

Ophthalmologie 2020 · 117:618–621
<https://doi.org/10.1007/s00347-020-01160-z>
 Online publiziert: 24. Juni 2020
 © Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
 Springer Nature 2020



Sven Schnichels · Jens Martin Rohrbach · Tarek Bayyoud · Sebastian Thaler ·
 Focke Ziemssen · José Hurst

Universitäts-Augenklinik Tübingen, Tübingen, Deutschland

Kann SARS-CoV-2 das Auge infizieren? – Ein Überblick über den Rezeptorstatus in okularem Gewebe

In den letzten Jahrzehnten haben mehrere Coronaviren die Artengrenze zum Menschen überschritten und Ausbrüche schwerer und oft tödlicher Atemwegs-erkrankungen verursacht. Die Übertragung der Viren von Tier auf den Menschen wird Zoonose genannt und fand meist auf asiatischen Tiermärkten statt, wo auf engem Raum viele Menschen und Tiere zusammenkommen. Zu den bekannten Vertretern neben dem aktuellen Virus SARS-CoV-2 zählen auch SARS-CoV und MERS-CoV. Diese Viren gehören alle zur Gruppe der Betacoronaviren [1]. Coronaviren kodieren ein Oberflächenglykoprotein – ein sog. Spikeprotein – das an den Wirtszellrezeptor bindet und die Aufnahme des Virus vermittelt [2]. SARS-CoV-2 nutzen den menschlichen Angiotensin-konvertierendes Enzym-2 (ACE2)-Rezeptor, um in die Zellen einzudringen [3–7]. Die Rezeptorinteraktion mit der Zielzelle ist die wesentliche Komponente der artenübergreifenden Übertragung, insbesondere bei den Betacoronaviren. Bei diesen Viren vermittelt eine einzelne Region des Spike-Proteins, die sog. Rezeptorbindungsdomäne (RBD), die Interaktion mit dem Wirtszellrezeptor. Nach Bindung des Rezeptors spaltet eine Protease der Zielzelle den Spike, der das Spike-Fusionspeptid freisetzt, wodurch der Eintritt des Virus erleichtert wird [1, 8–10]. Zu den bekannten Wirtszellrezeptoren für Betacoronaviren gehören neben ACE2 für SARS-CoV auch Dipeptidylpeptidase-4 (DPP4) für MERS-CoV [11, 12], wobei SARS-CoV-2 eine höhere Affinität zu ACE2

aufweist als SARS-CoV [13]. Dieser Effekt liegt an mehreren Veränderungen im Gen und damit in der Aminosäuresequenz des Spike-Proteins im Vergleich zu der von SARS-CoV [14]. Als relevante Proteasen wurden die Säugetier-Serinprotease TMPRSS2 und die Protease Furin für die Interaktion des Spike-Proteins mit ACE2 identifiziert [15–17]. Der ACE2-Rezeptor ist Teil des Renin-Angiotensin-System (RAS). Dieses spielt bei der Regulierung des Blutdrucks sowie der Flüssigkeits- und Elektrolythomöostase eine entscheidende Rolle. Es umfasst Dutzende von Angiotensinpeptiden und Peptidasen und mindestens 6 Rezeptoren, darunter ACE2 [18].

Widersprüche in den Publikationen

Zunächst ist zu sagen, dass es bis vor dem Ausbruch der jetzigen Coronapandemie nur eine sehr dürftige Datenlage zur Expression des Rezeptors und der beteiligten Proteasen im Auge gab. In jüngster Zeit hat sich die Anzahl der Publikationen vervielfacht. Darunter sind auch – auf den ersten Blick – einige widersprüchliche Publikationen. Ohne jede einzelne Publikation im Anschluss diskutieren zu wollen, gibt es dafür verschiedene Gründe: Zum einen unterscheidet sich die RNA- und Proteinexpression eines Rezeptors sehr häufig, wie man an anderen, besser untersuchten ACE2-positiven Geweben eruieren konnte (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000130234-ACE2/tissue>).

Leider ist diese Übersicht nicht auf dem neusten Stand, so fehlen sämtliche Erkenntnisse zum Auge. Eine weitere Übersicht über die Expression des ACE2-Rezeptors und der möglichen beteiligten Proteasen und Enzyme bietet auch folgende Homepage: <https://www.covid19cellatlas.org/>. Jedoch bildet auch diese Seite bei Weitem nicht die vollständige Literatur ab. Weiterhin muss in Betracht gezogen werden, dass zurzeit der Markt überschwemmt wird mit Produkten zur Analyse von SARS-CoV-2. Bei Rezeptoren und Proteasen spielen zudem die Konservierung und das Alter des Gewebes eine entscheidende Rolle für die Analyse, d.h. in älterem oder fixiertem Gewebe ist unter Umständen die RNA oder das Protein bereits degradiert oder maskiert, und es kommen falsch negative Ergebnisse zustande.

Die Qualität und die Validierung der neuen Produkte ist daher auch leider noch oft schwierig, zeitaufwendig und unzureichend, so müsste man eigentlich alle eingesetzten Antikörper/Primer auch überprüfen, ob sie nicht ACE1 statt ACE2 erkennen, welcher auch in diversen Abschnitten des Auges zu finden ist [18]. Dem gegenüber steht der logische Anspruch, so schnell wie möglich Erkenntnisse zu gewinnen, ob SARS-Cov-2 relevant für die Augenheilkunde ist und eine Gefährdung für medizinisches Personal oder andere Patienten bestehen. Ebenfalls sind natürlich auch die Interpretation und die statistische Auswertung der Daten ein Punkt, der beachtet werden muss (s. den Disput

des Hauptmitteilungsorgans des herausgebenden Verlags mit einem führenden Virologen und Berater der Bundesregierung/EU). Bleiben wir aber konkret bei diesem Fall: Die Frage ist, ab wann betrachtet man eine Expression als relevant? Um dies beurteilen zu können, sind sämtliche Erkenntnisse, auch wenn sie zunächst widersprüchlich erscheinen, erst einmal ein Gewinn für die Forschung und müssen in weiteren Studien validiert werden. Hier ist eine Metaanalyse/Review zum Rezeptorstatus wichtig, welche die Ergebnisse aus mehreren Studien detailliert analysiert und vergleicht. Als ähnliches Beispiel wäre hier eine erste Metaanalyse zum Virusstatus zu nennen, die alle bisherigen Studien untersuchte, in denen versucht wurde, lebende Viren zu isolieren oder Augenproben auf virale RNA zu analysieren. Hier konnten in jedem Stadium der Erkrankung virale RNA nur in 5% der Abstriche der Augenoberfläche nachgewiesen werden (9/178); mit anderen Worten: 95% der Proben lieferten keine virale RNA, und aus keiner Probe konnten Viren gezüchtet werden [19]. Angesichts der geringen Anzahl positiver Proben und der hohen Anzahl negativer Proben ist es daher sehr unwahrscheinlich, dass SARS-CoV-2 während einer Coronavirusinfektion an der Augenoberfläche vorhanden ist [20]. Jedoch muss die Datenlage auch hier kritisch begutachtet werden. Die Ursachen für die geringe Anzahl positiver Proben können falsch negative PCR-Daten sein aufgrund von Probenabbau.

Der Rezeptorstatus im Auge

Expression in kornealen und konjunktivalen Epithelzellen

Die Expression des Gens für ACE2 konnte in kornealen und konjunktivalen Epithelzellen nachgewiesen werden [21]. Die Menge an ACE2, die in Bindehaut- und Hornhautzellen und -geweben exprimiert wurde, ist jedoch geringer als die in Herz- und Lungengewebe [19]. In einer anderen Arbeit, die das Transkriptom untersucht hat, wurde die Expression von mRNA für ACE2 im Hornhautepithel nachgewiesen [22].

Auch in dieser Studie war die exprimierte Menge von ACE2 in der epithelialen Kornea zwischen 5- und 20-mal geringer als in den anderen untersuchten Geweben (Hoden, Dünndarm, Herz) [22]. In einer weiteren Transkriptomstudie konnte ACE2 in diversen Zellen/Geweben der Hornhaut nachgewiesen werden. ACE2 exprimierten v. a. Limbus-, Konjunktiva- und Korneaepithelzellen [23]. Die bereits erwähnte Serinprotease TMPRSS2 oder Furin konnte weder in Tränen noch auf Hornhaut- oder Bindehautzellen nachgewiesen werden. Es wurde jedoch gezeigt, dass einige Zellen der oberflächlichen Bindehautzellen eine Koexpression der Gene für TMPRSS2 und ACE2 aufweisen. Das durchschnittliche Niveau der ACE2- oder TMPRSS2-mRNA-Expression in jedem Augengewebe betrug etwa 0,6%, während das durchschnittliche Niveau der Expression in den meisten anderen untersuchten Geweben (wie Nasenhöhle, Lungenparenchym, Ileum, Kolon, Herz) größer war und bei 1,2–1,4% lag [23]. Die Ergebnisse dieser beiden Studien decken sich mit zuvor veröffentlichter transkriptomischer Analyse, die eine sehr geringe Expression von ACE2 in konjunktivalen Proben zeigte [24].

Lange et al. demonstrierten kürzlich, dass die mRNA ACE2 und TMPRSS2 in Bindehautproben von gesunden und kranken Menschen nicht signifikant exprimiert wird. Auch mittels Antikörpern konnte keine wesentliche ACE2-Proteinexpression festgestellt werden [25].

Diese Ergebnisse unterscheiden sich deutlich von einer kürzlich veröffentlichten Studie von Zhang et al., die eine starke ACE2-Immunreaktivität an der Augenoberfläche fanden [26]. Die Färbung von ACE2 war im oberflächlichen Epithel der Binde- und Hornhaut sowie im Limbus besonders auffällig. Im Hornhautstroma war das ACE2-Staining weitgehend abwesend. Auch im Hornhautendothel wurde ACE2 exprimiert, wobei die Intensität der Färbung ungefähr der des Hornhautepithels entsprach. Die ACE2-Expression konnte mittels Western-Blot-Analysen bestätigt werden. Hinsichtlich der subzellulären Lokalisation wurde ACE2 hauptsächlich in den Zellmembranen und im Zyto-

plasma nachgewiesen, ohne Zellkernfärbung. Des Weiteren wurde TMPRSS2 auch in Proben der Konjunktiva und Hornhaut nachgewiesen, mit einem im Vergleich zu ACE2 ubiquitäreren Färbungsmuster. Die TMPRSS2-Färbung war auch in einigen Keratozyten des Hornhautstromas schwach positiv. Im Limbus zeigte TMPRSS2 eine intensive Expression im mehrschichtigen Epithel. Im Hornhautstroma war TMPRSS2 schwach zu finden.

Auch in eigenen Untersuchungen konnten wir die mRNA-Expression von ACE2 in der frischen menschlichen Hornhaut nachweisen. Diese war im Durchschnitt 20-mal stärker als in der frischen humanen Netzhaut desselben Patienten (vorläufige Daten). Beim Nachweis mittels Antikörper in älteren und frisch fixierten Proben konnten wir keine relevante Expression (mehr) feststellen, was sich mit der Studie der Kollegen aus Freiburg deckt, aber nicht der Studie aus Baltimore. Diese widersprüchlichen Ergebnisse in der Literatur als auch in den verschiedenen Methoden gilt es nun, weiter zu untersuchen. Wir werden daher nun Proben aus der Hornhautbank analysieren, um den Rezeptorstatus in kultiviertem Gewebe zu analysieren. Weiterhin vergleichen wir zurzeit die Proben von an COVID-19 verstorbenen Patienten mit gesunden Proben, um auch hier möglicherweise Unterschiede im Rezeptorstatus zu verifizieren. TMPRSS2 hingegen konnten wir mittels Antikörper in der Hornhaut nachweisen (vorläufige Daten).

Expression in der Netzhaut

Wie bereits erwähnt, konnten wir eine mäßige ACE2-mRNA-Expression in der unfixierten Netzhaut belegen. Dies deckt sich mit einer weiteren Studie, in der ACE2 mittels Western-Blot in der humanen Netzhaut nachgewiesen wurde [27]. In der bereits erwähnten Studie von Sungnak et al. konnte im Gegensatz zur Hornhaut keine Expression in der humanen Netzhaut nachgewiesen werden [23]. Jedoch schreiben die Autoren selbst, dass wegen technischer Drop-out-Effekte die negativen Ergebnisse mit Vorsicht zu genießen, jedoch die positiven stark belast-

S. Schnichels · J. M. Rohrbach · T. Bayyoud · S. Thaler · F. Ziemssen · J. Hurst

Kann SARS-CoV-2 das Auge infizieren? – Ein Überblick über den Rezeptorstatus in okulaem Gewebe**Zusammenfassung**

Kann das neue Coronavirus SARS-CoV-2 okulares Gewebe infizieren und damit neben dem Kontaktisiko ein Infektionsrisiko durch das Gewebe darstellen, ist die Frage, die die Augenheilkunde seit Beginn der Infektion beschäftigt. Um einen bestimmten Gewebetyp zu infizieren, muss jedes Virus seinen bestimmten Rezeptor und manchmal auch Korezeptoren oder andere Proteine vorfinden. Ziel dieser Übersichtsarbeit war es, mithilfe der aktuellen, zugänglichen Literatur (Stand 28.05.2020) den aktuellen Forschungsstatus zusammenzufassen und wiederzugeben. Zum Zeitpunkt der Recherche waren eindeutig ACE2 als Rezeptor und TMPRSS2 als notwendige Protease identifiziert, um die Infektion einer humanen

Zelle mit SARS-CoV-2 zu ermöglichen. Im Auge werden sowohl ACE2 als auch TMPRSS2 exprimiert, wenn auch teilweise sehr schwach und unterschiedlich schwach in verschiedenen Geweben. Beachtenswert ist, dass mit verschiedenen Methoden sehr unterschiedliche Ergebnisse erzielt wurden. Hierfür kommen mehrere Gründe infrage: zum einen die Methode der Detektion bzw. der Konservierung des Gewebes, zum anderen die möglicherweise unterschiedliche Expression der getesteten Gewebeprobe, des Weiteren ein möglicherweise rascher Rezeptorexpressionsverlusts post mortem. Eine Infektion des Auges erscheint daher möglich, worüber auch schon in diversen Publikationen berichtet wurde. Welche

Virusmenge bzw. welche Rezeptorexpression notwendig ist, um eine Infektion zu ermöglichen, ist ungeklärt. Aufgrund der geringeren ACE2- und TMPRSS2-Expression ist das Auge – nach aktuellem Wissenstand – aber nicht als Hochrisikogewebe anzusehen. Trotzdem sind entsprechende Schutzmaßnahmen sowohl für das medizinische Personal als auch für die Patienten notwendig. Bei Hornhauttransplantation ist eine Infektion des Spendergewebes mit SARS-Cov-2 auszuschließen.

Schlüsselwörter

COVID-19 · ACE2-Rezeptor · TMPRSS2 · Retina · Cornea

Can SARS-CoV-2 infect the eye?—An overview of the receptor status in ocular tissue**Abstract**

Is the new coronavirus SARS-CoV-2 able to infect ocular tissue and thus poses a risk of infection through the tissue in addition to the risk of contact? This is the question that has occupied ophthalmologists since the beginning of the outbreak. In order to infect a certain type of tissue specific receptors for each virus and sometimes also coreceptors or other proteins must be present. The aim of this review was to summarize and reflect the current state of research with the help of the currently available literature as of 28 May 2020. At the time of the research, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) was clearly identified as the receptor and transmembrane

serine protease 2 (TMPRSS2) as the necessary protease to enable the infection of human cells with SARS-CoV-2. In the eye both ACE2 and TMPRSS2 are expressed, although sometimes very weakly and with varying degrees in different tissues. It is noteworthy that very different results were obtained with different methods. Several reasons can account for this effect: Firstly, the method of detection or preservation of the tissue, secondly, the possibly different expression of the tested tissue samples and thirdly, a possibly rapid loss of receptor expression post-mortem. Therefore, an infection of the eye seems possible, which has already been reported

in various publications. The amount of virus or receptor expression necessary to cause an infection is not known. According to current state of knowledge the eye is not considered to be a high-risk tissue due to the low ACE2 and TMPRSS2 expression. Nevertheless, appropriate protective measures are necessary for both medical personnel and patients. In cases of corneal transplantation an infection of the donor tissue with SARS-CoV-2 must be excluded.

Keywords

COVID-19 · ACE2 receptor · TMPRSS2 · Retina · Cornea

bar sind [23]. In Ratten- und Schweinere-tina wurde ACE2 auf mRNA und Protein-ebene ebenfalls in der Netzhaut detektiert [28, 29]. Mittels In-situ-Hybridisierung wurde die Expression des ACE2-Gens in der inneren Körnerschicht, hier in Müller-Zellen, bewiesen. Diese Ergebnisse wurden immunhistochemisch bestätigt. Hier wurde das ACE2-Protein im Soma der Müller-Zellen in der inneren Kernschicht lokalisiert, weiterhin in den Müller-Zellendfüßchen. Interessant ist hier, dass die Expression bei Diabetes erhöht ist. Weiterhin wurde das ACE2-Protein in Stäbchen und Zapfen lokalisiert [28].

Wie in allen tierexperimentellen Studien müssen diese Ergebnisse natürlich für humanes Gewebe bestätigt werden.

Je nach verwendetem Antikörper konnten wir auch eine Expression auf Proteinebene in älteren fixierten Proben nachweisen. Dies waren interessanterweise die gleichen Augen, bei denen die Hornhaut negativ war. Die positive Färbung der Netzhaut deckt sich mit der vorher beschriebenen Expression in der Ratte. In Augen von verstorbenen Coronapatienten war es uns auch möglich, eine Expression zu beobachten, die sich mit der beschriebenen Expression

in Mensch, Ratte und Schwein deckt [27–29]. Darüber hinaus erschien die Expression bei den Proben von Coronapatienten ausgeprägter als bei den älteren humanen (COVID-19-negativen) Proben aus unserem Archiv (vorläufige Daten). Ebenfalls fanden wir, wie in der Cornea eine Expression von TMPRSS2 in der Netzhaut. Wie schon eingangs erwähnt, scheinen also wirklich das Alter der Proben, die Art der Konservierung und die Wahl eines guten validierten Antikörpers/Primers eine wesentliche Rolle zu spielen, um eine ACE2-Expression detektieren zu können. Alternativ kann

es natürlich auch sein, dass Coronapatienten eine stärkere Expression von ACE2 im Auge aufweisen und sie somit auch mit weniger sensitiven Methoden wie der Immunhistochemie erst oder stärker entdeckt wird. Dies wird nun das Thema von weitergehenden Untersuchungen sein.

Weitere Teile des Auges

ACE2 wurde im menschlichen Kammerwasser gefunden [30] sowie im Ziliarkörper und Glaskörper bei Schweinen nachgewiesen [29].

Zusammenfassung

Die bisherige Sichtung der Literatur, die sicherlich nicht vollständig ist, zeigt, dass sowohl ACE2 als auch TMPRSS2 im Auge exprimiert werden, wenn auch teilweise sehr schwach. Eine Infektion des Auges erscheint daher möglich, worüber auch schon in diversen Publikationen berichtet wurde. Weitergehende Untersuchungen zum genauen Infektionsgeschehen am Auge sowie die Ursache der unterschiedlichen Expressionsfunde in den verschiedenen Proben/Publikationen sind dringend notwendig. Hier ist besonders der Status des ACE2-Rezeptors zu überprüfen.

Fazit für die Praxis

Aufgrund der geringeren ACE2- und TMPRSS2-Expression ist das Auge nicht als Hochrisikogewebe anzusehen. Trotzdem sind entsprechende Schutzmaßnahmen sowohl für das medizinische Personal als auch für die Patienten notwendig. Bei Hornhauttransplantation ist eine Infektion des Spendergewebes mit SARS-CoV-2 auszuschließen.

Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. Sven Schnichels
Universitäts-Augenklinik Tübingen
Elfriede-Aulhorn-Str. 7, 72076 Tübingen,
Deutschland
sven.schnichels@med.uni-tuebingen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. S. Schnichels, J.M. Rohrbach, T. Bayyoud, S. Thaler, F. Ziemssen und J. Hurst geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Literatur

1. Belouzard S, Chu VC, Whittaker GR (2009) Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(14):5871–5876
2. Li F (2016) Structure, function, and evolution of Coronavirus spike proteins. *Annu Rev Virol* 3(1):237–261
3. Wan Y et al (2020) Receptor recognition by the novel Coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS Coronavirus. *J Virol*. <https://doi.org/10.1128/jvi.00127-20>
4. Zhou P et al (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579(7798):270–273
5. Letko M, Marzi A, Munster V (2020) Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol* 5(4):562–569
6. Yan R et al (2020) Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* 367(6485):1444–1448
7. Lang J et al (2011) Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans. *Plos One* 6(8):e23710
8. Simmons G et al (2013) Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. *Antiviral Res* 100(3):605–614
9. Matsuyama S et al (2010) Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2. *J Virol* 84(24):12658–12664
10. Bertram S et al (2011) Cleavage and activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by human airway trypsin-like protease. *J Virol* 85(24):13363–13372
11. Li W et al (2003) Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 426(6965):450–454
12. Raj VS et al (2013) Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature* 495(7440):251–254
13. Wrapp D et al (2020) Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 367(6483):1260–1263
14. Shang J et al (2020) Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* 581(7807):221–224
15. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pohlmann S (2020) A multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells. *Mol Cell* 78(4):779–784e5
16. Hoffmann M et al (2020) SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 181(2):271–280e8

17. Matsuyama S et al (2020) Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117(13):7001–7003
18. Holappa M, Vapaatalo H, Vaajanen A (2017) Many faces of renin-angiotensin system—focus on eye. *Open Ophthalmol J* 11:122–142
19. Willcox MD et al (2020) The ocular surface, coronaviruses and COVID-19. *Clin Exp Optom*. <https://doi.org/10.1111/ceo.13088>
20. Xia J et al (2020) Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol*. <https://doi.org/10.1002/jmv.25725>
21. Liu L, Pan X, Shen W, Liu Z, Liu Y et al (2004) Expression of SARS coronavirus S protein functional receptor—Angiotensin-converting enzyme 2 in human cornea and conjunctiva. *Chin Ophthalmol Res* 22:561–564
22. Sun K et al (2020) Atlas of ACE2 gene expression in mammals reveals novel insights in transmission of SARS-CoV-2. *bioRxiv*:p.2020.03.30.015644
23. Sungnak W et al (2020) SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 26(5):681–687
24. Xiang M et al (2019) Comparative transcriptome analysis of human conjunctiva between normal and conjunctivochalasis persons by RNA sequencing. *Exp Eye Res* 184:38–47
25. Lange C et al (2020) Expression of the COVID-19 receptor ACE2 in the human conjunctiva. *J Med Virol*. <https://doi.org/10.1002/jmv.25981>
26. Zhang BN et al (2020) Expression analysis of 2019-nCoV related ACE2 and TMPRSS2 in eye tissues. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 56:E11
27. Senanayake P et al (2007) Angiotensin II and its receptor subtypes in the human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48(7):3301–3311
28. Tikellis C et al (2004) Identification of angiotensin converting enzyme 2 in the rodent retina. *Curr Eye Res* 29(6):419–427
29. Luhtala S et al (2009) Activities of angiotensin-converting enzymes ACE1 and ACE2 and inhibition by bioactive peptides in porcine ocular tissues. *J Ocul Pharmacol Ther* 25(1):23–28
30. Holappa M, Valjakka J, Vaajanen A (2015) Angiotensin(1-7) and ACE2, “the hot spots” of Renin-Angiotensin system, detected in the human aqueous humor. *Open Ophthalmol J* 9:28–32