno ta površina nesme biti iritabilna za sistemski imunitet [61,62]. Jer nikako nesme da se naprave lokalni inflamatorni procesi koji će iritirati veliki sistemski imunitet na reakciju. Kada do toga dođe onda je to odgovor sistemskog imuniteta na otvorene površinske antigene pluća izuzetno buran. Nastaje SARS odnosno ADARS.

Molekularni mehanizam patološkog delovanja virusa SARS-CoV-2 sa aspekta vezivanja za ACE2 receptor i inicijacije produkcije surfaktanta

Nakon infekcije SARS-CoV-2 počinje trka sa vremenom: sa jedne strane umnožavanje virusa, a sa druge strane reakcija imunog sistema na prisustvo virusa. To je trka sa vremenom u produkciji i inhibiciji produkcije surfaktanta. O čemu se radi?

Umnožavanje virusa se realizuje preko ACE2 receptora to su njegova ulazna vrata. Ali sa umnožavanjem virusa sve je više virusa koji se vezuju za ACE2 receptore čime se inhibira aktivnost ACE2 receptora i smanjuje produkcija surfaktanta. Ako osoba ima veći broj aktivnih receptora potrebno je duže vreme da se virus umnoži i blokira kritičnu masu ACE2 receptora. To produženo vreme koristi imuni sistem i razvija se imunitet na SARS-CoV-2. Zato su osobe sa povećanom ekspresijom ACE2 otpornije na SARS-CoV-2. U ovim slučajevima se produžava neophodno vreme za reakciju imunog sistema i zato ove osobe ili imaju asimptomatske slučajeve ili imaju blažu reakciju. To je zelena puna linija kod predloženog modela (Slika 1.) Suprotno ovome, kod osoba sa smanjenom ekspresijom ACE2 receptora, starije osobe, komorbiditeti, gojazne osobe, nakon umnožavanja virusa u jednom trenutku se blokira

kritična masa ACE2 receptora i smanjuje se produkcija surfaktanta do te mere da pojedine ogromne funkcionalne površine postaju antigenski ogoljene, otvorene i iritabilne za sistemski imunološki sistem i nastaje ARDS ili SARS. To je prag o kome se govori u predloženom modelu (Slika 1). Kako su pluća u pogledu ogromne funkcionalne površine i značajnosti surfaktanta posebno osetljiva u tom pogledu, kada se ovaj prag pređe nastaje ARDS. Tada kreće borba za život i to je zapravo borba sa aktiviranim imunim sistemom vlastitog organizma. To je zapravo autoimuni odgovor organizma. Između ostalog zato su lekovi za supresiju imunološkog sistema koji se inače koriste za lečenje pojedinih autoimunih oboljenja pokazali dobre rezultate. U svakom slučaju, neophodna su dalja istraživanja u ovom pravcu kako bi se u potpunosti razjasnili molekularni mehanizmi patološkog delovanja virusa SARS-CoV-2.

REFERENCE:

1. Poyiadji N, Shahin G, Noujaim D, Stone M, Patel S, Griffith B. "COVID-19-associated Acute Hemorrhagic Necrotizing Encephalopathy: Imaging Features". *Radiology*. 2020; 296 (2): E119–E120. doi:10.1148/radiol.2020201187. PMC 7233386. PMID 32228363.
2. "Living with Covid19". NIH Themed Review. National Institute for Health Research. 15 October 2020. doi:10.3310/themedreview_41169.
3. "How long does COVID-19 last?". UK COVID Symptom Study. 6 June 2020. Retrieved 15 October 2020. Available from: <https://covid.joinzoe.com/post/covid-long-term>
4. "The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19)". *China CDC Weekly*. 2020;2(8):113–122. doi:10.46234/ccdcw2020.032. ISSN 2096-7071. Retrieved 15 June 2020.
5. Hu Y, Sun J, Dai Z, Deng H, Li X, Huang Q, et al. "Prevalence and severity of corona virus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis". *Journal of Clinical Virology*. 2020;127: 104371. doi:10.1016/j.jcv.2020.104371. PMC 7195434. PMID 32315817.
6. Wang Y, Wang Y, Chen Y, Qin Q. "Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures". *Journal of Medical Virology*. 2020;92(6):568-576. doi:10.1002/jmv.25748. PMC 7228347. PMID 32134116.
7. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020;180(7):934-943. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.
8. Yang J, Zheng Y, Gou X, et al. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2020;94:91-95. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.017.
9. Zhang J-J, Dong X, Cao Y-Y, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy* 2020;75:1730–41.
10. Peng YD, Meng K, Guan HQ, et al. [Clinical characteristics and outcomes of 112 cardiovascular disease patients infected by 2019- nCoV]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* 2020;48:E004.
11. Emami A, Javanmardi F, Pirbonyeh N, et al. Prevalence of underlying diseases in hospitalized patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Arch Acad Emerg Med* 2020;8:e35.
12. Henry BM. "COVID-19, ECMO, and lymphopenia: a word of caution". *The Lancet Respiratory Medicine Elsevier*. 2020;8(4):e24. doi:10.1016/s2213-2600(20)30119-3. PMC 7118650. PMID 32178774.
13. "COVID-19 Treatment Guidelines". Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>. National Institutes of Health. Retrieved 18 January 2021./
14. Hsu, Jeremy. "Covid-19: What now for remdesivir?". *BMJ*. 2020;371:m4457. doi:10.1136/bmj.m4457. ISSN 1756-1833. PMID 33214186.
15. Alwan NA, Burgess RA, Ashworth S, Beale R, Bhadelia N, Bogaert D, et al. "Scientific consensus on the COVID-19 pandemic: we need to act now". *Lancet*. 2020;396(10260):e71–e72. doi:10.1016/S0140-6736(20)32153-X. PMC 7557300. PMID 33069277.
16. Meyerowitz-Katz G, Merone L. "A systematic review and meta-analysis of published research data on COVID-19 infection fatality rates". *International Journal of Infectious Diseases*. 2020;101: 138–148. doi:10.1016/j.ijid.2020.09.1464. PMC 7524446. PMID 33007452.
17. Zhang D, Hu M, Ji Q. "Financial markets under the global pandemic of COVID-19". *Finance Research Letters*. 2020;36:101528. Bibcode:2020CSFX...500043D. doi:10.1016/j.csfx.2020.100043. PMC 7402242. PMID 32837360.
18. "Global Research and Innovation Forum on COVID-19: Virtual Press Conference". World Health Organization. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/virtual-press-conference---2-july---update-on-covid-19-r-d.pdf>
19. Chen J, Jiang Q, Xia X, et al. Individual Variation of the SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Gene Expression and Regulation. *Aging Cell* 2020;19(7):e13168. doi: 10.1111/acer.13168.
20. Heather N. Reich, Gavin Y. Oudit, Josef M. Penninger, James W. Scholey and Andrew M. Herzenberg Decreased glomerular and tubular expression of ACE2 in patients with type 2 diabetes and kidney disease. 2008;74(12):1610-6. doi: 10.1038/ki.2008.497.
21. Gavin Y.Oudit Michael A.Crackower Peter H.Backx Josef M.Penninger The Role of ACE2 in Cardiovascular Physiology *Trends in Cardiovascular Medicine* 2003;13(3):93-101. [https://doi.org/10.1016/S1050-1738\(02\)00233-5](https://doi.org/10.1016/S1050-1738(02)00233-5)
22. Oelkers WK. Effects of estrogens and progestogens on the renin-angiotensin system and blood pressure. *Steroids* 1996;61:166–71.
23. Sampson AK, Moritz KM, Denton KM. Postnatal ontogeny of angiotensin receptors and ACE2 in male and female rats. *Gen Med* 2012;9:21–32.
24. Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature* 2002;417:822–8.

25. Chaudhry F, Lavandero S, Xie X, et al. Manipulation of ACE2 expression in COVID-19. *Open Heart* 2020;7:e001424. doi:10.1136/openhrt-2020-001424
26. Zou X, Chen K, Zou J, et al. Single-Cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med* 2020;14:185–92.
27. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020;581:465–9.
28. Bombardini T, Picano E. Angiotensin-Converting Enzyme 2 as the Molecular Bridge Between Epidemiologic and Clinical Features of COVID-19. *Can J Cardiol.* 2020;36(5):784.e1-784.e2. doi: 10.1016/j.cjca.2020.03.026. Epub 2020 Mar 29. PMID: 32299780; PMCID: PMC7118531.
29. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med* 2005;11:875–9.
30. Hsiao CH, Wu M-Z, Chen C-L, et al. Evolution of pulmonary pathology in severe acute respiratory syndrome. *J Formos Med Assoc* 2005;104:75–81.
31. Gu J, Xie Z, Gao Z, et al. H5N1 infection of the respiratory tract and beyond: a molecular pathology study. *Lancet* 2007;370:1137–45.
32. Wang W, McKinnie SM, Farhan M, Paul M, McDonald T, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2 Metabolizes and Partially Inactivates Pyr-Apelin-13 and Apelin-17: Physiological Effects in the Cardiovascular System. *Hypertension.* 2016;68(2):365–77. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06892. Epub 2016 May 23. PMID: 27217402.
33. Zisman LS, Keller RS, Weaver B, Lin Q, Speth R, et al. Increased angiotensin-(1-7)-forming activity in failing human heart ventricles: evidence for upregulation of the angiotensin-converting enzyme Homologue ACE2. *Circulation.* 2003;108(14):1707–12. doi: 10.1161/01.CIR.0000094734.67990.99. Epub 2003 Sep 22. PMID: 14504186.
34. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res.* 2000;87(5):E1-9. doi: 10.1161/01.res.87.5.e1. PMID: 10969042.
35. Vickers C, Hales P, Kaushik V, Dick L, Gavin J, et al. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. *J Biol Chem.* 2002;277(17):14838–43. doi: 10.1074/jbc.M200581200. Epub 2002 Jan 28. PMID: 11815627.
36. Wang W, McKinnie SM, Farhan M, Paul M, McDonald T, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2 Metabolizes and Partially Inactivates Pyr-Apelin-13 and Apelin-17: Physiological Effects in the Cardiovascular System. *Hypertension.* 2016;68(2):365–77. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06892. Epub 2016 May 23. PMID: 27217402.
37. Kowalczyk S, Bröer A, Tietze N, Vanslambrouck JM, Rasko JE, Bröer S. A protein complex in the brush-border membrane explains a Hartnup disorder allele. *FASEB J.* 2008;22(8):2880–7. doi: 10.1096/fj.08-107300. Epub 2008 Apr 18. PMID: 18424768.
38. Blume C, Jackson CL, Spalluto CM, Legebeke J, Nazlamova L, et al. A novel ACE2 isoform is expressed in human respiratory epithelia and is upregulated in response to interferons and RNA respiratory virus infection. *Nat Genet.* 2021;53(2):205–214. doi: 10.1038/s41588-020-00759-x. Epub 2021 Jan 11. PMID: 33432184.
39. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med.* 2020;14(2):185–192. doi: 10.1007/s11684-020-0754-0. Epub 2020 Mar 12. PMID: 32170560; PMCID: PMC7088738.
40. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol.* 2020;16(7):e9610. doi: 10.15252/msb.20209610. PMID: 32715618; PMCID: PMC7383091.
41. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* 2004;203(2):631–7. doi: 10.1002/path.1570. PMID: 15141377; PMCID: PMC7167720.
42. 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):33238–43. doi: 10.1074/jbc.M002615200. PMID: 10924499.
43. Douglas GC, O'Bryan MK, Hedger MP, Lee DK, Yarski MA, Smith AI, Lew RA. The novel angiotensin-converting enzyme (ACE) homolog, ACE2, is selectively expressed by adult Leydig cells of the testis. *Endocrinology.* 2004;145(10):4703–11. doi: 10.1210/en.2004-0443. Epub 2004 Jul 1. PMID: 15231706.
44. Harmer D, Gilbert M, Borman R, Clark KL. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Lett.* 2002;532(1-2):107–10. doi: 10.1016/s0014-5793(02)03640-2. PMID: 12459472.
45. Burrell LM, Risvanis J, Kubota E, Dean RG, MacDonald PS et al. Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans. *Eur Heart J.* 2005;26(4):369–75; discussion 322–4. doi: 10.1093/eurheartj/ehi114. Epub 2005 Jan 25. PMID: 15671045.
46. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol.* 2020;16(7):e9610. doi: 10.15252/msb.20209610. PMID: 32715618; PMCID: PMC7383091.
47. Takano H. Pulmonary surfactant itself must be a strong defender against SARS-CoV-2. *Med Hypotheses.* 2020;144:110020. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110020. Epub 2020 Jun 20.
48. Fandiño J, Toba L, Gonzalez-Nuñez M, Diz-Chaves Y, Gonzalez-Matías L, & Mallo F, Liraglutide increases surfactant proteins (SPA & SPB) and angiotensin-converting enzymes (ACE & ACE2) expression in a rat model of acute lung injury by bleomycin. *Endocrine Abstracts* 2016;41:GP99. DOI: 10.1530/endoabs.41.GP99.
49. Mirastachijski U, Dembinski R and Maedler K. Lung Surfactant for Pulmonary Barrier Restoration in Patients With COVID-19 Pneumonia. *Front. Med.* 2020;7:254. doi: 10.3389/fmed.2020.00254
50. Severe acute respiratory syndrome (SARS). Available from: https://www.malacards.org/card/severe_acute_respiratory_syndrome
51. Respiratory Distress Syndrome in Premature Infants. Available from: https://www.malacards.org/card/respiratory_distress_syndrome_in_premature_infants

52. Surfactant Metabolism Dysfunction, Pulmonary, 2. (SMDP2) Available from: https://www.malacards.org/card/surfactant_metabolism_dysfunction_pulmonary_2
53. Pulmonary Fibrosis, Idiopathic. Available from: https://www.malacards.org/card/pulmonary_fibrosis_idiopathic
54. Idiopathic Interstitial Pneumonia. Available from: https://www.malacards.org/card/idiopathic_interstitial_pneumonia
55. Neonatal respiratory distress. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>
56. ACE2 MalaCards. Available from: <https://www.malacards.org/search/results?query=ACE2>
57. Wright JR "Host Defense Functions of Pulmonary Surfactant". *Biology of the Neonate*. 2004;85(4):326-32. doi:10.1159/000078172. PMID 15211087. S2CID 25469141.
58. Nkadi PO, Merritt TA, Pillers De-Ann M. "An overview of pulmonary surfactant in the neonate: Genetics, metabolism, and the role of surfactant in health and disease". *Molecular Genetics and Metabolism*. 2009;97(2):95-101. doi:10.1016/j.ymgme.2009.01.015. ISSN 1096-7192. PMC 2880575. PMID 19299177.
59. Schurch S.; Lee M, Gehr P, Qanbar R, Schürch, S. "Pulmonary surfactant: Surface properties and function of alveolar and airway surfactant". *Pure and Applied Chemistry*. 1992; 64 (11): 209-20. doi:10.1351/pac199264111745. S2CID 97007574.
60. Veldhuizen R, Nag K, Orgeig S, Possmayer F. "The role of lipids in pulmonary surfactant". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 1998; 1408 (2-3): 90-108. doi:10.1016/S0925-4439(98)00061-1. PMID 9813256.
61. Wright , JR. "Host Defense Functions of Pulmonary Surfactant". *Biology of the Neonate*. 2004; 85 (4): 326-32. doi:10.1159/000078172. PMID 15211087. S2CID 25469141.
62. Nkadi PO, Merritt TA, Pillers De-Ann M. "An overview of pulmonary surfactant in the neonate: Genetics, metabolism, and the role of surfactant in health and disease". *Molecular Genetics and Metabolism*. 2009;97(2):95-101. doi:10.1016/j.ymgme.2009.01.015. ISSN 1096-7192. PMC 2880575. PMID 19299177