

CCR5-Δ32 mutacija i pandemija COVID-19 u Europi

Suša, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:348393>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Matea Suša

CCR5-Δ32 MUTACIJA I PANDEMIJA COVID- 19 U EUROPI

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Matea Suša

CCR5-Δ32 MUTACIJA I PANDEMIJA COVID- 19 U EUROPI

Diplomski rad

Mentor: prof. dr. sc. Smiljana Ristić

Rijeka, 2022.

Diplomski rad obranjen je dana _____ u/na Sveučilištu u Rijeci,
Diplomskom sveučilišnom studiju Sanitarnog inženjerstva, pred povjerenstvom u sastavu:

- 1.
- 2.
- 3.

Rad sadrži 41 stranicu, 10 slika, 5 tablica i 38 literaturnih navoda.

Rad je izrađen na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci, pod vodstvom prof. dr. sc. Smiljane Ristić.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Smiljani Ristić na nesebičnoj pomoći, volji, trudu, prenesenom znanju i savjetima.

Također, zahvaljujem se svojim roditeljima i sestri te prijateljima na neizmjerne podršci tijekom cijelog studija.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. COVID-19	1
1.1.1. Epidemiologija	2
1.1.2. Patogeneza bolesti	4
1.1.3. Klinički simptomi.....	5
1.1.4. Dijagnoza, liječenje i prevencija	7
1.1.5. Geni i COVID-19	11
1.2. Kemokini	12
1.2.1. Građa kemokina	13
1.2.2. Kemokinski receptori	14
1.2.3. CCR5 receptor	16
1.2.4. Genske karakteristike CCR5- Δ 32 mutacije	17
1.3. CCR5- Δ 32 mutacija i COVID-19	18
2. CILJ RADA.....	22
3. MATERIJALI I POSTUPCI	23
3.1. Materijali i postupci	23
3.2. Statistička analiza	25
4. REZULTATI.....	26
5. RASPRAVA.....	29
6. ZAKLJUČCI.....	34
7. LITERATURA.....	35
8. POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA	40
9. ŽIVOTOPIS	42

SAŽETAK

COVID-19 infektivna je respiratorna bolest uzrokovana SARS-CoV-2 virusom, koja se brzo proširila svijetom u posljednje dvije godine.

Dosadašnja saznanja upućuju na to da se radi o iznimno složenoj multifaktorijalnoj i poligenskoj bolesti u kojoj su brojni genetički i epigenetički čimbenici odgovorni za vrlo varijabilnu fenotipsku ekspresiju. Sve je više dokaza da genetika domaćina može utjecati na predispoziciju i razvoj COVID-19. CCR5 je receptor za proupalne kemokine koji sudjeluju u odgovoru domaćina, posebice na viruse. Mutacija CCR5-Δ32 zanimljiva je genetička varijanta s obzirom na njezinu ulogu u nekim virusnim infekcijama, posebice HIV-1. Nedavne studije o učincima CCR5-Δ32 mutacije na rizik i težinu COVID-19 dale su proturječne rezultate.

Cilj naše studije bio je učiniti statističku reanalizu epidemioloških studija provedenih u 39 europskih zemalja nakon dvije godine pandemije i pokušati rasvijetliti još uvijek kontroverzan utjecaj CCR5-Δ32 mutacije na COVID-19.

Koristeći multiplu regresijsku analizu, ispitali smo povezanost između učestalosti CCR5-Δ32 mutacije i prevalencije i smrtnosti od COVID-19, kontrolirajući u statističkoj analizi intenzitet testiranja, proteklo vrijeme od početka pandemije, HDI te procijepljenost stanovništva u svakoj od analiziranih zemalja.

Naši rezultati pokazuju da učestalost CCR5-Δ32 mutacije nije značajno povezana s brojem slučajeva COVID-19 ($p=0,997$), ali je značajno negativno povezana s brojem smrtnih slučajeva ($p=0,028$) u europskoj populaciji, uzimajući u obzir broj dijagnostičkih testova i broj dana od početka epidemije u svakoj zemlji kao potencijalne zbunjujuće čimbenike. Ovi rezultati sugeriraju da CCR5-Δ32 mutacija može imati protektivan učinak na mortalitet od SARS-CoV-2, no potrebna su daljnja istraživanja populacija s različitim genetičkim podrijetlom kako bi se potvrdili ovi statistički dobiveni rezultati.

Ključne riječi: COVID-19, SARS-CoV-2, CCR5-Δ32, CCR5

SUMMARY

COVID-19 is an infectious respiratory disease caused by the SARS-CoV-2 virus, which has spread rapidly worldwide in the last two years.

Current knowledge suggests that it is an extremely complex multifactorial and polygenic disease in which multiple genetic and epigenetic factors are responsible for highly variable phenotypic expression. There is increasing evidence that host genetics is a factor in the prevalence and progression of COVID19. CCR5 is a receptor for proinflammatory chemokines involved in host responses, particularly to viruses. The CCR5-Δ32 mutation is an interesting genetic variant given the role of CCR5 in some viral infections, particularly HIV-1. Recent studies on the effects of CCR5-Δ32 on the risk and severity of COVID -19 have yielded conflicting results.

The aim of our study was to statistically reanalyze epidemiological studies conducted in 39 European countries after two pandemic years and attempt to shed light on the still controversial impact of the CCR5-Δ32 mutation on COVID-19.

Using multiple regression, we examined the association between CCR5-Δ32 frequency and COVID -19 prevalence and mortality, adjusting for test intensity, time elapsed since epidemic onset, Human Development Index, and COVID-19 vaccination in each country.

Our results show that CCR5-Δ32 allele frequency in a European population was not significantly correlated with the number of COVID-19 cases ($p=0,997$), but was significantly negatively correlated with the number of deaths ($p=0,028$) after adjusting for the number of diagnostic tests and the onset of the epidemic (days) in each country as potential confounders. These results suggest that CCR5-Δ32 mutation may be protective against SARS-CoV-2 mortality, but further studies based on samples from populations with different genetic backgrounds are needed to validate these statistically obtained findings.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, CCR5-Δ32, CCR5

1. UVOD

1.1. COVID-19

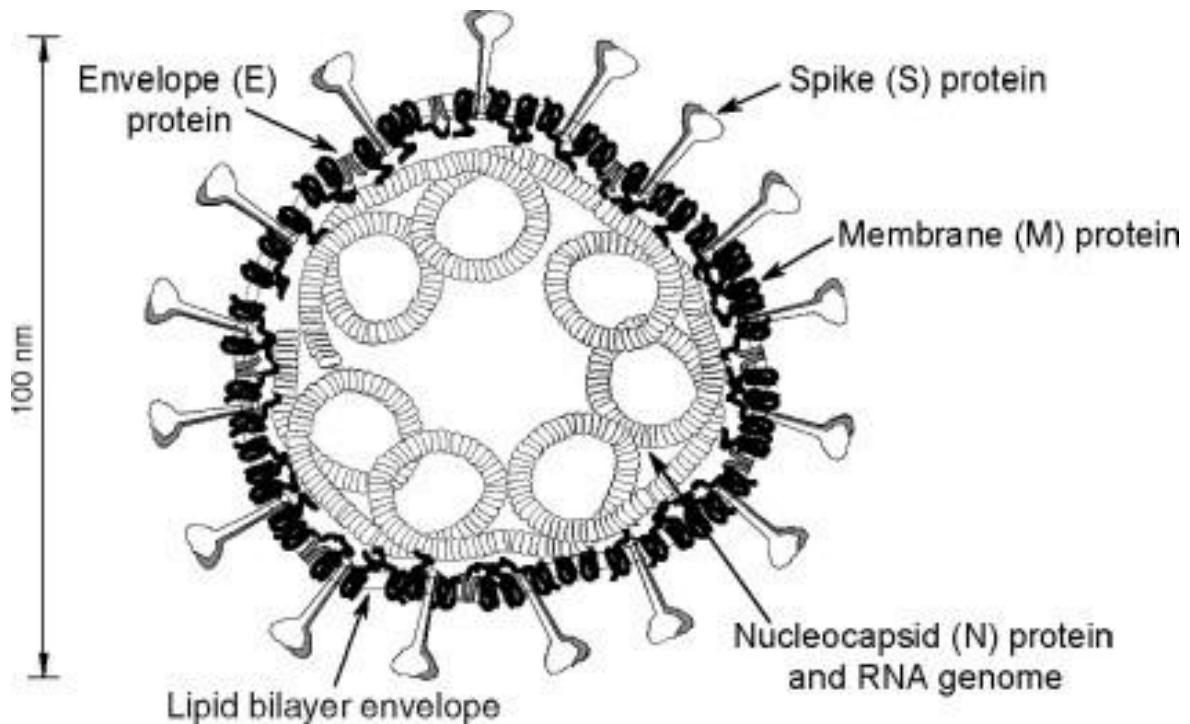
Koronavirusna bolest 2019 (engl. coronavirus disease 2019, COVID-19) infektivna je respiratorna bolest uzrokovana novootkrivenim virusom SARS-CoV-2 (engl. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), koji pripada skupini koronavirusa (1). Porodica koronavirusa (lat. *Coronaviridae*) dijeli se u četiri podskupine: alfa (α), beta (β), delta (δ) i gama (γ). Poznato je da virusi podskupina alfa i beta uzrokuju infekcije kod ljudi zbog čega se nazivaju i humanim koronavirusima (engl. Human Coronaviruses, HCoVs) (2). Humani koronavirusi prvi put su identificirani sredinom 1960- ih izolacijom kod pacijenata oboljelih od prehlade.

Iako većina do sad poznatih vrsta koronavirusa inficira pretežito životinje, danas je također poznato i sedam vrsta koronavirusa koji mogu inficirati ljude (1). Zbog blagih kliničkih slika koje su izazivali koronavirusi kod ljudi vrlo dugo su se klasificirali kao bezopasni patogeni sve do pojave dviju epidemija početkom 21. stoljeća, teškog akutnog respiratornog sindroma (engl. Severe acute respiratory syndrome, SARS) i bliskoistočnog respiratornog sindroma (engl. Middle East respiratory syndrome, MERS). Zajedno s uzročnikom COVID-19 bolesti, SARS-CoV-2, SARS-CoV i MERS-CoV predstavljaju vrlo visoko patogene koronavirus iz podskupine beta za koje se pretpostavlja da su zoonotskog podrijetla. Navedeni koronavirusi mogu uzrokovati respiratorne infekcije s težim kliničkim slikama, dok preostale četiri vrste: HCoV 229E [α], NL63 [α], OC43 [β] i HKU1 [β], od ukupno sedam koronavirusa koji uzrokuju infekcije kod ljudi, izazivaju blage do umjerene respiratorne infekcije (2).

Uzročnik COVID-19 bolesti, SARS-CoV-2, naziv je dobio prema činjenici da predstavlja varijantu virusa koji uzrokuje bolest SARS (2). Zbog različitih genskih mutacija koje su se dogodile, SARS-CoV-2 do danas je opisan u pet varijanti: alpha, beta, gamma, delta i omicron.

Koronavirusi su obično veličine od 80 do 120 nm. Genom koronavirusa čini jednolančana ribonukleinska kiselina (RNK), čvrsto upakirana i zaštićena nukleokapsidom, odnosno N proteinom (N) koji je RNK-vezujući protein. Glavna uloga N proteina je pakiranje virusnog genoma. U vanjskoj membranskoj ovojnici koja okružuje RNK nalaze se tri vrste virusnih proteina: protein ovojnice (E), protein membrane (M) i protein šiljka (engl. spike

protein, S) koji izgledom nalikuje na krunu, po čemu su koronavirusi i dobili ime (Slika 1) (5).



Slika 1. Građa koronavirusa (Preuzeto sa: doi:10.1016/S0065-3527(06)66005-3)

1.1.1. Epidemiologija

Epidemija koronavirusom započela je 2002. godine u Kini pojavom SARS-a čiji je uzročnik bolesti virus SARS-CoV. Tijekom dvogodišnjeg razdoblja zaraženo je oko 8000 ljudi u 29 različitih zemalja te je oko 800 slučajeva završilo smrtnim ishodom (3).

Druga epidemija uzrokovana koronavirusom započela je 2012. godine širenjem bliskoistočnog respiratornog sindroma u Saudijskoj Arabiji čiji je uzročnik MERS-CoV. Virus se proširio na 27 različitih zemalja te je prijavljeno oko 2600 slučajeva infekcije od čega je oko 900 slučajeva završilo smrtnim ishodom (3).

U Kini 2019. godine započela je epidemija COVID-19 bolesti uzrokovana SARS-CoV-2 virusom koja se proširila na preko 227 zemalja u cijelome svijetu. Prijenos virusa među ljudima i dalje je prisutan, a zbog izrazito velikog i brzog širenja zaraze Svjetska zdravstvena organizacija proglasila je u ožujku 2020. godine globalnu pandemiju.

Od početka pandemije do 18. srpnja 2022. godine potvrđeno je 559 469 605 slučajeva infekcije SARS-CoV-2 virusom od čega je 6 361 157 slučajeva završilo smrtnim ishodom (3) (Slika 2).



Slika 2. Prikaz broja oboljelih od COVID-19 bolesti do 18. srpnja 2022. godine na karti Svijeta (Preuzeto sa: <https://covid19.who.int/>)

U Hrvatskoj je od početka pandemije do 18. srpnja 2022. godine potvrđeno 1 169 342 slučaja od čega je 16 169 slučajeva završilo smrtnim ishodom (4) (Slika 3).



Slika 3. Statistički pokazatelj broja oboljelih od koronavirusa u Hrvatskoj do 18. srpnja 2022. godine (Preuzeto sa: <https://www.koronavirus.hr/>)

1.1.2. Patogeneza bolesti

Virus SARS-CoV-2 inficira stanicu domaćina fuzijom virusne ovojnice s membranom stanice domaćina. Do prijenosa virusa SARS-CoV-2, jednako kao i SARS-CoV, dolazi vezanjem spike proteina (S) virusa s ACE2 proteinskim receptorom koji se nalazi na površini stanice domaćina. Prisutnost ACE2 proteinskog receptora izražena je na stanicama pluća, crijeva, jetre, srca, vaskularnog endotela, testisa i bubrega. Istraživanjima je utvrđeno da je interakcija između virusnog spike proteina (S) i domaćinskog proteinskog receptora ACE2 deset do dvadeset puta jača kod SARS-CoV-2 u odnosu na istu interakciju kod SARS-CoV virusa (5-6).

Uočene su velike razine ekspresije ACE2 proteinskog receptora i proteaza 2 u različitim vrstama stanica poput epitelnim stanicama nosne šupljine, plućima i ograncima bronha te stanicama probavnog trakta. Visoke razine ekspresije potvrđuju hipoteze da virus SARS-CoV-2 izaziva tkivni tropizam prema dišnom sustavu te može uzrokovati i probavne smetnje kod osoba oboljelih od COVID-19 bolesti (1,6).

Uspješnost ulaska virusa u stanicu domaćina ovisi o cijepanju područja na spoju podjedinica S1 i S2 spike proteina virusa domaćinskim proteazama (transmembranske serinske proteaze 2). Virusna RNK oslobađa se u citoplazmu stanica domaćina te zajedno s vlastitom replikacijskom mašinerijom koristi i replikacijsku mašineriju domaćina za umnažanje svog genetskog materijala. Do infekcije domaćina dolazi oslobađanjem novonastalih virusnih čestica, što kao posljedicu ima aktivaciju imunskog sustava domaćina koji ima ključnu ulogu u borbi protiv bolesti (1,6).

1.1.3. Klinički simptomi

COVID-19 je bolest koja se prenosi kapljičnim putem pri kihanju i kašljanju ili indirektno putem kontaminiranih ruku izlučevinama oboljele osobe. Primarno napada respiratorni sustav čovjeka. Bolest se očituje na različite načine, od asimptomatskog preboljenja, blagih do umjerenih simptoma pa sve do teških kliničkih simptoma koji na poslijetku mogu rezultirati smrtnim ishodom.

Prema određenim studijama kod 40- 45% pacijenata oboljelih od COVID-19 bolesti preboljenje se odvija bez razvijanja simptoma, odnosno asimptomatski. Taj postotak varira u različitim istraživanjima ovisno o vremenu inkubacije koje je određeno za pojedino istraživanje. Kod pojedinih pacijenta povremeno je pogrešno klasificirano asimptomatsko preboljenje bolesti zbog kasnije pojave simptoma (7). Vrijeme inkubacije do pojave prvih simptoma može biti od 2 do 14 dana, a u prosjeku iznosi 5 do 6 dana.

Kod oko 80% do sad analiziranih slučajeva bolest se očitovala blagim simptomima, odnosno bez pneumonije ili s vrlo blagom upalom pluća. Kod ovakvog razvoja bolesti do ozdravljenja dolazi uglavnom spontanim prolaskom simptoma unutar dva tjedna. Za 14% pacijenata procijenjeno je da razvijaju teži oblik bolesti koju karakterizira dispneja, hipoksija ili zahvaćenost više od 50% plućnog parenhima. Vrlo težak oblik bolesti razvija 6% oboljelih.

Kod teških kliničkih slučajeva simptomi vrlo brzo napreduju u razvoj akutnoga respiratornog distres sindroma (ARDS), respiratornog zatajenja, septičkog šoka te multiorganskog zatajenja koje u konačnici rezultira smrtnim ishodom. Što su teži klinički simptomi, to je veća stopa smrtnosti (8-9).

Učestalost pojave određenih simptoma varira ovisno o varijanti virusa. Neki od najčešćih simptoma su povišena tjelesna temperatura, suhi kašalj, otežano disanje, bolovi u mišićima i umor. Ostali simptomi koji se također mogu javiti ovisno o varijanti virusa su glavobolja, grlobolja, dijareja i mučnina (9).

COVID-19 nije bolest kod koje simptomi uvijek potpuno prestaju nakon dva do tri tjedna od oboljenja. Moguća je pojava i post-COVID-19 sindroma koji je karakteriziran dugoročnim simptomima bolesti. Stanja koja se javljaju nakon akutne bolesti COVID-19 smatraju se produljenim ili otežanim oporavkom od bolesti. Pojava dugotrajnih simptoma nakon preboljenja nije povezana s intenzitetom simptoma tijekom akutne bolesti. Dakle, sindrom se može javiti kod svih oblika težina bolesti, uključujući i asimptomatske pacijente i one s blagim ili umjerenim infekcijama. U Tablici 1. prikazani su najčešće prijavljivani simptomi stanja nakon COVIDA (10).

Tablica 1. Simptomi post-COVID stanja

bol u prsima	89%
umor	65%
otežano disanje	61%
suhi ili produktivni kašalj	59%
kognitivna disfunkcija i poremećaj pamćenja	57,1%
bol u zglobovima	54,7%
poremećaji spavanja	53%
bolovi u mišićima	50,6%
funkcionalna oštećenja	50%

1.1.4. Dijagnoza, liječenje i prevencija

Dijagnoza akutne bolesti COVID-19 vrši se detekcijom specifične virusne RNK pomoću PCR (engl. Polymerase chain reaction, PCR) testa. Specifičnost PCR testova koji se provode je visoka te ne pokazuje reaktivnost s drugim vrstama koronavirusa, jednako kao ni s ostalim respiratornim virusima. Test se provodi uzimanjem brisa najčešće nazofarinksa, ali je moguće i obriscima ždrijela, sputuma, bronhoalveolarnih lavata i aspirata traheje u kojima se zatim nastoji detektirati virusna RNK. Najveću osjetljivost od čak 93% imaju PCR testovi u obriscima bronhoalveolarnog lavata. Virusna RNK može se detektirati u obrisku nazofarinksa dan prije pojave prvih simptoma bolesti pa sve do 7- 20 dana nakon pojave prvih simptoma. Iako još uvijek ne postoje dokazi o feko-oralnom prijenosu infekcije, prijenosu putem mokraće i krvlju, virusna RNK može se detektirati i u stolici 50% inficiranih pacijenata čak i dulji vremenski period u odnosu na nazofarinks (11).

Osim spomenutog PCR testa za dijagnozu akutne bolesti primjenjuju se i brzi antigenski testovi (BAT). Antigenski testovi su pouzdani imunološki testovi koji se koriste za kvalitativno dokazivanje prisutnosti specifičnih antigena SARS-CoV-2. Princip BAT- a je detekcija proteina u uzetom obrisku nazofarinksa koji su funkcionalni ili strukturni dijelovi virusa te su specifični upravo za taj određeni virus. Ukoliko u uzetom uzorku (obrisku nazofarinksa) ima dovoljna količina specifičnog antigena doći će do vezanja sa specifičnim antitijelima te će kao rezultat testiranja biti vidljiv signal (linija) na pločici za testiranje. U tome slučaju BAT test bit će okarakteriziran kao pozitivan zbog detekcije virusnog proteina, antigena u uzorku. Antigenski testovi nisu osjetljivi i specifični kao molekularni PCR testovi koji detektiraju virusnu RNK i na taj način dokazuju postojanje virusa u organizmu, međutim njihova prednost je u brzini dobivanja rezultata testiranja te mjestu izvođenja testiranja. Rezultati brzih antigenskih testova biti će vidljivi nakon svega 10- ak minuta od uzimanja brisa te se testiranje može provoditi bilo gdje. Također, prednost BAT-a je i ta da se osobe mogu samostalno testirati (npr. u svojim domovima) ukoliko imaju sumnju na infekciju COVIDOM-19 (12).

Serološka testiranja ne koriste se za dokazivanje akutne bolesti COVID-19 zato što još uvijek ne postoje pouzdani podatci o tome kada se razvijaju prva antitijela na virus, koliko se dugo ona zadržavaju u organizmu, kakav oblik zaštite pružaju, koliko takav oblik zaštite traje u organizmu te imaju li mogućnost zaštite kod reinfekcije. Serološki ELISA testovi za detekciju IgM i IgG protutijela mogu se primjenjivati kod osoba koje su imale simptome bolesti, ali su bile negativne na PCR ili BAT testiranju. Ovakva vrsta testiranja može biti od

koristi kod dobivanja podataka o tome koliko je ljudi imalo asimptomatski oblik bolesti te o kolektivnoj imunosti pojedinih skupina (11).

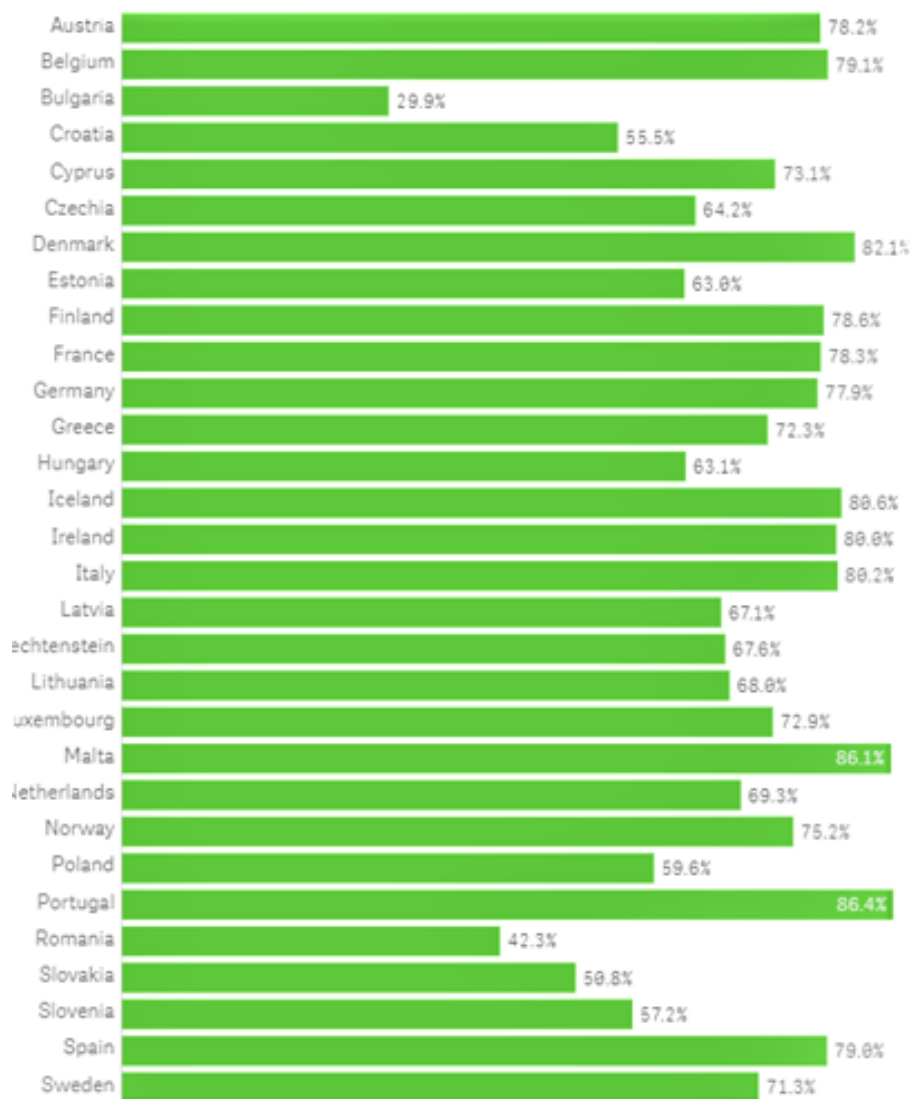
Liječenje blagih do umjerenih kliničkih simptoma kod akutne bolesti usmjereno je na ublažavanje simptoma bolesti antipireticima i analgeticima. Za teže oblike infekcija još uvijek nisu razvijeni antivirusni lijekovi protiv virusa SARS-CoV-2. U takvim slučajevima upotrebljavaju se lijekovi s antivirusnim i imunomodulacijskim učinkom koji se koriste u većini europskih zemalja i Sjedinjenim Američkim Državama za liječenje nekih drugih virusnih infekcija poput HIV- a, malarije i reumatoidnog artritisa. Istraživački tim Shanghai Institute of Materia Medica i Shanghai Tech University u siječnju 2020. godine objavio je imena 30 supstanci za koje se potencijalno smatra da imaju antivirusni učinak na SARS-CoV-2. Među navedenim supstancama nalazi se i lijek remdesivir. Remdesivir je jedini lijek za koji je u provedenoj američkoj studiji Adaptive COVID-19 Treatment Trial na hospitaliziranim bolesnicima dokazano brže ozdravljenje (31% brže vrijeme do oporavka, odnosno 11 dana u odnosu na pacijente koji nisu primali lijek, 15 dana) i niža stopa smrtnosti (8,0% za skupinu bolesnika koja je primala lijek, u odnosu na placebo skupinu, 11,6%). Iz tog razloga, već u svibnju 2020. godine Agencija za hranu i lijekove SAD-a dala je odobrenje za primjenu remdesvira (11). Europska agencija za lijekove (EMA) je do studenog 2021. godine sastavila popis 10 terapeutika među kojima su različita antivirusna monoklonska antitijela, oralni antivirusni lijekovi i imunomodulatori. Navedeni terapeutici bi u najkraćem mogućem roku, nakon što EMA potvrdi njihovu djelotvornost i sigurnost, trebali omogućiti liječenje pacijenata u cijeloj Europskoj uniji. Jedini lijek s uvjetnim odobrenjem za liječenje pacijenata s akutnom bolešću COVID-19 koji primaju kisik u Europskoj uniji je remdesivir (13). Unatoč odobrenju i primjeni remdesivira u državama članicama Europske unije te Sjedinjenim Američkim Državama, kineske studije s remdesivirom kod bolesnika s teškim oblikom pneumonije nisu pokazale učinkovitost.

S obzirom na to da još uvijek nije definiran lijek koji bi imao antivirusno djelovanje protiv SARS-CoV-2 te da se remdesivir i hidroksiklorokin primjenjuju kao „potezi iz očajja“ u borbi protiv COVID-19 bolesti kod pacijenata s vrlo teškim kliničkim slikama, brojne države i svjetska znanstvena zajednica ulažu velike napore i nade u proizvodnju i primjenu cjepiva protiv SARS-CoV-2. Glavnim oblikom prevencije protiv ove akutne bolesti smatra se upravo cjepivo. Već u siječnju 2020. godine kineske vlasti su obavile sekvencioniranje i objavile cijeli slijed genoma koronavirusa. Upravo to je omogućilo proizvodnju više od 33 različite vrste cjepiva koja se primjenjuju u više doza, ovisno o vrsti cjepiva. Tipovi cjepiva koji se

koriste ili su još uvijek u kliničkim istraživanjima za suzbijanje COVID-19 pandemije su virusna cjepiva (inaktivirana ili oslabljena virusna cjepiva, živa oslabljena cjepiva i inaktivirana cjepiva), cjepiva s virusnim vektorom (virusna vektorska cjepiva, vektorska cjepiva nesposobna za replikaciju i vektorska cjepiva sposobna za replikaciju), cjepiva od nukleinskih kiselina (DNK i RNK cjepiva) te proteinska cjepiva. Ubrizgavanje cjepiva u neimunu osobu izaziva aktivan imunitet protiv istih, ali modificiranih patogena (14).



Slika 4. Zbirni postotak (%) procijepljenosti stanovništva država članica EU/EEA do 21.07.2022. (Preuzeto sa: <https://qap.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker.html#uptake-tab>)

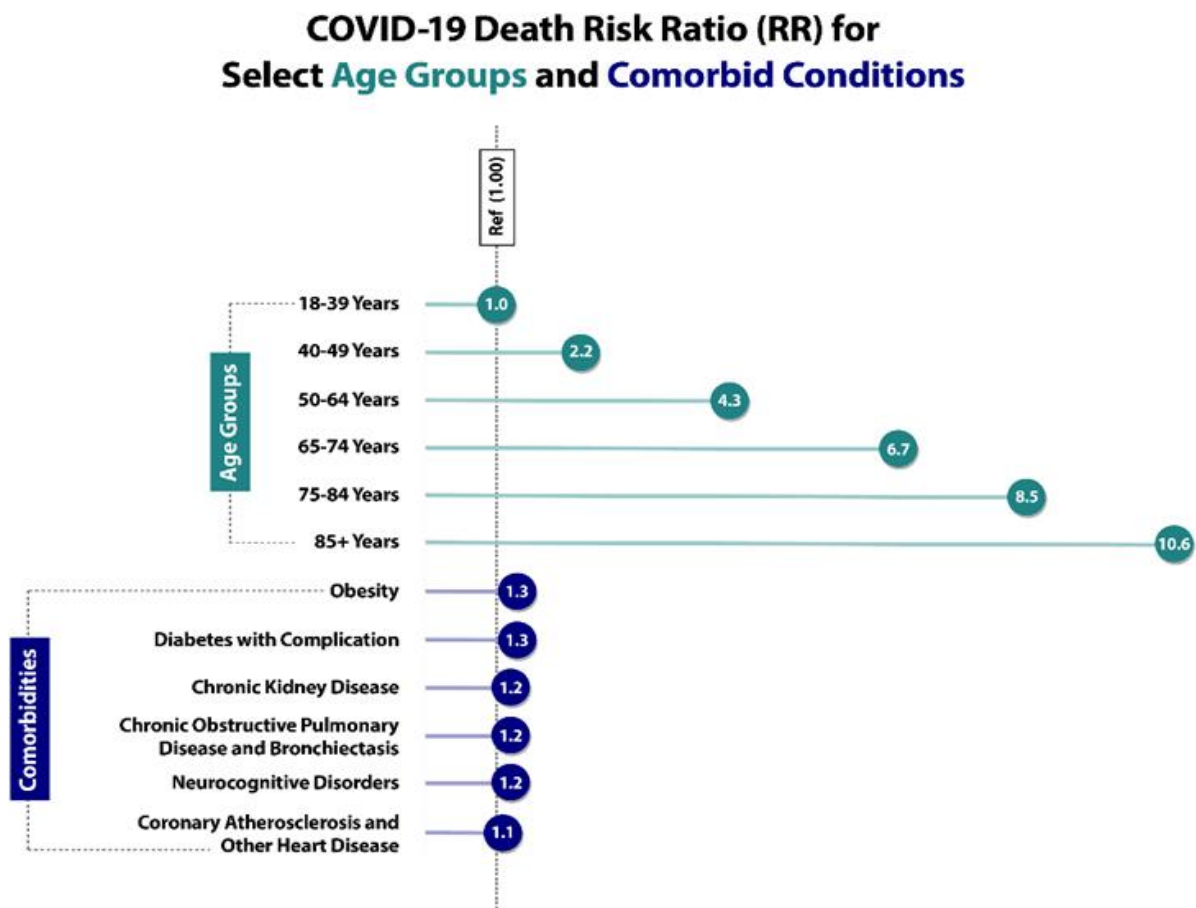


Slika 5. Postotak (%) procijepljenosti stanovništva za svaku državu članicu EU/EEA pojedinačno do 21.07.2022. (Preuzeto sa: <https://qap.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker.html#uptake-tab>)

Do 21.07.2022. cijepljeno je 909 316 429 osoba u Europi (15) te 12 248 795 623 osobe u cijelome svijetu (3). U Hrvatskoj je do 27.07.2022. cijepljeno oko 2 246 200 osoba s dvije doze cjepiva (4).

1.1.5. Geni i COVID-19

Poznato je da brojni čimbenici utječu na povećanje rizika od oboljenja i razvoja teških oblika infekcije SARS-CoV-2 virusom. Starija životna dob pacijenata smatra se najvećim rizikom od razvijanja teškog oblika akutne bolesti uz koju se još navode i kronične bolesti, pretilost, dijabetes, kardiovaskularne bolesti, rak, autizam i imunodeficijencija. Što je veći broj komorbiditeta kod pacijenta, to je veći rizik od razvoja teških kliničkih simptoma (Slika 6). Prema statističkim istraživanjima rizik povećava i spol. Veća stopa respiratorne intubacije, duži boravak u bolnici te veći mortalitet zabilježen je kod muškog spola u svim dobnim skupinama, rasama, etničkoj pripadnosti i slično, u odnosu na žene (16,17).



Slika 6. Rizik za smrtnost od COVID-19 bolesti prema dobnim skupinama i komorbiditetima (Preuzeto sa: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/coronaviruses>)

Uz okolišne, društvene i kliničke čimbenike koji imaju važnu ulogu u mogućnosti izlaganja virusu SARS-CoV-2 i težini bolesti COVID-19, genetika domaćina također može imati utjecaj na razvoj infekcije. Genetičke osobitosti mogu, prema nekim studijama, potencijalno objasniti razvoj različite težine infekcije i osjetljivost na infekciju, odnosno zašto neki pacijenti razviju vrlo teške kliničke simptome dok drugi bolest prebole asimptomatski (18).

Do danas su provedene brojne genetičke studije koje su, koristeći različite pristupe, od epidemioloških do cijelogenomskih asocijacijskih studija (engl. Genome Wide Association Studies, GWAS), identificirale genetičke varijante koje mogu utjecati na podložnost i težinu bolesti COVID-19. Tako su se kao moguće rizične varijante pokazale neke koje utječu na ekspresiju ACE-2 enzima (geni za ACE-2, ACE-1, gen za transmembransku serin proteazu TMPRSS2, gen za androgeni receptor AR), potom genetičke varijante koje utječu na imunosni odgovor protiv COVID-19 (geni za apolipoprotein E, tumorski faktor nekroze TNF-alpha, complement C3, Toll-like receptor TLR7, kemokinski receptor CCR5 itd.), kao i određene varijante humanog sustava tkivne snošljivosti HLA ili ABO krvnih grupa (19).

Posebice treba istaknuti regiju kromosoma 3p21.31 koja sadrži skupinu od 6 gena te je jedina okarakterizirana kao glavni rizični lokus koji dvostruko povećava rizik od razvoja teškog oblika akutne bolesti na razini genoma (19).

1.2. Kemokini

Kemokini ili kemotaksijski citokini važna su obitelj proteinskih signalnih molekula koja pokazuje veliku ulogu u imunoreakcijama tijekom infekcija ili tumorskog rasta. Za kemokine kažemo da su sekundarni proupalni medijatori koji su inducirani primarnim proupalnim medijatorima kao što su interleukin-1 (IL-1) ili faktor tumorske nekroze (TNF). Kemokine karakterizira kemotaksija, odnosno sposobnost da reguliraju kretanje leukocita tijekom upalnog odgovora. Kemokini imaju mogućnost stabilizacije veze leukocita za endotel krvnih žila i usmjeravanja gibanja leukocita u smjeru gradijenta kemokina koji raste prema mjestu upale ili infekcije. Osim u kemotaksiju, kemokini su uključeni i u fiziološke funkcije organizma kao što su hematopoeza, angiogeneza, diferencijacija stanica, fagocitoza, adhezija, stanična aktivacija, stanična proliferacija, citokinska sekrecija te apoptoza. Za kemokine je poznato da ih mogu lučiti gotovo sve stanice u organizmu. Kod bilo kakvog podražaja tkiva

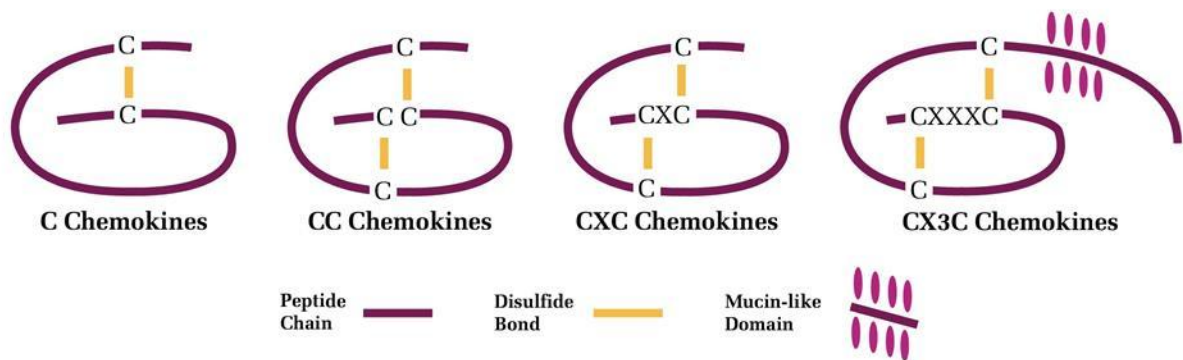
ili poticaja produktima mikroorganizama luče ih upalne i imunosne stanice, najčešće makrofagi i dendritične stanice. Također, utvrđeno je da se određeni kemokini luče i u limfnim organima gdje reguliraju cirkulaciju i usmjerenu migraciju limfocita i dendritičnih stanica u limfne organe.

U prošlosti su kemokini svrstavani u širu skupinu citokina, međutim danas je za kemokine poznato da su znatno manji u odnosu na citokine te da djeluju preko receptora povezanih s G-proteinom. Već izlučeni proupalni citokini također mogu poticati proizvodnju kemokina.

Prema funkciji kemokini se dijele u dvije skupine. Prva skupina kemokina ili homeostatski kemokini uključeni su općenito u imunosni nadzor, promet limfocita i lokalizaciju antigen prezentirajućih limfocita u imunosnom sustavu. Drugu skupinu kemokina ili upalne kemokine proizvode samostalno stanice za vrijeme upale ili infekcije. Također, u ovu skupinu kemokina spadaju i oni kemokini koji slijede proupalni podražaj i brzu migraciju leukocita do mjesta upale ili infekcije. Kemokini iz ove skupine mogu aktivirati stanice i potaknuti ih na pojačavanje imunosnog odgovora kako bi na taj način i same stanice sudjelovale i pomogle u borbi s upalom ili infekcijom. (19-21).

1.2.1. Građa kemokina

Kemokini su mali proteini molekularne mase 6-14 kilodaltona (kDa) te sadrže približno 70-130 aminokiselina. Dije se prema svojim N-cisteinskim terminalnim ostacima. Cisteini omogućavaju terciarnu strukturu kemokina preko disulfidnih veza, intramolekularnih veza koje stabiliziraju čitavu strukturu. Unatoč tome što je sličnost u sekvenci aminokiselina između kemokina mala, njihova terciarna struktura je slična. Razmak između prva dva cisteina određuje tip kemokina. Kemokini uglavnom posjeduju najmanje četiri cisteina koji tvore disulfidne veze, jednu između prvog i trećeg cisteina, a drugu između drugog i četvrtog cisteina (20-22).



Slika 7. Građa kemokina (Preuzeto sa: <https://www.peprotech.com/to/chemokines?ri=45>)

Iako se još uvijek stalno otkrivaju novi kemokini, do sada je poznato i opisano oko 50 kemokina. S obzirom na položaj prva dva cisteina kemokini se dijele u četiri skupine: CXC (alfa), CC (beta), C (gama) i CX3C (delta). X označuje bilo koju aminokiselinu koja je smještena između dva cisteina (Slika 7). Prvi otkriveni i opisani bili su alfa i beta kemokini. Alfa kemokini (CXC) obuhvaćaju 16 različitih kemokina kod kojih su prva dva cisteina odijeljena s jednom aminokiselinom. Predstavnik alfa kemokina je IL- 8 te navedena skupina djeluje na leukocite i limfocite. Najpoznatiji predstavnici beta kemokina (CC) su makrofagni upalni i makrofagni kemotaktički proteini, MIP i MCP koji djeluju na monocite- makrofage i limfocite. Sadrže 18 različitih kemokina te ih karakteriziraju prva dva cisteina koja su smještena jedan do drugoga. Gama kemokini (C) strukturno su najbližnji beta kemokinima te posjeduju samo dva cisteina koja odgovaraju drugom i četvrtom cisteinu drugih kemokina. U gama kemokine ubrajaju se limfotaktin alfa i limfotaktin beta. Tri aminokiseline odijeljuju prva dva cisteina kod delta kemokina (CX3C) koji imaju samo jednog predstavnika, fraktalkin (20-22).

1.2.2. Kemokinski receptori

Kemokini djeluju preko kemokinskih receptora. Kemokinski receptori pripadaju velikoj obitelji receptora vezanih za G-proteine koje karakterizira privlačenje leukocita. Mogu se nalaziti na različitim stanicama, a većina kemokinskih receptora smještena je u membrani

koju presjecaju sedam puta u obliku alfa uzvojnice (Slika 8). Kemokinski receptori se osnovnom podjelom dijele u dvije skupine:

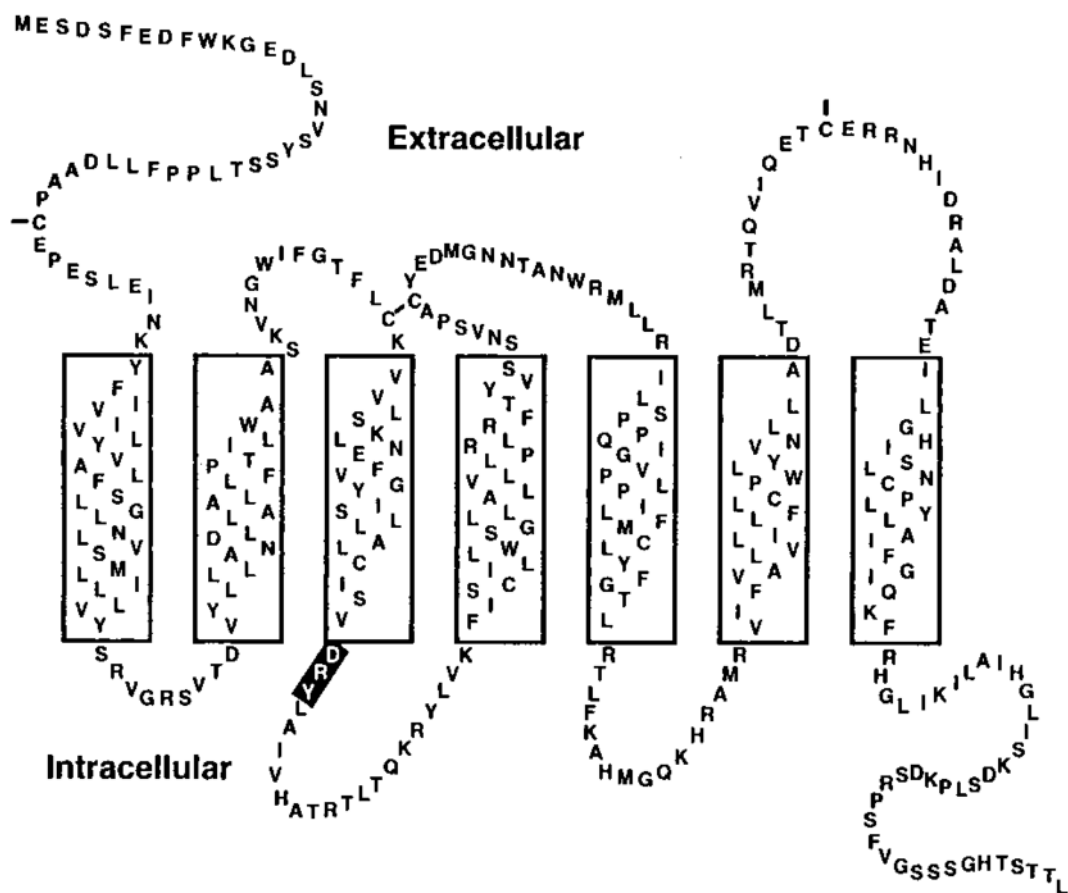
1. G-protein-spareni kemokinski receptori koji zajedno usklađuju kretanje leukocita kroz krv
2. „atipični“ kemokinski receptori koji mogu osim G-protein sparenih receptora koristiti i druge mehanizme kao signalizirajuće medije te koji mogu pronalaziti i smanjivati upalu ili infekciju

Dizajnirani su prema modelu kemokina te ovisno o kemokinima koji se na njih vežu podijeljeni su u četiri skupine: CXCR1 do CXCR6, CCR1 do CCR10, XCR1 i CXXXCR1. Unutar istog razreda kemokinski receptori sadrže i do 50% zajedničkih homolognih slijedova, dok je izvan razreda taj postotak manji, oko 30%. Osim navedene sličnosti, kemokinski receptori imaju i određene zajedničke strukturalne karakteristike: peptidni lanac im je sastavljen od oko 350 aminokiselina, sadrže kratak i kiseli N-terminalni kraj u kojem su smješteni cisteinski nastavci u obliku tri alfa uzvojnice, kojima premošćuju membranu te koji tvore intermolekularne disulfidne veze.

Kolika je važnost interakcije između kemokina i kemokinskog receptora te prisutstvo različitih kemokinskih receptora na istoj stanici, pokazuje nam činjenica da dvije vrste kemokinskih receptora, CCR5 koji je najčešće smješten na makrofagima, dendritičnim stanicama i limfocitima CD4+ te CXCR4 koji je smješten na aktiviranim T stanicama, djeluju kao glavni koreceptori za ulazak virusa HIV- a u stanicu.

Posljedica prisutstva različitih kemokinskih receptora na istoj stanici te sposobnost pojedinog kemokinskog receptora da veže više vrsta kemokina naziva se plejotropnost.

Nakon što se kemokin veže za kemokinski receptor dolazi do vezanja kemokinskog receptora s G-proteinom što posljedično dovodi do razdvajanja proteina na dvije podjedinice. Nastali unutarstanični signal ovisi o sparivanju kemokinskih receptora s G-proteinima. Prilikom vezanja receptora s G-proteinom, G-protein prelazi u aktivni oblik zamjenom GDP- a (guanin difosfat) s GTP- om (guanin trifosfat). Kao rezultat vezanja receptora i G-proteina dolazi do aktivacije upalnih gena i promjene staničnog metabolizma (20-22).



Slika 8. Struktura kemokinskog receptora s tri ekstracelularne i tri intracelularne petlje te sedam transmembranskih domena (Preuzeto sa: https://www.researchgate.net/figure/Two-dimensional-scheme-of-the-CXCR2-The-highly-conserved-DRY-motif-is-highlighted-the_fig3_12860725)

1.2.3. CCR5 receptor

Gen koji kodira sintezu kemokinskog receptora CCR5 nalazi se na lokusu humanog kromosoma 3p21. Sastoji se od četiri egzona i samo dva introna, dokazano je odsustvo introna između drugog i trećeg egzona. CCR5 kemokinski receptor je G-protein sparni receptor koji regulira funkciju i kretanje T-stanica, makrofaga i dendritičkih stanica. CCR5 receptor se koristi kao stanični receptor za MIP- 1a (engl. macrophage inflammatory protein- 1), MIP- 1 i RANTES (engl. Regulated on Activation, Normal T- cell Expressed and Secreted) kemokine.

Već neko vrijeme istražuje se ponašanje ranije navedena tri kemokina te njihovog receptora CCR5 kod osoba oboljelih od HIV-a. Utvrđeno je da je virusu HIV-a tipa 1

potreban CCR5 kemokinski receptor koji se nalazi na membrani za ulazak u stanicu i širenje infekcije, iako postoje i drugi stanični proteini koje virus može koristiti kako bi ušao i inficirao stanicu. Ukoliko je gen za sintezu CCR5 receptora mutiran, tada će CCR5 receptoru nedostajati dio strukture. Takav receptor nije moguće prenijeti na vanjsku površinu T limfocita (20-22).

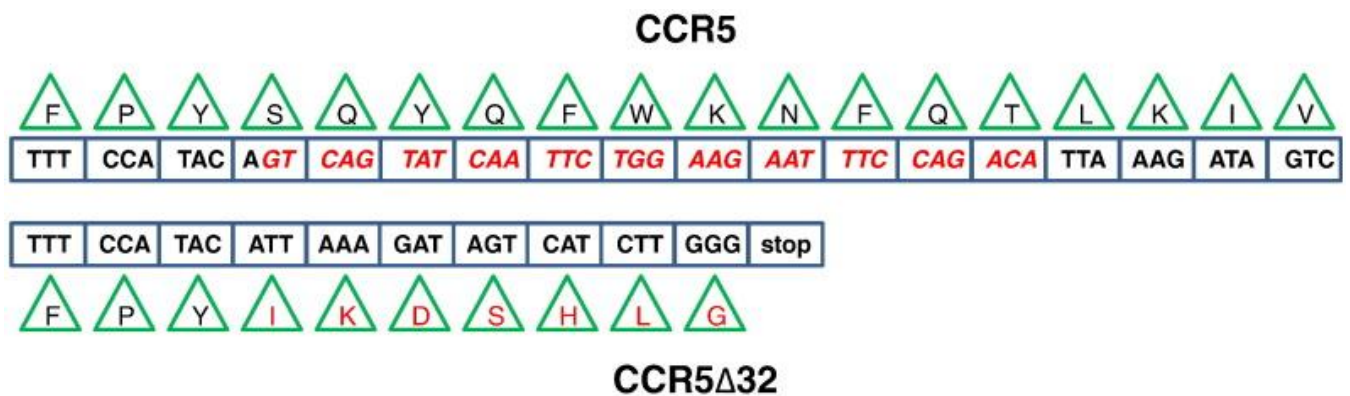
1.2.4. Genske karakteristike CCR5-Δ32 mutacije

Genska mutacija CCR5-Δ32 označava deleciju, odnosno gubitak 32 parova dušičnih baza. Slika 9. prikazuje dio genske strukture gena koji sintetizira CCR5 kemokinski receptor u normalnom i mutiranom obliku. Na gornjoj liniji vidljiv je nukleotidni slijed gena koji se kodira u normalan CCR5 kemokinski receptor, dok donja linija prikazuje mutirani receptor nastao uslijed delecije 32 parova baza. Delecijom kodirajuće regije dolazi do nastanka preuranjenog stop kodona te proizvodnje lanca duljine 215 aminokiselina umjesto prave duljine od 352 aminokiseline. Takav nastali mutirani protein nije izražen na površini stanice te je nefunkcionalan.

Iako ova mutacija uzrokuje oštećenje receptora što posljedično dovodi i do njegove disfunkcionalnosti, smatra se kako mutacija ovakvog tipa nema negativan učinak na ljudski organizam. Upravo suprotno, već duži niz godina predmet istraživanja je infekcija virusom HIV- a za koji se smatra da ne može ući i inficirati stanicu ukoliko je u organizmu prisutna ovakva vrsta mutacije, CCR5-Δ32. Da bi se stekla potpuna imunost na HIV, osoba mora naslijediti mutirani gen za sintezu CCR5 receptora od oba roditelja. Ukoliko se mutirani gen naslijedi od samo jednog roditelja neće biti prisutan ovakav način zaštite od infekcije virusom HIV- a, međutim smatra se da u takvim slučajevima postoji mogućnost da bolest sporije napreduje uslijed smanjene količine funkcionalnih CCR5 kemokinskih receptora (20-22).

Osobe mogu biti homozigoti i heterozigoti za mutirani gen. Kod osoba koje su homozigoti delecija je prisutna na oba kromosoma te su takve osobe prirodno imune na infekciju pojedinih podvrsta HIV-a (20-22). Međutim, suprotno navedenom, homozigotnost za CCR5-Δ32 alel predstavlja snažan čimbenik rizika za simptomatsku infekciju virusom zapadnog Nila i korelira s teškim simptomima infekcije virusa krpeljnog encefalitisa. Također je dokazano da su pacijenti s CCR5-Δ32 mutacijom izloženi većem riziku od opće populacije za smrtni ishod infekcije gripom (23-25).

Ova mutacija prisutna je u oko 10% populacije unutar 34 europske zemlje te je najzastupljenija u zemljama Sjeverne Europe (9,2- 15,8%) dok se u zemljama Južne Europe učestalost mutacije smanjuje. Mutacija je vrlo rijetka u zemljama Azije i Afrike. Učestalost mutacije u Hrvatskoj od 7% odgovara europskm gradijentu koji se smanjuje sa sjevera prema jugu (26).



Slika 9. Prikaz CCR5- Δ 32 mutacije (Preuzeto sa: <https://europepmc.org/article/PMC/5133339>)

1.3. CCR5- Δ 32 mutacija i COVID-19

Do danas je provedeno nekoliko epidemioloških istraživanja u svijetu, ali i u Europi, u kojima je analizirana povezanost različite prevalencije i smrtnosti od COVID-19 s CCR5- Δ 32 mutacijom.

Prvu studiju proveli su Panda et al. (27) u lipnju 2020. godine ispitujući utjecaj CCR5- Δ 32 mutacije na varijabilnu učestalost infekcije SARS-CoV-2 virusom i posljedičnu smrtnost u 107 svjetskih zemalja. Rezultati su pokazali iznimno značajnu pozitivnu korelaciju između prevalencije i smrtnosti uzrokovanih COVID-19 bolesti te frekvencije CCR5- Δ 32 mutacije. Također, uočeno je da veća učestalosti CCR5- Δ 32 mutacije korelira s povećanom stopom smrtnosti u Afričkoj populaciji. Navedeni rezultati govore u prilog pretpostavci da bi CCR5- Δ 32 mutacija mogla biti rizični čimbenik za razvoj i težinu bolesti COVID-19.

Gotovo istodobno Starčević Čizmarević et al. (28) provode istraživanje u Europi, obuhvativši 39 europskih zemalja, pri čemu ne utvrđuju značajnu povezanost između učestalosti CCR5-Δ32 mutacije s prevalencijom i smrtnošću od COVID-19. Navedeno istraživanje ograničeno je na područje Europe, gdje populacije imaju sličnu genetsku pozadinu i gdje nema velikih razlika u drugim varijablama kao što su biološki, okolišni i društveni čimbenici koji bi mogli utjecati na prevalenciju i smrtnost od COVID-19, za razliku od azijskih i afričkih zemalja. Također, tijekom analize uzete su u obzir dvije značajne varijable koje bi mogle biti tzv. zbunjujući čimbenici (engl. confounding factors), a to su broj provedenih dijagnostičkih testiranja na SARS-CoV-2 i broj dana od početka pandemije za svaku ispitanu zemlju. Dakle, u navedenoj studiji rezultati nisu pokazali da CCR5-Δ32 mutacija može objasniti varijabilnu prevalenciju i smrtnost od COVID-19 u europskim zemljama.

Svakako treba naglasiti da su oba navedena epidemiološka istraživanja provedena tijekom prvog vala pandemije SARS-CoV-2 virusom 2020. godine, nakon čega se epidemiološka situacija iznimno promijenila s dolaskom drugog vala.

Studiju koju je proveo Saadat (29) u prosincu 2020. godine u 82 zemlje svijeta obuhvatila je podatke o broju slučajeva i smrtnosti tijekom drugog vala pandemije. U istraživanje su kao mogući zbunjujući faktori uključeni broj prethodno obavljenih dijagnostičkih testova, kao i HDI (engl. Human Development Index), u svakoj od obuhvaćenih zemalja. Vrijednost HDI odražava tri glavne dimenzije ljudskog razvoja kao što su očekivani životni vijek pri rođenju, obrazovanje i bruto nacionalni dohodak po stanovniku (BDP). Rezultati su pokazali da je visoka učestalost CCR5-Δ32 mutacije značajno povezana s višom prevalencijom i smrtnosti od COVID-19, odnosno da djeluje rizično na mortalitet i prevalenciju.

S obzirom na promjene koje su uslijedile tijekom pandemije Starčević Čizmarević et al. (30) su učinili statističku reanalizu na istih 39 europskih zemalja na kojima je provedena i prva studija tijekom prvog vala (28). Podatci su uzeti 01.02.2021. godine što bi bilo točno godinu dana od početka pandemije, a dobiveni rezultati su pokazali da CCR5-Δ32 mutacija ima protektivan učinak na infekciju SARS-CoV-2 virusom.

Pored gore navedenih epidemioloških istraživanja provedene su tri studije koje su ispitivale CCR5-Δ32 mutaciju kod pacijenata oboljelih od COVID-19, i koje su dale različite rezultate o tome djeluje li ona protektivno ili ne na simptomatsku infekciju SARS-CoV-2

virusom. Tako su Hubacek et al. (31) u češkoj populaciji proveli istraživanje na 2 404 zdrava ispitanika te 164 pacijenata pozitivnih na SARS-CoV-2 bez simptoma i 252 pacijenta koji su razvili simptomatsku infekciju. Istraživanje je pokazalo da je 21% opće populacije nositelj barem jednog CCR5-Δ32 alela, a frekvencija CCR5-Δ32 mutacije je iznosila 11,4%. Daljnjom analizom uočena je slaba, ali značajna učestalost pojave CCR5-Δ32 mutacije između promatranih skupina. Najveći broj nositelja CCR5-Δ32 alela nalazio se u SARS-CoV-2 pozitivnoj skupini bez simptoma bolesti (23,8%), zatim u kontrolnoj skupini (21%), te je najmanji broj u COVID-19 pozitivnoj skupini sa simptomima bolesti (16,7%). Kako CCR5-Δ32 alel štiti ljude od COVID-19 bolesti još uvijek je nepoznato, ali se pretpostavlja da bi inhibicija CCR5 receptora mogla imati veliku ulogu u liječenju COVID-19 bolesnika (31). Rezultati studije odgovaraju krajnjem ishodu studije Severe COVID-19 GWAS grupe u kojoj su detektirana dva osnovna signala povezana s teškom kliničkom slikom COVID-19 bolesnika. Najjači signal lociran je unutar sustava ABO krvnih grupa, dok je drugi uočen na 3p21.31 lokusu u blizini CCR5 receptora i brojnih drugih kemokinskih receptora (32). Zaključno, Hubacek et al. (31) smatraju da je Δ32 delecija CCR5 genu potencijalno protektivna za simptomatski razvoj COVID-19.

U studiji provedenoj na španjolskoj populaciji Cuesta- Llavona et al. (33), uočili su također protektivan učinak CCR5-Δ32 mutacije na simptomatski razvoj infekcije. Tijekom analize genotipiziran je 801 hospitaliziran pacijent (od kojih je 353 imalo težak oblik bolesti koji je zahtijevao liječenje na jedinici intenzivne njege) te 650 osoba iste dobi kao kontrolna skupina. Drugu kontrolnu skupinu činilo je 210 starijih članova populacije koji nisu preboljeli COVID-19 ili su imali umjerene simptome koji nisu zahtijevali hospitalizaciju. Uočena je značajno manja učestalost CCR5-Δ32 mutacije kod pacijenata oboljelih od COVID-19 u odnosu na kontrolne skupine. Značajna razlika zabilježena je i kod znatno smanjene učestalosti CCR5-Δ32 mutacije kod hospitaliziranih pacijenata s teškim kliničkim simptomima (koja je iznosila 10%) u odnosu na pacijente s umjerenom kliničkom slikom (kod kojih je učestalost pojave CCR5-Δ32 mutacije iznosila 14%). S obzirom na to da CCR5 još uvijek nije prepoznat kao receptor za SARS-CoV-2, Cuesta- Llavona et al. (33) smatraju da je najvjerojatnije objašnjenje protektivnog učinka oslabljeni upalni odgovor nositelja Δ32 delecije.

Suprotno dosad navedenom, Bernas et al. (34) u svojoj studiji koju su proveli u njemačkoj populaciji nisu uočili protektivan učinak mutacije. U istraživanju je sudjelovalo 110 544 donora matičnih stanica od kojih je 22 203 (20,1%) imalo CCR5-Δ32 mutaciju.

Prevalencija mutacije je analizirana u četiri grupe sudionika prema prijavljenom medicinskom statusu: osobe sa SARS-CoV-2 infekcijom, simptomatske infekcije, teška infekcija respiratornog sustava i respiratorna hospitalizacija. Pacijentima s teškom kliničkom slikom podrazumijevali su se oni koji su imali kombinaciju kašlja i povećane tjelesne temperature, kašlja i dispneje, povećane tjelesne temperature i dispneje i slično. Navedena skupina sadržavala je i podgrupu pacijenata kojima je bila potrebna bolnička njega sa ili bez terapije kisikom ili mehaničkom ventilacijom. Učinak CCR5-Δ32 mutacije na rizik od infekcije SARS-CoV-2 i razvoj teške kliničke slike analiziran je uz prilagodbu za spol, dob, pacijente oboljele od dijabetesa, pacijente s arterijskom hipertenzijom, pušački status i mjesec testiranja. Od cjelokupnog broja u registru donora matičnih stanica njih 5 536 sudionika prijavilo je COVID-19 infekciju, od kojih je 498 imalo asimptomatsku infekciju, a 1 227 pacijenata imalo je tešku infekciju respiratornog trakta (od toga 164 je bilo hospitalizirano). Distribucija CCR5 genotipova nije se značajno razlikovala između inficiranih i neinficiranih pacijenata. Također, nisu uočene značajne razlike u prevalenciji CCR5-Δ32 mutacije kod pacijenata različite težine bolesti jednako kao ni kod asimptomatskih i simptomatskih pacijenata. Zaključno, rezultati su pokazali da CCR5-Δ32 mutacija ne predstavlja rizični čimbenik za SARS-CoV-2 infekciju niti determinira težinu bolesti u njemačkoj populaciji.

2. CILJ RADA

COVID-19 zarazna je bolest uzrokovana SARS-CoV-2 virusom, koja se u vidu pandemije proširila diljem svijeta. Poznato je kako je u pitanju iznimno složena multifaktorijalna bolest kod koje pored brojnih okolišnih, društvenih i socio-ekonomskih čimbenika značajnu ulogu ima genetika domaćina. Brojna istraživanja usmjerena su na identificiranje genetičkih biomarkera koji bi mogli utjecati na predispoziciju za infekciju i/ili težinu kliničke slike bolesnika. Jedan od potencijalnih biomarkera je i CCR5-Δ32 mutacija, uzimajući u obzir njenu ulogu u različitim virusnim infekcijama, posebice protektivan učinak kod infekcije virusom HIV-a. Malobrojna dosadašnja epidemiološka istraživanja utjecaja CCR5-Δ32 mutacije na prevalenciju i mortalitet kod COVID-19 bolesti dala su proturiječne rezultate. Stoga je cilj našeg rada bio učiniti statističku reanalizu nakon dvije godine od početka pandemije SARS-CoV-2 virusom u 39 europskih zemalja i pokušati rasvijetliti još uvijek kontroverzan učinak CCR5-Δ32 mutacije na COVID-19.

3. MATERIJALI I POSTUPCI

U provedenom istraživanju predstavljamo statističku reanalizu vjerodostojnih podataka preuzetih 01. veljače 2022. godine, dvije godine nakon što je Svjetska zdravstvena organizacija proglasila pandemiju bolesti COVID-19.

3.1. Materijali i postupci

Podatci o učestalosti CCR5-Δ32 mutaciji u općim populacijama 39 europskih zemalja preuzeti su od Solloch et al. (35). Također, podatci o prevalenciji (broj slučajeva/10⁶ stanovnika), mortalitetu (broj smrtnih ishoda/10⁶ stanovnika), broj dijagnostičkih testova na 10⁶ stanovnika i vrijeme izraženo u danima koje je proteklo od 01. veljače 2021. u svakoj pojedinoj zemlji u kojoj se provodilo istraživanje preuzeti su sa webstranice WorldOMeter (www.worldometers.info/coronavirus/countries; pristupljeno 01.02.2022.) (36). Podatci o procijepljenosti stanovništva preuzeti su sa <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>, a podatci o HDI- u sa <https://hdr.undp.org/en/countries> (36). Provedena analiza uključivala je zemlje prikazane u Tablici 2, kao i podatke o procijepljenosti stanovništva te HDI-u.

Tablica 2. Popis 39 europskih zemalja koje su uključene u istraživanje te podatci o procijepljenosti stanovništva (35) i HDI (36) za svaku od zemalja

Država	Procijepljenost stanovništva (%)	HDI
Albanija	44	0.795
Austrija	75	0.922
Bjelorusija	58	0.823
Belgija	79	0.931
Bosna i Hercegovina	29	0.780
Bugarska	29,5	0.816
Crna Gora	46	0.829
Češka	65	0.900

Danska	83	0.940
Estonija	65	0.892
Finska	81	0.938
Francuska	80	0.901
Grčka	76	0.888
Hrvatska	57	0.851
Island	84	0.949
Italija	84	0.955
Latvija	72	0.892
Litva	72	0.866
Luksemburg	68,5	0.882
Mađarska	66	0.854
Malta	91	0.916
Moldavija	39,6	0.750
Nizozemska	78	0.944
Norveška	79	0.957
Njemačka	76	0.947
Poljska	60	0.880
Portugal	95	0.864
Rumunjska	42,2	0.828
Rusija	54	0.824
Srbija	49	0.806
Sjeverna Makedonija	41	0.774
Slovačka	52	0.860
Slovenija	61	0.917
Španjolska	88	0.904
Švedska	77	0.945
Švicarska	70	0.820
Turska	68	0.955

Ukrajina	36	0.779
Velika Britanija	77	0.932

HDI – Human Development Index

3.2. Statistička analiza

Rezultati istraživanja obrađeni su računalnim programom Statistica 13.3 za koju Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci posjeduje licencu.

U provedenom istraživanju koristili smo multiplu regresijsku analizu (engl. multiple regression) kako bi procijenili korelaciju između prevalencije i mortaliteta bolesti COVID-19 i učestalosti CCR5- Δ 32 mutacije, kontrolirajući pritom varijable koje bi mogle imati utjecaj na dobivene rezultate. Kao zbunjujući čimbenici, odnosno varijable koje smo kontrolirali u statističkoj analizi, korišteni su broj dijagnostičkih testova (T), vrijeme u danima od početka pandemije 01. veljače 2020. (D), procijepljenost stanovništva (C) i Human Development Index (HDI). Statistička značajnost izražena je na razini 0,05.

4. REZULTATI

Multiplom regresijskom analizom željeli smo utvrditi korelaciju između CCR5-Δ32 mutacije u 39 europskih zemalja i prevalencije (broja slučajeva /10⁶ stanovnika) te mortaliteta (broja umrlih/10⁶ stanovnika) od COVID-19. U Tablici 3. prikazane su vrijednosti parcijalnog koeficijenta korelacije kada su u statističkoj analizi kontrolirane dvije varijable gdje T predstavlja broj dijagnostičkih testova /10⁶ stanovnika, a D broj dana od početka pandemije. Iz rezultata je vidljivo da frekvencija CCR5-Δ32 mutacije ne korelira značajno s brojem slučajeva/10⁶ stanovnika (p=0,997), ali značajno negativno korelira s brojem umrlih/10⁶ stanovnika (p=0,028), što potvrđuje povezanost između mortaliteta od COVID-19 bolesti i CCR5-Δ32 mutacije. S obzirom na negativnu vrijednost parcijalnog koeficijenta korelacije (parcijalni r=-0,3611) možemo zaključiti da s porastom frekvencije CCR5-Δ32 mutacije se smanjuje smrtnost u europskoj populaciji. Provedenom statističkom analizom u kojoj su korištene dvije kontrolirane varijable dobiveno je da CCR5-Δ32 mutacija djeluje protektivno, odnosno što je ima više u populaciji to je manja smrtnost od COVID-19 bolesti.

Tablica 3. Parcijalni koeficijenti korelacije između frekvencije CCR5-Δ32 mutacije i broja slučajeva /10⁶ stanovnika te broja umrlih/10⁶ stanovnika s dvije kontrolirane varijable (T i D)

	Parcijalni koeficijent		Kontrolirane varijable
	r	p	
broj slučajeva /10⁶	-0,0006	0,997	T, D
broj umrlih /10⁶	-0,3611	0,028	

T - broj dijagnostičkih testova

D- vrijeme u danima od početka pandemije 01. veljače 2020.

Kada je u istraživanju, uz već dvije navedene kontrolirane varijable (T i D), u statističku analizu uključen kao zbunjujući čimbenik faktor procijepljenosti stanovništva (C) ili HDI dobiveni rezultati nisu pokazali statističku značajnost u povezanosti frekvencije CCR5-Δ32 alela s COVID-19 prevalencijom i mortalitetom. Iako se dodavanjem kontroliranih varijabli smanjivala statistička značajnost što je i vidljivo u Tablici 4. (za

kontrolirane varijable T, D i C $p=0,063$, a za kontrolirane varijable T, D i HDI $p=0,089$), rezultati i dalje pokazuju trend ka protektivnom učinku CCR5- $\Delta 32$ mutacije na mortalitet.

Tablica 4. Parcijalni koeficijenti korelacije između frekvencije CCR5- $\Delta 32$ mutacije i broja slučajeva / 10^6 stanovnika te broja umrlih/ 10^6 stanovnika s tri kontrolirane varijable (T, D i C ili T, D i HDI)

	Parcijalni koeficijent r	p	Kontrolirane varijable
broj slučajeva /10^6	-0,0495	0,774	T, D, C
broj umrlih /10^6	-0,3126	0,063	
broj slučajeva /10^6	-0,566	0,743	T, D, HDI
broj umrlih /10^6	-0,288	0,089	

T - broj dijagnostičkih testova

D- vrijeme u danima od početka pandemije 01. veljače 2020.

C- procijepljenost stanovništva

HDI - Human Development Index

Najmanja statistička značajnost ($p 0,095$) dobivena je kada su se u statističkoj analizi kao kontrolirane varijable uključila sva četiri zbunjujuća čimbenika (T, D, C i HDI), gdje se također opaža trend ka protektivnom učinku CCR5- $\Delta 32$ mutacije na broj smrtno stradalih osoba od infekcije SARS-CoV-2 virusom (Tablica 5).

Tablica 5. Parcijalni koeficijenti korelacije između frekvencije CCR5-Δ32 mutacije i broja slučajeva /10⁶ stanovnika te broja umrlih/10⁶ stanovnika s četiri kontrolirane varijable (T, D, C i HDI)

	Parcijalni koeficijent		Kontrolirane varijable
	r	p	
broj slučajeva /10⁶	-0,0626	0,721	T, D, C, HDI
broj umrlih /10⁶	-0,2868	0,095	

T - broj dijagnostičkih testova

D- vrijeme u danima od početka pandemije 01. veljače 2020.

C- procijepljenost stanovništva

HDI - Human Development Index

5. RASPRAVA

Koronavirusna bolest 19 je zarazna bolest uzrokovana novootkrivenim koronavirusom SARS-CoV-2. Prema dosadašnjim spoznajama, riječ je o iznimno složenoj multifaktorijalnoj i poligenskoj bolesti u kojoj brojni genetički i epigenetički čimbenici određuju vrlo varijabilnu fenotipsku manifestaciju.

Zbog činjenice da bolest pokazuje širok raspon simptoma, od asimptomatskog stanja do blagog, teškog ili kritičnog stadija, pretpostavljeno je da genetika domaćina može utjecati na predispoziciju za COVID-19, kao što je pokazano u drugim zaraznim bolestima. Do danas su provedene brojne genetičke studije, od epidemioloških do GWAS, koje su uspjele identificirati određene genetičke varijante koje mogu utjecati na podložnost i težinu bolesti COVID-19 (24). Međutim, izrazite individualne i međupopulacijske razlike koje su opažene kod ove bolesti potiču znanstvenike da i dalje tragaju za relevantnim genetičkim biomarkerima uključenim u predispoziciju za infekciju SARS-CoV-2 virusom i/ili razvoj težih kliničkih simptoma bolesti.

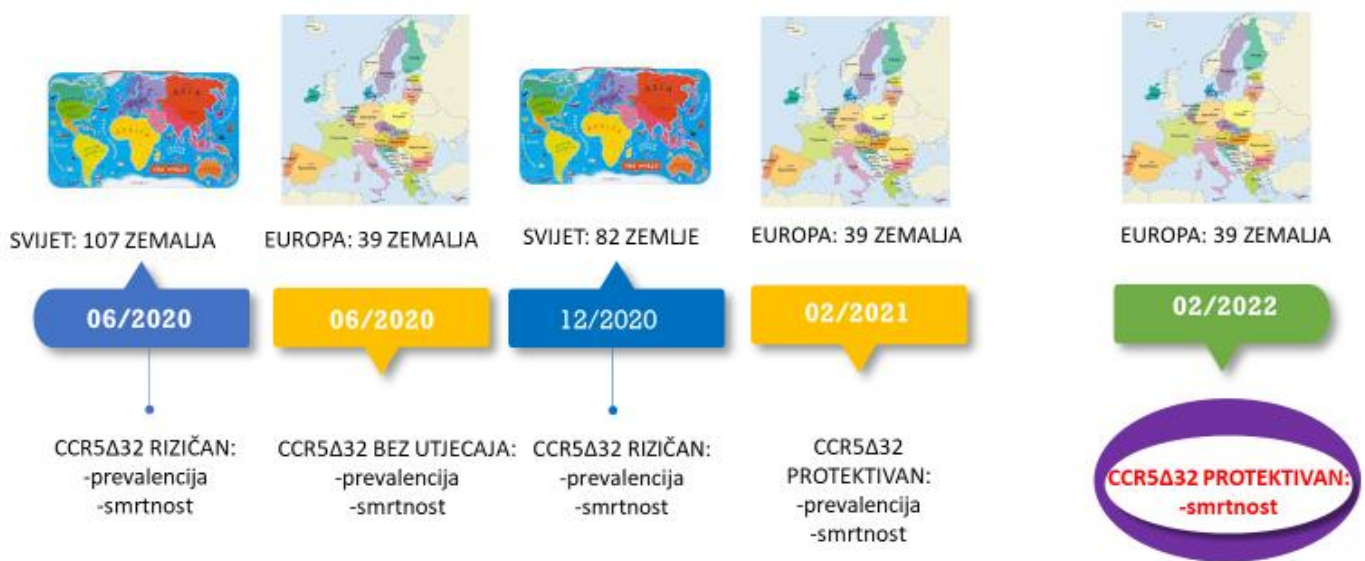
Jedan od potencijalnih biomarkera je svakako i delecija 32 para dušičnih baza u genu za CCR5 kemokinski receptor, zahvaljujući njenoj dokazanoj ulozi kod drugih virusnih infekcija, posebice infekcije virusom HIV-a. Osim toga, nedavno je objavljeno da je regija klastera gena na 3p21.31 povezana s teškim oblikom bolesti COVID-19, a CCR5 gen je lokaliziran unutar tog klastera (24).

Do sada je provedeno nekoliko epidemioloških istraživanja u kojima se pokušalo odgovoriti na pitanje je li CCR5-Δ32 mutacija odgovorna za varijabilnu distribuciju bolesti i mortalitet u svijetu i Europi. Na Slici 10. prikazali smo kronološki sve epidemiološke studije, uključujući i rezultate dobivene u našem istraživanju, kako bismo ih mogli zornije usporediti.

Istraživanja CCR5-Δ32 mutacije na globalnoj razini, odnosno u 107 svjetskih zemalja (27) te 82 svjetske zemlje (29), uočile su pozitivnu korelaciju između učestalosti navedene mutacije i globalne prevalencije i mortaliteta. S druge pak strane, studije provedene u 39 europskih zemalja ukazale su da CCR5-Δ32 mutacija nema utjecaja na prevalenciju i mortalitet tijekom prvog vala pandemije (28), ali da pokazuje protektivan učinak na navedene kategorije u drugom valu pandemije (30). S obzirom da su dosadašnje studije dale proturiječne rezultate, a da se vremenom mijenjala epidemiološka situacija, kao i da je došlo do primjene cijepljenja, cilj našeg rada bio je učiniti statističku reanalizu provedenih istraživanja u 39 europskih zemalja (28, 30) nakon dvije pandemijske godine i pokušati rasvijetliti još uvijek kontroverzan učinak CCR5-Δ32 mutacije na COVID-19. Razlog zbog kojeg smo naše

istraživanje ograničili na populaciju istih europskih zemalja kao u istraživanjima Starčević Čizmarević et al. tijekom prvog (28) i drugog vala pandemije (30) je bio taj što na tom području stanovništvo dijeli zajedničko podrijetlo, odnosno sličnu genetičku pozadinu i što nema značajnijih različitosti u ostalim parametrima rizika koji mogu utjecati na infekciju SARS-CoV-2 virusom.

PRIKAZ EPIDEMIOLOŠKIH ISTRAŽIVANJA CCR5Δ32 I COVID-19



Slika 10. Kronološki prikaz dosadašnjih epidemioloških istraživanja utjecaja CCR5-Δ32 mutacije na COVID-19, uključujući i rezultate našeg istraživanja

U našoj smo studiji ispitivali korelaciju između učestalosti CCR5-Δ32 mutacije i prevalencije (broj slučajeva /10⁶ stanovnika) te mortaliteta (broj umrlih/10⁶ stanovnika) od COVID-19 u 39 europskih zemalja, pritom kontrolirajući u statističkoj analizi broj dijagnostičkih testova/10⁶ stanovnika i broj dana od početka pandemije u svakoj od analiziranih zemalja. Dobiveni rezultati su pokazali da frekvencija CCR5-Δ32 mutacije ne korelira značajno s brojem slučajeva/10⁶ stanovnika ($p=0,997$), ali da značajno negativno korelira s brojem umrlih/10⁶ stanovnika ($p=0,028$) (Tablica 3).

Naši rezultati se razlikuju od rezultata Starčević Čizmarević et al. (28) tijekom prvog vala pandemije kada nije uočen utjecaj navedene mutacije na prevalenciju i mortalitet, međutim mogli bismo reći da nije bilo neočekivano da će doći do promjene rezultata s obzirom na promijenjenu epidemiološku situaciju u razdoblju koje je uslijedilo. Naime, tijekom prvog vala pandemije većina europskih zemalja je uvela ograničenja u kretanju stanovništva kako bi se usporilo širenje virusa i kako ne bi došlo do preopterećenja zdravstvenih sustava. Krajem lipnja 2020. godine EU je otvorila unutarnje granice, kao i većina europskih zemalja, što je dovelo do povećanja društvenih kontakata i povećanog broja zaraženih osoba. Također, s promjenom klimatskih prilika u jesen je započeo drugi val pandemije koji nije zaobišao ni Češku (koja je izbjegla prvi val), kao ni zemlje jugoistočne Europe koje su do tada imale povoljnu epidemiološku situaciju.

Kako je drugi val pandemije doveo do iznimnog rasta inficiranih osoba, tako se povećao i broj hospitalizacija pa i smrtnosti od COVID 19. Stoga su Starčević Čizmarević et al. (30) proveli reanalizu podataka 01. veljače 2021. godine, nakon godine dana od kada je Svjetska zdravstvena organizacija proglasila pandemiju COVID-19 i prije nego li je dio stanovništva stekao imunitet, jer je istodobno započelo cijepljenje u europskim zemljama. Novi rezultati su pokazali da frekvencija CCR5-Δ32 mutacije značajno negativno korelira s prevalencijom ($p=0,035$) te posebice mortalitetom ($p=0,006$) u europskoj populaciji (30).

Rezultati dobiveni u našem istraživanju sukladni su s rezultatima Starčević Čizmarević et al. (30) što se tiče mogućeg protektivnog učinka CCR5-Δ32 mutacije na smrtnost, ali ne i na prevalenciju gdje nismo utvrdili statističku značajnost. Kada smo u analizu uključili i druge zbunjujuće čimbenike, kao što su procijepljenost stanovništva i HDI, još uvijek je ostao prisutan trend ka potencijalnom protektivnom učinku CCR5-Δ32 mutacije na mortalitet, ali nije dosegao statističku značajnost (Tablice 4 i 5). Također možemo primjetiti da je opažen nešto slabiji utjecaj CCR5-Δ32 mutacije na mortalitet u našem istraživanju ($p=0,028$) u odnosu na prethodno ($p=0,006$) (30), što pripisujemo činjenici da je u posljednjih godinu dana došlo do povećanja imunosti kod jednog dijela stanovništva cijepljenjem ili preboljenjem te da se pojavila omicron varijanta korona virusa koja je uzrokovala blaže kliničke simptome bolesti.

Što se tiče rezultata da u našem istraživanju nismo utvrdili značajnu povezanost CCR5-Δ32 mutacije i broja slučajeva pozitivnih na SARS-CoV-2 kao u prethodnoj studiji (30), smatramo da je prevalencija kao indikator u velikoj mjeri izgubila na svom značaju jer

se određeni dio populacije testira PCR- om, drugi dio BAT testovima, treći kućnim testovima koji ne ulaze u sustav, pa su prijavljeni brojevi slučajeva sigurno podcijenjeni i ne odgovaraju realnom stanju. Stoga bi uz mortalitet kao relevantne podatke trebalo u budućnosti pratiti broj hospitalizacija i/ili broj ozbiljnih i kritičnih slučajeva kod bolesti COVID-19.

Za razliku od činjenice da su naši rezultati djelomično sukladni prethodnom istraživanju u europskoj populaciji (30), naglašavajući protektivan učinak CCR5-Δ32 mutacije na mortalitet, oni su potpuno oprečni od rezultata istraživanja na svjetskoj razini gdje je uočena pozitivna korelacija između učestalosti CCR5-Δ32 mutacije i globalne prevalencije i mortaliteta (27,29). Smatramo da se različiti rezultati u ovom slučaju mogu objasniti na nekoliko načina. Prvo objašnjenje bi se svakako odnosilo na etničke skupine/države uključene u analizu. Dok se naše istraživanje provodilo u europskoj populaciji, istraživanja Panda et al. (27) i Saadat (29) svoja su istraživanja proveli u 107, odnosno 82 zemlje, uključujući europske, azijske, afričke i američke zemlje. Potpuno je jasno da se navedene zemlje, pored iznimno značajne razlike u genetskoj pozadini stanovništva, razlikuju i u drugim parametrima povezanih s rizikom od infekcije SARS-CoV-2 virusom, kao što su socio-ekonomski status, zdravstvena struktura, gustoća naseljenosti i dob populacije. Primjerice, zbog dobno mlađeg stanovništva u afričkoj populaciji znatno je smanjena stopa mortaliteta u afričkim zemljama u odnosu na europske zemlje.

Uz navedeno, treba posebice istaknuti i različitu distribuciju CCR5 polimorfizma između europskih, azijskih i afričkih zemalja. Poznato je kako je CCR5-Δ32 mutacija znatno učestalija u europskim zemljama (10%) u odnosu na afričke, azijske i južno-američke zemlje u kojima je vrlo rijetka ili je uopće nema. Također, određene zemlje koje su bile uključene u navedene studije na svjetskoj razini, kao što su Australija, Sjedinjene Američke Države, Kanada, Brazil i Južna Amerika, su zemlje s velikim brojem doseljenika, odnosno zemlje s izrazito miješanim stanovništvom. Stoga je poželjno da se u ovakvim analitičkim istraživanjima uključe što homogenije populacije s aspekta genetičke pozadine, odnosno da se odvojeno analiziraju i međusobno usporede europske/azijske/afričke zemlje.

Konačno, različiti rezultati mogu biti i uslijed razlika u pristupu pri analizi podataka, kao što je na primjer uvrštavanje određenih zbunjujućih čimbenika u statističku analizu. Jasno je da nije moguće uključiti apsolutno sve potencijalne čimbenike, međutim Panda et al. (27) u svojem istraživanju nisu primjenili niti jednu kontroliranu varijablu. Primjerice, u našem istraživanju kao jedna od kontroliranih varijabli uzet je broj dijagnostičkih testova/10⁶

stanovnika koji znatno varira u pojedinim zemljama i uvelike ovisi o ekonomskom statusu zemlje. Saadat (29) je u svoje istraživanje uključio kao kontrolirane varijable broj dijagnostičkih testova/10⁶ stanovnika i HDI, ali ne i vrlo važan zbunjujući čimbenik kao što je vrijeme izraženo u danima od početka pandemije, s obzirom da se vrijeme izbijanja pandemije razlikovalo u različitim zemljama ili kontinentima. Na primjer izbijanje pandemije u Sjevernoj Africi i na Bliskom istoku značajno je odgođeno u usporedbi s Azijom i Europom. S obzirom da je naše istraživanje provedeno na ograničenom području Europe s etnički homogenim stanovništvom i da smo u analizu uključili četiri kontrolirane varijable (T, D, C i HDI), smatramo da su naši rezultati relevantniji što se tiče procijene učinka CCR5-Δ32 mutacije na COVID-19.

Također, moramo naglasiti da naša studija ima i određena ograničenja. Rezultati su dobiveni u istraživanju na populacijskoj razini i kao takvi imaju veći značaj u postavljanju određene hipoteze o učinku CCR5-Δ32 mutacije na COVID-19. Međutim, oni su sukladni s opaženim protektivnim učinkom CCR5-Δ32 mutacije u studijama provedenim na pacijentima oboljelim od COVID-19 bolesti u češkoj (31) i španjolskoj populaciji (33), ali ne i kod njemačkih bolesnika kod kojih nije utvrđena povezanost između CCR5-Δ32 mutacije i rizika od oboljenja SARS-CoV-2 virusom (34).

O potencijalnom značaju ove mutacije govore i rezultati studije gdje je pokazano kako se kod bolesnika s teškom kliničkom slikom pokazalo uspješno liječenje CCR5 inhibitorima (38). U svakom slučaju, potrebne su daljnje studije na većem broju bolesnika i s različitom ekspresijom bolesti, od asimptomatskih do blagih, teških i fatalnih slučajeva, s različitim genetičkom pozadinom da bi se potvrdio potencijalni učinak CCR5-Δ32 mutacije na SARS-CoV-2 infekciju.

Zaključno, u našem istraživanju utvrdili smo protektivni učinak CCR5-Δ32 mutacije na mortalitet, ali ne i na prevalenciju u europskoj populaciji nakon dvije godine od početka pandemije COVID-19. Iako se radi o epidemiološkom istraživanju rezultati su značajni jer takve populacijske studije mogu imati važnu kliničku implikaciju za otkrivanje i liječenje bolesti, a također i potaknuti daljnja istraživanja na ovu temu.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju podataka dobivenih istraživanjem utjecaja CCR5-Δ32 mutacije na prevalenciju i mortalitet bolesti COVID-19 u europskoj populaciji zaključili smo:

- frekvencija CCR5-Δ32 mutacije ne korelira značajno s brojem slučajeva/10⁶ stanovnika ($p=0,997$), kontrolirajući u statističkoj analizi broj dijagnostičkih testova/10⁶ stanovnika i broj dana od početka pandemije u svakoj od analiziranih zemalja.
- frekvencija CCR5-Δ32 mutacije ne korelira značajno s brojem slučajeva/10⁶ stanovnika, kontrolirajući u statističkoj analizi pored broja dijagnostičkih testova/10⁶ stanovnika i broja dana od početka pandemije, procijepljenost stanovništva ($p=0,774$) ili HDI ($p=0,743$) te istodobno sve četiri varijable ($p=0,721$) u svakoj od analiziranih zemalja.
- frekvencija CCR5-Δ32 mutacije značajno negativno korelira s brojem umrlih/10⁶ stanovnika ($p=0,028$), kontrolirajući u statističkoj analizi broj dijagnostičkih testova/10⁶ stanovnika i broj dana od početka pandemije u svakoj od analiziranih zemalja.
- opažen je trend ka protektivnom učinku CCR5-Δ32 mutacije na broj smrtno stradalih osoba od infekcije SARS-CoV-2 virusom, kontrolirajući u statističkoj analizi pored broja dijagnostičkih testova/10⁶ stanovnika i broja dana od početka pandemije, procijepljenost stanovništva ($p=0,063$) ili HDI ($p=0,089$) te istodobno sve četiri varijable ($p=0,095$) u svakoj od analiziranih zemalja.

Uzevši u obzir ukupne rezultate dolazimo do zaključka da smo u našem istraživanju utvrdili protektivan učinak CCR5-Δ32 mutacije na mortalitet, ali ne i na prevalenciju u europskoj populaciji nakon dvije godine od početka pandemije COVID-19.

7. LITERATURA

1. Malone B, Urakova N, Snijder EJ *et al.* Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2022. [citirano 10.06.2022.]; 23, 21–39. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00432-z>
2. Blekić M, Miškić B, Kljaić Bukvić B. COVID–19 i djeca. *Liječnički vjesnik* [Internet]. 2020. [citirano 11.06.2022.]; 2020;142(3-4):64-74. Dostupno na: <https://doi.org/10.26800/LV-142-3-4-12>.
3. World Health Organization. [Internet]. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. [citirano 18.07.2022.]. Dostupno na: <https://covid19.who.int/>
4. KORONAVIRUS.HR. [Internet]. Koronaviirus- statistički pokazatelji za Hrvatsku i EU. [citirano 18.07.2022.]. Dostupno na: <https://www.koronavirus.hr/>
5. Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research* [Internet]. 2006. [citirano 15.06.2022.]; 2006;66:193-292. Dostupno na: doi: 10.1016/S0065-3527(06)66005-3
6. Lovrečić K. *Biologija i patogeneza virusa SARS-CoV-2.* [Završni rad]. Zagreb; Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno- matematički fakultet; 2021. [citirano 18.06.2022.] Dostupno na: <https://repositorij.pmf.unizg.hr/islandora/object/pmf%3A9915/datastream/PDF/view>
7. Ma Q, Liu J, Liu Q, et al. Global Percentage of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infections Among the Tested Population and Individuals With Confirmed COVID-19 Diagnosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2021. [citirano 19.06.2022.]; 2021;4(12):e2137257. Dostupno na: doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.37257
8. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. [Internet]. Pitanja i odgovori o bolesti uzrokovanoj novim koronavirusom. [citirano 20.06.2022.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/pitanja-i-odgovori-o-bolesti-uzrokovanoj-novim-koronavirusom/>
9. Pavliša G, Ljubičić L, Turk L, Halar M, Samaržija M. COVID-19 i pneumonija. *Medicus* [Internet]. 2020. [citirano 22.06.2022.]; 2020;29(2 COVID-19):179-184. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/244326>

10. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. [Internet]. Povratak zdravlja i snage nakon Covid- 19. [citirano 29.06.2022.]. Dostupno na: https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2022/06/Post-covid_bros%CC%8Cura_165x235mm.pdf
11. Vince A. COVID-19, pet mjeseci kasnije. Liječnički vjesnik [Internet]. 2020. [citirano 04.07.2022.]; 2020;142(3-4):55-63. Dostupno na: <https://doi.org/10.26800/LV-142-3-4-11>
12. Rotim K, Kurtović B. Brzo antigensko testiranje studenata i djelatnika Zdravstvenog veleučilišta na SARS-CoV-2: prikaz iskustva ustanove. Journal of Applied Health Sciences = Časopis za primijenjene zdravstvene znanosti [Internet]. 2022. [citirano 07.07.2022.]; 2022;8(2):300-307. Dostupno na: <https://doi.org/10.24141/1/8/2/16>
13. European Commission. [Internet]. Treatments for COVID-19. [citirano 15.07.2022.]. Dostupno na: https://ec.europa.eu/info/live-work-travel-eu/coronavirus-response/public-health/treatments-covid-19_en
14. Blekić M, Kljaić Bukvić B. Cjepiva za koronavirusnu bolest (COVID-19). Liječnički vjesnik [Internet]. 2021. [citirano 16.07.2022.]; 2021;143(5-6):192-208. Dostupno na: <https://doi.org/10.26800/LV-143-5-6-7>
15. European Centre for disease Prevention and Control. [Internet]. [citirano 21.07.2022.]. Dostupno na: <https://qap.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker.html#uptake-tab>
16. European Centre for Disease Prevention and Control. [Internet]. Coronaviruses. [citirano 23.07.2022.]. Dostupno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/coronaviruses>
17. Nguyen NT, Chinn J, De Ferrante M, Kirby KA, Hohmann SF, Amin A. Male gender is a predictor of higher mortality in hospitalized adults with COVID-19. PLoS One [Internet]. 2021. [citirano 24.07.2022.]; 2021;16(7):e0254066. Dostupno na: [doi:10.1371/journal.pone.0254066](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254066)
18. Niemi M, *et. al.* COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. Nature [Internet]. 2021. [citirano 27.07.2022.]; 2021;600,472–477. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03767-x>

19. Delanghe JR, Speeckaert MM. Host polymorphisms and COVID-19 infection. *Adv Clin Chem* [Internet]. 2022. [citirano 02.08.2022.]; 2022;107:41-77. Dostupno na: doi: 10.1016/bs.acc.2021.07.002
20. Rostene W, Buckingham JC. Chemokines as modulators of neuroendocrine functions. *Journal of Molecular Endocrinology* [Internet]. 2007. [citirano 30.07.2022.]; 38(3):351-353. Dostupno na: <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/38/3/0380351.xml>
21. Rasmussen HB, Timm S, Wang AG *et al.* Association Between the CCR5 32-bp Deletion Allele and Late Onset of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* [Internet]. 2006. [citirano 30.07.2022.];2006;163:507-5011. Dostupno na: <https://ajp.psychiatryonline.org/doi/full/10.1176/appi.ajp.163.3.507>
22. Schwarz MJ, Chiang S, Müller N, Ackenheil M. T-helper-1 and T-helper-2 responses in psychiatric disorders. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2001. [citirano 30.07.2022.]; 15(4):340-70. Dostupno na: doi: 10.1006/brbi.2001.0647
23. Murdoch C, Finn A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood* [Internet]. 2000. [citirano 01.08.2022.]; 2000;95(10): 3032-43. Dostupno na: <https://doi.org/10.1182/blood.V95.10.3032>
24. Falcon A, Cuevas MT, Rodriguez-Frandsen A, Reyes N, Pozo F, Moreno S, et al. CCR5 deficiency predisposes to fatal outcome in influenza virus infection. *J Gen Virol* [Internet]. 2015. [citirano 03.08.2022]; 2015;96:2074-8. Dostupno na: doi:10.1099/vir.0.000165
25. Dawson TC, Beck MA, Kuziel WA, Henderson F, Maeda N. Contrasting effects of CCR5 and CCR2 deficiency in the pulmonary inflammatory response to influenza A virus. *Am J Pathol* [Internet]. 2000. [citirano 04.08.2022.]; 2000;156:1951-9. Dostupno na: doi:10.1016/S0002-9440(10)65068-7
26. Ristić S, Starčević-Čizmarević N, Brajenović-Milić B, Crnić-Martinović M, Kapović M. Frequency of CCR5 Gene 32-Basepair Deletion in Croatian Normal Population. *Croat Med J* [Internet]. 2005. [citirano 02.08.2022.]; 2005;46(4):693-4. Dostupno na: <http://www.cmj.hr/2005/46/4/16100775.pdf>
27. Panda AK, Padhi A, Prusty BAK. CCR5 Δ 32 minor allele is associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and death: An epidemiological investigation. *Clin Chim Acta*

- [Internet]. 2020. [citirano 05.08.2022]; 510:60-61. Dostupno na: doi: 10.1016/j.cca.2020.07.012
28. Starčević Čizmarević N, Tota M, Ristić S. Does the CCR5-Δ32 mutation explain the variable coronavirus-2019 pandemic statistics in Europe? *Croat Med J* [Internet]. 2020. [citirano 05.08.2022.]; 2020;61:525-26. Dostupno na: doi:10.3325/cmj.2020.61.525
29. Saadat M. COVID-19 prevalence and mortality is associated with the allele frequency of CCR5-Δ32. *Croat Med J* [Internet]. 2021. [citirano 05.08.2022.]; 2021;62:303-4. Dostupno na: doi:10.3325/cmj.2021.62.303
30. Starčević Čizmarević N, Kapović M, Rončević D, Ristić S. Could the CCR5-Delta32 mutation be protective in SARS-CoV-2 infection? *Physiol Res* [Internet]. 2021. [citirano 05.08.2022.]; 16;70(S2):S249-S252. Dostupno na: doi:10.33549/physiolres.934725
31. Hubacek JA, Dusek L, Majek O, Adamek V, Cervinkova T, Dlouha D, Pavel J, Adamkova V. CCR5Δ32 deletion as a protective factor in Czech first-wave COVID-19 subjects. *Physiol Res* [Internet]. 2021. [citirano 05.08.2022.]; 70(1):111-115. Dostupno na: doi: 10.33549/physiolres.934647
32. Mehlotra RK. Chemokine receptor gene polymorphisms and COVID-19: Could knowledge gained from HIV/AIDS be important? *Infect Genet Evol* [Internet]. 2020. [citirano 05.08.2022.]; 85:104512. Dostupno na: doi:10.1016/j.meegid.2020.104512
33. Cuesta-Llavona E, *et al.* Variant-genetic and transcript-expression analysis showed a role for the chemokine-receptor CCR5 in COVID-19 severity. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2021. [citirano 05.08.2022.]; 98:107825. Dostupno na: doi:10.1016/j.intimp.2021.107825
34. Bernas SN, Baldauf H, Wendler S, *et al.* CCR5delta32 mutations do not determine COVID-19 disease course. *Int. J. Infect. Dis* [Internet]. 2021. [citirano 05.08.2022.]; 105:653-655. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.02.108>
35. Solloch UV, Lang K, Lange V, Bohme I, Schmidt AH, Sauter J. Frequencies of gene variant CCR5-Δ32 in 87 countries based on next-generation sequencing of 1.3 million individuals sampled from 3 national DKMS donor centers. *Hum Immunol* [Internet]. 2017. [citirano 08.08.2022.]; 2017;78: 710-717. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.10.001>
36. WorldOMeter. [Internet]. COVID-19 CORONAVIRUS PANDEMIC. [citirano 01.02.2022.]. Dostupno na: www.worldometers.info/coronavirus/countries
37. Human Development Reports. [Internet]. [citirano 01.02.2022.]. Dostupno na: <https://hdr.undp.org/data-center/country-insights#/ranks>

38. Patterson BK, Seethamraju H, Dhody K, et al. CCR5 inhibition in critical COVID-19 patients decreases inflammatory cytokines, increases CD8 T-cells, and decreases SARS-CoV2 RNA in plasma by day 14. *Int J Infect Dis* 103: 25-32, 2020. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.101>

8. POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

COVID-19 – engl. coronavirus disease 19, koronavirusna bolest 19

SARS-CoV-2 – engl. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, uzročnik COVID-19

HcoVs – engl. Human Coronaviruses, humani koronavirusi

SARS – engl. Severe acute respiratory syndrome, teški akutni respiratorni sindrom

MERS – engl. Middle East respiratory syndrome , bliskoistočni respiratorni sindrom

SARS-CoV – koronavirus uzročnik SARS-a

MERS-CoV – koronavirus uzročnik MERS-a

RNK – ribonukleinska kiselina

ACE2 – engl. angiotensin- converting enzyme 2, angiotenzin-konvertirajući enzim 1

PCR - engl. polymerase chain reaction, lančana reakcija polimerazom

BAT – brzi antigenski test

ELISA – engl. enzyme-linked immunosorbent assay

IgM – imunoglobulin M

IgG – imunoglobulin G

HIV – engl. human immunodeficiency virus, virus humane imunodeficijencije

EMA – Europska agencija za lijekove

EU – engl. European union, Europska unija

EEA – engl. The European Economic Area, europski gospodarski prostor

GWAS – engl. Genome Wide Association Studies, cijelogenomske asocijacijske studije

ACE1 – engl. angiotensin- converting enzyme 1, angiotenzin-konvertirajući enzim 1

TMPRSS2 – transmembranska serin proteaza

AR – androgeni receptor

TNF – faktor tumorske nekroze

TLR7 – engl. toll- like receptor 7, tolenski receptor 7

CCR5 – kemokinski receptor

HLA – humani leukocitni antigen

ABO – antigenski sustav krvnih grupa

IL-1 – interleukin-1

kDA – kilodalton

CXC – alfa kemokin

CC – beta kemokin

C – gama kemokin

CX3C – delta kemokin

IL-8 – interleukin- 8

MIP – makrofagni upalni protein

MCP – makrofagni kemotaktički protein

GDP – engl. guanin difosfat, gvanozin difosfat

GTP – engl. guanin trifosfat, gvanozin trifosfat

MIP-1a – engl. macrophage inflammatory protein-1a

MIP-1– engl. macrophage inflammatory protein-1

RANTES – engl. Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted

CCR5-Δ32 – delecija 32 parova baza u CCR5 genu

HDI – engl. Human Development Index, Indeks ljudskog razvoja

BDP – bruto nacionalni dohodak

9. ŽIVOTOPIS

Matea Suša, rođena 18. lipnja 1998. godine, završila I. opću gimnaziju u Zagrebu 2017. godine te iste godine upisala preddiplomski stručni studij Sanitarnog inženjerstva na Zdravstvenom Veleučilištu u Zagrebu. Godine 2020. završila preddiplomski studij i stekla titulu bacc. sanit. ing. te iste godine upisala diplomski sveučilišni studij Sanitarnog inženjerstva na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci.