

GenTest Covid-19 Risk

Il GenTest Covid-19 Risk è stato sviluppato con lo scopo di analizzare una regione del genoma umano nota per essere strettamente associata a sintomatologia grave da Covid-19. Questa regione è stata ereditata dagli uomini di Neanderthal circa 50,000 anni fa e sembrerebbe svolgere un ruolo cruciale nello sviluppo dell'infezione da SARS-CoV-2.

Unendo i dati genetici di migliaia di persone di diversa origine, due consorzi di ricercatori hanno recentemente identificato che la regione del cromosoma 3 analizzata dal GenTest Covid-19 Risk è fortemente associata alla suscettibilità al Covid-19, in particolare allo sviluppo di una sintomatologia grave, che generalmente rende necessaria l'ospedalizzazione e l'applicazione della ventilazione meccanica^{1,2}. Uno di questi studi è stato pubblicato a Giugno 2020 sulla prestigiosa rivista internazionale *New England Journal of Medicine*¹, mentre il secondo è stato condotto dal "Covid-19 Host Genetics Consortium" e rafforza ulteriormente i risultati dello studio precedente². Altri 3 studi in corso di revisione confermano inoltre questa associazione in coorti di pazienti distinte^{3,4,5}.

La regione significativamente associata al Covid-19 grave è lunga circa 50,000 nucleotidi e contiene 13 varianti genetiche presenti in modo significativamente più frequente nei pazienti ospedalizzati a causa dell'infezione da SARS-CoV-2. Secondo lo studio pubblicato sul *New England Journal of Medicine*¹, le varianti genetiche presenti in questa regione potrebbero influenzare 6 diversi geni, alcuni dei quali noti per essere associati alla nostra risposta immunitaria⁷ e quindi potenzialmente rilevanti per il Covid-19. Tra questi vi sono un gene attivo nelle cellule polmonari (LZTFL1), due geni che regolano la risposta immunitaria (CXCR6, CCR9) e uno che interagisce con il recettore ACE2, ossia "la porta di entrata del virus SARS-CoV-2" nelle nostre cellule (SLC6A20). La scoperta ha aperto quindi nuovi studi che saranno indirizzati ad investigare nel dettaglio il ruolo di questi geni durante l'infezione Covid-19.

Secondo i ricercatori dell'Istituto Max Planck e del Karolinska Institute che hanno pubblicato uno studio a Settembre 2020 su *Nature*⁶, la regione associata alla forma grave di Covid-19 è stata ereditata circa 50,000 anni fa dal Vindija 33.19 Neanderthal ed è ancora fortemente presente nelle popolazioni moderne. La regione del DNA responsabile della forma grave è presente soprattutto negli individui provenienti dal Bangladesh (63%), seguiti da quelli dell'Asia meridionale (circa il 50%) e dell'Europa (16%). Questo potrebbe spiegare come mai la comunità del Bangladesh residente in Gran Bretagna abbia avuto un alto tasso di mortalità dovuto al Covid-19, decisamente superiore a quello della popolazione britannica. Al contrario, l'eredità

Neanderthaliana è totalmente assente nella popolazione africana e come ben sappiamo l'Africa è il continente con il minor numero di decessi dovuti al Covid-19.

Lo sviluppo del GenTest Covid-19 Risk ha previsto un'attenta valutazione dei dati raccolti dal "Covid-19 Host Genetics Consortium"², che comparavano inizialmente 3,000 pazienti ospedalizzati a causa del Covid-19 con quasi 900,000 individui di controllo. I risultati disponibili hanno permesso non solo l'identificazione nello specifico della regione "di rischio" di 50,000 basi, identificandone posizione iniziale e finale, ma anche delle 13 varianti presenti al suo interno più significativamente associate alla forma grave di Covid-19. L'associazione delle varianti geniche identificate ha riportato valori statistici molto significativi ($p\text{-value} < 10^{-15}$) con lo sviluppo di sintomatologia grave, ampiamente al di sotto del livello di significatività statistica "genome-wide" comunemente usato/accettato di 10^{-8} . Il consorzio ha successivamente aggiornato i dati presenti nel database (24 Novembre 2020) estendendo lo studio a oltre 8,000 individui ospedalizzati -di cui quasi 5,000 gravi- e confermando l'importanza di questa associazione, che ora ha una solidità statistica davvero elevatissima ($p\text{-value}$ nell'ordine di 10^{-70})².

I dati aggiornati sono stati utilizzati dal Laboratorio di Genomica Funzionale dell'Università degli studi di Verona, che da anni è impegnato nell'identificazione di fattori genetici coinvolti in diverse patologie, per analizzare questa regione e sviluppare il GenTest Covid-19 Risk in collaborazione con Genartis. In particolare, a partire dai dati del "Covid-19 Host Genetics Consortium" il gruppo ha validato il cosiddetto "Linkage Disequilibrium", per identificare le associazioni non casuali di varianti su una o più regioni del genoma. Come riportato nello studio pubblicato su "Nature", infatti, la variante più significativamente associata a forma grave di Covid-19 (una variante intronica del gene LZTFL1) mostra un Linkage Disequilibrium molto forte con le altre 12 presenti nella regione del cromosoma 3 ($r^2 > 0.98$, dove questo valore misura l'indice di correlazione tra loci)⁶. I risultati del linkage calcolati dal Laboratorio di Genomica Funzionale sui dati aggiornati hanno confermato i valori di Linkage già osservati ($r^2 > 0.98$).

La regione di rischio è stata inoltre validata utilizzando la banca dati di DNA del Laboratorio di Genomica Funzionale che comprende i dati di sequenziamento di oltre 4000 italiani. Sono state selezionate diverse popolazioni, sequenziate utilizzando tecnologie di nuova generazione e con tratti fenotipici ben caratterizzati. La ricostruzione "in silico" della sequenza dei due filamenti di DNA nella regione di 50,000 basi presente sul cromosoma 3 ha permesso di identificare la presenza dell'"aplotipo" neanderthaliano associato al Covid-19 grave nel 14% dei genomi analizzati, confermando le frequenze Europee identificate negli studi precedenti (16%). Pertanto, circa un italiano su 6 porta la "regione Neanderthal" nel proprio genoma. I dati fenotipici disponibili per alcuni di questi individui, per cui era nota la sintomatologia Covid-19, hanno confermato che chi ha l'aplotipo di rischio generalmente sviluppa, se si ammala, anche la forma grave della malattia.

Ciò non significa che chiunque abbia questa regione di DNA si ammalerà, ma se si ammalerà avrà un'alta probabilità di sviluppare un Covid-19 grave.

L'analisi effettuata presso l'Università degli Studi di Verona ha quindi confermato la presenza di un blocco di DNA sul cromosoma 3 ereditato nelle nostre popolazioni con una frequenza molto simile a quella già riscontrata nella popolazione Europea e associata a livelli di infezione riportati come "gravi". Grazie al fatto che le varianti della regione sono generalmente ereditate insieme in un blocco in "linkage disequilibrium", è stato possibile sviluppare un test molecolare (GenTest Covid-19 Risk) che permette di monitorare la presenza/assenza dell'intera regione associata al Covid-19 grave nel DNA di un individuo, senza la necessità di sequenziare l'intero genoma. Il test infatti verifica se sono presenti le due varianti alle estremità della regione interessata sfruttando una semplice amplificazione del DNA, e nel caso in cui siano presenti entrambe, si può inferire che l'intera "regione Neanderthal" sia presente nel genoma analizzato. Il test è stato validato sul DNA di una popolazione di individui per cui il Laboratorio di Genomica Funzionale ha a disposizione dati genetici e ha dimostrato un'accuratezza del 100%, ossia non ha mai sbagliato nell'identificare se un individuo portava o meno la regione di Neanderthal.

Il GenTest Covid-19 Risk viene eseguito a partire da un campione di saliva raccolto in modo totalmente non invasivo direttamente dal paziente, tramite un'apposita provetta fornita dall'azienda. Una volta prelevato il campione salivare, il DNA viene estratto presso il laboratorio di Genartis e analizzato per identificare la presenza dell'aplotipo di rischio all'interno del genoma dell'individuo. Al termine dell'analisi, Genartis fornisce un report che indica se la persona porta nel suo DNA la regione ereditata dall'uomo di Neanderthal e associata al Covid-19 grave.

Referenze

1. Ellinghaus, D. et al. Genomewide association study of severe Covid-19 with respiratory failure. N. Engl. J. Med (2020). <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2020283>
2. <https://www.covid19hg.org/results/>
3. Trans-ethnic analysis reveals genetic and non-genetic associations with Covid-19 susceptibility and severity. Janie F. Shelton, Anjali J. Shastri, Chelsea Ye, Catherine H. Weldon, Teresa Filshtein-Somnez, Daniella Coker, Antony Symons, Jorge Esparza-Gordillo, The 23andMe Covid-19 Team, Stella Aslibekyan, Adam Auton. <https://doi.org/10.1101/2020.09.04.20188318>.
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.09.04.20188318v1>
4. Genetic mechanisms of critical illness in Covid-19. Erola Pairo-Castineira, Sara Clohisey, Lucija Klaric, Andrew Bretherick, Konrad Rawlik, Nicholas Parkinson, Dorota Pasko, Susan Walker, Anne Richmond, Max Head Fourman, Andy Law, James Furniss, Elvina Gountouna, Nicola Wrobel, Clark D Russell, Loukas Moutsianas, Bo Wang, Alison Meynert, Zhijian Yang, Ranran Zhai, Chenqing Zheng, Fiona Griffith, Wilna Oosthuyzen, Barbara Shih, Seán Keating, Marie Zechner, Chris Haley, David J Porteous, Caroline Hayward, Julian Knight, Charlotte Summers, Manu Shankar-Hari, Lance Turtle, Antonia Ho, Charles Hinds, Peter Horby, Alistair Nichol, David Maslove, Lowell Ling, Paul Klenerman, Danny McAuley, Hugh

- Montgomery, Timothy Walsh, The GenOMICC Investigators, The ISARIC4C Investigators, The Covid-19 Human Genetics Initiative, Xia Shen, Kathy Rowan, Angie Fawkes, Lee Murphy, Chris P Ponting, Albert Tenesa, Mark Caulfield, Richard Scott, Peter JM Openshaw, Malcolm G Semple, Veronique Vitart, James F Wilson, J Kenneth Baillie. <https://doi.org/10.1101/2020.09.24.20200048>.
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.09.24.20200048v2>
5. AncestryDNA Covid-19 Host Genetic Study Identifies Three Novel Loci. Genevieve H.L. Roberts, Danny S. Park, Marie V. Coignet, Shannon R. McCurdy, Spencer C. Knight, Raghavendran Partha, Brooke Rhead, Miao Zhang, Nathan Berkowitz, AncestryDNA Science Team, Asher K. Haug Baltzell, Harendra Guturu, Ahna R. Girshick, Kristin A. Rand, Eurie L. Hong, Catherine A. Ball. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.10.06.20205864>.
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.06.20205864v1>
 6. Zeberg, H., Pääbo, S. The major genetic risk factor for severe Covid-19 is inherited from Neanderthals. Nature (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2818-3>
 7. A. J. Morgan, C. Guillen, F. A. Symon, T. T. Huynh, M. A. Berry, J. J. Entwisle, M. Briskin, I. D. Pavord, A. J. Wardlaw. Expression of CXCR6 and its ligand CXCL16 in the lung in health and disease. Clinical & Experimental Allergy (2005). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2005.02383.x>