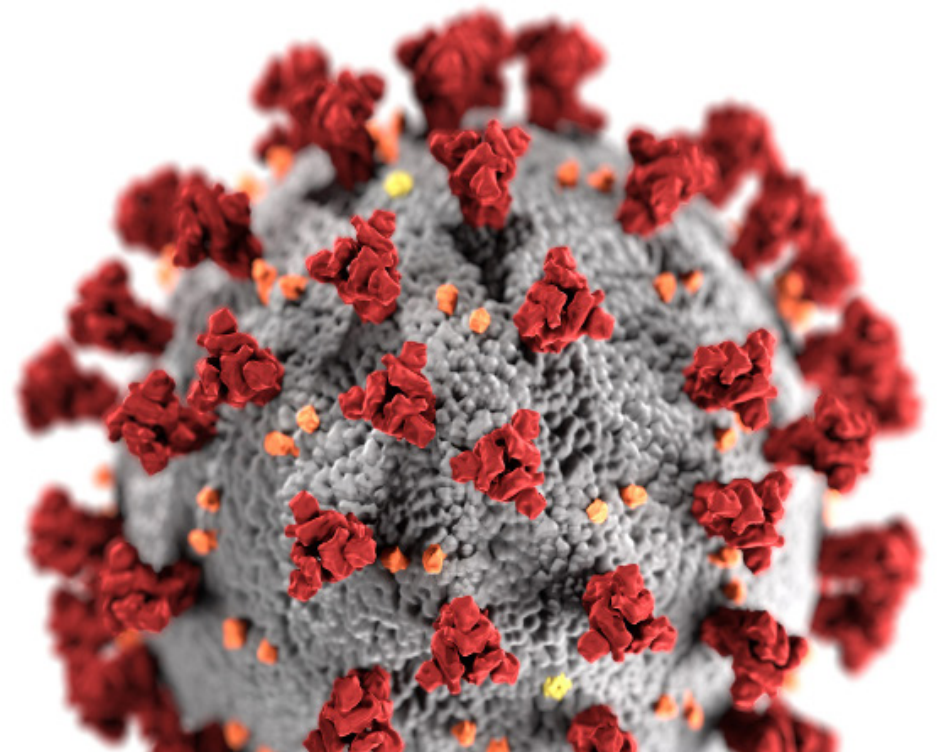


Novo coronavírus

COVID-19

O QUE SABEMOS ATÉ AGORA SOBRE
O TRATAMENTO FARMACOLÓGICO
DO SARS-CoV-2



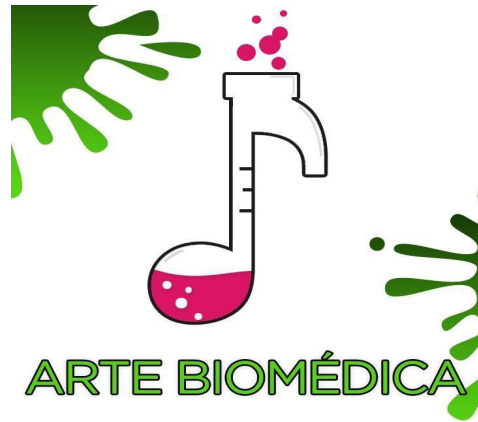
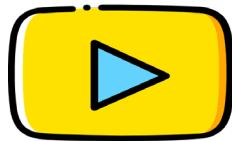


Pedro Braga - Professor de Farmacologia - Instituto Biomédico - UNIRIO

Raquel Gorrera - Biomedicina - UNIRIO

Abril/2020

Apoie nossas redes sociais



Contato:
raquelgorrera@edu.unirio.br
[@raquelgorrera](https://www.instagram.com/raquelgorrera)



Sumário

#FiqueEmCasa



LISTA DE ABREVIATURAS	05
N-COV-19	07
HIPÓTESE PARA POTENCIAL PATOGENICIDADE	10
CARACTERÍSTICAS NOTÁVEIS DO GENOMA	16
A NECESSIDADE DE IDENTIFICAR NOVOS MEDICAMENTOS	20
FOSFATO DE CLOROQUINA	22
A CLOROQUINA (CQ) EXIBE UM EFEITO INIBITÓRIO PROMISSOR	23
HIDROXICLOROQUINA (HCQ)	24
MECANISMOS ANTIVIRAIS DA CQ E DA HCQ	26
EVENTOS ADVERSOS	29
REMDESIVIR	31
LOPINAVER - RITONAVIR	34
ESTUDO DE CASO	39
BIBLIOGRAFIA	45

Lista de -abreviaturas-

- ACE-2** - Angiotensin-Converting Enzyme 2 / Enzima Conversora da Angiotensina 2
- APCs** - Células Apresentadoras de Antígeno
- CCK-8** - Cell Counting Kit-8 / Kit de contagem de células-8
- CID** - Coagulação Intravascular Disseminada
- CQ** - Cloroquina
- DNA** - Ácido Desoxirribonucleico
- HBPM** - Heparina de Baixo Peso Molecular
- HCQ** - Hidroxicloroquina
- HIV** - Vírus da Imunodeficiência Humana
- Huh-7** - Linha Celular de Hepatocarcinoma
- IL-1** - Interleucina 1
- IL-6** - Interleucina 6
- IVIg** - Imunoglobulina Humana
- MHC II** - Complexo Principal de Histocompatibilidade de Classe II
- pH** - Potencial Hidrogeniônico
- PNH** - Primatas não Humanos

Lista de -abreviaturas-

qRT-PCR - Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

RBD - Domínio de Ligação do Receptor

RNA - Ácido Ribonucleico

SARS-CoV - Coronavírus Relacionado à Síndrome Respiratória Aguda Grave

SDRA - Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

TC - Tomografia Computadorizada

TLR - Toll Like Receptor / Receptor do Tipo Toll

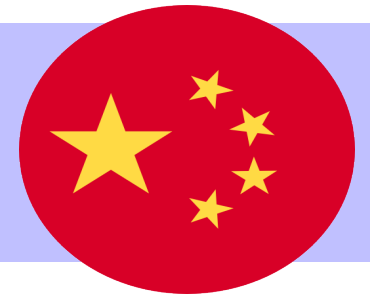
TNF - Fator de Necrose Tumoral

UTI - Unidade de Tratamento Intensivo

VDRL - Venereal Disease Research Laboratory / Teste para Pesquisa de Doenças Venéreas

N-COV-19

O vírus da doença de coronavírus 2019 (COVID-19), surgiu em dezembro de 2019, na China. O mesmo espalhou-se rapidamente e já possui casos confirmados em vários países.



SARS-CoV-2 é o sétimo coronavírus conhecido por infectar humanos;

SARS-CoV
MERSCoV
SARS-CoV-2



Podem causar doenças graves

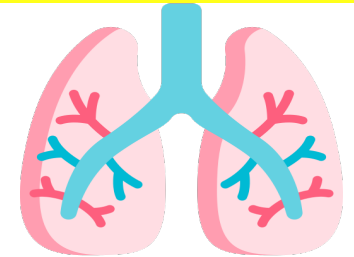
HKU1
NL63
OC43
229E



Estão associados a sintomas mais leves

COVID-19

O novo coronavírus (SARS-CoV-2), desencadeou um novo surto de pneumonia (COVID-19) em dezembro do ano de 2019 na cidade chinesa de Wuhan. A disseminação do vírus ocorreu rapidamente para 31 províncias na China e já atingiu 213 países em todo o mundo. O espectro completo do Covid-19 varia de condições respiratórias leves e autolimitadas a doenças do trato com pneumonia progressiva grave, sepse, coagulação intravascular disseminada (CID), síndrome da disfunção de múltiplos órgãos e morte.

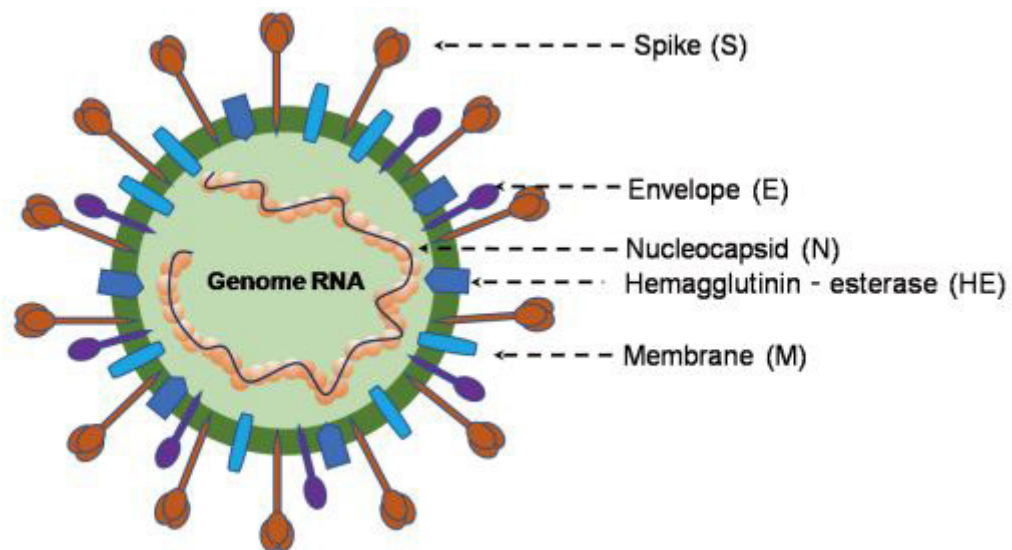


Observações gerais:

- Pacientes hospitalizados com infecção grave por COVID-19 desenvolveram pneumonia.
- A taxa geral de mortalidade de casos foi superior ao observado com a gripe sazonal.
- A maioria das mortes envolveu idosos, muitos dos quais tinham doenças crônicas subjacentes.

Partículas do β -coronavírus

O β -coronavírus é um vírus envelopado, possui RNA de fita simples com sentido positivo, não segmentado e com tamanho que varia por volta de 29,9 kb.



O vírus possui um nucleocapsídeo composto por RNA genômico e nucleocapsídeo fosforilado (N) proteína, que é enterada dentro de bicamadas fosfolipídicas e coberta pela glicoproteína Spike (S).

A proteína de membrana (M), hemaglutinina-esterase (HE) e a proteína do envelope (E) são localizadas entre as proteínas (S) no envelope do vírus.

Figura 1. As partículas do beta-coronavírus.

Fonte: Jin, Yuefei, et al. "Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19." *Viruses* 12.4 (2020): 372.

Hipótese para potencial patogênese da infecção por SARSCoV-2



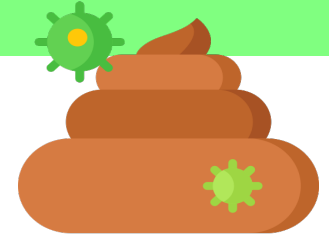
A patogênese da infecção por SARS-CoV-2 em humanos permanece incerta e atualmente não há medicamento antiviral contra o vírus.

Foi observado que o sistema imunológico desempenha um papel vital na defesa contra as infecções por SARS-CoV e por MERS.

Alterações imunes em pacientes com SARS, MERS e influenza, especialmente alterações nos subconjuntos de linfócitos T do sangue periférico, contribuem para compreender as características, o diagnóstico, o monitoramento, a prevenção e o tratamento da doença.

Patogênese hipotética - Com base na literatura publicada e em observações clínicas de pacientes com COVID-19, foram propostas hipóteses razoáveis sobre a patogênese da infecção por SARS-CoV-2 em humanos. O vírus pode passar através das membranas mucosas, principalmente nasais e mucosa da laringe e alcançar os pulmões pelo trato respiratório. Os primeiros sintomas mais comuns da infecção são febre e tosse.

O vírus pode entrar no sangue periférico dos pulmões, causando viremia. Então o vírus atacaria os órgãos alvo que expressam a ECA2, como pulmões, coração e trato renal e gastrointestinal. É provável que o SARS-CoV-2 detectado nas amostras fecais seja em virtude da entrada do vírus pelos pulmões, o qual posteriormente alcança o sangue e então os intestinos.



Dawei Wang et al identificaram que o tempo médio desde o início dos sintomas até a SDRA foi de cerca de 8 dias.

Dessa maneira, acredita-se que o vírus inicia um segundo ataque, fazendo com que a condição do paciente seja agravada por volta de 7 a 14 dias após o início da doença. Durante o processo de infecção, a contagem de células brancas no sangue periférico no estágio inicial da doença é normal ou ligeiramente baixa. Especula-se que a redução de linfócitos B possa ocorrer no início da doença, o que pode afetar a produção de anticorpos no paciente.

Fase clínica

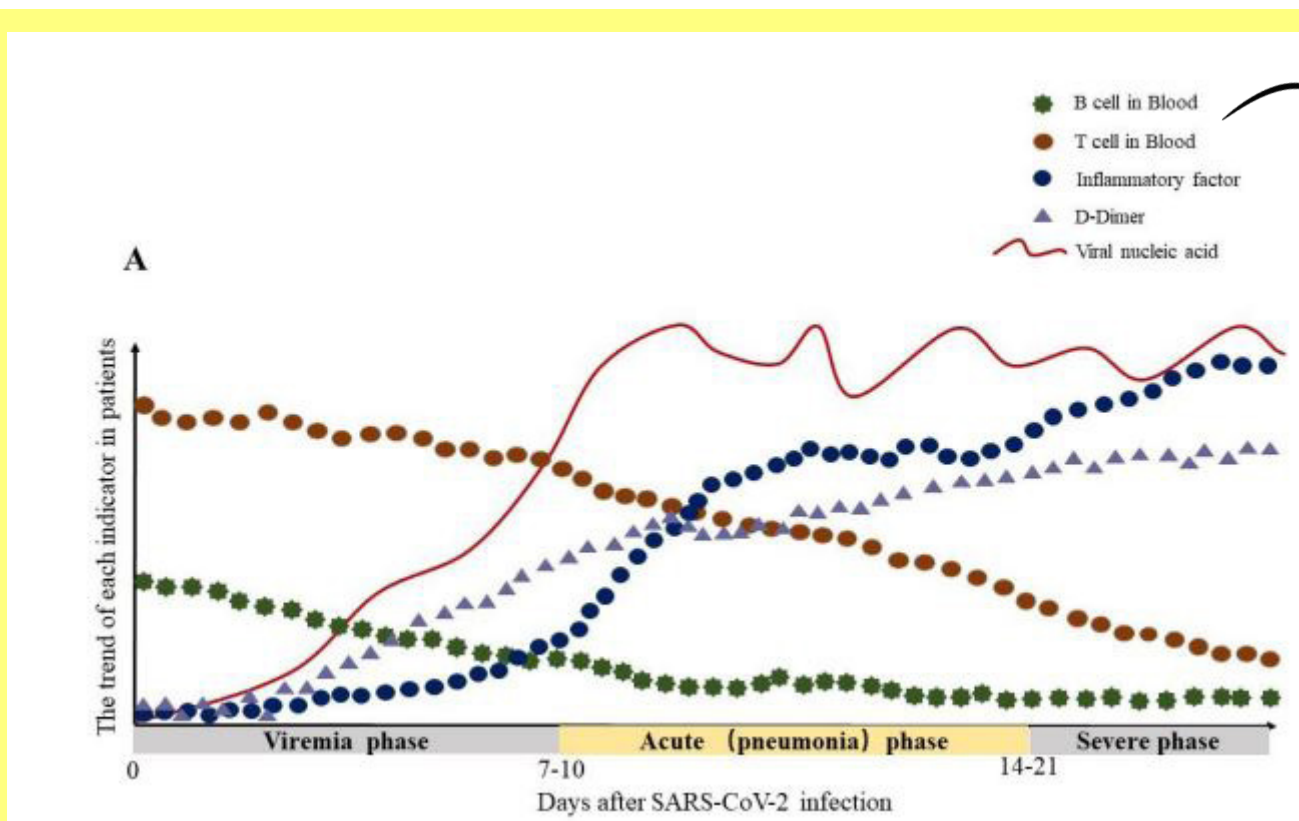
Viremia

Aguda (fase de pneumonia)

Recuperação

Se a função imunológica dos pacientes na fase aguda é eficaz e não há doenças de base, o vírus pode ser efetivamente suprimido, seguindo para a fase de recuperação.

Se o paciente for mais velho, ou estiver em um estado imunológico comprometido, combinado com outras doenças de base como hipertensão e diabetes, o sistema imunológico não pode controlar efetivamente o vírus na fase aguda, o paciente tornar-se-a grave ou crítico.



As células T e B diminuiram ainda mais, enquanto citocinas inflamatórias e D-Dimer continuaram a aumentar em pacientes graves.

Figura 2. A tendência de cada indicador em pacientes com COVID-19 tipo grave.

Fonte: Lin, Ling, et al. "Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia." *Emerging Microbes & Infections* just-accepted (2020): 1-14.

Lin, Ling, et al. sugerem que IVIg (Imunoglobulina humana) e terapia anticoagulante com heparina de baixo peso molecular sejam administradas o mais cedo possível quando as células T, células B, citocinas inflamatórias e D-Dimer mostrarem as seguintes tendências:

Os linfócitos T e linfócitos B no sangue periférico são significativamente inferiores aos valores anteriores.

Aumento significativo de citocinas inflamatórias, como IL-6.

Aumento anormal de parâmetros de coagulação, como D-Dimer.

TC de tórax indica expansão de lesões pulmonares.

Recomendação: IVIg de alta dose de 0,3 - 0,5g por kg de peso por dia pode ser administrada por 5 dias, o que poderia interromper a tempestade de fatores inflamatórios numa fase inicial, levando a uma melhoria da função imunológica.

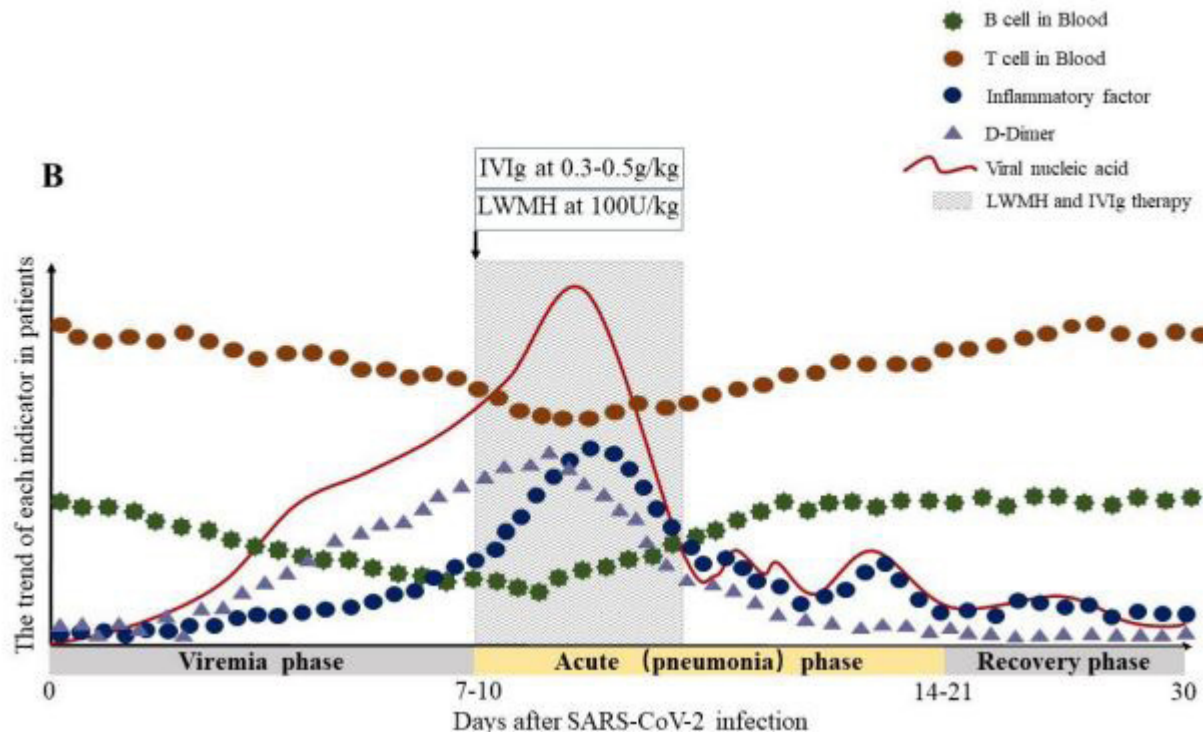
Embora a IVIG tenha demonstrado eficácia no tratamento de pacientes com influenza e SARS, precisamos de mais dados clínicos dos pacientes com COVID-19.

Fique atento!



A infecção é uma causa comum de coagulação intravascular disseminada (CID).

Inflamação, infecção e outros fatores podem levar à ativação excessiva da coagulação.



A terapia de anticoagulação com HBPM é especialmente recomendada no estágio inicial da doença.

Figura 3. A tendência de cada indicador em pacientes com COVID-19 com doença grave após terapia com LWMH e IVIg. As áreas sombreadas representam o tempo recomendado de intervenção para o tratamento de HBPM e IVIg.

Fonte: Lin, Ling, et al. "Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia." *Emerging Microbes & Infections* just-accepted (2020): 1-14.

Foi observado clinicamente que pacientes com infecção grave por COVID-19 podem desenvolver CID.



Figura 4. Alterações isquêmicas dos dedos em um paciente com COVID-19 com tipo grave.

Fonte: Lin, Ling, et al. "Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia." *Emerging Microbes & Infections* just-accepted (2020): 1-14.

Nos pacientes com COVID-19 de tipo grave, podem ocorrer alterações isquêmicas nos dedos das mãos e dos pés.

A terapia de anticoagulação é recomendada para pacientes com COVID-19 quando o valor do dímero-D for 4 vezes maior que o limite superior normal, exceto para pacientes com contra-indicações a anticoagulantes.

O tratamento atual de pacientes com COVID-19 grave é a chave para controlar o número crescente de mortes. Mais pesquisas relacionadas ao sistema imunológico são necessárias para ajudar a entender a patogênese, orientar o tratamento da doença e melhorar o prognóstico.

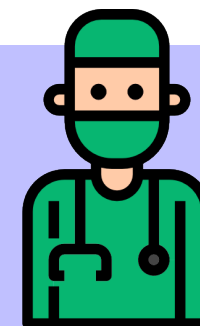
Fique atento!



Dose recomendada HBPM

100U por kg de peso por 12 horas por injeção subcutânea por 3-5 dias.

Clínicos devem monitorar de perto os indicadores do exame laboratorial dos pacientes para estarem alertas em caso de efeitos colaterais após tratamento anti-coagulante





Fique atento!

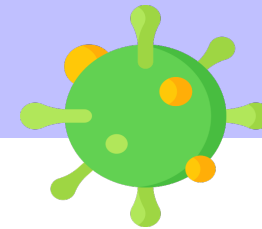
As análises de Andersen, Kristian G., et al demonstraram claramente que o SARS-CoV-2 não é uma construção de laboratório ou um vírus manipulado propositalmente.

Os dados genéticos mostram irrefutavelmente que o SARS-CoV-2 não é derivado de nenhum backbone de vírus usado.

Dois cenários que podem explicar plausivelmente a origem do SARS-CoV-2 são propostos:

- I - Seleção natural em um hospedeiro animal antes da zoonose ser transferida;
- II - Seleção natural em humanos após transferência zoonótica.

Características notáveis do Genoma do SARS-CoV-2



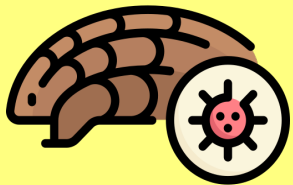
- SARS-CoV-2 parece ser otimizado para ligação ao receptor humano ACE2.
- A proteína spike de SARS-CoV-2 tem um sítio de clivagem funcional polibásico (furin) no limite S1 – S2 através da inserção de 12 nucleotídeos, que adicionalmente, levou à aquisição prevista de três glicanos ligados ao O em todo o sítio.

1. Seleção natural em um hospedeiro animal antes da transferência zoonótica (?)

• Tantos casos de COVID-19 estavam ligados ao mercado Huanan em Wuhan, é possível que uma fonte animal estivesse presente nesta localização. Dada a semelhança do SARS-CoV-2 com os coronavírus tipo SARS-CoV de morcegos, é provável que estes sirvam como hospedeiros do reservatório pelo seu progenitor.



• Embora o RaTG13, amostrado de um morcego de *Rhinolophus affinis*, seja aproximadamente 96% idêntico ao SARS-CoV-2, suas proteínas Spike divergem na RBD (domínio de ligação do receptor), o que sugere que ele não pode se ligar eficientemente a ACE2 de humanos.



• Pangolins malaios (*Manis javanica*) contêm coronavírus semelhantes ao SARS-CoV-2. Os coronavírus de pangolim exibem forte similaridade com SARS-CoV-2 na RBD, incluindo todos os seis principais resíduos de RBD (Figura. 5). A otimização da proteína Spike de SARS-CoV-2 para a ligação a ACE2 de humanos é resultado de seleção natural.

• Nenhum coronavírus animal foi identificado como suficientemente semelhante para ter servido como progenitor direto da SARS-CoV-2.

• Para que um vírus precursor adquira tanto o local de clivagem polibásica e mutações adequadas na proteína spike para ligação a ACE2 de humanos, um hospedeiro animal provavelmente precisaria ter uma alta densidade populacional (para permitir seleção natural com eficiência) e um gene que codifica ACE2 que fosse semelhante ao ortólogo humano.

SARS-CoV-2 Humano

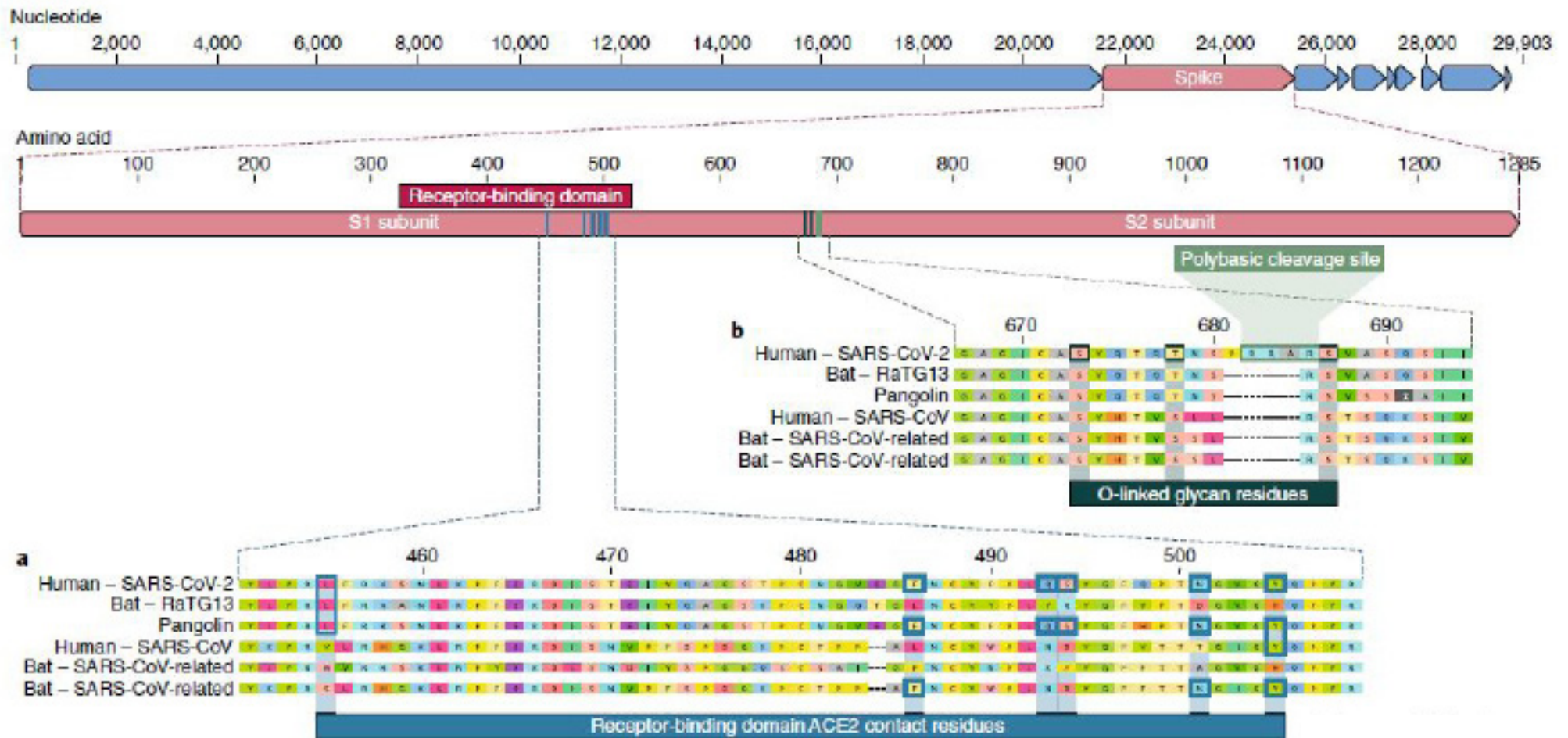


Figura 5. Características da proteína spike no SARS-CoV-2 humano e nos coronavírus relacionados. a, Mutações nos resíduos de contato da proteína spike SARS-CoV-2. A proteína spike de SARS-CoV-2 (barra vermelha na parte superior) foi alinhada contra os coronavírus mais semelhantes ao SARS-CoV e o próprio SARS-CoV. Principais resíduos na proteína spike que entra em contato com o receptor ACE2 estão marcados com caixas azuis no SARS-CoV-2 e em vírus relacionados, incluindo o SARS-CoV (Linhaagem Urbani). b, aquisição de sítio de clivagem polibásica e glicanos ligados a O. Tanto o local de clivagem polibásica como os três preditos adjacentes ligados por O glicanos são exclusivos da SARS-CoV-2 e não eram vistos anteriormente nos betacoronavírus da linhagem B. As sequências mostradas são do NCBI GenBank, códigos de acesso MN908947, MN996532, AY278741, KY417146 e MK211376. As sequências de coronavírus de pangolim são um consenso gerado a partir de SRR10168377 e SRR10168378 (NCBI BioProject PRJNA573298).

Fonte: Andersen, Kristian G., et al. "The proximal origin of SARS-CoV-2." *Nature Medicine* (2020): 1-3.

2. Seleção natural em humanos após transferência zoonótica (?)

- Estudos de amostras humanas depositadas poderiam fornecer informações sobre a possibilidade de tal propagação enigmática. Estudos sorológicos retrospectivos também podem ser informativos, e alguns desses estudos foram realizados, mostrando exposições de baixo nível ao SARSCoV- como coronavírus em certas áreas da China.
- Entretanto, esses estudos não poderiam ter distinguido se exposições foram devidas a infecções anteriores com SARS-CoV, SARS-CoV-2 ou outro tipo de coronavírus SARSCoV. Outros estudos sorológicos devem ser realizados para determinar a extensão da exposição humana prévia a SARS-CoV-2.

3. Seleção durante a passagem (?)

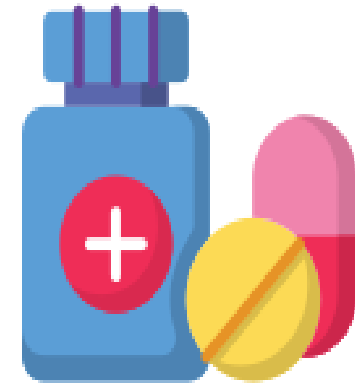
- Em teoria, é possível que o SARS-CoV-2 tenha adquirido mutações de RBD durante a adaptação à passagem em cultura de células, como tem sido observado em estudos de SARS-CoV.



Frente a uma emergência de saúde pública global de COVID-19, é razoável saber por que as origens da pandemia importam.

Mais dados científicos podem levar o balanço de evidências para favorecer mais uma hipótese do que outra.

A necessidade de Identificar Novos Medicamentos



SARS-CoV-2 e o surto de COVID-19

Atualmente, não existe um tratamento específico contra o novo vírus, havendo portanto uma necessidade urgente de identificar medicamentos seguros e eficazes para o tratamento.

Uma abordagem eficiente para a descoberta de medicamentos é testar se os medicamentos antivirais existentes são efetivos no tratamento das infecções virais relacionadas.

Fique atento!

SARS-CoV-2

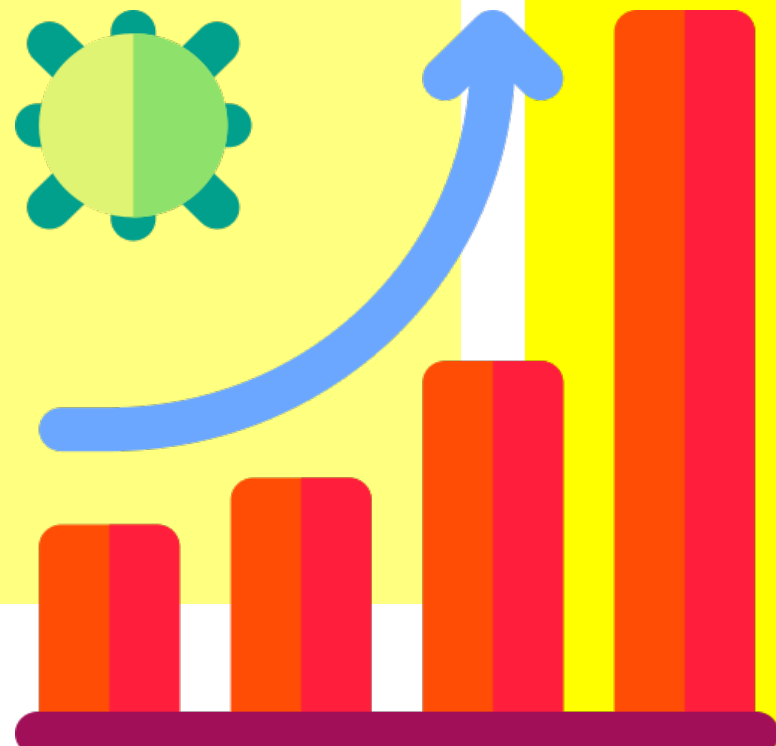
É um betacoronavírus e compartilha a sequência genética e a estrutura viral com o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV; 70% de similaridade) e também com o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV; 40% de similaridade).

Para saber mais!

O número de casos de **COVID-19** *ainda está aumentando*. Em média, o tempo entre os primeiros sintomas e a SDRA é de 8 dias (IQR de 6 a 12 dias). A transição para a SDRA ocorre em muitos casos graves de COVID-19.

Uma possível explicação para essa deterioração rápida e séria é a síndrome de liberação de citocinas ou “tempestade de citocinas”, na qual ocorre uma superprodução de células imunes e citocinas que leva a uma rápida falência do sistema de múltiplos órgãos e dano aos tecidos dos pulmões, rins e coração.

Desenvolver uma abordagem eficaz para modular a resposta imune ou suprimir citocinas super-reativas a produção é de importância crucial na redução do agravamento da doença e da taxa de mortalidade.



Fosfato de cloroquina



Este medicamento antigo é utilizado na prevenção e no tratamento da malária, além de também ser eficiente como anti-inflamatório no tratamento da artrite reumatóide e do lúpus eritematoso.

O mesmo demonstrou ter eficácia aparente e segurança aceitável contra a pneumonia associada ao COVID-19 em ensaios clínicos multicêntricos realizados na China.

Nos primeiros estudos in vitro, a cloroquina demonstrou bloquear a infecção por COVID-19 em baixas concentrações micromolares, com metade da concentração efetiva máxima (EC_{50}) de $1,13 \mu\text{M}$ e metade da concentração citotóxica (CC_{50}) superior a $100 \mu\text{M}$.

Cloroquina

A atividade anti-viral de amplo espectro advém do aumento do pH endossômico, necessário para a fusão vírus / célula, bem como a interferência na glicosilação dos receptores celulares de SARS-CoV.

Estudos clínicos: Aparente eficácia no tratamento da pneumonia associada ao COVID-19

Em 17 de fevereiro de 2020, o Conselho de Estado da China realizou um informativo indicando que o fosfato de cloroquina havia demonstrado eficácia acentuada e segurança aceitável no tratamento da Pneumonia associada ao COVID-19 em ensaios clínicos multicêntricos realizados na China.

A cloroquina (CQ) exibe um efeito inibitório promissor

Vários medicamentos antivirais foram testados quanto à eficácia na inibição da replicação de SARS-CoV-2 em cultura de células.

Foram realizados ensaios clínicos randomizados para testar o efeito de CQ no tratamento de COVID-19.

Os efeitos terapêuticos foram observados em aspectos de redução da febre, melhorias na imagem de TC e progressão retardada da doença.

Fique atento!

Dose recomendada - adultos

-500 mg / dia

-Dosagem máxima sustentável pelo corpo humano

Cloroquina

foi oficialmente declarada como agente médico para COVID-19 na sexta edição do plano para diagnóstico e tratamento de pneumonia pelo novo coronavírus, divulgado pela Comissão Nacional de Saúde e Cuidados da China em 19 de fevereiro de 2020.

Hidroxicloroquina (HCQ)

A estrutura química da hidroxicloquina é bastante semelhante a da cloroquina. A HCQ é um dos medicamentos anti-reumáticos modificadores da doença, os quais são amplamente utilizados no tratamento de muitas doenças reumáticas e também demonstram uma forte capacidade imunomodulatória, que evita surtos de inflamação e danos aos órgãos. Tanto HCQ quanto CQ são considerados fármacos imunomoduladores.

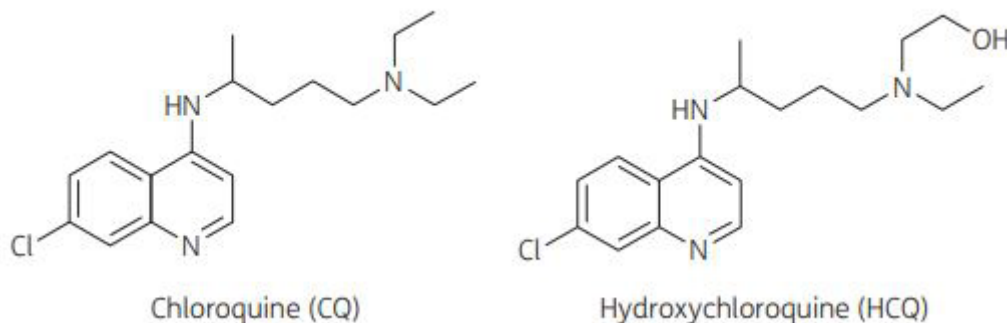


Figura 6. Estruturas químicas de CQ e HCQ.

Fonte: Zhou, Dan, Sheng-Ming Dai, and Qiang Tong. "COVID-19: a recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2020).

A HCQ pode aumentar o pH intracelular e inibir a atividade lisossômica em células apresentadoras de antígenos (APCs). Ocorre portanto, impedimento do processamento de antígenos e os principais auto-antígeno mediado por classe II do complexo de histocompatibilidade (MHC).

Esse processo reduz a ativação das células T, diferenciação e expressão de proteínas coestimuladoras (por exemplo, CD154 em células TCD4+) e citocinas produzidas por células T e células B (por exemplo, IL-1, IL-6 e TNF).

A sinalização TLR é suprimida pela administração de **hidroxicloroquina**, devido ao pH alterado de endossomas e a ligação interrompida entre receptores toll-like (TLR7 e TLR9) e seus ligantes RNA/DNA.

No citoplasma, a HCQ interfere na interação entre o DNA citosólico e o sensor de ácido nucleico GMP-AMP cíclico (cGAMP) sintase (cGAS).

CQ e **HCQ** inibem ainda a ligação ao receptor e fusão da membrana, duas etapas principais que são necessárias para a entrada de células virais. CQ demonstrou efeito antiviral durante condições pré e pós-infecção, interferindo na glicosilação da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) (receptor celular da SARS-CoV) e bloqueando a fusão do vírus com a célula hospedeira (Figura 7). A glicosilação terminal diminuída da ACE2 pode reduzir a eficiência de ligação entre a ACE2 em células hospedeiras e a proteína spike SARS-CoV. Dessa forma, a ligação do vírus aos receptores nas células é impedido e a infecção é conseqüentemente evitada.



Fique atento!

Os mecanismos observados dão forte apoio à hipótese de que a HCQ provavelmente confere a capacidade de suprimir a SRC, devido à superativação do sistema imunológico desencadeada pela infecção por SARS-CoV-2, através do qual a progressão da doença de leve a grave pode ser atenuado.

É necessário um exame clínico cuidadoso para validar esta hipótese!

Mecanismos antivirais da CQ e HCQ

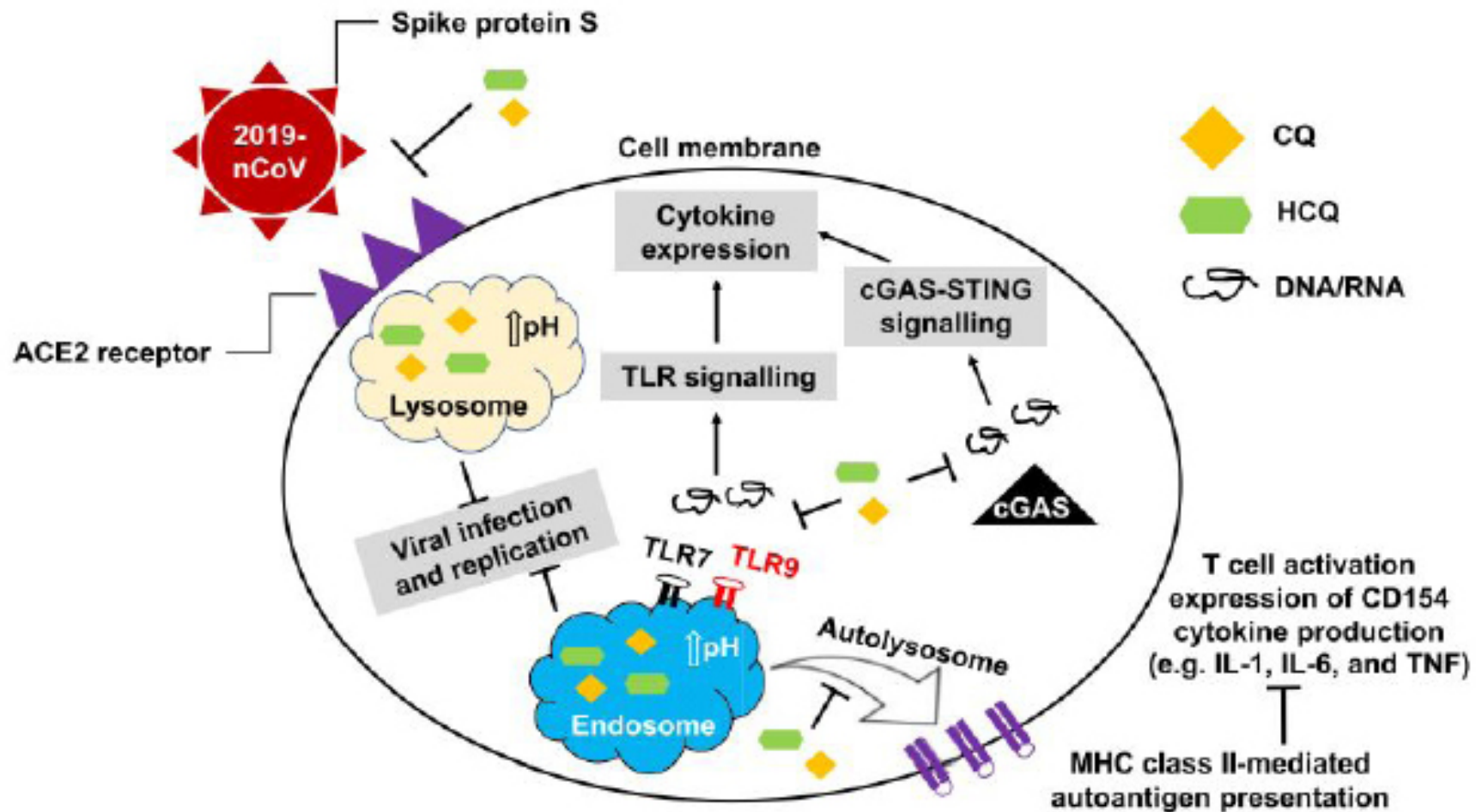


Figura 7. Mecanismos antivirais da cloroquina e hidroxicloroquina

Fonte: Zhou, Dan, Sheng-Ming Dai, and Qiang Tong. "COVID-19: a recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2020).



Apontamentos da última ilustração gráfica:

- **CQ** e **HCQ** podem interferir com a glicosilação da ACE2 e reduzir a eficiência de ligação entre ACE2 nas células hospedeiras e a proteína spike na superfície do coronavírus.

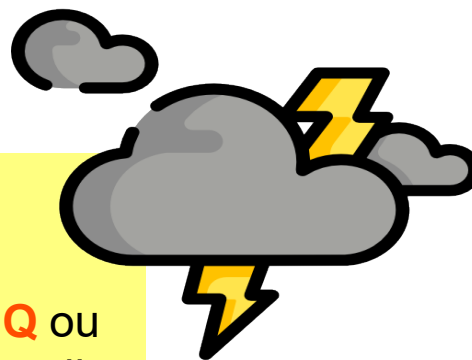
- **CQ** e **HCQ** também podem aumentar o pH de endossomos e lisossomos, através dos quais o processo de fusão do vírus com as células hospedeiras e a subsequente replicação são impedidos.

- Quando a **HCQ** entra nas APCs, impede o processamento de antígenos e a apresentação de auto-antígenos mediada por MHC classe II nas células T.



A subsequente ativação das células T e a expressão de CD154 e outras citocinas são reprimidas.

- A **HCQ** interrompe a interação do DNA / RNA com TLRs e o sensor de ácido nucleico cGAS e, portanto, a transcrição de genes pró-inflamatórios não podem ser estimulados.



Fique atento!

Como resultado, a administração de **CQ** ou **HCQ** não apenas bloqueia a invasão e replicação de coronavírus, mas também atenua a possibilidade de tempestade de citocinas.

Fique atento!

Dose recomendada HCQ- adultos

- 1.200 mg / dia.
- Dosagem máxima sustentável pelo corpo humano.

Observe que 1.200 mg de HCQ correspondem a 750 mg de CQ em termos de efeito antiviral (para a qual a dose máxima tolerável por dia é de 500 mg).

Isso indica que a HCQ pode ser administrada em doses mais altas e, portanto, pode atingir efeito antiviral mais poderoso.

Eventos adversos

Ambos os medicamentos têm um bom histórico de segurança e são bem distribuídos por todo o corpo após a administração oral. Outra vantagem do HCQ e CQ é que eles não trazem riscos de complicações infecciosas.

Entretanto, o uso prolongado da CQ pode causar efeitos colaterais graves.

Respostas gastrointestinais:



Os eventos adversos gastrointestinais são os mais observados no uso de CQ e HCQ.

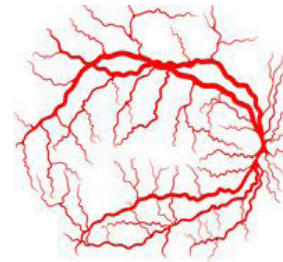
Vômitos



Diarreia



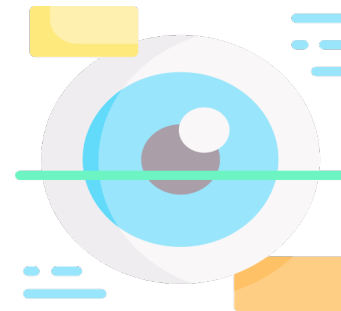
Retinopatia



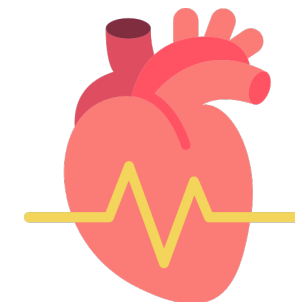
Defeitos circulares (maculopatia do olho de boi)



Defeitos diamétricos na retina



Cardiomiopatia



Eventos adversos



A **toxicidade** da terapia com CQ está associada ao uso deste medicamento em pacientes idosos e ao uso além do limite da dose.

Em contraste, a HCQ tem um nível mais baixo de acúmulo nos tecidos, o que poderia explicar o fato de estar associado a menos efeitos adversos que a CQ. Mesmo assim, a HCQ influencia potencialmente a prevenção e o tratamento da malária a um nível semelhante ao da CQ.

De fato, as altas doses e a ingestão a longo prazo (por mais de 5 anos) de HCQ provavelmente contribuirá para o desenvolvimento de retinopatia, o que está de acordo com a preferência atual do uso de HCQ na terapia para malária.



Uso durante a gravidez

Enquanto a CQ exerce graves efeitos colaterais no desenvolvimento fetal, a HCQ é altamente recomendada para pacientes grávidas com doença autoimune.

O surto de SARS-CoV-2 colocou muitas mulheres grávidas em alto risco de infecção; A HCQ, frente a CQ, pode ser considerada como uma potencial solução terapêutica para essas pacientes, dado seu perfil de segurança na gravidez.



Remdesivir

Recentemente foi reconhecido como uma droga antiviral promissora contra grande variedade de infecções por vírus de RNA (incluindo o SARS/MERSCoV) em cultura de células, modelos de ratos e de primata não humanos (PNH). Remdesivir é um análogo de adenosina, que se incorpora a cadeia de RNA viral nascente e resulta em uma terminação prematura.

Os dados preliminares de Wang, M. et al. mostraram que o valor de EC_{90} de Remdesivir contra o 2019-nCoV em células VeroE6 foi $1,76\mu\text{M}$, sugerindo que sua concentração de ação provavelmente será alcançada em PNH. Além disso, observaram que Remdesivir também inibe infecção viral de forma eficiente em uma linhagem de célula humana (células hepáticas humanas cancerígenas Huh-7), que são sensíveis para o 2019-nCoV.

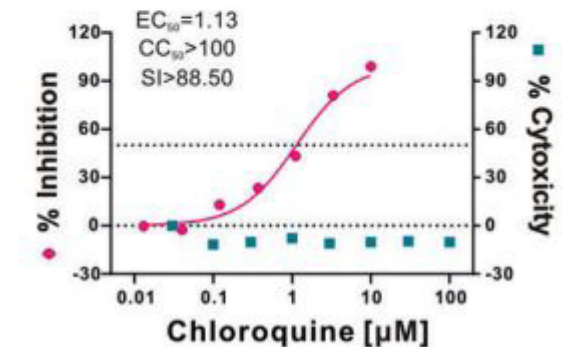
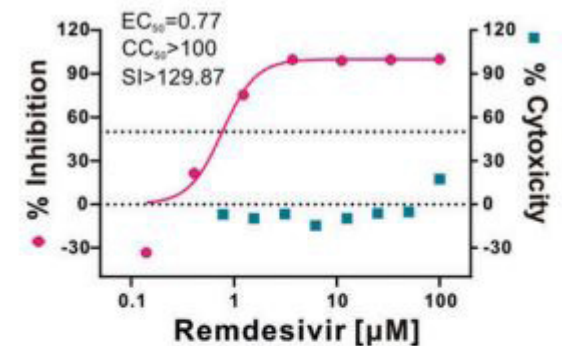


Figura 8. Atividades antivirais das drogas testadas contra 2019-nCoV in vitro.

Fonte: Wang, Manli, et al. "Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro." *Cell research* 30.3 (2020): 269-271.



Fique atento!

A produção de novas partículas virais no sobrenadante celular foi quantificada por qRT-PCR. Mensurou-se a citotoxicidade desses medicamentos contra as células Vero E6 através de ensaios CCK-8.

Os eixos y à esquerda e à direita dos gráficos representam a porcentagem média de inibição da produção de novas partículas virais e citotoxicidade das drogas, respectivamente.

Microscopia com imunofluorescência da infecção viral

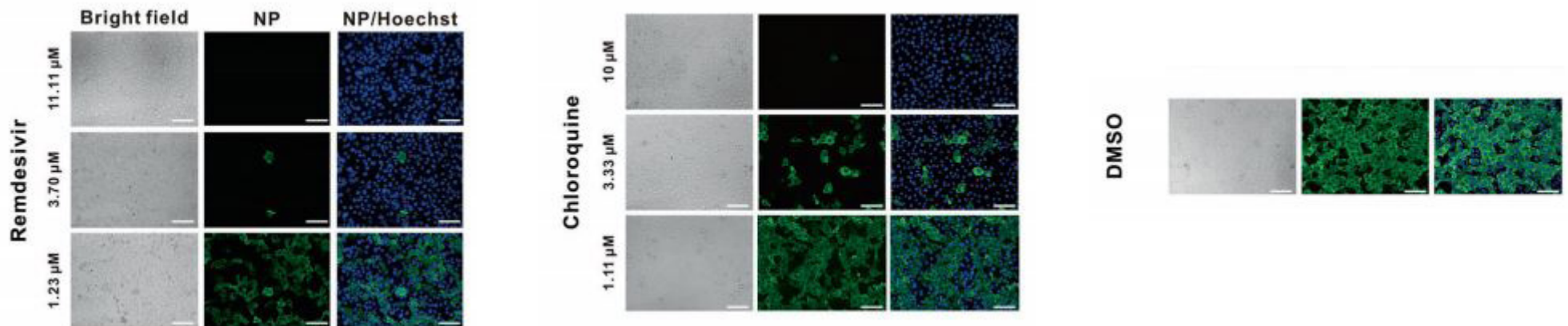


Figura 9. Microscopia com imunofluorescência da infecção viral após tratamento com remdesivir e cloroquina.

Fonte: Wang, Manli, et al. "Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro." *Cell research* 30.3 (2020): 269-271.

Cloroquina

Além da sua atividade antiviral, a cloroquina tem uma atividade imunomoduladora que pode sinergicamente melhorar seu efeito antiviral *in vivo*.

A cloroquina é amplamente distribuída no corpo todo, incluindo pulmões, após sua administração oral. O valor EC₉₀ de cloroquina contra o 2019-nCoV em células VeroE6 foi 6,90 μM , que pode ser clinicamente possível como demonstrado no plasma de pacientes com artrite reumatoide que receberam uma administração de 500mg.

Além disso, a cloroquina é uma droga segura e barata que tem sido usada por mais de 70 anos.

Remdesivir e Cloroquina

são altamente efetivos no controle da infecção do 2019-nCoV *in vitro*. Visto que esses compostos foram usados em pacientes humanos com um histórico seguro e mostraram ser efetivos contra várias doenças, sugere-se que estes sejam avaliados em pacientes humanos que sofrem da doença do novo coronavírus.





Lopinavir - Ritonavir

Após o surgimento da síndrome respiratória aguda grave (SARS) em 2003, a triagem de medicamentos aprovados identificou o lopinavir, um inibidor da protease aspartato do vírus da imunodeficiência humana (HIV) tipo 1, como tendo in vitro atividade inibitória contra SARS-CoV, o vírus que causa SARS em humanos. O ritonavir é combinado com lopinavir para aumentar a meia-vida plasmática através da inibição do citocromo P450.

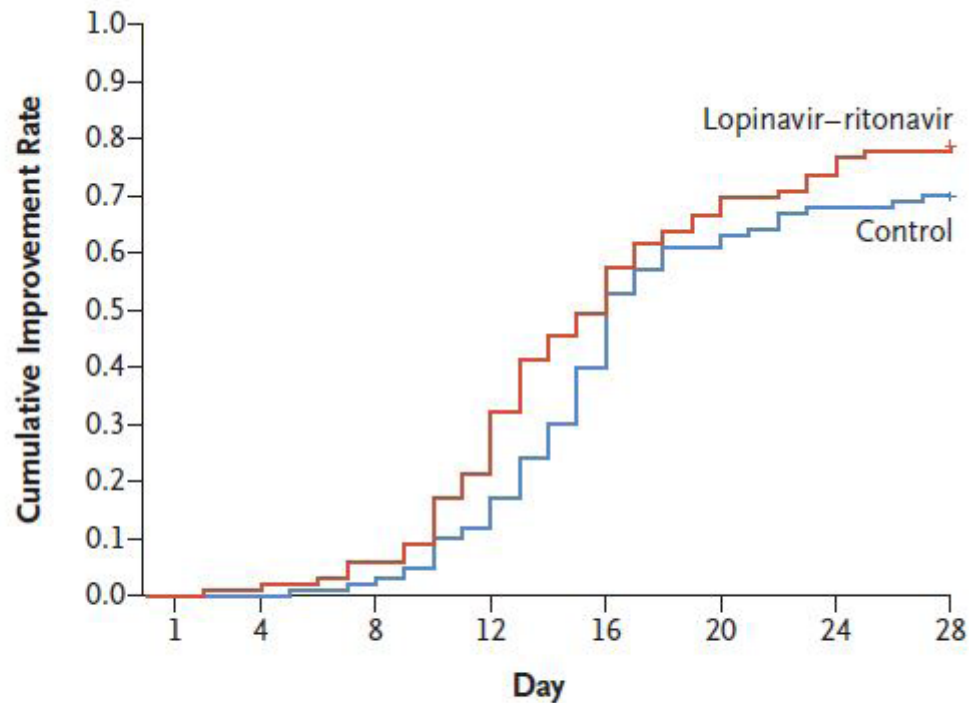
Saiba mais com este estudo!

Um estudo randomizado, controlado e aberto, envolvendo pacientes adultos hospitalizados com infecção confirmada por SARS-CoV-2, numa proporção de 1: 1 para receber lopinavir – ritonavir (400 mg e 100 mg, respectivamente) duas vezes ao dia por 14 dias, além do atendimento padrão ou atendimento padrão sozinho.

De um total de 199 pacientes, 99 foram designados ao grupo lopinavir – ritonavir e 100 ao grupo de atendimento padrão.

Os pacientes designados para lopinavir – ritonavir não apresentaram tempo de melhora clínica diferente dos pacientes designados apenas para tratamento padrão (mediana, 16 dias vs. 16 dias)

Saiba mais com este estudo!



No. at Risk

Lopinavir-ritonavir	99	98	93	78	50	33	26	22
Control	100	100	98	88	60	39	32	30

Figura 10. Tempo para melhoria clínica na população com intenção de tratar

Fonte: Cao, Bin, et al. "A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19." *New England Journal of Medicine* (2020).

Mortalidade aos 28 dias foi semelhante no grupo lopinavir – ritonavir e no grupo de tratamento padrão.

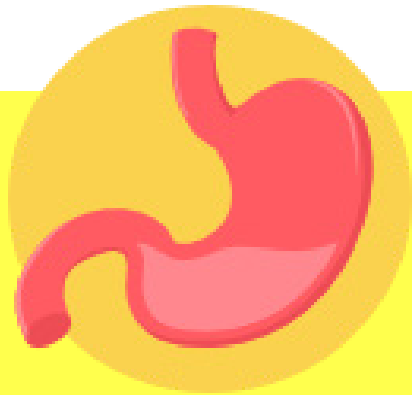
As porcentagens dos pacientes com RNA viral detectável em vários momentos foram semelhantes em ambos os grupos.

Os pacientes do grupo lopinavir-ritonavir apresentaram permanência mais curta na unidade de terapia intensiva (UTI) (mediana, 6 dias vs. 11 dias)

Saiba mais com este estudo!

O número de pacientes do grupo lopinavir – ritonavir que apresentou complicações (lesão renal aguda e infecções secundárias) ou que necessitaram de ventilação mecânica invasiva ou não invasiva em virtude de falha respiratória, foi menor do que naqueles que não receberam o tratamento.

Essas observações são geradoras de hipóteses e exigem estudos adicionais para determinar se o tratamento com lopinavir – ritonavir administrado em um certo estágio da doença pode reduzir algumas complicações em Covid-19.

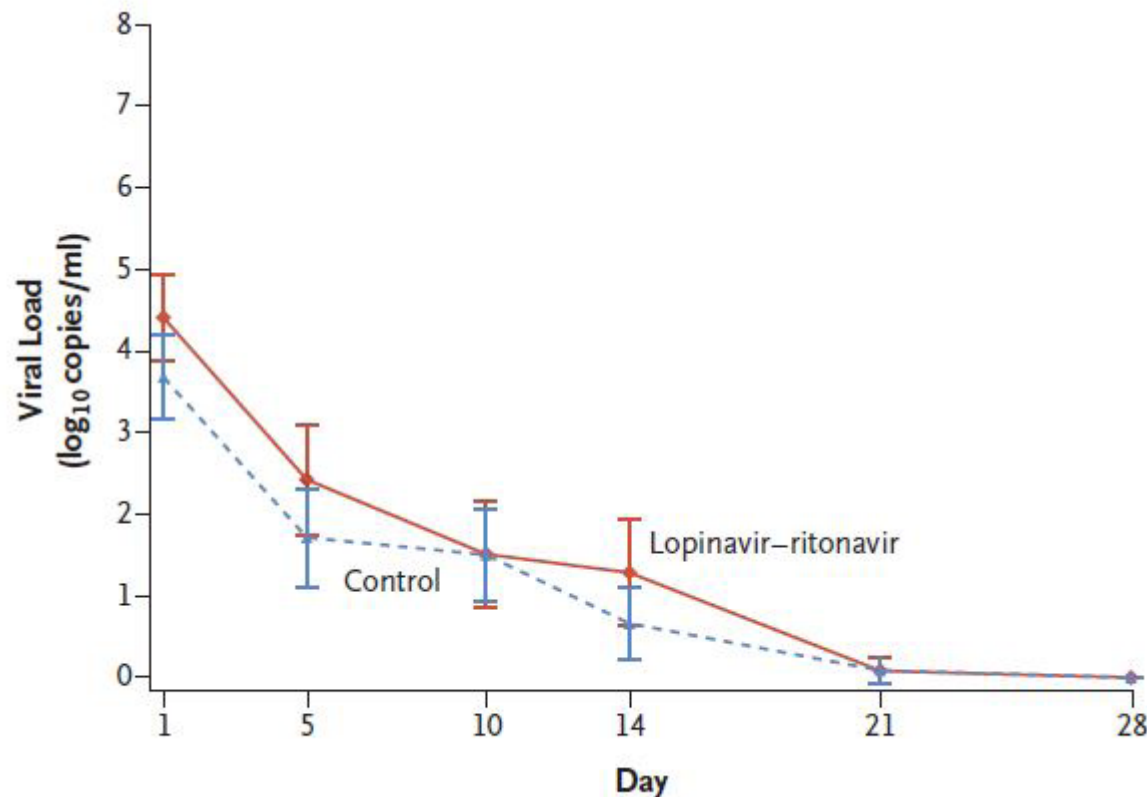
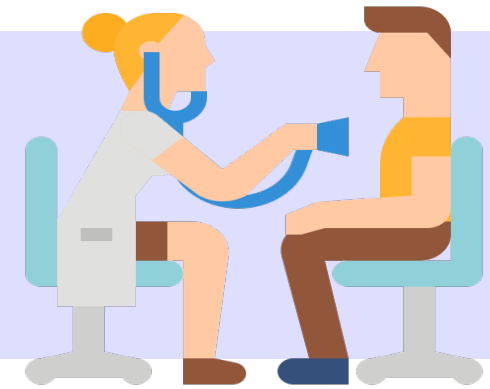


Efeitos adversos:

Eventos adversos gastrointestinais foram mais comuns no grupo lopinavir-ritonavir, mas eventos adversos graves foram mais comuns no grupo de atendimento padrão.

Quase 14% dos pacientes de lopinavir – ritonavir não conseguiram completar o ciclo de 14 dias de administração. Isto deveu-se principalmente a eventos adversos gastrointestinais, incluindo anorexia, náuseas, desconforto abdominal ou diarreia, bem como dois eventos adversos graves, ambos gastrite aguda. Dois pacientes apresentaram ainda erupções cutâneas autolimitadas.

A porcentagem de pacientes com melhora clínica no décimo quarto dia foi maior no grupo lopinavir – ritonavir do que no grupo de atendimento padrão (45,5% vs. 30,0%).



Não houve diferenças significativas para outros resultados, como:

- Duração da oxigenoterapia
- Tempo de internação
- Tempo desde a randomização até a morte

Figura 11. Alteração média da linha de base na carga viral de RNA da SARS-CoV-2 por qPCR em Swabs de garganta.

Fonte: Cao, Bin, et al. "A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19." *New England Journal of Medicine* (2020).

Conclusões

O tratamento lopinavir – ritonavir não acelerou significativamente melhora clínica, redução da mortalidade ou diminuição da detectabilidade do RNA viral da garganta em pacientes com grave infecção por Covid-19. Estudos futuros em pacientes com graves doença podem ajudar a confirmar ou excluir a possibilidade de um benefício do tratamento.

Entretanto

A combinação lopinavir – ritonavir com outros antivirais, como foi feito na SARS e está sendo estudado em MERS-CoV pode aumentar os efeitos antivirais e melhorar os resultados clínicos. *São necessários mais estudos.*



estudo de caso

Aplicação de lopinavir / ritonavir para tratamento da pneumonia associada ao COVID-19



- Um homem de 54 anos é o terceiro paciente diagnosticado com COVID-19 na Coreia.
- Ele apresenta sintomas respiratórios leves e febre intermitente no início da hospitalização, como também sintomas de pneumonia na tomografia computadorizada de tórax no dia 6 da admissão.
- Esse paciente causou um caso de transmissão secundária e três casos de transmissão terciária. Este paciente foi o primeiro a causar transmissão terciária fora da China.
- Foi observado que após a administração de lopinavir / ritonavir (Kaletra, AbbVie), as cargas virais de β -coronavírus diminuíram significativamente e não foram observados títulos de coronavírus ou estes estavam baixos.

O paciente com altura de 193 cm e peso de 96 kg (índice de massa corporal, 25,7), não apresentava doença grave. O mesmo negou qualquer histórico de fumo ou consumo de bebidas alcoólicas.

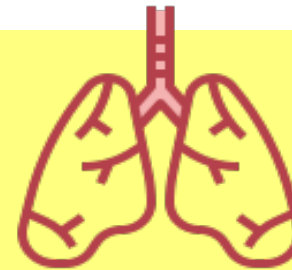


No dia da admissão, o paciente não apresentava sintomas respiratórios. A pressão arterial aferida foi de 152/93 mmHg, frequência de pulso de 73 batimentos por minuto, frequência respiratória de 20 respirações por minuto e temperatura corporal de 37,0°C.

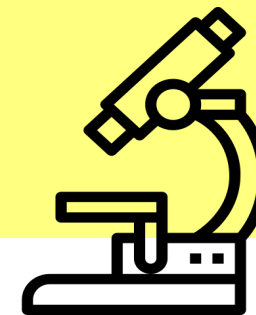


No exame físico:

- Não foi observada injeção faríngea
- Sons pulmonares nítidos
- Ausência de riscos na radiografia de tórax

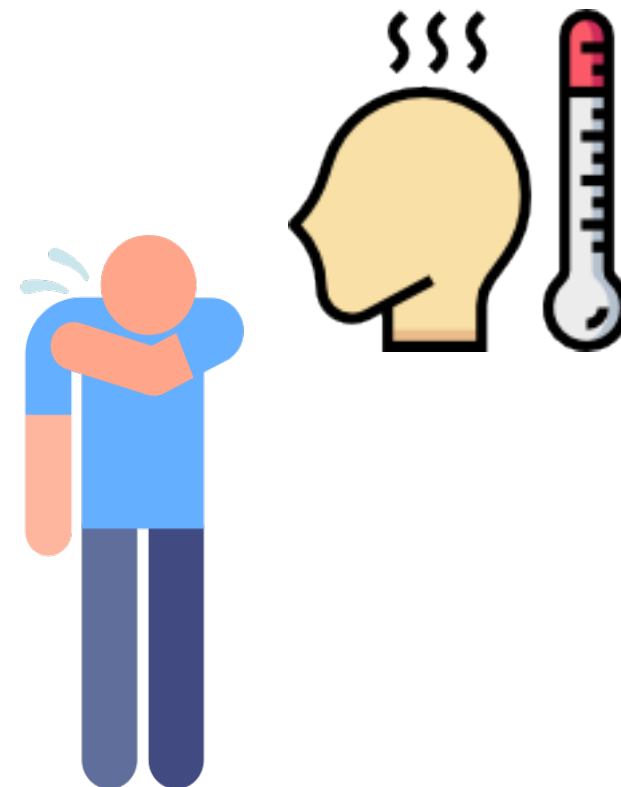


Os testes para *Leptospira*, vírus Hantan, Tsutsugamushi, Malária, *M tuberculosis*, vírus da imunodeficiência humana (HIV) Ag / Ab e teste de pesquisa laboratorial de doenças venéreas (VDRL) foram todos negativos.



O paciente desenvolveu febre e tosse seca nos dias 5 e 7 da doença, respectivamente, mas não apresentava sintomas respiratórios graves, como falta de ar, expectoração produtiva ou dor no peito.

Observou-se pequena consolidação no lobo superior direito e opacidade em vidro fosco nos dois lobos inferiores na tomografia computadorizada de alta resolução.

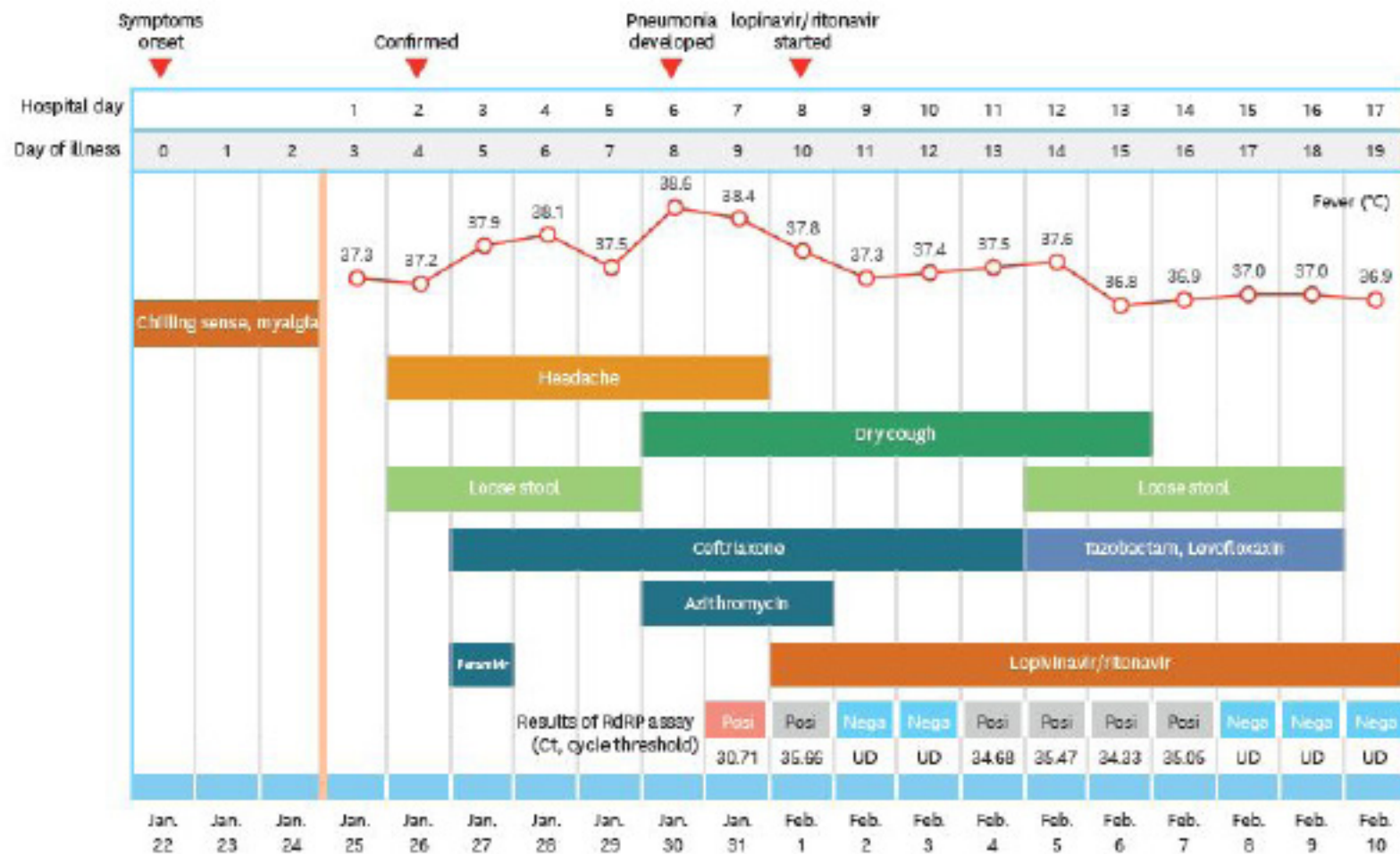


O lopinavir / ritonavir foram iniciados no 8º dia de hospitalização (10º dia da doença).

Foram administrados 2 comprimidos (lopinavir 200 mg / ritonavir 50 mg) por via oral. No dia seguinte à administração, houve redução da carga viral de β -coronavírus e nenhum título detectável ou pequeno de coronavírus foi observado desde então.



estudo de caso



Este caso mostra que o COVID-19 pode induzir sintomas relativamente leves e um paciente pode recuperar quando o diagnóstico precoce de pneumonia for realizado.

Aparentemente, o lopinavir / ritonavir podem ser recomendados a grupos de risco relativamente alto de pneumonia por COVID-19 (pacientes idosos ou pacientes com doenças subjacentes) desde o estágio inicial.

É possível que a carga reduzida de SARS-CoV-2 seja resultado do curso natural do processo de cura, em vez da administração de lopinavir / ritonavir, ou ambos.

São necessárias mais evidências para provar a eficácia clínica do lopinavir / ritonavir com base em ensaios clínicos controlados.





Fique atento!

Nenhuma terapêutica foi ainda comprovada como eficaz no tratamento de doenças graves causadas por SARS-CoV-2.



Bibliografía

1. Andersen, Kristian G., et al. “The proximal origin of SARS-CoV-2.” *Nature Medicine* (2020): 1-3.
2. Cao, Bin, et al. “A trial of lopinavir–ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19.” *New England Journal of Medicine* (2020).
3. Ding, Qiang, et al. “The clinical characteristics of pneumonia patients co-infected with 2019 novel coronavirus and influenza virus in Wuhan, China.” *Journal of Medical Virology* (2020).
4. Fedson, David S., Steven M. Opal, and Ole Martin Rordam. “Hiding in plain sight: an approach to treating patients with severe COVID-19 infection.” *mBio* 11.2 (2020).
5. Gao, Jianjun, Zhenxue Tian, and Xu Yang. “Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies.” *Bioscience trends* (2020).
6. Gómez-Sintes, Raquel, María Dolores Ledesma, and Patricia Boya. “Lysosomal cell death mechanisms in aging.” *Ageing research reviews* 32 (2016): 150-168.

7. Jin, Yuefei, et al. "Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19." *Viruses* 12.4 (2020): 372.
8. Lim, Jaegyun, et al. "Case of the index patient who caused tertiary transmission of Coronavirus disease 2019 in Korea: the application of lopinavir/ritonavir for the treatment of COVID-19 pneumonia monitored by quantitative RT-PCR." *Journal of Korean Medical Science* 35.6 (2020).
9. Lin, Ling, et al. "Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection——a review of immune changes in patients with viral pneumonia." *Emerging Microbes & Infections* just-accepted (2020): 1-14.
10. Wang, Manli, et al. "Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro." *Cell research* 30.3 (2020): 269-271.
11. Zhou, Dan, Sheng-Ming Dai, and Qiang Tong. "COVID-19: a recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2020).

