

THE ABO BLOOD GROUP LOCUS AND A CHROMOSOME 3 GENE CLUSTER ASSOCIATE WITH SARS COV-2 RESPIRATORY FAILURE IN AN ITALIAN-SPANISH GENOME-WIDE ASSOCIATION ANALYSIS

İTALYAN-İSPANYOL GENOM ÇAPINDA İLİŞKİLENDİRME ANALİZİYLE ABO KAN GRUBU LOKUSU VE BİR 3. KROMOZOM KÜMESİNİN SARS COV-2 SOLUNUM YETMEZLİĞİ İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ

ALINTI: doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.31.20114991>

YAZARLAR: David Ellinghaus, Prof, PhD, Frauke Degenhardt, M.Sc., Luis Bujanda, Prof, MD, PhD, Maria Buti, MD, PhD, Agustín Albillos, Prof, MD, PhD, Pietro Invernizzi, MD, PhD et al.

ÖZETLEYEN: Dr. Servet ULUER BİÇEROĞLU

GİRİŞ

Çalışmada İtalya ve İspanya'da epideminin zirvesinde genom çapında ilişkilendirme çalışması planlanmış ve Covid-19 solunum yetmezliği ile konak genetik faktörlerinin ilişkisi araştırılmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM

Olguların çalışmaya dahil edilmesi; Çalışmaya İtalya ve İspanya'da beş şehirde yedi hastanenin yoğun bakım ve servislerinde solunum yetmezliği ile izlenen ve nazofaringeal sürüntü ya da vücut sıvılarından SARS-CoV2 saptanmış toplam 1980 hasta dahil edilmiştir (Tablo-1 ve Tablo 1A). Solunum yetmezliği, oksijen desteği ya da mekanik ventilasyon ihtiyacına göre tanımlanmış ve kan örnek alınımına kadar verilen solunum desteğine göre derecelendirilmiştir (sadece oksijen tedavisi, non-invaziv solunum desteği, invaziv solunum desteği, ekstrakorporal membran oksijenizasyonu). DNA ekstraksiyonu için venöz örnekleme ile tam kan/ buffy coat kullanılmıştır.

Karşılaştırma için İtalya ve İspanya'dan 2,381 kontrol çalışmaya alınmıştır (Tablo-1B). Covid-19 belirtisi göstermeyen rastgele seçilen 998 sağlıklı kan donörü genotiplendirilmiştir. Bunlar dışında aynı genotiplendirme yöntemi kullanılan çalışmaların verileri iki ayrı kontrol

paneli olarak dahil edilmiştir; İtalya'dan 396 kontrol (referans 13) ve İspanya'dan 987 kan bağışçısı (San Sebastian). Tüm merkezlerin yerel etik komitelerinden gerekli onamlar alınmıştır.

Örneklerin işlenmesi, genotiplendirme ve verilerin üretilmesi; Toplam 1980 olgunun tümünden ve 1394 İtalyan kontrolden Chemagic 360 (PerkinElmer, Waltham, Massachusetts, U.S.) cihazında düşük hacimli kit cmg 1491ve Buffy coat kit cmg-714 (Chemagen, Baesweiler, Germany) kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Genotiplendirme için kalite kontrol öncesi (QC) 712,189 varyant içeren Illumina Global Screening Array (GSA) versiyon 2.0 (GSA v2.0; Illumina Inc., San Diego, USA) kullanılmıştır. Genotiplendirme ve QC prosedürlerine ait detaylar "Supplementary Methods" bölümünde belirtilmiştir. Genetik kapsamı arttırabilmek için GRCh38 genomunda Michigan İmputasyon Server kullanılarak SNP imputasyonu yapılmış ve Trans-Omics for Precision Medicine (TOPMed) program (Freeze 5) 194,512 haplotip üretilmiştir.

İstatistik Yöntemler; İmputasyon belirsizliğini dikkate alarak İtalyan ve İspanyol vaka-kontrol panellerinde PLINK'in lojistik regresyon çerçevesi kullanılarak fentotipik ilişki ile allel verileri test edilmiştir (PLINK v1.9). Temel bileşen analizindeki ön değişkenler kullanılarak iki farklı analiz yapılmıştır. İstatistik değerlendirmenin ayrıntıları "Supplementary Methods" bölümünde belirtilmiştir.

BULGULAR

İtalya ve İspanya'daki salgın sırasında çalışma ile ilgili kilometre taşları ve ana olaylar Şekil1'de gösterilmiştir. Yaş, cinsiyet ve örnek alımına kadar hastalara verilen maksimum solunum desteği ile ilgili bilgiler Tablo 1 ve tamamlayıcı Tablo-1'de gösterilmiştir.

Çalışmada yapılan meta analizde (analiz 1) genom çapında iki lokus (3p21.31 kromozomunda rs11385942 insersiyon-delesyonu GA/A ve 9q34.2 kromozomundaki rs657152 A/C SNP) Covid-19'a bağlı solunum yetmezliği ile anlamlı ilişkili ($P < 5 \times 10^{-8}$) bulunmuştur (Şekil-2 Tablo-2). Her iki lokus da İspanyol ve İtalyan analizlerinde önemli derecede ilişkili bulunmuştur. Yaş ve cinsiyet düzeltilmiş analiz de her iki lokusta sonucu desteklemiştir (Tablo-2 Tamamlayıcı Figür 5).

3p21.31'deki sinyal altı genden oluşur (Şekil 3A ve Tablo 2). Mekanik ventilasyon uygulanan hastalar sadece oksijen tedavisi alan hastalarla karşılaştırıldığında, bu grupta rs11385942 sıklığının daha yüksek olduğu görülmüştür OR=1.70, 95% CI, 1.27 to 2.26, P=0.00033, (Tamamlayıcı Tablo 4). Erişilebilen veri tabanları rs11385942 risk alleli sıklığının dünya genelinde toplumlar arasında değiştiğini ve Çin'de monomorfik olduğunu göstermektedir. (Tamamlayıcı Şekil 7).

İlişkilendirme sinyali 9q34.2'de ABO kan grup geniyle sınırlıdır (Şekil 3B ve Tamamlayıcı Şekil 8). Solunum yetmezliği gelişen Covid-19 hastaları ile kontrol grupları arasında ABO kan grup dağılımı yapıldığında (Tamamlayıcı Tablo 5), A-pozitif bireylerin daha riskli olduğu (meta-analiz sonucu OR=1.45, 95% CI, 1.20-1.75, P=1.48×10⁻⁴) ve O grubu bireylerde koruyuculuğun olduğu görülmüştür (meta-analiz sonucu: OR=0.65, 95% CI, 0.53-0.79, P=1.06×10⁻⁵; detaylar için Tamamlayıcı Tablo-5). İspanyol ve İtalyan vaka kontrol grupları ayrı ayrı analiz edildiğinde her iki ilişki ve etki yönü tutarlı bulunmuştur (Tamamlayıcı Tablo 5). Sadece oksijen desteği alan grup ile herhangi bir mekanik ventilasyon desteği alan hastalar ile karşılaştırıldığında kan grupları dağılımı açısından herhangi bir fark bulunmamıştır (Tamamlayıcı Tablo 5)

Çalışmada ayrıca genişletilmiş HLA bölgesi (chr6:25-34Mb; Tamamlayıcı Şekil 9) incelenmiştir. HLA gen kompleksinde anlamlı SNP ya da allel ilişkisi bulunamamıştır (Tamamlayıcı Tablo 6).

SONUÇ-TARTIŞMA

Kromozom 3p21 üzerindeki ilişkilendirme sinyalinin tepe noktası ciddi Covid-19 enfeksiyonu seyrinde etkili olabilecek gen kümesini kapsamaktadır. Dikkat çekici adaylardan biri Sodyum/İmino-asit (proline) Transporter 1 (SIT1), SARS-CoV-2 reseptörü olan ACE 2 ile fonksiyonel olarak ilişkilidir. SIT1 ekspresyonu akciğerlerde temel olarak pnömositlerde görülür ve SARS-CoV-2'nin hücreye girişindeki rolü inceleme altına alınmalıdır. Bunun yanısıra söz konusu lokus aynı zamanda CCR9 ve CXCR6 gibi kemokin reseptörleri kodlayan gen kümelerinde içerir. Çalışmamızda kromozom 3 lokusunda bulunan riskli allel sıklığının mekanik ventilasyon ihtiyacı olan hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunması bu genetik bölgenin Covid-19 seyrinin ciddiyetini belirlemede rolü olduğunu desteklemektedir.



Çalışmamızdaki bulgular O kan grubu hastaların O dışındaki kan gruplarına kıyasla düşük riskli olduğunu ve Grup A'nın Covid-19 enfeksiyonu açısından A kan grubu dışındaki bireylere kıyasla en riskli grup olduğunu göstermektedir. Kromozom 3'ün aksine sadece oksijen desteği alan hastalar ile mekanik ventilasyon uygulanan hastalar arasında fark bulunamamıştır. Çalışmamızdaki verilere göre ABO lokusundaki öncü SNP (rs657152) daha önceki çalışmalarda çocukluk çağı obezitesinde yüksek IL-6 seviyeleri ile ilişkili bulunması ciddi enfeksiyon ve mortalitede artmış IL-6 enfeksiyonunun gösterilmiş olması arasında hipotetik bir bağ kurulabilir. ABO lokusundaki genetik varyasyonların Von Willebrand faktörü ve Faktör VIII gibi prokoagulan göstergeler ile ilişkili bulunmuş olması ve ciddi Covid-19 seyrinde gözlenen koagülopati ile genetik bulgularımız arasındaki potansiyel ilişki dikkat çekicidir.

Çok kısa zaman içinde ve pandemi nedeniyle olağanüstü klinik koşullarda gerçekleştirdiğimiz çalışmamızın ileri çalışmalara araştırma konusu olabilecek sınırlamalarının farkındayız. Örneğin, çalışma sırasında katılımı artırabilmek için minimum klinik veri talep edilmiştir. Bu nedenle geniş çaplı genotip-fenotip ile ilişkili ayrıntılar dikkate alınmamış ve Covid-19'da önemli olabilecek kardiyovasküler ve metabolik faktörler gibi çelişki oluşturabilecek durumlar ile ilgili herhangi bir düzenleme yapılmamıştır. Mevcut bulguların ileri araştırması Covid-19 hastalarında risk gruplarının belirlenmesi ve altta yatan patofizyolojinin anlaşılması gereklidir.

ŞEKİL VE TABLOLAR

Chr	Bağlantı sınırları (bp)	dbSNP id	A1	A2	Anahtar genler	Analiz*	Meta-analiz (1610 vaka / 2205 kontrol)		İtalya (835 vaka/ 1255 kontrol)				İspanya (775 vaka / 950 kontrol)			
							P	OR (CI 95%)	P	OR (CI 95%)	A1F vak a	A1F kon t	P	OR (CI 95%)	A1F vaka	A1F kont
3p21.3 1	chr3:45800 446- 46135604	rs113859 42	GA	G	SLC6A20 , LZTFL1, FYCO1, CXCR6, XCR1, CCR9	temel	1.14x 10 ⁻¹⁰	1.77 (1.48- 2.11)	1.98x1 0-7	1.74 (1.27- 2.38)	0.14	0.0 9	1.32x10 ⁻⁴	1.85 (1.50- 2.28)	0.09	0.05
						düzeltilmiş, yaş, cinsiyet	9.46x 10 ⁻¹²	2.11 (1.70- 2.61)	7.02x1 0 ⁻⁸	1.95 (1.53- 2.48)	0.14	0.0 9	1.17x1 0 ⁻⁵	2.79 (1.76- 4.42)	0.09	0.05
9q34.2	chr9:13325 752- 133279871	rs657152	A	C	ABO	temel	4.95x 10 ⁻⁸	1.32 (1.20- 1.47)	2.90x1 0 ⁻⁶	1.37 (1.20- 1.57)	0.42	0.3 5	3.55x1 0 ⁻³	1.26 (1.08- 1.48)	0.42	0.35
						Düzeltilmiş, yaş, cinsiyet	5.35x 10 ⁻⁷	1.39 (1.22- 1.59)	5.31x1 0 ⁻⁵	1.37 (1.17- 1.60)	0.42	0.3 5	2.81x1 0 ⁻³	1.45 (1.13- 1.84)	0.42	0.35

Tablo 2: Ciddi Covid-19 solunum yetmezliği ile ilişkili duyarlı lokuslar