

6. BÖLÜM / CHAPTER 6

COVID-19 Salgınında Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2 Reseptörü Gen Varyantlarının Önemi

The Importance of Angiotensin-Converting Enzyme 2 Receptor Gene Variants in COVID-19 Pandemia

Evrım Kömürcü-Bayrak^{1,2} 

¹Istanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Istanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

e-posta: ebyrak@istanbul.edu.tr

ORCID: E.K.B. 0000-0003-1271-1208

Öz

Günümüzde halen mücadele edilen ve gelecekte olması beklenen koronavirüs kaynaklı şiddetli akut solunum yolu sendromları (SARS) nedeniyle ortaya çıkan salgınlara karşı, sürdürülebilir önleyici yaklaşımlar ve etkili tedavi protokollerinin geliştirilmesi gerekmektedir. SARS-CoV-2 virüs enfeksiyonu nedeni ile meydana gelen koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) salgını halen devam ederken yüksek riskli bireylerin erken tanısında prognostik belirteçlerin belirlenmesi acil bir ihtiyaç olarak görülmektedir. Bu süreçte, bireysel ve toplumsal farklılıkları belirlemek için kapsamlı genetik analizlere ve antijen işleme/sunma yollarını açıklayacak araştırmalara hız verilmiştir. Koronavirüslerin konakçı hücrelere giriş noktalarındaki reseptörlerden biri olan Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim-2 (ACE2), esas olarak sistemik kan basıncını düzenleyen renin anjiyotensin aldosteron sisteminde (RAAS), anjiyotensinojen I'ın anjiyotensin (1-7)'ye dönüşmesini sağlayan ve anjiyotensin I'ı anjiyotensin II'ye dönüştüren ACE ile yüksek homoloji gösteren bir tip I transmembran metallokarboksipeptidaz olarak bilinmektedir. Kronik hastalıklarda, ACE2 genindeki varyantların ve ifade edildiği hücrelerdeki düzeylerin ilişkilerini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Son aylarda yapılan çalışmalarda, diyabet ve hipertansiyon gibi komorbiditelere genetik yatkınlıkta ve bunların tedavi uygulamalarında aynı zamanda SARS-CoV-2 enfeksiyonunda virüsün S (başak, *ing. "Spike"*) glikoproteini ile etkileşiminde, ACE2 genindeki fonksiyonel varyantlar ve olası etkileri araştırılmaktadır. Bu derlemede, özellikle küresel salgın döneminde ACE2 gen varyantları ile ilgili farklı toplumlarda yapılmış araştırmalar özetlenmektedir.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2, COVID-19, ACE2 reseptörü, gen varyantları

ABSTRACT

Sustainable prevention and effective treatment approaches need to be developed against outbreaks caused by severe acute respiratory syndromes (SARS) based on coronavirus, which we still struggle with and expect to see in the future. While the outbreak of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by the SARS-CoV-2 virus infection still continues, the determination of prognostic markers in the early diagnosis appears to be an urgent need for high-risk individuals. In this process, comprehensive genetic analysis and research to explain antigen processing/presentation pathways were accelerated to identify individual and social differences. Angiotensin-Converting Enzyme-2 (ACE2), one of the receptors at the entry point of the coronaviruses to host cells, is used mainly in the system of renin angiotensin aldosterone (RAAS), which regulates the angiotensinogen II into angiotensin 1-7. It is known as a type I transmembrane metalloproteinase, which shows high homology with ACE that converts angiotensin I to angiotensin II. There are many studies investigating the relationship between ACE2 gene variants and ACE2 expression levels in chronic diseases. In recent studies, functional variants in the ACE2 gene and their possible effects are investigated in genetic susceptibility to comorbidities such as diabetes and hypertension, in treatment applications of comorbidities and in the interaction of the virus with the Spike glycoprotein in the SARS-CoV-2 infection. This review summarizes the studies conducted in different populations related to ACE2 gene variants, especially during the pandemic period.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, ACE2 receptor, gene variants

EXTENDED ABSTRACT

Viral disease outbreaks are among the biggest public health problems of the twenty-first century. For the last two decades, human health has been threatened by the Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV), the Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV) and Coronavirus Disease-2019 (COVID-19), which are coronavirus (CoV) infections. SARS-CoV-2 (Beta-coronavirus b strain/Sarbecovirus causing the COVID-19 pandemic) has 29.9 kilobases genome and 79.5% homology with SARS-CoV and 96% with bat coronavirus. Older male patients with comorbidity have a higher risk of SARS-CoV-2 infection with possible lung damage and sometimes multiple organ failure.

Studies conducted on mice and bats revealed that genetic susceptibility to SARS-CoV might be associated with interspecific gene variants of receptors at the entry points of viruses into host cells. These variants are also associated with comorbid medical conditions such as cardiovascular disease, chronic respiratory disease, cancer, hypertension and diabetes, which significantly increase the severity of a SARS-CoV-2 infection in humans. It has been shown that coronaviruses can enter the host cells in a variety of ways, including endosomal and non-endosomal entry in the presence of protease. The cell surface receptors of SARS-CoV and SARS-CoV-2 are mainly angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) and also transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2). ACE2, which acts as a host receptor, interacts with glycoprotein S (spike) on the viral surface of human coronavirus HCoV-NL63 and SARS-CoV/CoV-2 infections. Subsequently, the S protein is cleaved by TMPRSS2. In vitro studies, it has been shown that blocking TMPRSS2 and cathepsin B/L activity together inhibits the entry of SARS-CoV into the cell, but does not completely prevent the entry of SARS-CoV-2. It has also been determined that FURIN affects the binding of various coronaviruses such as MERS-CoV to the ACE2 receptor and their entry into the cell, but it does not affect SARS-CoV since there is no FURIN cleavage site.

The ACE2 receptor was discovered 20 years ago and its gene is localised to the Xp22.2 region and encodes a transmembrane protein that functions as a protease with its catalytic activity. ACE2 regulates systemic blood pressure and is associated with hypertension, heart failure and myocardial infarction. In animal models, it has been determined that variants in the *ACE2* gene can alter the expression levels, and deletion of the *ACE2* gene is associated with increased angiotensinogen 2 levels in the circulation and tissues and causes cardiovascular damage. Similarly in humans, *ACE2* gene variants cause transcriptional differences in mRNA expression, post-transcriptional modifications (such as N-glycosylation) while acting as a viral receptor, cause changes in the ACE2 protein, resulting in increased oxidative stress induced by angiotensinogen 2. In recent months, detailed genetic data analysis reports have been presented on the idea that differences in the genetic background between populations in the COVID-19 pandemic might affect ACE2 function and expression levels in related tissues and cells.

Comprehensive genetic analyses are required in large research groups to reveal the differences in infection susceptibility that develop due to specific receptors at the entry points of human cells. As a result, identification of high-risk individuals or communities during the COVID-19 pandemic will contribute to the development of personalised treatment strategies.

GİRİŞ

Yirmibirinci yüzyılın en büyük halk sağlığı sorunları arasında şüphesiz viral hastalık salgınları dikkati çekmektedir. Son yirmi yıldır insan sağlığı, progresif solunum yetmezliğine ve %4-36 oranında mortaliteye neden olan şiddetli akut solunum yolu sendromu (SARS-CoV), orta doğu solunum yolu sendromu (MERS-CoV) ve halen mücadele edilen SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağlı ortaya çıkan COVID-19 (ing. "Coronavirus Disease 2019") küresel salgınının dahil olduğu patojenik solunum yolu beta-koronavirüslerinin (CoV) tehdidi altındadır (1). Bu zarflı virüsler, başlık ve poliadenilat taşıyan ~30.000 nükleotidlik pozitif iplikli ve RNA genomuna sahiptir (2). SARS-CoV-2 (Beta-koronavirüs b soyu/Sarbecovirus) genomu 29,9 kilobazdır ve SARS-CoV ile %79,5 ve yarasa koronavirüsü ile %96 homolojiye sahiptir (3).

SARS-CoV-2'nin de dahil olduğu şiddetli solunum yolu hastalıklarına sebep olan koronavirüsler, hastalarda akciğer hasarına ve bazen de olumsuz miyokardiyal patolojilerle birlikte çoklu organ yetmezliğine neden olmaktadır (4,5). COVID-19 salgınında, hastaların büyük çoğunluğu SARS ve MERS ile karşılaştırıldığında daha hafif bir klinik tablo oluşturmasına rağmen, SARS-CoV-2 enfeksiyonun insandan insana bulaşma oranı oldukça yüksektir ve COVID-19 salgınının ilk üç ayında bile toplam ölüm sayısı SARS ve MERS'e göre önemli ölçüde fazla olmuştur (6).

Dünya çapında, COVID-19 klinik seyrinin yaşlılık, komorbiditeler ve erkek cinsiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (7). Nitekim, COVID-19 salgınında yapılmış dünyanın farklı bölgelerinden rapor edilen klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda, erkeklerde kadınlardan daha yüksek morbidite ve mortalite olduğu gösterilmiştir (8). Bunun sebepleri arasında, anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2)'nin kadınlarda daha fazla ifade edilmesine dair veriler sayılsa da cinsiyete özgü yaşam tarzlarının (erkeklerin kadınlara göre daha fazla sigara ve alkol tüketimi gibi), hormonal/immünolojik etmenlerin ve hatta salgına karşı sergilenen tutumların (erkeklerin kadınlara göre yüz maskesi takma, el yıkama ve evde kalma gibi önleyici tedbirlerde daha sorumsuz olduğu) da etkisi olabileceği vurgulanmaktadır (8,9).

KORONAVİRÜSLER VE KONAK HÜCREYE GİRİŞİ

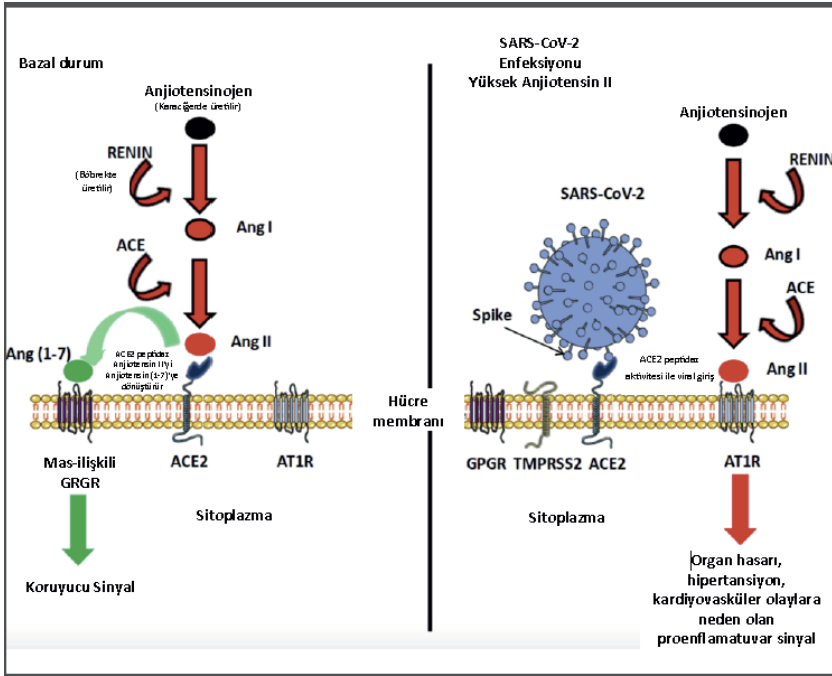
İlk defa farklı fare ve yarasa türleri arasında yapılan çalışmalarda, SARS-CoV'a genetik yakınlığın, virüslerin konakçı hücrelere giriş noktalarındaki reseptörlerdeki türler-arası gen varyantları ile ilişkili olabileceği ortaya konmuştur (1). Aynı zamanda bu varyantlar, insanlarda SARS-CoV-2 enfeksiyonunun şiddetini önemli ölçüde artıran kardiyovasküler hastalık, kronik solunum yolu hastalığı, kanser, hipertansiyon ve diyabet gibi komorbiditeler ile de ilişkilidir (10-13). Bu durumda, SARS-CoV-2'ye duyarlılıktaki bireysel farklılıklar ile bu varyantların olası bağlantısını araştırmak için insanlarda hücrelere giriş noktalarında rol alan reseptörlerin detaylı genetik analizlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Böylece, virüsün konakçı hücrelere girişi ve yayılmasında genetik varyantların etkileri ve işlevlerinin anlaşılması mümkün olacaktır.

Koronavirüslerin, proteaz varlığında endozomal ve endozomal olmayan giriş de dahil olmak üzere çeşitli yollarla konakçı hücreye girebildikleri gösterilmiştir (14-17). Daha önce farklı koronavirüsler için hücrelere girişi kolaylaştıran farklı proteazlar gösterilmiştir (18). Hem SARS-CoV hem de SARS-CoV-2'nin hücre yüzeyi reseptörü olarak ACE2 ve konakçı hücreye girişlerini kolaylaştıran ana proteaz olarak ise transmembran serin proteaz 2 (TMPRSS2)'nin olduğu gösterilmiştir (19-22). Koronavirüs enfeksiyonlarında konakçı hücrelere giriş noktalarının özellikle akciğer, kalp, böbrek, ince bağırsak ve tükürük bezlerindeki hücrelerde ifade edilen ACE2 ile hücreye girişinde rol alan TMPRSS2'nin yanı sıra ilave proteazlar olarak endozomal sistein proteaz katepsin B (CTSB) ve katepsin L (CTSL) olduğu

belirlenmiştir (1). Koronavirüsler, hücre membranında hedef reseptörle bağlandıktan sonra endozomal viral füzyon aktiviteleri açısından diğer zarflı virüslerden farklı olarak proteaz özelliği ile hücreye giriş mekanizmalarını kullandığı ayrıca proteaz aktivitesinin farklı hücre tiplerinde farklı olabileceği (insanda solunum epitel hücreleri, Afrika yeşil maymundan elde edilmiş böbrek epitel hücreleri-Vero hücreleri gibi) bildirilmiştir (17).

Konakçı reseptör olarak rol alan ACE2, insan koronavirüs HCoV-NL63 ve SARS-CoV/CoV-2 enfeksiyonlarında viral yüzeyde S (ing. "spike") glikoproteinindeki S1 domainindeki reseptör bağlanma motifi (RBM) ile etkileşime girmektedir (19,23,24). Daha sonra S proteini, TMPRSS2 (19) tarafından kesilmektedir. In vitro çalışmalarda, TMPRSS2 ve sistein proteazları olan katepsin B/L aktivitesinin birlikte bloke edilmesinin SARS-CoV'nin hücreye girişini inhibe ettiği (25), SARS-CoV-2'nin girişini ise tamamen engellemediği gösterilmiştir (19). SARS-CoV-2'nin hücre içine girişinde ilave proteazların rol alıp almadığının belirlenmesi gerekmektedir. SARS-CoV-2'nin S proteininin SARS-CoV'da bulunmayan dört adet FURIN (PRRA motifi) kesim bölgesini içermesinden dolayı FURIN muhtemel bir proteaz adayı olarak değerlendirilmiş ve ACE2 ifadesinin fazla olduğu akciğer dokusundaki çeşitli hücre tiplerinde FURIN ifadesi ile ACE2 ifadesinin korele olduğu belirlenmiştir (6). FURIN'in MERS-CoV gibi çeşitli koronavirüslerin ACE2 reseptörüne bağlanması ve hücreye girişini kolaylaştırdığı ancak SARS-CoV'da FURIN kesim bölgesi olmadığı için etki etmediği gösterilmiştir (26,27).

2005 yılında yapılan bir çalışmada, ACE2'nin alfa-heliks 1'deki lizin 31 ve tirozin 41, 82-84 ve beta5 bölgesindeki 353-357. rezidülerin koronavirüs S1 domaine bağlanması için önemli olduğunu gösterilmiştir (28). Viral protein ile interaksiyon gerçekleştiğinde, azalmış enflamasyon ile ilişkilendirilen ACE2'nin katalitik özelliği azalmaktadır. Bu durumda Şekil 1'de gösterildiği gibi ACE2'nin katalitik aktivitesinin inhibisyonu sebebi ile anjiyotensin (1-7)'ye dönüştürülemeyen anjiyotensinojen II'nin enflamatuvar sitokin gibi akciğer hasarında ve kardiyovasküler risklerde artışa sebep olabileceği ileri sürülmüştür (4).



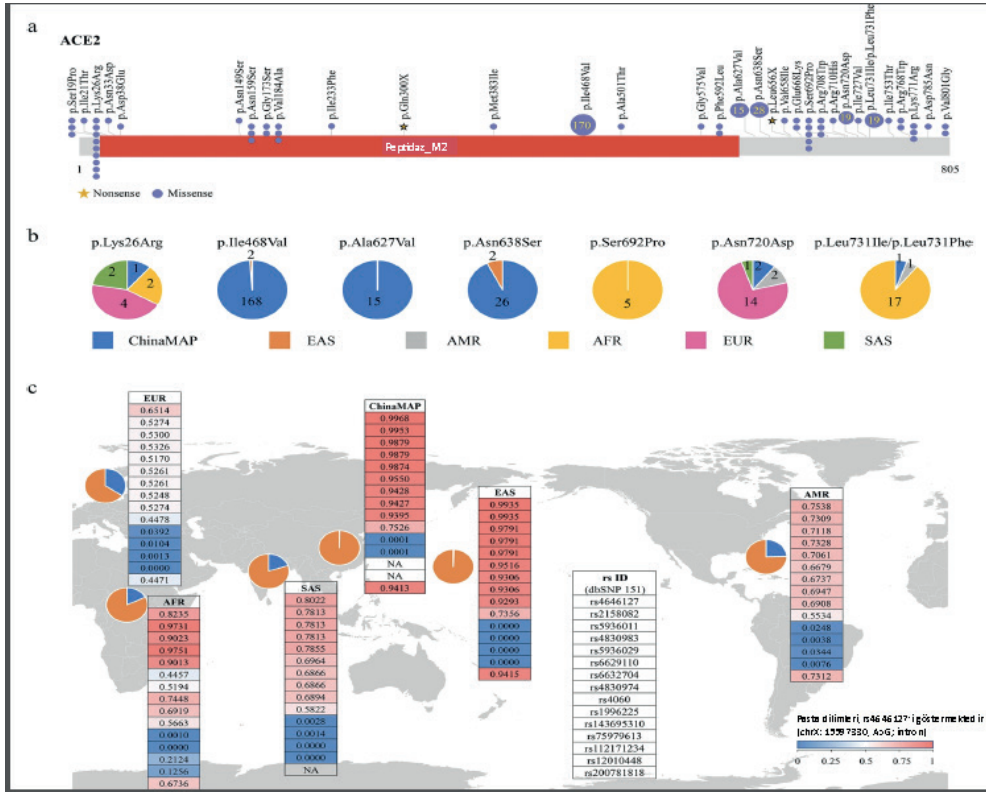
Şekil 1. Normal ve enfeksiyon koşullarında renin-anjiyotensin sisteminin basitleştirilmiş diyagramı. Sol bölümde, ACE2'nin anjiyotensin II (Ang II)'yi koruyucu sinyal oluşmasını sağlayan Ang (1-7)'e dönüştürmesi gösterilmektedir. Sağ bölümde, SARS-CoV-2 ACE2 reseptörüne bağlandığında oluşan sinyallerin olası işlev bozuklukları gösterilmektedir. Enfeksiyon koşulu altında Ang (1-7) artık sentezlenememekte, Ang II AT1R ile hem doku hasarına (özellikle akciğer ve kalp) hem de hipertansiyonu tetikleyen proenflamatuar sinyallere yol açmaktadır (4 no'lu kaynaktan yararlanılmıştır).

ACE2 Reseptörü ve Gen Varyantlarının Etkileri

ACE2 reseptörü 20 yıl önce keşfedilmiş olup (29,30) geni, Xp22.2 bölgesine lokalizedir ve 805 amino asitlik bir protein kodlamaktadır. Ancak kadınlarda X-kromozom inaktivasyonundan kaçan yaklaşık üçte birlik kısımdaki her iki allelden ifade edilen genlerden biri olarak belirlenmiş olan ACE2, heterojen bir kadın-erkek ifade paternine sahiptir ve erkeklerde çeşitli dokularda daha fazla ifade edildiği gösterilmiştir (31). ACE2, katalitik aktivitesi ile proteaz işlevi gören bir transmembran proteinidir. Sistemik kan basıncını düzenleyen renin anjiyotensin aldosteron sisteminde (RAAS) rol alan ACE2'nin hem işlev kaybı hem de işlev kazancı yaklaşımları ile yapılan insan hastalıklarının deneysel modellerinde, kalp yetmezliği (HF), sistemik ve pulmoner hipertansiyon (PH), miyokard enfarktüsü (MI) ve diyabetik kardiyovasküler komplikasyonlar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (32). Hayvan modellerinde ACE2 genindeki varyantların proteininin ifade seviyesini değiştirebildiği (33) ayrıca ACE2 geninin delesyonunun, dolaşımda ve dokularda artmış anjiyotensinojen 2 düzeyleri ile ilişkili olduğu ve kardiyovasküler hasara neden olduğu belirlenmiştir (34,35). İnsanda da benzer olarak ACE2 gen varyantlarının, mRNA ifadesinde transkripsiyonel farklılıklara, viral reseptör olarak etki ederken transkripsiyon sonrası modifikasyonlara (N-glikosilasyon gibi) ve ACE2 proteininde değişimlere neden olarak RAAS yolğında kan basıncı düzenlenmesinde ve anjiyotensinojen 2'nin tetiklediği oksidatif stres nedeniyle akciğer ve kalp hasarlarının artmasıyla SARS-CoV-2 enfeksiyonun şiddetini etkileyebileceği ileri sürülmüştür (4).

ACE2 Gen Varyantları ve Populasyon Çalışmaları

Son aylarda COVID-19 salgınında populasyonlar arasında genetik altyapıdaki farklılıkların ACE2 işlevini etkileyebileceği fikri üzerine yapılan detaylı genetik veri analiz raporları sunulmuştur. Buna göre bir çalışmada, Avrupa, Afrika, Asya ve Amerikalı dört farklı popülasyon incelenmiş ve ACE2 reseptörünü kodlayan genin spesifik ve ortak bir nadir varyant havuzuna sahip olduğu ve erkeklerle kadınlar arasında anlamlı gen ifade değişikliklerinin olmadığı belirlenmiştir (1). ACE2 geninde kodlayan bölgelerdeki amino asit değişimine (ing. "missense") veya sonlanma kodonu oluşumuna (ing. "nonsense") neden olan çeşitli spesifik ve yaygın varyantlar belirlenmiş ve bunların, viral girişi ve enfeksiyon için son derece önemli olduklarına dikkat çekilmiştir (1). Ek olarak Darbani ve ark.'nın yaptığı çalışmada, analiz edilen ACE2 varyantlarının yarısından fazlasının erkeklerde hemizigot olarak bulunduğu belirlenmiştir. Viral girişi artırıcı bu hemizigot varyantların, erkeklerde gözlenen daha yüksek SARS-CoV-2 mortalite oranını açıklayabileceği öne sürülmüştür (1). ACE2 genindeki aday fonksiyonel kodlama bölgelerindeki varyantları ve bunların populasyonlar arasındaki allel frekanslarının karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, ChinaMAP (Çin Metabolik Analiz Projesi) ve 1KGP (1000 Genom Projesi) veri tabanlarında tespit edilen 1700 varyantın analiz sonuçlarına göre potansiyel olarak etkili olabilecek 32 varyant belirlenmiştir (Şekil 2a). Koronavirüslerin S proteini ile bağlanma bölgelerinde (ing. "Hotspot") belirlenmiş varyantlar, populasyon gruplarında karşılaştırıldığında Çin populasyonunda saptanmış Gln300X ("nonsense" varyant) varyantı haricinde doğal dirençli herhangi bir varyantın olmadığı saptanmıştır (36). Cao ve ark.'nın yaptığı çalışmada, populasyon gruplarında belirlenen yedi "hotspot" varyantın (Lys26Arg, Ile468Val, Ala627Val, Asn638Ser, Ser692Pro, Asn720Asp ve Leu731Ile/Leu731Phe) allel sıklıklarının gruplar arasındaki değişkenliği Şekil 2b'de ve 20 farklı dokudaki ACE2 ifade düzeyleri dikkate alınarak saptanan 15 eQTL (ekspresyon kantitatif özellik lokusları, ing. "expression quantitative trait loci") varyantının ise yine farklı popülasyonlarda allel sıklıklarında orta düzeyde bir farklılık olduğu Şekil 2c'de gösterilmiştir (36). Bu çalışmada, genetik altyapıdaki farklılıkların populasyonlar arasında ACE2 fonksiyonlarını etkileyebileceği fikri üzerine yapılan detaylı genetik veri analizlerinde, Doğu Asya popülasyonlarında dokularda yüksek ACE2 ifadesi ile ilişkili varyantların daha sık gözlemlendiği belirlenmiştir (36). Geniş bir İtalyan kohortunda ACE2 gen ifade düzeyleri ve varyantlarının ekzom dizileme ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) veri setlerinin analizlerinde, Avrupa ve Doğu Asya populasyonları ile karşılaştırıldığında hastalık şiddeti ve cinsiyet ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (7). Benzer genetik analizler ile toplumumuzdaki ACE2 gen varyantlarının belirlenmesi, 2019-nCoV/SARS-CoV-2'ye olan duyarlılık veya yanıtındaki farklılıkların ortaya konulmasında önemli bilgiler sağlayacaktır.



Şekil 2. Doğu Asya ve diğer popülasyonlarda *ACE2* geninin kodlama bölgelerindeki varyantlar ve eQTL varyantlarının dağılımları. 2a, ChinaMAP ve 1KGP veritabanlarında tanımlanmış *ACE2* genindeki 32 kodlama bölgesindeki varyant gösterilmektedir. Sarı yıldızlar sonlanma kodonu oluşturan ("nonsense") varyantları; mavi noktalar aminoasit değişimine neden olan ("missense") varyantları göstermektedir. "Hotspot" varyantların örnek sayıları mavi noktaların içinde belirtilmektedir. 2b, farklı popülasyonlarda *ACE2*'nin "hotspot missense" varyantlarının dağılımları verilmektedir. Renkler farklı popülasyonları göstermektedir. 2c, farklı popülasyonlarda *ACE2* geni eQTL varyantlarının dağılımı ve allel sıklıkları verilmektedir. Pasta dilimi grafikleri, *ACE2* geninin bir intronik varyantının (rs4646127) allel sıklıklarını (turuncu renk, nadir allelinin sıklığını, mavi renk ise referans allelin sıklığını) göstermektedir. *ACE2* geni için belirlenmiş 15 adet eQTL varyantının allel sıklıkları tablolarda gösterilmektedir. Maviden kırmızıya renk gradyanı allel frekanslarının arttığına işaret etmektedir. Bir INDEL (insersiyon/delesyon) varyantı olan rs200781818'in allel sıklıkları, gnomAD veritabanına göre verilmektedir. Popülasyon kısaltmaları; EAS, Doğu Asya; EUR, Avrupa; AFR, Afrika; SAS, Güney Asya; AMR, Kuzey ve Güney Amerika (36 no'lu kaynaktan yararlanılmıştır).

ACE2 Gen İfadesi ile İlgili Çalışmalar

Çeşitli popülasyonların akciğer dokularında *ACE2* gen ifade düzeyleri ile ilgili açık erişimli veri setlerinde yapılan son analiz çalışmalarında cinsiyet ile ilişkili tartışılabilir sonuçlar elde edilmiştir. Akciğer dokusu transkriptomik veri setlerinin biyoinformatik analizlerinde, *ACE2* gen ifadesinin erkeklerde kadınlara göre, Asyalı bireylerde ise Avrupalı ve Afrikalı-Amerikalı bireylere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (37). Diğer yandan bir başka çalışmada, akciğer dokularında yapılmış RNA-dizileme ve mikrodizin veri setlerindeki *ACE2* gen ifade düzeylerinde, Asya ve Kafkas ya da erkek ve kadınlar

arasında anlamlı bir farklılık olmadığı, ek olarak sigara kullanımının *ACE2* ifade düzeyini arttırdığı gösterilmiştir (38). *ACE2* geninin ifade edildiği hücreler, akciğer dokularındaki hücrelerin çok küçük bir parçasını oluşturduğundan seçilen olgulardaki örnek büyüklüğü ve hücre popülasyon çeşitliliğinin sonuçları etkileyebileceği öngörülmektedir (37,38). Bu çalışmalarda erişilebilir mevcut veri setleri analiz edilmiştir. Lukassen ve ark.'nın çalışmasında, akciğer kanserli 12 hastanın cerrahi operasyonları esnasında farklı bölgelerden alınan normal akciğer dokusundan elde edilen tek hücre serilerinin ve 4 hastadan bronkoskopik mikroörnekleme invazif girişimi esnasında alınan sıvıdan ayrıştırılan insan bronşiyal epitel hücrelerinin (HBEC'ler) transkriptomik analizleri yapılmıştır. Ek olarak, *ACE2* ifadesinin farklı hücre tiplerindeki düzeyleri ve yaş, sigara içme durumu, cinsiyet faktörlerine göre etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, ne akciğer dokusundaki hücrelerde ne de HBEC'lerde *ACE2* ifadesinde cinsiyete bağlı bir fark gözlenmemiştir (6). Bu sonuç, çok sayıda COVID-19 hastasına dayanan son raporlarla da uyumludur (39). Ancak *ACE2* ifadesinin yaşa göre cinsiyet farkına bakıldığında, erkeklerde kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu ve yaş arttıkça *ACE2* ifadesinde de artış olduğu, diğer yandan sigara kullanımının Cai ve ark.'nın elde ettiği bulguların aksine akciğer hücrelerinde *ACE2* ifadesine etki etmediği gözlenmiştir (6,38).

Akciğer dokusundaki özellikle tip II alveoler hücrelerine (AT2) (22,37,40) ek olarak *ACE2* ifadesinin dildeki ve oral mukozadaki epitel hücrelerinde de yüksek olduğu hem açık erişimli veri setlerinde hem de deneysel tek hücre transkriptom çalışmalarında gösterilmiştir (41). Bu sonuçlar, ağız ve diş sağlığı açısından SARS-Cov-2 bulaşma duyarlılığı için potansiyel olarak yüksek bir risk olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca, özofagus epitel hücrelerinde, ileum ve kolondaki enterositlerde (42,43), pnömositlerde (43), karaciğer kolanjiositlerde (44), miyokardiyal hücrelerde, böbrek proksimal tübül hücrelerinde ve mesane üreterial hücrelerinde (22) *ACE2* yüksek oranda ifade edilmektedir. Enfeksiyonun klinik bulguları, *ACE2* ifadesi olan hücrelerin hedef olduğunu ve 2019-nCoV enfeksiyonuna yatkın olduklarını doğrulamaktadır. Aortik stenozu ve kalp yetmezliği olan hastaların kardiyak dokularında, özellikle kardiyomyositlerde *ACE2* ifade seviyelerinin arttığı ve Anjiyotensin reseptör bloker (ARB) ve ACE inhibitör tedavilerinin *ACE/ACE2* ifade düzeylerini etkilediği bir ön çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş hastaların kardiyovasküler komplikasyonlar açısından izlenmesinin ve antihipertansif olarak kullanılan inhibitörlerin etkisini değerlendirmenin önemine dikkat çekilmiştir (45).

COVID-19 ile ilişkilendirilmiş risk faktörlerinin *ACE2* ifade düzeylerine etkisini net olarak belirleyebilmek için farklı popülasyonlarda daha fazla sayıda büyük ölçekli ve çoklu doku/hücre serilerinin analizlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak elde edilmiş bu ön bulgular, *ACE2* ifadesinin yüksek olduğu dokuların 2019-nCoV bulaşma duyarlılığı için potansiyel olarak yüksek bir risk taşıması sebebiyle, klinik uygulamalarda ve günlük yaşamda gelecekteki önleme stratejilerine önemli bilgiler sağlamıştır.

SONUÇ

Koronavirüslerin hücreye giriş noktaları olarak özgün reseptörlere bağlı gelişen bireysel veya toplumsal enfeksiyon duyarlılığındaki farklılıkları ortaya koymak için geniş araştırma gruplarında kapsamlı genetik analizlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu reseptörlerden birini kodlayan *ACE2* genindeki varyantlar ve ifade düzeylerindeki değişimler, koronavirüslere karşı savunmada etkin bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Sonuç olarak, COVID-19 salgınında yüksek riskli bireylerin veya toplumların tanımlanması, kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR / REFERENCES

1. Darbani B. The Expression and Polymorphism of Entry Machinery for COVID-19 in Human: Juxtaposing Population Groups, Gender, and Different Tissues. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(10): 3433. doi: 10.3390/ijerph17103433
2. Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, Nix WA, Campagnoli R, Icenogle JP, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science*. 2003; 300(5624): 1394-9.
3. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579(7798): 270-3.
4. Devaux CA, Rolain JM, Raoult D. ACE2 receptor polymorphism: Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome. *J Microbiol Immunol Infect*. 2020; 53(3): 425-35.
5. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506.
6. Lukassen S, Chua RL, Trefzer T, Kahn NC, Schneider MA, Muley T, et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *EMBO J*. 2020; 39(10): e105114. doi: 10.15252/embj.20105114
7. Asselta R, Paraboschi EM, Mantovani A, Duga S. ACE2 and TMPRSS2 variants and expression as candidates to sex and country differences in COVID-19 severity in Italy. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12(11): 10087-98.
8. Bwire GM. Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women? *SN Compr Clin Med*. 2020:1-3. doi: 10.1007/s42399-020-00341-w
9. De La Vega R, Barquín RR, Boros S, Szabo A. Could attitudes toward COVID-19 in Spain render men more vulnerable than women? *PsyArXiv Prepr*. 2020. <https://doi.org/10.31234/osf.io/dyxqn>
10. Chaoxin J, Daili S, Yanxin H, Ruwei G, Chenlong W, Yaobin T. The influence of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphisms on type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17(19): 2654-9.
11. Patel SK, Wai B, Ord M, Maclsaac RJ, Grant S, Velkoska E, et al. Association of ACE2 genetic variants with blood pressure, left ventricular mass, and cardiac function in Caucasians with type 2 diabetes. *Am J Hypertens*. 2012; 25(2): 216-22.
12. Yang W, Huang W, Su S, Li B, Zhao W, Chen S, Gu D. Association study of ACE2 (angiotensin I-converting enzyme 2) gene polymorphisms with coronary heart disease and myocardial infarction in a Chinese Han population. *Clin Sci (Lond)*. 2000; 111(5): 333-40.
13. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020; 323(13): 1239-42.
14. Simmons G, Zmora P, Gierer S, Heurich A, Pöhlmann S. Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. Version 2. *Antiviral Res*. 2013; 100(3): 605-14.
15. Matsuyama S, Ujike M, Morikawa S, Tashiro M, Taguchi F. Protease-mediated enhancement of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(35): 12543-7.
16. Wang H, Yang P, Liu K, Guo F, Zhang Y, Zhang G, Jiang C. SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway. *Cell Res*. 2008; 18(2): 290-301.
17. White JM, Whittaker GR. Fusion of Enveloped Viruses in Endosomes. *Traffic*. 2016; 17(6): 593-614.
18. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004; 203(2): 631-7.
19. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020; 181(2): 271-80.
20. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020; 181(2): 281-92.
21. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020; 367(6485): 1444-8.

22. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med.* 2020; 14(2): 185-92.
23. Gallagher TM, Buchmeier MJ. Coronavirus spike proteins in viral entry and pathogenesis. *Virology.* 2001; 279(2): 371-4.
24. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature.* 2003; 426(6965): 450-4.
25. Kawase M, Shirato K, van der Hoek L, Taguchi F, Matsuyama S. Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *J Virol.* 2012; 86(12): 6537-45.
26. Burkard C, Verheije MH, Wicht O, van Kasteren SI, van Kuppeveld FJ, Haagmans BL, et al. Coronavirus cell entry occurs through the endo-/lysosomal pathway in a proteolysis-dependent manner. *PLoS Pathog.* 2014; 10(11): e1004502. doi: 10.1371/journal.ppat.1004502
27. Millet JK, Whittaker GR. Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after two-step, furin-mediated activation of the spike protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014; 111(42): 15214-9.
28. Li W, Zhang C, Sui J, Kuhn JH, Moore MJ, Luo S, et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2. *EMBO J.* 2005; 24(8): 1634-43.
29. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res.* 2000; 87(5): E1-9. doi: 10.1161/01.res.87.5.e1
30. Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem.* 2000; 275(43): 33238-43.
31. Tukiainen T, Villani AC, Yen A, Rivas MA, Marshall JL, Satija R, et al. Landscape of X chromosome inactivation across human tissues. *Nature.* 2017; 550: 244.
32. Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, Nguyen Q, Zhong JC, Turner AJ, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circ Res.* 2020; 126(10): 1456-74.
33. Wysocki J, Ye M, Soler MJ, Gurley SB, Xiao HD, Bernstein KE, et al. ACE and ACE2 activity in diabetic mice. *Diabetes.* 2006; 55(7): 2132-9.
34. Yamamoto K, Ohishi M, Katsuya T, Ito N, Ikushima M, Kaibe M, et al. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload-induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II. *Hypertension.* 2006; 47(4): 718-26.
35. Rabelo LA, Todiras M, Nunes-Souza V, Qadri F, Szijártó IA, Gollasch M, Penninger JM, et al. Genetic Deletion of ACE2 Induces Vascular Dysfunction in C57BL/6 Mice: Role of Nitric Oxide Imbalance and Oxidative Stress. *PLoS One.* 2016; 11(4): e0150255. doi: 10.1371/journal.pone.0150255
36. Cao Y, Li L, Feng Z, Wan S, Huang P, Sun X, et al. Comparative genetic analysis of the novel coronavirus (2019-nCoV/SARS-CoV-2) receptor ACE2 in different populations. *Cell Discov.* 2020; 6: 11. doi: 10.1038/s41421-020-0147-1.
37. Zhao Y, Zhao Z, Wang Y, Zhou Y, Ma Y, Zuo W. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCoV. *bioRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.26.919985>
38. Cai G, Bossé Y, Xiao F, Kheradmand F, Amos CI. Tobacco Smoking Increases the Lung Gene Expression of ACE2, the Receptor of SARS-CoV-2. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020; 201(12): 1557-9.
39. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 382(18): 1708-20.
40. Zhang H, Kang Z, Gong H, Xu D, Wang J, Li Z, et al. The digestive system is a potential route of 2019-nCoV infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. *bioRxiv* 2020.01.30.927806. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.30.927806>
41. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci.* 2020; 12(1): 8. doi: 10.1038/s41368-020-0074-x

42. Chai X, Hu L , Zhang Y, Han W, Lu Z, Ke A, et al. Specific ACE2 expression in cholangiocytes may cause liver damage after 2019-nCoV infection. *bioRxiv* 2020.02.03.931766. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.03.931766>
43. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbanjo IM, Miao VN, Tzouanas CN, et al. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*. 2020; 181(5): 1016-35.e19.
44. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2016; 14(8): 523-34.
45. Nicin L, Abplanalp WT, Mellentin H, Kattih B, Tombor L, John D, et al. Cell type-specific expression of the putative SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human hearts. *Eur Heart J*. 2020; 41(19): 1804-6.