

TRABAJO FIN DE GRADO

Interacciones de los Coronavirus con proteínas tipo ACE (Angiotensin-Converting Enzyme)-2. Implicaciones terapéuticas.

Grado en Farmacia. Curso 2020-2021

Autora: PATRYCJA MARÍA JAKUBIEC

Tutor: ANTONIO RODRIGUEZ DEL CASTILLO.

Co-Tutor: JUAN IGNACIO F. VIERA.

Departamento: Bioquímica y BM, Microbiología, Biología celular y Genética.

ÍNDICE.

RESUMEN.	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN.	5
OBJETIVOS Y METODOLOGÍA.	6
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	7
OBJETIVO 1. Identificación de patologías que implican a ACE2.	7
IMPLICACIONES ACE2 EN DIFERENTES PATOLOGÍAS.	10
ACE2 y Presión arterial.	10
ACE2 y la psoriasis.	10
ACE2 y las enfermedades cardiovasculares.	11
ACE2 y los accidentes cerebrovasculares.	11
OBJETIVO 2. Interacción ACE2 pulmonar con las espículas de los SARS-CoV.	12
OBJETIVO 3. Estrategias terapéuticas en la interacción ACE2–SARS-CoV-2.	14
OBJETIVO 4. Hipótesis para nuevas terapias implicando a las ACE.	15
CONCLUSIÓN.	16
BIBLIOGRAFIA.	17

RESUMEN.

El principal receptor del SARS-CoV-2 sobre las células diana humanas es una proteína con función enzimática, la denominada Enzima Convertidora de Angiotensina tipo 2, más comúnmente conocida como ACE2, la cual además de su importante función como moduladora del metabolismo celular, es una interesante proteína desde el punto de vista clínico, al estar implicada en un heterogéneo grupo de patologías al que se le suma recientemente su papel centran en la infección del SARS-CoV-2 y que está generando la pandemia CoVID-19. Por ello, existe un marcado interés en el estudio de esta proteína, tanto por ser diana de ese y otros coronavirus relacionados, como por su implicación en algunas de las indicadas patologías. En este trabajo hemos presentado la evidencia relativa a la participación de esta enzima en las patologías humanas que han sido descritas clínicamente. Hemos señalados las características que hacen, específicamente, a esta enzima responsable o participe de cada una de estas patologías. Hemos desarrollado la evidencia actual sobre el nuevo papel de esta proteína como diana de interacción para los diferentes coronavirus, especialmente SARS-CoV-2. Hemos presentado la evidencia terapéutica para afrontar esta importante diana y por último hemos propuesto una hipótesis de trabajo, a modo de ejercicio. Una posible herramienta experimental para abordar el bloqueo de la interacción entre el virus y el dominio extracelular de la ACE-2.

Palabras clave: “Enzima Convertidora de Angiotensina tipo 2” (ACE-2); Síndrome Respiratorio agudo severo por coronavirus tipo 2 (SARS-CoV-2); Enfermedad por coronavirus 2019 (CoVID-19).

ABSTRACT

The main receptor for SARS-CoV -2 on human target cells is a protein with enzymatic function, the so-called Angiotensin Converting Enzyme type 2 (ACE-2), apart from its important function as a modulator of cellular metabolism, an interesting protein from the clinical point of view as it is involved in a heterogeneous group of pathologies to which its central role in the SARS-CoV-2 infection has recently been added and which is generating the CoVID-19 pandemic. Therefore, there is a marked interest in the study of this protein, both because it is a target of this and other related coronaviruses, and because of its involvement in some of the indicated pathologies described. In this work we have presented the evidence regarding the participation of this enzyme in human pathologies that have been clinically described. We have pointed out the characteristics that make this enzyme responsible or participant in each of these pathologies specifically. We have developed current evidence on the new role of this protein as an interaction target for different coronaviruses, especially SARSCoV-2. We have presented the demonstrated therapeutic evidence to address this important target and finally we have proposed a working hypothesis on a possible experimental tool to address the blocking of the interaction between the virus and the extracellular domain of ACE-2 by way of exercise.

Keywords.

"Angiotensin Converting Enzyme type 2" (ACE-2); Severe acute respiratory syndrome-coronavirus type 2 (SARS-CoV-2); Coronavirus Disease 2019 (CoVID-19).

INTRODUCCIÓN.

El responsable del síndrome respiratorio agudo severo originado por el coronavirus tipo 2 (SARS-CoV-2) es un virus ARN portador de una hebra positiva que causa graves daños en humanos, generando una severa epidemia denominada COVID-19 que se ha cobrado más de 2000 vidas en todo el mundo ente diciembre de 2019 y febrero de 2021 (1). El genoma del SARS-CoV-2 comparte aproximadamente el 80% de identidad con el SARS-CoV y es aproximadamente un 96% idéntico al coronavirus del murciélago BatCoV RaTG13 (2). En el caso del SARS-CoV, la glicoproteína denominada *spike* (proteína S) en la superficie del virión es responsable de la interacción con el receptor celular, la proteína motivo del presente trabajo, y la fusión con la membrana (3). Durante la infección viral, la proteína S (en realidad un tripéptido) se escinde en los péptidos S1 y S2. El péptido S1 contiene el dominio de unión al receptor (por sus siglas en inglés: RBD), que se une directamente al dominio de peptidasa (PD) de la enzima convertidora de angiotensina 2 (por sus siglas en inglés: Angiotensin-Converting Enzyme 2 o ACE2) (4). Posteriormente a la unión al receptor, la subunidad (péptido) S2 aparece implicada en la fusión a la membrana celular. Cuando S1 se une al receptor ACE2 de las células pulmonares humanas, se expone otra región a la acción de proteasas. Este segundo punto de escisión genera el tercer fragmento que es crítico para la infección viral (5). El dominio exterior (expuesto) de la subunidad S2 se une, con gran afinidad, a la región catalítica de la ACE2 (por sus siglas en inglés peptidase domain: EP) indicándose una constante disociación (Kd) de ~ 15 nM (6).

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA.

Cuatro son los objetivos planteados en este trabajo. En primer lugar, revisar el papel de la ACE-2 en relación con las principales patologías descritas en la literatura científica. En segundo lugar, identificar, para cada una de estas patologías, el papel que juega esta proteína. En tercer lugar, plantear el nuevo papel que juega el dominio extracelular de la ACE2 expresada en el pulmón como punto de anclaje e interacción con las espículas del Coronavirus, y en cuarto lugar, estudiar las aproximaciones experimentales propuestas, incluyendo nuestra propia estrategia, encaminada a frenar la infección del SARCoV-2 mediado por la ACE2.

La metodología de los objetivos 1 y 2 ha consistido en la recopilación bibliográfica disponible en los últimos 10 años, empleando la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI), específicamente la sub-base de datos PubMed, en relación con la ACE2 y una vez obtenidas las citas y extraído los correspondientes datos, en la cuantificación y graficado de estos, empleando el programa de representación Excel, para obtener una visión global de la participación de esta proteína en las patologías descritas. Para el objetivo 3, se han identificado los artículos más relevantes empleando distintas fuentes de información para señalarlos en la tabla correspondiente. Por último, para nuestro 4 objetivo, hemos propuesto un posible ensayo clínico de interés en el cual se involucra la vitamina D.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

OBJETIVO 1. Identificación de patologías que implican a ACE2.

El interés científico generado por ACE2 y el correspondiente al SARCoV-2 desde su descubrimiento, se muestran en la Figura 1.

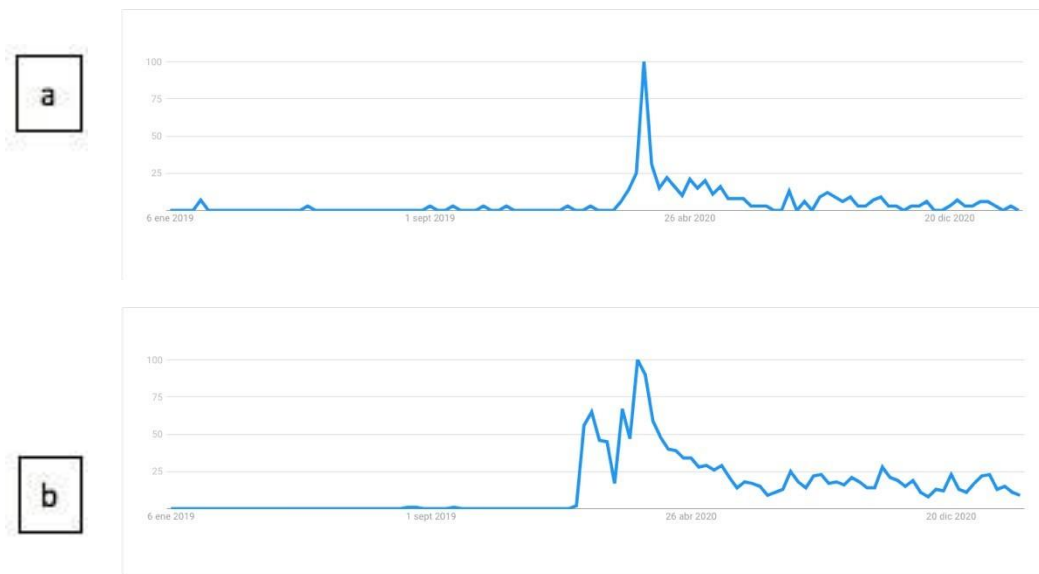


Figura 1. Se representa el interés general generado por ACE2 (a) y por SARS-CoV-2 (b) en una búsqueda mediante ``google trends ``. Se observa dicho incremento a partir de 2020.

Se llevó a cabo una búsqueda de términos booleana empleando dos periodos de tiempo. Los resultados se muestran en la **Tabla 1**. A partir de estos resultados, se generaron los gráficos mostrados en la **Figura 2**.

Palabras claves PubMed.	Artículos de menos de 1 año (2020-2021)	Artículos de más de 10 años (2011-2021)
ACE2, covid-19	3591	3703
ACE2, Covid-19, blood pressure	78	79
ACE2, covid-19, Psoriasis	3	3
ACE2, Covid-19, cardiovascular disease	585	599
ACE2, Covid-19, renal disease	190	196
ACE2, Covid-19, stroke	80	86
ACE2, Covid-19, Alzheimer	24	25

Tabla 1. *Resultados de la búsqueda en PubMed de artículos en los últimos 10 y 1 año conteniendo los términos de búsqueda indicados.*

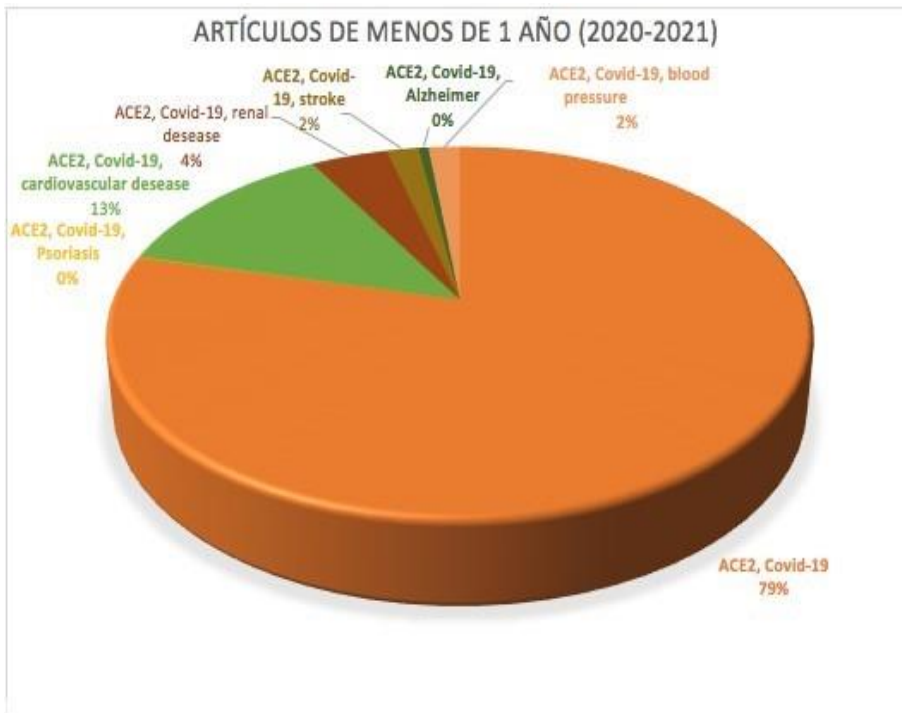


Figura 2.1. Representación gráfica de la *Tabla 1*.

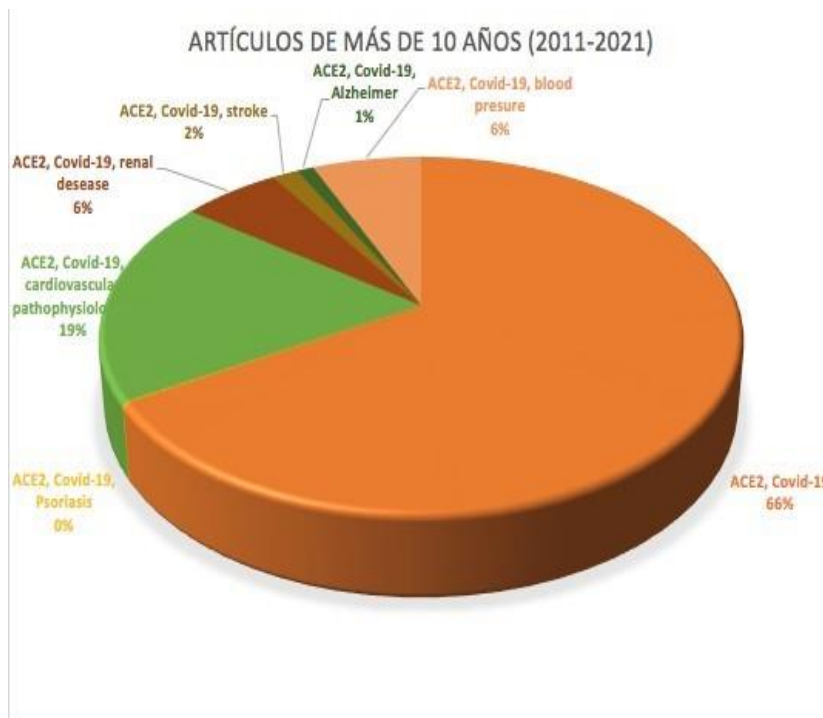


Figura 2.2. Representación gráfica de la *Tabla 1*.

IMPLICACIONES ACE2 EN DIFERENTES PATOLOGÍAS.

A partir de los datos obtenidos en la tabla 1 y las figuras 2.1 y 2.2, hemos procedido a destacar aquellas patologías que nos han parecido más interesantes de mencionar.

ACE2 y Presión arterial.

El principal regulador de la homeostasis de la presión arterial es el sistema renina-angiotensina. El angiotensinógeno es digerido por la renina para producir angiotensina I (AGT I). AGT I es un péptido inactivo de 10 aminoácidos que se degrada aún más para producir angiotensina II por la enzima convertidora de angiotensina (ECA). La angiotensina II es el principal regulador del aumento de la presión arterial que actúa sobre el corazón, los riñones y los vasos sanguíneos. La angiotensina II provoca la constricción directa de los vasos de resistencia y la estimulación de las suprarrenales, aumentando así el volumen sanguíneo y la absorción de sodio. La segunda descarboxilación relacionada con la ACE, la denominada ACE2, puede digerir la angiotensina, pero al contrario que la primera, que escinde dos residuos del extremo c-terminal, la ACE 2 solo escinde uno, generando angiotensina 1-9, que a su vez se degrada más a un péptido con funciones vasodilatadoras. Puede haber retroalimentación (feed-back) negativo con respecto a la angiotensina, por lo que actuaría como un modulador de la síntesis de esta, reduciendo los aumentos de presión arterial. En ratones, al menos, la ausencia de esta enzima genera efectos cardíacos relevantes. En conjunto, el papel de la ACE y de la ACE2 en diferentes aspectos cardíacos, parece ser relevante y compleja (7).

ACE2 y la psoriasis.

Con la aparición del SARSCoV2 se ha visto un incremento de la preocupación por parte de los dermatólogos en cuanto a la psoriasis y su tratamiento. Se ha asociado la expresión de la proproteasa furina, implicada en la psoriasis, con un curso severo de COVID-19. Tanto la furina como la ACE2 están implicadas en la entrada del virus al hospedador. Se ha evaluado, por medio de un estudio traslacional observacional si los niveles de expresión de ARNm de Furin y ACE2 disminuyen con el tratamiento sistémico o tópico de la psoriasis, lo cual podría implicar que aquellos pacientes que

responde de manera positiva al tratamiento de esta patología podrían sobrellevar una infección por COVID-19 de una forma menos grave que en aquellos pacientes que no son tratados y por lo tanto sus niveles de expresión de ARNm de Furin y ACE2 no se ven disminuidos. Con los ensayos clínicos realizados, se llegó a la conclusión de que, efectivamente, aquellos pacientes tratados con un fármaco (ditanol) que disminuyera la expresión tanto de la ACE2 como de la ARNm de Furin, limitaría el riesgo de que los pacientes con psoriasis padezcan un curso grave de COVID-19, mientras que aquellos pacientes no tratados, se verían en alto riesgo de padecer una infección por COVID-19 con un curso severo de la enfermedad (8).

ACE2 y las enfermedades cardiovasculares.

La enfermedad por COVID-19 está relacionada de una forma muy directa con el sistema cardiovascular, ya que una de las principales patologías que origina es el síndrome respiratorio agudo severo. La ACE2 se ha identificado como un receptor funcional para los coronavirus, ya que por medio de ella se une el virus al hospedador. Esta unión tiene lugar entre la proteína del pico del virus y la enzima nombrada, la cual se expresa en gran medida en el corazón y pulmones. Existen numerosas conexiones entre la COVID-19 y el sistema cardiovascular, pero se desconoce por completo cual sería el pronóstico a largo plazo de los pacientes que han tenido la enfermedad. Se realizó un estudio con 25 supervivientes de SARS-CoV, en los cuales pasados 12 años se encontraron alteraciones cardiovasculares. Con los resultados obtenidos, consideraron que los pacientes que presentaron COVID-19 tienen un alto riesgo de presentar manifestaciones cardiovasculares a largo plazo, tales como la muerte cardíaca, el infarto de miocardio, así como accidentes cerebrovasculares. Para probar esta hipótesis, los investigadores realizaron un registro de pacientes a los que se les realizó un frotis nasofaríngeo para diagnosticar y determinar sus resultados a largo plazo. Este estudio sigue activo hoy en día y tiene una fecha estimada de finalización del 31 de agosto de 2025 (9).

ACE2 y los accidentes cerebrovasculares.

Algunos pacientes con COVID-19 han tenido una serie de manifestaciones neurológicas, en las cuales se incluye el accidente cerebrovascular, además de hemorragias intracerebrales, trombosis del seno venoso central, entre otras. Las coagulopatías asociadas a la COVID-19 se reconocen cada vez más como una causa de la infección por el SARS-CoV-2, y es probable que sean causadas por inflamaciones, incluida la tormenta de citocinas inflamatorias (10). En un modelo de ratón para la expresión de la ACE2 humana, el virus ingresó al cerebro principalmente a través de la vía bulbo olfatoria, con una invasión encefálica uniformemente letal, incluso con dosis bajas del virus sin afección pulmonar. La muerte del animal se relacionó con la disfunción o muerte neuronal en los centros de médula ósea cardiorrespiratoria, mientras que la ausencia de la ACE2 previno la encefalopatía grave (11).

OBJETIVO 2. Interacción ACE2 pulmonar con las espículas de los SARS-CoV.

El reconocimiento del receptor es un factor importante que determina la variedad de huéspedes y la infección de virus entre especies. Se ha demostrado que la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) es el receptor celular del SARS-CoV-2. Una indagación actualizada de los términos de búsqueda asociados genera 6843 artículos. Estos trabajos hacen referencia a diferentes aspectos de la interacción entre las espículas o *“spikes”* del virus y el receptor ACE2. En resumen, indicamos algunas de las características destacadas:

La ACE2 se identificó inicialmente como una exopeptidasa expresada en las células endoteliales vasculares del corazón y riñón, que cataliza la conversión de angiotensinas (12). Recientemente se demostró su papel como receptor del virus SARS-CoV (13).

La utilización de ACE2 como receptor por el SARS-CoV-2 es una razón importante para clasificar al virus en el mismo subgénero que el SARS-CoV. El ACE2 se expresa en la mayoría de los vertebrados, pero el SARS-CoV-2 no puede utilizar todos los ACE como receptor. Los estudios actuales demostraron que el SARS-CoV-2 es capaz de utilizar a los murciélagos de herradura endémicos de china y cerdos, pero no otros ACE2 como los del ratón, como receptor de entrada (14).

La semejanza de los aminoácidos entre la ACE2 de humanos y ACE2 de murciélagos de herradura chinos, algalia, cerdos y ratones, son 80,75%, 83,48%, 81,37%, 82,11%, respectivamente. En el ratón, la ACE2 no puede ser utilizado por el SARS-CoV-2. Además, muestra una mayor similitud con la ACE2 humano que los de los murciélagos herradura chinos y los cerdos que, sin embargo, pueden ser utilizados por el virus mencionado. En este sentido, la homología de secuencia completa de aminoácidos no parece ser un buen marcador para predecir la infección del SARS-CoV-2.

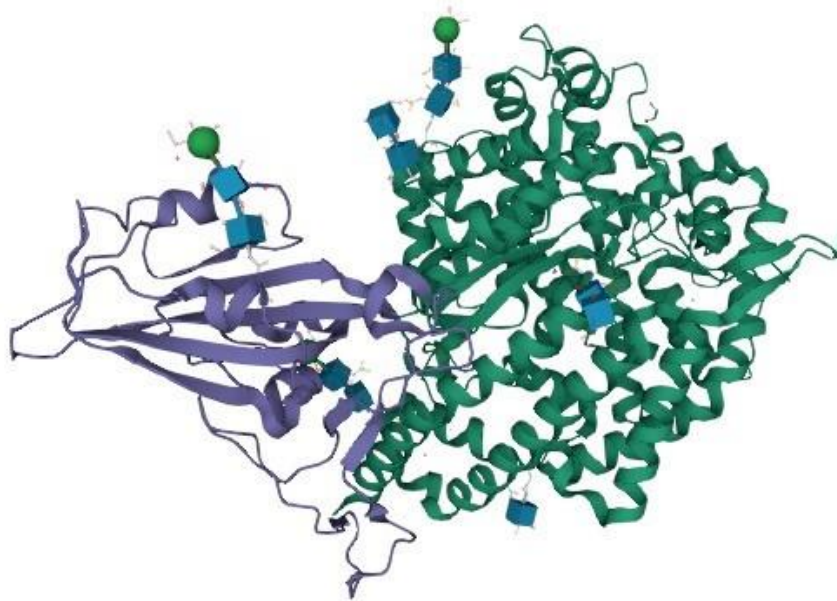


Figura 3. Estructura del dominio de unión al receptor quimérico del SARS-CoV-2 complejo con su receptor ACE2 humano. (15)

En pocas palabras, el SARS-CoV-2 tiene en su estructura una proteína S (de spikes) considerada como la llave de entrada del virus en las células, mientras que la “cerradura” en la célula es el receptor ACE2.

La unión que tiene lugar entre los dos componentes mencionados es más compleja de lo que podríamos pensar. La proteína S es capaz de dividirse en dos subunidades, S1 y S2, cada cual con una misión. Por un lado, la subunidad S1 va a ser la encargada de unirse al receptor ACE2, mientras que la subunidad S2 se va a escindir a su vez por otra proteasa de la superficie de la célula humana, denominada TMPRSS2. Como resultado, la envoltura del virus se va a fusionar con la membrana de la célula humana y el virus va a

penetrar en su interior. Por lo tanto, podemos decir que la subunidad S1 es la encargada de la unión al receptor ACE2, mientras que la subunidad S2 es la responsable de la fusión de las membranas.

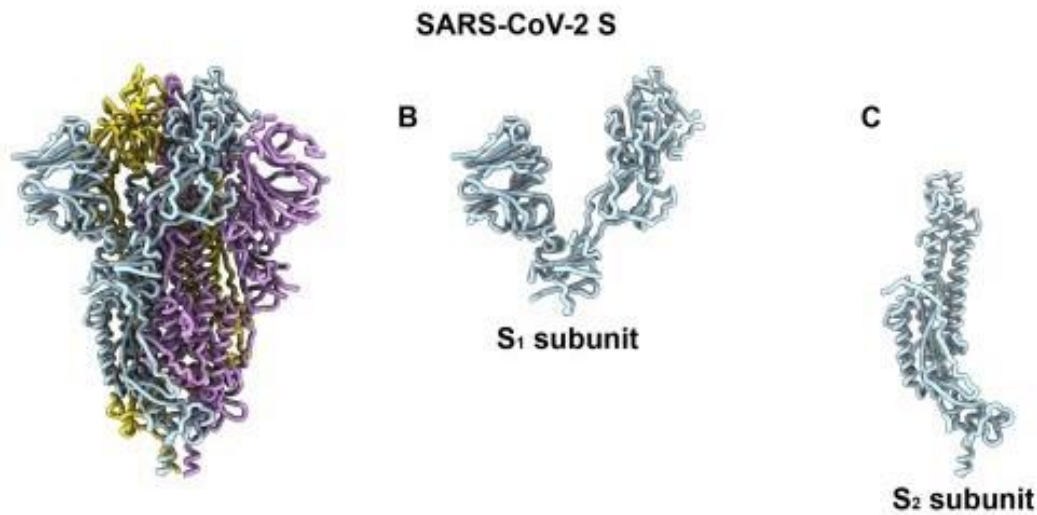


Figura 4. Representación de la estructura de la proteína S y las subunidades S1 (B) y S2 (C) del SARS-CoV-2.

OBJETIVO 3. Estrategias terapéuticas en la interacción ACE2–SARS-CoV-2.

En este apartado hemos querido resaltar el empleo de un fármaco que se utilizó al principio de la pandemia ocasionada por el SARS-CoV-2. Este fármaco es la cloroquina y su derivado más potente la hidroxicloroquina. Como bien sabemos, pues se ha comentado en apartados anteriores, el SARS-CoV-2 se une a dos proteínas expresadas en la superficie del huésped, la ACE2 y la serin- proteasa TMPRSS2, a través de la proteína de la espícula (proteína S).

Dicha proteína S se escinde en dos subunidades funcionales:

- S1, la cual interactúa con la ACE2
- S2, la cual es escindida aún más y viene activada por TMPRSS2.

Como resultado de la acción de ambas subunidades, tiene lugar la fusión de la membrana viral con la membrana del huésped.

Los especialistas se han basados en los conocimientos que se tienen sobre el mecanismo de acción de la cloroquina, la cual se ha demostrado que interfiere con la glucosilación terminal de la ACE2, influyendo de forma negativa en la unión del receptor viral en la infección por SARS-CoV-2(17).

Es por ello por lo que, durante la pandemia hubo un auge en el consumo de este fármaco, aunque cabe destacar que la eficacia de la hidroxiclороquina frente al COVID-19 solamente se demostró in vitro. Pero este hecho no evito que las personas abusaran de este medicamento, el cual tiene, como todo medicamento, efectos adversos, entre los cuales se encuentra la prolongación del intervalo QT de arritmias cardiacas graves.

Es por ello por lo que el colegio Oficial de Farmacéuticos de Santa Cruz de Tenerife se vio en la obligación de restringir la dispensación de un medicamento concretamente, del Dolquine 200 mg (18).

OBJETIVO 4. Hipótesis para nuevas terapias implicando a las ACE.

La Vit D es un micronutriente soluble en lípidos y a la vez una hormona generada por las células expuestas a luz solar. Se ha identificado como importante clínicamente al estar su deficiencia relacionada con distintas patologías, algo relativamente frecuente en diferentes poblaciones poco expuestas a la luz solar, por ejemplo, a finales del invierno. Existe una relación entre la patología generada por el CoVID-19 y bajos niveles de Vit D en lo que parece ser una interacción compleja aún no aclarada totalmente, pero que implica al sistema inmune y a los niveles de la ACE-2 en diferentes tejidos en un proceso mediado por la activación del eje renina-angiotensina II (RAS) (19,20).

En el proceso de infección vírica induciendo la patología por coronavirus se genera en los pacientes una intensa respuesta inflamatoria y secreción de citoquinas, anticuerpos IgM e IgG así como de células de respuesta (CD4+ y CD8+) con la función de limpiar el tejido pulmonar y posteriormente disminuir al mismo tiempo que el paciente se recupere. Sin embargo, en ciertos pacientes la respuesta del sistema inmune es disfuncional, generando una inflamación asociada a un deterioro del estado del paciente. En este contexto, sabemos desde el año 2000 que la ACE2 es parte del sistema RAS (21). SARS-CoV-2 interacciona con ACE-2 induciendo un descenso en su expresión, preferentemente en células epiteliales respiratorias y alveolares, pero también en otros tejidos. Esta baja

expresión de ACE-2 genera Ang II vía ACE, la cual estimula, entre otros, la proliferación de fibroblastos pulmonares y la expresión de TFG-B implicado también en la fibrogénesis lo que forma parte del proceso de daño pulmonar, edema y en otro entorno generando el inicio del daño en la filtración renal, todos ellos factores presentes en las formas más agresivas y de peor pronóstico asociadas con la infección (22). Las células del sistema inmune son diana y generadoras de Vit D, los niveles inadecuados (bajos) generan anomalías del sistema inmune entre otros hiperfunción y autoinmunidad. (23)

Por todo ello, sabemos que la Vit D favorece la respuesta de los pacientes a la patología minimizando la potente respuesta inmune generada por la presencia del virus en los tejidos pulmonares donde la expresión de los receptores para Vit D es alta. Los niveles altos de Vit D circulantes disminuyen la actividad de RAS e incrementa los niveles de ACE-2 al menos en modelos animales, donde también se ha demostrado que análogos de Vit D como el p-calcitriol reducen ACE e incrementan ACE2 (23). Estos datos nos inducen a proponer que se lleven a cabo estudios de meta-análisis sobre el efecto entre los niveles de Vit D en paciente CoVID-19 y su evolución, determinando para ello los niveles de inflamación, ACE y ACE2. Igualmente proponemos que un estudio clínico revelaría las relaciones geográficas y poblacionales de pacientes CoVID-19 actualmente identificados y los niveles de Vit D circulantes.

Dada la no toxicidad de niveles razonables en forma de suplemento de Vit D y exposición a la luz solar en cualquier paciente, proponemos la administración preventiva de al menos 10 000 IU /día de la forma soluble Vit D3 durante 3 semanas al menos y comprobar niveles de al menos 40-50 ng/ml de la forma activa 25(OH)D a partir de lo cual la cantidad podría bajarse a niveles inferiores de Vit D3. En pacientes infectados los clínicos deberían valorar el uso de cantidades superiores a las indicadas tal como se ha indicado previamente (20).

CONCLUSIÓN.

Los resultados de la búsqueda bibliográfica muestran que la ACE-2 tiene un papel importante en las patologías y procesos celulares: como lo son la presión arterial, la psoriasis, las enfermedades cardiovasculares y los accidentes cerebrovasculares. Por todo ello, concluimos que esta enzima presenta un papel relevante ya no sólo es las patologías mencionadas sino también por la relación que existe con la COVID-19.

La interacción molecular entre las espículas del virus y la proteína en los primeros pasos de la infección indica como el SARS-CoV-2 utiliza a la enzima ACE-2 como receptor, siendo este paso fundamental para la entrada del virus al organismo. Por ello, concluimos la importancia de controlar esta enzima convirtiéndola en la principal diana terapéutica de los fármacos consiguiendo la inhibición de la unión proteína-enzima y obteniendo como resultado que el virus no pueda penetrar al organismo o bien que si consigue entrar los efectos que cause no sean tan graves para el huésped.

Finalmente, con la hipótesis propuesta podemos observar que existe una relación entre el sistema inmune del paciente y la vitamina D, la cual está directamente relacionada con una mayor expresión de la enzima. Concluyendo, por tanto, que cuanto mayor sea la cantidad de enzima presente mayor dificultad presentará el virus para interaccionar con el hospedador.

Concluimos con todo ello, que nos queda un largo camino por recorrer en cuanto al estudio de este virus, causante de una de las pandemias con más repercusión a nivel mundial en la actualidad.

BIBLIOGRAFIA.

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, GF et al. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20; 382(8): 727-733.
2. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Dec;588(7836).
3. G. Simmons, P. Zmora, S. Gierer, A. Heurich, S. Pöhlmann, *Antiviral Res.* 100, 605–614 (2013).
4. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020 Mar 27;367(6485):1444-1448.
5. J. K. Millet, G. R. Whittaker, *Virus Res.* 202, 120–134 (2015).
6. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, Graham BS, McLellan JS. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020 Mar 13;367(6483):1260-1263.
7. Detection of soluble angiotensin-converting enzyme 2 in heart failure: insights into the endogenous counter-regulatory pathway of the reninangiotensin-aldosterone system. Epelman S, Tang WH, Chen SY, Van Lente F, Francis GS, Sen S *J Am Coll Cardiol* 2008 Aug 26;52(9):750-4.
8. Furin Expression in Patients With Psoriasis—A Patient Cohort Endangered to SARS-COV2. Graier T, Golob-Schwarzl N, Weger W, Benezeder T, Painsi C, Salmhofer W, Wolf P. Furin Expression in Patients With Psoriasis-A Patient Cohort Endangered to SARS-COV2? *Front Med (Lausanne)*. 2021 Feb 10; 8: 624462.
9. Long-term Effects of Coronavirus Disease 2019 on the Cardiovascular System: CV COVID-19 Registry (CV-COVID-19). Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol*. 2020 May;17(5):259-260.
10. Divani AA, Andalib S, Di Napoli M, Lattanzi S, Hussain MS, Biller J, McCullough LD, Azarpazhooh MR, Seletskaya A, Mayer SA, Torbey M.

Coronavirus Disease 2019 and Stroke: Clinical Manifestations and Pathophysiological Insights. *J. Stroke CerebrovascDis.* 2020 Aug;29(8):104941

11. Clinicaltrials.gov. 2021. *ACE2 Gender Differences in Stroke With COVID-19*. Internet. 2021 [Citado 20 de marzo 2021.]
12. Ferrario CM, Trask AJ, Jessup JA. Advances in biochemical and functional roles of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7) in regulation of cardiovascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005 Dec;289(6):H2281-90.
13. Kuba K., Imai Y., Rao S., Gao H., Guo F., Guan B. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus induced lung injury. *Nat Med.* 2005; 11:875–879.
14. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020. 579(7798):270–273.
15. Structure of SARS-CoV-2 chimeric receptor-binding domain complexed with its receptor human ACE2
<https://www.rcsb.org/structure/6VW1>
16. https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0092867420302622-figs2_lrg.jpg
17. IBIAN Technologies. 2021. *COVID-19 reutilizar medicamentos ya aprobados - IBIAN Technologies*. [citado 20 de marzo 2021]
18. ``Recetas electrónicas canarias con hidroxiclороquina y clороquina marcadas como ``NF´´. Recetas de mutualidades. ´´ Circular nº: 33 marzo 2020. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Santa Cruz de Tenerife.
19. Li YC. Molecular mechanism of vitamin D in the cardiovascular system. *J Investig Med.* 2011; 59:868-871.
20. Malek Mahdavi A. A brief review of interplay between vitamin D and angiotensin-converting enzyme 2: Implications for a potential treatment for COVID-19. *Rev Med Virol.* 2020 Sep;30(5):e2119

21. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res.* 2000;87:E1-E9
22. Okada M, Suzuki K, Matsumoto M, et al. Effects of angiotensin on the expression of fibrosis-associated cytokines, growth factors, and matrix proteins in human lung fibroblasts. *J Clin Pharm Ther.* 2009; 34:288-299.
23. Cui C, Xu P, Li G, et al. Vitamin D receptor activation regulates microglia polarization and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats and angiotensin II-exposed microglial cells: role of renin-angiotensin system. *Redox Biol.* 2019; 26:101295.