



**Da emergência de um novo vírus humano
à disseminação global de uma nova doença**
— Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Boletim de publicações

Data de publicação: 01/04/2020 e 02/04/2020

André Silva Pinto, Beatriz Prista Leão, Nuno Rocha Pereira, António Martins
Serviço de Doenças Infeciosas, CHUSJ

Ana Henriques, Carla Araújo, Paula Meireles
ISPUP



**Da emergência de um novo vírus humano
à disseminação global de uma nova doença**
— Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2.

Cardiovascular Research. cvaa078, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa078>

De acordo com análise estrutural e experimentação *in vivo* a proteína S (*spike*) do SARS-CoV-2, à semelhança do SARS-CoV, usa a enzima de conversão da angiotensina 2 (ECA2) como um recetor para entrar nas células alvo, pelo que a expressão e distribuição da ECA2 são determinantes chave para a entrada do vírus.

Neste estudo foi investigada a expressão de ECA2 em corações humanos adultos de indivíduos saudáveis e doentes, para elucidar sobre a capacidade potencial de infeção do coração pelo SARS-CoV-2.



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2.

Cardiovascular Research. cvaa078, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa078>

Métodos

Os tecidos cardíacos humanos, para sequenciação do RNA, foram obtidos num centro de transplantação do hospital Fuwai. Os tipos celulares foram identificados por marcadores de genes clássicos específicos de célula e foi avaliada a interação célula-célula.

Para elucidar a constituição da célula e a distribuição celular da ECA2 no coração humano, foi feita a análise do transcriptoma nuclear de corações humanos adultos. Esta análise foi feita através de uma base de dados da sequência de RNA de 15 dadores de coração e de 40 corações em falência explantados. Foi realizada análise proteómica de 8 corações em falência e de 8 dadores normais.

As estruturas espaciais do domínio de ligação do recetor (DLR) da proteína S do SARS-CoV-2 e da ECA2 humana foram previstas com base no *ProMod3 no SWISS MODEL server*. Foi usado o *software PyMOL* para ler e analisar os DLR.



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

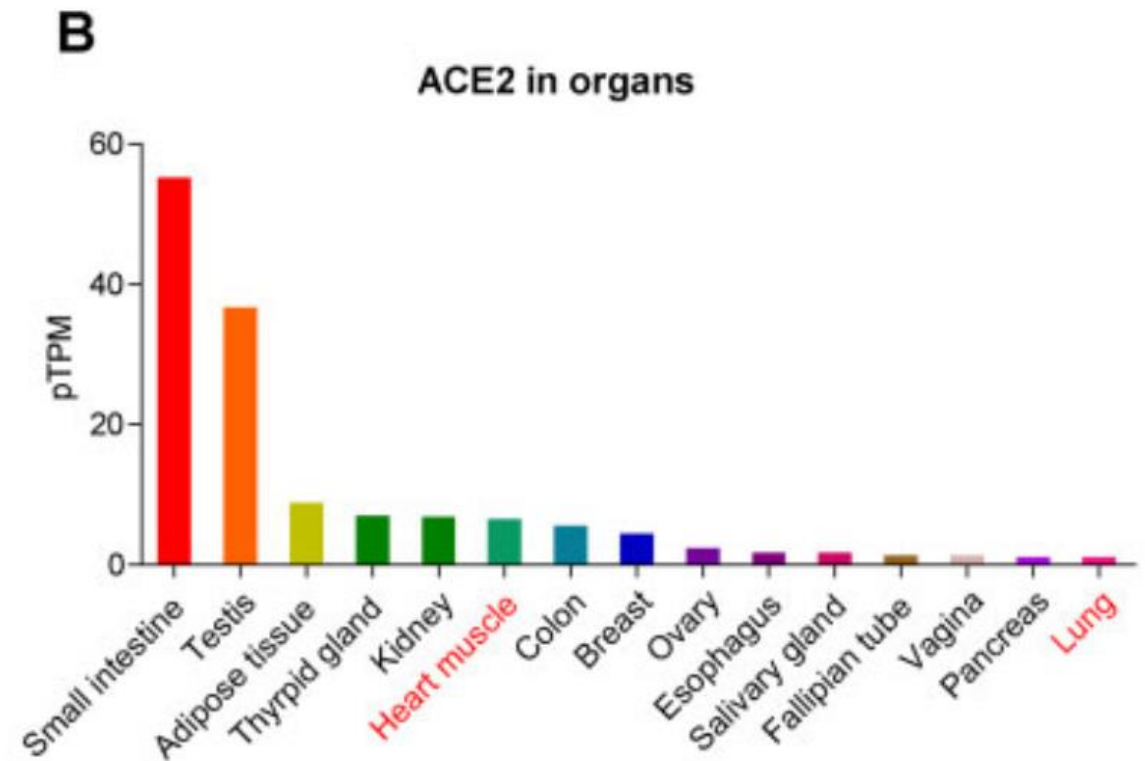
The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2.

Cardiovascular Research. cvaa078, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa078>

Resultados/discussão

O SARS-CoV-2 tem um DLR que pode ligar-se bem à ECA2 humana. Os resíduos 441Leu, 472Phe, 479Gln, 480Ser, 487Asn, 491Tyr da proteína S madura parecem ser críticos para a ligação ao recetor ECA2 humano e determinar a variação celular do hospedeiro.

Com base na base de dados GTEx a maior expressão do RNAm da ECA2 nos órgãos ocorre no intestino delgado, seguido dos testículos, tecido adiposo, glândula tireóide, rim, músculo cardíaco, cólon, mama, ovário, (etc), pulmão (Figura B abaixo).





Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2.

Cardiovascular Research. cvaa078, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa078>

Resultados/discussão

Foram identificados oito tipos celulares *major* do miocárdio (com perfil e marcadores genéticos diferentes):

Cardiomiócito (CM, TTN, MYH7); Célula endotelial (CE, VWF, PECAM); Macrófago (M, CD163, MRC1); Fibroblasto (FB, COL6A3, DCN); Pericito (Peri, ABCC9, KCNJ8); Célula do músculo liso (CML, MYH11, CALD1); Célula T (SKAP1, BCL11B); Célula tipo neurónio (Neu, NRXN1 e NRXN1).

Observou-se uma baixa expressão de ECA2 nos cardiomiócitos, enquanto nos **pericitos a ECA2 estava elevada e especificamente expressa**. Os pericitos encontram-se fora da célula endotelial dos capilares e parte das vénulas, com papel essencial na micro-circulação miocárdica. Este resultado aponta para o pericito como um alvo celular cardíaco do SARS-CoV-2.

O *screening* de outros recetores do SARS-CoV, CD209 e CLEC4M, permitiu observar que o primeiro estava especificamente expresso nos macrófagos e que era co-expresso com o marcador genético dos macrófagos CD163; e que as células cardíacas do adulto não eram ricas no segundo.



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença

— Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2.

Cardiovascular Research. cvaa078, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa078>

Resultados/discussão

A análise da interação célula-célula centrada no **pericito**, permitiu observar **ligação dos pericitos com as células endoteliais e com as células tipo neurónio** (um tipo celular não identificado ou estudado previamente no coração). Com base nestes resultados os autores sugerem que os pericitos têm um papel fundamental em manter a função das células endoteliais.

Estes resultados sugerem que a infeção SARS-CoV-2 no coração humano pode atacar os pericitos e causar disfunção das células endoteliais capilares, induzindo doença microcirculatória. Terapêutica dirigida à melhoria da microcirculação poderá melhorar a lesão cardíaca nos doentes COVID-19.

A sequenciação do RNA em doentes com **insuficiência cardíaca** permitiu observar que a **expressão miocárdica de ECA2 estava significativamente aumentada** nestes doentes, o que suporta a hipótese dos doentes com insuficiência cardíaca serem mais suscetíveis à infeção SARS-CoV-2 e também que podem desenvolver doença cardíaca adicional e evoluir para estádios críticos da doença.



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19.

Diabetes Metab Res Rev. 2020 Mar 31:e3319. doi: 10.1002/dmrr.3319

- Perceber em que medida a diabetes é um fator de risco para a COVID-19; 174 doentes internados com COVID-19 em Wuhan em Fevereiro, divididos em diabéticos e não diabéticos
- Além do que está na tabela, Nº absoluto de neutrófilos (4.1 [IQR, 2.8-6.9] vs. 2.5 [IQR, 1.6-3.7]) (Tabela 2); níveis de PCR (32.8 [IQR, 11.3-93] vs 16,3 [IQR, 7,17-43,9]), ESR (67 [47,5-81] vs. 23 [10-49]), bem como o dímero D (1,15 [IQR, 0,83-2,11] vs. 0,54[0,25-1,1]) foram **maiores no grupo com diabetes** do que no grupo sem diabetes.

	Total (n=174)	Non-diabetes (n=137)	Diabetes (n=37)	P Value ^a
Age, median (IQR), y	59(49-67)	58 (47-66)	61 (55-69)	0.054
Gender				
Male	76 (43.7)	56 (40.9)	20 (54.1)	0.152
Female	98 (56.3)	81 (59.1)	17 (45.9)	
Comorbidities				
Hypertension	43(24.7)	33 (24.1)	10 (27)	0.713
Cardiovascular disease	32(18.4)	20 (14.6)	12 (32.4)	0.013
Malignancy	17 (4.6)	16 (11.7)	1(2.7)	0.187
Pulmonary disease	14(9.7)	12 (8.7)	2 (5.4)	0.745
Cerebrovascular disease	13 (7.5)	12 (8.7)	1 (2.7)	0.373
Chronic kidney disease	13 (7.5)	12 (8.7)	1 (2.7)	0.373
Chronic liver disease	8 (4.6)	8 (5.8)	0	0.288
Immunodeficiency	4(2.3)	4(2.9)	0	0.294
Hepatitis B infection	2(1.1)	2(1.5)	0	0.461

Signs and symptoms

	Total (n=174)	Non-diabetes (n=137)	Diabetes (n=37)	P Value ^a
Fever	136 (78.2)	114 (83.2)	22 (59.5)	0.002
Highest temperature, °C				
< 37.3	38 (21.8)	23 (16.8)	15 (40.5)	0.002
37.3-38.0	36 (20.7)	28 (20.4)	8 (21.6)	0.875
38.1-39.0	73 (42)	62 (45.3)	11 (29.7)	0.089
> 39.0	27 (15.5)	24 (17.5)	3 (8.1)	0.161
Fatigue	47 (27)	36 (26.3)	11 (29.7)	0.675
Chill	119 (68.4)	98 (71.5)	21 (56.8)	0.086
Cough	56 (32.2)	48 (35)	8 (21.6)	0.121
Pharyngalgia	9 (5.2)	8 (5.8)	1 (2.7)	0.729
Dizziness	23 (13.2)	17 (12.4)	6 (16.2)	0.739
Headache	12 (6.9)	10 (7.3)	2 (5.4)	0.970
Chest tightness	45 (25.9)	40 (29.2)	5 (13.5)	0.053
Chest pain	15 (8.6)	14 (10.2)	1 (2.7)	0.265
Shortness of breath	42 (24.1)	37 (27)	5 (13.5)	0.089
Myalgia	36 (20.7)	30 (21.9)	6 (16.2)	0.449
Nausea and Vomiting	17 (9.8)	12 (8.8)	5 (13.5)	0.581
Diarrhoea	21 (12.1)	18 (13.1)	3 (8.1)	0.583



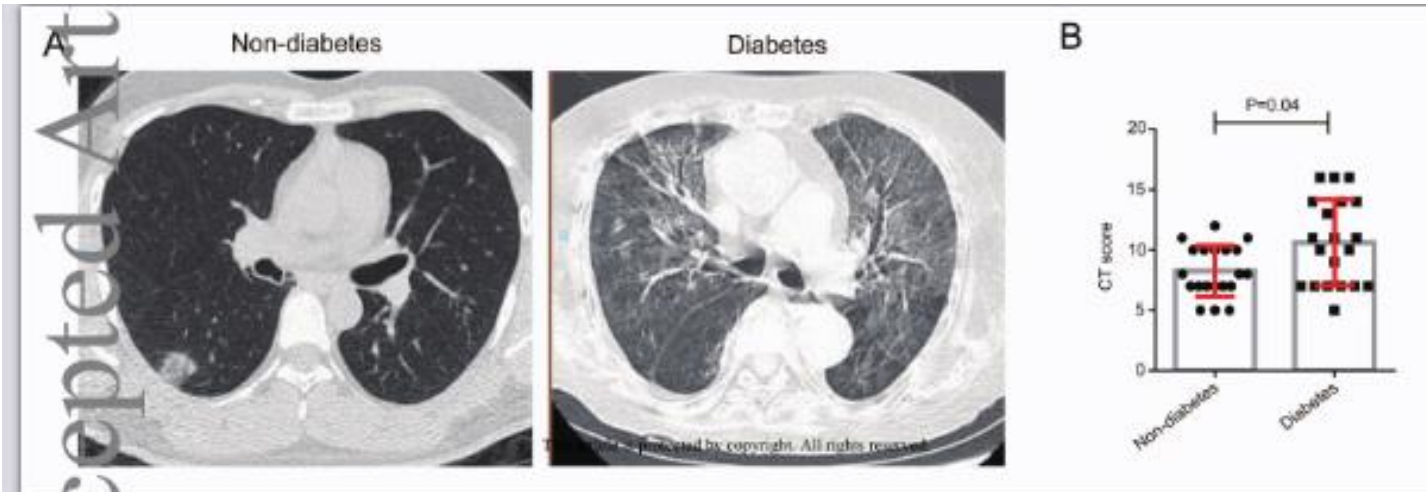
Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19.

Diabetes Metab Res Rev. 2020 Mar 31:e3319. doi: 10.1002/dmrr.3319

linfócitos (0,86 [IQR, 0,5-1,3] vs. 0,97 [0,74-1,3]) e glóbulos vermelhos (3,9 [IQR, (3,5-4,2)] vs. 4,17 [3,8-4,5]) e os níveis de hemoglobina (117 [IQR, 105-123,5] vs. 127 [117-136]) foram maiores no grupo com diabetes do que no grupo sem diabetes.

2ª fase: excluíram doentes com outras comorbilidades além da diabetes (n=50); Ainda assim na comparação de diabético se não diabéticos, os pacientes diabéticos eram mais velhos (61 [IQR, 57-69] vs. 32 [IQR,30-37] , mais frequentemente apresentaram náuseas e vômitos (16.7% vs 0%) e maior risco de morrer (16.7% vs 0%).



Pacientes em diabetes último mostraram alterações patológicas mais graves (A)

grupo com diabetes apresentou score mais elevado de imagem por TC em comparação com o grupo sem diabetes (B)



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19.

Diabetes Metab Res Rev. 2020 Mar 31:e3319. doi: 10.1002/dmrr.3319

Table 5. Treatments and complications of diabetic COVID-19 patients without other comorbidities

	No. (%)		P value ^a
	Yes	No	
Insulin therapy pre-hospital	7 (29.2)	17 (70.8)	
Mortality	1	3	1
Insulin dose increased in hospital	7 (29.2)	17 (70.8)	
Mortality	1	3	1
Start insulin therapy after admission	9 (37.5)	15 (62.5)	
Mortality	3	1	0.13
Diabetic complications	3 (12.5)	21 (87.5)	
Mortality	2 (66.7)	2 (9.5)	0.045
Diabetic ketoacidosis	2 (12.5)	22 (87.5)	
Mortality	1 (50)	3 (13.6)	0.31
Infectious shock	1 (4.2)	23 (95.8)	
Mortality	1 (100)	3 (13)	0.17

^a P values indicate differences between the two groups. P <0.05 was considered statistically significant.

pacientes com diabetes controlam os níveis de glicose no sangue com insulina ou medicamentos orais antes da admissão;

Entre eles, 29,2% dos pacientes tomavam insulina antes e aumentaram a dose de insulina após a admissão e 37,5% dos pacientes tomavam medicação oral antes da admissão e iniciaram insulino terapia após a admissão, o que significava que os pacientes tinham um controle glicêmico inadequado durante a hospitalização. De todos os pacientes diabéticos, apenas três tiveram complicações diabéticas e os pacientes com complicações diabéticas tiveram maior probabilidade de morrer



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Estimating the number of infections and the impact of nonpharmaceutical interventions on COVID-19 in 11 European countries

Imperial College COVID-19 Response Team- Report 13.

- tentativa de inferir o impacto de intervenções não farmacológicas em 11 países europeus (isolamento casos; fecho de escolas, proibição de eventos que reúnam multidões etc.)
- Pressuposto do método utilizado: mudanças no número reprodutivo - uma medida de transmissão - são uma resposta imediata à implementação dessas intervenções, em vez de mudanças graduais mais amplas no comportamento; cada intervenção tem o mesmo efeito no número de reprodução nos países e ao longo do tempo.; modelo baseiam-se mais nos países com maior número de mortes e que implementaram intervenções mais cedo
- Itália foi o 1º país a iniciar as medidas de intervenção; A maioria as intervenções começaram entre 12 e 14 março. neste momento quase todos os países as têm implementadas

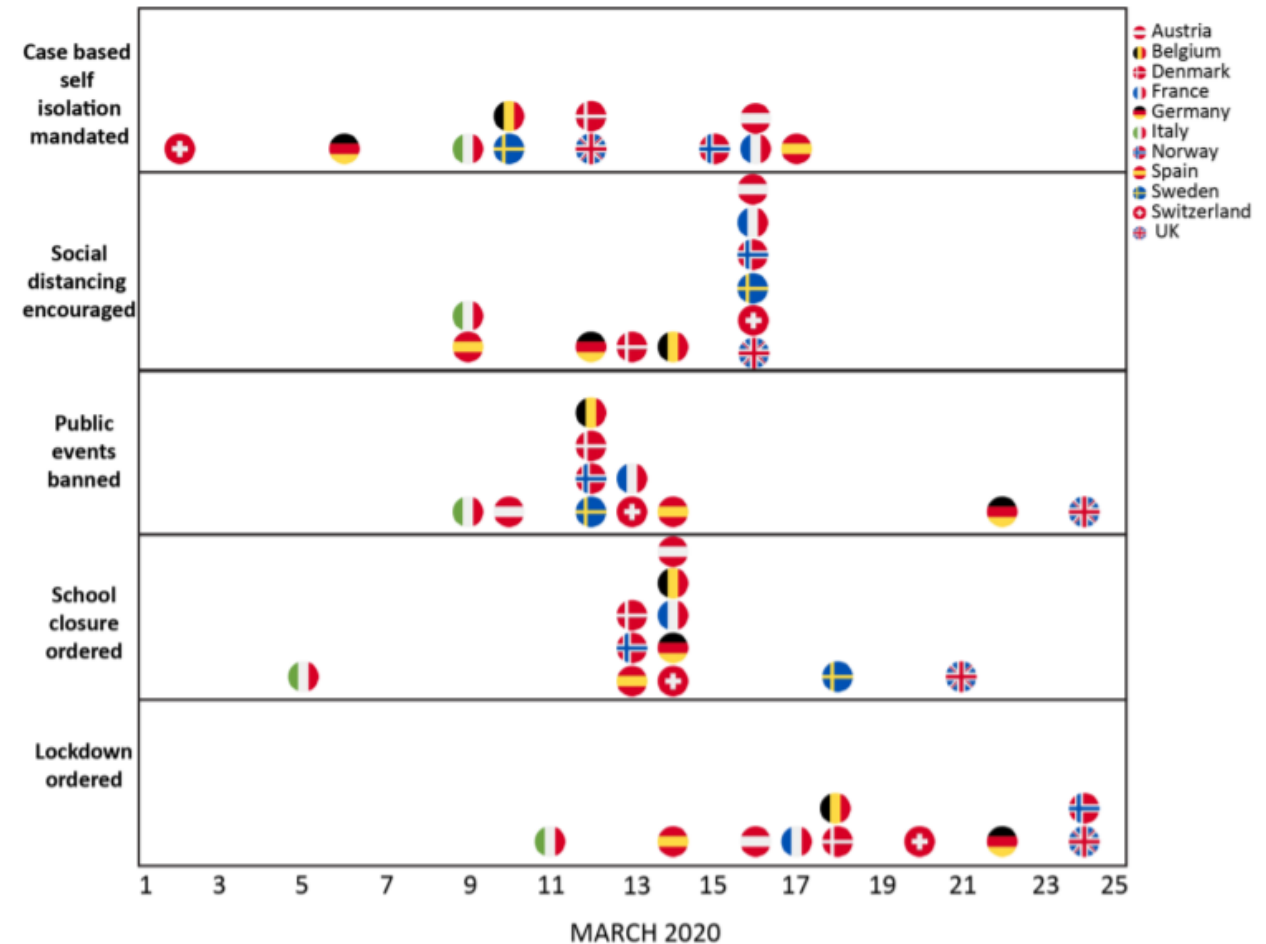
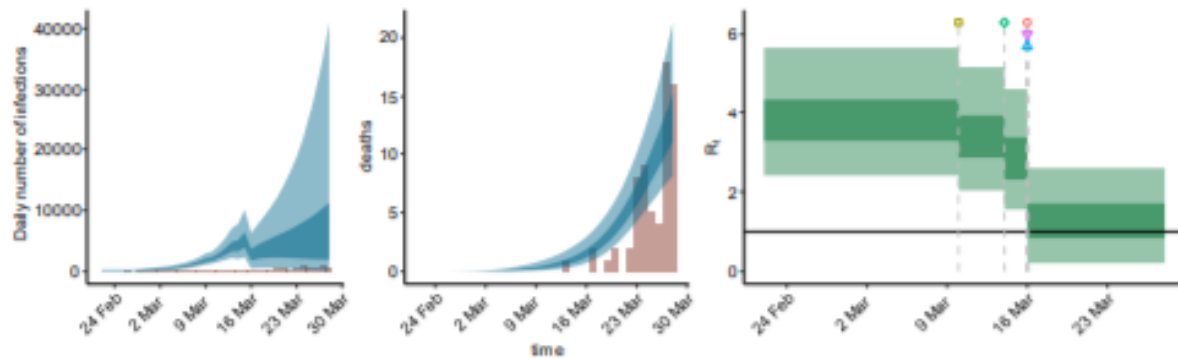


Figure 1: Intervention timings for the 11 European countries included in the analysis. For further details see Appendix 8.6.

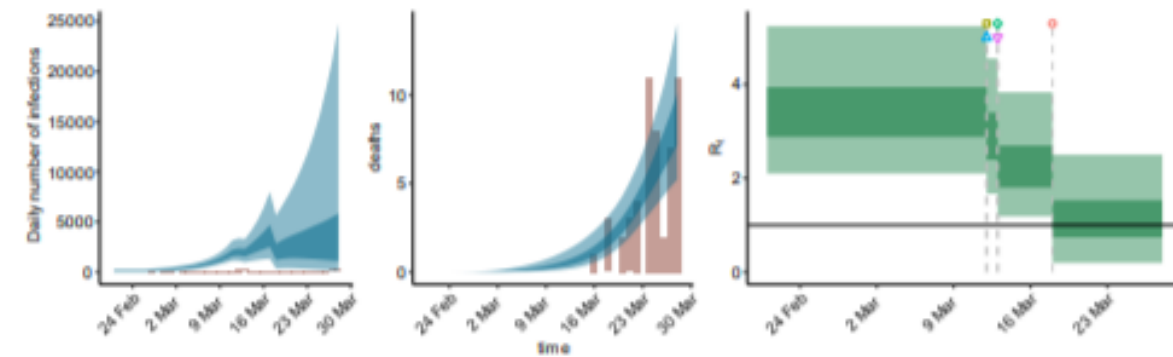


Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

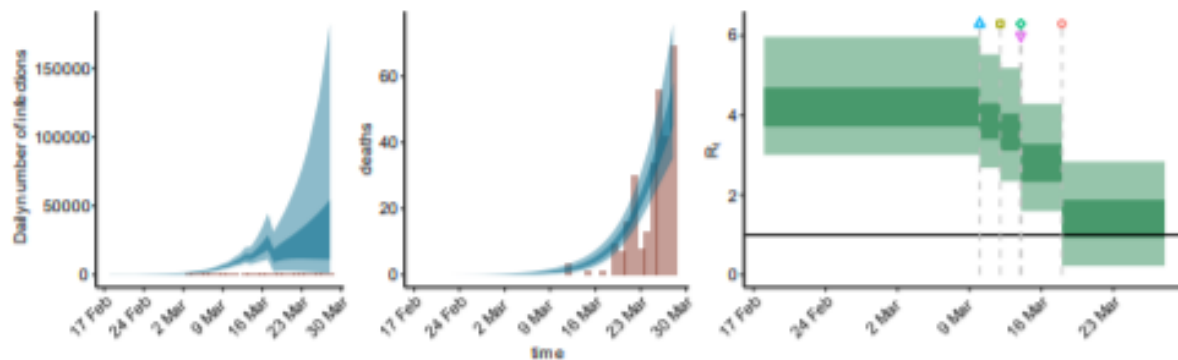
(A) Austria



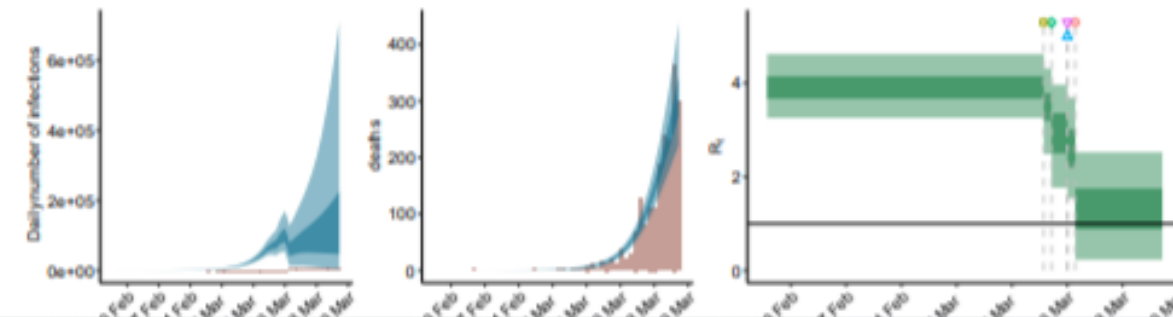
(C) Denmark



(B) Belgium

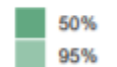


(D) France



Interventions

- Complete lockdown
- Public events banned
- ◇ School closure
- △ Self isolation
- ▽ Social distancing





Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Table 1: Posterior model estimates of percentage of total population infected as of 28th March 2020.

Country	% of total population infected (mean [95% credible interval])
Austria	1.1% [0.36%-3.1%]
Belgium	3.7% [1.3%-9.7%]
Denmark	1.1% [0.40%-3.1%]
France	3.0% [1.1%-7.4%]
Germany	0.72% [0.28%-1.8%]
Italy	9.8% [3.2%-26%]
Norway	0.41% [0.09%-1.2%]
Spain	15% [3.7%-41%]
Sweden	3.1% [0.85%-8.4%]
Switzerland	3.2% [1.3%-7.6%]
United Kingdom	2.7% [1.2%-5.4%]

Itália: cumulativamente, 5,9 [1,9-15,2] milhões de pessoas foram infectadas até 28 de março → taxa de ataque de 9,8% [3,2% -25%] da população.

Espanha: grande aumento no número de mortes recentemente; população menor, nosso modelo estima que 15,0% (7,0 [1,8-19] milhões de pessoas) foram infectadas até agora.; Alemanha com a menor taxa de ataque

- Reproduction numbers and impact of interventions: Estimamos grandes mudanças no R_t em resposta às intervenções não farmacêuticas combinadas;
- R_t variam de 0,97 [0,14-2,14] na Noruega a um limite superior de 2,64 [1,40-4,18] na Suécia, com uma média de 1,43 nos 11 países → uma redução de 64% em relação aos valores pré-intervenção (indicam precaução na interpretação dos resultados e na extrapolação para todos os países porque os timings nas intervenções são muito diferentes);



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

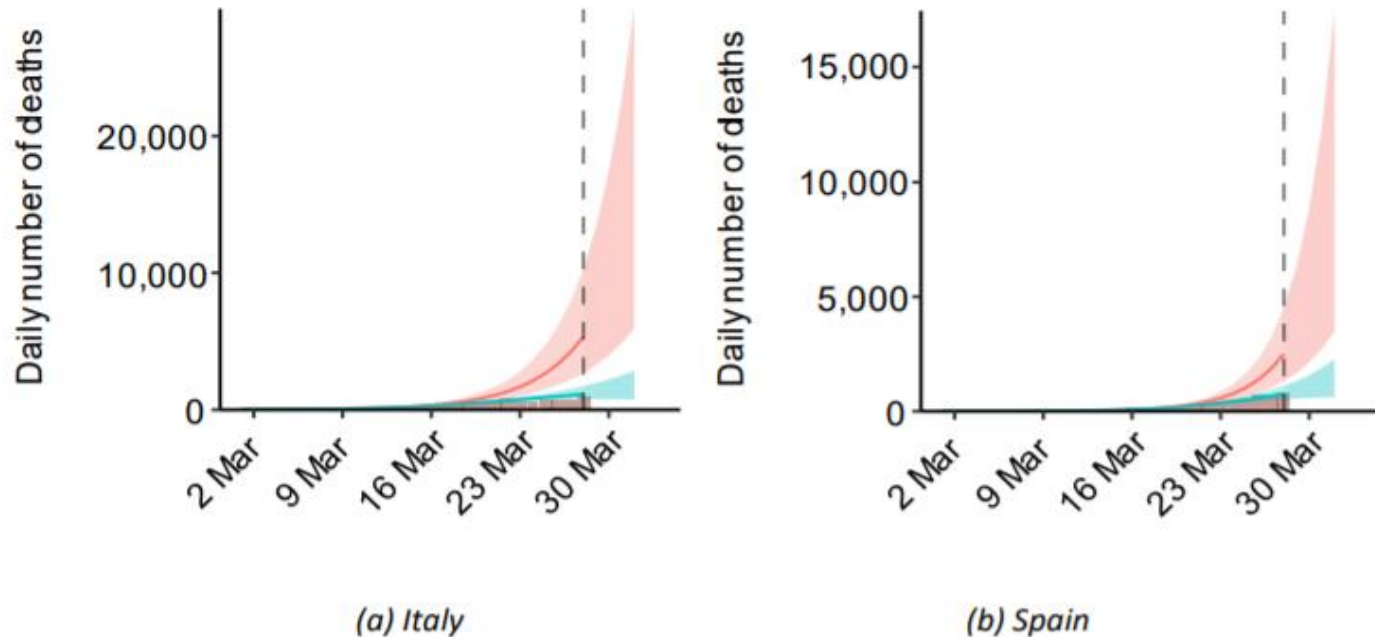


Figure 3: Daily number of confirmed deaths, predictions (up to 28 March) and forecasts (after) for (a) Italy and (b) Spain from our model with interventions (blue) and from the no interventions counterfactual model (pink); credible intervals are shown one week into the future. Other countries are shown in Appendix 8.6.

Comparação dos resultados do modelo sem intervenção (rosa) com o modelo considerando as intervenções não farmacêuticas:

Nos 11 países, desde o início da epidemia, **59.000 [21.000-120.000] mortes foram evitadas devido às intervenções**. Em Itália e Espanha, onde a doença é mais avançada, 38.000 [13.000-84.000] e 16.000 [5.400 - 35.000] mortes foram evitadas, respectivamente (previsões até 31 Março)

Summary: Dado que existe 1 intervalo de 2/3 semanas entre as medidas de distanciamento e a observação do seu impacto, nas tendências da mortalidade, para a maioria dos países aqui considerados, ainda é cedo para assumir a eficácia das intervenções. Portanto, é fundamental que as intervenções atuais permaneçam em vigor e as tendências de casos e mortes sejam monitorizados de perto nos próximos dias e semanas para garantir que a transmissão do SARS-CoV-2 está a diminuir.