



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS DA COVID-19: UMA
ABORDAGEM MOLECULAR**

Trabalho submetido por
Hugo Filipe Pires da Gaia Torres
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS DA COVID 19: UMA
ABORDAGEM MOLECULAR**

Trabalho submetido por
Hugo Filipe Pires da Gaia Torres
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Carla Ascenso

novembro de 2021

DEDICATÓRIA

Aos meus avós que, independentemente de onde estiverem, sei que estão a olhar por mim. Dedico-vos inteiramente esta monografia porque sei que em alguns momentos foram vocês que me ajudaram a não desistir. Certamente estão orgulhosos do vosso neto!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha orientadora, Prof. Doutora Carla Ascenso, por ter aceite este desafio e ter-me ajudado a concluir esta monografia. Sem a sua ajuda e paciência nada deste trabalho teria sido concluído. Por isso, o meu mais sincero obrigado.

Seguidamente, quero agradecer aos meus pais e irmão, por me terem apoiado incondicionalmente durante todo este percurso académico. Foram sem dúvida o meu pilar para que tudo ocorresse nas melhores condições possíveis.

À minha namorada Catarina, pela extrema paciência que teve comigo, principalmente durante a realização desta monografia. Sem dúvida que se não fosses tu, não teria concluído esta etapa na minha vida.

A todos os Professores que ao longo do meu percurso académico transmitiram conhecimentos e experiências que certamente levo para a minha vida pessoal e profissional.

A todos os meus colegas de turma por todos os momentos passados. Em especial, agradeço à Inês e ao Nuno. Vocês foram fundamentais para o meu sucesso académico e todas as horas despendidas em trabalhos, apresentações e em preparações para avaliações valeram o esforço. Além de futuros colegas, ganhei amigos para a vida. Um muito obrigado.

Por último, mas não menos importante, a todos os meus amigos que, de qualquer forma, me apoiaram e estiveram comigo sempre.

Agradeço-vos por tudo!

RESUMO

No dia 31 de dezembro de 2019 o Centro de Controlo de Doenças Chinês reportou um conjunto de casos de pneumonia na cidade de Wuhan com etiologia desconhecida. Em janeiro de 2020, foi sequenciado e isolado o possível agente causador como sendo uma nova estirpe de coronavírus, denominada SARS-CoV-2 e, consequentemente, Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a epidemia causada por este vírus como um problema de saúde pública a nível internacional.

Os coronavírus pertencem à família *Coronaviridae*. Atualmente sabe-se que o SARS-CoV-2 é a sétima estirpe de coronavírus e a quarta pertencente ao género *Betacoronavirus* que afeta humanos.

O genoma do SARS-CoV-2 é uma molécula de ácido ribonucleico não segmentado de cadeia positiva com aproximadamente 30 mil bases. Este vírus caracteriza-se por apresentar quatro proteínas estruturais (*spike*, S, envelope, E, membrana, M, e nucleocápside, N) e dezasseis proteínas não estruturais (NSP, identificadas de 1 a 16). Todas estas proteínas desempenham funções importantes na patogénese da infeção do vírus.

O forte investimento na investigação e desenvolvimento de fármacos tendo como alvo proteínas que desempenham funções cruciais no ciclo de replicação do SARS-CoV-2, nomeadamente nos mecanismos de entrada e de replicação viral, ou fármacos que contribuam para a diminuição da resposta imune do hospedeiro, resultará na melhoria da eficácia terapêutica da COVID-19. Porém, é um processo moroso e incompatível com a urgência do atual estado pandémico. As estratégias terapêuticas para a COVID-19 recomendadas à data pela OMS são baseadas no reposicionamento de fármacos. Embora apresentem sucesso limitado, estes fármacos já comercializados com indicações para outras patologias, têm permitido algum controlo da progressão da severidade da doença.

Até ao dia 24 de setembro de 2021, a OMS publicou sete recomendações terapêuticas contra a COVID-19, das quais apenas três revelaram ter efeitos clínicos benéficos em doentes infetados pelo SARS-CoV-2. A utilização de corticosteroides sistémicos, de inibidores do recetor da interleucina 6 (tocilizumab e sarilumab) e de anticorpos monoclonais neutralizantes (casirivimab e imdevimab) mostraram ser opções eficazes no combate à pandemia da COVID-19.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, COVID-19, estratégias terapêuticas

ABSTRACT

On 31 December 2019, the Chinese Centre for Disease Control reported a cluster of pneumonia cases in Wuhan, China with unknown aetiology. In January 2020, the possible causative agent was sequenced and isolated as a new strain of coronavirus, named SARS-CoV-2 and consequently, World Health Organization (WHO) declared the epidemic caused by this virus as an international public health problem.

Coronaviruses belong to the *Coronaviridae* family. SARS-CoV-2 is now known to be the seventh coronavirus strain and the fourth belonging to the *Betacoronavirus* genus to affect humans.

The genome of SARS-CoV-2 is a non-segmented positive-stranded ribonucleic acid molecule of approximately 30 thousand bases. This virus is characterised by having four structural proteins (*spike*, S, envelope, E, membrane, M, and nucleocapsid, N) and sixteen non-structural proteins (NSP, identified from 1 to 16). All these proteins play important roles in the pathogenesis of virus infection.

The strong investment in research and development of drugs targeting proteins that play crucial roles in the SARS-CoV-2 replication cycle, namely in the viral entry and replication mechanisms, or drugs that contribute to the downregulation of the host immune response, will result in improved therapeutic efficacy of COVID-19. However, this is a lengthy process and incompatible with the urgency of the current pandemic state. The therapeutic strategies for COVID-19 recommended by WHO to date are based on drug repositioning. Although with limited success, these drugs, already marketed with indications for other diseases, have allowed some control of the progression of disease severity.

As of 24 September 2021, WHO has published seven therapeutic recommendations against COVID-19, of which only three have been shown to have beneficial clinical effects in patients infected by SARS-CoV-2. The use of systemic corticosteroids, interleukin 6 receptor inhibitors (tocilizumab and sarilumab) and neutralizing monoclonal antibodies (casirivimab and imdevimab) showed to be effective options against the COVID-19 pandemic.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, therapeutic strategies

ÍNDICE GERAL

RESUMO	1
ABSTRACT	2
ÍNDICE GERAL	3
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
I. INTRODUÇÃO	13
II. DESENVOLVIMENTO	17
1. PERSPETIVA HISTÓRICA DOS CORONAVÍRUS	17
2. CARACTERIZAÇÃO DO SARS-CoV-2	19
2.1. Características estruturais da partícula e do genoma viral	21
2.1.1. <i>Proteínas estruturais</i>	21
2.1.2. <i>Proteínas não estruturais</i>	25
2.2. Ciclo de replicação	27
2.3. Tropismo	28
2.4. Transmissão.....	30
2.4.1. <i>Transmissão direta</i>	30
2.4.2. <i>Transmissão indireta</i>	32
2.5. Patogénese da infeção	32
2.5.1. <i>A infeção em humanos</i>	32
2.5.2. <i>Efeitos da infeção na enzima conversora de angiotensina 2</i>	34
2.5.3. <i>O processo inflamatório associado à infeção</i>	36
2.5.4. <i>Imunopatogénese inflamatória</i>	37
2.5.5. <i>Resposta imune contra o SARS-CoV-2</i>	38
3. POTENCIAIS ALVOS TERAPÊUTICOS IDENTIFICADOS.....	41
3.1. Interação entre a proteína S e a ACE2	41
3.2. Via endocítica e processo de autofagia	43
3.3. Protease principal	43
3.4. Complexo replicação-transcrição	44
4. ABORDAGENS TERAPÊUTICAS APLICADAS NA ATUALIDADE	47
4.1. Corticosteroides sistêmicos	47
4.1.1. <i>Mecanismo de ação</i>	48

4.1.2.	<i>Aplicação na COVID-19</i>	49
4.2.	Remdesivir	50
4.2.1.	<i>Mecanismo de ação</i>	51
4.2.2.	<i>Aplicação na COVID-19</i>	53
4.3.	Lopinavir/ritonavir	53
4.3.1.	<i>Mecanismo de ação</i>	54
4.3.2.	<i>Aplicação na COVID-19</i>	55
4.4.	Hidroxicloroquina	56
4.4.1.	<i>Mecanismo de ação</i>	57
4.4.2.	<i>Inibição da atividade lisossomal e de autofagia</i>	57
4.4.3.	<i>Inibição de vias de sinalização</i>	59
4.4.4.	<i>Aplicação na COVID-19</i>	59
4.5.	Ivermectina	60
4.5.1.	<i>Mecanismo de ação</i>	62
4.5.2.	<i>Aplicação na COVID-19</i>	63
4.6.	Inibidores do recetor da interleucina 6	64
4.6.1.	<i>Mecanismo de ação</i>	65
4.6.2.	<i>Aplicação na COVID-19</i>	67
4.7.	Anticorpos monoclonais neutralizantes	68
4.7.1.	<i>Mecanismo de ação</i>	70
4.7.2.	<i>Aplicação na COVID-19</i>	71
5.	PERSPETIVAS FUTURAS	72
III.	CONCLUSÃO	75
IV.	BIBLIOGRAFIA	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Paineis da OMS sobre a COVID-19 até ao dia 4 de outubro de 2021. Disponível em https://covid19.who.int/	14
Figura 2 - Relatório de situação nº 582 de 5 de outubro de 2021 da DGS. Disponível em https://covid19.min-saude.pt/relatorio-de-situacao/	14
Figura 3 - Estrutura da partícula viral do SARS-CoV-2. Adaptado de Geng Li et al., 2020	15
Figura 4 - Origem e transmissão dos coronavírus humanos. As setas representadas a amarelo e vermelho indicam infeções moderadas e graves em humanos, respetivamente. HCoV, <i>Human Coronavirus</i> ; MERS-CoV, <i>Middle East respiratory syndrome coronavirus</i> ; SARS-CoV, <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus</i> ; SARS-CoV-2, <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i> . Adaptado de Mittal et al., 2020	18
Figura 5 - Classificação dos coronavírus: As sete estirpes conhecidas de coronavírus capazes de infectar humanos estão representadas a verde e vermelho. As estirpes representadas a vermelho utilizam como recetor hospedeiro a enzima conversora de angiotensina 2. Adaptado de Mittal et al., 2020.....	19
Figura 6 - Organização genómica do SARS-CoV-2. A organização genómica do SARS-CoV-2 mostra uma organização sequencial de genes não estruturais, genes estruturais e genes acessórios da seguinte forma: 5'-UTR-gene replicase-S-E-M-N-UTR-3' com os genes acessórios 3a, 3d, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 14 e 10 intercalados entre os genes estruturais. Adaptado de Yadav et al., 2021	20
Figura 7 - Estrutura trimérica da proteína S. Adaptado de Mittal et al., 2020	21
Figura 8 - Estrutura da proteína S obtida por crio-microscopia eletrónica. À esquerda está representada no seu estado fechado (PDB: 6VXX) e à direita no seu estado aberto (PDB: 6VYB). Adaptado de Wang et al., 2020	22
Figura 9 - Estrutura da proteína <i>spike</i> do SARS-CoV-2. Os diferentes domínios estão representados por cores diferentes. SS, sequência única; NTD, domínio N-terminal; RBD, domínio recetor de ligação; SD1, subdomínio 1; SD2, subdomínio 2; S1/S2, local de clivagem S1/S2; S2', local de clivagem S2'; FP, péptido de fusão; HR1, <i>heptad repeat 1</i> ; CH, hélice central; CD, domínio conector; HR2, <i>heptad repeat 2</i> ; TM, domínio transmembranar; CT, cauda citoplasmática. Os locais de clivagem estão indicados por setas. Adaptado de Wang et al., 2020	23
Figura 10 - Sequência proteica obtida através do genoma da proteína N do SARS-CoV-2 e respetivos domínios. Adaptado de Satarker & Nampoothiri, 2020	24

Figura 11 – Ciclo replicativo do SARS-CoV-2. As diferentes etapas do mecanismo de replicação do SARS-CoV-2 estão numeradas de (1) a (12): (1) ligação do vírus ao recetor enzima conversora de angiotensina 2; (2) entrada do vírus na célula; (3) internalização do vacúolo contendo o vírus; (4) fusão da membrana com o vírus; (5) libertação do vírus no citoplasma da célula hospedeira; (6) tradução do genoma para produzir as poliproteínas pp1a e pp1ab; (7) clivagem das poliproteínas pp1a e pp1ab e formação de 16 proteínas não estruturais maduras, NSP; (8) formação do complexo de replicação-transcrição; (9) replicação do genoma viral e transcrição das proteínas estruturais codificadas pelo ARNm; (10) tradução dos ARNm subgenómicos; (11) formação de um novo virião derivado do RER; (12) libertação do vírus da célula hospedeira. Adaptado de Robson et al., 2020..... 27

Figura 12 – Esquema da função da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) no sistema renina-angiotensina (RAS). A angiotensina I (Ang I) serve de substrato à enzima conversora de angiotensina (ACE) e é convertida em angiotensina II (Ang II). A ACE2 cataliza e inativa a Ang II e produz um péptido vasodilatador denominado angiotensina 1-7 (Ang 1-7) que se liga ao recetor Mas, induzindo vasodilatação. A seta representada a vermelho indica o local de clivagem da ACE. A seta representada a azul indica os locais de clivagem da ACE2. Adaptado de Kuba et al., 2010..... 28

Figura 13 - Expressão da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) no corpo humano. A ACE2 é expressa nas células de diversos órgãos, principalmente do aparelho respiratório, cardiovascular, renal, gastrointestinal e do sistema nervoso central. Adaptado de Gheblawi et al., 2020 29

Figura 14 - Transmissão aérea de partículas. Os aerossóis (partículas inferiores a cinco micrómetros) ficam suspensos no ar por períodos mais longos que as gotículas respiratórias (partículas superiores a cinco micrómetros) e expelidos para locais mais distantes. Adaptado de Tabatabaeizadeh, 2021..... 31

Figura 15 - Sintomas da COVID-19. Alguns dos sintomas mais comuns estão representados com a cor preta. Algumas das possíveis complicações estão representadas a vermelho. Adaptado de Abd El-Aziz & Stockand, 2020 33

Figura 15 - Sintomas da COVID-19. Alguns dos sintomas mais comuns estão representados com a cor preta. Algumas das possíveis complicações estão representadas a vermelho. Adaptado de Abd El-Aziz & Stockand, 2020 33

Figura 16 - Papel da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) na patogénese da *coronavirus disease* (COVID-19) e na resposta inflamatória. TNF- α , fator de necrose tumoral alfa; TNFR, recetor do fator de necrose tumoral alfa; IL-1 β , interleucina 1beta;

IL-6, interleucina 6; AT1R, recetor da angiotensina I; ADAM17, A desintegrina e metaloprotease 17; Ang II, Angiotensina II; Ang 1-7, angiotensina 1-7; ACE2, enzima conversora de angiotensina 2; rhACE2, enzima conversora de angiotensina 2 recombinante humana; TMPRSS2, Protease transmembranar serina 2; MasR, recetor Mas; ROS, espécies de oxigénio reativas. Adaptado de Gheblawi et al., 2020 35

Figura 17 - Infecção por SARS-CoV-2 e respetivo reconhecimento pelo sistema imunitário.

TLR3, recetor Toll-like 3; TLR4, recetor Toll-like 4; TLR7, recetor Toll-like 7; TLR8, recetor Toll-like 8; RIG-I, gene I induzível com ácido retinóico; MDA5, proteína 5 associada à diferenciação de melanoma; NF-kB, fator nuclear kB; IRF3, fator regulador 3 de interferão; IRF7, fator regulatório 7 de interferão; IFN-I, interferão tipo I; IFN-III, interferão tipo III; ISG, gene estimulado por interferão; JAK-STAT, via de sinalização Janus quinase-sinal transdutor e ativador da transcrição. Após reconhecimento do SARS-CoV-2 por vários recetores (TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, RIG-I e MDA5) ocorre uma produção de citocinas pró-inflamatórias e de IFN-I e IFN-III de forma a combater a infecção por SARS-CoV-2. Adaptado de Park & Iwasaki, 2020 40

Figura 18 - Mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira. TMPRSS2, Protease transmembranar serina 2. Adaptado de Shamsi et al., 2021 42

Figura 19 - Complexo de replicação-transcrição do SARS-CoV-2. m7GpppN, ligação trifosfato 5'-5'. As diferentes proteínas não estruturais (NSPs) estão representadas por cores diferentes. Primeiramente, A NSP13 “desenrola” a dupla cadeia de ácido ribonucleico (ARN). Seguidamente, a NSP12 replica e transcreve o genoma e os ácidos ribonucleicos mensageiros subgenómicos (sgmARNs). A NSP7 e NSP8 garantem normal atividade da NSP12. A NSP10 funciona como cofator da NSP14 formando um complexo que remove os nucleótidos incompatíveis incorporados. Adaptado de Robson et al., 2020 45

Figura 20 - Mecanismo de ação do Remdesivir. (1) o complexo azul representa o complexo de replicação-transcrição, os círculos verdes representam os resíduos da priming strand e os círculos incolores representam os resíduos da cadeia molde de ARN. (2) competição entre o remdesivir trifosfato e a molécula de ATP opostos ao nucleótio uracilo (U) na cadeia molde de ARN. O círculo vermelho representa o nucleótido incorporado no local +1. (3) inibição da síntese ARN após a incorporação de três novos nucleótidos. (4) a inibição da síntese de ARN pode ser superada na presença de elevadas quantidades de nucleótidos. ATP, adenosina trifosfato; RTP, remdesivir trifosfato. Adaptado de Gordon et al., 2020b 52

Figura 21 - Mecanismo de ação da combinação lopinavir/ritonavir. O lopinavir impede que a Protease do tipo 3-quimotripsina (3CL^{pro}) exerça a sua função, inibindo a clivagem na

poliproteína 1a e na poliproteína 1ab. O ritonavir inibe a metabolização do lopinavir, permitindo um aumento da sua biodisponibilidade. Adaptado de Uzunova et al., 2020 .. 55

Figura 22 - Mecanismo de ação da hidroxicloroquina e da cloroquina. HCQ, hidroxicloroquina; MHC classe II, complexo major de histocompatibilidade classe II. Adaptado de Schrezenmeier & Dörner, 2020 58

Figura 23 - Mecanismo de ação proposto da ivermectina no SARS-CoV-2. O IMP α / β 1 liga-se à integrase viral, translocando-os do citoplasma para dentro do núcleo onde este complexo é desestabilizado e a resposta antiviral da célula hospedeira é reprimida. Ao invés, a ivermectina liga-se ao IMP α / β 1 e inibe a ligação deste à proteína viral, inibindo a sua translocação para dentro do núcleo da célula hospedeira. Deste modo, a resposta antiviral mantém-se normal e eficiente. Adaptado de Caly et al., 2020..... 62

Figura 24 - Mecanismo de ação provável de inibidores do recetor da interleucina 6. SARS-CoV-2, Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; IL-6, interleucina 6; Recetor mIL-6, recetor de membrana da IL-6; Recetor sIL-6, recetor solúvel da IL-6; gp130, glicoproteína 130; JAK-STAT/NF- κ B/MAPK/IL-6, via de sinalização JAK-STAT ou MAPK/NF- κ B-IL-6. Adaptado de Chakraborty et al., 2020b 66

Figura 25 - Tipos de anticorpos monoclonais. Adaptado de Gklinos et al., 2021 69

Figura 26 - Caracterização da estratégia terapêutica com anticorpos monoclonais no SARS-CoV-2. IgG Anti-spike, Imunoglobulina G anti-spike; ACE2, enzima conversora de angiotensina 2; SARS-CoV-2, *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*. Adaptado de Tuccori et al., 2020 70

Figura 27 - Estrutura do complexo casirivimab-RBD-imdevimab obtida por crio-microscopia eletrónica. O RBD da proteína S está colorido a azul escuro; A região constante e a região variável do casirivimab estão coloridas a verde e ciano, respetivamente; e a região constante e a região variável do imdevimab estão coloridas a amarelo e vermelho, respetivamente. Adaptado de Hansen et al., 2020. 71

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Breve descrição das proteínas não estruturais do SARS-CoV-2. Adaptado de Yadav et al., 2021	26
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

2019-nCoV	Designação inicial do SARS-CoV-2 (“novo coronavírus”)
3CL^{pro} ou M^{pro}	Protease do tipo 3-quimotripsina, também referida como Protease Principal (do inglês <i>3-chymotrypsin-like protease</i> e <i>main protease</i> , respetivamente)
ACE	Enzima conversora da angiotensina (do inglês <i>Angiotensin-converting enzyme</i>)
ACE2	Enzima conversora da angiotensina 2 (do inglês <i>Angiotensin-converting enzyme 2</i>)
ADAM17	A desintegrina e metaloprotease 17 (do inglês <i>A disintegrin and metalloprotease 17</i>)
ALT	Alanina aminotransferase
Ang 1-7	Angiotensina 1-7
Ang I, Ang II	Angiotensina I e Angiotensina II, respetivamente
ARDS	Síndrome de disfunção respiratória aguda (do inglês <i>Acute respiratory distress syndrome</i>)
ARN	Ácido Ribonucleico
ARNm	Ácido Ribonucleico mensageiro
AT1R	Recetor da angiotensina II tipo 1 (do inglês <i>Angiotensin II type 1 receptor</i>)
ATP	Adenosina trifosfato
CD	Domínio conector (do inglês <i>Connector domain</i>)
CD8⁺	Linfócito T citotóxico
CDC	Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (do inglês <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>)
CH	Hélice central (do inglês <i>Central helix</i>)
COVID-19	Doença Coronavírus (do inglês <i>Coronavirus disease</i>)
CQ	Cloroquina
CT	Cauda citoplasmática (do inglês <i>Cytoplasmic tail</i>)
CTD	Domínio C-terminal (do inglês <i>C-terminal domain</i>)
CYP3A4	Citocromo P450-3A4
DGS	Direção-Geral da Saúde
DMV	Vesícula celular de membrana dupla (do inglês <i>Double membrane vesicle</i>)
EMA	Agência Europeia do Medicamento (do inglês <i>European Medicines Agency</i>)
FDA	(do inglês <i>Food and Drug Administration</i>)
FP	Péptido de fusão (do inglês <i>Fusion peptide</i>)
GM-CSF	Fator estimulador de colónias de granulócitos-macrófagos (do inglês <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>)
gp130	Glicoproteína 130 (do inglês <i>Glycoprotein 130</i>)
GpS	Glicoproteína S

HCoV	Coronavírus Humano (do inglês <i>Human coronavirus</i>)
HCQ	Hidroxicloroquina
HR1 e HR2	Padrão de repetição de sete aminoácidos 1 e 2, respectivamente (do inglês <i>Heptad repeat 1</i> e <i>Heptad repeat 2</i> , respectivamente)
ICTV	Comité Internacional de Taxonomia de Vírus (do inglês <i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>)
IFN	Interferão (ex. IFN-I, interferão tipo I)
IL	Interleucina
IMPα/β1	Importina alfa-beta 1
IP10	Proteína 10 induzida pelo interferão-gama (do inglês <i>Interferon gamma induced protein 10</i>)
IRF3	Fator regulador 3 de interferão (do inglês, <i>Interferon regulatory factor 3</i>)
ISGs	Genes estimulados por interferão (do inglês <i>Interferon-stimulated genes</i>)
IV	Intravenosa
JAK 1, JAK2	Janus cinase 1 e 2, respectivamente (do inglês <i>Janus kinase 1/2</i>)
JAK-STAT	Janus cinase – sinal de tradução e ativação da transcrição (do inglês <i>Janus kinase - signal transducer and activator of transcription</i>)
kb	mil bases
LDH	Lactato desidrogenase
mAb	Anticorpo monoclonal (do inglês <i>Monoclonal antibody</i>)
MAPK	(do inglês <i>Mitogen-activated protein kinase</i>)
MCP-1	Proteína 1 quimioatratadora de monócitos (do inglês <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>)
MDA5	Proteína 5 associada à diferenciação de melanoma (do inglês <i>Melanoma differentiation-associated protein 5</i>)
MERS-CoV	Síndrome respiratória do Médio Oriente por coronavírus (do inglês <i>Middle East respiratory syndrome coronavirus</i>)
MHC II	Complexo major de histocompatibilidade de classe II (do inglês <i>Major histocompatibility complex class II</i>)
mIL-6R	Recetor de membrana da interleucina 6 (do inglês <i>Membrane IL-6 receptor</i>)
MIP1α	Proteína inflamatória de macrófagos 1 alfa (do inglês <i>Macrophage inflammatory protein 1 alpha</i>)
NF-kB	Fator nuclear kB (do inglês <i>Nuclear factor kappa B</i>)
NSP	Proteína não estrutural (do inglês <i>Nonstructural protein</i>)
NTD	Domínio N-terminal (do inglês <i>N-terminal domain</i>)
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORF	(do inglês <i>Open reading frame</i>)
PAMP	Padrão molecular associado a agentes patogénicos (do inglês <i>Pathogen-associated molecular pattern</i>)
PCR	Proteína C-reativa
PHB1, PHB2	Pro-hibitinas 1 e 2, respectivamente

PL^{pro}	Protease do tipo papaína (do inglês <i>Papain-like protease</i>)
pp1a, pp1ab	Poliproteínas virais que, por clivagem, originam proteínas não estruturais, NSP
Proteína E	Proteína de <u>E</u> nvelope (proteína estrutural do vírus)
Proteína M	Proteína de <u>M</u> embrana (proteína estrutural do vírus)
Proteína N	Proteína da <u>N</u> ucleocápside (proteína estrutural do vírus)
Proteína S	Proteína <i>S</i> pike (proteína estrutural do vírus)
PRR	Recetor de reconhecimento de padrão (do inglês <i>Pattern recognition receptor</i>)
RAS	Sistema renina-angiotensina (do inglês <i>Renin-angiotensin system</i>)
RBD	Domínio de ligação ao recetor (do inglês <i>Receptor binding domain</i>)
RBM	Motivo/padrão de ligação ao recetor (do inglês <i>Receptor binding motif</i>)
RdRp	ARN polimerase dependente de ARN (do inglês <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>)
RER	Retículo endoplasmático rugoso
RIG-I	Gene I induzido por ácido retinóico (do inglês <i>Retinoic acid-inducible gene I</i>)
RLR	Recetor do tipo gene I induzido por ácido retinóico (do inglês <i>RIG-I-like receptor</i>)
RMP	Remdesivir monofosfato (do inglês <i>Remdesivir monophosphate</i>)
RNP	Ribonucleoproteína
RTC	Complexo Replicação-Transcrição (do inglês <i>Replication-transcription complex</i>)
RTP	Remdesivir trifosfato (do inglês <i>Remdesivir triphosphate</i>)
S1 e S2	Subunidades funcionais da proteína S (subunidades 1 e 2, respetivamente)
sACE2	Enzima conversora da angiotensina 2 na sua forma solúvel (do inglês <i>Soluble angiotensin-converting enzyme 2</i>)
SARS-CoV	Síndrome respiratória aguda grave por coronavírus (do inglês <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus</i>)
SARS-CoV-2	Síndrome respiratória aguda grave 2 por coronavírus (do inglês <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>)
sIL-6R	Recetor solúvel de interleucina 6 (do inglês <i>Soluble IL-6 receptor</i>)
Th	Linfócito <u>T</u> helper
TLR	Recetor do tipo Toll (do inglês <i>Toll-like receptor</i>)
TM	Domínio transmembranar (do inglês <i>Transmembrane domain</i>)
TMPRSS2	Protease de serina transmembranar 2 (do inglês <i>Transmembrane protease serine 2</i>)
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa (do inglês <i>Tumor necrosis factor alpha</i>)
TRI, TRS	Trato Respiratório Inferior e Superior, respetivamente
UTR	Região não traduzida (do inglês <i>Untranslated region</i>)
VHC	Vírus da hepatite C
VIH	Vírus da imunodeficiência humana

I. INTRODUÇÃO

No dia 31 de dezembro de 2019, o Centro de Controlo de Doenças Chinês reportou um conjunto de casos graves de pneumonia na cidade de Wuhan com etiologia desconhecida (Grifoni et al., 2020). Durante as primeiras semanas de epidemia em Wuhan, foi estabelecida uma relação entre os primeiros casos de pneumonia e o *Wuhan Huanan Seafood Wholesale Market*, suspeitando-se de uma possível transmissão zoonótica (Huang et al., 2020; World Health Organization, 2021). Estudos retrospectivos identificaram mais casos em dezembro de 2019, porém não relacionados com os relatados do mercado de Huanan (Nishiura et al., 2020).

Em janeiro de 2020, foi sequenciado e isolado o possível agente causador da epidemia (Wu et al., 2020). Os resultados demonstraram tratar-se de um vírus de ácido ribonucleico (ARN) não segmentado de cadeia positiva pertencente à família *Coronaviridae* com elevada homologia a uma estirpe de coronavírus anteriormente identificada por *severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV) (Wu et al., 2020). Consequentemente, o agente causador do que veio a evoluir para uma doença pandémica foi designado por *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2) e a doença por ele causada *coronavirus disease* (COVID-19).

No dia 30 de janeiro de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a epidemia causada pelo SARS-CoV-2 como um problema de saúde pública a nível internacional (Walls et al., 2020). Até ao dia 4 de outubro de 2021, aproximadamente 230 000 000 de pessoas foram diagnosticadas com COVID-19 em todo o mundo, incluindo mais de 4 000 000 de mortes notificadas à OMS, como mostra a figura 1. De acordo com o Relatório de situação da Direção-Geral da Saúde (DGS) desse mesmo dia (figura 2), em Portugal registaram-se pouco mais de 1 000 000 de casos confirmados e cerca de 18 000 óbitos devido à doença causada pelo SARS-CoV-2.

À semelhança de outros coronavírus, a transmissão inter-humana foi rapidamente demonstrada em diversos estudos (Chan et al., 2020; Li et al., 2020). No entanto, o SARS-CoV-2 demonstrou ser mais infeccioso que o SARS-CoV e que o *Middle East respiratory syndrome coronavirus* (MERS-CoV) (Petersen et al., 2020). A infeção por SARS-CoV-2 pode ser assintomática, causar doença moderada ou grave ou levar à morte (World Health Organization, 2021).

Global Situation

234,809,103
confirmed cases

4,800,375
deaths

Source: World Health Organization
Data may be incomplete for the current day or Jan 1 week.

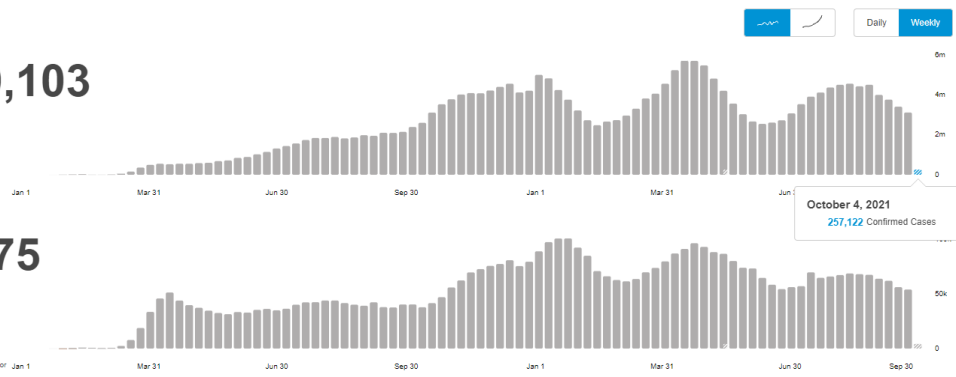


Figura 1 - Painel da OMS sobre a COVID-19 até ao dia 4 de outubro de 2021. Disponível em <https://covid19.who.int/>

COVID-19 | RELATÓRIO DE SITUAÇÃO | 05-10-2021

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA EM PORTUGAL

TOTAL DE CASOS E VARIAÇÃO

29 884 - 338
ATIVOS
1 024 149 +1 064
RECUPERADOS
18 004 +4
ÓBITOS
26 018 - 556
CONTACTOS EM VIGILÂNCIA
1 072 037 +730
CONFIRMADOS

TOTAL DE CASOS, DE ÓBITOS E VARIAÇÃO POR REGIÃO

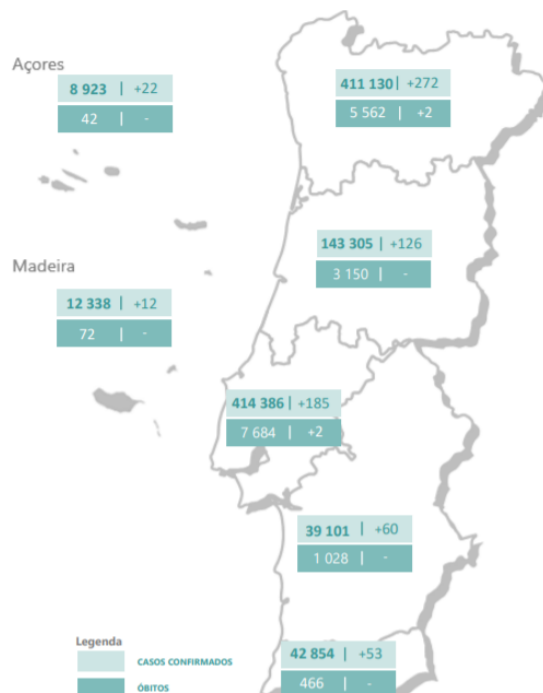


Figura 2 - Relatório de situação nº 582 de 5 de outubro de 2021 da DGS. Disponível em <https://covid19.min-saude.pt/relatorio-de-situacao/>

O virião do SARS-CoV-2 tem cerca de 50 a 200 nm de diâmetro e contém quatro proteínas estruturais: *spike* (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocápside (N) (figura 3) (Chen et al., 2020). A proteína S é responsável pela ligação e fusão da membrana viral com a membrana do hospedeiro (Walls et al., 2020). Este vírus apresenta tropismo para vários tecidos, principalmente para os que expressam a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2, *Angiotensin-converting enzyme 2*) (World Health Organization, 2021).

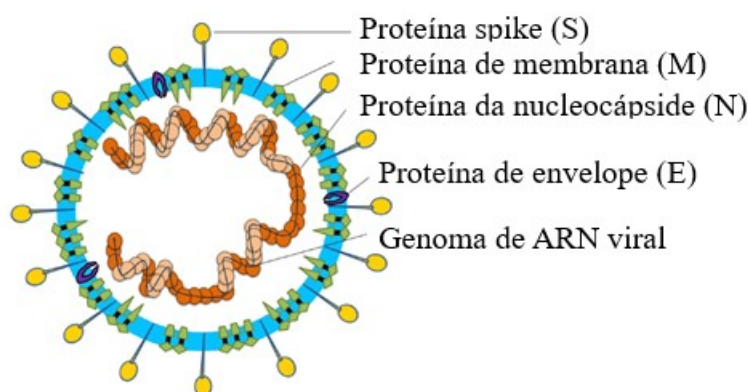


Figura 3 - Estrutura da partícula viral do SARS-CoV-2. Adaptado de Geng Li et al., 2020

No caso de uma partícula viral encontrar uma célula suscetível de ser infectada, ocorrerá uma interação específica entre a Glicoproteína S (GpS) e o respetivo recetor, a ACE2. Desta interação irão resultar vários eventos que culminarão na fusão do invólucro viral e da membrana da célula-alvo (Fang et al., 2020). Deste modo, torna-se importante compreender o papel que a ACE2 tem na entrada do vírus nas células e se poderá servir de alvo terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos no combate à pandemia da COVID-19.

Desde o início da pandemia que o tratamento de doentes com COVID-19 incluiu o controlo de sintomas e comorbilidades associadas à infeção, particularmente por intervenção de medidas de suporte respiratório e hemodinâmico (Abd El-Aziz & Stockand, 2020). O combate à infeção por SARS-CoV-2 desencadeou um forte investimento na investigação e desenvolvimento de novas terapêuticas, com particular foco para o mecanismo de entrada e replicação viral como também à diminuição da

resposta imune por parte do hospedeiro (Alexander et al., 2020). O desenvolvimento de tecnologias genômicas e a utilização de abordagens computacionais com o objetivo de prever possíveis alvos terapêuticos no combate ao SARS-CoV-2 permitiram grandes avanços científicos. Por um lado, devido ao desenvolvimento de novos medicamentos ser demorado, várias estratégias, incluindo o reposicionamento de fármacos ou *drug repurposing*, foram testadas em pessoas infectadas com COVID-19 (Mishra & Tripathi, 2021). Assim sendo, tornou-se prioritário investigar quais os agentes terapêuticos em estado avançado de desenvolvimento, ou já comercializados para outras patologias, que poderiam vir a diminuir os efeitos da COVID-19 (Alexander et al., 2020). Por outro lado, passou a ser também uma prioridade a investigação e desenvolvimento de vacinas, de forma a prevenir e diminuir a progressão para doença grave (Amanat & Krammer, 2020).

Dada a evolução do impacto desta doença na sociedade, este trabalho tem como principal objetivo realizar um levantamento das abordagens terapêuticas recomendadas e não recomendadas contra o SARS-CoV-2, até à data de conclusão deste trabalho, assim como dos mecanismos moleculares que as sustentam, durante a pandemia da COVID-19.

II. DESENVOLVIMENTO

1. PERSPETIVA HISTÓRICA DOS CORONAVÍRUS

Os coronavírus foram desde sempre os principais causadores de infeções moderadas em indivíduos imunocompetentes, até ao ano de 2003 (Cui et al., 2019). Porém, o aparecimento dos vírus SARS-CoV e MERS-CoV surpreenderam toda a comunidade científica, uma vez que poderiam causar infeções graves e até levar à morte dos indivíduos infetados (Zaki et al., 2012; Zhu et al., 2020).

Em novembro de 2002, o SARS-CoV começou a difundir-se pela província de Guangdong, no sul da China, apesar de se desconhecer a sua origem. No passado, os vírus Nipah e Hendra, ambos vírus zoonóticos isolados a partir de morcegos, motivaram o início de diversos estudos com o objetivo de perceber se estes animais eram o reservatório natural do SARS-CoV (Halpin et al., 2000; Yob et al., 2001).

Três anos depois, dois estudos relataram que os morcegos eram o principal hospedeiro de diversos coronavírus e que estavam intimamente relacionados com o surto de 2003 na China (Epstein et al., 2005; Lau et al., 2005). Posteriormente, em 2012, surge na Arábia Saudita um novo surto de pessoas infetadas através do contato direto ou indireto com dromedários causado pelo MERS-CoV (Hijawi et al., 2013; Zaki et al., 2012). No entanto, análises posteriores ao seu genoma, sugeriram que este vírus poderá ter tido origem também em morcegos e mais tarde ter sido transmitido a dromedários (Reusken et al., 2013).

Mais recentemente, em dezembro de 2019, foi detetado um conjunto de casos de pneumonia de etiologia desconhecida na cidade chinesa de Wuhan (Grifoni et al., 2020). Em janeiro do ano seguinte, foi identificado um vírus nunca antes isolado no Homem que inicialmente foi designado como “novo coronavírus” (2019-nCoV) (Zhu et al., 2020). De modo a estabelecer-se uma história evolutiva do 2019-nCoV, procedeu-se à análise e sequenciação do seu genoma, e concluiu-se que este vírus pertence à mesma família do SARS-CoV e do MERS-CoV (Lu et al., 2020; Zhou et al., 2020). Assim sendo, sugeriu-se que os morcegos tenham sido os hospedeiros de origem do 2019-nCoV e que o possam ter transmitido diretamente aos humanos ou infetado um hospedeiro intermediário desconhecido (Ou et al., 2020; Zhu et al., 2020). No entanto, pensa-se que este último possa ter sido o pangolim, uma vez que foram encontrados vários animais infetados com coronavírus semelhantes ao SARS-CoV-2 que previamente haveriam contactado com esse animal (figura 4) (Zhang, Wu, & Zhang,

2020). No dia 11 de fevereiro de 2020, o 2019-nCoV passou a ser oficialmente denominado, pelo Comité Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV, *International Committee on Taxonomy of Viruses*), SARS-CoV-2 devido à sua semelhança genética com o SARS-CoV.

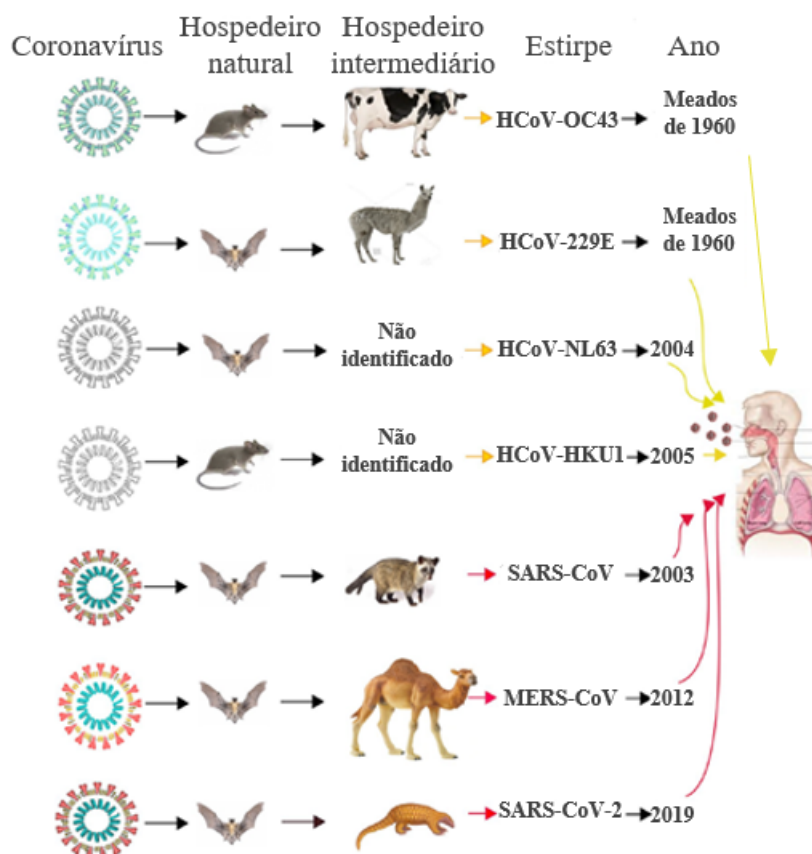


Figura 4 - Origem e transmissão dos coronavírus humanos. As setas representadas a amarelo e vermelho indicam infecções moderadas e graves em humanos, respetivamente. HCoV, *Human Coronavirus*; MERS-CoV, *Middle East respiratory syndrome coronavirus*; SARS-CoV, *Severe acute respiratory syndrome coronavirus*; SARS-CoV-2, *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*. Adaptado de Mittal et al., 2020

De acordo com o ICTV, os coronavírus pertencem à família *Coronaviridae* e subfamília *Coronavirinae*. Tendo em conta as relações filogenéticas e estruturas genómicas da referida subfamília, esta divide-se em quatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* (Mittal et al., 2020). Os géneros *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus* infetam apenas mamíferos e os *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* infetam maioritariamente aves, mas alguns também podem infetar mamíferos (Woo et al., 2012). Geralmente, os vírus pertencentes

aos *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus* causam gastroenterites em animais e doenças respiratórias em humanos (Cui et al., 2019).

Antes de dezembro de 2019, apenas eram conhecidas seis estirpes de coronavírus capazes de causar doenças em humanos (Su et al., 2016). Quatro delas causam sintomas semelhantes a uma constipação em hospedeiros imunocompetentes: *Human coronavirus* (HCoV)-229E e HCoV-OC43, identificadas pela primeira vez em meados de 1960 (Kahn & McIntosh, 2005); HCoV-NL63, identificada pela primeira vez em 2004 (Fouchier et al., 2004; Van Der Hoek et al., 2004); e HCoV-HKU1, identificada pela primeira vez em 2005 (Lau et al., 2006). As restantes estirpes, como anteriormente referido, poderão causar doença respiratória grave e até levar à morte: SARS-CoV, identificada pela primeira vez em 2003 (Zhu et al., 2020) e MERS-CoV, identificada pela primeira vez em 2012 (Zaki et al., 2012). Atualmente, sabe-se que o vírus SARS-CoV-2 é a sétima estirpe de coronavírus e a quarta pertencente ao género *Betacoronavirus* que afeta humanos (figura 5) (Hussain et al., 2020).

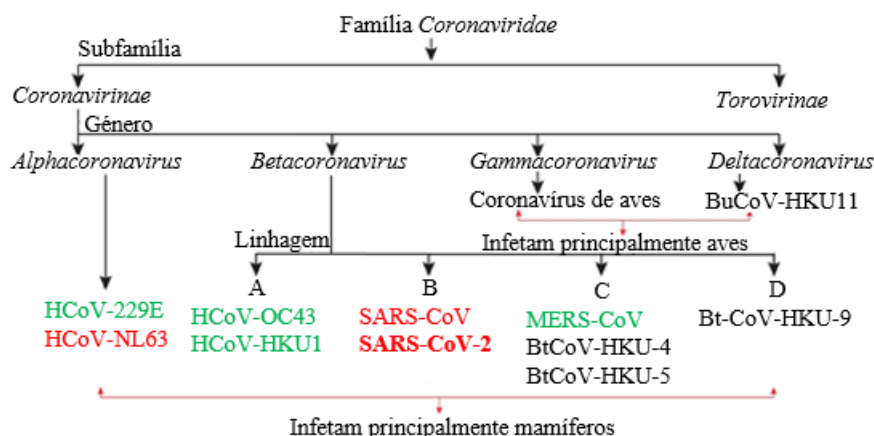


Figura 5 - Classificação dos coronavírus: As sete estirpes conhecidas de coronavírus capazes de infetar humanos estão representadas a verde e vermelho. As estirpes representadas a vermelho utilizam como recetor hospedeiro a enzima conversora de angiotensina 2. Adaptado de Mittal et al., 2020

2. CARACTERIZAÇÃO DO SARS-CoV-2

Os coronavírus caracterizam-se por apresentarem um formato esférico com um diâmetro que varia entre os 80 a 120 nm (Yadav et al., 2021). Adicionalmente, o nome da família *Coronaviridae* deriva do facto dos coronavírus possuírem proteínas à sua superfície que se projetam externamente e, por conseguinte, exibem uma aparência semelhante a uma coroa exterior em redor do virião (Gorkhali et al., 2021).

O genoma do SARS-CoV-2 é uma molécula de ARN não segmentado de cadeia positiva e tem um tamanho aproximado de 30 mil bases (kb) (Mittal et al., 2020). Cerca de um terço do seu genoma é composto por *open reading frames* (ORFs) que codificam para quatro proteínas estruturais e que se localizam na porção 3' do genoma: *Spike* (S), Envelope (E), Membrana (M) e Nucleocápside (N) (Yadav et al., 2021). Nessa zona localizam-se ainda 9 ORFs denominadas ORF3a, ORF3d, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9b, ORF14 e ORF10, que codificam para proteínas acessórias (Nelson et al., 2020). As restantes 20 kb localizam-se na extremidade 5' e englobam a ORF1a e a ORF1b. A ORF1a codifica a poliproteína 1a (pp1a) que engloba desde a NSP1 à NSP11. A expressão da ORF1a e da ORF1b, por um mecanismo ribossomal de *frameshift* na qual o codão STOP da ORF1a é ignorado e, consequentemente, a leitura só termina no codão STOP da ORF1b, origina a poliproteína 1ab (pp1ab), a qual engloba as proteínas não estruturais (NSP, *Nonstructural protein*), da NSP1 à NSP16 (Lei et al., 2018; Nelson et al., 2020). As proteínas acessórias diferem das NSPs, uma vez que, para além de possuírem funções indiretas, não apresentam homologia com proteínas de outros grupos de vírus (Gorkhali et al., 2021).

O ARN genómico expressa o gene numa sequência característica na forma 5'-gene replicase-S-E-M-N-3', onde em cada extremidade estão regiões não traduzidas (UTRs, *Untranslated regions*). A componente estrutural 3'-UTR é necessária para a replicação e transcrição do ARN viral (figura 6) (Yadav et al., 2021). Este conjunto de proteínas estruturais, não estruturais e/ou acessórias são responsáveis pelos aspetos estruturais e funcionais do SARS-CoV-2 (Yadav et al., 2021).

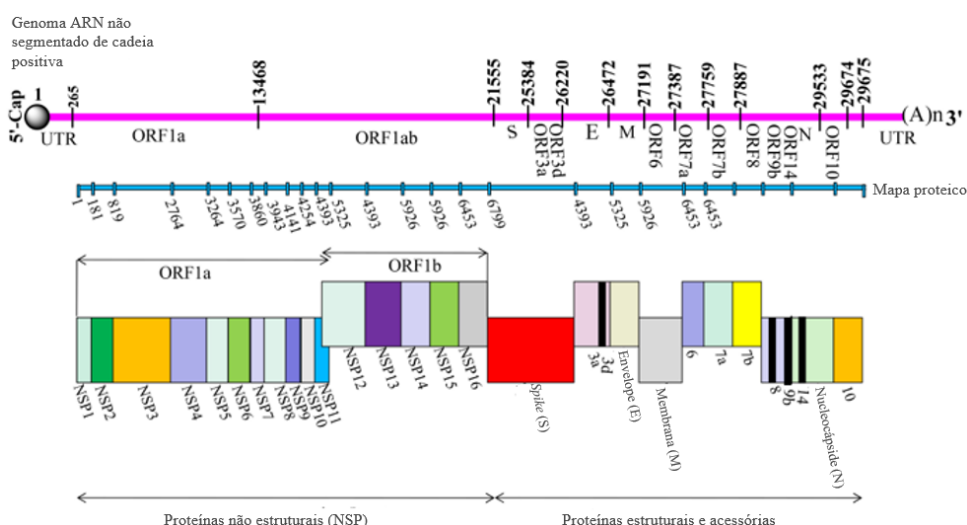


Figura 6 - Organização genómica do SARS-CoV-2. A organização genómica do SARS-CoV-2 mostra uma organização sequencial de genes não estruturais, genes estruturais e genes acessórios da seguinte forma: 5'-UTR-gene replicase-S-E-M-N-UTR-3' com os genes acessórios 3a, 3d, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 14 e 10 intercalados entre os genes estruturais. Adaptado de Yadav et al., 2021

2.1. Características estruturais da partícula e do genoma viral

2.1.1. Proteínas estruturais

Proteína S

As proteínas S são, das proteínas estruturais do SARS-CoV-2, as que apresentam maior dimensão. (Pillay & Pillay, 2020). São glicoproteínas de fusão e estão envolvidas na interação vírus-hospedeiro durante a entrada do vírus na célula (Tortorici & Veessler, 2019). Estas proteínas facilitam a ligação da partícula viral à célula hospedeira de forma a mediar a fusão da membrana e entrada na célula (Gorkhali et al., 2021). Adicionalmente, são proteínas de classe I, ou seja, são ativadas por um processo de clivagem (Pillay & Pillay, 2020; Walls et al., 2020).

A figura 7 mostra a estrutura trimérica de uma proteína S. Esta proteína é composta por duas subunidades funcionais, denominadas subunidade 1 (S1) e subunidade 2 (S2). Cada proteína S é estruturada por três S1 ligadas a três S2, formando um trímero (Gorkhali et al., 2021). A S1 está envolvida na ligação ao recetor celular e envolve o domínio N-terminal (NTD, *N-terminal domain*) e o domínio de ligação ao recetor (RBD, *Receptor binding domain*) (M. Y. Wang et al., 2020). Cada RBD do SARS-CoV-2 contém um motivo específico de ligação ao recetor (RBM, *Receptor binding motif*) de interação com a ACE2 (Lan et al., 2020). A S2 medeia o processo de fusão entre o invólucro viral e a membrana da célula e compreende o péptido de fusão (FP, *Fusion peptide*), a *heptad repeat 1* e a *heptad repeat 2* (HR1 e HR2, respetivamente), a hélice central (CH, *Central helix*), o domínio conector (CD, *Connector domain*), o domínio transmembranar (TM, *Transmembrane domain*) e a cauda citoplasmática (CT, *Cytoplasmic tail*).

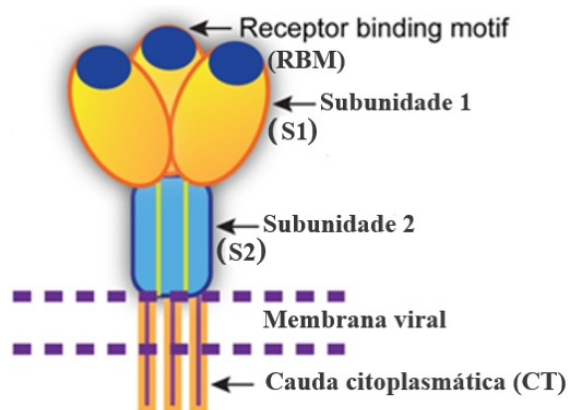


Figura 7 - Estrutura trimérica da proteína S. Adaptado de Mittal et al., 2020

Estruturalmente, a proteína S pode apresentar-se sob duas formas: a fechada, em que mantém a sua estrutura nativa e os três RBMs não estão projetados de forma a reconhecer o recetor; e a aberta, necessária para que ocorra fusão da membrana viral com a da célula hospedeira (Figura 8) (Walls et al., 2020).

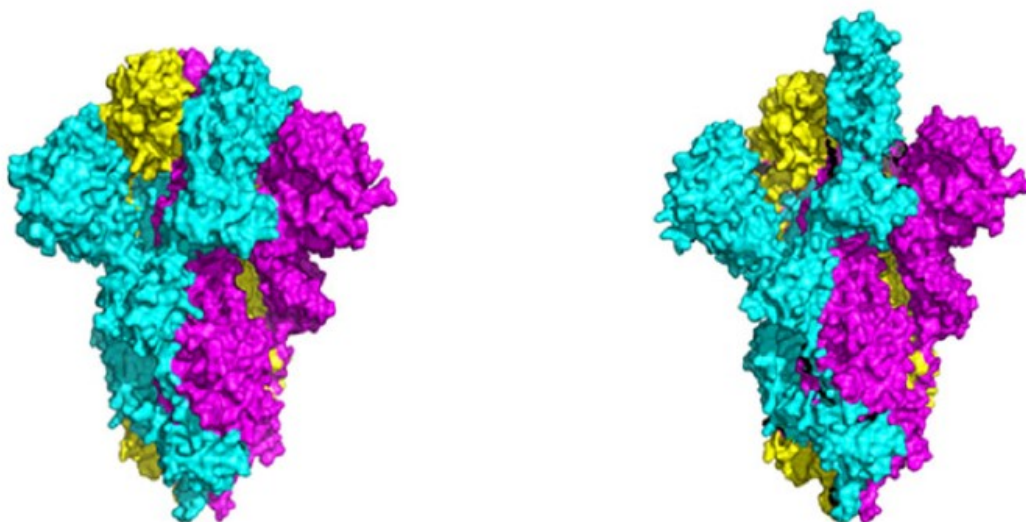


Figura 8 - Estrutura da proteína S obtida por crio-microscopia eletrónica. À esquerda está representada no seu estado fechado (PDB: 6VXX) e à direita no seu estado aberto (PDB: 6VYB). Adaptado de Wang et al., 2020

A mudança para esta última conformação caracteriza-se pela exposição do RBD, aumentando a afinidade para a ACE2. O processo desta alteração é explicado pela ação de convertases do tipo furina, denominadas proteases *furin-like*, que reconhecem um local de clivagem, identificado por S1/S2, situado entre os aminoácidos 681 e 688 da proteína S e que corresponde a uma sequência polibásica (figura 9) (Xia et al., 2020). Por outras palavras, a clivagem desta sequência induz alterações conformacionais estruturais que afetam a afinidade da GpS para o recetor ACE2, uma vez que assegura a exposição do RBD e torna a ligação à célula alvo mais eficaz. O resultado da clivagem desta sequência traduz-se na libertação da S1 e, consequente, a transição da S2 para uma forma conformacional favorável a mediar o processo de fusão (Walls et al., 2017).

No entanto, para que ocorra a entrada do vírus é necessário que a S2 sofra uma clivagem num segundo local, designado S2', cujo reconhecimento pela protease hospedeira leva à ativação da S2 e consequente fusão da membrana viral com a da célula (M. Y. Wang et al., 2020). Este processo é realizado principalmente por uma

protease da célula chamada protease transmembranar de serina 2 (TMPRSS2, *Transmembrane protease serine 2*) (Iwata-Yoshikawa et al., 2019).

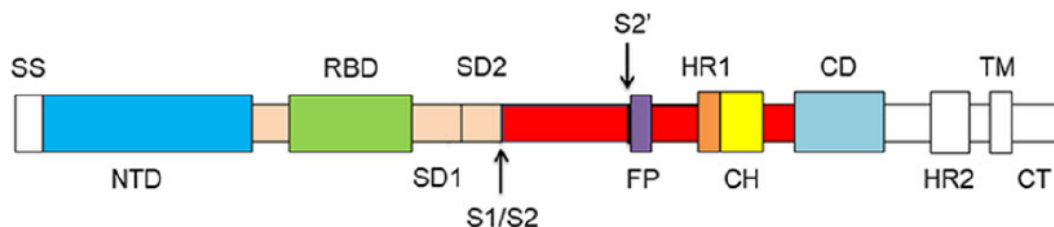


Figura 9 - Estrutura da proteína *spike* do SARS-CoV-2. Os diferentes domínios estão representados por cores diferentes. SS, sequência única; NTD, domínio N-terminal; RBD, domínio recetor de ligação; SD1, subdomínio 1; SD2, subdomínio 2; S1/S2, local de clivagem S1/S2; S2', local de clivagem S2'; FP, péptido de fusão; HR1, *heptad repeat 1*; CH, hélice central; CD, domínio conector; HR2, *heptad repeat 2*; TM, domínio transmembranar; CT, cauda citoplasmática. Os locais de clivagem estão indicados por setas. Adaptado de Wang et al., 2020

Estruturalmente importa também referir que a proteína S se trata de uma proteína altamente glicosilada no NTD (Fung & Liu, 2018). Os oligossacáridos presentes nesta região constituem um papel importante no reconhecimento de anticorpos, evitando que o SARS-CoV-2 sofra respostas imunológicas do hospedeiro (Walls et al., 2020). Adicionalmente, o facto destas proteínas transmembranares formarem homotrímeros que se projetam na superfície do vírus, são considerados potenciais alvos terapêuticos no combate à pandemia da COVID-19 (M. Y. Wang et al., 2020).

Proteína N

A proteína N caracteriza-se estruturalmente por possuir três regiões diferentes, altamente conservadas: um NTD, uma região central característica e um domínio C-terminal (CTD) (figura 10) (McBride et al., 2014). A região central é responsável pela ligação ao ARN e caracteriza-se por ser rica em resíduos de serina que mantêm a proteína fosforilada e regulam o seu normal funcionamento (Chang et al., 2014). A combinação destas regiões é crucial para ligar-se ao ARN genómico e, consequentemente formar uma ribonucleoproteína (RNP) (Gorkhali et al., 2021).

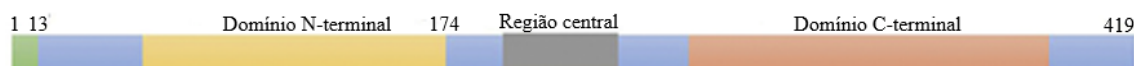


Figura 10 - Sequência proteica obtida através do genoma da proteína N do SARS-CoV-2 e respectivos domínios. Adaptado de Satarker & Nampoothiri, 2020

A RNP desempenha um papel importante no ciclo replicativo do SARS-CoV-2 e intervém na regulação do metabolismo das células infetadas (Cong et al., 2020). A principal função desta proteína é proteger ARN genómico, protegendo-o e mantendo-o estável dentro da partícula viral (Gorkhali et al., 2021). Adicionalmente, não só tem a capacidade de inibir a produção de interferão tipo I (IFN-I), como também promove a ativação de ciclooxigenase-2, contribuindo para um estado inflamatório da célula hospedeira (Yan et al., 2006).

Estudos demonstraram que a proteína N é indispensável para manter a organização conformacional do ARN, de modo a que o genoma viral seja replicado e transcrito (T. K. Tang et al., 2005). Além disso, consegue desencadear respostas imunes contra o SARS-CoV-2 e outros coronavírus, uma vez que é expressa em grande quantidade e extremamente imunogénica (Ahmed et al., 2020; Liu et al., 2006).

Proteína E

A proteína E é a menor de todas as proteínas estruturais e desempenha funções importantes na infeção dos coronavírus, nomeadamente na patogénese e morfogénese (Nieto-Torres et al., 2014). A estrutura da proteína E do SARS-CoV, contrariamente à do SARS-CoV-2, está bem estudada. Porém, o conhecimento da proteína E do SARS-CoV-2 baseia-se no que se sabe até à data relativamente à homóloga do SARS-CoV, uma vez que têm funções similares (Li et al., 2014; Nieto-Torres et al., 2014; Wu et al., 2003).

Estruturalmente, as proteínas E são estáveis e caracterizam-se por serem compostas por um longo e hidrofóbico domínio NTD e um CTD (Schoeman & Fielding, 2019). Estas proteínas são também conhecidas por formarem canais iónicos à superfície dos vírus que conferem uma maior patogenicidade (Gorkhali et al., 2021).

Adicionalmente, as proteínas E por possuírem domínios de natureza hidrofóbica, podem assumir funções de viroporinas, as quais para além de serem essenciais na

gemulação e posterior libertação da partícula viral da célula hospedeira, medeiam processos patogénicos e induzem citotoxicidade (Ye & Hogue, 2007).

Proteína M

A proteína M, comparativamente a todas as outras proteínas, é a mais abundante da partícula viral (Alsaadi & Jones, 2019). Esta proteína exerce funções importantes na morfogénese dos coronavírus, contribuindo para a regulação da transcrição e organização do ARN genómico em partículas virais (Narayanan et al., 2000). Além disso, uma vez que se encontra presente em muito maior quantidade nos coronavírus, interage com outras proteínas, nomeadamente com as proteínas S e N e consigo própria (Arndt et al., 2010). Por um lado, estudos sugerem que esta proteína liga-se à proteína S viral e ao recetor da célula hospedeira para promover a fusão entre as respetivas membranas (Neuman et al., 2011). Por outro, demonstraram que esta proteína ativa o desenvolvimento de viriões no compartimento intermédio retículo endoplasmático-complexo de Golgi que interagem com a RNP formada a partir da proteína N (Neuman et al., 2011).

Estruturalmente, a proteína M do SARS-CoV-2 consiste num conjunto de 222 aminoácidos codificados por 669 nucleótidos (F. Wu et al., 2020). Adicionalmente, é uma proteína constituída por três domínios transmembranares flanqueados por um pequeno NTD glicosilado e por um longo CTD (Arndt et al., 2010). A glicosilação do NTD ocorre no complexo de Golgi após a expressão da proteína M e desempenha uma função vital no tropismo do SARS-CoV-2 e na ativação da via de sinalização de IFNs (Wang & Liu, 2016).

2.1.2. Proteínas não estruturais

Para além das proteínas estruturais supramencionadas, existem dezasseis proteínas não estruturais codificadas por genes que se localizam na região 5' do genoma do SARS-CoV-2 (A. Wu et al., 2020). Na tabela 1 estão descritos os nomes e as respetivas proteínas e funções de cada NSP.

Tabela 1 - Breve descrição das proteínas não estruturais do SARS-CoV-2. Adaptado de Yadav et al., 2021

Nome	Proteína ou domínio proteico responsável pela função	Função
NSP1	Produto N-terminal da replicase viral	Inibe a síntese proteica na célula hospedeira, desencadeando uma resposta imunitária (Huang et al., 2011).
NSP2	Produto N-terminal	Até à data não se conhece totalmente. Interage com os complexos Pro-hibitina 1 (PHB1) e Pro-hibitina 2 (PHB2) hospedeiros que estão envolvidos na biogênese mitocondrial (Cornillez-Ty et al., 2009).
NSP3	Domínio proteico com atividade de protease do tipo papáina (PL ^{pro})	Responsável pela clivagem em três locais da região N-terminal da pp1a e pp1ab, produzindo as proteínas maduras NSP1, NSP2 e NSP3 (Lei et al., 2018).
NSP4	Extensão da membrana contendo o domínio 2 da proteína transmembranar	Auxilia no complexo replicação-transcrição (RTC) e induz a formação de vesículas celulares de membrana dupla (DMV) que facilitam a replicação viral (Sakai et al., 2017).
NSP5	Protease do tipo 3-quimotripsina (3CL ^{pro}), também designada por Protease principal (M ^{pro})	Responsável pela formação das restantes NSP (da NSP4 à NSP16), clivando-as em onze locais da região N-terminal da pp1a e pp1ab (Yadav et al., 2021).
NSP6	Domínio transmembranar putativo	Induz a formação de autofagossomas do retículo endoplasmático e interfere na degradação de fatores virais nos lisossomas (Cottam et al., 2014).
NSP7	ARN polimerase dependente de ARN (RdRp)	Cofator da NSP12. Em conjunto com a NSP8 e NSP12, formam o RTC, estimulando a atividade ARN polimerase da NSP12 (Te Velthuis et al., 2012).
NSP8	Replicase de cadeia única; ARN polimerase multimérica	Cofator da NSP12. Atua como primase, de forma a iniciar o processo de replicação viral (Jang et al., 2020).
NSP9	Proteína de ligação ao ARN	Envolvida na replicação do ARN viral ao ligar-se ao ARN de cadeia simples (Yadav et al., 2021).
NSP10	Proteína do tipo fator de crescimento contendo dois centros de zinco	Cofator nas atividades da NSP14 e NSP16 (Joseph et al., 2006; Shamsi et al., 2021)
NSP11	Fragmento de treze resíduos de aminoácidos da porção inicial da NSP12	Desconhecida.
NSP12	ARN polimerase dependente de ARN (RdRp)	Responsável pela replicação e transcrição do ARN viral. Forma, em conjunto com várias NSP, o RTC (Subissi et al., 2014).
NSP13	ARN polimerase dependente de ARN (RdRp)	Atua como helicase de ARN de cadeia dupla, auxiliando a replicação e transcrição do ARN viral (Shamsi et al., 2021).
NSP14	Exorribonuclease e transferase	Atividade de 3'-5' exorribonuclease e de guanina (N7) metiltransferase (Yadav et al., 2021). Essencial na atividade de <i>proofreading</i> durante a replicação do ARN e no <i>capping</i> do ARNm (Ma et al., 2015).
NSP15	Endorribonuclease	Atividade de endorribonuclease e importante na limitação da exposição de ARN de cadeia dupla a sensores hospedeiros cruciais na defesa contra vírus (Deng et al., 2017).
NSP16	Metiltransferase	Atividade de 2'-O-metiltransferase essencial no <i>capping</i> do ARNm (Decroly et al., 2011).

2.2. Ciclo de replicação

Uma das noções a reter relativamente ao SARS-CoV-2 é que os mecanismos que utiliza para infectar a célula e, por conseguinte, replicar-se vai determinar inúmeras características da patogénese viral, desde as vias de transmissão aos órgãos e tecidos infetáveis, passando pelas formas de prevenção e até aos possíveis tratamentos. Deste modo, como mostra a figura 11, o ciclo replicativo do SARS-CoV-2 inicia-se pela ligação do vírus ao seu respetivo recetor celular (1) (Robson et al., 2020). No caso de uma partícula viral encontrar uma célula suscetível de ser infetada, nos primeiros momentos ocorre uma interação específica entre a GpS e o respetivo recetor ACE2 (Fang et al., 2020). Desta interação irão resultar vários eventos que culminam com a fusão do invólucro viral com a membrana celular, a fim de libertá-lo no citoplasma da célula hospedeira (Fig. 11, etapas de (2) a (5)) (Robson et al., 2020).

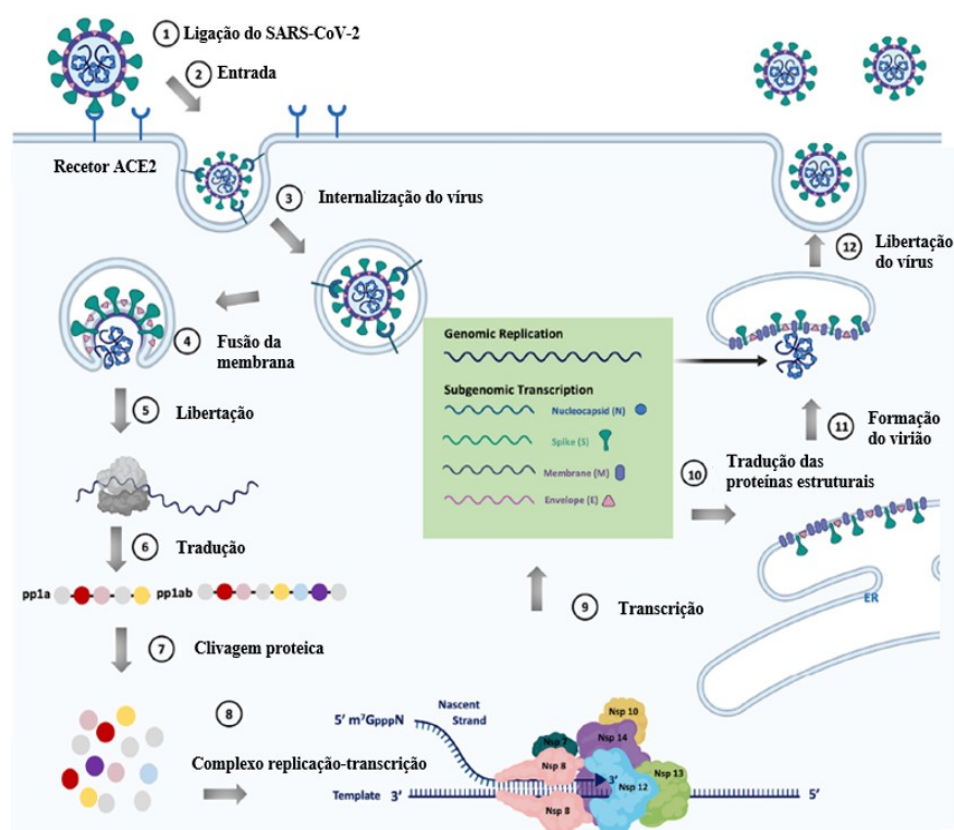


Figura 11 – Ciclo replicativo do SARS-CoV-2. As diferentes etapas do mecanismo de replicação do SARS-CoV-2 estão numeradas de (1) a (12): (1) ligação do vírus ao recetor enzima conversora de angiotensina 2; (2) entrada do vírus na célula; (3) internalização do vírus no citoplasma da célula hospedeira; (4) fusão da membrana com o vírus; (5) libertação do vírus no citoplasma da célula hospedeira; (6) tradução do genoma para produzir as poliproteínas pp1a e pp1ab; (7) clivagem das poliproteínas pp1a e pp1ab e formação de 16 proteínas não estruturais maduras, NSP; (8) formação do complexo de replicação-transcrição; (9) replicação do genoma viral e transcrição das proteínas estruturais codificadas pelo ARNm; (10) tradução dos ARNm subgenómicos; (11) formação de um novo virião derivado do RER; (12) libertação do vírus da célula hospedeira. Adaptado de Robson et al., 2020

2.3. Tropismo

O conhecimento sobre o tipo de células humanas sujeitas a ser infectadas pelo SARS-CoV-2 permite aprofundar um aspeto que é de extrema importância para a patogénese da COVID-19 e que diz respeito ao tropismo. Atualmente sabe-se que o tropismo deste vírus é determinado maioritariamente pela presença do recetor ACE2 na membrana das células hospedeiras (Gheblawi et al., 2020). À semelhança do SARS-CoV, o SARS-CoV-2 depende da ACE2 e da atividade proteolítica de algumas proteases para entrar na célula hospedeira (Flerlage et al., 2021).

A ACE2 é uma proteína transmembranar pertencente ao sistema renina-angiotensina (RAS, *Renin-angiotensin system*) e desempenha um papel fundamental no controlo da função cardíaca, renal e da pressão arterial (Tikellis & Thomas, 2012). Conforme representado na figura 12, o RAS engloba num primeiro passo a conversão de angiotensinogénio em angiotensina I (Ang I), por ação da renina e, seguidamente, a conversão da Ang I em angiotensina II (Ang II), por ação da enzima conversora de angiotensina (ACE, *Angiotensin-converting enzyme*). A Ang II, ao ligar-se ao recetor da angiotensina II tipo 1 (AT1R) induz um conjunto de efeitos que,

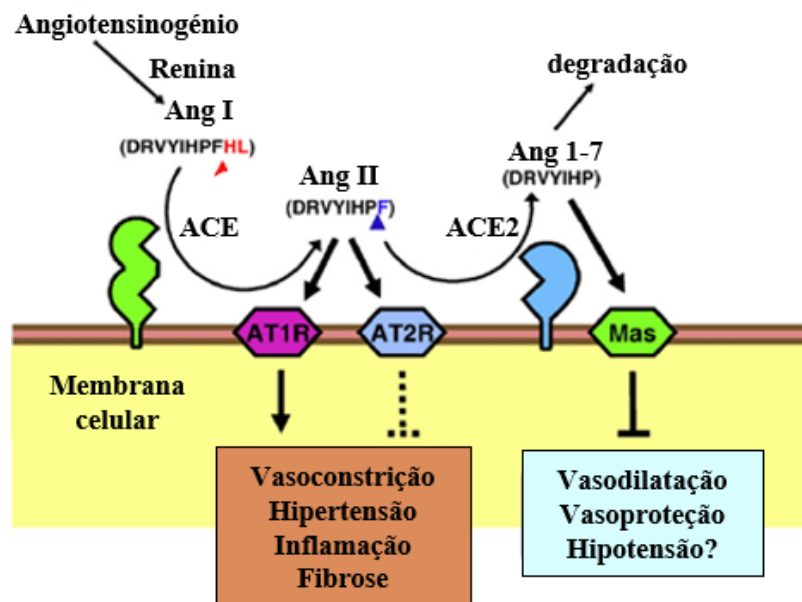


Figura 12 – Esquema da função da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) no sistema renina-angiotensina (RAS). A angiotensina I (Ang I) serve de substrato à enzima conversora de angiotensina (ACE) e é convertida em angiotensina II (Ang II). A ACE2 cataliza e inativa a Ang II e produz um péptido vasodilatador denominado angiotensina 1-7 (Ang 1-7) que se liga ao recetor Mas, induzindo vasodilatação. A seta representada a vermelho indica o local de clivagem da ACE. A seta representada a azul indica os locais de clivagem da ACE2. Adaptado de Kuba et al., 2010

consoante a célula envolvida, leva não só a uma vasoconstrição com consequente aumento da tensão arterial, como à inflamação da célula. Ao invés, a ACE2 tem uma atividade fisiológica oposta à anteriormente referida, ou seja, converte a Ang II em angiotensina 1-7 (Ang 1-7), a qual se liga ao recetor Mas, induzindo vasodilatação e vasoproteção. Desta forma, a ACE e a ACE2 contrabalançam-se nos respetivos efeitos mediados pela presença da Ang II ou pela conversão desta num péptido vasoprotetor designado Ang 1-7. Adicionalmente importa referir que o RAS é extremamente regulado e, portanto, qualquer desequilíbrio induzirá processos nefastos particularmente importantes no aparelho cardiovascular (Kuba et al., 2010).

À luz do atual conhecimento, o tropismo do SARS-CoV-2 é determinado maioritariamente pela presença do recetor ACE2 na membrana das células. Como se pode observar pela figura 13, esta expressão verifica-se num vasto número de células que englobam, para além do compartimento onde a replicação viral é mais abundante, ou seja, no trato respiratório superior (TRS) e nos pulmões, células pertencentes ao aparelho cardiovascular, renal, gastrointestinal e do sistema nervoso central (Gheblawi et al., 2020). Apesar da vasta distribuição do recetor ACE2, a quantidade e o tipo de

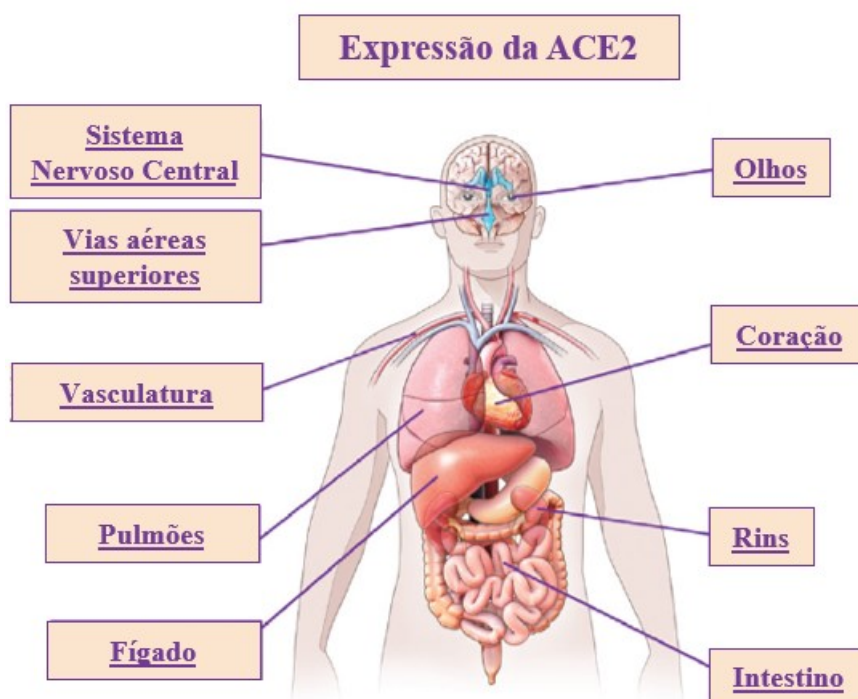


Figura 13 - Expressão da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) no corpo humano. A ACE2 é expressa nas células de diversos órgãos, principalmente do aparelho respiratório, cardiovascular, renal, gastrointestinal e do sistema nervoso central. Adaptado de Gheblawi et al., 2020

células presentes no epitélio respiratório são particularmente importantes na infecção por SARS-CoV-2, uma vez que não só são cruciais para a transmissão do vírus como também na patogénese da infecção (Hou et al., 2020). Similarmente ao SARS-CoV, o SARS-CoV-2 afeta principalmente células que expressam a ACE2, nomeadamente, células epiteliais do aparelho respiratório, células endoteliais vasculares e macrófagos pulmonares (Flerlage et al., 2021). Além disso, os pneumócitos, em particular os pneumócitos tipo II, em conjunto com as células epiteliais ciliadas do trato respiratório são os alvos mais suscetíveis à infecção (Hou et al., 2020).

2.4. Transmissão

A identificação dos fatores que promovem a transmissão do SARS-CoV-2 e o reconhecimento da sua importância são cruciais para conter a pandemia e futuros surtos de coronavírus. O risco de transmissão depende de vários fatores, tais como, o modo de contacto com células infetadas, as condições ambientais em que ocorre a transmissão, o grau de infecciosidade do hospedeiro e fatores socioeconómicos (Cevik et al., 2021). Até à data, a grande maioria dos surtos de COVID-19 teve origem em locais fechados com elevada densidade populacional e/ou que estiveram sujeitos a grandes períodos de contacto com o vírus em áreas pouco ventiladas (Buitrago-Garcia et al., 2020).

Tal como acontece noutros coronavírus, o principal mecanismo de transmissão do SARS-CoV-2 ocorre através do contacto direto ou indireto de partículas virais com a mucosa oral, nasal ou conjuntival (Hui et al., 2020). Além disso, contrariamente ao SARS-CoV, este vírus pode ser também transmitido por indivíduos assintomáticos (Rothe et al., 2020; Wölfel et al., 2020).

2.4.1. Transmissão direta

À luz do atual conhecimento, o SARS-CoV-2 transmite-se principalmente de pessoa para pessoa (Edwards et al., 2021). Cada indivíduo liberta fluidos respiratórios de diferentes tamanhos através, por exemplo, da respiração, da fala, da tosse e do espirro que, por sua vez, podem ser inalados e causar infeções (Edwards et al., 2021; Stadnytskyi et al., 2020).

A transmissão direta ocorre maioritariamente através de aerossóis e gotículas contaminados (Tabatabaeizadeh, 2021). Os aerossóis são partículas inferiores a 5 µm de

diâmetro (Tabatabaeizadeh, 2021). Por oposição, partículas com diâmetro superior designam-se gotículas respiratórias (Tabatabaeizadeh, 2021).

Mittal, Ni e Seo (2020) demonstraram os possíveis mecanismos de transmissão do SARS-CoV-2 e concluíram que os aerossóis conseguem ficar suspensos no ar por períodos mais longos que as gotículas e serem expelidos para locais mais distantes como mostra a figura 14 (R. Mittal et al., 2020). Assim sendo, considera-se que a transmissão por gotículas ocorre através de contactos próximos não protegidos com indivíduos infetados, isto é, até um metro de distância. Porém, não é mutuamente exclusiva da transmissão por aerossóis (Tabatabaeizadeh, 2021). Adicionalmente, Lednicky et al. (2020) isolaram aerossóis contaminados com SARS-CoV-2 a partir de amostras do ar de distâncias superiores a dois metros de um doente infetado com COVID-19 (Lednicky et al., 2020). No entanto, permanece desconhecida a dose mínima necessária de partículas virais para infetar um indivíduo.

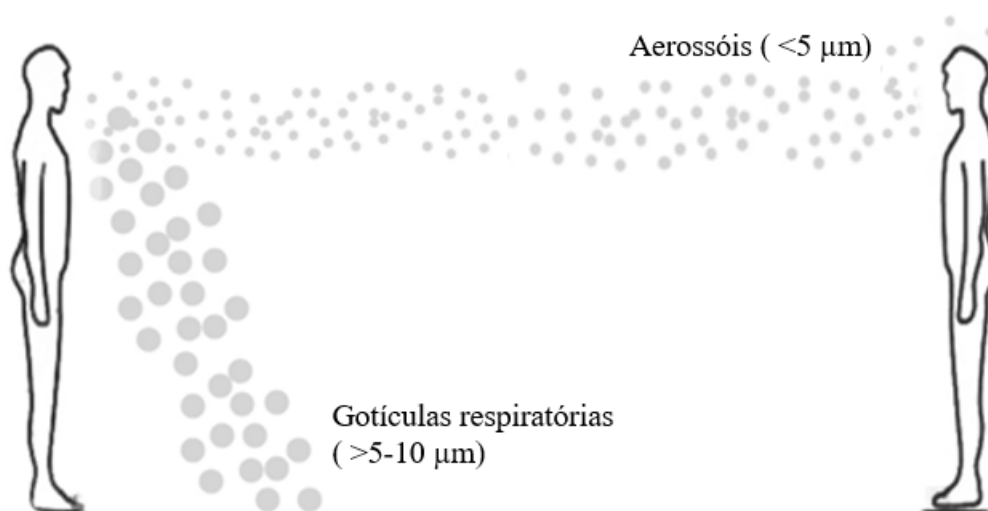


Figura 14 - Transmissão aérea de partículas. Os aerossóis (partículas inferiores a cinco micrómetros) ficam suspensos no ar por períodos mais longos que as gotículas respiratórias (partículas superiores a cinco micrómetros) e expelidos para locais mais distantes. Adaptado de Tabatabaeizadeh, 2021

Atualmente, medidas que se baseiam no distanciamento físico superior a dois metros, no uso correto de máscara, na limitação do número de pessoas em locais fechados e com boa ventilação levaram a uma diminuição da transmissão de SARS-CoV-2 por esta via.

2.4.2. Transmissão indireta

Para além da transmissão direta, o SARS-CoV-2 pode ser transmitido através do contacto com objetos e superfícies contaminados seguido do toque no rosto, olhos, boca ou nariz (Onakpoya et al., 2021).

Vários estudos mediram a viabilidade do SARS-CoV-2 em superfícies (Doremalen et al., 2020; Pastorino et al., 2020). Os resultados demonstraram que este vírus é capaz de permanecer infeccioso durante longos períodos (um a sete dias) em aço inoxidável, plástico e vidro (Doremalen et al., 2020; Pastorino et al., 2020). Por outro lado, pode permanecer viável durante períodos mais curtos (algumas horas até dois dias) em superfícies de papel e cartão (Doremalen et al., 2020), porém a sua viabilidade está dependente de fatores como a humidade e temperatura (Boone & Gerba, 2007).

No que concerne à transmissão indireta em locais como hospitais e centros de saúde, Gonçalves et al (2021) destaca o facto do ARN viral ser frequentemente detetado nas superfícies desses locais (Gonçalves et al., 2021). No entanto, a maioria dos estudos não inclui ensaios de infecciosidade viral, uma vez que requer cultura de células em laboratórios de biossegurança de nível 3 (Kaufer et al., 2020).

Até à presente data, o risco de transmissão por esta via ainda não é totalmente conhecido e depende de vários fatores como a concentração viável de vírus numa determinada superfície, a viabilidade do SARS-CoV-2 ao longo do tempo e a quantidade mínima necessária que tem de ser transmitida aquando do toque na boca, olhos ou nariz para que cause infeção (Onakpoya et al., 2021). Porém, várias diretrizes internacionais recomendam boas práticas de higiene para reduzir a propagação do vírus, tais como a lavagem regular das mãos e a limpeza e desinfeção de superfícies passíveis de serem contaminadas.

2.5. Patogénese da infeção

2.5.1. A infeção em humanos

Um dos principais problemas da COVID-19 é a multiplicidade de sintomas e manifestações que os doentes podem apresentar, variando desde uma infeção assintomática até doença grave e morte. Alguns dos principais fatores que contribuíram para a inesperada velocidade de transmissão e disseminação da pandemia foram a

elevada mobilidade mundial e o longo período de janela infecciosa antes do início de sintomas (Azkur et al., 2020).

Vários estudos epidemiológicos revelaram que o período de incubação do SARS-CoV-2 varia entre 1 a 14 dias e que 95% dos indivíduos sintomáticos manifestam sintomas até 14 dias após a exposição (Bi et al., 2020; Jin et al., 2020). No entanto, as cargas virais de infecções assintomáticas e sintomáticas podem ser semelhantes (Arons et al., 2020; Kimball et al., 2020).

De acordo com o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), qualquer pessoa pode apresentar sintomas leves a graves. Alguns dos sintomas mais comumente descritos de COVID-19 são tosse, febre, mialgia, dispneia e cefaleia. Sintomas como diarreia, náuseas e dor de garganta são menos frequentes (Abd El-Aziz & Stockand, 2020). Em casos graves, a infecção por SARS-CoV-2 pode levar a síndrome de disfunção respiratória aguda (ARDS, *acute respiratory distress syndrome*) e a manifestações extrapulmonares, como lesão renal aguda e trombose (G. Chen et al., 2020; Robbins-Juarez et al., 2020). Além disso, sintomas como anosmia e disgeusia têm-se tornado cada vez mais frequentes (figura 15) (Brann et al., 2020; Butowt & von Bartheld, 2020).

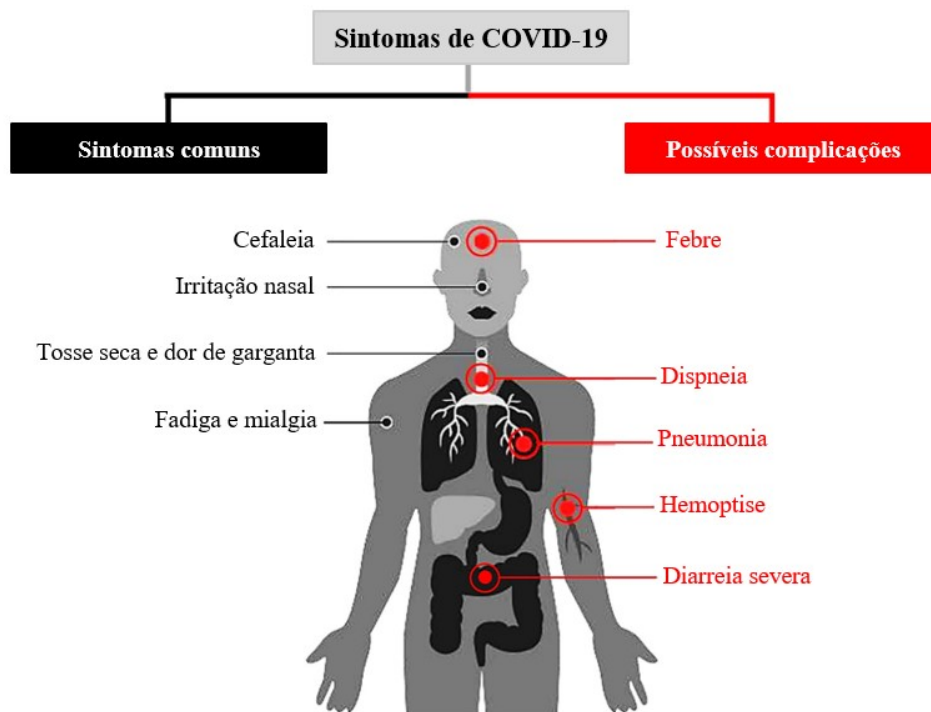


Figura 16 - Sintomas da COVID-19. Alguns dos sintomas mais comuns estão representados com a cor preta. Algumas das possíveis complicações estão representadas a vermelho. Adaptado de Abd El-Aziz & Stockand, 2020

Vários fatores de risco têm sido associados a um aumento da gravidade da doença, como por exemplo, obesidade, diabetes e doença renal (Cai et al., 2020; Henry & Lippi, 2020; Kumar et al., 2020). Embora atualmente os mecanismos permaneçam desconhecidos, a obesidade pode provocar uma resposta atenuada do IFN-I em indivíduos obesos (Honce et al., 2020). Igualmente, doenças cardiovasculares, incluindo hipertensão, doença cardíaca congénita e doença coronária, têm sido associadas não só a doença grave, como também à exacerbação de condições pré-existentes no período pós-recuperação (Tan & Aboulhosn, 2020; F. Zhou et al., 2020). Outro dos fatores de risco que contribui para a severidade da COVID-19 é a idade. Por um lado, as pessoas idosas têm maior probabilidade de desenvolver doenças graves, incluindo ARDS, durante a infeção por SARS-CoV-2 (C. Wu et al., 2020). Por outro, crianças e adolescentes diagnosticados com COVID-19 aparentam ter sintomas mais leves e resultados mais favoráveis do que em adultos (Mehta et al., 2020; Raschetti et al., 2020).

2.5.2. Efeitos da infeção na enzima conversora de angiotensina 2

A ACE2 é uma proteína transmembranar que atua como recetor das proteínas S presentes à superfície dos coronavírus (Xiantian et al., 2020). Além disso, a sua função fisiológica assume um papel fundamental na progressão da COVID-19, uma vez que as células epiteliais pulmonares expressam a ACE2 e são o principal alvo dos coronavírus (Rothan et al., 2020).

Um dos efeitos da infeção por SARS-CoV-2 é a diminuição da expressão de ACE2 na membrana da célula infetada, podendo agravar o prognóstico da doença (Mortaz et al., 2020). Este processo deve-se sobretudo à internalização da ACE2 aquando do processo de endocitose após ocorrida a ligação da proteína S ao respetivo recetor, resultando num aumento dos níveis séricos de Ang II (Ilona Glowacka et al., 2010; Kuba et al., 2005). Os resultados de diversos estudos indicam que a ligação da proteína S do SARS-CoV ao respetivo recetor diminui a função protetora da ACE2 e daí resulta uma acumulação de Ang II (Kuba et al., 2005). O facto do SARS-CoV e do SARS-CoV-2 utilizarem o mesmo recetor para entrar na célula hospedeira (R. Lu et al., 2020), leva a presumir que os efeitos da infeção por ambos possam ser semelhantes. A consequente desregulação no RAS não só leva a uma maior permeabilidade vascular e induz lesão pulmonar, assim como também agrava a situação clínica de indivíduos com comorbilidades (Kuba et al., 2005; Rothan et al., 2020).

Adicionalmente, um outro mecanismo associado à infecção por SARS-CoV-2 que contribui para a diminuição das funções da ACE2 está relacionado com o aumento da expressão da A desintegrina e metaloprotease 17 (ADAM17, *A disintegrin and metalloprotease 17*). Esta é uma proteína transmembranar com atividade metaloprotease dependente de zinco que utiliza a ACE2 como substrato (Patel et al., 2016). Inicialmente suspeitava-se que esta protease apenas clivava e, consequentemente, ativava o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α , *Tumor necrosis factor alpha*), contribuindo para o processo inflamatório. No entanto, atualmente sabe-se que a ADAM17 é um fator indispensável em praticamente todas as funções celulares desde a proliferação à migração celular, nomeadamente na ativação ou inativação de citocinas, fatores de crescimento e respetivos recetores ou ainda moléculas de adesão (Fan et al., 2015; Gooz, 2010). A clivagem da ACE2 por parte da ADAM17 resulta na libertação do seu ectodomínio e, por conseguinte, numa desregulação do RAS (figura 16) (Patel et al., 2016; Shen et al., 2018).

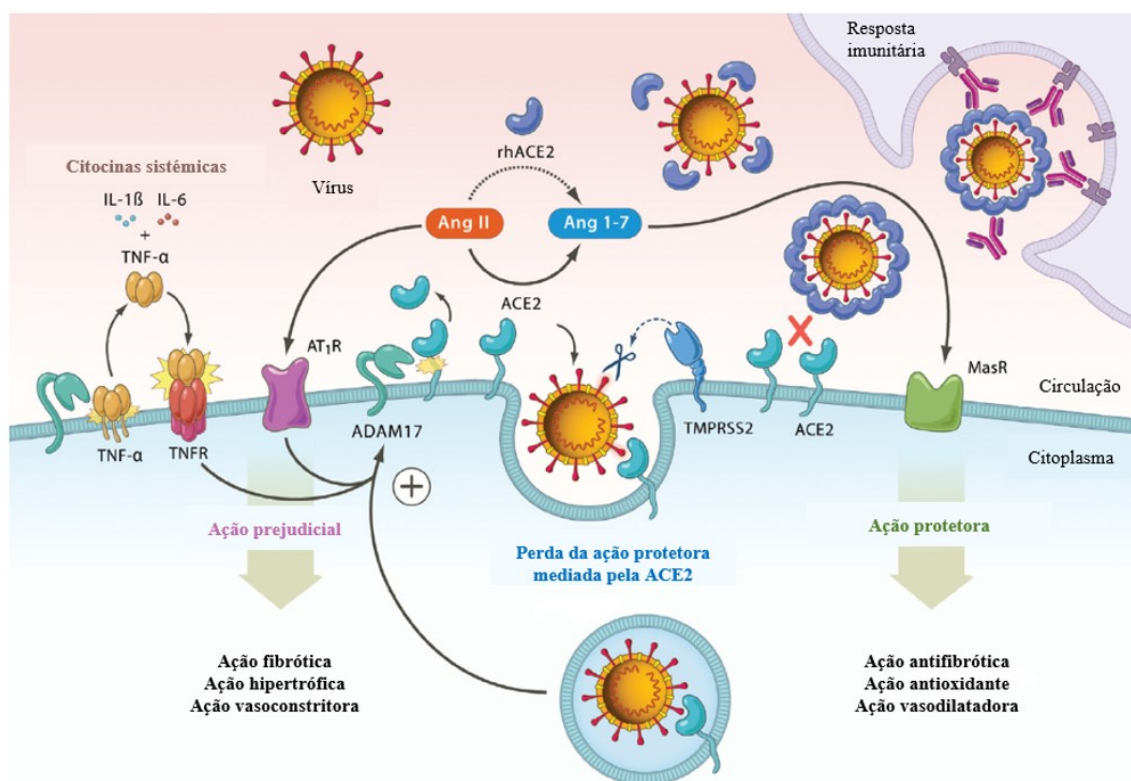


Figura 17 - Papel da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) na patogénese da *coronavirus disease* (COVID-19) e na resposta inflamatória. TNF- α , fator de necrose tumoral alfa; TNFR, recetor do fator de necrose tumoral alfa; IL-1 β , interleucina 1beta; IL-6, interleucina 6; AT₁R, recetor da angiotensina I; ADAM17, A desintegrina e metaloprotease 17; Ang II, Angiotensina II; Ang 1-7, angiotensina 1-7; ACE2, enzima conversora de angiotensina 2; rhACE2, enzima conversora de angiotensina 2 recombinante humana; TMPRSS2, Protease transmembranar serina 2; MasR, recetor Mas; ROS, espécies de oxigénio reativas. Adaptado de Gheblawi et al., 2020

Por um lado, o cenário de diminuição da atividade da ACE2 não permite que as ações consequentes da ligação da Ang II ao recetor AT1R sejam contrabalançadas pela conversão desta em Ang 1-7 e todo este processo está mais desequilibrado em situações em que haja uma infeção massiva das células alvo por parte do SARS-CoV-2. Por outro, é expectável que a patogénese da infeção por SARS-CoV-2 não se resuma à desregulação do RAS, uma vez que uma imensa contribuição para os casos graves de COVID-19 é dada por uma “tempestade de citocinas” (F. Zhou et al., 2020).

2.5.3. O processo inflamatório associado à infeção

A transmissão e a severidade da COVID-19 parecem estar relacionadas com a carga viral que atinge o TRS e o trato respiratório inferior (TRI), respetivamente (Cevik et al., 2021). A suscetibilidade à entrada do vírus é explicada pelo facto de células epiteliais do TRS apresentarem elevada expressão da ACE2 (H. Xu et al., 2020; F. Zhou et al., 2020). Inicialmente, as proteínas S distribuídas uniformemente à superfície do vírus irão interagir com as células epiteliais e, após esta ligação, a TMPRSS2, localizada na membrana das células hospedeiras, irá promover a entrada do vírus (M. Y. Wang et al., 2020). Após propagar-se e multiplicar-se pelo TRI, o SARS-CoV-2 alcança o epitélio brônquico e as células alveolares, nomeadamente, os pneumócitos tipo II, que expressam a ACE2 e a TMPRSS2. Nas formas moderadas a graves de COVID-19, ocorre uma intensa replicação viral nos pulmões, desencadeando respostas imunes locais e sistémicas (M. Y. Wang et al., 2020). Através da análise das lesões pulmonares é possível verificar alterações patológicas, degeneração e hiperplasia consequentes da resposta inflamatória que ocorre com a progressão da doença (Li et al., 2020).

Em certos casos, a doença desencadeia uma condição hiperinflamatória que está associada a um comprometimento da resposta imunitária e é geralmente responsável pela fatalidade da COVID-19 (Coperchini et al., 2020). A esta condição deu-se o nome “tempestade de citocinas” ou *cytokine storm* e caracteriza-se pela elevada quantidade de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas que são produzidas face a uma resposta imune desregulada com subsequente falência multiorgânica (Mulchandani et al., 2021). Vários estudos sugerem que o nível de reatividade da resposta imunitária é significativamente maior em indivíduos infetados com doença grave em comparação com doentes que manifestam sintomas de doença leve (G. Chen et al., 2020; T. Liu et al., 2020). Para além dos elevados níveis de citocinas circulantes, este estado está relacionado com

linfopenia grave, trombose e infiltração de células mononucleares em diversos órgãos (Merad & Martin, 2020). A monitorização de diversos biomarcadores, como por exemplo, de proteína C-reativa (PCR), lactato desidrogenase (LDH), ferritina e de citocinas poderá ser utilizada para determinar a severidade da COVID-19, uma vez que os níveis séricos destes biomarcadores aumentam com a progressão da doença (Bhaskar et al., 2020).

Devido a tratar-se de um vírus desconhecido, é necessária uma melhor compreensão da patogénese associada à COVID-19 com o objetivo de prevenir e evitar a progressão para doença grave.

2.5.4. *Imunopatogénese inflamatória*

O espectro de apresentação clínica da COVID-19 é amplo e pode variar desde infeção assintomática até pneumonia viral grave com insuficiência respiratória, disfunção de múltiplos órgãos e morte (Azkur et al., 2020). Estudos indicam que a progressão da COVID-19 está diretamente relacionada com a carga viral que atinge os alvéolos pulmonares (Yu et al., 2020).

Indivíduos com doença ligeira a moderada podem mostrar sinais de recuperação após a primeira semana de infeção, porém alguns podem permanecer com sintomas ou até piorar (Machhi et al., 2020). Nos casos severos surgem sinais de emergência, incluindo dificuldade respiratória devido a pneumonia, sendo a progressão para ARDS a principal característica clínica de doentes críticos. Esta condição impede que as trocas gasosas sejam corretamente realizadas e, fisiopatologicamente, os pulmões sofrem danos tecidulares que levam a hipoxia com consequente falha multiorgânica (N. Chen et al., 2020; Sun et al., 2020).

Quando o vírus atinge os pulmões, as células epiteliais alveolares e macrófagos alveolares utilizam recetores de reconhecimento de padrões (PRRs, *pattern recognition receptors*) que reconhecem padrões moleculares associados a agentes patogénicos (PAMPs, *pathogen-associated molecular patterns*) virais, isto é, moléculas que habitualmente não se encontram nas células hospedeiras, como por exemplo, estruturas do genoma viral e adenosina trifosfato (ATP) (Tay et al., 2020).

Segue-se uma inflamação local que envolve a secreção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, nomeadamente interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), interleucina 10 (IL-10), TNF- α , fator estimulador de colónias de granulócitos-

macrófagos (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), proteína 10 induzida pelo interferão-gama (IP10, *interferon gamma-induced protein 10*), proteína 1 quimioatratora de monócitos (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein-1*) e proteína inflamatória de macrófagos 1 alfa (MIP1 α , *macrophage inflammatory protein 1 alpha*) (Huang et al., 2020). Consequentemente, há um recrutamento de monócitos e linfócitos T do sangue para o local infectado (Tian et al., 2020; Z. Xu et al., 2020).

A maioria dos indivíduos infectados desenvolve uma resposta antiviral adequada e os doentes acabam por recuperar. Porém, em alguns doentes ocorre uma resposta imunológica disfuncional, que desencadeia uma “tempestade de citocinas” que causa uma inflamação pulmonar generalizada (Tay et al., 2020). Estudos demonstram que doentes internados apresentam níveis plasmáticos mais elevados de GM-CSF, IP10, MCP-1, MIP1 α e TNF- α em comparação com doentes não internados (Huang et al., 2020). Além disso, vários fatores pró-trombóticos encontram-se aumentados em doentes com COVID-19 desde o início da doença e o seu aumento está correlacionado com a progressão da doença (Ranucci et al., 2020; Tang et al., 2020). Adicionalmente, os níveis de IL-6 aumentam também com a progressão da doença e estão relativamente mais elevados em indivíduos que acabam por não sobreviver (F. Zhou et al., 2020).

Todos estes fatores podem culminar na destruição da membrana pulmonar que, consequentemente, não só aumenta a permeabilidade do endotélio, resultando em edema e hipoxemia, como leva à libertação de vírus e PAMPs para a corrente sanguínea (Hiraiwa & van Eeden, 2014). A disseminação sistêmica de citocinas e quimiocinas, nomeadamente TNF- α e IL-6 pode atingir diversos órgãos, levando à falência dos mesmos (Moore & June, 2020; C. Zhang et al., 2020). Clinicamente, estas alterações patológicas manifestam-se como ARDS (Q. Liu et al., 2016).

2.5.5. Resposta imune contra o SARS-CoV-2

Após replicação viral dentro da célula hospedeira, o SARS-CoV-2 é reconhecido pelo sistema imunitário inato do hospedeiro que, consequentemente, ativa linfócitos T e células dendríticas. O reconhecimento do ARN viral ocorre principalmente no compartimento endossomal e citosólico por duas classes de PRRs, designados recetores tipo Toll (TLRs, *Toll-like receptors*) e recetores RIG-I-like (RLRs, *RIG-I-like receptors*), respetivamente.

A resposta por interferão (IFN) constitui a principal linha de defesa contra vírus (Park & Iwasaki, 2020). O reconhecimento de infecções virais por sensores imunes inatos ativa a resposta de IFN-I e interferão tipo III (IFN-III). Ambos estabelecem um estado celular de resistência viral, bem como ativam respostas imunes adaptativas aos vírus (Ivashkiv & Donlin, 2014). A ativação da via sinalização de IFN-I, em particular, pode ser lesiva devido aos seus efeitos sistêmicos e pró-inflamatórios (Ivashkiv & Donlin, 2014).

Uma vez que o SARS-CoV-2 se replica no citoplasma, pode ser reconhecido por sensores de ARN citosólico, nomeadamente o gene I induzível com ácido retinóico (RIG-I, *Retinoic acid-inducible gene 1*) e a proteína 5 associada à diferenciação de melanoma (MDA5, *Melanoma differentiation-associated protein 5*) (Park & Iwasaki, 2020). Na ausência destes sensores, a indução de IFNs é suprimida (J. Li et al., 2010). A secreção de IFN-I e IFN-III induz a expressão de genes estimulados por interferão (ISGs, *interferon-stimulated genes*) através da via de sinalização Janus quinase-sinal transdutor e ativador da transcrição (JAK-STAT, *Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*), de modo a atingir um estado de resistência viral intrínseco da célula hospedeira (Park & Iwasaki, 2020).

Um dos potenciais alvos terapêuticos à “tempestade de citocinas” passa pelo bloqueio da via de sinalização JAK-STAT, uma vez que a produção de algumas interleucinas (ILs) depende dela. A utilização de baricitinib mostrou resultados promissores em conjunto com terapêutica antiviral, uma vez que conseguiu inibir seletivamente a Janus quinase 1 (JAK 1, *Janus kinase 1*) e a Janus quinase 2 (JAK 2, *Janus kinase 2*), reduzindo os efeitos inflamatórios da IL-6 pela via de sinalização JAK-STAT (Cantini et al., 2020). Além disso, a utilização de fármacos inibidores da produção de IL-1 e IL-6 representam outra potencial estratégia terapêutica, nomeadamente a utilização de anakinra e tocilizumab (Favalli et al., 2020; Gabay, 2006).

Por outro lado, moléculas como o TLR3, TLR4, TLR7 e o TLR8 são necessárias para a proteção contra coronavírus (Park & Iwasaki, 2020). Vários estudos revelam a importância destas moléculas, pelo que a sua ausência resulta numa maior suscetibilidade da célula hospedeira ser infetada, numa eliminação viral retardada e num maior dano pulmonar (Totura et al., 2015; J. Zhao et al., 2014). Através destes TLRs a cascata de sinalização mediada por fatores de transcrição do fator nuclear kB (NF-kB, *Nuclear factor kappa B*) é ativada e leva à produção de citocinas pró-inflamatórias e

quimiocinas, como IL-1, IL-6 e TNF- α . Todo este processo de resposta por parte do sistema imunitário está representado na figura 17.

No entanto, os coronavírus permanecem altamente patogênicos devido a possuírem mecanismos virais que evitam e suprimem a resposta de IFNs (Park & Iwasaki, 2020). Diversos estudos demonstraram que a infecção por SARS-CoV-2 limita a resposta de IFN-I e de IFN-III, enquanto induz genes de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas (Blanco-Melo et al., 2020).

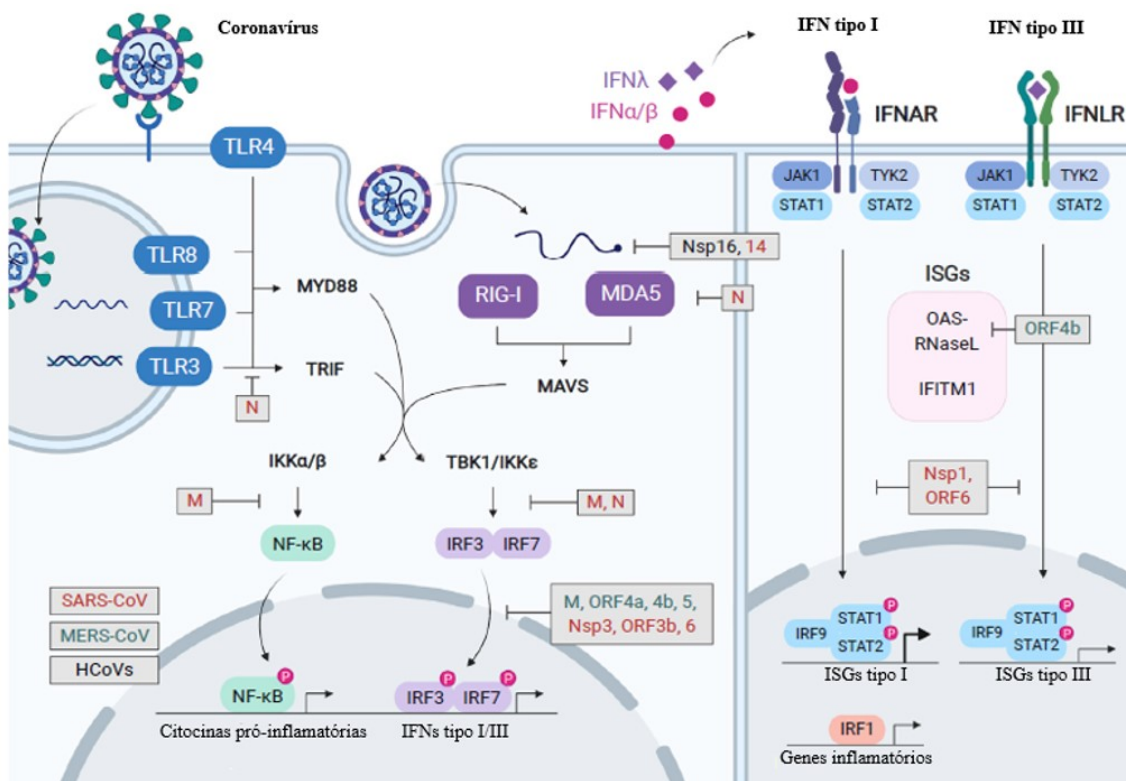


Figura 18 - Infecção por SARS-CoV-2 e respetivo reconhecimento pelo sistema imunitário. TLR3, recetor Toll-like 3; TLR4, recetor Toll-like 4; TLR7, recetor Toll-like 7; TLR8, recetor Toll-like 8; RIG-I, gene I induzível com ácido retinóico; MDA5, proteína 5 associada à diferenciação de melanoma; NF- κ B, fator nuclear κ B; IRF3, fator regulador 3 de interferão; IRF7, fator regulatório 7 de interferão; IFN-I, interferão tipo I; IFN-III, interferão tipo III; ISG, gene estimulado por interferão; JAK-STAT, via de sinalização Janus quinase-sinal transdutor e ativador da transcrição. Após reconhecimento do SARS-CoV-2 por vários recetores (TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, RIG-I e MDA5) ocorre uma produção de citocinas pró-inflamatórias e de IFN-I e IFN-III de forma a combater a infecção por SARS-CoV-2. Adaptado de Park & Iwasaki, 2020

3. POTENCIAIS ALVOS TERAPÊUTICOS IDENTIFICADOS

3.1. Interação entre a proteína S e a ACE2

A compreensão do modo como o SARS-CoV-2 infeta as células humanas é uma prioridade para conter a sua disseminação. A interação entre a GpS com o seu respetivo recetor e a consequente fusão com a membrana celular vão ser determinantes na eficácia da infeção e da transmissão do vírus (Xia et al., 2020).

Como referido anteriormente, a proteína S é estruturalmente composta por três S1 que participam na ligação ao recetor e três S2 que estão envolvidas na fusão do invólucro viral com a membrana da célula (Gorkhali et al., 2021; M. Y. Wang et al., 2020). O mecanismo de entrada na célula do SARS-CoV-2 tem sido amplamente estudado e o início do ciclo replicativo está dependente de várias proteases celulares. Por um lado, em consequência da clivagem por parte de proteases *Furin-like* no local S1/S2, há um aumento da afinidade da S1 para o recetor ACE2 e, por conseguinte, promovem a ligação do vírus à célula (Hoffmann et al., 2020a). Por outro, para que a entrada do vírus na célula ocorra eficientemente é necessário que a S2 seja clivada no local S2', de modo a que se torne fusogenicamente competente. Esta segunda clivagem pode ser mediada por uma protease plasmática da célula designada TMPRSS2 ou, em alternativa e adicionalmente a esta, por proteases endossomais, nomeadamente por intermédio da Cathepsina B e da Cathepsina L (Belouzard et al., 2012).

A definição do mecanismo de entrada do vírus permite que sejam desenvolvidas estratégias com o objetivo de preveni-lo e uma das hipóteses criadas com esse intuito baseou-se na inibição das três proteases anteriormente referidas. Por um lado, estudos *in vitro* demonstraram que o SARS-CoV-2 depende maioritariamente da atividade proteolítica da TMPRSS2 para entrar na célula e que a sua inibição é suficiente para prevenir a entrada do vírus em células pulmonares (Hoffmann, Kleine-Weber, Schroeder, et al., 2020; Shang et al., 2020). Por outro lado, a inibição desta protease poderá reduzir o tropismo do SARS-CoV-2 e aumentar as respostas imunes antivirais do hospedeiro (Glowacka et al., 2011; Matsuyama et al., 2020). Adicionalmente, estudos indicam que apenas a atividade da TMPRSS2 é crucial para a replicação e patogénese viral, contrariamente à atividade dispensável da Cathepsina B e Cathepsina L (figura 18) (Iwata-Yoshikawa et al., 2019). Desta forma, torna-se pertinente a avaliação de inibidores da TMPRSS2 em ensaios clínicos randomizados, uma vez demonstrada a sua atividade antiviral (Hoffmann et al., 2020b; Yamamoto et al., 2016).

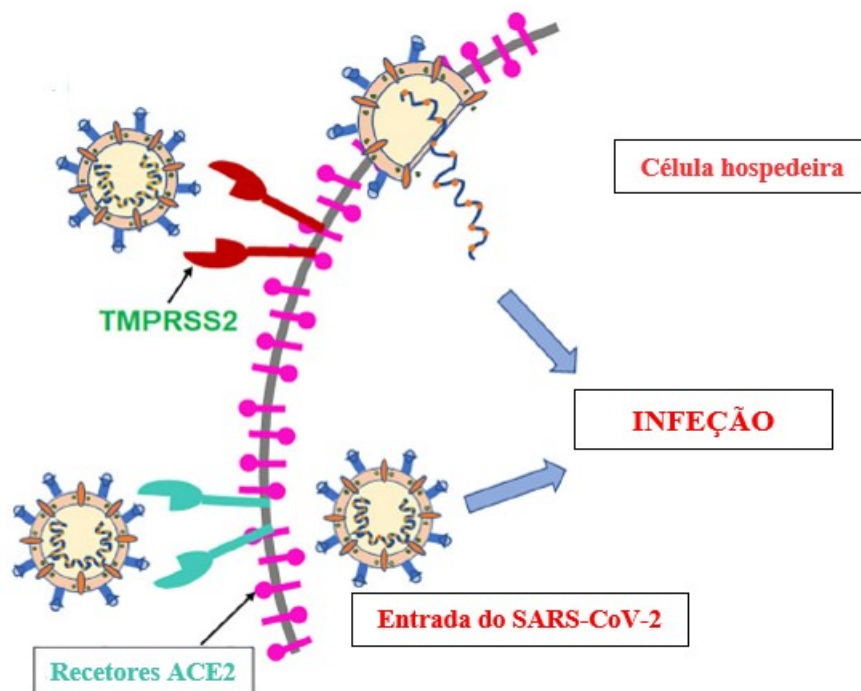


Figura 19 - Mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira. TMPRSS2, Protease transmembranar serina 2. Adaptado de Shamsi et al., 2021

Adicionalmente, foi demonstrado que a infecção por SARS-CoV-2 é suprimida através da utilização de concentrações elevadas de ACE2 na sua forma solúvel (sACE2, *Soluble angiotensin-converting enzyme 2*) (Monteil et al., 2020). Esta não possui o domínio transmembranar mas mantém a atividade enzimática e liga-se à GpS, antagonizando a ligação da ACE2 (Hong et al., 2009; Kiani et al., 2020). Embora esta abordagem apresente menor afinidade à proteína S e menor tempo de semivida em comparação com anticorpos específicos (Trougakos et al., 2021), poderá servir de base à produção de anticorpos com afinidade ao RBD superior à ACE2, representando outra estratégia com o intuito de impedir a entrada do vírus na célula.

Por fim, uma vez que a proteína S induz a produção de anticorpos neutralizantes, é um alvo principal para o desenvolvimento de vacinas (Vogel et al., 2021). Esta abordagem tem como objetivo inibir profilaticamente o ciclo replicativo do SARS-CoV-2, induzindo anticorpos neutralizantes específicos ao vírus (Trougakos et al., 2021). Algumas das vacinas testadas em humanos mostraram resultados promissores com a indução de anticorpos neutralizantes e de respostas de linfócitos T citotóxicos (CD8⁺) (Keech et al., 2020; Mulligan et al., 2020). Atualmente, estão autorizadas quatro vacinas na União Europeia e as suas propriedades antivirais serão abordadas posteriormente.

3.2. Via endocítica e processo de autofagia

O ciclo replicativo de SARS-CoV-2 consiste num conjunto de etapas entre as quais a fusão da membrana viral com a membrana da célula hospedeira e posterior formação de endossomas (Y. Chen et al., 2021). Este processo é designado endocitose e, até à data, é considerada a principal via de entrada dos coronavírus nas células hospedeiras (Qin et al., 2004). Embora os mecanismos de entrada do SARS-CoV-2 ainda não tenham sido totalmente compreendidos, vários estudos corroboram que a via endocítica seja o principal modo de entrada dos coronavírus nas células hospedeiras e que seja dependente do baixo valor de pH nos endossomas (Yang & Shen, 2020). Adicionalmente, os lisossomas desempenham uma função importante no processo de autofagia, uma vez que degradam o conteúdo fagocitado por autofagossomas através de hidrolases (Shen & Mizushima, 2014). Até ao momento, este processo tem sido largamente investigado no contexto de infeções virais e estudos demonstraram que não só está implicado na replicação do SARS-CoV como ainda poderá exercer funções pró ou antivirais (Abdoli et al., 2018; Zhao et al., 2007). Deste modo, foram desenvolvidos vários estudos com o objetivo de compreender as interações do processo de autofagia no ciclo replicativo do SARS-CoV-2 e os resultados obtidos até à data são semelhantes aos alcançados com o SARS-CoV (Brest et al., 2020; Shojaei et al., 2020).

Assim sendo, o desenvolvimento de novos fármacos ou a utilização de outros já comercializados com o intuito de limitar a propagação dos vírus através da inibição da via endocítica e/ou do processo de autofagia poderá representar numa estratégia terapêutica alternativa ao combate à COVID-19. Um dos exemplos de fármacos que demonstraram efeitos antivirais *in vitro* foi a hidroxicloroquina/cloroquina (M. Wang et al., 2020), porém com resultados controversos *in vivo* (Kaptein et al., 2020; Maisonnasse et al., 2020).

3.3. Protease principal

Após o surto de SARS-CoV, o aumento do conhecimento relativamente à estrutura e funções da 3CL^{pro} dos coronavírus no passado permitiu que esta enzima se tornasse num dos principais alvos terapêuticos para a descoberta de medicamentos contra o SARS-CoV-2 (Thiel et al., 2003; Ziebuhr, 2004). O facto desta protease clivar exclusivamente sequências polipeptídicas após um resíduo de glutamina, leva-a a ser

considerada um alvo terapêutico ideal, uma vez que, até à data, não são conhecidas proteases nas células hospedeiras humanas que catalizem a mesma reação (L. Zhang et al., 2020a; L. Zhang et al., 2020b). Para além disso, a 3CL^{pro} revela um papel fundamental na replicação viral, pois cliva a pp1a e a pp1ab em onze locais distintos (Raj et al., 2021). Consequentemente exerce a sua atividade proteolítica em diversas NSPs, incluindo a NSP12 com atividade ARN polimerase dependente de ARN (RdRp, *RNA-dependent RNA polymerase*) a NSP13 que funciona como helicase (L. Zhang et al., 2020a). Estas duas últimas enzimas requerem clivagem proteolítica pela 3CL^{pro} para serem funcionais (Thiel et al., 2003). Desta forma, a inibição da 3CL^{pro} impede que sejam produzidas partículas virais infecciosas e, assim, aliviar os sintomas da COVID-19 (Grum-Tokars et al., 2008).

Atualmente existem vírus, como o vírus da imunodeficiência humana (VIH) e o vírus da hepatite C (VHC), com vários medicamentos aprovados que têm como alvos terapêuticos as respetivas proteases virais (Agbowuro et al., 2018). A utilização de inibidores das proteases, nomeadamente o atazanivir, o favipiravir e a combinação lopinavir/ritonavir, já foi testada em ensaios clínicos (Beck et al., 2020; C. Chen et al., 2020; Hung et al., 2020). A utilização de fármacos pertencentes a esta classe de antivirais irá ser discutida posteriormente.

3.4. Complexo replicação-transcrição

A síntese de ARN viral pode ser dividida em duas etapas. Em primeiro lugar, a replicação do genoma dos coronavírus envolve a síntese de uma cadeia negativa de ARN não segmentado de forma a criar um modelo complementar e a sua cópia subsequente em múltiplos genomas de ARN de cadeia positiva. Segue-se depois a transcrição de ARNs subgenómicos que servirão como modelos para a tradução das proteínas estruturais e acessórias (Baric & Yount, 2000; Pasternak et al., 2006). Este processo, em comum com outros vírus ARN de cadeia positiva, é mediado pela NSP12 que tem uma atividade RdRp, em conjunto com outras enzimas replicativas codificadas pela ORF1ab e que formam o Complexo Replicação-Transcrição (RTC, *Replication-transcription complex*) (Subissi et al., 2014). A replicação viral tem início quando a NSP12 se liga à extremidade 3' do genoma para iniciar a síntese da cadeia negativa (Sola et al., 2015).

A replicação e a transcrição ocorrem no citoplasma das células infectadas e são mediadas pelo RTC (Snijder et al., 2020). Este complexo engloba a maioria das NSPs, a nucleocápside viral e várias proteínas da célula hospedeira (Robson et al., 2020). As proteínas virais que têm um papel crucial no RTC são a NSP12, a NSP13, que desenrola o ARN no sentido 5'-3' formando cadeias únicas de ARN que servirão de modelo para a síntese de ARN, e as NSP7 e NSP8, que medeiam a atividade da RdRp (figura 19) (Sola et al., 2015; Subissi et al., 2014). Estudos indicam que a atividade da NSP13 é aumentada pela interação direta com a NSP12, sugerindo que a eficiência da síntese de ARN é melhorada quando ambas interagem entre si (Adedeji et al., 2012).

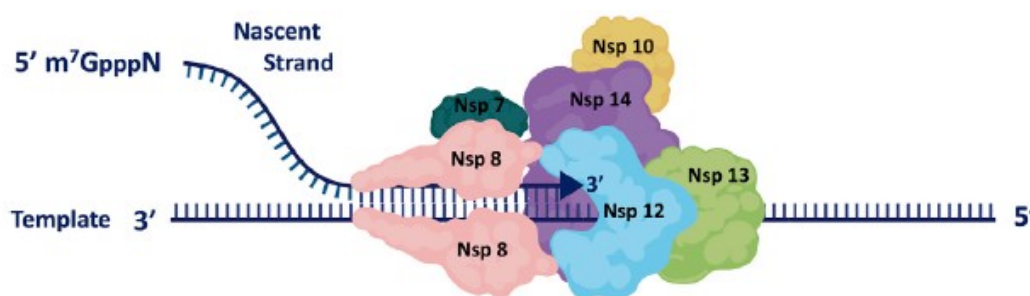


Figura 20 - Complexo de replicação-transcrição do SARS-CoV-2. m7GpppN, ligação trifosfato 5'-5'. As diferentes proteínas não estruturais (NSPs) estão representadas por cores diferentes. Primeiramente, A NSP13 “desenrola” a dupla cadeia de ácido ribonucleico (ARN). Seguidamente, a NSP12 replica e transcreve o genoma e os ácidos ribonucleicos mensageiros subgenômicos (sgmARNs). A NSP7 e NSP8 garantem normal atividade da NSP12. A NSP10 funciona como cofator da NSP14 formando um complexo que remove os nucleótidos incompatíveis incorporados. Adaptado de Robson et al., 2020

Devido à natureza intracelular obrigatória dos vírus, torna-se desafiante a descoberta de fármacos que, por um lado afetem o agente infeccioso, mas que por outro não prejudiquem a célula hospedeira. A estratégia de *drug-repurposing* utilizando antivirais existentes para combater surtos de coronavírus é amplamente reconhecida como a estratégia mais rápida para obter tratamentos eficazes (Guangdi Li & De Clercq, 2020). A utilização deste tipo de medicamentos que têm como alvo a RdRp demonstra ser uma alternativa terapêutica eficaz, uma vez que existem antivirais que se ligam fortemente a esta enzima (Elfiky, 2020). Porém, o mecanismo de *proofreading*, isto é, a capacidade de remover nucleótidos incompatíveis durante a síntese de ARN para

prevenir ou reparar mutações, por parte da NSP14 resultou na resistência nativa dos coronavírus a muitos antivirais com propriedades comprovadas (Denison et al., 2011; Ferron et al., 2017). Adicionalmente, sendo a NSP14 uma proteína com atividade 3' 5' exoribonuclease, esta é importante no processo de replicação do SARS-CoV-2, na medida em que permite uma grande estabilidade da informação genética que é característica dos coronavírus (Minskaia et al., 2006).

Os antivirais, nomeadamente da classe dos análogos dos nucleótidos, exercem o seu efeito ao incorporarem-se nos genomas virais e, conseqüentemente inibem a replicação dos vírus (Robson et al., 2020). Atualmente, existem alguns agentes terapêuticos que demonstraram resultados promissores *in vitro* no combate à infecção por SARS-CoV-2, designadamente o remdesivir (M. Wang et al., 2020). Para além disso, este fármaco demonstrou efeitos clínicos favoráveis em indivíduos infetados com COVID-19 que progrediram para doença severa (Beigel et al., 2020; Grein et al., 2020). Os fármacos que atuam no RTC irão ser posteriormente abordados.

4. ABORDAGENS TERAPÊUTICAS APLICADAS NA ATUALIDADE

Desde o início da pandemia que o tratamento de doentes infetados com COVID-19 incluiu o controlo de sintomas e comorbilidades associadas à infeção causada pelo SARS-CoV-2, nomeadamente através da intervenção de medidas de suporte respiratório e hemodinâmico (Abd El-Aziz & Stockand, 2020). O facto de se tratar de um novo vírus e de não existirem medicamentos aprovados contra a COVID-19, desencadeou um forte investimento na investigação e desenvolvimento de novos fármacos (Alexander et al., 2020). Deste modo, devido à elevada necessidade de se encontrarem soluções terapêuticas eficazes levou a que se adotassem maioritariamente estratégias com base no reposicionamento de fármacos existentes ou *drug repurposing*. À data da realização deste trabalho, muitas dessas estratégias utilizam não só medicamentos com ação antiviral que intervêm no ciclo replicativo do SARS-CoV-2, como também se baseiam em medicamentos que atenuam a resposta hiperinflamatória associada a doença grave (Scavone et al., 2020). Além disso, existem inúmeros ensaios clínicos randomizados a decorrer no momento e já existem medicamentos aprovados contra a COVID-19 (Guérin & Maguire, 2020). Este panorama de evidência científica em rápida evolução levou também à descoberta de medicamentos que não exercem qualquer ação contra o SARS-CoV-2 ou que têm efeitos nefastos em indivíduos infetados (Lamontagne et al., 2020).

Nas seções seguintes são abordadas as recomendações terapêuticas da OMS publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021.

4.1. Corticosteroides sistémicos

Os corticosteroides são um grupo de hormonas produzidas pelo córtex adrenal e estão indicados para várias patologias, como por exemplo, asma, eczema e artrite reumatoide (Wagner et al., 2021). Os fármacos que pertencem a este grupo, nomeadamente a dexametasona, metilprednisolona e a hidrocortisona, têm propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras quando administrados em doses elevadas (Barnes, 2006). Este grupo de fármacos pode ser administrado por via oral ou intravenosa (IV) (Wagner et al., 2021). A dexametasona é um dos principais corticosteroides sintéticos utilizados e está presente na lista de medicamentos essenciais

da OMS desde 1977. Dois anos depois, a prednisolona entrou também para essa lista (Persaud et al., 2019).

Tendo em conta o conhecimento das infecções causadas pelos SARS-CoV e o MERS-CoV, no início da pandemia da COVID-19 o uso de corticosteroides sistêmicos não era recomendado devido aos seus efeitos imunossupressores, podendo agravar o estado clínico dos doentes (Arabi et al., 2018; N. Lee et al., 2004). No entanto, foi proposto que este grupo de hormonas pudesse ser clinicamente eficaz em casos severos e críticos de COVID-19. Atualmente, dado o estado hiperinflamatório desta doença, as abordagens imunomoduladoras, incluindo os corticosteroides, continuam a ser avaliadas para tratar a ARDS e a inflamação sistémica que a caracteriza (Lamontagne et al., 2020).

Acredita-se que doentes infetados pelo SARS-CoV-2 tenham uma resposta imunodeficiente e, conseqüentemente desenvolvam uma inflamação local fisiopatologicamente característica de insuficiência respiratória (Schulte-Schrepping et al., 2020). Caso o estado clínico destes indivíduos agrave, ocorre uma resposta inflamatória sistémica através da libertação excessiva de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, podendo levar a lesão pulmonar com desenvolvimento de ARDS (Wagner et al., 2021). Uma vez que os corticosteroides sistêmicos possuem ações anti-inflamatórias potentes, podem prevenir ou diminuir os efeitos da reação inflamatória nos doentes através do controlo da libertação de citocinas (Villar et al., 2020).

4.1.1. Mecanismo de ação

Os glucocorticoides têm como alvo terapêutico as células mieloides, nomeadamente macrófagos, monócitos, células dendríticas e granulócitos. Além disso, exercem ações em linfócitos, nomeadamente $CD8^+$, linfócitos T *helper* 1 (Th1), linfócitos T *helper* 2 (Th2), linfócitos T *helper* 17 (Th17) e células B (Cain & Cidlowski, 2017; Heming et al., 2018). A ação deste grupo de medicamentos reprime a maturação, diferenciação e a proliferação de subtipos de leucócitos, principalmente de células dendríticas, eosinófilos e basófilos (Boumpas et al., 1993). Adicionalmente inibem a ativação de células B e a libertação de imunoglobulinas (Cupps et al., 1985).

Os glucocorticoides exercem igualmente uma ação anti-inflamatória ao estimularem a síntese e libertação de proteínas anti-inflamatórias e ao inibirem proteínas pró-inflamatórias (Annane, 2021). Este grupo de hormonas, após ligarem-se ao seu

recetor e este ser ativado, reprime a expressão de genes pró-inflamatórios. Consequentemente, a expressão do fator regulador 3 de interferão (IRF3, *interferon regulatory factor 3*) presente na produção de interferões é inibida (Ogawa et al., 2005; Reily et al., 2006). Além disso, suprimem a produção de citocinas pró-inflamatórias e de quimiocinas, nomeadamente de interleucina 2 (IL-2), interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5) e de interleucina 13 (IL-13) (Cain & Cidlowski, 2017; Heming et al., 2018).

O aumento de citocinas pró-inflamatórias não só está diretamente relacionado com a severidade da COVID-19, como a elevação dos níveis de interleucina 6 (IL-6) e TNF- α aumentam o risco de morte por COVID-19 (Del Valle et al., 2020). Uma vez que os glucocorticoides interferem na síntese destas moléculas, a sua ação anti-inflamatória poderá diminuir o estado hiperinflamatório característico de um nível excessivo de citocinas, controlando a reação do sistema imunitário de indivíduos infetados com COVID-19.

4.1.2. *Aplicação na COVID-19*

De acordo com as diretrizes publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021 da OMS relativas às terapêuticas para a COVID-19, o uso de corticosteroides sistémicos está recomendado para doentes com COVID-19 grave e crítica, em detrimento da não utilização deste conjunto de fármacos nos grupos de pessoas anteriormente referidos. Esta recomendação baseia-se nos resultados obtidos em 8 ensaios clínicos randomizados que avaliaram os efeitos dos glucocorticoides em oposição à aplicação de cuidados de rotina na COVID-19 (dexametasona administrada numa dose diária de 6 mg, oral ou IV, em oposição à aplicação de cuidados de rotina durante 10 dias). Neste estudo participaram 6425 doentes, dos quais 2104 foram submetidos ao tratamento com dexametasona. Os resultados deste ensaio demonstraram que a dexametasona contribuiu para a redução de 8,7% na mortalidade em 28 dias de doentes críticos e em 6,7% de doentes com COVID-19 grave, quando comparados com doentes que apenas haveriam recebido medidas de suporte respiratório e hemodinâmico (The RECOVERY Collaborative Group, 2021). Além disso, a dexametasona reduziu de uma forma geral a mortalidade em 28 dias em 3,3% em doentes com COVID-19 severa ou crítica (The RECOVERY Collaborative Group, 2021). Estes dados sugeriram também que os corticosteroides não estão associados a um risco elevado de efeitos adversos, embora

aumentem a incidência de hiperglicemia e hipernatremia (The RECOVERY Collaborative Group, 2021). Importa referir que esta recomendação não se aplica à utilização deste grupo de fármacos por via transdérmica ou inalatória, como profilaxia ou em regimes terapêuticos de longa duração.

Adicionalmente, a OMS não recomenda a utilização de corticosteroides em indivíduos com COVID-19 não grave, uma vez aumentaram em 3,9% a mortalidade em 28 dias neste subgrupo populacional. Esta recomendação aplica-se a indivíduos com doença não grave, independentemente do seu estado de hospitalização em que normalmente não necessitam de suporte respiratório ou cuidados intensivos. Caso a situação clínica destes doentes piore, isto é, a frequência respiratória aumente ou em casos de hipoxemia, deve ser iniciado regimes com corticoterapia. Não obstante, a OMS reforça que nos doentes com COVID-19 não grave e previamente tratados com corticosteróides sistémicos não deve ser interrompido o regime terapêutico referido.

4.2. Remdesivir

O remdesivir é um pró-fármaco que foi desenvolvido pela *Gilead Sciences* para combater o vírus Ébola e o vírus Marburg (Siegel et al., 2017). Tem um espectro de atividade amplo contra vírus, na medida em que é ativo contra filovírus, paramixovírus e coronavírus, incluindo o SARS-CoV e o MERS-CoV (Choy et al., 2020). O remdesivir pertence à classe dos análogos de nucleótidos e interfere na função da RdRp, reduzindo a replicação de ARN viral (EMA, 2020).

Vários estudos *in vitro* mostraram que este pró-fármaco consegue inibir a replicação do SARS-CoV e do MERS-CoV em células epiteliais das vias aéreas humanas e a sua atividade *in vivo* sugere ter potencial profilático (Sheahan et al., 2017). O remdesivir foi também utilizado durante o surto do vírus Ébola que ocorreu entre 2014 e 2016 na África Ocidental e mostrou resultados promissores *in vivo* (Warren et al., 2016). Adicionalmente, o seu uso melhorou os prognósticos da doença e reduziu as cargas virais em ratos e em macacos *rhesus* infetados com SARS-CoV e SARS-CoV-2, respetivamente (Sheahan et al., 2017; Williamson et al., 2020). Posteriormente, estudos *in vivo* demonstraram que os efeitos deste pró-fármaco são melhores em comparação com alguns antivirais, nomeadamente a ribavirina ou a combinação lopinavir/ritonavir (Sheahan et al., 2020).

Mais recentemente, o primeiro doente diagnosticado e confirmado com COVID-19 nos Estados Unidos da América foi tratado com remdesivir por via IV e a sua condição clínica melhorou significativamente nas vinte e quatro horas seguintes à administração, sem efeitos adversos observáveis (Holshue et al., 2020). Em outubro de 2020, apesar da limitada evidência de resultados, a *Food and Drug Administration* (FDA), aprovou a utilização deste tratamento em doentes hospitalizados com COVID-19 (Lamb, 2020). Atualmente, o remdesivir está indicado para doentes infetados com COVID-19 em adultos e adolescentes (com pelo menos 12 anos e no mínimo 40 kg de peso corporal) com pneumonia que requerem administração suplementar de oxigénio (EMA, 2020).

4.2.1. Mecanismo de ação

Durante o processo de elongação do ARN, o nucleótido presente na cadeia 3'-terminal do ARN reside no local -1 e o substrato do nucleótido de ATP liga-se ao local +1 adjacente. A incorporação catalítica deste nucleótido desencadeia a translocação do ARN e deixa o local +1 livre para a ligação da próxima molécula de ATP que posteriormente é inserida na cadeia de ARN (Kokic et al., 2021).

O remdesivir é um pró-fármaco do nucleótido de adenosina que ao ser metabolizado nas células hospedeiras transforma-se na sua forma ativa, designada remdesivir trifosfato (RTP, *remdesivir triphosphate*). O facto de o RTP ser estruturalmente semelhante ao substrato natural da RdRp, isto é, da molécula de ATP, confere-lhe a capacidade de competir eficazmente com a mesma (Figura 20). Estudos bioquímicos demonstraram que a RdRp utiliza a forma ativa do remdesivir como substrato, levando à incorporação de remdesivir monofosfato (RMP, *remdesivir monophosphate*) na cadeia de ARN (Gordon et al., 2020a; Gordon et al., 2020b; Q. Wang et al., 2020). Seguidamente, o RMP bloqueia a ação da RdRp e, por conseguinte, leva ao atraso da terminação da cadeia viral durante a replicação do ARN (Siegel et al., 2017). O resultado deste processo culmina na incorporação de mais três nucleótidos na cadeia de ARN antes de estagnar (Gordon et al., 2020a; Gordon et al., 2020b; Q. Wang et al., 2020). Este mecanismo de inibição da síntese de ARN é específico dos coronavírus, uma vez que estudos demonstraram que a RdRp do vírus Ébola tem a capacidade, antes de a sua ação ser inibida, de adicionar cinco nucleótidos na cadeia de ARN após a incorporação de RMP (Tchesnokov et al., 2019).

Assim sendo, a utilização de remdesivir poderá representar uma possível estratégia terapêutica contra o SARS-CoV-2, uma vez que, para além da seletividade demonstrada pela RdRp para o RTP em detrimento da molécula de ATP, a presença de RMP na cadeia de ARN compromete a eficiência de incorporação do nucleótido natural complementar e, por conseguinte, a síntese de ARN viral é inibida (Gordon et al., 2020b).

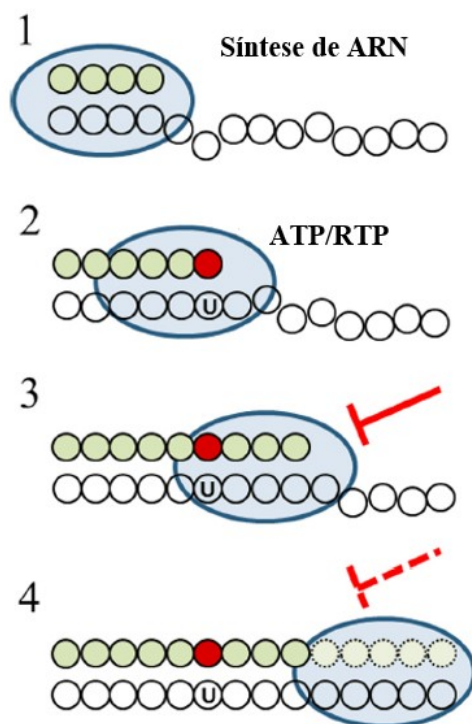


Figura 21 - Mecanismo de ação do Remdesivir. (1) o complexo azul representa o complexo de replicação-transcrição, os círculos verdes representam os resíduos da priming strand e os círculos incolores representam os resíduos da cadeia molde de ARN. (2) competição entre o remdesivir trifosfato e a molécula de ATP opostos ao nucleótio uracilo (U) na cadeia molde de ARN. O círculo vermelho representa o nucleótido incorporado no local +1. (3) inibição da síntese ARN após a incorporação de três novos nucleótidos. (4) a inibição da síntese de ARN pode ser superada na presença de elevadas quantidades de nucleótidos. ATP, adenosina trifosfato; RTP, remdesivir trifosfato. Adaptado de Gordon et al., 2020b

4.2.2. Aplicação na COVID-19

Tendo em conta as diretrizes publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021 da OMS relativas às terapêuticas para a COVID-19, a administração de remdesivir, para além dos cuidados habituais de suporte clínico, não é recomendada independentemente da gravidade da doença. Esta recomendação baseou-se nos resultados de 4 ensaios clínicos randomizados com um total de 7 333 participantes hospitalizados com COVID-19. A falta de evidências de que este pró-farmaco melhorou os resultados dos doentes, nomeadamente na redução da mortalidade aos 28 dias, necessidade de ventilação mecânica e do tempo para melhoria do estado clínico levaram à não recomendação da sua utilização. Porém, estes resultados não indicam que o remdesivir seja ineficaz em reduzir a mortalidade aos 28 dias (Lamontagne et al., 2020). Deste modo, estudos futuros devem fornecer dados adicionais sobre a eficácia e a segurança do remdesivir, especialmente para diferentes subgrupos populacionais, uma vez que em nenhum dos ensaios clínicos randomizados foram incluídos crianças e adolescentes com idade inferior a 19 anos de idade (Lamontagne et al., 2020).

Importa referir que a administração de remdesivir apenas pode ser realizada por via IV e está contraindicada em doentes com disfunção hepática e renal, isto é, valores de alanina aminotransferase (ALT) 5 vezes superior ao valor normal e taxa de filtração glomerular superior a 30 mL/minuto, respetivamente.

4.3. Lopinavir/ritonavir

O ritonavir é um fármaco com propriedades antivirais e caracteriza-se não só por ser pouco metabolizado como também por apresentar uma alta biodisponibilidade quando administrado por via oral (Kempf et al., 1998). Geralmente o ritonavir é administrado em combinação com outros antivirais, nomeadamente o lopinavir. A combinação destes dois fármacos foi aprovada pela FDA em setembro de 2000 com indicação para o tratamento da infeção causada pelo VIH, uma vez que ambos atuam na inibição da protease do VIH (Sanders et al., 2020; Viveiros Rosa & Santos, 2020).

A utilização conjunta de lopinavir e de ritonavir em ensaios *in vitro* demonstrou inibir a replicação de SARS-CoV e de MERS-CoV (Chan et al., 2015; F. Chen et al., 2004; C. Y. Wu et al., 2004). Um ensaio com lopinavir/ritonavir e ribavirina em oposição ao controlo dos cuidados de rotina em doentes infetados por SARS-CoV

mostrou reduzir a taxa de mortalidade e de ARDS no grupo de indivíduos tratados com lopinavir/ritonavir (Chu et al., 2004). Adicionalmente, vários estudos reportaram a eficácia da combinação destes antivirais com interferão em doentes infetados pelo MERS-CoV (Kim et al., 2016; Spanakis et al., 2014).

A utilização de lopinavir/ritonavir para tratar a COVID-19 foi primeiramente recomendada pela Comissão Nacional de Saúde da China (Dong et al., 2020). Estudos *in silico* mostraram que vários agentes antivirais se ligaram com afinidade à estrutura cristalina da 3CL^{pro} do SARS-CoV-2, nomeadamente o lopinavir (Shah et al., 2020). Para além disso, ensaios *in vitro* demonstraram que a utilização conjunta destes dois fármacos mostrou ter atividade antiviral contra o SARS-CoV-2 em culturas de células *Vero E6* (Maciorowski et al., 2020). Porém, contrariamente aos resultados referidos anteriormente, a combinação lopinavir/ritonavir demonstrou ser menos eficaz em humanos (Shah et al., 2020).

Atualmente o tratamento lopinavir/ritonavir é comercializado em Portugal e está indicado para o tratamento de adultos, adolescentes e crianças com idade igual ou superior a 14 dias com infeção pelo VIH-1, em combinação com outros medicamentos antirretrovirais.

4.3.1. Mecanismo de ação

O lopinavir confere atividade antivírica, uma vez que inibe as proteases do VIH, evitando a clivagem da poliproteína estrutural *gag-pol* e, conseqüentemente leva à produção de vírus imaturos não infecciosos. Adicionalmente, o ritonavir inibe o citocromo P450-3A4 (CYP3A4) de metabolizar os inibidores da protease antirretroviral. Desta forma, a utilização de ritonavir vai permitir que a biodisponibilidade do lopinavir seja prolongada, permitindo que exerça a sua atividade durante períodos mais longos (Choy et al., 2020).

As proteases codificadas pela maioria dos vírus têm um papel fundamental no ciclo replicativo viral e a utilização de inibidores destas enzimas resulta na produção de partículas virais imaturas (Lou et al., 2014). No caso do SARS-CoV-2, a 3CL^{pro} e a Protease do tipo papaína (PL^{pro}, *Papain-like protease*) clivam a pp1a e a pp1ab, permitindo a formação do RTC com posterior replicação viral (Gorkhali et al., 2021). O facto da 3CL^{pro} apresentar locais de ligação aos substratos altamente conservados sugere a possibilidade da combinação lopinavir/ritonavir exercer efeitos antivirais contra o

SARS-CoV-2, uma vez que foi demonstrado que o lopinavir se liga com afinidade a esta enzima (Shah et al., 2020; Yang et al., 2005; Zumla et al., 2016). Assim sendo, a inibição da 3CL^{pro} levará à produção de genes incompetentes no ciclo de replicação viral e à consequente formação de partículas virais não infecciosas (figura 21) (Uzunova et al., 2020).

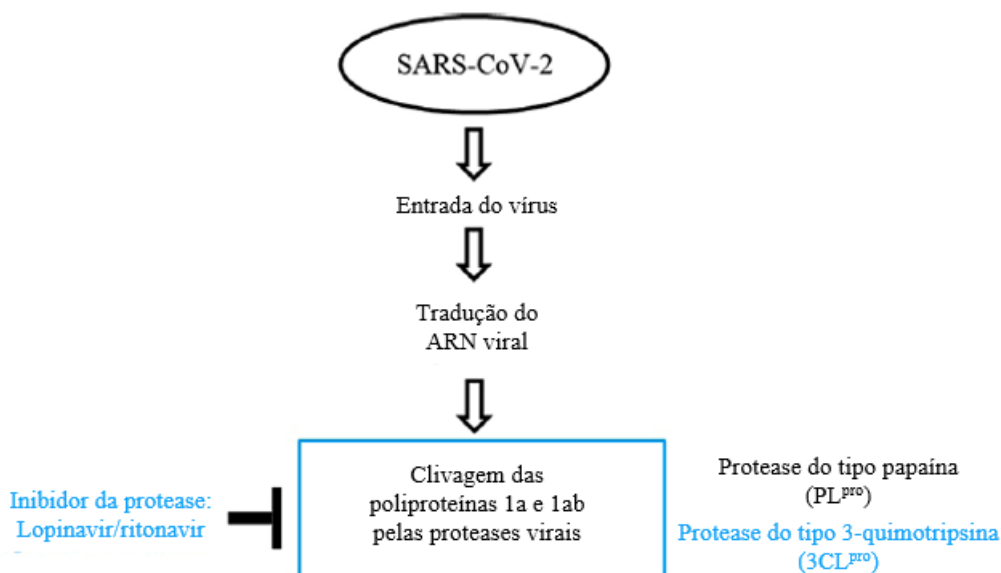


Figura 22 - Mecanismo de ação da combinação lopinavir/ritonavir. O lopinavir impede que a Protease do tipo 3-quimotripsina (3CL^{pro}) exerça a sua função, inibindo a clivagem na poliproteína 1a e na poliproteína 1ab. O ritonavir inibe a metabolização do lopinavir, permitindo um aumento da sua biodisponibilidade. Adaptado de Uzunova et al., 2020

4.3.2. Aplicação na COVID-19

Tendo em consideração as diretrizes da OMS relativas às terapêuticas para a COVID-19 publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021, a combinação lopinavir/ritonavir não é recomendada para tratar a COVID-19 independentemente da gravidade da doença e da duração dos sintomas. Esta recomendação é fundamentada com base nos resultados obtidos de uma revisão sistemática e meta-análise de 7 ensaios clínicos randomizados com um total de 7 429 participantes hospitalizados. A carência de evidências da combinação destes dois fármacos em reduzir a mortalidade aos 28 dias, a necessidade de ventilação mecânica e o tempo de melhoria do estado clínico dos doentes levou à não recomendação da sua utilização (Lamontagne et al., 2020). Além destes resultados, o uso de lopinavir/ritonavir levou a evidências com baixa certeza de

poder aumentar o risco de náuseas, vômitos e diarreia e, conseqüentemente aumentar o risco de hipovolemia, hipotensão e doença renal aguda (Lamontagne et al., 2020).

Similarmente ao remdesivir, nestes 7 ensaios clínicos randomizados não foram incluídos crianças e adolescentes com idade inferior a 19 anos de idade e, por isso, a aplicação desta recomendação neste subgrupo populacional permanece incerta. Adicionalmente, a OMS recomenda não interromper o tratamento de lopinavir/ritonavir em doentes infetados com VIH enquanto estiverem a receber cuidados de rotina contra a COVID-19 (Lamontagne et al., 2020).

4.4. Hidroxicloroquina

A cloroquina (CQ) e a hidroxicloroquina (HCQ) são dois compostos derivados da quinina e têm sido usados como medicamentos antimaláricos desde a década de 1940 (Ben-Zvi et al., 2012). A HCQ é um análogo da CQ em que o grupo etilamina é substituído por um grupo hidroxilo. Ambos têm propriedades farmacocinéticas semelhantes, como por exemplo, elevada biodisponibilidade por via oral, metabolismo hepático moderado e elevados volumes de distribuição devido a difundirem-se pelo tecido adiposo (Ben-Zvi et al., 2012).

Estes fármacos têm sido amplamente utilizados, nomeadamente no tratamento de doenças reumatológicas e, por muitos anos, para o tratamento e prevenção da malária (Fiehn et al., 2021; Steinhardt et al., 2011). Ambos têm sido usados para o tratamento de doenças autoimunes devido aos seus efeitos imunomoduladores em diversas citocinas, incluindo a IL-1 e a IL-6 (Ben-Zvi et al., 2012). Atualmente têm surgido evidências de que a CQ e a HCQ possuem propriedades antivirais contra diversos vírus, nomeadamente os coronavírus (Dyall et al., 2014; Keyaerts et al., 2004).

Estes dois fármacos têm o seu perfil de segurança bem definido. Alguns dos efeitos adversos mais comuns incluem perturbações gastrointestinais, incluindo náuseas, vômitos, diarreia e dores abdominais e afeções oculares com alterações da córnea, incluindo edema e opacidade, visão turva ou até fotofobia. Porém, estes últimos efeitos são frequentemente transitórios ou reversíveis com a interrupção do tratamento. Além disso, vários efeitos adversos têm vindo a ser associados ao uso crónico de ambos, nomeadamente cardiomiopatia com prolongamento do intervalo QT e retinopatia com alterações na pigmentação e defeitos no campo visual (Fiehn et al., 2021). A CQ

geralmente é menos tolerada e causa toxicidade em doses menores comparativamente à HCQ (Owens, 2020).

Estudos *in vitro* demonstraram que ambos apresentaram atividade antiviral contra o SARS-CoV-2, o que possibilitou que se tornassem uma opção terapêutica atrativa para o tratamento da COVID-19 (Keyaerts et al., 2004; M. Wang et al., 2020; Yao et al., 2020). Adicionalmente, as combinações de HCQ com azitromicina despoletaram o interesse de investigadores, uma vez que o seu uso concomitante aumentou a resposta virológica em doentes com COVID-19 (Gautret et al., 2020). No entanto, a maioria dos estudos observacionais envolvendo doentes hospitalizados com COVID-19 tratados com HCQ não mostraram quaisquer efeitos benéficos ou aumentaram o risco de morte (Geleris et al., 2020; Reis et al., 2021).

Estudos de modelagem molecular e estrutural da HCQ e da CQ contra a proteína S do SARS-CoV-2 revelaram elevada afinidade para células do sistema nervoso central e, conseqüentemente inibiram a sua ligação às células hospedeiras. Além disso, a HCQ mostrou ter uma ligação considerável a vários alvos terapêuticos do SARS-CoV-2, como a RdRp e a 3CL^{pro} (Fantini et al., 2020; Nimgampalle et al., 2021).

4.4.1. Mecanismo de ação

A compreensão dos mecanismos de ação para explicar os efeitos terapêuticos e adversos da CQ e HCQ baseiam-se sobretudo em estudos *in vitro* e, por essa razão, a associação entre esses mecanismos e a eficácia clínica e segurança observadas *in vivo* ainda não está totalmente estabelecida. Até à data da realização deste trabalho, sabe-se que estes fármacos têm efeitos moleculares diretos na atividade lisossomal e no processo de autofagia devido a funcionarem como duas bases fracas, e em vias de sinalização (Schrezenmeier & Dörner, 2020).

4.4.2. Inibição da atividade lisossomal e de autofagia

Um dos modos de ação mais importantes de ambos os fármacos é a interferência na atividade lisossomal e autofagia. Estudos *in vitro* demonstraram que a CQ tem a capacidade de desestabilizar as membranas lisossomais e promover a libertação de enzimas lisossomais no interior das células, uma vez que se acumulam nos lisossomas e inibem as suas funções (Circu et al., 2017). A CQ pode também interferir nas

modificações pós-tradução das proteínas do SARS-CoV-2 que ocorrem no compartimento intermédio Retículo Endoplasmático-Complexo de Golgi, uma vez que estas envolvem vesículas que contêm no seu interior enzimas que requerem pH ácido para funcionarem (Devaux et al., 2020). Apesar de existirem escassas evidências deste mecanismo, a eficácia da interferência destes fármacos na atividade lisossomal tem sido repetidamente documentada (Frustaci et al., 2012; Mauthe et al., 2018).

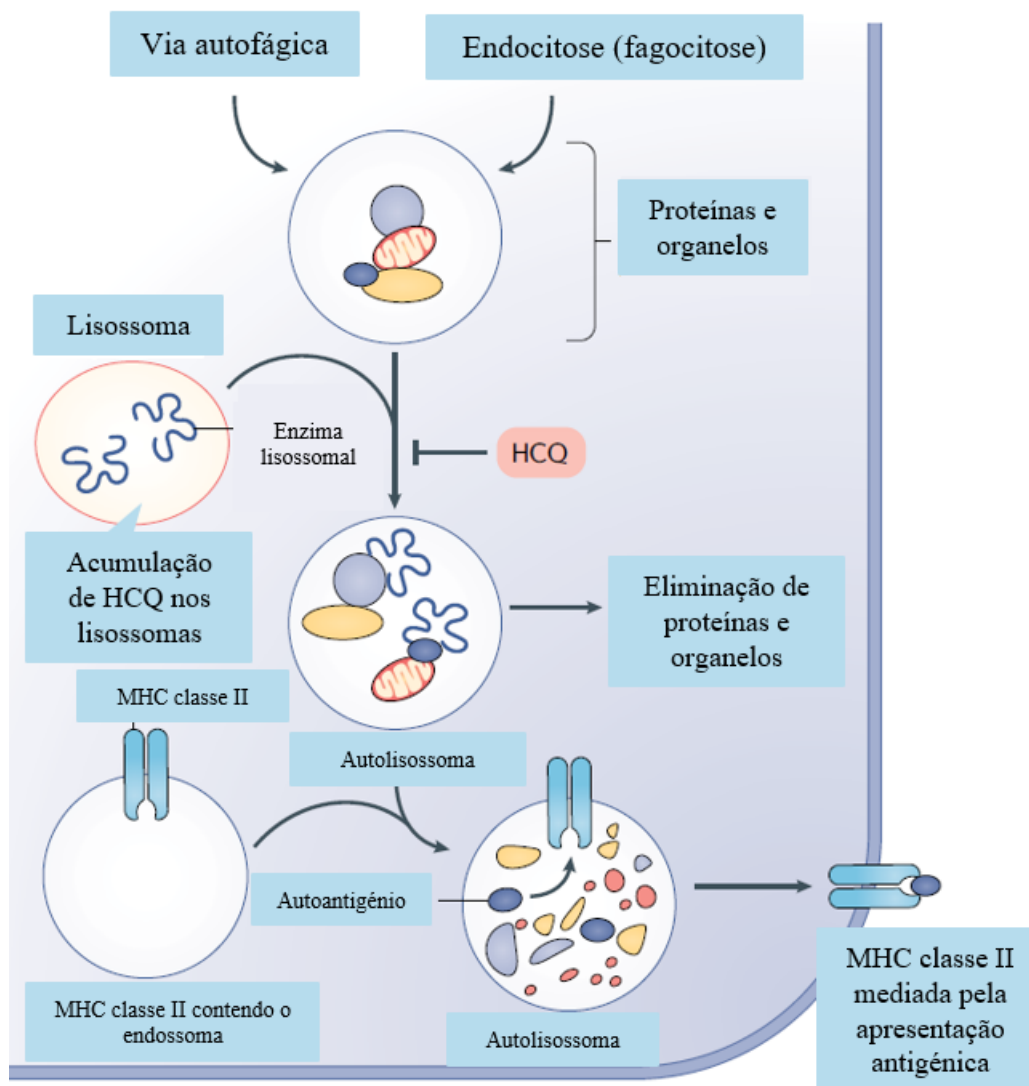


Figura 23 - Mecanismo de ação da hidroxicloroquina e da cloroquina. HCQ, hidroxicloroquina; MHC classe II, complexo major de histocompatibilidade classe II. Adaptado de Schrezenmeier & Dörner, 2020

Adicionalmente, este mecanismo de ação pode inibir a função dos linfócitos ao prejudicar a apresentação de antígeno pela via lisossomal e, por conseguinte, exercer

efeitos imunomoduladores e anti-inflamatórios. Os lisossomas não só estão envolvidos na reciclagem de produtos celulares, como também intervêm no processamento de antígenos e na apresentação do Complexo major de histocompatibilidade de classe II (MHC, *Major histocompatibility complex class II*), promovendo indiretamente a ativação do sistema imunitário (Ballabio & Bonifacino, 2020; Baron et al., 2001). Além disso, o processo de autofagia também está incluído na apresentação antigénica e na ativação da resposta imune (Ghislat & Lawrence, 2018; Münz, 2016). Uma vez que o pH ácido dos lisossomas é ideal para o normal funcionamento das respetivas enzimas, a presença de CQ e de HCQ irá alcalinizar os compartimentos endossomais e, subsequentemente não só prejudicar a maturação de lisossomas e autofagossomas como também inibir a apresentação de antígenos na via lisossomal (figura 22) (Schrezenmeier & Dörner, 2020).

4.4.3. *Inibição de vias de sinalização*

A inibição da função de TLRs poderá também representar um outro possível mecanismo de ação da CQ e da HCQ. No entanto, até à data da realização deste trabalho, não existem dados suficientes com evidência científica que o comprovem. Não obstante, estes fármacos mostraram ter a capacidade de interferir na sinalização de TLRs, uma vez que as alterações no pH dos endossomas afetam, por exemplo, as funções do TLR7 e do TLR9 (Ewald et al., 2008). Além disso, a ação da CQ e da HCQ nas vias de sinalização de TLRs foi demonstrada ao inibir a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente de IL-1, IL-6 e TNF- α (van den Borne et al., 1997). Deste modo, ambos os fármacos poderão exercer ações anti-inflamatórias e, consequentemente auxiliar a resposta hiperinflamatória descontrolada do sistema imunitário em doentes com COVID-19 grave.

4.4.4. *Aplicação na COVID-19*

De acordo com as diretrizes da OMS sobre as terapêuticas para COVID-19 publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021, a administração de CQ ou HCQ não é recomendada para o tratamento desta doença independentemente da sua gravidade e da duração dos sintomas. Esta decisão baseou-se na revisão sistemática e meta-análise de 30 ensaios clínicos randomizados com um total de 10 921 participantes em que se concluiu que a utilização de ambos os fármacos provavelmente não reduz a mortalidade

a 28 dias ou a progressão para ventilação mecânica e pode não diminuir a duração de hospitalização (Lamontagne et al., 2020). Porém, tendo em conta os resultados obtidos, não se exclui o potencial risco aumentado de morte ou do uso de ventilação mecânica consequentes da administração de CQ ou HCQ (Lamontagne et al., 2020). Adicionalmente, o tempo de resolução de sintomas e a duração do uso de ventilação mecânica mantêm-se incertos (Lamontagne et al., 2020). Relativamente aos efeitos adversos da utilização destes fármacos, ambos poderão elevar o risco de diarreia e vômitos e, por conseguinte, aumentar o risco de hipovolemia, hipotensão e lesão renal aguda. No entanto, mantém-se incerta em que medida a CQ ou HCQ poderão aumentar o risco de toxicidade cardíaca. Além disso, recomenda-se extrema precaução quanto ao uso concomitante de CQ ou de HCQ com fármacos que prolonguem o intervalo QT, nomeadamente a azitromicina (Lamontagne et al., 2020). Importa também referir que nenhum dos ensaios clínicos randomizados envolveu crianças ou adolescentes com idade inferior a 19 anos e grávidas, por isso, a recomendação da OMS mantém-se incerta para estes subgrupos populacionais (Lamontagne et al., 2020). Porém, sabe-se que a HCQ tem capacidade de atravessar a placenta e poder causar lesões retinianas em neonatos. Por esta razão, a OMS está ainda mais relutante sobre o uso de HCQ em grávidas.

Uma outra revisão sistemática da literatura procurou definir a eficácia e a segurança da utilização de HCQ ou CQ no tratamento da infeção por SARS-CoV-2. Foram incluídos 12 ensaios clínicos randomizados com um total de 8 569 participantes e os resultados sugeriram que a HCQ exerce um pequeno ou nenhum efeito na taxa de mortalidade, assim como na progressão para ventilação mecânica. Além disso, o uso deste fármaco quase triplicou os efeitos adversos sem alterar a taxa de efeitos adversos graves. Deste modo, os autores desta revisão sistemática concluíram que nenhum outro ensaio com HCQ ou CQ deverá ser realizado com o intuito de tratar a COVID-19 (Singh et al., 2021).

4.5. Ivermectina

A ivermectina é um agente antiparasitário que pertence ao grupo das avermectinas e é seletivo não só para vários tipos de nematodes e helmintas, como também para ectoparasitas, como por exemplo piolhos e ácaros (Dourmishev et al., 2005). À semelhança dos corticosteroides, a ivermectina encontra-se presente na lista de

medicamentos essenciais devido à sua elevada eficácia contra infestações parasitárias em humanos.

A ivermectina geralmente é bem tolerada embora possam surgir efeitos adversos devido à rápida morte induzida aos parasitas, como por exemplo fraqueza, sonolência, diarreia, náuseas e vômitos. Além disso, podem ocorrer efeitos adversos graves raros, nomeadamente, neurotoxicidade e lesões hepáticas. Este fármaco é facilmente absorvido por via oral ou tópica e, uma vez que se trata de um composto lipofílico, acumula-se no tecido adiposo e hepático onde exerce a sua ação (Canga et al., 2008).

A eficácia deste antiparasitário contra vírus tem sido estudada ao longo dos anos (Götz et al., 2016; Tay et al., 2013; S. N. Y. Yang et al., 2020). Um estudo *in vitro* demonstrou que a ivermectina conseguiu impedir a replicação do VIH-1 através da inibição da interação entre a integrase viral e um complexo de carga proteico, denominado importina alfa-beta 1 ($IMP\alpha/\beta 1$). O $IMP\alpha/\beta 1$ é responsável pela translocação da integrase para o interior do núcleo, permitindo o início da replicação viral e a redução da resposta antiviral da célula hospedeira (Wagstaff et al., 2012). Além dos resultados demonstrados para o VIH-1, este fármaco conseguiu limitar a infeção de vários vírus ARN, como por exemplo, do vírus influenza e do dengue (Götz et al., 2016; Tay et al., 2013). Supõe-se que o espectro de atividade da ivermectina contra vários vírus ARN se deva principalmente à dependência da função que o $IMP\alpha/\beta 1$ exerce no processo replicativo viral, nomeadamente no SARS-CoV (Jans et al., 2019; Wulan et al., 2015).

Deste modo, com base nos dados anteriormente referidos, o uso da ivermectina no combate à pandemia da COVID-19 despertou algum interesse por parte da comunidade científica, pois poderia também interferir no ciclo replicativo do SARS-CoV-2. Esta hipótese foi posteriormente confirmada após a publicação de resultados *in vitro* demonstrarem que a replicação deste vírus foi inibida em culturas celulares (Caly et al., 2020). Adicionalmente, a ivermectina mostrou exercer efeitos anti-inflamatórios em estudos *in vivo*, criando a hipótese de desempenhar outras ações além das referidas anteriormente para o tratamento da COVID-19 (Zhang et al., 2008). Porém, foi demonstrado em ensaios *in vitro* que a ivermectina apenas desempenhou ações anti-inflamatórias quando se administraram doses superiores às necessárias para que exercesse efeito antiviral e, por isso, improvável de se obterem em humanos (Krause et al., 1998).

4.5.1. Mecanismo de ação

A ivermectina é um agente antiparasitário que se liga seletivamente e com elevada afinidade a canais iônicos de cloro mediados por glutamato das células nervosas e musculares de animais invertebrados. Consequentemente há um aumento da permeabilidade da membrana aos iões cloreto seguida de uma hiperpolarização da célula nervosa ou muscular, resultando em paralisia ou morte do parasita. A atividade seletiva deste fármaco deve-se não só à inexistência destes canais em alguns mamíferos, como também à baixa afinidade das avermectinas para estes canais em mamíferos.

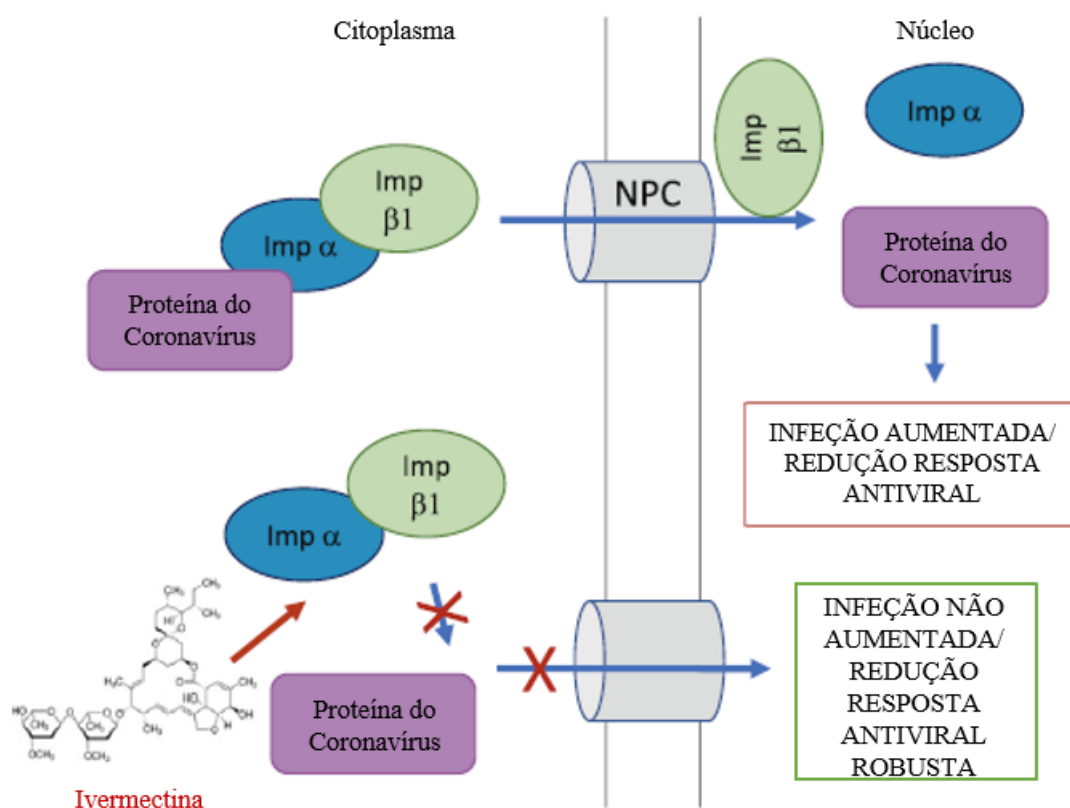


Figura 24 - Mecanismo de ação proposto da ivermectina no SARS-CoV-2. O IMP α / β 1 liga-se à integrase viral, translocando-os do citoplasma para dentro do núcleo onde este complexo é desestabilizado e a resposta antiviral da célula hospedeira é reprimida. Ao invés, a ivermectina liga-se ao IMP α / β 1 e inibe a ligação deste à proteína viral, inibindo a sua translocação para dentro do núcleo da célula hospedeira. Deste modo, a resposta antiviral mantém-se normal e eficiente. Adaptado de Caly et al., 2020

A utilização deste fármaco no combate à pandemia COVID-19 tem sido estudada e debatida, porém ainda não existe evidência de um mecanismo com ação antiviral contra o SARS-CoV-2. Uma das hipóteses sugeridas, representada na figura 23, baseia-se nos efeitos da ivermectina no ciclo de replicação de outros vírus em que inibe a interação entre o IMP α/β 1 e a integrase viral, impedindo a translocação destas proteínas para o interior do núcleo da célula hospedeira. Este mecanismo de ação hipotético impede que o SARS-CoV-2 se replique, possibilitando que o hospedeiro mantenha a sua resposta antiviral competente (Caly et al., 2020).

Outra das hipóteses sugeridas sustenta-se em resultados de estudos *in silico* em que a ivermectina mostrou ligar-se com afinidade a diversas proteínas do SARS-CoV-2, nomeadamente à proteína S, à RdRp e à 3CL^{pro} e poder interferir no ciclo replicativo do vírus (Mody et al., 2021; Parvez et al., 2020).

Relativamente ao efeito anti-inflamatório da ivermectina, estudos indicam, até à data da realização deste trabalho, que será muito improvável que este fármaco seja utilizado em humanos com esse intuito, uma vez que é necessário a sua administração em concentrações elevadas para se atingirem efeitos imunomoduladores que controlem o estado hiperinflamatório característico da COVID-19 (Krause et al., 1998; Mody et al., 2021).

4.5.2. Aplicação na COVID-19

Com base nas diretrizes da OMS publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021 relativas às terapêuticas para a COVID-19, a utilização de ivermectina apenas está recomendada em doentes com COVID-19 sob contexto de um ensaio clínico independentemente da severidade da doença e da duração de sintomas. Esta recomendação fundamentou-se nos resultados de uma revisão sistemática e meta-análise de 16 ensaios clínicos randomizados onde participaram 2 407 infetados pelo SARS-CoV-2. Destes ensaios clínicos, 12 corresponderam a doentes com COVID-19 não grave e os restantes 4 estudos incluíram doentes com e sem COVID-19 grave. A combinação da existência de vieses e imprecisões na grande maioria destes ensaios contribuíram para a diminuta evidência do efeito que a ivermectina possa ter na taxa de mortalidade a 28 dias, assim como na necessidade de oxigenação ou de ventilação mecânica, duração da hospitalização e eliminação viral (Lamontagne et al., 2020). Apesar da baixa certeza da evidência obtida, verificou-se também que a ivermectina

poderá aumentar o risco efeitos adversos, levando a descontinuação da terapêutica (Lamontagne et al., 2020). Adicionalmente, a OMS recomenda sobretudo a utilização de corticosteroides em áreas endémicas de *estrongiloidíase*, de forma a prevenir a escassez de medicamentos indicados para programas de controlo e eliminação de helmintas, nomeadamente da ivermectina (Lamontagne et al., 2020). Importa referir que em nenhum dos 16 ensaios clínicos analisados participaram crianças com menos de 15 anos de idade nem grávidas e, portanto, mantém-se incerta a ação deste fármaco nestes subgrupos (Lamontagne et al., 2020).

Assim sendo, com base na evidência até à data, são necessários mais estudos que comprovem os possíveis efeitos antivirais e/ou imunomoduladores da ivermectina em indivíduos infetados com COVID-19.

4.6. Inibidores do recetor da interleucina 6

Uma resposta imune caracteriza-se pelo reconhecimento de um agente patogénico através do sistema imunitário e a sua consequente resposta contra esse agente, como por exemplo, um vírus (Ghosn et al., 2021). Similarmente a outras doenças que se definem pelo estado hiperinflamatório que causam nos doentes (Kotch et al., 2019; Scott, 2017), a infeção pelo SARS-CoV-2 induz uma reação disfuncional e descontrolada do sistema imunitário e, por conseguinte, leva à produção de níveis elevados de citocinas, incluindo a IL-6 (Bastard et al., 2020; Galani et al., 2021). Embora este processo inflamatório ainda não seja totalmente compreendido, sabe-se que os níveis elevados de IL-6 estão diretamente relacionados com o estado hiperinflamatório de casos severos de COVID-19 (G. Chen et al., 2020).

A IL-6 é uma proteína que tem uma função crucial no processo inflamatório da infeção e, à semelhança da PCR, está associada à severidade da doença causada pelo SARS-CoV-2 (Galván-Román et al., 2021). Deste modo, a utilização de inibidores do recetor da IL-6 poderá ser valiosa em doentes infetados com COVID-19, uma vez induzem efeitos imunossuppressores que poderão ajudar o sistema imunitário a ter capacidade de controlar a inflamação e promover tolerância à doença (Campochiaro & Dagna, 2020).

O tocilizumab é um anticorpo monoclonal (mAb, *monoclonal antibody*) que bloqueia o recetor da IL-6 e a sua utilização contra o SARS-CoV-2 foi proposta com o objetivo de reprimir a hiperinflamação associada à COVID-19. Este fármaco está

aprovado pela Agência Europeia do Medicamento (EMA, *European Medicines Agency*) para várias patologias reumatológicas, nomeadamente a artrite reumatoide e a atriite idiopática infantil sistêmica. Similarmente, o sarilumab, um outro antagonista do recetor da IL-6 aprovado pela EMA, está indicado para a atriite reumatoide ao reduzir a inflamação e outros sintomas associados a esta doença. Ambos os fármacos representam uma estratégia terapêutica promissora contra a infeção pelo SARS-CoV-2, uma vez que possuem propriedades imunomoduladoras ao inibirem a ação da IL-6 (Ghosn et al., 2021). Assim sendo, a inibição da ligação desta molécula ao seu recetor poderá ajudar o sistema imunitário a controlar a doença e reduzir a inflamação associada à COVID-19.

4.6.1. Mecanismo de ação

A tempestade de citocinas que ocorre com a progressão da severidade da COVID-19 em muitos casos leva à falência multiorgânica e à morte de muitos doentes infetados pelo SARS-CoV-2 (Chakraborty et al., 2020a; Oberfeld et al., 2020). Este vírus, após infetar uma célula hospedeira, induz a ativação de diferentes células do sistema imunitário, como por exemplo, células dendríticas, monócitos e macrófagos, conduzindo à secreção de citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente de IL-6. A ação desta citocina depende de duas vias distintas que se designam por via de sinalização clássica ou via de sinalização *cis* e via de sinalização *trans* (Chakraborty et al., 2020b).

Por um lado, na via de sinalização *trans*, a IL-6 liga-se ao recetor de membrana específico mIL-6R, presente à superfície de células imunogénicas, e forma um complexo denominado IL-6-mIL-6R. Por sua vez, este complexo liga-se à molécula transdutora de sinal, isto é, à glicoproteína 130 (gp130) que traduz a respetiva via de sinalização através da via JAK-STAT ou da MAPK (*Mitogen-activated protein kinase*)/NF-kB-IL-6 mediadora de diferentes tipos de células inflamatórias do sistema imune inato, como por exemplo, neutrófilos e macrófagos, e também do sistema imune adquirido com a secreção de células B e T (Braun et al., 2016; Kang et al., 2019).

Por outro lado, a IL-6 pode igualmente induzir um efeito pró-inflamatório através da via de sinalização *cis*. Nesta, a IL-6 liga-se ao seu recetor que está presente na sua forma solúvel (sIL-6R, *soluble IL-6 receptor*), formando um complexo designado IL-6sIL-6R que posteriormente também irá traduzir o respetivo sinal através da via JAK-STAT ou da via MAPK/NF-kB-IL-6 (Kaur et al., 2020). Este complexo está

possivelmente presente à superfície de todas as células, principalmente de células endoteliais (Jones & Jenkins, 2018).

Assim sendo, a IL-6, independentemente da via de sinalização que utiliza, desempenha um papel crucial na indução da tempestade de citocinas em indivíduos infectados com COVID-19. Até à data da realização deste trabalho, duas dessas moléculas que poderão ser capazes de atuar como antagonistas da sinalização da IL-6 são dois mAbs humanizados, denominados tocilizumab e sarilumab (figura 24). Portanto, a utilização de fármacos inibidores dos recetores da IL-6 representa uma das possíveis estratégias terapêuticas contra o SARS-CoV-2, uma vez que conseguirão bloquear as vias de sinalização de ambos os complexos formados (IL-6-mIL-6R e IL-6sIL-6R) e, conseqüentemente controlar o estado hiperinflamatório característico da COVID-19.

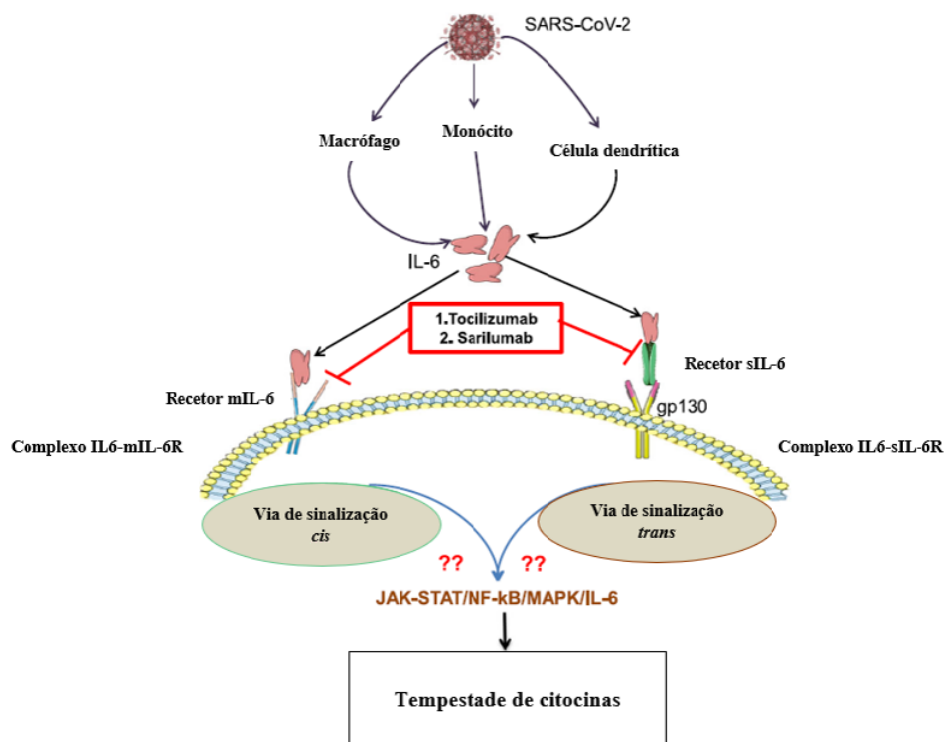


Figura 25 - Mecanismo de ação provável de inibidores do recetor da interleucina 6. SARS-CoV-2, Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; IL-6, interleucina 6; Recetor mIL-6, recetor de membrana da IL-6; Recetor sIL-6, recetor solúvel da IL-6; gp130, glicoproteína 130; JAK-STAT/NF-kB/MAPK/IL-6, via de sinalização JAK-STAT ou MAPK/NF-kB-IL-6. Adaptado de Chakraborty et al., 2020b

4.6.2. Aplicação na COVID-19

Tendo em consideração as diretrizes da OMS sobre as terapêuticas para a COVID-19 publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021, a utilização de inibidores do recetor da IL-6 está apenas recomendada para indivíduos com COVID-19 grave ou crítica. Adicionalmente recomenda-se a utilização concomitante desta classe de fármacos com corticosteroides nos subgrupos dos doentes anteriormente referidos. Esta recomendação baseou-se na análise de uma revisão sistemática e meta-análise que incluiu 22 ensaios clínicos randomizados com 10 156 participantes em que todos os ensaios incluíram doentes severos ou críticos com COVID-19 (Shankar-Hari et al., 2021). Os resultados obtidos demonstraram que o uso de antagonistas do recetor da IL-6 reduziu a mortalidade a 28 dias e a necessidade de ventilação mecânica (Shankar-Hari et al., 2021). Porém, os efeitos dos inibidores do recetor da IL-6 na duração da hospitalização e na duração do uso de ventilação mecânica foram incertos devido à existência de um alto risco de vieses (Lamontagne et al., 2020).

Além disso, a OMS recomenda a administração de tocilizumab ou de sarilumab, apenas por via IV em combinação com corticosteroides sistémicos e em doses únicas durante 1 hora. Não obstante, caso a resposta clínica tenha sido inadequada, poderá ser administrada outra dose 12 a 48 horas após a primeira. As doses recomendadas de tocilizumab e de sarilumab em doentes com COVID-19 são de 8 mg/kg de peso corporal até um máximo de 800 mg e de 400 mg, respetivamente. Ao invés, a administração dos corticosteroides poderá ser feita por via oral, uma vez que apresentam uma elevada biodisponibilidade, ou por via IV, caso o doente apresente disfunção do trato gastrointestinal. A utilização destes últimos fármacos é geralmente realizada durante 10 dias, embora possa variar entre 5 e 14 dias. Além disso, recomenda-se que a administração de inibidores do recetor da IL-6 seja iniciada concomitantemente com corticosteroides. A OMS também aconselha a que sejam realizados exames hematológicos, incluindo a contagem de neutrófilos e de plaquetas, e análises à função hepática antes do início do tratamento. Adicionalmente, todos os doentes devem ser monitorizados quanto a sinais e sintomas da infeção, uma vez que o uso concomitante de inibidores do recetor da IL-6 com corticosteroides aumenta o risco de imunossupressão. No entanto, até à data da realização deste trabalho, a evidência do aumento do risco de reações adversas mantém-se incerta (Siemieniuk et al., 2020).

Importa referir que nenhum dos ensaios clínicos randomizados incluiu crianças e, por essa razão, a aplicação da recomendação da OMS nesta faixa etária mantém-se incerta. Porém, o sarilumab não deve ser utilizado neste grupo populacional, uma vez que a sua utilização em crianças não está aprovada, devendo optar-se pelo uso de tocilizumab (Lamontagne et al., 2020). Adicionalmente os resultados demonstraram não existir diferenças significativas na utilização de tocilizumab ou de sarilumab e na severidade da doença (crítica *versus* severa) e, portanto, esta recomendação aplica-se a todos os indivíduos adultos com COVID-19 crítica ou severa.

4.7. Anticorpos monoclonais neutralizantes

Os mAbs são moléculas produzidas em laboratório derivadas de células B naturais de hospedeiros que foram previamente expostas a um antígeno de interesse, com o intuito de mimetizar a ação de anticorpos na resposta imunológica de uma pessoa (Bayer, 2019). Os mAbs apenas têm como alvo um único epítopo predeterminado e, geralmente causam eventos adversos com menor frequência (Marston et al., 2018). Idealmente, para além de se ligarem com elevada especificidade ao respetivo antígeno, estas moléculas devem ser estáveis, facilmente produzidas e não devem provocar uma forte resposta imunológica (Marovich et al., 2020). Esta imunogenicidade não só varia de acordo com a dosagem do medicamento, via de administração e o quão humanizado é o mAb, como também depende das características do doente, incluindo a idade, antecedentes pessoais e comorbilidades associadas (R. M. Lu et al., 2020). Atualmente, como mostra a figura 25, existem quatro tipos de mAbs: o mAb murino, produzido inteiramente da proteína murina; o mAb quimérico, que contém cerca de 30% da proteína murina na região variável do anticorpo; o mAb humanizado, constituído apenas por 10% da proteína murina na região variável do anticorpo; e o mAb humano, 100% humano (Gklinos et al., 2021).

A estratégia de atingir um único epítopo pode, dependendo do alvo específico, ser utilizada para travar a progressão de determinada doença (Marston et al., 2018). Embora a maioria dos mAbs aprovados sejam usados para tratar doenças crónicas, atualmente já existem alguns que têm vindo a ser utilizados para tratar doenças infecciosas, nomeadamente o vírus Ébola e o vírus sincicial respiratório (Marovich et al., 2020). Deste modo, a aplicação desta estratégia como uma possível abordagem

terapêutica para o tratamento da COVID-19 poderá ter um grande potencial para tratar e/ou impedir a progressão da infecção causada pelo SARS-CoV-2.

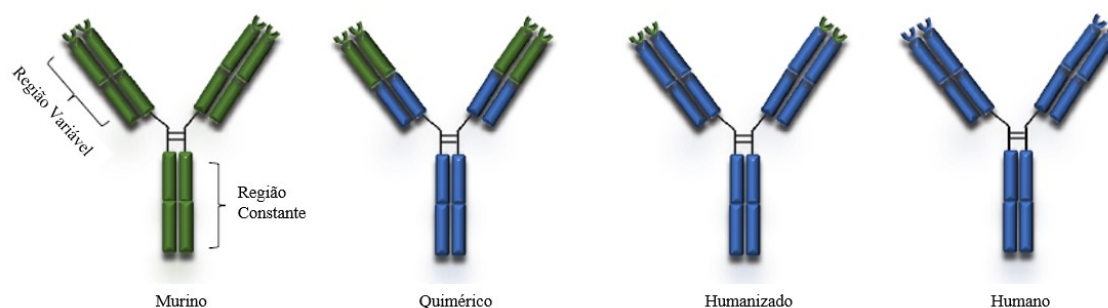


Figura 26 - Tipos de anticorpos monoclonais. Adaptado de Gklinos et al., 2021

Devido ao papel fundamental desta enzima na replicação viral e na severidade de sintomas, como explicado na secção 3.1 na página 44 deste trabalho, a pesquisa de mAbs que bloqueiem a ligação do SARS-CoV-2 à ACE2 nas células humanas representa uma das atuais principais estratégias terapêuticas com o objetivo de tratar a COVID-19 e/ou impedir a sua progressão para doença grave (Marovich et al., 2020).

Estudos *in vivo* mostraram evidências de que a utilização deste tipo de moléculas poderá reduzir a carga viral nas vias aéreas superiores e inferiores de animais infetados num período de tempo mais curto, resultando numa redução da infecção induzida pelo SARS-CoV-2 (Baum et al., 2020; B. E. Jones et al., 2020). Além disso, resultados provisórios da utilização de um mAb na COVID-19 demonstraram uma possível diminuição da gravidade dos sintomas e um menor número de hospitalizações comparado com placebo (P. Chen et al., 2021). Assim sendo, esta abordagem poderá constituir uma alternativa terapêutica ao tratamento da COVID-19. No entanto, até à data da realização deste trabalho, algumas questões permanecem por esclarecer, nomeadamente a eficácia clínica, a duração de proteção e o momento mais favorável para a administração destes mAbs na COVID-19. Adicionalmente, a resistência a estas moléculas, fruto de possíveis mutações do SARS-CoV-2, poderá levar à diminuição da sua eficácia e, conseqüentemente, a um aumento da gravidade da doença por ele causada (W. S. Lee et al., 2020).

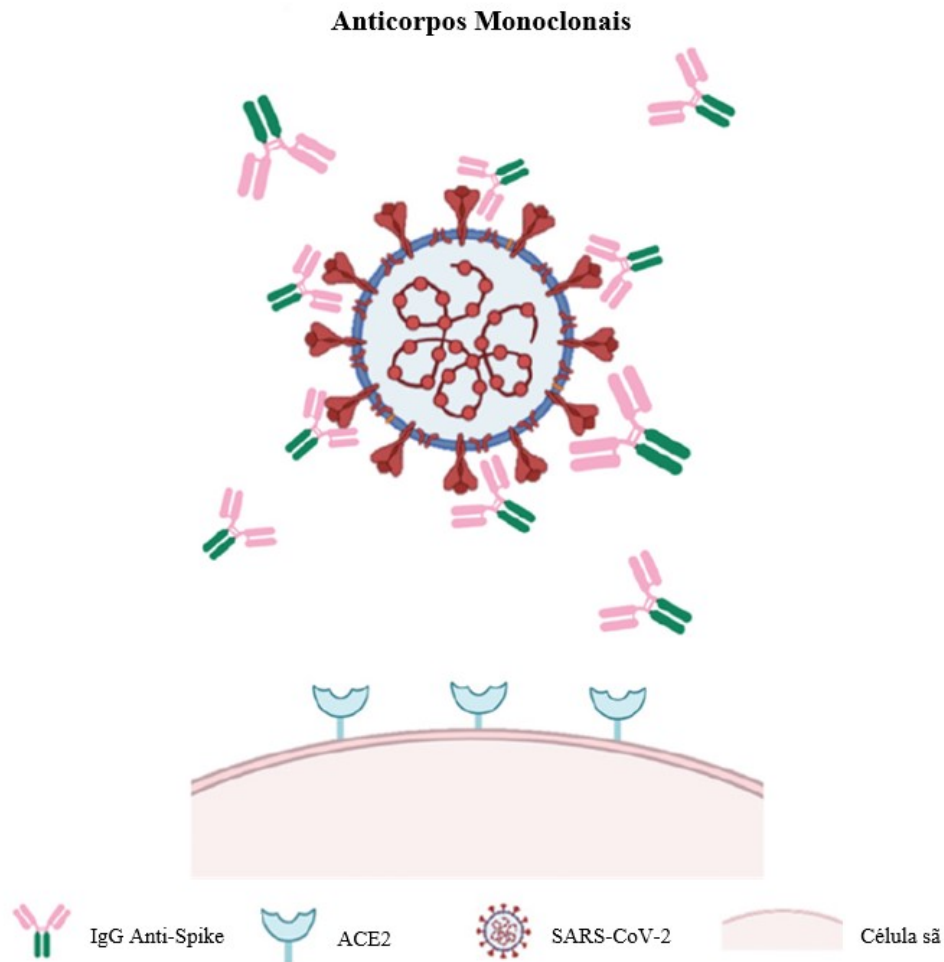


Figura 27 - Caracterização da estratégia terapêutica com anticorpos monoclonais no SARS-CoV-2. IgG Anti-spike, Imunoglobulina G anti-spike; ACE2, enzima conversora de angiotensina 2; SARS-CoV-2, *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*. Adaptado de Tuccori et al., 2020

4.7.1. Mecanismo de ação

Como referido anteriormente, os mAbs são moléculas que mimetizam a ação de anticorpos ao reconhecerem e ligarem-se especificamente a um epítipo predeterminado (figura 26). Até à data de realização deste trabalho, dois dos mAbs que demonstraram exercer atividade antiviral contra o SARS-CoV-2 em animais foram o casirivimab e o imdevimab (Baum et al., 2020). O mecanismo de ação subjacente a estes mAbs é explicado pela ligação simultânea e não competitiva do casirivimab e do imdevimab a diferentes epítipos do RBD da proteína S, inibindo a ligação desta proteína à ACE2 e consequente neutralização do vírus (Tuccori et al., 2020). Como mostra a figura 27, o fragmento de ligação ao antígeno, isto é, a região variável do casirivimab (colorida a

ciano) liga-se ao topo do RBD da proteína S, sobrepondo-se quase completamente à região de ligação da ACE2, enquanto o imdevimab atua ao lado do RBD, com baixa probabilidade de interferir e competir com o casirivimab (Hansen et al., 2020).

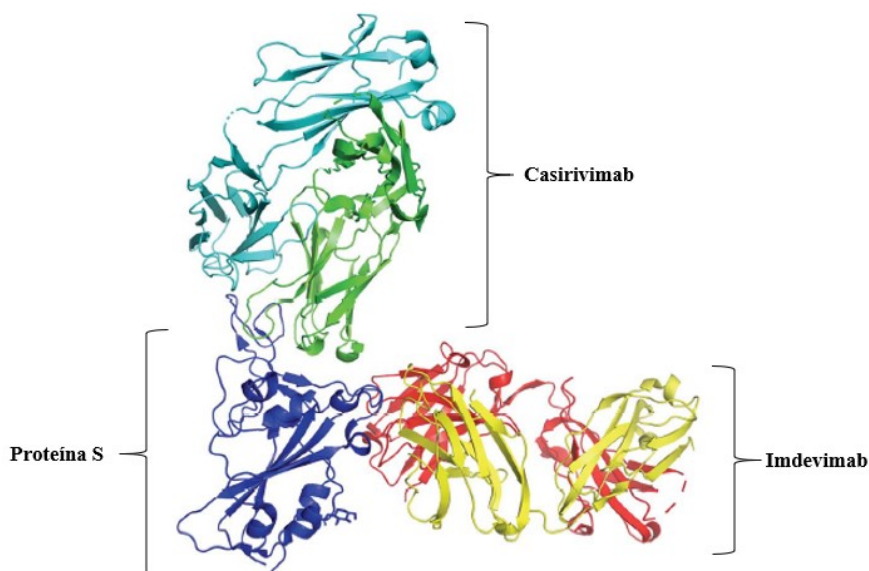


Figura 28 - Estrutura do complexo casirivimab-RBD-imdevimab obtida por criomicroscopia eletrônica. O RBD da proteína S está colorido a azul escuro; A região constante e a região variável do casirivimab estão coloridas a verde e ciano, respectivamente; e a região constante e a região variável do imdevimab estão coloridas a amarelo e vermelho, respectivamente. Adaptado de Hansen et al., 2020.

4.7.2. Aplicação na COVID-19

De acordo com as diretrizes da OMS relativas às terapêuticas para a COVID-19 publicadas até ao dia 24 de setembro de 2021, a combinação casirivimab/imdevimab é sugerida em doentes que tenham um elevado risco de hospitalização, isto é, indivíduos não vacinados, idosos ou pessoas com doenças crónicas e/ou imunodeficientes, uma vez que estes dois mAbs mostraram poder reduzir o risco de hospitalização e a duração de sintomas em doentes não severos. Esta recomendação fundamentou-se nos resultados de quatro ensaios clínicos randomizados com um total de 4722 doentes não severos de COVID-19 em que a utilização concomitante destes dois fármacos levou a menos 29 hospitalizações por 1000 doentes e reduziu a duração de hospitalização em cerca de 4,1 dias (Weinreich et al., 2021). Adicionalmente, análises farmacocinéticas mostraram que as concentrações antivirais de ambos os mAbs são alcançadas e mantidas durante pelo

menos 28 dias após a administração IV de uma dose total de 1200 mg (600 mg de cada mAb) ou superior, isto é, até 2400 mg (1200 mg de cada mAb) (Weinreich et al., 2021). Importa referir que nenhum dos quatro ensaios clínicos randomizados incluiu crianças e, por essa razão, a aplicabilidade desta recomendação para este grupo populacional mantém-se incerta.

A OMS sugere também a utilização da combinação casirivimab/imdevimab apenas em doentes graves e críticos seronegativos, na medida em que demonstraram não só ter a capacidade de diminuir o risco de mortalidade, como também poderão diminuir a necessidade de ventilação mecânica para este subgrupo de doentes. Esta recomendação baseou-se nos resultados de um ensaio clínico randomizado que incluiu 9 785 participantes com doença severa ou crítica em que muitos deles foram sujeitos a corticoterapia (Group et al., 2021). Por um lado, no subgrupo de doentes severos ou críticos seronegativos, que correspondeu a 3153 pessoas, a combinação casirivimab/imdevimab reduziu a mortalidade em 39 mortes por 1 000 doentes graves e reduziu a mortalidade em 69 mortes por 1000 doentes críticos. Por outro, reduziu a necessidade ventilação mecânica em cerca de 42 casos por 1000 doentes seronegativos. Adicionalmente, a dose total administrada por via IV neste subgrupo foi 8000 mg (4000 mg de cada mAb). Importa referir que, até à data deste trabalho, os dados relativos à farmacocinética desta alternativa terapêutica em doentes com COVID-19 grave e crítica não estão disponíveis. Porém, estudos indicam que a concentração sérica de outros mAbs diminui durante estados de hiperinflamação sistémica e este facto também está correlacionado com o aumento dos níveis de albumina e de PCR (Ryman & Meibohm, 2017). À semelhança da recomendação anterior, a aplicabilidade desta também se mantém incerta em crianças. Não obstante, existe a possibilidade de beneficiarem clinicamente da combinação casirivimab/imdevimab apenas se forem seronegativas (Lamontagne et al., 2020).

5. PERSPETIVAS FUTURAS

Atendendo às atuais recomendações da OMS para o tratamento da COVID-19 permanecem incertezas relativamente aos efeitos terapêuticos da maioria dos fármacos até à data utilizados. O insuficiente conhecimento da evolução clínica, os diferentes resultados *in vitro* e *in vivo* contra o SARS-CoV-2 e a escassa informação sobre a dosagem apropriada da terapêutica a ser usada nesta doença são exemplos de limitações

que contribuem para a baixa evidência da segurança e eficácia de fármacos no tratamento da COVID-19.

Embora a maioria dos ensaios clínicos realizados sejam reduzida dimensão e de qualidade variável, existem ensaios de grandes dimensões a nível internacional com capacidade de fornecer evidências robustas para uma panóplia de potenciais opções terapêuticas para a COVID-19 (The RECOVERY Collaborative Group, 2021; WHO SOLIDARITY Trial Consortium, 2021). Estes estudos podem, por exemplo, adaptar as suas intervenções e o processo de seleção de participantes tendo em conta os ensaios clínicos de menor dimensão, de forma a que consigam descobrir novos tratamentos contra o SARS-CoV-2 sem nunca descurar os contantes avanços científicos sobre os potenciais alvos terapêuticos. Até à data, à exceção dos corticosteroides, as recomendações da OMS incluem estratégias terapêuticas que apenas podem ser administradas por via IV, constituindo um dos principais desafios da utilização destes fármacos, uma vez que são necessários locais apropriados com profissionais de saúde qualificados que garantam uma administração segura e eficaz. Além disso, a escassa evidência de novos agentes terapêuticos eficazes condiciona a produção limitada de fármacos recomendados para o tratamento da COVID-19.

Deste modo, torna-se pertinente, no futuro, criar um guia de prognóstico clínico, na medida em que se consiga estabelecer a diferença entre o risco individual de cada doente hospitalizado em comparação com indivíduos que não apresentem COVID-19 grave e, por conseguinte, identificar com mais precisão quais os doentes que beneficiariam de determinada intervenção. Adicionalmente, é necessária a concretização de ensaios clínicos que incluam crianças e grávidas, de forma a que sejam estabelecidos perfis de segurança de possíveis fármacos eficazes nestes grupos populacionais (Lamontagne et al., 2020).

Assim sendo, o reposicionamento de fármacos deve focar-se não só na eficácia de resultados clínicos que poderão vir a diminuir os efeitos da COVID-19, como também no impacto que a sua utilização terá na sociedade.

III. CONCLUSÃO

O SARS-CoV-2 é um vírus de ARN não segmentado de cadeia positiva que pertence à família dos coronavírus e é o agente patogénico causador da COVID-19. A pandemia da COVID-19 afetou a vida quotidiana e desacelerou a economia de múltiplas formas. No entanto, a maior ameaça que o mundo atualmente enfrenta é a crescente taxa de mortalidade devido à rápida disseminação do SARS-CoV-2 e as suas manifestações associadas, tornando-se uma ameaça séria e preocupante para a saúde pública. O aumento do número de infetados, internamentos hospitalares e de óbitos não só implicou uma resposta imediata e específica dos cuidados de saúde, como também tornou urgente o desenvolvimento de fármacos eficazes no tratamento da COVID-19.

O início da pandemia despoletou um investimento na investigação e desenvolvimento de novas terapêuticas, porém a imperativa necessidade de se encontrarem soluções para controlar o rápido avanço da COVID-19 levou a que fossem adotadas estratégias de reposicionamento de fármacos. Embora a evidência científica relativa à história natural da doença, à melhoria dos resultados clínicos de doentes com COVID-19 e ao desenvolvimento de imunidade protetora seja limitada, atualmente já existem agentes terapêuticos que demonstraram exercer efeito terapêutico contra a infeção por SARS-CoV-2. Porém, é fundamental que sejam realizados ensaios clínicos que comprovem a eficácia e segurança de novos fármacos.

Atualmente, apenas a administração de corticosteroides, inibidores do recetor da IL-6 e de mAbs estão recomendados pela OMS para o tratamento da COVID-19. No entanto, a EMA aconselhou a utilização de um novo agente antiviral denominado molnupiravir que, até à data, ainda não está autorizada na União Europeia em adultos com COVID-19. Este fármaco deve de ser administrado logo após o diagnóstico de COVID-19 e nos primeiros dias do início dos sintomas. Além disso, o facto desta opção terapêutica ser administrada por via oral, representa uma das vantagens relativamente às restantes recomendações.

Em suma, apesar de já estarem aprovadas várias vacinas para a COVID-19, é de extrema importância que se estabeleçam prioridades de fármacos mais adequados e que sejam estudadas novas estratégias terapêuticas direccionadas especificamente ao SARS-CoV-2, de forma a que no futuro sejam disponibilizadas várias opções eficazes capazes de tratar indivíduos infetados e de mitigar as consequências da atual pandemia.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Abd El-Aziz, T. M., & Stockand, J. D. (2020). Recent progress and challenges in drug development against COVID-19 coronavirus (SARS-CoV-2) - an update on the status. *Infection, Genetics and Evolution*, 83(April), 104327. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104327>
- Abdoli, A., Alirezaei, M., Mehrbod, P., & Forouzanfar, F. (2018). Autophagy: The multi-purpose bridge in viral infections and host cells. *Reviews in Medical Virology*, 28(4), 1–15. <https://doi.org/10.1002/rmv.1973>
- ACTIV-3/TICO LY-CoV555 Study Group. (2021). A Neutralizing Monoclonal Antibody for Hospitalized Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 384(10), 905–914. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2033130>
- Adedeji, A. O., Marchand, B., Te Velthuis, A. J. W., Snijder, E. J., Weiss, S., Eoff, R. L., Singh, K., & Sarafianos, S. G. (2012). Mechanism of nucleic acid unwinding by SARS-CoV helicase. *PloS One*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036521>
- Agbowuro, A. A., Huston, W. M., Gamble, A. B., & Tyndall, J. D. A. (2018). Proteases and protease inhibitors in infectious diseases. *Medicinal Research Reviews*, 38(4), 1295–1331. <https://doi.org/10.1002/med.21475>
- Ahmed, S. F., Quadeer, A. A., & McKay, M. R. (2020). Preliminary identification of potential vaccine targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/v12030254>
- Alexander, S. P. H., Armstrong, J. F., Davenport, A. P., Davies, J. A., Faccenda, E., Harding, S. D., Levi-Schaffer, F., Maguire, J. J., Pawson, A. J., Southan, C., & Spedding, M. (2020). A rational roadmap for SARS-CoV-2/COVID-19 pharmacotherapeutic research and development: IUPHAR Review 29. *British Journal of Pharmacology*, 177(21), 4942–4966. <https://doi.org/10.1111/bph.15094>
- Alsaadi, E. A. J., & Jones, I. M. (2019). Membrane binding proteins of coronaviruses. *Future Virology*, 14(4), 275–286. <https://doi.org/10.2217/fvl-2018-0144>
- Amanat, F., & Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity*, 52(4), 583–589. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.03.007>
- Angus, D. C., Derde, L., Al-Beidh, F., Annane, D., Arabi, Y., Beane, A., Van Bentum-Puijk, W., Berry, L., Bhimani, Z., Bonten, M., Bradbury, C., Brunkhorst, F., Buxton, M., Buzgau, A., Cheng, A. C., De Jong, M., Detry, M., Estcourt, L., Fitzgerald, M., ... Gordon, A. C. (2020). Effect of Hydrocortisone on Mortality and Organ Support in Patients with Severe COVID-19: The REMAP-CAP COVID-19 Corticosteroid Domain Randomized Clinical Trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 324(13), 1317–1329. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17022>
- Annane, D. (2021). Corticosteroids for COVID-19. *Journal of Intensive Medicine*, 1(1), 14–25. <https://doi.org/10.1016/j.jointm.2021.01.002>
- Arabi, Y. M., Mandourah, Y., Al-Hameed, F., Sindi, A. A., Almekhlafi, G. A., Hussein, M. A., Jose, J., Pinto, R., Al-Omari, A., Kharaba, A., Almotairi, A., Al Khatib, K., Alraddadi, B., Shalhoub, S., Abdulmomen, A., Qushmaq, I., Mady, A., Mady, O., Al-Aithan, A. M., ... Fowler, R. A. (2018). Corticosteroid therapy for critically ill patients with middle east respiratory syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 197(6), 757–767. <https://doi.org/10.1164/rccm.201706-1172OC>
- Arndt, A. L., Larson, B. J., & Hogue, B. G. (2010). A Conserved Domain in the Coronavirus Membrane Protein Tail Is Important for Virus Assembly. *Journal of Virology*, 84(21), 11418–11428. <https://doi.org/10.1128/jvi.01131-10>
- Arons, M. M., Hatfield, K. M., Reddy, S. C., Kimball, A., James, A., Jacobs, J. R., Taylor, J., Spicer, K., Bardossy, A. C., Oakley, L. P., Tanwar, S., Dyal, J. W., Harney, J., Chisty, Z., Bell, J. M., Methner, M., Paul, P., Carlson, C. M., McLaughlin, H. P., ... Jernigan, J. A. (2020).

- Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *New England Journal of Medicine*, 382(22), 2081–2090. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2008457>
- Azkur, A. K., Akdis, M., Azkur, D., Sokolowska, M., van de Veen, W., Brügggen, M. C., O'Mahony, L., Gao, Y., Nadeau, K., & Akdis, C. A. (2020). Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 75(7), 1564–1581. <https://doi.org/10.1111/all.14364>
- Ballabio, A., & Bonifacino, J. S. (2020). Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(2), 101–118. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0185-4>
- Baric, R. S., & Yount, B. (2000). Subgenomic Negative-Strand RNA Function during Mouse Hepatitis Virus Infection. *Journal of Virology*, 74(9), 4039–4046. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.9.4039-4046.2000>
- Barnes, P. J. (2006). How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *British Journal of Pharmacology*, 148(3), 245–254. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706736>
- Baron, C. L., Raposo, G., Scholl, S. M., Bausinger, H., Tenza, D., Bohbot, A., Pouillart, P., Goud, B., Hanau, D., & Salamero, J. (2001). Modulation of MHC class II transport and lysosome distribution by macrophage-colony stimulating factor in human dendritic cells derived from monocytes. *Journal of Cell Science*, 114(5), 999–1010. <https://doi.org/10.1242/jcs.114.5.999>
- Bastard, P., Rosen, L. B., Zhang, Q., Michailidis, E., Hoffmann, H. H., Zhang, Y., Dorgham, K., Philippot, Q., Rosain, J., Béziat, V., Manry, J., Shaw, E., Haljasmägi, L., Peterson, P., Lorenzo, L., Bizien, L., Trouillet-Assant, S., Dobbs, K., de Jesus, A. A., ... Casanovaa, J. L. (2020). Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science*, 370(6515). <https://doi.org/10.1126/science.abd4585>
- Baum, A., Ajithdoss, D., Copin, R., Zhou, A., Lanza, K., Negron, N., Ni, M., Wei, Y., Mohammadi, K., Musser, B., Atwal, G. S., Oyejide, A., Goetz-Gazi, Y., Dutton, J., Clemmons, E., Staples, H. M., Bartley, C., Klaffke, B., Alfson, K., ... Kyratsous, C. A. (2020). REGN-COV2 antibodies prevent and treat SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques and hamsters. *Science*, 370(6520), 1110–1115. <https://doi.org/10.1126/science.abe2402>
- Bayer, V. (2019). An Overview of Monoclonal Antibodies. *Seminars in Oncology Nursing*, 35(5), 150927. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2019.08.006>
- Beck, B. R., Shin, B., Choi, Y., Park, S., & Kang, K. (2020). Predicting commercially available antiviral drugs that may act on the novel coronavirus (SARS-CoV-2) through a drug-target interaction deep learning model. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 784–790. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.03.025>
- Beigel, J. H., Tomashek, K. M., Dodd, L. E., Mehta, A. K., Zingman, B. S., Kalil, A. C., Hohmann, E., Chu, H. Y., Luetkemeyer, A., Kline, S., Lopez de Castilla, D., Finberg, R. W., Dierberg, K., Tapson, V., Hsieh, L., Patterson, T. F., Paredes, R., Sweeney, D. A., Short, W. R., ... Lane, H. C. (2020). Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *New England Journal of Medicine*, 383(19), 1813–1826. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2007764>
- Belouzard, S., Millet, J. K., Licitra, B. N., & Whittaker, G. R. (2012). Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*, 4(6), 1011–1033. <https://doi.org/10.3390/v4061011>
- Ben-Zvi, I., Kivity, S., Langevitz, P., & Shoenfeld, Y. (2012). Hydroxychloroquine: From malaria to autoimmunity. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 42(2), 145–153. <https://doi.org/10.1007/s12016-010-8243-x>
- Bhaskar, S., Sinha, A., Banach, M., Mittoo, S., Weissert, R., Kass, J. S., Rajagopal, S., Pai, A. R., & Kutty, S. (2020). Cytokine Storm in COVID-19—Immunopathological Mechanisms, Clinical Considerations, and Therapeutic Approaches: The REPROGRAM Consortium Position Paper. *Frontiers in Immunology*, 11(July). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01648>
- Bi, Q., Wu, Y., Mei, S., Ye, C., Zou, X., Zhang, Z., Liu, X., Wei, L., Truelove, S. A., Zhang, T.,

- Gao, W., Cheng, C., Tang, X., Wu, X., Wu, Y., Sun, B., Huang, S., Sun, Y., Zhang, J., ... Feng, T. (2020). Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(8), 911–919. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30287-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30287-5)
- Blanco-Melo, D., Nilsson-Payant, B. E., Liu, W. C., Uhl, S., Hoagland, D., Möller, R., Jordan, T. X., Oishi, K., Panis, M., Sachs, D., Wang, T. T., Schwartz, R. E., Lim, J. K., Albrecht, R. A., & tenOever, B. R. (2020). Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*, 181(5), 1036–1045.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>
- Boone, S. A., & Gerba, C. P. (2007). Significance of fomites in the spread of respiratory and enteric viral disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1687–1696. <https://doi.org/10.1128/AEM.02051-06>
- Boumpas, D. T., Chrousos, G. P., Wilder, R. L., Cupps, T. R., & Balow, J. E. (1993). Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: Basic and clinical correlates. *Annals of Internal Medicine*, 119(12), 1198–1208. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-119-12-199312150-00007>
- Brann, D. H., Tsukahara, T., Weinreb, C., Lipovsek, M., Van Den Berge, K., Gong, B., Chance, R., Macaulay, I. C., Chou, H. J., Fletcher, R. B., Das, D., Street, K., De Bezieux, H. R., Choi, Y. G., Risso, D., Dudoit, S., Purdom, E., Mill, J., Hachem, R. A., ... Datta, S. R. (2020). Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. *Science Advances*, 6(31), 1–20. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abc5801>
- Braun, G. S., Nagayama, Y., Maruta, Y., Heymann, F., Van Roeyen, C. R., Klinkhammer, B. M., Boor, P., Villa, L., Salant, D. J., Raffetseder, U., Rose-John, S., Ostendorf, T., & Floege, J. (2016). IL-6 Trans-Signaling Drives Murine Crescentic GN. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(1), 132–142. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014111147>
- Brest, P., Benzaquen, J., Klionsky, D. J., Hofman, P., & Mograbi, B. (2020). Open questions for harnessing autophagy-modulating drugs in the SARS-CoV-2 war: hope or hype? *Autophagy*, 16(12), 2267–2270. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1779531>
- Butowt, R., & von Bartheld, C. S. (2020). Anosmia in COVID-19: Underlying Mechanisms and Assessment of an Olfactory Route to Brain Infection. *Neuroscientist*, 85–94. <https://doi.org/10.1177/1073858420956905>
- Cai, Q., Chen, F., Wang, T., Luo, F., Liu, X., Wu, Q., He, Q., Wang, Z., Liu, Y., Liu, L., Chen, J., & Xu, L. (2020). Obesity and COVID-19 Severity in a Designated Hospital in Shenzhen, China. *Diabetes Care*, 43(7), 1392–1398. <https://doi.org/10.2337/dc20-0576>
- Cain, D. W., & Cidlowski, J. A. (2017). Immune regulation by glucocorticoids. *Nature Reviews Immunology*, 17(4), 233–247. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.1>
- Caly, L., Druce, J. D., Catton, M. G., Jans, D. A., & Wagstaff, K. M. (2020). The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*, 178(April), 3–6. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104787>
- Campochiaro, C., & Dagna, L. (2020). The conundrum of interleukin-6 blockade in COVID-19. *The Lancet Rheumatology*, 2(10), e579–e580. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30287-3](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30287-3)
- Canga, A. G., Prieto, A. M. S., Diez Liébana, M. J., Martínez, N. F., Sierra Vega, M., & García Vieitez, J. J. (2008). The pharmacokinetics and interactions of ivermectin in humans - A mini-review. *AAPS Journal*, 10(1), 42–46. <https://doi.org/10.1208/s12248-007-9000-9>
- Cantini, F., Niccoli, L., Matarrese, D., Nicastri, E., Stobbione, P., & Goletti, D. (2020). Baricitinib therapy in COVID-19: A pilot study on safety and clinical impact. *Journal of Infection*, 81(2), 318–356. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.017>
- Cevik, M., Tate, M., Lloyd, O., Maraolo, A. E., Schafers, J., & Ho, A. (2021). SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Microbe*, 2(1), e13–e22. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30172-5](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30172-5)

- Chakraborty, C., Sharma, A. R., Sharma, G., Bhattacharya, M., & Lee, S. S. (2020). SARS-CoV-2 causing pneumonia-associated respiratory disorder (COVID-19): Diagnostic and proposed therapeutic options. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(7), 4016–4026. https://doi.org/10.26355/EURREV_202004_20871
- Chakraborty, Chiranjib, Sharma, A. R., Bhattacharya, M., Sharma, G., Lee, S. S., & Agoramoorthy, G. (2020). COVID-19: Consider IL-6 receptor antagonist for the therapy of cytokine storm syndrome in SARS-CoV-2 infected patients. *Journal of Medical Virology*, 92(11), 2260–2262. <https://doi.org/10.1002/jmv.26078>
- Chan, J. F. W., Yao, Y., Yeung, M. L., Deng, W., Bao, L., Jia, L., Li, F., Xiao, C., Gao, H., Yu, P., Cai, J. P., Chu, H., Zhou, J., Chen, H., Qin, C., & Yuen, K. Y. (2015). Treatment with lopinavir/ritonavir or interferon- β 1b improves outcome of MERSCoV infection in a nonhuman primate model of common marmoset. *Journal of Infectious Diseases*, 212(12), 1904–1913. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv392>
- Chang, C. K., Hou, M. H., Chang, C. F., Hsiao, C. D., & Huang, T. H. (2014). The SARS coronavirus nucleocapsid protein - Forms and functions. *Antiviral Research*, 103(1), 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.12.009>
- Chen, C., Zhang, Y., Huang, J., Yin, P., Cheng, Z., Wu, J., Chen, S., Zhang, Y., Chen, B., Lu, M., Luo, Y., Ju, L., Zhang, J., & Wang, X. (2020). Favipiravir versus Arbidol for COVID-19: A randomized clinical trial. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037432>
- Chen, F., Chan, K. H., Jiang, Y., Kao, R. Y. T., Lu, H. T., Fan, K. W., Cheng, V. C. C., Tsui, W. H. W., Hung, I. F. N., Lee, T. S. W., Guan, Y., Peiris, J. S. M., & Yuen, K. Y. (2004). In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds. *Journal of Clinical Virology*, 31(1), 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.03.003>
- Chen, G., Wu, D., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., Wang, T., Zhang, X., Chen, H., Yu, H., Zhang, X., Zhang, M., Wu, S., Song, J., Chen, T., Han, M., Li, S., Luo, X., Zhao, J., & Ning, Q. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *Journal of Clinical Investigation*, 130(5), 2620–2629. <https://doi.org/10.1172/JCI137244>
- Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X., & Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, 395(10223), 507–513. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
- Chen, P., Nirula, A., Heller, B., Gottlieb, R. L., Boscia, J., Morris, J., Huhn, G., Cardona, J., Mocherla, B., Stosor, V., Shawa, I., Adams, A. C., Van Naarden, J., Custer, K. L., Shen, L., Durante, M., Oakley, G., Schade, A. E., Sabo, J., ... Skovronsky, D. M. (2021). SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 384(3), 229–237. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2029849>
- Chen, Y., Li, M. X., Lu, G. D., Shen, H. M., & Zhou, J. (2021). Hydroxychloroquine/chloroquine as therapeutics for covid-19: Truth under the mystery. *International Journal of Biological Sciences*, 17(6), 1538–1546. <https://doi.org/10.7150/ijbs.59547>
- Choy, K. T., Wong, A. Y. L., Kaewpreedee, P., Sia, S. F., Chen, D., Hui, K. P. Y., Chu, D. K. W., Chan, M. C. W., Cheung, P. P. H., Huang, X., Peiris, M., & Yen, H. L. (2020). Remdesivir, lopinavir, emetine, and homoharringtonine inhibit SARS-CoV-2 replication in vitro. *Antiviral Research*, 178(April), 104786. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104786>
- Chu, C. M., Cheng, V. C. C., Hung, I. F. N., Wong, M. M. L., Chan, K. H., Chan, K. S., Kao, R. Y. T., Poon, L. L. M., Wong, C. L. P., Guan, Y., Peiris, J. S. M., & Yuen, K. Y. (2004). Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: Initial virological and clinical findings. *Thorax*, 59(3), 252–256. <https://doi.org/10.1136/thorax.2003.012658>
- Circu, M., Cardelli, J., Barr, M. P., O'Byrne, K., Mills, G., & El-Osta, H. (2017). Modulating lysosomal function through lysosome membrane permeabilization or autophagy suppression restores sensitivity to cisplatin in refractory non-small-cell lung cancer cells. *PLoS ONE*, 12(9), 1–23. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0184922>

- Cong, Y., Ulasli, M., Schepers, H., Mauthe, M., V'kovski, P., Kriegenburg, F., Thiel, V., de Haan, C. A. M., & Reggiori, F. (2020). Nucleocapsid Protein Recruitment to Replication-Transcription Complexes Plays a Crucial Role in Coronaviral Life Cycle. *Journal of Virology*, 94(4). <https://doi.org/10.1128/jvi.01925-19>
- Coperchini, F., Chiovato, L., Croce, L., Magri, F., & Rotondi, M. (2020). The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 53(May), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.05.003>
- Cornillez-Ty, C. T., Liao, L., Yates, J. R., Kuhn, P., & Buchmeier, M. J. (2009). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Nonstructural Protein 2 Interacts with a Host Protein Complex Involved in Mitochondrial Biogenesis and Intracellular Signaling. *Journal of Virology*, 83(19), 10314–10318. <https://doi.org/10.1128/jvi.00842-09>
- Cottam, E. M., Whelband, M. C., & Wileman, T. (2014). Coronavirus NSP6 restricts autophagosome expansion. *Autophagy*, 10(8), 1426–1441. <https://doi.org/10.4161/auto.29309>
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- Cupps, T. R., Gerrard, T. L., Falkoff, R. J. M., Whalen, G., & Fauci, A. S. (1985). Effects of in vitro corticosteroids on B cell activation, proliferation, and differentiation. *Journal of Clinical Investigation*, 75(2), 754–761. <https://doi.org/10.1172/JCI111757>
- Decroly, E., Debarnot, C., Ferron, F., Bouvet, M., Coutard, B., Imbert, I., Gluais, L., Papageorgiou, N., Sharff, A., Bricogne, G., Ortiz-Lombardia, M., Lescar, J., & Canard, B. (2011). Crystal structure and functional analysis of the SARS-coronavirus RNA cap 2'-o-methyltransferase nsp10/nsp16 complex. *PLoS Pathogens*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002059>
- Del Valle, D. M., Kim-Schulze, S., Huang, H. H., Beckmann, N. D., Nirenberg, S., Wang, B., Lavin, Y., Swartz, T. H., Madduri, D., Stock, A., Marron, T. U., Xie, H., Patel, M., Tuballes, K., Van Oekelen, O., Rahman, A., Kovatch, P., Aberg, J. A., Schadt, E., ... Gnjjatic, S. (2020). An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine*, 26(10), 1636–1643. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1051-9>
- Deng, X., Hackbart, M., Mettelman, R. C., O'Brien, A., Mielech, A. M., Yi, G., Kao, C. C., & Baker, S. C. (2017). Coronavirus nonstructural protein 15 mediates evasion of dsRNA sensors and limits apoptosis in macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(21), E4251–E4260. <https://doi.org/10.1073/pnas.1618310114>
- Denison, M. R., Graham, R. L., Donaldson, E. F., Eckerle, L. D., & Baric, R. S. (2011). Coronaviruses. *RNA Biology*, 8(2), 270–279. <https://doi.org/10.4161/rna.8.2.15013>
- Devaux, C. A., Rolain, J. M., Colson, P., & Raoult, D. (2020). New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105938. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105938>
- Dong, L., Hu, S., & Gao, J. (2020). Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug Discoveries & Therapeutics*, 14(1), 58–60. <https://doi.org/10.5582/ddt.2020.01012>
- Doremalen, V., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., & et al. (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *Nejm*, 0–2.
- Dourmishev, A. L., Dourmishev, L. A., & Schwartz, R. A. (2005). Ivermectin: Pharmacology and application in dermatology. *International Journal of Dermatology*, 44(12), 981–988. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2004.02253.x>
- Dyall, J., Coleman, C. M., Hart, B. J., Venkataraman, T., Holbrook, M. R., Kindrachuk, J., Johnson, R. F., Olinger, G. G., Jahrling, P. B., Laidlaw, M., Johansen, L. M., Lear-Rooney, C. M., Glass, P. J., Hensley, L. E., & Frieman, M. B. (2014). Repurposing of clinically developed drugs for treatment of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(8), 4885–4893. <https://doi.org/10.1128/AAC.03036-14>

- Edwards, D. A., Ausiello, D., Salzman, J., Devlin, T., Langer, R., Beddingfield, B. J., Fears, A. C., Doyle-Meyers, L. A., Redmann, R. K., Killeen, S. Z., Maness, N. J., & Roy, C. J. (2021). Exhaled aerosol increases with COVID-19 infection, age, and obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(8), 1–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.2021830118>
- Elfiky, A. A. (2020). Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): A molecular docking study. *Life Sciences*, 253(March). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117592>
- EMA. (2020). Resumo das Características do Medicamento Remdesivir.
- Epstein, J. H., McEachern, J., Zhang, J., Daszak, P., Wang, H., Field, H., Li, W., Eaton, B. T., Wang, L.-F., Yu, M., Hu, Z., Zhang, S., Shi, Z., Crameri, G., Zhang, H., Ren, W., & Smith, C. (2005). Bats Are Natural Reservoirs of SARS-Like Coronaviruses. *Science*, 310(5748), 676–679. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/extart?codigo=1323722>
- Ewald, S. E., Lee, B. L., Lau, L., Wickliffe, K. E., Shi, G. P., Chapman, H. A., & Barton, G. M. (2008). The ectodomain of Toll-like receptor 9 is cleaved to generate a functional receptor. *Nature*, 456(7222), 658–662. <https://doi.org/10.1038/nature07405>
- Fan, D., Takawale, A., Shen, M., Wang, W., Wang, X., Basu, R., Oudit, G. Y., & Kassiri, Z. (2015). Cardiomyocyte A Disintegrin and Metalloproteinase 17 (ADAM17) Is Essential in Post-Myocardial Infarction Repair by Regulating Angiogenesis. *Circulation: Heart Failure*, 8(5), 970–979. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.002029>
- Fang, L., Karakiulakis, G., & Roth, M. (2020). Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(4), e21. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30116-8](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30116-8)
- Fantini, J., Di Scala, C., Chahinian, H., & Yahi, N. (2020). Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105960. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105960>
- Favalli, E. G., Ingegnoli, F., De Lucia, O., Cincinelli, G., Cimaz, R., & Caporali, R. (2020). COVID-19 infection and rheumatoid arthritis: Faraway, so close! *Autoimmunity Reviews*, 19(5), 102523. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102523>
- Ferron, F., Subissi, L., De Morais, A. T. S., Le, N. T. T., Sevajol, M., Gluais, L., Decroly, E., Vonnrhein, C., Bricogne, G., Canard, B., & Imbert, I. (2017). Structural and molecular basis of mismatch correction and ribavirin excision from coronavirus RNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(2), E162–E171. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718806115>
- Fiehn, C., Ness, T., Weseloh, C., Specker, C., Hadjiski, D., Detert, J., & Krüger, K. (2021). Safety management in treatment with antimalarials in rheumatology. Interdisciplinary recommendations on the basis of a systematic literature review. *Zeitschrift Fur Rheumatologie*, 80(March 2020), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s00393-020-00785-4>
- Flerlage, T., Boyd, D. F., Meliopoulos, V., Thomas, P. G., & Schultz-Cherry, S. (2021). Influenza virus and SARS-CoV-2: pathogenesis and host responses in the respiratory tract. *Nature Reviews Microbiology*, 19(7), 425–441. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00542-7>
- Fouchier, R. A. M., Hartwig, N. G., Bestebroer, T. M., Niemeyer, B., De Jong, J. C., Simon, J. H., & Osterhaus, A. D. M. E. (2004). A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(16), 6212–6216. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400762101>
- Frustaci, A., Morgante, E., Antuzzi, D., Russo, M. A., & Chimenti, C. (2012). Inhibition of cardiomyocyte lysosomal activity in hydroxychloroquine cardiomyopathy. *International Journal of Cardiology*, 157(1), 117–119. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.03.112>
- Fung, T. S., & Liu, D. X. (2018). Post-translational modifications of coronavirus proteins: Roles and function. *Future Virology*, 13(6), 405–430. <https://doi.org/10.2217/fvl-2018-0008>

- Gabay, C. (2006). Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Research and Therapy*, 8(SUPPL. 2), 1–6. <https://doi.org/10.1186/ar1917>
- Galani, I. E., Rovina, N., Lampropoulou, V., Triantafyllia, V., Manioudaki, M., Pavlos, E., Koukaki, E., Fragkou, P. C., Panou, V., Rapti, V., Koltsida, O., Mentis, A., Koulouris, N., Tsiodras, S., Koutsoukou, A., & Andreakos, E. (2021). Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison. *Nature Immunology*, 22(1), 32–40. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-00840-x>
- Galván-Román, J. M., Rodríguez-García, S. C., Roy-Vallejo, E., Marcos-Jiménez, A., Sánchez-Alonso, S., Fernández-Díaz, C., Alcaraz-Serna, A., Mateu-Albero, T., Rodríguez-Cortes, P., Sánchez-Cerrillo, I., Esparcia, L., Martínez-Fleta, P., López-Sanz, C., Gabriele, L., del Campo Guerola, L., Suárez-Fernández, C., Ancochea, J., Canabal, A., Albert, P., ... Montes, N. (2021). IL-6 serum levels predict severity and response to tocilizumab in COVID-19: An observational study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 147(1), 72–80.e8. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.09.018>
- Gautret, P., Lagier, J. C., Parola, P., Hoang, V. T., Meddeb, L., Mailhe, M., Doudier, B., Courjon, J., Giordanengo, V., Vieira, V. E., Tissot Dupont, H., Honoré, S., Colson, P., Chabrière, E., La Scola, B., Rolain, J. M., Brouqui, P., & Raoult, D. (2020). Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(1), 105949. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105949>
- Geleris, J., Sun, Y., Platt, J., Zucker, J., Baldwin, M., Hripcsak, G., Labella, A., Manson, D. K., Kubin, C., Barr, R. G., Sobieszczyk, M. E., & Schluger, N. W. (2020). Observational Study of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 382(25), 2411–2418. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2012410>
- Gheblawi, M., Wang, K., Viveiros, A., Nguyen, Q., Zhong, J. C., Turner, A. J., Raizada, M. K., Grant, M. B., & Oudit, G. Y. (2020). Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circulation Research*, 1456–1474. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317015>
- Ghislat, G., & Lawrence, T. (2018). Autophagy in dendritic cells. *Cellular and Molecular Immunology*, 15(11), 944–952. <https://doi.org/10.1038/cmi.2018.2>
- Ghosn, L., Chaimani, A., Evrenoglou, T., Davidson, M., Graña, C., Schmucker, C., Bollig, C., Henschke, N., Sguassero, Y., Nejstgaard, C. H., Menon, S., Nguyen, T. Van, Ferrand, G., Kapp, P., Riveros, C., Ávila, C., Devane, D., Meerpohl, J. J., Rada, G., ... Boutron, I. (2021). Interleukin-6 blocking agents for treating COVID-19: a living systematic review. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021(3). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013881>
- Gklinos, P., Papadopoulou, M., Stanulovic, V., Mitsikostas, D. D., & Papadopoulos, D. (2021). Monoclonal antibodies as neurological therapeutics. *Pharmaceuticals*, 14(2), 1–31. <https://doi.org/10.3390/ph14020092>
- Glowacka, I., Bertram, S., Muller, M. A., Allen, P., Soilleux, E., Pfefferle, S., Steffen, I., Tsegaye, T. S., He, Y., Gnirss, K., Niemeyer, D., Schneider, H., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2011). Evidence that TMPRSS2 Activates the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein for Membrane Fusion and Reduces Viral Control by the Humoral Immune Response. *Journal of Virology*, 85(9), 4122–4134. <https://doi.org/10.1128/jvi.02232-10>
- Glowacka, I., Bertram, S., Herzog, P., Pfefferle, S., Steffen, I., Muench, M. O., Simmons, G., Hofmann, H., Kuri, T., Weber, F., Eichler, J., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2010). Differential Downregulation of ACE2 by the Spike Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus and Human Coronavirus NL63. *Journal of Virology*, 84(2), 1198–1205. <https://doi.org/10.1128/jvi.01248-09>
- Gonçalves, J., da Silva, P. G., Reis, L., Nascimento, M. S. J., Koritnik, T., Paragi, M., & Mesquita, J. R. (2021). Surface contamination with SARS-CoV-2: A systematic review. *Science of the Total Environment*, 798, 149231. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149231>

- Gooz, M. (2010). ADAM-17: The enzyme that does it all. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 45(2), 146–169. <https://doi.org/10.3109/10409231003628015>
- Gordon, C. J., Tchesnokov, E. P., Feng, J. Y., Porter, D. P., & Götte, M. (2020). The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Journal of Biological Chemistry*, 295(15), 4773–4779. <https://doi.org/10.1074/jbc.AC120.013056>
- Gordon, C. J., Tchesnokov, E. P., Woolner, E., Perry, J. K., Feng, J. Y., Porter, D. P., & Götte, M. (2020). Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. *Journal of Biological Chemistry*, 295(20), 6785–6797. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013679>
- Gorkhali, R., Koirala, P., Rijal, S., Mainali, A., Baral, A., & Bhattarai, H. K. (2021). Structure and Function of Major SARS-CoV-2 and SARS-CoV Proteins. *Bioinformatics and Biology Insights*, 15(Figure 1). <https://doi.org/10.1177/11779322211025876>
- Götz, V., Magar, L., Dornfeld, D., Giese, S., Pohlmann, A., Höper, D., Kong, B. W., Jans, D. A., Beer, M., Haller, O., & Schwemmle, M. (2016). Influenza A viruses escape from MxA restriction at the expense of efficient nuclear vRNP import. *Scientific Reports*, 6, 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep23138>
- Grein, J., Ohmagari, N., Shin, D., Diaz, G., Asperges, E., Castagna, A., Feldt, T., Green, G., Green, M. L., Lescure, F.-X., Nicastri, E., Oda, R., Yo, K., Quiros-Roldan, E., Studemeister, A., Redinski, J., Ahmed, S., Bernett, J., Chelliah, D., ... Flanigan, T. (2020). Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 382(24), 2327–2336. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2007016>
- Grifoni, A., Sidney, J., Zhang, Y., Scheuermann, R. H., Peters, B., & Sette, A. (2020). A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2. *Cell Host and Microbe*, 27(4), 671–680.e2. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.002>
- Group, R. C., Horby, P. W., Mafham, M., Peto, L., Campbell, M., Pessoa-Amorim, G., Spata, E., Staplin, N., Emberson, J. R., Prudon, B., Hine, P., Brown, T., Green, C. A., Sarkar, R., Desai, P., Yates, B., Bewick, T., Tiberi, S., Felton, T., ... Landray, M. J. (2021). Casirivimab and imdevimab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *MedRxiv*, 2021.06.15.21258542. <https://doi.org/10.1101/2021.06.15.21258542>
- Grum-Tokars, V., Ratia, K., Begaye, A., Baker, S. C., & Mesecar, A. D. (2008). Evaluating the 3C-like protease activity of SARS-Coronavirus: Recommendations for standardized assays for drug discovery. *Virus Research*, 133(1), 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.02.015>
- Guérin, P. J., & Maguire, B. J. (2020). A living systematic review protocol for COVID-19 clinical trial registrations. *Wellcome Open Research*, 5, 1–9. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.15821.1>
- Halpin, K., Young, P. L., Field, H. E., & Mackenzie, J. S. (2000). Isolation of Hendra virus from pteropid bats: A natural reservoir of Hendra virus. *Journal of General Virology*, 81(8), 1927–1932. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-8-1927>
- Heming, N., Sivanandamoorthy, S., Meng, P., Bounab, R., & Annane, D. (2018). Immune Effects of Corticosteroids in Sepsis. *Frontiers in Immunology*, 9(July), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01736>
- Henry, B. M., & Lippi, G. (2020). Chronic kidney disease is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection. *International Urology and Nephrology*, 52(6), 1193–1194. <https://doi.org/10.1007/s11255-020-02451-9>
- Hijawi, B., Abdallat, M., Sayaydeh, A., Alqasrawi, S., Haddadin, A., Jaarour, N., Alsheikh, S., & Alsanouri, T. (2013). Novel coronavirus infections in Jordan, April 2012: Epidemiological findings from a retrospective investigation. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 19(SUPPL.1), 12–18. <https://doi.org/10.26719/2013.19.suppl.s12>

- Hiraiwa, K., & van Eeden, S. F. (2014). Nature and Consequences of the Systemic Inflammatory Response Induced by Lung Inflammation. *Intech, i(tourism)*, 13.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., & Pöhlmann, S. (2020). A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. *Molecular Cell*, 78(4), 779–784.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.04.022>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hoffmann, M., Schroeder, S., Kleine-Weber, H., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). Nafamostat mesylate blocks activation of SARS-CoV-2: New treatment option for COVID-19. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(6), 19–21. <https://doi.org/10.1128/AAC.00754-20>
- Holshue, M. L., DeBolt, C., Lindquist, S., Lofy, K. H., Wiesman, J., Bruce, H., Spitters, C., Ericson, K., Wilkerson, S., Tural, A., Diaz, G., Cohn, A., Fox, L., Patel, A., Gerber, S. I., Kim, L., Tong, S., Lu, X., Lindstrom, S., ... Pillai, S. K. (2020). First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *New England Journal of Medicine*, 382(10), 929–936. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001191>
- Honce, R., Karlsson, E. A., Wohlgemuth, N., Estrada, L. D., Meliopoulos, V. A., Yao, J., & Schultz-Cherry, S. (2020). Obesity-Related Microenvironment Promotes Emergence of Virulent Influenza Virus Strains. *11*(2), 1–16.
- Hong, P. J., Look, D. C., Tan, P., Shi, L., Hickey, M., Gakhar, L., Chappell, M. C., Wohlford-Lenane, C., & McCray, P. B. (2009). Ectodomain shedding of angiotensin converting enzyme 2 in human airway epithelia. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 297(1), 84–96. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00071.2009>
- Huang, Chaolin, Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Huang, Cheng, Lokugamage, K. G. S. coronavirus nsp1 protein induces template-dependent endonucleolytic cleavage of mRNAs: V. mRNAs are resistant to nsp1-induced R. cleavage, Rozovics, J. M., Narayanan, K., Semler, B. L., & Makino, S. (2011). SARS coronavirus nsp1 protein induces template-dependent endonucleolytic cleavage of mRNAs: Viral mRNAs are resistant to nsp1-induced RNA cleavage. *PLoS Pathogens*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002433>
- Hui, K. P. Y., Cheung, M. C., Perera, R. A. P. M., Ng, K. C., Bui, C. H. T., Ho, J. C. W., Ng, M. M. T., Kuok, D. I. T., Shih, K. C., Tsao, S. W., Poon, L. L. M., Peiris, M., Nicholls, J. M., & Chan, M. C. W. (2020). Tropism, replication competence, and innate immune responses of the coronavirus SARS-CoV-2 in human respiratory tract and conjunctiva: an analysis in ex-vivo and in-vitro cultures. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(7), 687–695. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30193-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30193-4)
- Hung, I. F. N., Lung, K. C., Tso, E. Y. K., Liu, R., Chung, T. W. H., Chu, M. Y., Ng, Y. Y., Lo, J., Chan, J., Tam, A. R., Shum, H. P., Chan, V., Wu, A. K. L., Sin, K. M., Leung, W. S., Law, W. L., Lung, D. C., Sin, S., Yeung, P., ... Yuen, K. Y. (2020). Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *The Lancet*, 395(10238), 1695–1704. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31042-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31042-4)
- Hussain, M., Jabeen, N., Raza, F., Shabbir, S., Baig, A. A., Amanullah, A., & Aziz, B. (2020). Structural variations in human ACE2 may influence its binding with SARS-CoV-2 spike protein. *Journal of Medical Virology*, 92(9), 1580–1586. <https://doi.org/10.1002/jmv.25832>
- Ivashkiv, L. B., & Donlin, L. T. (2014). Regulation of type I interferon responses. *Nature Reviews Immunology*, 14(1), 36–49. <https://doi.org/10.1038/nri3581>

- Iwata-Yoshikawa, N., Okamura, T., Shimizu, Y., Hasegawa, H., Takeda, M., & Nagata, N. (2019). TMPRSS2 Contributes to Virus Spread and Immunopathology in the Airways of Murine Models after Coronavirus Infection. *Journal of Virology*, 93(6). <https://doi.org/10.1128/jvi.01815-18>
- Jang, K. J., Jeong, S., Kang, D. Y., Sp, N., Yang, Y. M., & Kim, D. E. (2020). A high ATP concentration enhances the cooperative translocation of the SARS coronavirus helicase nsP13 in the unwinding of duplex RNA. *Scientific Reports*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61432-1>
- Jans, D. A., Martin, A. J., & Wagstaff, K. M. (2019). Inhibitors of nuclear transport. *Current Opinion in Cell Biology*, 58, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2019.01.001>
- Jin, Y. H., Cai, L., Cheng, Z. S., Cheng, H., Deng, T., Fan, Y. P., Fang, C., Huang, D., Huang, L. Q., Huang, Q., Han, Y., Hu, B., Hu, F., Li, B. H., Li, Y. R., Liang, K., Lin, L. K., Luo, L. S., Ma, J., ... Wang, X. H. (2020). A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Medical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 45(1), 1–20. <https://doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.2020.01.01>
- Jones, B. E., Brown-Augsburger, P. L., Corbett, K. S., Westendorf, K., Davies, J., Cujec, T. P., Wiethoff, C. M., Blackbourne, J. L., Heinz, B. A., Foster, D., Higgs, R. E., Balasubramaniam, D., Wang, L., Bidshahri, R., Kraft, L., Hwang, Y., Žentelis, S., Jepson, K. R., Goya, R., ... Falconer, E. (2020). LY-CoV555, a rapidly isolated potent neutralizing antibody, provides protection in a non-human primate model of SARS-CoV-2 infection. *BioRxiv : The Preprint Server for Biology*, 1–29. <https://doi.org/10.1101/2020.09.30.318972>
- Jones, S. A., & Jenkins, B. J. (2018). Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer. *Nature Reviews Immunology*, 18(12), 773–789. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0066-7>
- Joseph, J. S., Saikatendu, K. S., Subramanian, V., Neuman, B. W., Brooun, A., Griffith, M., Moy, K., Yadav, M. K., Velasquez, J., Buchmeier, M. J., Stevens, R. C., & Kuhn, P. (2006). Crystal Structure of Nonstructural Protein 10 from the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Reveals a Novel Fold with Two Zinc-Binding Motifs. *Journal of Virology*, 80(16), 7894–7901. <https://doi.org/10.1128/jvi.00467-06>
- Kahn, J. S., & McIntosh, K. (2005). Discussion. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 24(11 SUPPL.), 223–227. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000188166.17324.60>
- Kang, S., Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2019). Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*, 50(4), 1007–1023. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.026>
- Kaptein, S. J. F., Jacobs, S., Langendries, L., Seldeslachts, L., ter Horst, S., Liesenborghs, L., Hens, B., Vergote, V., Heylen, E., Barthelemy, K., Maas, E., de Keyzer, C., Bervoets, L., Rymenants, J., van Buyten, T., Zhang, X., Abdelnabi, R., Pang, J., Williams, R., ... Delang, L. (2020). Favipiravir at high doses has potent antiviral activity in SARS-CoV-2–infected hamsters, whereas hydroxychloroquine lacks activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(43), 26955–26965. <https://doi.org/10.1073/pnas.2014441117>
- Kaufer, A. M., Theis, T., Lau, K. A., Gray, J. L., & Rawlinson, W. D. (2020). Laboratory biosafety measures involving SARS-CoV-2 and the classification as a Risk Group 3 biological agent. *Pathology*, 52(7), 790–795. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2020.09.006>
- Kaur, S., Bansal, Y., Kumar, R., & Bansal, G. (2020). A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 28(5), 115327. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115327>
- Keech, C., Albert, G., Cho, I., Robertson, A., Reed, P., Neal, S., Plested, J. S., Zhu, M., Cloney-Clark, S., Zhou, H., Smith, G., Patel, N., Frieman, M. B., Haupt, R. E., Logue, J., McGrath, M., Weston, S., Piedra, P. A., Desai, C., ... Glenn, G. M. (2020). Phase 1–2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 383(24), 2320–2332. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2026920>

- Kempf, D. J., Sham, H. L., Marsh, K. C., Flentge, C. A., Betebenner, D., Green, B. E., McDonald, E., Vasavanonda, S., Saldivar, A., Wideburg, N. E., Kati, W. M., Ruiz, L., Zhao, C., Fino, L., Patterson, J., Molla, A., Plattner, J. J., & Norbeck, D. W. (1998). Discovery of ritonavir, a potent inhibitor of HIV protease with high oral bioavailability and clinical efficacy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41(4), 602–617. <https://doi.org/10.1021/jm970636+>
- Keyaerts, E., Vijgen, L., Maes, P., Neyts, J., & Ranst, M. Van. (2004). In vitro inhibition of severe acute respiratory syndrome coronavirus by chloroquine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 323(1), 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.08.085>
- Kiani, A. K., Dhuli, K., Anpilogov, K., Bressan, S., Dautaj, A., Dundar, M., Beccari, T., Ergoren, M. C., & Bertelli, M. (2020). Natural compounds as inhibitors of SARS-CoV-2 endocytosis: A promising approach against COVID-19. *Acta Biomedica*, 91(6), 1–6. <https://doi.org/10.23750/abm.v91i13-S.10520>
- Kim, U. J., Won, E. J., Kee, S. J., Jung, S. I., & Jang, H. C. (2016). Combination therapy with lopinavir/ritonavir, ribavirin and interferon- α for Middle East respiratory syndrome. *Antiviral Therapy*, 21(5), 455–459. <https://doi.org/10.3851/IMP3002>
- Kimball, A., Hatfield, K. M., Arons, M., James, A., Taylor, J., Spicer, K., Bardossy, A. C., Oakley, L. P., Tanwar, S., Chisty, Z., Bell, J. M., Methner, M., Harney, J., Jacobs, J. R., Christina M. Carlson, Heather P. McLaughlin, N. S., Clark, S., & Claire Brostrom-Smith, MSN4; Libby C. Page, MPH4; Meagan Kay, DVM4; James Lewis, MD4; Denny Russell5; Brian Hiatt5; Jessica Gant, MS5; Jeffrey S. Duchin, MD4; Thomas A. Clark, MD1; Margaret A. Honein, PhD1; Sujan C. Reddy, MD1; John A. Jernigan, MD Anne Ki, M. (2020). Asymptomatic and Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections in Residents of a Long-Term Care Skilled Nursing Facility —. *Morbidity and Mortality Weekly Report Summary*, CDC, 69(13), 377–381.
- Kokic, G., Hillen, H. S., Tegunov, D., Dienemann, C., Seitz, F., Schmitzova, J., Farnung, L., Siewert, A., Höbartner, C., & Cramer, P. (2021). Mechanism of SARS-CoV-2 polymerase stalling by remdesivir. *Nature Communications*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20542-0>
- Kotch, C., Barrett, D., & Teachey, D. T. (2019). Tocilizumab for the treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced cytokine release syndrome. *Expert Review of Clinical Immunology*, 15(8), 813–822. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1629904>
- Krause, R. M., Buisson, B., Bertrand, S., Corringer, P. J., Galzi, J. L., Changeux, J. P., & Bertrand, D. (1998). Ivermectin: a positive allosteric effector of the $\alpha 7$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Molecular Pharmacology*, 53(2), 283–294. <https://doi.org/10.1124/mol.53.2.283>
- Kuba, K., Imai, Y., Ohto-Nakanishi, T., & Penninger, J. M. (2010). Trilogy of ACE2: A peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters. *Pharmacology and Therapeutics*, 128(1), 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.06.003>
- Kuba, K., Imai, Y., Rao, S., Gao, H., Guo, F., Guan, B., Huan, Y., Yang, P., Zhang, Y., Deng, W., Bao, L., Zhang, B., Liu, G., Wang, Z., Chappell, M., Liu, Y., Zheng, D., Leibbrandt, A., Wada, T., ... Penninger, J. M. (2005). A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine*, 11(8), 875–879. <https://doi.org/10.1038/nm1267>
- Kumar, A., Arora, A., Sharma, P., Anikhindi, S. A., Bansal, N., Singla, V., Khare, S., & Srivastava, A. (2020). Is diabetes mellitus associated with mortality and severity of COVID-19? A meta-analysis. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 14(4), 535–545. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.044>
- Lamb, Y. N. (2020). Remdesivir: First Approval. *Drugs*, 80(13), 1355–1363. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01378-w>
- Lamontagne, F., Agoritsas, T., MacDonald, H., Leo, Y. S., Diaz, J., Agarwal, A., Appiah, J. A., Arabi, Y., Blumberg, L., Calfee, C. S., Cao, B., Cecconi, M., Cooke, G., Dunning, J., Geduld, H., Gee, P., Manai, H., Hui, D. S., Kanda, S., ... Natalia, P. (2020). A living WHO guideline

- on drugs for covid-19. *The BMJ*, 370. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3379>
- Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., & Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215–220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
- Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., Li, K. S. M., Huang, Y., Tsoi, H. W., Wong, B. H. L., Wong, S. S. Y., Leung, S. Y., Chan, K. H., & Yuen, K. Y. (2005). Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(39), 14040–14045. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506735102>
- Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., Yip, C. C. Y., Tse, H., Tsoi, H. W., Cheng, V. C. C., Lee, P., Tang, B. S. F., Cheung, C. H. Y., Lee, R. A., So, L. Y., Lau, Y. L., Chan, K. H., & Yuen, K. Y. (2006). Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(6), 2063–2071. <https://doi.org/10.1128/JCM.02614-05>
- Lednický, J. A., Lauzard, M., Fan, Z. H., Jutla, A., Tilly, T. B., Gangwar, M., Usmani, M., Shankar, S. N., Mohamed, K., Eiguren-Fernandez, A., Stephenson, C. J., Alam, M. M., Elbadry, M. A., Loeb, J. C., Subramaniam, K., Waltzek, T. B., Cherabuddi, K., Morris, J. G., & Wu, C. Y. (2020). Viable SARS-CoV-2 in the air of a hospital room with COVID-19 patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 100, 476–482. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.025>
- Lee, N., Allen Chan, K. C., Hui, D. S., Ng, E. K. O., Wu, A., Chiu, R. W. K., Wong, V. W. S., Chan, P. K. S., Wong, K. T., Wong, E., Cockram, C. S., Tam, J. S., Sung, J. J. Y., & Lo, Y. M. D. (2004). Effects of early corticosteroid treatment on plasma SARS-associated Coronavirus RNA concentrations in adult patients. *Journal of Clinical Virology*, 31(4), 304–309. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.07.006>
- Lee, W. S., Wheatley, A. K., Kent, S. J., & DeKosky, B. J. (2020). Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nature Microbiology*, 5(10), 1185–1191. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-00789-5>
- Lei, J., Kusov, Y., & Hilgenfeld, R. (2018). Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Research*, 149(October 2017), 58–74. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.001>
- Li, Geng, Fan, Y., Lai, Y., Han, T., Li, Z., Zhou, P., Pan, P., Wang, W., Hu, D., Liu, X., Zhang, Q., & Wu, J. (2020). Coronavirus infections and immune responses. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 424–432. <https://doi.org/10.1002/jmv.25685>
- Li, Guangdi, & De Clercq, E. (2020). Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nature Reviews. Drug Discovery*, 19(3), 149–150. <https://doi.org/10.1038/d41573-020-00016-0>
- Li, J., Liu, Y., & Zhang, X. (2010). Murine Coronavirus Induces Type I Interferon in Oligodendrocytes through Recognition by RIG-I and MDA5. *Journal of Virology*, 84(13), 6472–6482. <https://doi.org/10.1128/jvi.00016-10>
- Li, Y., Surya, W., Claudine, S., & Torres, J. (2014). Structure of a conserved golgi complex-targeting signal in coronavirus envelope proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 289(18), 12535–12549. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.560094>
- Liu, Q., Zhou, Y. H., & Yang, Z. Q. (2016). The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy. *Cellular and Molecular Immunology*, 13(1), 3–10. <https://doi.org/10.1038/cmi.2015.74>
- Liu, S. J., Leng, C. H., Lien, S. P., Chi, H. Y., Huang, C. Y., Lin, C. L., Lian, W. C., Chen, C. J., Hsieh, S. L., & Chong, P. (2006). Immunological characterizations of the nucleocapsid protein based SARS vaccine candidates. *Vaccine*, 24(16), 3100–3108. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.01.058>
- Liu, T., Zhang, J., Yang, Y., Ma, H., Li, Z., Zhang, J., Cheng, J., Zhang, X., Zhao, Y., Xia, Z., Zhang, L., Wu, G., & Yi, J. (2020). The role of interleukin-6 in monitoring severe case of

- coronavirus disease 2019. *EMBO Molecular Medicine*, 12(7), 1–12. <https://doi.org/10.15252/emmm.202012421>
- Lou, Z., Sun, Y., & Rao, Z. (2014). Current progress in antiviral strategies. *Trends in Pharmacological Sciences*, 35(2), 86–102. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.11.006>
- Lu, R. M., Hwang, Y. C., Liu, I. J., Lee, C. C., Tsai, H. Z., Li, H. J., & Wu, H. C. (2020). Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *Journal of Biomedical Science*, 27(1), 1–30. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 395(10224), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- Ma, Y., Wu, L., Shaw, N., Gao, Y., Wang, J., Sun, Y., Lou, Z., Yan, L., Zhang, R., & Rao, Z. (2015). Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(30), 9436–9441. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508686112>
- Machhi, J., Herskovitz, J., Senan, A. M., Dutta, D., Nath, B., Oleynikov, M. D., Blomberg, W. R., Meigs, D. D., Hasan, M., Patel, M., Kline, P., Chang, R. C. C., Chang, L., Gendelman, H. E., & Kevadiya, B. D. (2020). The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 15(3), 359–386. <https://doi.org/10.1007/s11481-020-09944-5>
- Maciorowski, D., Idrissi, S. Z. E., Gupta, Y., Medernach, B. J., Burns, M. B., Becker, D. P., Durvasula, R., & Kempaiah, P. (2020). A Review of the Preclinical and Clinical Efficacy of Remdesivir, Hydroxychloroquine, and Lopinavir-Ritonavir Treatments against COVID-19. *SLAS Discovery*, 25(10), 1108–1122. <https://doi.org/10.1177/2472555220958385>
- Maisonnasse, P., Guedj, J., Contreras, V., Behillil, S., Solas, C., Marlin, R., Naninck, T., Pizzorno, A., Lemaitre, J., Gonçalves, A., Kahlaoui, N., Terrier, O., Fang, R. H. T., Enouf, V., Dereuddre-Bosquet, N., Brisebarre, A., Touret, F., Chapon, C., Hoen, B., ... Le Grand, R. (2020). Hydroxychloroquine use against SARS-CoV-2 infection in non-human primates. *Nature*, 585(7826), 584–587. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2558-4>
- Marovich, M., Mascola, J. R., & Cohen, M. S. (2020). Monoclonal Antibodies for Prevention and Treatment of COVID-19. *JAMA*, 324(2), 131. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.10245>
- Marston, H. D., Paules, C. I., & Fauci, A. S. (2018). Monoclonal Antibodies for Emerging Infectious Diseases — Borrowing from History. *New England Journal of Medicine*, 378(16), 1469–1472. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1802256>
- Matsuyama, S., Nao, N., Shirato, K., Kawase, M., Saito, S., Takayama, I., Nagata, N., Sekizuka, T., Katoh, H., Kato, F., Sakata, M., Tahara, M., Kutsuna, S., Ohmagari, N., Kuroda, M., Suzuki, T., Kageyama, T., & Takeda, M. (2020). Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(13), 7001–7003. <https://doi.org/10.1073/pnas.2002589117>
- Mauthe, M., Orhon, I., Rocchi, C., Zhou, X., Luhr, M., Hijlkema, K. J., Coppes, R. P., Engedal, N., Mari, M., & Reggiori, F. (2018). Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*, 14(8), 1435–1455. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1474314>
- McBride, R., van Zyl, M., & Fielding, B. C. (2014). The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses*, 6(8), 2991–3018. <https://doi.org/10.3390/v6082991>
- Mehta, N. S., Mytton, O. T., Mullins, E. W. S., Fowler, T. A., Falconer, C. L., Murphy, O. B., Langenberg, C., Jayatunga, W. J. P., Eddy, D. H., & Nguyen-Van-Tam, J. S. (2020). SARS-CoV-2 (COVID-19): What Do We Know about Children? A Systematic Review. *Clinical Infectious Diseases*, 71(9), 2469–2479. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa556>
- Merad, M., & Martin, J. C. (2020). Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role

- for monocytes and macrophages. *Nature Reviews Immunology*, 20(6), 355–362. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0331-4>
- Minskaia, E., Hertzog, T., Gorbalenya, A. E., Campanacci, V., Cambillau, C., Canard, B., & Ziebuhr, J. (2006). Discovery of an RNA virus 3'→5' exoribonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(13), 5108–5113. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508200103>
- Mishra, S. K., & Tripathi, T. (2021). One year update on the COVID-19 pandemic: Where are we now? *Acta Tropica*, 214, 105778. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105778>
- Mittal, A., Manjunath, K., Ranjan, R. K., Kaushik, S., Kumar, S., & Verma, V. (2020). COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by SARS-CoV-2. *PLoS Pathogens*, 16(8), e1008762. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008762>
- Mittal, R., Ni, R., & Seo, J. H. (2020). The flow physics of COVID-19. *Journal of Fluid Mechanics*, 894, 1–14. <https://doi.org/10.1017/jfm.2020.330>
- Mody, V., Ho, J., Wills, S., Mawri, A., Lawson, L., Ebert, M. C. C. J. C., Fortin, G. M., Rayalam, S., & Taval, S. (2021). Identification of 3-chymotrypsin like protease (3CLPro) inhibitors as potential anti-SARS-CoV-2 agents. *Communications Biology*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01577-x>
- Monteil, V., Kwon, H., Prado, P., Hagelkrüys, A., Wimmer, R. A., Stahl, M., Leopoldi, A., Garreta, E., Hurtado del Pozo, C., Prosper, F., Romero, J. P., Wirnsberger, G., Zhang, H., Slutsky, A. S., Conder, R., Montserrat, N., Mirazimi, A., & Penninger, J. M. (2020). Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell*, 181(4), 905–913.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.004>
- Moore, J. B., & June, C. H. (2020). Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*, 368(6490), 473–474. <https://doi.org/10.1126/science.abb8925>
- Mortaz, E., Tabarsi, P., Varahram, M., Folkerts, G., & Adcock, I. M. (2020). The Immune Response and Immunopathology of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11(August), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02037>
- Mulchandani, R., Lyngdoh, T., & Kakkar, A. K. (2021). Deciphering the COVID-19 cytokine storm: Systematic review and meta-analysis. *European Journal of Clinical Investigation*, 51(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/eci.13429>
- Mulligan, M. J., Lyke, K. E., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Neuzil, K., Raabe, V., Bailey, R., Swanson, K. A., Li, P., Koury, K., Kalina, W., Cooper, D., Fontes-Garfias, C., Shi, P. Y., Türeci, Ö., Tompkins, K. R., Walsh, E. E., ... Jansen, K. U. (2020). Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*, 586(7830), 589–593. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2639-4>
- Münz, C. (2016). Autophagy Beyond Intracellular MHC Class II Antigen Presentation. *Trends in Immunology*, 37(11), 755–763. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.08.017>
- Narayanan, K., Maeda, A., Maeda, J., & Makino, S. (2000). Characterization of the Coronavirus M Protein and Nucleocapsid Interaction in Infected Cells. *Journal of Virology*, 74(17), 8127–8134. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.17.8127-8134.2000>
- Nelson, C. W., Arder, Z., Goldberg, T. L., Meng, C., Kuo, C. H., Ludwig, C., Kolokotronis, S. O., & Wei, X. (2020). Dynamically evolving novel overlapping gene as a factor in the SARS-CoV-2 pandemic. *ELife*, 9, 1–45. <https://doi.org/10.7554/eLife.59633>
- Neuman, B. W., Kiss, G., Kunding, A. H., Bhella, D., Baksh, M. F., Connelly, S., Droese, B., Klaus, J. P., Makino, S., Sawicki, S. G., Siddell, S. G., Stamou, D. G., Wilson, I. A., Kuhn, P., & Buchmeier, M. J. (2011). A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *Journal of Structural Biology*, 174(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>
- Nieto-Torres, J. L., DeDiego, M. L., Verdiá-Báguena, C., Jimenez-Guardeño, J. M., Regla-Nava, J. A., Fernandez-Delgado, R., Castaño-Rodríguez, C., Alcaraz, A., Torres, J., Aguilella, V. M.,

- & Enjuanes, L. (2014). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Ion Channel Activity Promotes Virus Fitness and Pathogenesis. *PLoS Pathogens*, 10(5). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004077>
- Ningampalle, M., Devanathan, V., & Saxena, A. (2021). Screening of Chloroquine, Hydroxychloroquine and its derivatives for their binding affinity to multiple SARS-CoV-2 protein drug targets. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(14), 4949–4961. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1782265>
- Nishiura, H., Linton, N. M., & Akhmetzhanov, A. R. (2020). Initial cluster of novel coronavirus (2019-ncov) infections in wuhan, china is consistent with substantial human-to-human transmission. *Journal of Clinical Medicine*, 9(2), 2019–2021. <https://doi.org/10.3390/jcm9020488>
- Oberfeld, B., Achanta, A., Carpenter, K., Chen, P., Gilette, N. M., Langat, P., Said, J. T., Schiff, A. E., Zhou, A. S., Barczak, A. K., & Pillai, S. (2020). SnapShot: COVID-19. *Cell*, 181(4), 954–954.e1. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.013>
- Ogawa, S., Lozach, J., Benner, C., Pascual, G., Tangirala, R. K., Westin, S., Hoffmann, A., Subramaniam, S., David, M., Rosenfeld, M. G., & Glass, C. K. (2005). Molecular determinants of crosstalk between nuclear receptors and toll-like receptors. *Cell*, 122(5), 707–721. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.06.029>
- Onakpoya, I. J., Heneghan, C. J., Spencer, E. A., Brassey, J., Plüddemann, A., Evans, D. H., Conly, J. M., & Jefferson, T. (2021). SARS-CoV-2 and the role of fomite transmission: A systematic review. *F1000Research*, 10. <https://doi.org/10.12688/f1000research.51590.2>
- Ou, X., Liu, Y., Lei, X., Li, P., Mi, D., Ren, L., Guo, L., Guo, R., Chen, T., Hu, J., Xiang, Z., Mu, Z., Chen, X., Chen, J., Hu, K., Jin, Q., Wang, J., & Qian, Z. (2020). Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15562-9>
- Owens, B. (2020). Excitement around hydroxychloroquine for treating COVID-19 causes challenges for rheumatology. *The Lancet Rheumatology*, 2(5), e257. [https://doi.org/10.1016/s2665-9913\(20\)30089-8](https://doi.org/10.1016/s2665-9913(20)30089-8)
- Park, A., & Iwasaki, A. (2020). Type I and Type III Interferons – Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. *Cell Host and Microbe*, 27(6), 870–878. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.008>
- Parvez, M. S. A., Karim, M. A., Hasan, M., Jaman, J., Karim, Z., Tahsin, T., Hasan, M. N., & Hosen, M. J. (2020). Prediction of potential inhibitors for RNA-dependent RNA polymerase of SARS-CoV-2 using comprehensive drug repurposing and molecular docking approach. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1787–1797. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.098>
- Pasternak, A. O., Spaan, W. J. M., & Snijder, E. J. (2006). Nidovirus transcription: How to make sense...? *Journal of General Virology*, 87(6), 1403–1421. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81611-0>
- Pastorino, B., Touret, F., Gilles, M., de Lamballerie, X., & Charrel, R. N. (2020). Prolonged Infectivity of SARS-CoV-2 in Fomites. *Emerging Infectious Diseases*, 26(9), 2256–2257. <https://doi.org/10.3201/eid2609.201788>
- Patel, V. B., Zhong, J. C., Grant, M. B., & Oudit, G. Y. (2016). Role of the ACE2/angiotensin 1-7 axis of the renin-angiotensin system in heart failure. *Circulation Research*, 118(8), 1313–1326. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.307708>
- Persaud, N., Jiang, M., Shaikh, R., Bali, A., Oronsaye, E., Woods, H., Drozdal, G., Rajakulasingam, Y., Maraj, D., Wadhawan, S., Umali, N., Wang, R., McCall, M., Aronson, J. K., Plüddemann, A., Moja, L., Magrini, N., & Heneghan, C. (2019). Comparison of essential medicines lists in 137 countries. *Bulletin of the World Health Organization*, 97(6), 394–404C. <https://doi.org/10.2471/BLT.18.222448>
- Pillay, T. S., & Pillay, T. S. (2020). Gene of the month: The 2019-nCoV/SARS-CoV-2 novel

- coronavirus spike protein. *Journal of Clinical Pathology*, 73(7), 366–369. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206658>
- Qinfen, Z., Jinming, C., Xiaojun, H., Huanying, Z., Jicheng, H., Ling, F., Kunpeng, L., & Jingqiang, Z. (2004). The life cycle of SARS coronavirus in Vero E6 cells. *Journal of Medical Virology*, 73(3), 332–337. <https://doi.org/10.1002/jmv.20095>
- Raj, V., Park, J. G., Cho, K. H., Choi, P., Kim, T., Ham, J., & Lee, J. (2021). Assessment of antiviral potencies of cannabinoids against SARS-CoV-2 using computational and in vitro approaches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 168, 474–485. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.020>
- Ranucci, M., Ballotta, A., Di Dedda, U., Bayshnikova, E., Dei Poli, M., Resta, M., Falco, M., Albano, G., & Menicanti, L. (2020). The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 18(7), 1747–1751. <https://doi.org/10.1111/jth.14854>
- Raschetti, R., Vivanti, A. J., Vauloup-Fellous, C., Loi, B., Benachi, A., & De Luca, D. (2020). Synthesis and systematic review of reported neonatal SARS-CoV-2 infections. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18982-9>
- Reily, M. M., Pantoja, C., Hu, X., Chinenov, Y., & Rogatsky, I. (2006). The GRIP1:IRF3 interaction as a target for glucocorticoid receptor-mediated immunosuppression. *EMBO Journal*, 25(1), 108–117. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600919>
- Reis, G., Moreira Silva, E. A. D. S., Medeiros Silva, D. C., Thabane, L., Singh, G., Park, J. J. H., Forrest, J. I., Harari, O., Quirino Dos Santos, C. V., Guimarães De Almeida, A. P. F., Figueiredo Neto, A. D. De, Savassi, L. C. M., Milagres, A. C., Teixeira, M. M., Simplicio, M. I. C., Ribeiro, L. B., Oliveira, R., & Mills, E. J. (2021). Effect of Early Treatment with Hydroxychloroquine or Lopinavir and Ritonavir on Risk of Hospitalization among Patients with COVID-19: The TOGETHER Randomized Clinical Trial. *JAMA Network Open*, 4(4), 1–14. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.6468>
- Reusken, C. B. E. M., Haagmans, B. L., Müller, M. A., Gutierrez, C., Godeke, G. J., Meyer, B., Muth, D., Raj, V. S., Vries, L. S. De, Corman, V. M., Drexler, J. F., Smits, S. L., El Tahir, Y. E., De Sousa, R., van Beek, J., Nowotny, N., van Maanen, K., Hidalgo-Hermoso, E., Bosch, B. J., ... Koopmans, M. P. G. (2013). Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: A comparative serological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(10), 859–866. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70164-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70164-6)
- Robbins-Juarez, S. Y., Qian, L., King, K. L., Stevens, J. S., Husain, S. A., Radhakrishnan, J., & Mohan, S. (2020). Outcomes for Patients With COVID-19 and Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Kidney International Reports*, 5(8), 1149–1160. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2020.06.013>
- Robson, F., Khan, K. S., Le, T. K., Paris, C., Demirbag, S., Barfuss, P., Rocchi, P., & Ng, W. L. (2020). Coronavirus RNA Proofreading: Molecular Basis and Therapeutic Targeting. *Molecular Cell*, 79(5), 710–727. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.07.027>
- Rothan, H. A., Acharya, A., Reid, S. P., Kumar, M., & Byrareddy, S. N. (2020). Molecular Aspects of COVID-19 Differential Pathogenesis. *Pathogens*, 9(538), 1–9.
- Rothe, C., Schunk, M., Sothmann, P., Bretzel, G., Froeschl, G., Wallrauch, C., Zimmer, T., Thiel, V., Janke, C., Guggemos, W., Seilmaier, M., Drosten, C., Vollmar, P., Zwirgmaier, K., Zange, S., Wölfel, R., & Hoelscher, M. (2020). Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *New England Journal of Medicine*, 382(10), 970–971. <https://doi.org/10.1056/nejmc2001468>
- Ryman, J. T., & Meibohm, B. (2017). Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 6(9), 576–588. <https://doi.org/10.1002/psp4.12224>
- Sakai, Y., Kawachi, K., Terada, Y., Omori, H., Matsuura, Y., & Kamitani, W. (2017). Two-amino acids change in the nsp4 of SARS coronavirus abolishes viral replication. *Virology*,

- 510(July), 165–174. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.07.019>
- Sanders, J. M., Monogue, M. L., Jodkowski, T. Z., & Cutrell, J. B. (2020). Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(18), 1824–1836. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6019>
- Scavone, C., Brusco, S., Bertini, M., Sportiello, L., Rafaniello, C., Zoccoli, A., Berrino, L., Racagni, G., Rossi, F., & Capuano, A. (2020). Current pharmacological treatments for COVID-19: What's next? *British Journal of Pharmacology*, 177(21), 4813–4824. <https://doi.org/10.1111/bph.15072>
- Schoeman, D., & Fielding, B. C. (2019). Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology Journal*, 16(69), 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2020.103443>
- Schrezenmeier, E., & Dörner, T. (2020). Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nature Reviews Rheumatology*, 16(3), 155–166. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0372-x>
- Schulte-Schrepping, J., Reusch, N., Paclik, D., Baßler, K., Schlickeiser, S., Zhang, B., Krämer, B., Krammer, T., Brumhard, S., Bonaguro, L., De Domenico, E., Wendisch, D., Grasshoff, M., Kapellos, T. S., Beckstette, M., Pecht, T., Saglam, A., Dietrich, O., Mei, H. E., ... Ziebuhr, J. (2020). Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell*, 182(6), 1419–1440.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.001>
- Scott, L. J. (2017). Tocilizumab: A Review in Rheumatoid Arthritis. *Drugs*, 77(17), 1865–1879. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0829-7>
- Shah, B., Modi, P., & Sagar, S. R. (2020). In silico studies on therapeutic agents for COVID-19: Drug repurposing approach. *Life Sciences*, 252(April), 117652. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117652>
- Shamsi, A., Mohammad, T., Anwar, S., Amani, S., Khan, M. S., Husain, F. M., Rehman, M. T., Islam, A., & Hassan, M. I. (2021). Potential drug targets of SARS-CoV-2: From genomics to therapeutics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 177, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.071>
- Shang, J., Wan, Y., Luo, C., Ye, G., Geng, Q., Auerbach, A., & Li, F. (2020). Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(21). <https://doi.org/10.1073/pnas.2003138117>
- Shankar-Hari, M., Vale, C. L., Godolphin, P. J., Fisher, D., Higgins, J. P. T., Spiga, F., Savović, J., Tierney, J., Baron, G., Benbenishty, J. S., Berry, L. R., Broman, N., Cavalcanti, A. B., Colman, R., De Buyser, S. L., Derde, L. P. G., Domingo, P., Omar, S. F., Fernandez-Cruz, A., ... Sterne, J. A. C. (2021). Association between Administration of IL-6 Antagonists and Mortality among Patients Hospitalized for COVID-19: A Meta-analysis. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 326(6), 499–518. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.11330>
- Sheahan, T. P., Sims, A. C., Graham, R. L., Menachery, V. D., Lisa, E., Case, J. B., Leist, S. R., Pyrc, K., Feng, J. Y., Trantcheva, I., Bannister, R., Park, Y., Babusis, D., Clarke, M. O., Mackman, R. L., Spahn, J. E., Palmiotti, C. A., Siegel, D., Ray, A. S., ... Baric, R. S. (2017). Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci Transl Med.*, 9(396), 1–20. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aal3653>
- Sheahan, T. P., Sims, A. C., Leist, S. R., Schäfer, A., Won, J., Brown, A. J., Montgomery, S. A., Hogg, A., Babusis, D., Clarke, M. O., Spahn, J. E., Bauer, L., Sellers, S., Porter, D., Feng, J. Y., Cihlar, T., Jordan, R., Denison, M. R., & Baric, R. S. (2020). Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13940-6>
- Shen, H. M., & Mizushima, N. (2014). At the end of the autophagic road: An emerging understanding of lysosomal functions in autophagy. *Trends in Biochemical Sciences*, 39(2), 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.12.001>
- Shen, M., Hu, M., Fedak, P. W. M., Oudit, G. Y., & Kassiri, Z. (2018). Cell-specific functions of

- ADAM17 regulate the progression of thoracic aortic aneurysm. *Circulation Research*, 123(3), 372–388. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313181>
- Shojaei, S., Suresh, M., Klionsky, D. J., Labouta, H. I., & Ghavami, S. (2020). Autophagy and SARS-CoV-2 infection: A possible smart targeting of the autophagy pathway. *Virulence*, 11(1), 805–810. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1780088>
- Siegel, D., Hui, H. C., Doerffler, E., Clarke, M. O., Chun, K., Zhang, L., Neville, S., Carra, E., Lew, W., Ross, B., Wang, Q., Wolfe, L., Jordan, R., Soloveva, V., Knox, J., Perry, J., Perron, M., Stray, K. M., Barauskas, O., ... Mackman, R. L. (2017). Discovery and Synthesis of a Phosphoramidate Prodrug of a Pyrrolo[2,1-f][triazin-4-amino] Adenine C-Nucleoside (GS-5734) for the Treatment of Ebola and Emerging Viruses. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(5), 1648–1661. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01594>
- Siemieniuk, R. A. C., Bartoszko, J. J., Ge, L., Zeraatkar, D., Izcovich, A., Pardo-Hernandez, H., Rochwerf, B., Lamontagne, F., Han, M. A., Kum, E., Liu, Q., Agarwal, A., Agoritsas, T., Alexander, P., Chu, D. K., Couban, R., Darzi, A., Devji, T., Fang, B., ... Brignardello-Petersen, R. (2020). Drug treatments for covid-19: Living systematic review and network meta-Analysis. *The BMJ*, 370(July 2020), 1–18. <https://doi.org/10.1136/bmj.m2980>
- Singh, B., Ryan, H., Kredon, T., Chaplin, M., & Fletcher, T. (2021). Chloroquine or hydroxychloroquine for prevention and treatment of COVID-19. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021(2). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013587.pub2>
- Snijder, E. J., Limpens, R. W. A. L., de Wilde, A. H., de Jong, A. W. M., Zevenhoven-Dobbe, J. C., Maier, H. J., Faas, F. F. G. A., Koster, A. J., & Bárcena, M. (2020). A unifying structural and functional model of the coronavirus replication organelle: Tracking down RNA synthesis. *PLoS Biology*, 18(6), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000715>
- Sola, I., Almazán, F., Zúñiga, S., & Enjuanes, L. (2015). Continuous and Discontinuous RNA Synthesis in Coronaviruses. *Annual Review of Virology*, 2, 265–288. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055218>
- Spanakis, N., Tsiodras, S., Haagmans, B. L., Raj, V. S., Pontikis, K., Koutsoukou, A., Koulouris, N. G., Osterhaus, A. D. M. E., Koopmans, M. P. G., & Tsakris, A. (2014). Virological and serological analysis of a recent Middle East respiratory syndrome coronavirus infection case on a triple combination antiviral regimen. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(6), 528–532. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.07.026>
- Stadnytskyi, V., Bax, C. E., Bax, A., & Anfinrud, P. (2020). The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(22), 11875–11877. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006874117>
- Steinhardt, L. C., Magill, A. J., & Arguin, P. M. (2011). Review: Malaria chemoprophylaxis for travelers to Latin America. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(6), 1015–1024. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0464>
- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C. K., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y., & Gao, G. F. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in Microbiology*, 24(6), 490–502. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
- Subissi, L., Imbert, I., Ferron, F., Collet, A., Coutard, B., Decroly, E., & Canard, B. (2014). SARS-CoV ORF1b-encoded nonstructural proteins 12-16: Replicative enzymes as antiviral targets. *Antiviral Research*, 101(1), 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.11.006>
- Subissi, L., Posthuma, C. C., Collet, A., Zevenhoven-Dobbe, J. C., Gorbalenya, A. E., Decroly, E., Snijder, E. J., Canard, B., & Imbert, I. (2014). One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(37), E3900–E3909. <https://doi.org/10.1073/pnas.1323705111>
- Sun, X., Wang, T., Cai, D., Hu, Z., Chen, J., Liao, H., Zhi, L., Wei, H., Zhang, Z., Qiu, Y., Wang, J., & Wang, A. (2020). Cytokine storm intervention in the early stages of COVID-19

- pneumonia. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 53(March), 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.04.002>
- Tabatabaeizadeh, S. A. (2021). Airborne transmission of COVID-19 and the role of face mask to prevent it: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Medical Research*, 26(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s40001-020-00475-6>
- Tan, W., & Aboulhosn, J. (2020). The cardiovascular burden of coronavirus disease 2019 (COVID-19) with a focus on congenital heart disease. *International Journal of Cardiology*, 309, 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.03.063>
- Tang, N., Bai, H., Chen, X., Gong, J., Li, D., & Sun, Z. (2020). Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 18(5), 1094–1099. <https://doi.org/10.1111/jth.14817>
- Tang, T. K., Wu, M. P. J., Chen, S. T., Hou, M. H., Hong, M. H., Pan, F. M., Yu, H. M., Chen, J. H., Yao, C. W., & Wang, A. H. J. (2005). Biochemical and immunological studies of nucleocapsid proteins of severe acute respiratory syndrome and 229E human coronaviruses. *Proteomics*, 5(4), 925–937. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401204>
- Tay, M. Y. F., Fraser, J. E., Chan, W. K. K., Moreland, N. J., Rathore, A. P., Wang, C., Vasudevan, S. G., & Jans, D. A. (2013). Nuclear localization of dengue virus (DENV) 1–4 non-structural protein 5; protection against all 4 DENV serotypes by the inhibitor Ivermectin. *Antiviral Research*, 99(3), 301–306. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.06.002>
- Tay, M. Z., Poh, C. M., Rénia, L., MacAry, P. A., & Ng, L. F. P. (2020). The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews Immunology*, 20(6), 363–374. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8>
- Tchesnokov, E. of inhibition of ebola virus R. R. polymerase by remdesivir P., Feng, J. Y., Porter, D. P., & Götte, M. (2019). Mechanism of inhibition of ebola virus RNA-dependent RNA polymerase by remdesivir. *Viruses*, 11(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/v11040326>
- Te Velthuis, A. J. W., Van Den Worm, S. H. E., & Snijder, E. J. (2012). The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension. *Nucleic Acids Research*, 40(4), 1737–1747. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr893>
- The RECOVERY Collaborative Group. (2021). Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 384(8), 693–704. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2021436>
- Thiel, V., Ivanov, K. A., Putics, Á., Hertzog, T., Schelle, B., Bayer, S., Weißbrich, B., Snijder, E. J., Rabenau, H., Doerr, H. W., Gorbalenya, A. E., & Ziebuhr, J. (2003). Mechanisms and enzymes involved in SARS coronavirus genome expression. *Journal of General Virology*, 84(9), 2305–2315. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19424-0>
- Tian, S., Hu, W., Niu, L., Liu, H., Xu, H., & Xiao, S. Y. (2020). Pulmonary Pathology of Early-Phase 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Pneumonia in Two Patients With Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 15(5), 700–704. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.02.010>
- Tikellis, C., & Thomas, M. C. (2012). Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) is a key modulator of the renin angiotensin system in health and disease. *International Journal of Peptides*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/256294>
- Tortorici, M. A., & Veasler, D. (2019). Structural insights into coronavirus entry. In *Advances in Virus Research* (1st ed., Vol. 105). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2019.08.002>
- Totura, A. L., Whitmore, A., Agnihothram, S., Schäfer, A., Katze, M. G., Heise, M. T., & Baric, R. S. (2015). Toll-like receptor 3 signaling via TRIF contributes to a protective innate immune response to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *MBio*, 6(3), 1–14. <https://doi.org/10.1128/mBio.00638-15>
- Trougakos, I. P., Stamatelopoulou, K., Terpos, E., Tsitsilonis, O. E., Aivalioti, E., Paraskevis, D.,

- Kastritis, E., Pavlakakis, G. N., & Dimopoulos, M. A. (2021). Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *Journal of Biomedical Science*, 28(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00703-5>
- Uzunova, K., Filipova, E., Pavlova, V., & Vekov, T. (2020). Insights into antiviral mechanisms of remdesivir, lopinavir/ritonavir and chloroquine/hydroxychloroquine affecting the new SARS-CoV-2. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 131(August), 110668. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110668>
- van den Borne, B. E., Dijkmans, B. A., de Rooij, H. H., le Cessie, S., & Verweij, C. L. (1997). Chloroquine and hydroxychloroquine equally affect tumor necrosis factor-alpha, interleukin 6, and interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells. *The Journal of Rheumatology*, 24(1), 55–60.
- Van Der Hoek, L., Pyrc, K., Jebbink, M. F., Vermeulen-Oost, W., Berkhout, R. J. M., Wolthers, K. C., Wertheim-Van Dillen, P. M. E., Kaandorp, J., Spaargaren, J., & Berkhout, B. (2004). Identification of a new human coronavirus. *Nature Medicine*, 10(4), 368–373. <https://doi.org/10.1038/nm1024>
- Villar, J., Ferrando, C., Martínez, D., Ambrós, A., Muñoz, T., Soler, J. A., Aguilar, G., Alba, F., González-Higueras, E., Conesa, L. A., Martín-Rodríguez, C., Díaz-Domínguez, F. J., Serna-Grande, P., Rivas, R., Ferreres, J., Belda, J., Capilla, L., Tallet, A., Añón, J. M., ... Soro, M. (2020). Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(3), 267–276. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30417-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30417-5)
- Viveiros Rosa, S. G., & Santos, W. C. (2020). Clinical trials on drug repositioning for COVID-19 treatment. *Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health*, 44, 1–7. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.40>
- Vogel, A. B., Kanevsky, I., Che, Y., Swanson, K. A., Muik, A., Vormehr, M., Kranz, L. M., Walzer, K. C., Hein, S., Güler, A., Loschko, J., Maddur, M. S., Ota-Setlik, A., Tompkins, K., Cole, J., Lui, B. G., Ziegenhals, T., Plaschke, A., Eisel, D., ... Sahin, U. (2021). BNT162b vaccines protect rhesus macaques from SARS-CoV-2. *Nature*, 592(7853), 283–289. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03275-y>
- Wagner, C., Griesel, M., Mikolajewska, A., Mueller, A., Nothacker, M., Kley, K., Metzendorf, M. I., Fischer, A. L., Kopp, M., Stegemann, M., Skoetz, N., & Fichtner, F. (2021). Systemic corticosteroids for the treatment of COVID-19. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021(8). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD014963>
- Wagstaff, K. M., Sivakumaran, H., Heaton, S. M., Harrich, D., & Jans, D. A. (2012). Ivermectin is a specific inhibitor of importin α/β -mediated nuclear import able to inhibit replication of HIV-1 and dengue virus. *Biochemical Journal*, 443(3), 851–856. <https://doi.org/10.1042/BJ20120150>
- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veasler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281–292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- Walls, A. C., Tortorici, M. A., Snijder, J., Xiong, X., Bosch, B. J., Rey, F. A., & Veasler, D. (2017). Tectonic conformational changes of a coronavirus spike glycoprotein promote membrane fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(42), 11157–11162. <https://doi.org/10.1073/pnas.1708727114>
- Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., Shi, Z., Hu, Z., Zhong, W., & Xiao, G. (2020). Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Research*, 30(3), 269–271. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0>
- Wang, M. Y., Zhao, R., Gao, L. J., Gao, X. F., Wang, D. P., & Cao, J. M. (2020). SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(November), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.587269>

- Wang, Q., Wu, J., Wang, H., Gao, Y., Liu, Q., Mu, A., Ji, W., Yan, L., Zhu, Y., Zhu, C., Fang, X., Yang, X., Huang, Y., Gao, H., Liu, F., Ge, J., Sun, Q., Yang, X., Xu, W., ... Rao, Z. (2020). Structural Basis for RNA Replication by the SARS-CoV-2 Polymerase. *Cell*, 182(2), 417–428.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.034>
- Wang, Y., & Liu, L. (2016). The membrane protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus functions as a novel cytosolic pathogen-associated molecular pattern to promote beta interferon induction via a toll-like-receptor-related TRAF3-independent mechanism. *MBio*, 7(1). <https://doi.org/10.1128/mBio.01872-15>
- Warren, T. K., Jordan, R., Lo, M. K., Ray, A. S., Mackman, R. L., Soloveva, V., Siegel, D., Perron, M., Bannister, R., Hui, H. C., Larson, N., Strickley, R., Wells, J., Stuthman, K. S., Van Tongeren, S. A., Garza, N. L., Donnelly, G., Shurtleff, A. C., Retterer, C. J., ... Bavari, S. (2016). Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature*, 531(7594), 381–385. <https://doi.org/10.1038/nature17180>
- Weinreich, D. M., Sivapalasingam, S., Norton, T., Ali, S., Gao, H., Bhore, R., Xiao, J., Hooper, A. T., Hamilton, J. D., Musser, B. J., Rofail, D., Hussein, M., Im, J., Atmodjo, D. Y., Perry, C., Pan, C., Mahmood, A., Hosain, R., Davis, J. D., ... Investigators, for the T. (2021). REGEN-COV Antibody Cocktail Clinical Outcomes Study in Covid-19 Outpatients. *MedRxiv*, 2021.05.19.21257469. <https://doi.org/10.1101/2021.05.19.21257469>
- WHO SOLIDARITY Trial Consortium. (2021). Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 — Interim WHO Solidarity Trial Results. *New England Journal of Medicine*, 384(6), 497–511. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2023184>
- Williamson, B. N., Feldmann, F., Schwarz, B., Meade-White, K., Porter, D. P., Schulz, J., van Doremalen, N., Leighton, I., Yinda, C. K., Pérez-Pérez, L., Okumura, A., Lovaglio, J., Hanley, P. W., Saturday, G., Bosio, C. M., Anzick, S., Barbican, K., Cihlar, T., Martens, C., ... de Wit, E. (2020). Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. *Nature*, 585(7824), 273–276. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2423-5>
- Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., Niemeyer, D., Jones, T. C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., & Wendtner, C. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 581(7809), 465–469. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Lam, C. S. F., Lau, C. C. Y., Tsang, A. K. L., Lau, J. H. N., Bai, R., Teng, J. L. L., Tsang, C. C. C., Wang, M., Zheng, B.-J., Chan, K.-H., & Yuen, K.-Y. (2012). Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavi. *Journal of Virology*, 86(7), 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/jvi.06540-11>
- World Health Organization. (2021). WHO-convened Global Study of Origins of SARS-CoV-2 : China Part (14 January-10 February 2021). Joint WHO-China Study Team Report, February, 120.
- Wu, A., Peng, Y., Huang, B., Ding, X., Wang, X., Niu, P., Meng, J., Zhu, Z., Zhang, Z., Wang, J., Sheng, J., Quan, L., Xia, Z., Tan, W., Cheng, G., & Jiang, T. (2020). Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host and Microbe*, 27(3), 325–328. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.02.001>
- Wu, C., Chen, X., Cai, Y., Xia, J., Zhou, X., Xu, S., Huang, H., Zhang, L., Zhou, X., Du, C., Zhang, Y., Song, J., Wang, S., Chao, Y., Yang, Z., Xu, J., Zhou, X., Chen, D., Xiong, W., ... Song, Y. (2020). Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine*, 180(7), 934–943. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- Wu, C. Y., Jan, J. T., Ma, S. H., Kuo, C. J., Juan, H. F., Cheng, Y. S. E., Hsu, H. H., Huang, H. C., Wu, D., Brik, A., Liang, F. Sen, Liu, R. S., Fang, J. M., Chen, S. T., Liang, P. H., & Wong, C. H. (2004). Small molecules targeting severe acute respiratory syndrome human coronavirus.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(27), 10012–10017. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403596101>
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J. H., Pei, Y. Y., Yuan, M. L., Zhang, Y. L., Dai, F. H., Liu, Y., Wang, Q. M., Zheng, J. J., Xu, L., Holmes, E. C., & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- Wu, Q., Zhang, Y., Lü, H., Wang, J., He, X., Liu, Y., Ye, C., Lin, W., Hu, J., Ji, J., Xu, J., Ye, J., Hu, Y., Chen, W., Li, S., Wang, J., Wang, J., Bi, S., & Yang, H. (2003). The E protein is a multifunctional membrane protein of SARS-CoV. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics / Beijing Genomics Institute*, 1(2), 131–144. [https://doi.org/10.1016/S1672-0229\(03\)01017-9](https://doi.org/10.1016/S1672-0229(03)01017-9)
- Wulan, W. N., Heydet, D., Walker, E. J., Gahan, M. E., & Ghildyal, R. (2015). Nucleocytoplasmic transport of nucleocapsid proteins of enveloped RNA viruses. *Frontiers in Microbiology*, 6(JUN), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00553>
- Xia, S., Lan, Q., Su, S., Wang, X., Xu, W., Liu, Z., Zhu, Y., Wang, Q., Lu, L., & Jiang, S. (2020). The role of furin cleavage site in SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion in the presence or absence of trypsin. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0184-0>
- Xiantian, X., Ping, C., Jingfang, W., Jiannan, F., Hui, Z., Xuan, L., Wu, Z., & Pei, H. (2020). Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *SCIENCE CHINA Life Sciences*, 63(3), 457–460.
- Xu, H., Zhong, L., Deng, J., Peng, J., Dan, H., Zeng, X., Li, T., & Chen, Q. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science*, 12(1), 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>
- Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C., Liu, S., Zhao, P., Liu, H., Zhu, L., Tai, Y., Bai, C., Gao, T., Song, J., Xia, P., Dong, J., Zhao, J., & Wang, F. S. (2020). Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(4), 420–422. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X)
- Yadav, R., Chaudhary, J. K., Jain, N., Chaudhary, P. K., Khanra, S., Dhamija, P., Sharma, A., Kumar, A., & Handu, S. (2021). Role of structural and non-structural proteins and therapeutic targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. *Cells*, 10(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/cells10040821>
- Yamamoto, M., Matsuyama, S., Li, X., Takeda, M., Kawaguchi, Y., Inoue, J. I., & Matsuda, Z. (2016). Identification of nafamostat as a potent inhibitor of middle east respiratory syndrome Coronavirus s protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(11), 6532–6539. <https://doi.org/10.1128/AAC.01043-16>
- Yan, X., Hao, Q., Mu, Y., Timani, K. A., Ye, L., Zhu, Y., & Wu, J. (2006). Nucleocapsid protein of SARS-CoV activates the expression of cyclooxygenase-2 by binding directly to regulatory elements for nuclear factor-kappa B and CCAAT/enhancer binding protein. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 38(8), 1417–1428. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.02.003>
- Yang, H., Xie, W., Xue, X., Yang, K., Ma, J., Liang, W., Zhao, Q., Zhou, Z., Pei, D., Ziebuhr, J., Hilgenfeld, R., Kwok, Y. Y., Wong, L., Gao, G., Chen, S., Chen, Z., Ma, D., Bartlam, M., & Rao, Z. (2005). Design of wide-spectrum inhibitors targeting coronavirus main proteases. *PLoS Biology*, 3(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030324>
- Yang, N., & Shen, H. M. (2020). Targeting the endocytic pathway and autophagy process as a novel therapeutic strategy in COVID-19. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1724–1731. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45498>
- Yang, S. N. Y., Atkinson, S. C., Wang, C., Lee, A., Bogoyevitch, M. A., Borg, N. A., & Jans, D. A. (2020). The broad spectrum antiviral ivermectin targets the host nuclear transport importin

- $\alpha/\beta 1$ heterodimer. *Antiviral Research*, 177(December 2019), 104760. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104760>
- Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P., Liu, X., Zhao, L., Dong, E., Song, C., Zhan, S., Lu, R., Li, H., Tan, W., & Liu, D. (2020). In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 732–739. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa237>
- Ye, Y., & Hogue, B. G. (2007). Role of the Coronavirus E Viroporin Protein Transmembrane Domain in Virus Assembly. *Journal of Virology*, 81(7), 3597–3607. <https://doi.org/10.1128/jvi.01472-06>
- Yob, J. M., Field, H., Rashdi, A. M., Morrissy, C., van der Heide, B., Rota, P., bin Adzhar, A., White, J., Daniels, P., Jamaluddin, A., & Ksiazek, T. (2001). Nipah virus infection in bats (order Chiroptera) in peninsular Malaysia. *Emerging Infectious Diseases*, 7(3), 439–441. <https://doi.org/10.3201/eid0703.017312>
- Yu, X., Sun, S., Shi, Y., Wang, H., Zhao, R., & Sheng, J. (2020). SARS-CoV-2 viral load in sputum correlates with risk of COVID-19 progression. *Critical Care*, 24(1), 1–4. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02893-8>
- Zaki, A. M., van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D. M. E., & Fouchier, R. A. M. (2012). Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*, 367(19), 1814–1820. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1211721>
- Zhang, C., Wu, Z., Li, J. W., Zhao, H., & Wang, G. Q. (2020). Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105954>
- Zhang, L., Lin, D., Kusov, Y., Nian, Y., Ma, Q., Wang, J., Von Brunn, A., Leyssen, P., Lanko, K., Neyts, J., De Wilde, A., Snijder, E. J., Liu, H., & Hilgenfeld, R. (2020). α -Ketoamides as Broad-Spectrum Inhibitors of Coronavirus and Enterovirus Replication: Structure-Based Design, Synthesis, and Activity Assessment. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(9), 4562–4578. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01828>
- Zhang, L., Lin, D., Sun, X., Curth, U., Drosten, C., Sauerhering, L., Becker, S., Rox, K., & Hilgenfeld, R. (2020). Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science*, 368(6489), 409–412. <https://doi.org/10.1126/science.abb3405>
- Zhang, T., Wu, Q., & Zhang, Z. (2020). Pangolin homology associated with 2019-nCoV. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.02.19.950253>
- Zhang, X., Song, Y., Ci, X., An, N., Ju, Y., Li, H., Wang, X., Han, C., Cui, J., & Deng, X. (2008). Ivermectin inhibits LPS-induced production of inflammatory cytokines and improves LPS-induced survival in mice. *Inflammation Research*, 57(11), 524–529. <https://doi.org/10.1007/s00011-008-8007-8>
- Zhao, J., Li, K., Wohlford-Lenane, C., Agnihothram, S. S., Fett, C., Zhao, J., Gale, M. J., Baric, R. S., Enjuanes, L., Gallagher, T., McCray, P. B., & Perlman, S. (2014). Rapid generation of a mouse model for Middle East respiratory syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(13), 4970–4975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1323279111>
- Zhao, Z., Thackray, L. B., Miller, B. C., Lynn, T. M., Becker, M. M., Ward, E., Mizushima, N. N., Denison, M. R., & Virgin IV, H. W. (2007). Coronavirus replication does not require the autophagy gene ATG5. *Autophagy*, 3(6), 581–585. <https://doi.org/10.4161/auto.4782>
- Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*, 395(10229), 1054–1062.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)

- Zhou, P., Yang, X. Lou, Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. Di, Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., & Tan, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727–733. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>
- Ziebuhr, J. (2004). Molecular biology of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Current Opinion in Microbiology*, 7(4), 412–419. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.06.007>
- Zumla, A., Chan, J. F. W., Azhar, E. I., Hui, D. S. C., & Yuen, K. Y. (2016). Coronaviruses-drug discovery and therapeutic options. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(5), 327–347. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.37>