



Universidad de Jaén

**UNIVERSIDAD DE JAÉN
MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA**

Genes asociados a susceptibilidad a SARS-CoV-2

Julio David Soto López

Campus Las Lagunillas s/n. 23071 – Jaén, España.



Universidad de Jaén

UNIVERSIDAD DE JAÉN
MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA

Genes asociados a susceptibilidad a SARS-CoV-2

Julio David Soto López

Campus Las Lagunillas s/n. 23071 – Jaén, España.

Julio David Soto López

Dr. Antonio José Caruz Arcos (Tutor)

Resumen en español

El síndrome respiratorio agudo severo (SRAS) es un problema mundial importante; tres coronavirus diferentes pero muy cercanos son responsables y puede manifestarse desde una enfermedad asintomática a grave. Muchos factores interactúan para determinar la gravedad de los síntomas, incluido el perfil genético de los pacientes. Los mecanismos que conducen a la enfermedad grave y la muerte no se han determinado con claridad. La identificación de genes asociados con la protección contra el SARS-COV-2 es esencial para comprender los mecanismos moleculares involucrados en el proceso de infección, la respuesta inmune innata y adaptativa al virus, identificar posibles objetivos farmacológicos, mejorar la eficacia de las vacunas en el desarrollo y aumentar la respuesta del paciente a la terapia. Asimismo, es crítico identificar grupos potenciales con un mayor riesgo genético a padecer una peor progresión clínica.

Se han publicado varios modelos funcionales, animales o estudios de asociación entre polimorfismos genéticos y resultados de infección por coronavirus. La estrategia experimental generalmente utilizada involucra estudios de casos y controles con genes candidatos, como los que se encuentran en el locus HLA y genes para receptores, citocinas y otros mediadores inmunes. Los resultados son bastante debatidos y se necesita un metanálisis para evaluar el consenso entre los estudios. Los SNP en los genes ACE1, ACE2, AHSG, CCL2, CD209, CD209L, FCGR2A, HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1, ICAM3, IL-12RB1, MBL, OAS1, RANTES están asociados con el riesgo o la protección de los pacientes, sin embargo, no han sido replicadas en diferentes poblaciones.

Resumen en inglés

Severe acute respiratory syndrome (SARS) is a major worldwide problem; three different but very close coronaviruses can cause it, and it can manifest from asymptomatic to severe disease. Many factors interact to determine the severity of the symptoms, including the genetic profile of the patients. However, the mechanisms that lead to severe disease and death have not been determined. Identification of genes associated with protection against SARS-COV-2 is

essential to understand the molecular mechanisms involved in the infection process, the innate and adaptive immune response to the virus, identify possible pharmacological targets, improve the efficacy of vaccines in development and increase the patient's response to therapy. Likewise, it is critical to identify potential groups with a higher genetic risk of worse clinical progression.

Several functional, animal models or association studies between genetic polymorphisms and coronaviruses infection outcomes have been published. The experimental strategy usually involves case-control studies with candidate genes, such as the HLA locus and genes for receptors, cytokines, and other immune mediators. The results are quite debated, and a meta-analysis is needed to assess the consensus among the studies. SNPs in the ACE1, ACE2, AHSG, CCL2, CD209L, FCGR1A, HLA-A, HLA-B, HLA- DRB1, ICAM3, IL-12RB1, MBL, OAS1, RANTES, genes are associated with the risk or protection of severe coronavirus infections, however, the findings have not been replicated in different populations.

Palabras clave: Coronavirus, SARS-CoV-1, SARS-CoV-, MERS-CoV, COVID-19, genética.

1) Introducción

COVID-19 es una enfermedad multifactorial en la que factores virales, ambientales, comorbilidades, edad, sexo y genética contribuyen a la patogénesis y los resultados de la enfermedad. El espectro clínico de COVID-19 puede variar de asintomático a leve o grave.

Hasta la fecha de la redacción de esta revisión, no se han descrito los mecanismos que pueden conducir a los síntomas más graves. Uno de los aspectos más desafiantes de la enfermedad es la identificación temprana de pacientes propensos a un peor pronóstico. La fase crítica ocurre alrededor de la segunda semana después del inicio de los síntomas; se caracteriza por una producción masiva de citocinas correlacionada con la gravedad de la enfermedad en un subgrupo de pacientes. Sin embargo, se desconocen los mecanismos moleculares y celulares para esta producción de citocinas desequilibradas, así como las vías biológicas que regulan la progresión hacia la dificultad respiratoria aguda.

El descubrimiento de genes asociados con la protección contra la infección por SARS-CoV-2 es necesario para identificar grupos con mayor riesgo de progresión de la infección. Estos individuos con mayor riesgo genético podrían ser sometidos a un encierro más estricto, ser seleccionados como prioritarios para el tratamiento farmacológico y monitoreados más de cerca que el resto. La identificación de factores inmunológicos, genéticos o ambientales relacionados con la protección contra la infección por SARS-CoV-2 también sería un avance importante para el desarrollo de nuevos antivirales y vacunas contra este virus mediante la identificación de nuevos objetivos terapéuticos y factores que modulan la respuesta inmune protectora.

Además, los genotipos de los pacientes permitirían la selección de trabajadores de la salud, fuerzas de seguridad o trabajadores críticos, restringiendo la exposición de individuos altamente susceptibles.

- **Revisión bibliográfica actualizada**

Brote de SARS-CoV-2 y presentación clínica

El 8 de diciembre de 2019, se informó el primer caso de infección con un nuevo virus llamado COVID-19 en Wuhan, China (Q. Li et al., 2020), con una mayor predisposición a presentar un cuadro clínico grave correlacionado positivamente con la edad. Se ha descrito una disminución en las posibilidades de supervivencia del paciente con diversos factores de riesgo como el aumento de la edad (JT Wu et al., 2020), la diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares (Huang et al., 2020), así como el género masculino, evidenciándose una tendencia en infección principalmente hombres (56-58%), de mediana edad (59 años en promedio). Sin embargo, no todos los pacientes presentan síntomas (Xi Xu et al., 2020). El virus se dispersó de forma caótica y no lineal desde su aparición y actualmente se encuentra en todo el mundo (H. Wang et al., 2020).

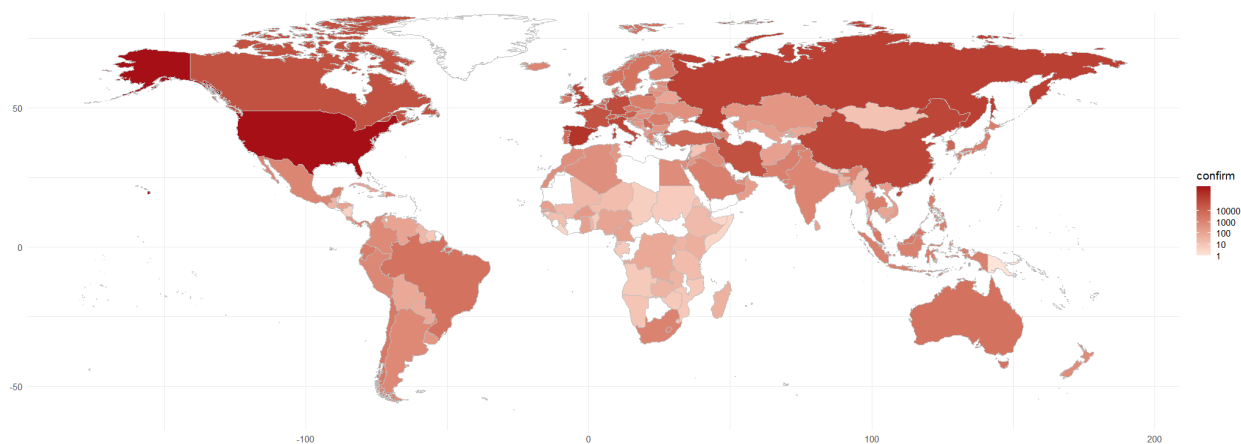


Figura 1. Casos de SARS-CoV-2 actualizados hasta el 16 de mayo de 2020. Total: 2,508,130 (Tianzh, Erqiang, Xijin & Guangchuang, 2020)

Esta variabilidad en la virulencia del SARS-CoV-2, así como las características clínicas de los pacientes infectados que presentan síntomas graves y críticos, son evidencia de la existencia de variables en ciertos individuos, de origen genético, que juegan un papel esencial en

términos de susceptibilidad contra este virus.

Coronavirus y enfermedad

El SARS-Cov-2 es un virus de la familia Coronaviridae, orden Nidovirales. Estos virus se conocen con este nombre debido a las proteínas de las espículas en la envoltura que los recubre que dan la apariencia de una corona. Los coronavirus pueden infectar especies de mamíferos (grupo I y II) y reptiles (grupo III) (Van Der Hoek et al., 2006). Los alfacoronavirus (a-CoV) y los betacoronavirus (b-CoV) pertenecen al grupo I y II, mientras que los gama coronavirus (c-CoV) y Deltacoronavirus (d-CoV) pertenecen al grupo III (Rasool et al., 2020).

Estos virus causan principalmente afecciones gastrointestinales (Durham et al., 1979) como el coronavirus de Turquía (TCV) (Ismail et al., 2003), coronavirus canino (CcoV) (L Binn, E Lazar, K Keenan, D Huxsoll, R Marchwicki, 1974), coronavirus felino (FcoV) (Pedersen NC, Evermann JF, McKeirnan AJ, 1984), coronavirus bovino (BCV) (Bridger et al., 1978) o los dos nuevos virus que han producido un importante efecto económico, el deltacoronavirus porcino (PDCoV) y el virus de la epidemia de diarrea porcina (PEDV) (Rasool et al., 2020). Pueden causar otras afecciones, como bronquitis en aves (Cavanagh, 2007) o encefalitis desmielinizante progresiva en ratones (Weiner, 1973).

Se han descrito seis especies de coronavirus capaces de infectar a humanos: 229E, OC43, NL63, HKU1 que causan resfriados comunes que afectan el tracto respiratorio superior (Su et al., 2016), mientras que las especies de SARS CoV y MERS-CoV afectan el tracto respiratorio inferior entre otros tejidos (Cui et al., 2019).

El HCoV-229E y HCoV-OC43 son virus descubiertos en 1962 y 1967, respectivamente, que causan afecciones en el tracto respiratorio superior (Hamre y Prockin, 1962); (Tyrrell et al., 1993). Los síntomas que producen incluyen malestar general, dolor de cabeza, secreción nasal, estornudos, dolor de garganta, fiebre y tos (Tyrrell et al., 1993). El virus NL63 se descubrió en 2004, siendo responsable de producir síntomas similares a un resfriado común, como tos, secreción nasal, taquipnea, fiebre, hipoxia y laringitis obstructiva asociada (Van Der Hoek et al., 2006). El virus HKU1 se descubrió en 2005, en pacientes con fiebre, secreción

nasal, tos y, en algunos casos, fiebre y disnea (Woo et al., 2009). Los cuatro virus se distribuyen en todo el mundo (Su et al., 2016).

Interacción entre los coronavirus y las células huésped.

La proteína espiga desempeña un papel esencial en la infección del virus, a través de la unión del receptor, la fusión de la membrana, la internalización del virus y el tropismo celular (Song et al., 2018). La infección depende en gran medida de la interacción entre la proteína S y los receptores de la célula huésped, así como del número de sitios de glucosilación en la glucoproteína viral (Schoeman y Fielding, 2019). La proteína S es una proteína de fusión que consta de dos regiones (HR-C y HR-N) rodeadas por el ectodominio de la proteína (Tripet et al., 2004). Esta proteína se divide en dos subunidades, la subunidad 1 (S1), que permite la unión al receptor del huésped compuesto por dos dominios, el dominio N-terminal y el dominio C-terminal (RBD). La subunidad 2 (S2) facilita la fusión a la membrana celular del receptor (Babcock et al., 2004).

El dominio RBD interactúa fuertemente con los receptores ACE2 humanos (Xintian Xu et al., 2020), por lo que todas las células que expresan este receptor pueden ser susceptibles a la infección por SARS-CoV-2. Estos incluyen células alveolares tipo II, células miocárdicas, células del túbulo proximal del riñón, íleon, esófago, células uroteliales de la vejiga (Zou et al., 2020), células de la mucosa oral y la lengua (H. Xu et al., 2020), entre otros.

.
El receptor ACE2 es una de las principales proteínas involucradas en el sistema Renina-angiotensina. El sistema comienza con la descomposición del angiotensinógeno, la proteína que generará angiotensina I. La angiotensina-I luego se convierte en angiotensina-II empleando la proteína ACE. La angiotensina II es una hormona que ejerce efectos vasoactivos. ACE2 es una proteína homóloga de ACE que puede servir como pivote en el equilibrio del efecto producido por ACE. ACE2 hidroliza la angiotensina I para generar Ang-1-9, así como la angiotensina II para generar Ang-1-7 (Y. Wu, 2020). Los altos niveles de angiotensina II conducen a un aumento de la permeabilidad vascular, que en los pulmones termina en edema pulmonar.

También se necesita un proceso proteolítico mediado por proteínas como la catepsina L, para

colocar la membrana del virus y la célula huésped cerca de la fusión, lo que conduce a la entrada de la nucleocápside en la célula. Esto ocurre en los compartimentos celulares, lo que hace que la transición del estado de prefusión de la proteína de fusión viral de clase I a un estado estable de postfusión. Para hacer esto posible, la subunidad de unión al receptor se divide y sufre un reordenamiento para exponer el péptido de fusión hidrofóbico (Belouzard et al., 2012).

Estudios de asociación genética de susceptibilidad a la enfermedad por coronavirus

Estrategias experimentales

Existen diferentes estrategias experimentales para descubrir asociaciones genéticas con enfermedades infecciosas, la mayoría de ellas siguen el diseño de casos y controles y pueden clasificarse como dependientes de hipótesis (genes candidatos) o sin hipótesis (estudios de asociación de genoma completo o secuenciación de genoma / exoma completo). Estas metodologías no se discutirán aquí ni el descubrimiento de biomarcadores basado en transcriptoma, basado en patrones de expresión génica entre casos y controles. Sin embargo, es importante remarcar que la mayoría de las asociaciones genéticas confirmadas y validadas relacionadas con enfermedades infecciosas se han identificado mediante estrategias de genes candidatos guiadas por hipótesis (Tabla 2). Se han descubierto otros genes a través de los estudios de asociación de genoma amplio (GWAS), que actualmente son el estándar de oro para determinar la base genética de la susceptibilidad a las infecciones. Como ejemplos de este éxito, podemos destacar el descubrimiento de una variante knock-out en el gen IFNL4 y la resistencia a la hepatitis C 4, la relación entre la carga viral o la velocidad de progresión de la infección por VIH-1 y alelos específicos de HLA, y el descubrimiento de variaciones polimórficas en MICB y PLCE1 asociadas con la resistencia al dengue hemorrágico.

La secuenciación de exoma o genoma completo también se ha utilizado en el descubrimiento de genes para la susceptibilidad a enfermedades infecciosas, pero específicamente en casos de pacientes con patologías inmunológicas graves y alta susceptibilidad a patógenos comunes como el herpes. Además, este enfoque permite la identificación de variantes genéticas raras que pueden ser difíciles de reconocer por los estudios de asociación del genoma completo. A pesar de estos resultados positivos, este enfoque experimental es especialmente apropiado

para casos de enfermedades mendelianas clásicas en pacientes con fenotipos extremos y alta penetrancia, más que para estudios a nivel poblacional.

Por último, la otra estrategia para identificar biomarcadores asociados al curso de la infección por SARS-COV-2 es la tecnología de RNA-seq. Esta puede ser aplicada con éxito para cuantificar niveles diferenciales de expresión génica. También permite identificar y clasificar variantes génicas que por presentar una compleja variación de número de copias o de genes parálogos, son difícilmente abordables mediante técnicas de GWAS o genotipado convencional. Además, RNA-seq permite anotar todos los SNPs e INDELS potencialmente funcionales presentes en los ARN expresados por las células mononucleares de sangre periférica. Por ejemplo, TCR (T cell receptor), KIR, Inmunoglobulinas, etc. En relación a enfermedades infecciosas, el RNA-seq ha sido utilizado para caracterizar el curso de la infección por VIH-1 en progresores lentos (Díez-Fuertes, et al., 2019). También se ha utilizado esta tecnología para determinar el patrón de expresión génica inducido por el virus del Dengue (Sessions, et al., 2013).

También el RNAseq de sangre periférica permite definir patrones de expresión génica específicos de una infección viral respiratoria, esto se ha conseguido por ejemplo para el caso del Virus Respiratorio Sincitial (Chu, et al., 2020).

Durante la redacción de este proyecto se ha publicado un estudio de transcriptómica con 3 pacientes infectados por SARS-COV-2 en China (Chandrashekar, Manne & Varambally. 2020). Estos datos, no invalidan nuestra propuesta, ya que el número de individuos analizados es muy bajo (n=3), no se dividen en función de la gravedad de los síntomas de la infección, no realizan un seguimiento longitudinal y además está realizado con individuos chinos con un componente genético diferente a la población española. Es plausible que, dependiendo del fondo genético, puedan existir diferencias significativas en los patrones de expresión génica. Como regla general, los genes de resistencia a las infecciones virales se clasifican en 3 categorías principales: 1. Entrada viral: CCR5 (VIH-1), FUT2 (Norovirus, Rotavirus), B3GALNT1-A4GALT (Parvovirus), NTCP (Hepatitis B), LDLR-LDLRAP (Hepatitis C). 2. Inmunidad innata, incluyendo receptores de *Pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) -citocinas, interferones, genes inducidos por interferón y sus vías de transducción de señales: IL10 (Virus sincitial respiratorio, HTLV-1, EBV), TNF, IFNL4 (Hepatitis C, Hepatitis A, VIH-1). TLR3, TLR4, CD209 (VIH, Dengue,

TBEV), SFLPA-SFPB (Virus de la Influenza A, Virus Sincitial Respiratorio), IFITM3, IRF7. 3. Inmunidad adquirida: HLA (VIH-1, VHB), ERAP2 (VIH-1), MICA, PLP1, FcGR1a. Los genes de susceptibilidad al coronavirus también siguen este patrón, como veremos a continuación.

Genes relacionados con la entrada de coronavirus y susceptibilidad a enfermedades

La entrada del virus en el organismo requiere una interacción especializada entre el virión y las proteínas y los carbohidratos, moléculas similares de la célula del huésped. El primer proceso implica la interacción del virus con varios receptores en ciertas células. En el caso del SARS-CoV y el SARS-CoV, el receptor principal es ACE2 y en MERS-CoV es DPP4, pero también se ha reconocido el papel de las lectinas huésped dependientes de calcio. El segundo proceso, después de la unión de la proteína viral al receptor, se acerca a la envoltura del virus con la membrana de la célula huésped, activa la fusión para que el virus pueda liberar su nucleocápside (Belouzard et al., 2012). Estos cambios se inician por la unión al receptor, pero también por la acidificación del pH o la activación proteolítica. Esto depende de diferentes especies de coronavirus.

En ambos procesos, la proteína espiga está involucrada e implica cambios en su conformación (Belouzard et al., 2012). Algunos autores sugieren que un mayor potencial fusogénico en la proteína espiga está relacionado con la virulencia del virus, por lo que dudan de la dependencia a su receptor. También se sugiere que esta dependencia facilita los cambios conformacionales en esta proteína (Krueger et al., 2001).

Tabla 1. Genes implicados en la entrada del virus a las células alveolares (p <0.001)

Gen	Función	Referencias
CAV2	Gen responsable de la producción de la balsa lipídica (caveola), que es una estructura subcelular en la membrana plasmática crítica para la internalización	(Embong et al., n.d.),
ITGB6		(Lu et al., 2008), (Salanueva et al., 2007)

	de varios virus.
CHMP3	Parte de la maquinaria de ESCRT (Marjuki et al., 2009),
CHMP5	relacionada con la formación y liberación (Morita et al., 2011)
CHMP1	de virus.
VPS37B	

Fuente: (Zhao et al., 2020)

Estudios previos de asociación con los genes de entrada viral.

ACE1: No ha habido suficientes pruebas previas de asociación con este gen. Un metaanálisis buscó la relación entre los polimorfismos en el gen ACE I y el síndrome de lesión pulmonar aguda / dificultad respiratoria aguda en humanos (SARS-CoV). No encontraron asociación con la susceptibilidad al síndrome, pero si una posible asociación con el riesgo de mortalidad en sujetos asiáticos (Matsuda et al., 2012). Otro estudio encontró que un anticuerpo anti-ACE1 no detiene la replicación viral lo que muestra asociación entre este receptor y la infección (W. Li et al., 2003).

ACE2: un aumento en la concentración de ACE2 entre individuos podría afectar la susceptibilidad de ciertos individuos al SARS-CoV-2 (Zhao et al., 2020), a través de la regulación por genes como EZH2, que recientemente ha demostrado estar implicado en la regulación negativa de ACE2 (Y. Li et al., 2020).

Aunque existen muchas células que expresan ACE2 en el cuerpo, el órgano más vulnerable es el pulmón. Las explicaciones dadas mencionan varias posibles respuestas, la primera en que la superficie del pulmón hace que sea más fácil convertirse en un reservorio de virus (Haibo Zhang et al., 2020); segundo la presencia de células alveolares en los pulmones, células que han demostrado expresar altas concentraciones de ACE2; y tercero porque en estas células se ha encontrado una alta expresión génica relacionada con la regulación positiva para la entrada del virus en la célula (Tabla 1) (Zhao et al., 2020).

Sin embargo, algunos estudios previos sobre la asociación de polimorfismos de este gen con SARS-CoV no muestran evidencia de que estas variantes genéticas estén involucradas en el proceso de la enfermedad. En un estudio de casos y controles con poblaciones vietnamitas y de Hong Kong, se observó una ausencia de relación (Itoyama et al., 2005); (Chiu et al., 2004).

CD209L: este gen codifica un receptor de unión para el SARS-CoV llamado L-SIGN. Un estudio de asociación de riesgo genético encontró una relación entre este gen y la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV respaldada por un estudio *in vitro*. Se ha descrito que la homocigosidad en un SNP específico es protectora durante la infección al reducir el número de partículas virales (V. S. F. Chan et al., 2006).

DPP4 y MERS: el receptor para la entrada de la infección del virus habilitada por la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4) MERS-CoV y su sobreexpresión puede estar relacionada con la susceptibilidad al virus como se ha demostrado en estudios de anticuerpos en murciélagos (Cai et al., 2014).

Inmunidad innata y susceptibilidad al coronavirus

CCL2: el ligando 2 de quimiocina desempeña un papel importante en la inmunidad innata como quimioatrayente para monocitos y macrófagos, y en la inmunidad adaptativa al controlar la polarización de las células T auxiliares (Gu et al., 2000). En cuatro estudios de casos y controles en poblaciones chinas, se mostró asociación con el genotipo GG y un aumento del riesgo de infección con SARS-CoV. Sin embargo, no es un buen predictor de riesgo, a pesar de esto se determinó un efecto acumulativo del polimorfismo en este gen (Tu et al., 2015).

MBL: la lectina de unión a manosa está implicada en la respuesta de primera línea de defensa del huésped por la vía de la lectina de unión del complemento a microorganismos o virus (Neth et al., 2000). En cuatro estudios de casos y controles, se ha descrito una asociación entre el alelo B que produce el alelo menor de MBL con un alto riesgo de infección por SARS-CoV, acumulativo (Tu et al., 2015). En otro estudio de casos y controles realizado en pacientes de Hong Kong, los autores no encontraron una relación entre los genotipos de MBL y las frecuencias de alelos con la manifestación graves de este virus (Fang F. Yuan et al., 2005). Sin embargo, en el mismo año, los autores que evaluaron la asociación entre una mutación y tres polimorfismos con el SARS-CoV en personas del norte de China encontraron una asociación con la susceptibilidad a la infección (Hongxing Zhang et al., 2005).

RANTES: Una de las quimiocinas inducidas por el SARS-CoV durante la infección es la

Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted (RANTES) que induce el reclutamiento de células inflamatorias y leucocitarias (Szécsi et al., 2004). Los autores de un estudio de casos y controles con personas provenientes de Hong Kong encontraron una asociación con el alelo RANTES -28 G y un aumento de la infección por SARS-CoV (M. W. Ng et al., 2007).

IL-12RB1: Otra citocina implicada en la respuesta contra la invasión del virus es el receptor de interleucina-12 B1 secretado por los fagocitos y las células dendríticas. Esta citocina estimula la producción de IFN- γ en células T y células NK, mejora su actividad citolítica y estimula la proliferación y activación de estas células (Trinchieri, 1998). En un estudio de casos y controles con pacientes chinos, se evaluó la relación de cuatro SNP de este gen y los autores encontraron susceptibilidad genética a la infección viral (Tang et al., 2008).

ICAM3: esta molécula de adhesión intercelular es una lectina de tipo C expresada constitutivamente en células T y está implicada en la respuesta inmune mediada por células T (Alosaimi et al., 2020). En un estudio de casos y controles en la población de Hong Kong, no se encontraron polimorfismos de un solo nucleótido asociados con la infección por SARS-CoV. Sin embargo, hubo asociación con el papel de ICAM3 en la inmunopatogénesis del SRAS (K. Y. K. Chan et al., 2007).

AHSG: a-2-Heremans-Schmid Glycoprotein (AHSG) es una molécula implicada en la desactivación de macrófagos. Una baja concentración de esto en el suero puede conducir a la producción incontrolada de citocinas proinflamatorias (Lebreton et al., 1979). Dos SNP's de AHSG se han asociado con la susceptibilidad al SARS en un estudio de desequilibrio de ligamiento, mostrando que un genotipo de homocigosidad dominante de uno de estos SNP's (rs2268690) está asociado con la protección al desarrollo del virus SARS-CoV (Zhu et al., 2011).

OAS1: este gen codifica la proteína OAS1 que puede unirse al ARN bicatenario, lo que conduce a una polimerización de ATP. Este proceso activa la RNasa L que escinde ARN monocatenario (Rebouillat & Hovanessian, 1999). Un estudio de casos y controles en la población Han china encontró una asociación en SNP's en las Regiones no traducidas OAS1 3' con la susceptibilidad al SARS-CoV, mostrando efectos protectores y una susceptibilidad

incrementada dependiente del genotipo (He et al., 2006). Se encontraron resultados similares en un estudio de casos y controles en población vietnamita (Hamano et al., 2005).

Modelos animales y susceptibilidad a coronavirus

Los datos proporcionados por modelos animales revelan que la susceptibilidad de los ratones a la inflamación y al daño pulmonar inducido por el SARS-COV-1 es muy variable entre las cepas. Mediante estudios cruzados y análisis de ligamiento, se han descubierto 2 loci asociados con la gravedad de la infección por SARS-COV-1. Específicamente, las mutaciones en el gen Trim55 (E3 ubiquitina ligasa) están relacionadas con la acumulación de líquido y la infiltración de células inmunes en el pulmón (Gralinski et al., 2015).

En otro estudio, una cepa de ratón con alta carga viral y alta supervivencia se comparó con otra cepa con alta mortalidad a pesar de tener una baja carga viral. En este caso, se descubrió una mutación en el gen Ticam2, esta proteína está involucrada en la transducción de señal mediada por TLR4. El papel de TLR4 en la protección contra el coronavirus se ha confirmado posteriormente utilizando un modelo de ratón altamente susceptible al virus de la hepatitis de ratón tipo 1 (patología similar al SARS-COV-1). Los ratones con deficiencia de TLR4 sufren una infección letal con este coronavirus (Gralinski et al., 2017); (Khanolkar et al., 2009).

Las asociaciones con TNF y CD209 también se han descrito en modelos animales de infección por coronavirus. La peritonitis infecciosa felina (FIP) es producida por un coronavirus que causa la generación anormal de varias citocinas en los gatos. Una relación entre el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (Takano et al., 2007) y una no-integrina agarradora de moléculas de adhesión intercelular específica de células felinas dendríticas (codificada por fCD2209) (Regan et al., 2010) con la ocurrencia de FIP se ha identificado previamente. En un estudio realizado con 71 gatos sintomáticos positivos y 93 gatos asintomáticos, los autores recolectaron y aislaron ADN genómico para la identificación de SNP en secuencias específicas de genes fCD209 y TNF- α felino (fTNFA). Con una prueba exacta del fisher, buscaron la asociación entre los SNP y la aparición de FIP. Cinco SNP asociados mostraron relaciones significativas con FIP (Y. T. Wang et al., 2014).

Inmunidad adaptativa y susceptibilidad a coronavirus

HLA: diversos autores han demostrado que el antígeno leucocitario humano (HLA) interfiere con la infección de SARS-CoV. Determinado con estudios de casos y controles se evidenciado asociaciones entre los polimorfismos HLAB * 4601, HLAB * 5401 y casos severos de infección por SARS-CoV (Lin et al., 2003), un aumento de las frecuencias de HLA-B * 0703 y el desarrollo de SARS-CoV (Margaret HL Ng et al., 2004), un aumento de la presencia de DRB4 * 01010101, B * 1502 en pacientes infectados (MHL Ng et al., 2010), el alelo DRB1 * 1202 o el gen DRB1 * 12 en pacientes vietnamitas infectados (Keicho et al., 2009) y alelo Cw * 0801 con infección por el virus (Chen et al., 2006). Hay evidencia del papel protector de algunos polimorfismos en estos genes y la infección con este virus, como Cw * 1502 (SF Wang et al., 2011), y una disminución de las frecuencias de DRB1 * 0301 (Margaret HL Ng et al., 2004), aunque en un estudio con pacientes chinos de Hong Kong los autores investigaron una posible asociación entre los genes HLA y la gravedad de la infección con SARS-CoV y no encontraron una diferencia significativa en las frecuencias de genes HLA entre ambos grupos (Fang Fang Yuan et al., 2014).

FCGR2A: El receptor Fc y II IIA humano desempeña un papel en la regulación de la respuesta inmune a los invasores externos, en la inflamación local al establecer un vínculo entre la rama humoral y las células efectoras. En un estudio de casos y controles realizado en una población de Hong Kong, los autores encontraron una asociación entre la manifestación grave de SARS-CoV y el genotipo de homocigosidad FcyRIIA-R / R131 (Fang F. Yuan et al., 2005).

Se debe tener cuidado al analizar este tipo de estudios, la existencia de una asociación no siempre significa que haya un efecto causal con la enfermedad. Existe la posibilidad de que los genes estudiados sean parte de redes que desencadenan la gravedad de los síntomas manifestados por los pacientes. Por otro lado, algunos estudios no se respaldan con suficiente potencia estadística (OEA, IL-12RB1, ACE), otros no consideran la estratificación de la población (CD209L), o bien no tienen replicabilidad (RANTES, ICAM3, CCL2, AHSG), o se evidencia contradicción entre los estudios independientes (HLA, ACE1) (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de estudios de asociación genética con susceptibilidad al SARS - síndrome respiratorio agudo grave y MERS-Cov. Notas: Nc: número de casos; Nx: número de controles. O, odds ratio, IC 50% (intervalo de confianza del 50%). * valor no reportado. Fuente: Elaboración propia.

Gen	Nc	Nx	p-value; OR (IC50%)	Notas
ACE1	532	3052	0,0001	Metanálisis para el síndrome respiratorio agudo grave (incluidos pacientes con SARS)
ACE1	140	326	NS	Sin asociación con un polimorfismo tipo INDEL
ACE2			NS	No asociación en dos cohortes independientes de China y Vietnam
AHSG	700	800	*; 1.7-(1,3-2,0)	
CCL2	932	982	0.0001	Resistencia a la infección
CD209	824		0.01: 0.4	Asociación con niveles de lactato deshidrogenasa no con el curso clínico
CD209L	218	172	0.005; 0.6 (0.4-0.8)	Asociación no replicada y cuestionada por dos trabajos posteriores que no encuentran relación entre CD209L y SARS
FCGRIIA	180	200	0,03; 3.2 (1.1-9.1)	
HLA-A	176	18774	NS	Este trabajo no replica las asociaciones descritas anteriormente con menos pacientes.
HLA-B	176	18774	NS	
HLA- DRB1	176	250	NS	
ICAM3	817	309	0,006; 4.3 (1.3-13.5)	Asociación con niveles de deshidrogenasa lactada y linfopenia
IL-12RB1	115	155	*; 2.3 (1.7-13.3)	
MBL	352	392	0,0008; 1.7(1.2-2.3)	
MBL	932	982	10 ⁻⁸	Resistencia a la infección
MBL	180	200	NS	
OAS1	44	103	0,009	
OAS1	66	64	0,01	
RANTES	495	578	0,0001; 2.8 (2.1-3.7)	
EBI3	30	30	0.05	Bajo o sobreexpresado en el tracto respiratorio inferior
CCR3	30	30	0.05	
SOCS5	30	30	0.05	

Otros genes candidatos asociados con varias enfermedades infecciosas que podrían tener un papel en la patología del SARS-COV

SFTPA / D: las proteínas tensioactivas de las colectinas son parte de la respuesta inmune

innata contra el virus. Esta proteína neutraliza la infectividad del virus de la influenza A. Se ha reconocido que la variante SFTPD se une a la proteína S del SARS-CoV mejorando la entrada a la célula. En un estudio con 93 pacientes con H1N1, los autores sugieren un efecto sobre las variantes de SFTPA en la respuesta a la infección viral independiente del desarrollo de un evento secundario de neumonía bacteriana (Herrera-Ramos et al., 2014). Sin embargo, en un estudio de casos y controles, la variante SFTPD muestra una elevación significativa en personas con neumonía por SARS-CoV (Y. P. Wu et al., 2009).

IFITM3: la proteína transmembrana 3 inducible por interferón es una proteína que restringe la replicación del virus de la influenza A, en un modelo de ratón knockout, los autores muestran que la ausencia del gen *Ifitm3* produce neumonía fulminante incluso cuando el modelo estaba infectado con el virus de baja patogenicidad. La evaluación de este gen en la población humana muestra un enriquecimiento estadístico para el alelo menor IFITM3 (SNP rs12252-C) en pacientes hospitalizados (Everitt et al., 2012).

La brecha de las personas infectadas por el SARS-CoV-2 entre los géneros se ha relacionado con los genes en el cromosoma X. Existe alguna evidencia sobre la respuesta inmune más fuerte en las mujeres que en los hombres, sin duda sobre el cromosoma X y su capacidad para modular el sistema inmune. regulando al alza algunos genes relacionados con la respuesta antiviral como IFNG, RIGI, SPINK5, OAS1 e IFI6. Los genes relacionados con la expresión de la vía del receptor Toll-like y los genes proinflamatorios también son más altos en las mujeres, como TLR7 o MYD88 (Klein y Flanagan, 2016).

Variantes genéticas asociadas con la susceptibilidad a COVID-19 identificadas recientemente

En los últimos meses (Junio, Julio) del año 2020 se han llevado a cabo estudios cuyo objetivo es la determinación de la relación entre diversos genes y la susceptibilidad al coronavirus, así como al desarrollo del cuadro clínico en los pacientes (COVID-19 Host Genetics Initiative, 2020). Uno de los últimos trabajos publicados es el estudio de asociación de genoma completo (GWAS por sus siglas en inglés), publicado en la revista "The New England Journal of

Medicine, equipo liderado por el profesor Andre Franke, director del “Institute of Clinical Molecular Biology (IKMB).

Las causas implicadas en el desarrollo de un cuadro clínico severo para COVID-19 y los síntomas asociados siguen siendo desconocidos. Para comprender algunas variables genéticas el equipo del profesor Franke llevó a cabo un estudio de genoma completo para explorar las variantes en el genoma que podrían dirigir el establecimiento de la variabilidad en los síntomas por COVID-19.

La metodología de GWAS siguió los principios de un estudio de casos y controles, para determinar las variantes comunes en los individuos sin la enfermedad, que pueden ser considerados como el grupo control, y las variantes presentes en los individuos enfermos. Las variantes asociadas a COVID-19 serán encontradas en mayor frecuencia en los pacientes enfermos, al compararlos con el grupo control.

El estudio utilizó 835 pacientes enfermos de Italia y 775 pacientes de España. Al mismo tiempo se utilizaron 1255 participantes control de Italia y 950 controles de España. Para establecer la presencia de SARS-CoV-2 en la cohorte de pacientes infectados fueron llevadas a cabo PCR de muestras nasofaríngeas. Los pacientes controles fueron reclutados de bancos de donadores de sangre.

El principal resultado fue el descubrimiento de dos variantes genéticas independientes asociadas a la falla respiratoria inducida por COVID-19: La variante rs11385942 en el locus 3p21.31 y la variante rs657152 en el locus 9q34.2 ($P < 5 \times 10^{-8}$) (Ellinghaus et al., 2020).

El locus 3p21.31 contiene el gen SLC6A20 que se encuentra implicado en la codificación de un transportador que interactúa con el receptor de SARS-CoV-2, ACE2. Nuevamente, cabe mencionar que los estudios GWAS no demuestran una relación de causalidad, más bien una asociación, por lo tanto no significa que se haya determinado una relación con los detalles de los mecanismos detrás de la progresión o bien protección de la enfermedad.

Por otro lado, otros autores han desarrollado investigaciones para establecer asociaciones genéticas con la enfermedad. Taylor et al., (2020), establecieron la asociación de 68 genes que

codifican en proteínas implicadas en la producción de citoquinas proinflamatorias, disfunción celular endotelial, neurodegeneración y factores de susceptibilidad viral, comunes con los pacientes enfermos por COVID-19 sin embargo, no encontraron relación con la severidad del cuadro clínico. Das et al. (2020), utilizando estudios de asociación de genoma completo identificaron 70 genes asociados al riesgo de producir sepsis durante la infección de COVID-19. Estos genes fueron agrupados en mecanismos de acción comunes, como la disfunción celular endotelial, regulación de la respuesta inmune, la ruta de señalización PI3K/mTOR, señalización neurogénica y GABA aberrante.

Aiweesakun, et al. (2020), a través de GWAS identificaron variaciones en las posición codificante 11,083, de la proteína 6 no estructural, asociada con la severidad de la enfermedad.

La compañía 23andMe llevó a cabo un análisis GWAS, encontro alguna evidencia sobre el papel que puede ejercer el tipo de sangre, determinado por el gen ABO, y la susceptibilidad al COVID-19. Utilizando información de 835-775 pacientes positivos de Italia y España, así como 1255 y 950 pacientes control de los mismos países, un equipo de la compañía realizó el análisis para comparar los individuos positivos para COVID-19 y los individuos negativos para esta enfermedad, con las variantes en el gen ABO asociadas a un menor riesgo de contraer el virus. El estudio encontró asociación entre la posición rs11385942 del cromosoma 3p21.31 y la variación rs657152 en el cromosoma 9q34 con los grupos de estudio. Se reportó el tipo de sangre O puede ser un factor de protección (OR=0.65, 95% CI, 0.53 a 0.79, $P < 1.06 \times 10^{-5}$), mientras que el tipo de sange A podría ser un factor de riesgo (OR=1.45, 95% CI, 1.20 a 1.75, $P < 1.48 \times 10^{-4}$), (Ellinghaus, et al., 2020).

○ **Justificación**

La variabilidad en la virulencia del SARS-CoV-2, así como las características clínicas de los pacientes infectados que presentan síntomas graves y críticos sugieren la existencia de variables en individuos de origen genético, que juegan un papel importante en términos de susceptibilidad contra este virus.

En este punto es evidente la existencia de una mayor predisposición a presentar síntomas correlacionados positivamente con una serie de variantes genéticas implicadas en la entrada viral como los genes ACE1 y ACE2; variantes genéticas asociadas a la inmunidad innata, incluyendo citocinas, interferones, genes inducidos por interferón y sus vías de transducción de señales; y variantes genéticas asociadas a la inmunidad adquirida como los genes de HLA; así como otros factores como la edad, diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares y género. Sin embargo, no todos los pacientes presentan síntomas.

La identificación de genes asociados con la protección contra la infección por COVID-19 es esencial para comprender los mecanismos moleculares involucrados en el proceso de infección, la respuesta inmune innata y adaptativa al virus, identificar posibles objetivos farmacológicos, mejorar la eficacia de las vacunas en el desarrollo y aumentar la respuesta a la terapia por parte de los pacientes. También es esencial identificar grupos potenciales con un mayor riesgo genético de progresión de la infección.

- **Hipótesis**

| La presentación clínica de los pacientes de SARS-CoV-2 se encuentra influida por variaciones estructurales y de expresión de los genes del sistema renina-angiotensina, inmunidad innata e inmunidad adaptativa.

2) Objetivos

1. Establecer variaciones polimórficas SNPs e INDELS identificadas por medio de GWAS en pacientes con distintas manifestaciones clínicas de SARS-CoV-2.
2. Cuantificar mediante ARN-seq el perfil de expresión génica de pacientes con distintas manifestaciones clínicas de SARS-CoV-2.
3. Determinar la posible asociación entre las variaciones polimórficas, la diferencia en el perfil de expresión génica con las distintas manifestaciones clínicas de SARS-CoV-2.

3) Pacientes y métodos

Sistema Renina-Angiotensina: se propone el estudio de los genes ACE1, ACE2, TMPRSS2, GPR78, APN, DPP4, ATR1, KNG1 y KLKB1 que podrían influir en el curso de la infección por SARS-CoV-2.

La selección de SNPs e INDELs de estos genes se realizará en función de 3 criterios: previamente asociados a efectos funcionales o asociaciones con enfermedades, aquellos relacionados con eQTL identificados en la base de datos de GTEX. Todos los SNPs seleccionados se genotiparán mediante PCR tipo Taqman utilizando las sondas y primers de Thermofisher (Applied Biosystems).

Se exploró variaciones en los genes ACE2, GPR78, KNG1, SLC3A1 y TNFRSF1A que podrían estar relacionados con neumonía para marcarlos como genes candidatos para el estudio en BioMart y Bioconductor (Steffen, et al., 2009; Steffen, et al., 2005), con la función *vargen_custom* utilizando *gene_mart* como MART, *ENSG00000130234*, *ENSG00000155269*, *ENSG00000138079*, *ENSG00000113889*, *ENSG00000067182* como *gene_ids*, *lung_tissues* como *gtex_tissues*, *Pneumonia* como *gwas_traits* y una *fantom_corr* de 0.001 en el paquete VarGen (Molitor, Brember y Mohareb, 2019). Las anotaciones se obtuvieron utilizando la función *annotate_variants*. Para determinar la frecuencia de los alelos menores de los SNP's encontrados se utilizó la función *getBM*, *ENSEMBL_MART_SNP* como MART, *hsapiens_snp* como dataset, *refsnp_id* y *minor_allele_freq* como atributos, *snp_filter* como filtro y los resultados de la función *vargen_custom* como valores. La visualización de los resultados (Figura 2) fueron esquematizados con la función *vargen_visualisation* (modificada para obtener la posición de los genes basado en el conjunto de genes de los resultados y no para los genes de la base de datos de omim) (Molitor, Brember & Mohareb, 2020). Todas las búsquedas y cálculos se realizaron en el software R (R core Team, 2019).

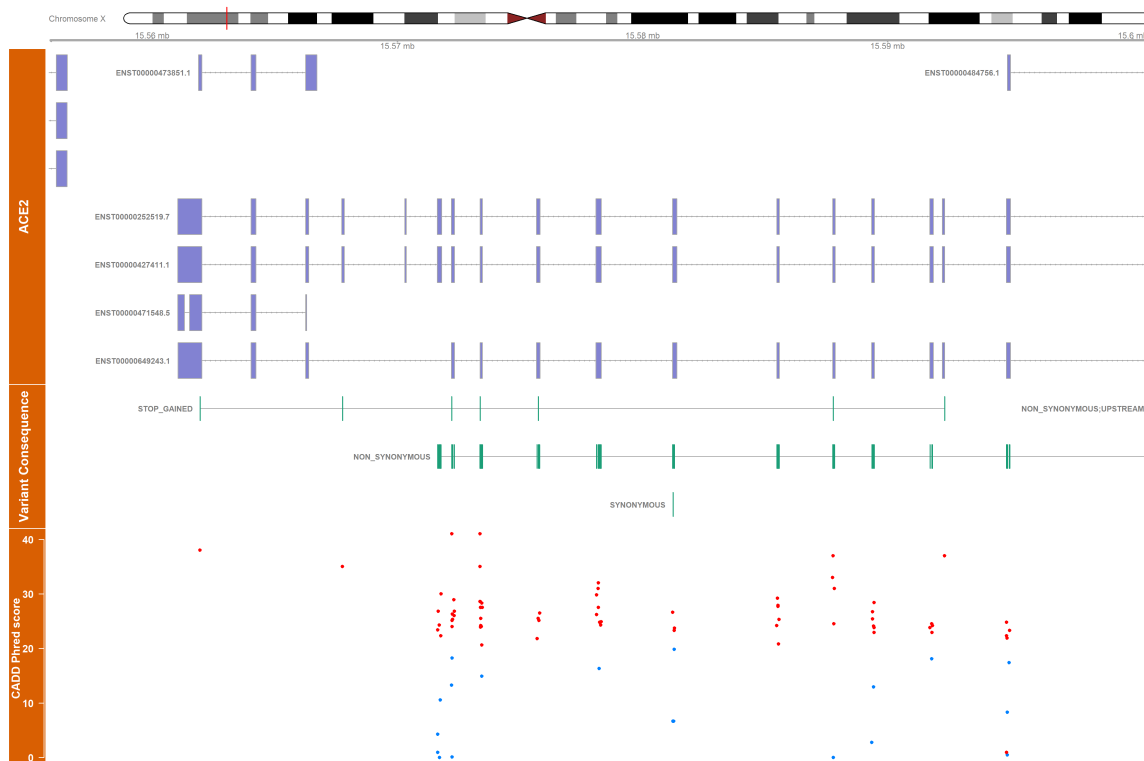


Figura 2. Variaciones genéticas relacionadas con neumonía, Gen ACE2. Primer panel: cromosoma con un marcador rojo en la ubicación del gen, Segundo panel: transcriptoma (de ensembl), tercer panel: consecuencias de las variantes, agrupadas por tipo, cada barra verde representa una variante. Cuarto panel: puntaje phred cadd, cada punto representa una variante.

Encontramos 410 variantes con un umbral de correlación de 0.001 y altos efectos pronosticados en los genes por Snpeff ann. También encontramos 41 variaciones que se han clasificado como patógenas con importancia clínica y 1 como factor de riesgo (rs1800693) (ver Anexo 1). Sin embargo, la baja frecuencia del alelo menor hace difícil el utilizar estas variantes en el estudio debido a que requieren la utilización una muestra muy amplia para obtener resultados significativos.

Inmunidad innata: Se propone el estudio de TNF, OAS1, MBL, IFNL4, CD209, SFPAD, TRIM55, TICAM2, TLR3, TLR4, G6PD. Los criterios de selección de los polimorfismos serán los mismos que para los genes del sistema renina-angiotensina. Para los dos bloques de genes candidatos se necesita al menos una población de 200 pacientes de cada fenotipo. El

genotipado se realizará al igual que en el caso de los genes candidatos del sistema renina-angiotensina.

RNASEQ

El RNAseq se realizará para la comparación de grupos extremos de curso de la infección por SARS-COV-2. En concreto, serán necesarios al menos 50 pacientes asintomáticos y 50 pacientes fallecidos, con equivalentes factores de riesgo de progresión de la infección (diabetes, hipertensión, edad y sexo).

El ARN total será extraído a partir de células mononucleares de sangre periférica mediante el método de Allprep de Qiagen y conservado a -80°C. La integridad del ARN se cuantificará mediante el RNA Integrity Number utilizando el protocolo de Agilent (Agilent, 2002; Agilent Technologies, California, EE. UU.). Mediante retrotranscripción (Superscript III; Invitrogen) se preparan las distintas genotecas de cDNA. Las genotecas de secuenciación se prepararán utilizando el kit TruSeq® DNA PCR- Free Sample Preparation (Illumina, California, EE. UU.), siguiendo el protocolo del fabricante, durante los procedimientos de preparación de los extremos, ligación de adaptadores e indexación. Las genotecas resultantes se cuantificarán utilizando un fluorómetro Qubit® 2.0 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.). Los fragmentos de ADN de doble cadena se fragmentarán mecánicamente hasta los 200 nucleótidos, procediendo a su purificación. La secuencia se realizará en el sistema Illumina HiSeq 4000 (Illumina, San Diego, CA) utilizando el kit Hyper Prep (KAPA Biosystems, Boston, MA). Con objeto de mejorar la eficiencia del proceso de detección de los ARNm y ARNm_c presentes en las distintas muestras, combinaremos la extracción de ARN con un protocolo de depleción de los ARNr que determina un enriquecimiento en la fracción ARNm. Estos protocolos de depleción del rRNA suponen una opción atractiva, al permitir la caracterización simultánea de ARN-poliadenilado y de ARNs no-poliadenilado, incluyendo ARNs no codificantes, a partir de cantidades mínimas de partida de ARN. Por razones de disponibilidad de los equipos, el RNAseq debe realizarse en una empresa especializada con disponibilidad técnica para desarrollar este procedimiento (Sistemas Genómicos, Novagen, Era7, etc.).

Análisis bioinformático: En un primer paso se procederá a desmultiplexar las lecturas una vez retiradas las secuencias de cebadores y adaptadores (programa Cutadapt v1.8.3), realizando además un filtrado de longitud y enmascaramiento de regiones de baja complejidad mediante la

aplicación de WU-BLAST 2.0 (Washington University). Eliminaremos las secuencias quiméricas utilizando el algoritmo UCHIME (http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html), que permite comparar etiquetas (tags) con la base de datos de referencia (Unite Database, <https://unite.ut.ee/>). Las lecturas restantes se someterán a una búsqueda de la homología mediante BLASTn frente al genoma humano. (iv) La validación de los resultados obtenidos se realizará a través de RT-PCR tipo taqman utilizando cebadores y sondas diseñados específicamente para los ARNs detectados (Thermo Fisher Scientific).

Genome Wide Association Study

Son necesarias unas 750 muestras por cada fenotipo para alcanzar una significación estadística. Para el estudio de genoma completo hemos seleccionado la plataforma Infinium Global Screening Array 650 K de Illumina que consta de 650.000 SNPs y variaciones de número de copias. En el control de calidad de las muestras se excluirán aquellos SNPs con una frecuencia del alelo menor inferior al 0.5%, call rate inferior al 97%, valor de $p < 0.0001$ en el Test de Hardy-Weinberg; así como muestras con más del 3% de genotipos perdidos. La imputación de genotipos se realizará para capturar información sobre los SNP con desequilibrio de ligamiento y los genotipos faltantes entre los SNP genotipados, utilizando todos los haplotipos del panel de referencia del 1000 Genomes Project Phase 3 (Altshuler, et al., 2012). La fase previa se realizará en SHAPEIT2 (Delaneau, Zagury & Marchini, 2013) y la imputación con IMPUTE2 (Howie, Marchini & Stephens, 2011). Los SNP imputados con puntajes INFO < 0.8 serán excluidos. El análisis de asociación a nivel de SNPs se realizará utilizando softwares específicos como Plink y Gplink. Las regiones candidatas serán sometidas a un estudio de haplotipos, así como de análisis en profundidad con las herramientas bioinformáticas Vista Genome Browser, UCSC genome browser, Ensembl y Gtex. Este análisis incluirá el estudio de homología de las regiones ortólogas de vertebrados, con la anotación in silico de las regiones candidatas. Posteriormente se complementará el análisis mediante los datos de expresión génica tisular recogidos en la base de datos Gtex que relaciona genotipo con niveles de expresión génica y patrones de splicing del ARNm.

Bioética: Descripción de aspectos éticos de la investigación

El proyecto se realiza según las recomendaciones éticas contenidas en la declaración de Helsinki, siendo aprobado por la Comisión de Ética e Investigación de la Provincia de Jaén, bajo el amparo de la Ley 41/2002 de 14 de noviembre, Ley básica reguladora de la autonomía

del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica y siguiendo la normativa vigente en nuestro país en materia de investigación biomédica (Ley 14/2007 de 3 de julio, de Investigación Biomédica) y en materia de protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.). Serán incluidos en el estudio solo aquellos pacientes que acepten el consentimiento informado para la donación de muestras biológicas y/o autorización de acceso a datos para un proyecto específico gestionado por el Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía (adjunto en anexos). Debido a la excepcionalidad de la situación frente al COVID-19, se solicita al CEI que la aceptación de este consentimiento pueda ser escrita o verbal. En todo caso, en la Historia Clínica debe quedar reflejado un párrafo donde se indique que se ha informado al paciente del estudio, objetivos, beneficios y riesgos y que ha tenido la oportunidad de exponer las dudas y que han sido respondidas. Igualmente, se incluirá la frase “Doy fe o afirmo que el paciente ha manifestado su deseo de participar”. Las revisiones a las que serán sometidos los pacientes formarán parte de la práctica clínica habitual, con la única salvedad de que se obtendrán muestras de sangre que se tomarán tras la aceptación verbal o escrita del consentimiento informado. Las muestras serán tratadas según el procedimiento que regula el Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía mediante la firma de un acuerdo de gestión (adjunto en anexos), amparado por el Real Decreto 1716/2011 de 18 de noviembre, Ley 41/2002 de 14 noviembre y Decreto 1/2013 de 8 de enero, garantizando así la trazabilidad y calidad de las muestras y/o datos que se deriven del estudio. Las muestras y los datos serán asociados de forma codificada o anonimizada a la identidad del paciente y su decodificación, en los casos que sea posible, será confidencial y conocida solo por el/los responsables clínicos del paciente. En caso de que existiera excedente de muestras una vez concluido el estudio, éstas serán incluidas en el Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía y podrán ser cedidas a otros proyectos de la misma área o línea de investigación, pudiendo autorizar el paciente su uso en proyectos de diferentes áreas o líneas, docencia sanitaria/bioética o controles de calidad.

4) Cronograma de actuación previsto.

Creación de la cohorte andaluza de afectados que incluiría la genoteca (ADN y ARN) así como la base de datos sería un trabajo continuo durante las primeras semanas. En un principio se puede realizar la toma de muestras de todos los pacientes disponibles, aunque sólo se realice

la extracción inmediata de ADN/ARN de un grupo pequeño de unos 100-200 pacientes por cada fenotipo (asintomático vs. fallecimiento), esto puede hacerse en el primer mes de trabajo.

La realización de los estudios de genes candidatos suponiendo unos 20 SNPs de una batería de candidatos seleccionados, puede hacerse a un ritmo de 400 genotipos diarios (dependiendo del personal disponible). Tiempo estimado unos 15 días. Los estudios de RNAseq pueden ser completados en un plazo breve también, mediante outsourcing con empresas especializadas. El estudio de GWAS se puede realizar a medio plazo, mediante subcontratación externa (CNIO, por ejemplo) y tardan unos 30 días en enviar los resultados.

La identificación y análisis de los datos de GWAS se puede llevar a cabo en otras dos semanas.

5) Resultados esperados

Se espera encontrar una asociación entre la presentación clínica de los pacientes de SARS-CoV-2 con variaciones estructurales y de expresión de los genes del sistema renina-angiotensina, inmunidad innata e inmunidad adaptativa.

◦ Impacto

El descubrimiento de genes asociados con la protección contra la infección por SARS-COV-2 permitiría identificar grupos con mayor riesgo de padecer las presentaciones clínicas graves del virus. Estos individuos con mayor riesgo genético podrían ser sometidos a un medidas de aislamiento más estrictas, ser seleccionados como prioridad para el tratamiento farmacológico y monitoreados de cerca. La identificación de factores inmunológicos, genéticos o ambientales relacionados con la protección contra la infección por COVID-19 también sería un avance importante para el desarrollo de nuevos antivirales y vacunas contra este virus mediante la identificación de nuevos objetivos terapéuticos y factores que modulan la respuesta inmune protectora.

6) Plan de difusión de resultados.

Los resultados del proyecto planteado serían difundidos por la comunidad científica por medio de la presentación de artículos a revistas con índices de impacto de primer cuartil, así como en seminarios y congresos relacionados a la pandemia de SARS-CoV-2 en España y Guatemala.

7) Plan de contingencia.

El principal problema de este tipo de proyectos es la elevada competencia internacional que existe actualmente sobre la infección por SARS-COV-2, tanto a nivel de investigación clínica (farmacología, vacunas) como de investigación básica. En el caso de que el estudio propuesto en este proyecto sea llevado a cabo total o parcialmente por otros grupos de investigación, nuestra aportación sería la replicación de los resultados previos. Paso esencial para corroborar las asociaciones genéticas descubiertas. En muchos casos, los estudios de genes candidatos o GWAS no se han replicado en poblaciones independientes, revelando errores de diseño o estratificación de la población.

8) Bibliografía.

Aiewsakun P, Wongtrakoongate P, Thawornwattana Y, Hongeng S, Thitithanyanont A. (2020). medRxiv 2020.05.27.20114546; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.27.20114546>

Alosaimi, B., Hamed, M. E., Naeem, A., Alsharef, A. A., AlQahtani, S. Y., AlDosari, K. M., Alamri, A. A., Al-Eisa, K., Khojah, T., Assiri, A. M., & Enani, M. A. (2020). MERS-CoV infection is associated with downregulation of genes encoding Th1 and Th2 cytokines/chemokines and elevated inflammatory innate immune response in the lower respiratory tract. *Cytokine*, 126(June 2019), 154895. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154895>

Altshuler DM, Durbin RM, Abecasis GR, et al. (2012). An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*;491(7422):56-65. doi:10.1038/nature11632

Babcock, G. J., Eshshaki, D. J., Thomas, W. D., & Ambrosino, D. M. (2004). Amino Acids 270 to 510 of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein Are Required for

Interaction with Receptor. *Journal of Virology*, 78(9), 4552–4560.
<https://doi.org/10.1128/jvi.78.9.4552-4560.2004>

Belouzard, S., Millet, J. K., Licitra, B. N., & Whittaker, G. R. (2012). Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*, 4(6), 1011–1033.
<https://doi.org/10.3390/v4061011>

Bridger, J. C., Caul, E. O., & Egglestone, S. I. (1978). Replication of an enteric bovine coronavirus in intestinal organ cultures. *Archives of Virology*, 57(1), 43–51.
<https://doi.org/10.1007/BF01315636>

Caì, Y., Yú, S., Postnikova, E. N., Mazur, S., Bernbaum, J. G., Burk, R., Zhang, T., Radoshitzky, S. R., Müller, M. A., Jordan, I., Bollinger, L., Hensley, L. E., Jahrling, P. B., & Kuhn, J. H. (2014). CD26/DPP4 cell-surface expression in bat cells correlates with bat cell susceptibility to middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection and evolution of persistent infection. *PLoS ONE*, 9(11), 13–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112060>

Cavanagh, D. (2007). Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Veterinary Research*, 38(2), 281–297. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006055>

Chan, K. Y. K., Ching, J. C. Y., Xu, M. S., Cheung, A. N. Y., Yip, S., Yam, L. Y. C., Lai, S., Chu, C., Wong, A. T. Y., Song, Y., Huang, F., Liu, W., Chung, P. H., Leung, G. M., Chow, E. Y. D., Chan, E. Y. T., Chan, J. C. K., Ngan, H. Y. S., Tam, P., ... Khoo, U. (2007). Association of ICAM3 Genetic Variant with Severe Acute Respiratory Syndrome . *The Journal of Infectious Diseases*, 196(2), 271–280. <https://doi.org/10.1086/518892>

Chan, V. S. F., Chan, K. Y. K., Chen, Y., Poon, L. L. M., Cheung, A. N. Y., Zheng, B., Chan, K. H., Mak, W., Ngan, H. Y. S., Xu, X., Sreaton, G., Tam, P. K. H., Austyn, J. M., Chan, L. C., Yip, S. P., Peiris, M., Khoo, U. S., & Lin, C. L. S. (2006). Homozygous L-SIGN (CLEC4M) plays a protective role in SARS coronavirus infection. *Nature Genetics*, 38(1), 38–46.
<https://doi.org/10.1038/ng1698>

Chandrashekar, D. S., Manne, U., & Varambally, S. (2020). Comparative transcriptome analyses

reveal genes associated with SARS-CoV-2 infection of human lung epithelial cells. bioRxiv.

Chen, Y. M. A., Liang, S. Y., Shih, Y. P., Chen, C. Y., Lee, Y. M., Chang, L., Jung, S. Y., Ho, M. S., Liang, K. Y., Chen, H. Y., Chan, Y. J., & Chu, D. C. (2006). Epidemiological and genetic correlates of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection in the hospital with the highest nosocomial infection rate in Taiwan in 2003. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(2), 359–365. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.2.359-365.2006>

Chiu Rossa, Tang Nelson, Hui David, Chung Grace, Chim Stephen, Chan Allen, Sung Ying-man, Chan Louis, Tong Yu-kwan, Lee Wing-shan, Chan Paul, L. D. (2004). ACE2 Gene Polymorphisms Do Not Affect Outcome of Severe Acute Respiratory Syndrome. *Clinical Chemistry*, 50(9), 1680–1683. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.034512>

Chu, C. Y., Bhattacharya, S., McDavid, A., Slaunwhite, C., Ren, Y., Anderson, C. S., ... & Walsh, E. E. (2020). Single-Cell RNA-Seq Reveals Cellular and Molecular Correlates of Severe Illness in RSV-Infected Infants. In B29. INFECTION AND IMMUNE INTERPLAY IN LUNG INJURY (pp. A2974-A2974). American Thoracic Society.

COVID-19 Host Genetics Initiative. (2020). The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic. *European Journal of Human Genetics*. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41431-020-0636-6>.

Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 17, Issue 3, pp. 181–192). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>

Das S, Taylor K, Pearson M, Kozubek J, Pawlowski M, Jensen C, Skowron Z, Møller G, Strivens M, Gardner S. (2020). Identification and Analysis of Shared Risk Factors in Sepsis and High Mortality Risk COVID-19 Patients. *medRxiv* 2020.05.05.20091918; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.05.20091918>

Delaneau O, Zagury JF, Marchini J. (2013). Improved whole-chromosome phasing for disease and population genetic studies. *Nat Methods*;10(1):5-6. doi:10.1038/nmeth.2307

Díez-Fuertes F, De La Torre-Tarazona HE, Calonge E, et al. Transcriptome Sequencing of Peripheral Blood Mononuclear Cells from Elite Controller-Long Term Non Progressors. *Sci Rep*. 2019;9(1):14265. doi:10.1038/s41598-019-50642-x

Durham, P. J., Stevenson, B. J., & Farquharson, B. C. (1979). Rotavirus and coronavirus associated diarrhoea in domestic animals. *New Zealand Veterinary Journal*, 27(3), 30–32. <https://doi.org/10.1080/00480169.1979.34595>

Ellinghaus, D., Degenhardt, F., Bujanda, L., Buti, M., Albillos, A., Invernizzi, P., Fernandez, J., Prati, D., Baselli, G., Asselta, R., Grimsrud, M. M., Milani, C., Aziz, F., Kassens, J., May, S., Wendorff, M., Wienbrandt, L., Uellendahl-Werth, F., Zheng, T., ... Karlsen, T. H. (2020). The ABO blood group locus and a chromosome 3 gene cluster associate with SARS-CoV-2 respiratory failure in an Italian-Spanish genome-wide association analysis. *MedRxiv*, 2020.05.31.20114991. <https://doi.org/10.1101/2020.05.31.20114991>

Ellinghaus et al. (2020). Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. *The New England Journal of Medicine*. DOI: 10.1056/NEJMoa2020283.

Embong, A., Duffney, P., Thatcher, T. H., & Sime, P. J. (n.d.). Cigarette Smoke Increases Uptake of Influenza A Virus by Lung Epithelial Cells by Increasing Expression of Caveolin-1. www.atsjournals.org

Everitt, A. R., Clare, S., Pertel, T., John, S. P., Wash, R. S., Smith, S. E., Chin, C. R., Feeley, E. M., Sims, J. S., Adams, D. J., Wise, H. M., Kane, L., Goulding, D., Digard, P., Anttila, V., Baillie, J. K., Walsh, T. S., Hume, D. A., Palotie, A., ... McMichael, A. J. (2012). IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. *Nature*, 484(7395), 519–523. <https://doi.org/10.1038/nature10921>

Gralinski, L. E., Ferris, M. T., Aylor, D. L., Whitmore, A. C., Green, R., Frieman, M. B., Deming,

D., Menachery, V. D., Miller, D. R., Buus, R. J., Bell, T. A., Churchill, G. A., Threadgill, D. W., Katze, M. G., McMillan, L., Valdar, W., Heise, M. T., Pardo-Manuel de Villena, F., & Baric, R. S. (2015). Genome-Wide Identification of SARS-CoV Susceptibility Loci Using the Collaborative Cross. *PLoS Genetics*, 11(10), e1005504. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005504>

Gralinski, L. E., Menachery, V. D., Morgan, A. P., Totura, A. L., Beall, A., Kocher, J., Plante, J., Harrison-Shostak, D. C., Schäfer, A., Pardo-Manuel de Villena, F., Ferris, M. T., & Baric, R. S. (2017). Allelic Variation in the Toll-Like Receptor Adaptor Protein Ticam2 Contributes to SARS-Coronavirus Pathogenesis in Mice. *G3 (Bethesda, Md.)*, 7(6), 1653–1663. <https://doi.org/10.1534/g3.117.041434>

Gu, L., Tseng, S., Horner, R. M., Tam, C., Loda, M., & Rollins, B. J. (2000). Control of T(H) 2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature*, 404(6776), 407–411. <https://doi.org/10.1038/35006097>

Hamano, E., Hijikata, M., Itoyama, S., Quy, T., Phi, N. C., Long, H. T., Ha, L. D., Ban, V. Van, Matsushita, I., Yanai, H., Kirikae, F., Kirikae, T., Kuratsuji, T., Sasazuki, T., & Keicho, N. (2005). Polymorphisms of interferon-inducible genes OAS-1 and MxA associated with SARS in the Vietnamese population. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 329(4), 1234–1239. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.02.101>

Hamre, D., & Prockin, J. (1962). A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract.*. *Section of Preventive Medicine, Department of Medicine, University of Chicago*, 30734, 190–193.

He, J., Feng, D., de Vlas, S. J., Wang, H., Fontanet, A., Zhang, P., Plancoulaine, S., Tang, F., Zhan, L., Yang, H., Wang, T., Richardus, J. H., Habbema, J. D. F., & Cao, W. (2006). Association of SARS susceptibility with single nucleic acid polymorphisms of OAS1 and MxA genes: A case-control study. *BMC Infectious Diseases*, 6, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-106>

Herrera-Ramos, E., López-Rodríguez, M., Ruíz-Hernández, J. J., Horcajada, J. P., Borderías, L., Lerma, E., Blanquer, J., Pérez-González, M. C., García-Laorden, M. I., Florido, Y., Mas-Bosch, V., Montero, M., Ferrer, J. M., Sorlí, L., Vilaplana, C., Rajas, O., Briones, M., Aspa, J.,

López-Granados, E., ... Rodríguez-Gallego, C. (2014). Surfactant protein A genetic variants associate with severe respiratory insufficiency in pandemic influenza A virus infection. *Critical Care*, 18(3), 1–12. <https://doi.org/10.1186/cc13934>

Howie B, Marchini J, Stephens M. (2011). Genotype imputation with thousands of genomes. *G3 Genes, Genomes, Genet*;1(6):457-470. doi:10.1534/g3.111.001198

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)

Ismail, M. M., Tang, Y., & Saif, Y. M. (2003). Pathogenicity of Turkey Coronavirus in Turkeys and Chickens. *Avian Diseases*, 47(3), 515–522. <https://doi.org/10.1637/5917>

Itoyama, S., Keicho, N., Hijikata, M., Quy, T., Phi, N. C., Long, H. T., Ha, L. D., Van Ban, V., Matsushita, I., Yanai, H., Kirikae, F., Kirikae, T., Kuratsuji, T., & Sasazuki, T. (2005). Identification of an alternative 5'-untranslated exon and new polymorphisms of angiotensin-converting enzyme 2 gene: Lack of association with SARS in the Vietnamese population. *American Journal of Medical Genetics*, 136 A(1), 52–57. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30779>

Keicho, N., Itoyama, S., Kashiwase, K., Phi, N. C., Long, H. T., Ha, L. D., Van Ban, V., Hoa, B. K., Hang, N. T. Le, Hijikata, M., Sakurada, S., Satake, M., Tokunaga, K., Sasazuki, T., & Quy, T. (2009). Association of human leukocyte antigen class II alleles with severe acute respiratory syndrome in the Vietnamese population. *Human Immunology*, 70(7), 527–531. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.05.006>

Khanolkar, A., Hartwig, S. M., Haag, B. A., Meyerholz, D. K., Harty, J. T., & Varga, S. M. (2009). Toll-Like Receptor 4 Deficiency Increases Disease and Mortality after Mouse Hepatitis Virus Type 1 Infection of Susceptible C3H Mice. *Journal of Virology*, 83(17), 8946–8956. <https://doi.org/10.1128/jvi.01857-08>

Klein, S. L., & Flanagan, K. L. (2016). Sex differences in immune responses. *Nature Reviews*

Immunology, 16(10), 626–638. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.90>

Krueger, D. K., Kelly, S. M., Lewicki, D. N., Ruffolo, R., & Gallagher, T. M. (2001). Variations in Disparate Regions of the Murine Coronavirus Spike Protein Impact the Initiation of Membrane Fusion. *Journal of Virology*, 75(6), 2792–2802. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.6.2792-2802.2001>

Lebreton, J. P., Joisel, F., Raoult, J. P., Lannuzel, B., Rogez, J. P., & Humbert, G. (1979). Serum concentration of human alpha2 HS glycoprotein during the inflammatory process. Evidence that alpha2 HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. *Journal of Clinical Investigation*, 64(4), 1118–1129. <https://doi.org/10.1172/JCI109551>

Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K. S. M., Lau, E. H. Y., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *The New England Journal of Medicine*, 382(13), 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>

Li, W., Moore, M. J., Vasllieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M. A., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., Greeneugh, T. C., Choe, H., & Farzan, M. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426(6965), 450–454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>

Li, Y., Li, H., & Zhou, L. (2020). EZH2-mediated H3K27me3 inhibits ACE2 expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, PG-. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.010>

Lin, M., Tseng, H. K., Trejaut, J. A., Lee, H. L., Loo, J. H., Chu, C. C., Chen, P. J., Su, Y. W., Lim, K. H., Tsai, Z. U., Lin, R. Y., Lin, R. S., & Huang, C. H. (2003). Association of HLA class I with severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *BMC Medical Genetics*, 4, 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-4-9>

Lu, Y., Liu, D. X., & Tam, J. P. (2008). Lipid rafts are involved in SARS-CoV entry into Vero E6 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 369(2), 344–349.

<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.02.023>

Marjuki, H., Wernery, U., Yen, H. L., Franks, J., Seiler, P., Walker, D., Krauss, S., & Webster, R. G. (2009). Isolation of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus from saker falcons (*Falco cherrug*) in the Middle East. *Advances in Virology*, 2009. <https://doi.org/10.1155/2009/294520>

Matsuda, A., Kishi, T., Jacob, A., Aziz, M., & Wang, P. (2012). Association between insertion/deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene and acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis. *BMC Medical Genetics*, 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-13-76>

Molitor C, Brember M and Mohareb F. (2020). vargen: Fetching Variants Related to Phenotypes Using Public Databases. R package version 0.1.8. <https://github.com/MCorentin/vargen>

Morita, E., Sandrin, V., McCullough, J., Katsuyama, A., Baci Hamilton, I., & Sundquist, W. I. (2011). ESCRT-III protein requirements for HIV-1 budding. *Cell Host and Microbe*, 9(3), 235–242. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.02.004>

Neth, O., Jack, D. L., Dodds, A. W., Holzel, H., Klein, N. J., & Turner, M. W. (2000). Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infection and Immunity*, 68(2), 688–693. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.2.688-693.2000>

Ng, M. H.L., Cheng, S. H., Lau, K. M., Leung, G. M., Khoo, U. S., Zee, B. C. W., & Sung, J. J. Y. (2010). Immunogenetics in SARS: A casecontrol study. *Hong Kong Medical Journal*, 16(5 SUPP4), 29–33.

Ng, M. W., Zhou, G., Chong, W. P., Lee, L. W. Y., Law, H. K. W., Zhang, H., Wong, W. H. S., Fok, S. F. S., Zhai, Y., Yung, R. W. H., Chow, E. Y., Au, K. L., Chan, E. Y. T., Lim, W., Peiris, J. S. M., He, F., & Lau, Y. L. (2007). The association of RANTES polymorphism with severe acute respiratory syndrome in Hong Kong and Beijing Chinese. *BMC Infectious Diseases*, 7, 50. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-50>

Ng, Margaret H. L., Lau, K., Li, L., Cheng, S., Chan, W. Y., Hui, P. K., Zee, B., Leung, C., & Sung, J. J. Y. (2004). Association of Human-Leukocyte-Antigen Class I (B*0703) and Class II (DRB1*0301) Genotypes with Susceptibility and Resistance to the Development of Severe Acute Respiratory Syndrome. *The Journal of Infectious Diseases*, 190(3), 515–518. <https://doi.org/10.1086/421523>

Pedersen NC, Evermann JF, McKeirnan AJ, O. R. (1984). Pathogenicity studies of feline coronavirus isolates 79-1146 and 79-1683. *American Journal of Veterinary Research*, 45(12), 2580–2585.

Rasool, A., Ishfaq, S., & Uqab, B. (2020). Novel Coronavirus (2019-nCoV) Outbreak in China: From Local Epidemics to Global Pandemics. In *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3559461>

Rebouillat, D., & Hovanessian, A. R. A. G. (1999). Interferon-Induced Proteins with Unique Enzymatic Properties ACTIVITIES DEPENDENT ON dsRNA. 308, 2–5.

Regan, A. D., Ousterout, D. G., & Whittaker, G. R. (2010). Feline Lectin Activity Is Critical for the Cellular Entry of Feline Infectious Peritonitis Virus. *Journal of Virology*, 84(15), 7917–7921. <https://doi.org/10.1128/jvi.00964-10>

Salanueva, I. J., Cerezo, A., Guadamillas, M. C., & Del Pozo, M. A. (2007). Integrin regulation of caveolin function: Caveolae Review Series. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 11(5), 969–980. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00109.x>

Schoeman, D., & Fielding, B. C. (2019). Coronavirus envelope protein: Current knowledge. In *Virology Journal* (Vol. 16, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>

Sessions OM, Tan Y, Goh KC, Liu Y, Tan P, Rozen S, et al. (2013) Host Cell Transcriptome Profile during Wild-Type and Attenuated Dengue Virus Infection. *PLoS Negl Trop Dis* 7(3): e2107. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002107>

Song, W., Gui, M., Wang, X., & Xiang, Y. (2018). Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathogens*, 14(8). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007236>

Steffen Durinck, Paul T. Spellman, Ewan Birney and Wolfgang Huber. (2009). Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/Bioconductor package biomaRt. *Nature Protocols* 4; 1184-1191.

Steffen Durinck, Yves Moreau, Arek Kasprzyk, Sean Davis, Bart De Moor, Alvis Brazma and Wolfgang Huber. (2005). BioMart and Bioconductor: a powerful link between biological databases and microarray data analysis. *Bioinformatics* 21; 3439-3440.

Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C. K., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y., & Gao, G. F. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. In *Trends in Microbiology* (Vol. 24, Issue 6, pp. 490–502). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>

Szécsi, J., Gabriel, G., Edfeldt, G., Michelet, M., Klenk, H. D., Cosset, F.-L., Sizemore, D. R., Branstrom, A. A., Sadoff, J. C., Reis e Sousa, C., Lycke, N., Lalor, P. A., Webby, R. J., Morrow, J., Rusalov, D., Kaslow, D. C., Rolland, A., Smith, L. R., Kaufmann, A., ... Collection, S. (2004). Defense against influenza A virus: Essential role of chemokine system. *The Journal of Infectious Diseases*, 3(5), 99. <https://doi.org/10.1086/599840>

Takano, T., Hohdatsu, T., Hashida, Y., Kaneko, Y., Tanabe, M., & Koyama, H. (2007). A “possible” involvement of TNF-alpha in apoptosis induction in peripheral blood lymphocytes of cats with feline infectious peritonitis. *Veterinary Microbiology*, 119(2–4), 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.08.033>

Tang, F., Liu, W., Zhang, F., Xin, Z. T., Wei, M. T., Zhang, P. H., Yang, H., Ly, H., & Cao, W. C. (2008). IL-12 RB1 genetic variants contribute to human susceptibility to severe acute respiratory syndrome infection among Chinese. *PLoS ONE*, 3(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002183>

Taylor K, Das S, Pearson M, Kozubek M, Pawlowski M, Jensen C, Skowron Z, Møller G, Strivens M, Gardner S. (2020). Analysis of Genetic Host Response Risk Factors in Severe COVID-19 Patients. medRxiv 2020.06.17.20134015; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.20134015>

Tianzhi Wu, Erqiang Hu, Xijin Ge, Guangchuang Yu. Open-source analytics tools for studying the COVID-19 coronavirus outbreak. medRxiv, 2020.02.25.20027433. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.25.20027433>

Tripet, B., Howard, M. W., Jobling, M., Holmes, R. K., Holmes, K. V., & Hodges, R. S. (2004). Structural characterization of the SARS-coronavirus spike S fusion protein core. *Journal of Biological Chemistry*, 279(20), 20836–20849. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400759200>

Trinchlerl, G. (1998). Proinflammatory and Immunoregulatory Functions of Interleukin-12. 16.

Tu, X., Chong, W. P., Zhai, Y., Zhang, H., Zhang, F., Wang, S., Liu, W., Wei, M., Siu, N. H. O., Yang, H., Yang, W., Cao, W., Lau, Y. L., He, F., & Zhou, G. (2015). Functional polymorphisms of the CCL2 and MBL genes cumulatively increase susceptibility to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *Journal of Infection*, 71(1), 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2015.03.006>

Tyrrell, D. A. J., Cohen, S., & Schilarb, J. E. (1993). Signs and symptoms in common colds. *Epidemiology and Infection*, 111(1), 143–156. <https://doi.org/10.1017/S0950268800056764>

Van Der Hoek, L., Pyrc, K., & Berkhout, B. (2006). Human coronavirus NL63, a new respiratory virus. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(5), 760–773. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00032.x>

Wang, H., Wang, Z., Dong, Y., Chang, R., Xu, C., Yu, X., Zhang, S., Tsamlag, L., Shang, M., Huang, J., Wang, Y., Xu, G., Shen, T., Zhang, X., & Cai, Y. (2020). Phase-adjusted estimation of the number of Coronavirus Disease 2019 cases in Wuhan, China. *Cell Discovery*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41421-020-0148-0>

Wang, S. F., Chen, K. H., Chen, M., Li, W. Y., Chen, Y. J., Tsao, C. H., Yen, M. Y., Huang, J. C., & Chen, Y. M. A. (2011). Human-leukocyte antigen class I Cw 1502 and Class II DR 0301 genotypes are associated with resistance to severe acute respiratory syndrome (SARS) infection. *Viral Immunology*, 24(5), 421–426. <https://doi.org/10.1089/vim.2011.0024>

Wang, Y. T., Hsieh, L. E., Dai, Y. R., & Chueh, L. L. (2014). Polymorphisms in the feline TNFA and CD209 genes are associated with the outcome of feline coronavirus infection. *Veterinary Research*, 45(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-014-0123-6>

Weiner, L. P. (1973). Pathogenesis of Demyelination Induced by a Mouse Hepatitis Virus (JHM Virus). *Archives of Neurology*, 28(5), 298–303. <https://doi.org/10.1001/archneur.1973.00490230034003>

Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Yip, C. C. Y., Huang, Y., & Yuen, K. Y. (2009). More and more coronaviruses: Human coronavirus HKU1. *Viruses*, 1(1), 57–71. <https://doi.org/10.3390/v1010057>

Wu, J. T., Leung, K., Bushman, M., Kishore, N., Niehus, R., de Salazar, P. M., Cowling, B. J., Lipsitch, M., & Leung, G. M. (2020). Estimating clinical severity of COVID-19 from the transmission dynamics in Wuhan, China. *Nature Medicine*. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0822-7>

Wu, Y. (2020). Compensation of ACE2 Function for Possible Clinical Management of 2019-nCoV-Induced Acute Lung Injury. *Virologica Sinica*. <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00205-6>

Wu, Y. P., Liu, Z. H., Wei, R., Pan, S. D., Mao, N. Y., Chen, B., Han, J. J., Zhang, F. S., Holmskov, U., Xia, Z. L., De Groot, P. G., Reid, K. B. M., Xu, W. B., & Sorensen, G. L. (2009). Elevated plasma surfactant protein D (SP-D) levels and a direct correlation with anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus-specific IgG antibody in SARS patients. *Scandinavian Journal of Immunology*, 69(6), 508–515. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02245.x>

Xu, H., Zhong, L., Deng, J., Peng, J., Dan, H., Zeng, X., Li, T., & Chen, Q. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International*

Journal of Oral Science, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>

Xu, Xi, Yu, C., Qu, J., Zhang, L., Jiang, S., Huang, D., Chen, B., Zhang, Z., Guan, W., Ling, Z., Jiang, R., Hu, T., Ding, Y., Lin, L., Gan, Q., Luo, L., Tang, X., & Liu, J. (2020). Imaging and clinical features of patients with 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 47(5), 1275–1280. <https://doi.org/10.1007/s00259-020-04735-9>

Xu, Xintian, Chen, P., Wang, J., Feng, J., Zhou, H., Li, X., Zhong, W., & Hao, P. (2020). Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. In *Science China Life Sciences* (Vol. 63, Issue 3, pp. 457–460). Science in China Press. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5>

Yuan, Fang F., Tanner, J., Chan, P. K. S., Biffin, S., Dyer, W. B., Geczy, A. F., Tang, J. W., Hui, D. S. C., Sung, J. J. Y., & Sullivan, J. S. (2005). Influence of FcγRIIA and MBL polymorphisms on severe acute respiratory syndrome. *Tissue Antigens*, 66(4), 291–296. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2005.00476.x>

Yuan, Fang Fang, Velickovic, Z., Ashton, L. J., Dyer, W. B., Geczy, A. F., Dunkley, H., Lynch, G. W., & Sullivan, J. S. (2014). Influence of HLA gene polymorphisms on susceptibility and outcome post infection with the SARS-CoV virus. *Virologica Sinica*, 29(2), 128–130. <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3398-x>

Zhang, Haibo, Penninger, J. M., Li, Y., Zhong, N., & Slutsky, A. S. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Medicine*, 46(4), 586–590. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9>

Zhang, Hongxing, Zhou, G., Zhi, L., Yang, H., Zhai, Y., Dong, X., Zhang, X., Gao, X., Zhu, Y., & He, F. (2005). Association between Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphisms and Susceptibility to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 192(8), 1355–1361. <https://doi.org/10.1086/491479>

Zhao, Y., Zhao, Z., Wang, Y., Zhou, Y., Ma, Y., & Zuo, W. (2020). Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the receptor of SARS-CoV-2. doi: bioRxiv preprint. <https://doi.org/10.1101/2020.01.26.919985>

Zhu, X., Wang, Y., Zhang, H., Liu, X., Chen, T., Yang, R., Shi, Y., Cao, W., Li, P., Ma, Q., Zhai, Y., He, F., Zhou, G., & Cao, C. (2011). Genetic variation of the human α -2-heremans-schmid glycoprotein (AHSG) gene associated with the risk of SARS-CoV infection. PLoS ONE, 6(8), e23730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023730>

Zou, X., Chen, K., Zou, J., Han, P., Hao, J., & Han, Z. (2020). Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. Frontiers of Medicine. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0754-0>

Curriculum vitae del autor:

EXPERIENCIA

Biólogo (Programa de Enfermedades

Transmitidas por Vectores)

**Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social: Guatemala, GT**
Guatemala, Guatemala

Enero 2018 - Septiembre 2019

Encargado de la normativa control de calidad e investigación en temas de control y vigilancia de las enfermedad de Chagas, dengue, chikungunya, zika, malaria, y leishmaniasis en Guatemala

Auxiliar de Cátedra (Facultad de
Ciencias Químicas y Farmacia)

**Universidad de San Carlos de
Guatemala: Guatemala, Guatemala,
GT**

Guatemala, Guatemala

Julio 2017 - Diciembre 2017

Auxiliar de las colecciones de invertebrados de la Escuela de Biología de la Universidad de San Carlos de Guatemala y del curso de Filogeografía

Auxiliar de Cátedra (Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas)

Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala, Guatemala, GT

Guatemala, Guatemala

Julio 2017 - Diciembre 2017

Auxiliar de Cátedra de los cursos de Bioestadística 1 para las carreras de Química Biológica, Química Farmacéutica, Biología y Nutrición

Auxiliar de investigación de campo (Malaria Unit, Center for Health Studies, University of the Valley of Guatemala)

Universidad del Valle de Guatemala: Guatemala, Guatemala, GT

Guatemala, Guatemala

Enero 2017 - Abril 2017

Realicé actividades de recolección de vectores en estadios inmaduros acuáticos en Escuintla, relacionados a la transmisión de Malaria. Encargado del levantamiento de las cepas capturadas e identificación taxonómica.

Asistente de laboratorio y bioterio (Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología)

Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala, Guatemala, GT

Guatemala, Guatemala

Enero 2015 - Noviembre 2015

Realicé labores de mantenimiento de laboratorio y bioterio, llevé al día la base de datos del laboratorio y del bioterio, diseñé la página web del laboratorio, realicé investigación sobre el efecto de la intervención de ecosalud que se realizó en Chiquimula, realicé pruebas de PCR para determinar fuentes alimenticias de *Triatoma dimidiata*.

EDUCACIÓN

Master en Biotecnología y Biomedicina

Universidad de Jaén

Jaén, España

2020

Licenciatura en Biología

Universidad de San Carlos de Guatemala

Guatemala, Guatemala

2018

Bachillerato en Computación con Orientación Científica

Centro Educativo Getsemaní

Sacatepéquez, Guatemala

2011

IDIOMAS

- Español
- Inglés

PROYECTOS

- Análisis estadístico espacial de ocurrencias de *Aedes aegypti* y generación de HotSpot para el proyecto ZICORE-MCDI Guatemala – 2019
- Asistente de Laboratorio - Proyecto FODECYT 13-2014 "Atlas palinológico metropolitano" - 2014

CERTIFICADOS Y CURSOS

- Elaboración de mapas de riesgo para apoyar el control focalizado de *Aedes aegypti* en áreas urbanas, Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud, Abril 2019
- Manejo Integrado de Vectores, Programa de Enfermedades Transmitidas por Vectores-MSPAS, Septiembre 2018
- GLOBE Observer Issuing authority Global Learning and Observations to Benefit Environment Issued date of the certification or license Issued Agosto 2018
- Métodos Bioinformáticos I. Coursera Course Certificates. Marzo 2016. Credencial: F2RJZMAFYCXA
- Capacitación de NIH, Protección de los participantes humanos de la investigación. Octubre 2015

RECONOCIMIENTOS Y PREMIOS

- Beca Atracción del Talento - Universidad de Jaén - 2019
- Primer lugar en el Concurso de Audiovisuales, desarrollado dentro del marco de la Jornada Científica 2015 con el proyecto Diversidad Morfológica y Genética del Colibrí Coliazul (*Amazilia cyanura*) y el

colibrí de Berilo (*Amazilia beryllina*) en Guatemala: ¿Hibridación o variaciones intraespecíficas? - Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, CCQQFAR, Universidad de San Carlos de Guatemala - 2015

· Tercer Lugar en el nivel 2 de Biología en la Novena Olimpiada Interuniversitaria de Ciencias y Tecnología 2015 - Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala y el Comité Organizador de la IX Olimpiada Interuniversitaria de Ciencias y Tecnología - 2015

PUBLICACIONES

· Soto-López JD. (2019). Relación espacial entre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) y la enfermedad de dengue en Guatemala. Revista Científica. 28(2).

· Soto-López JD, Monroy MC, Dorn P, Castellanos S, Lima R, Rodas A. (2019). Effect of community education in an integrate control for *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae). Revista Cubana de Medicina Tropical. 71 (3): e380.

· Hernández Azurdia AG, Xajil Ramos LY, Gaitán Izaguirre GME, Soto López JD, Luna Aguilera MF, Rabanales Estrada JS. Evaluación clínica y terapéutica de pacientes en tratamiento con escitalopram sometidos a pruebas farmacogenéticas. 2019. Rev. OFIL·ILAPHAR First Online.

REFERENCIAS

· PhD Carlota Monroy - Investigadora Principal del Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología, Universidad de San Carlos de Guatemala

· MsC Jaime Juarez - Consultor Nacional de Guatemala de enfermedades transmitidas por vectores, vigilancia epidemiológica y análisis en salud, Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud.

· PhD Jorge Luis de León - Profesor Titular, Unidad de Biometría y Ciencias Computacionales, Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, Universidad de San Carlos de Guatemala.

· PhD Sergio Melgar - Profesor Titular, Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala

ACTIVIDADES EXTRACURRICULARES

- Conferencista en las ponencias orales del II Coloquio interuniversitario de Biología Universidad de San Carlos de Guatemala y Universidad del Valle de Guatemala - 2017.

- Asistencia a la jornada de Conferencias en el Marco de Convergencia- 2017.

- Asistencia a la Conferencia Farmacogenética y Farmacogenómica - Centro Guatemalteco de Información y Medicamentos - 2017
- Asistencia a la conferencia ¿Cómo aplicar Liderazgo en equipos de alto desempeño? Y ¿Dónde están los líderes? - Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala - 2016
- Seminario Biología Molecular y Genética Humana - Instituto para la Investigación Científica y la Educación acerca de las Enfermedades Genéticas y Metabólicas Humanas INVEGEM/Rozas Botrán ONG- 2016
- Participación en el área de Biología nivel 2 de la IX Olimpiada Interuniversitaria de Ciencias y Tecnología - Comité Organizador de la IX Olimpiada Interuniversitaria de Ciencias y Tecnología - 2015
- Organizador de Simposio durante el Encuentro Multidisciplinario para la Conservación y Uso Sostenible de la Diversidad Biológica y IV Congreso Nacional de Biología: Biodiversidad y Enfermedades Tropicales - Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y el Centro de Estudios Conservacionistas -2015
- Congreso Biología Molecular: La Medicina del Siglo XXI - Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín UFM- y el Instituto para la Investigación Científica y Educación acerca de las Enfermedades Genéticas y Metabólicas Humanas INVEGEM - 2015
- Conferencia Errores metodológicos y estadísticos aplicados a la investigación en ciencias de la salud - Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, CCQQFAR, Universidad de San Carlos de Guatemala - 2015
- Taller Elaboración de Artículos Científicos - Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, CCQQFAR, Universidad de San Carlos de Guatemala - 2015
- Curso de Redacción organizado por el Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas - Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, CCQQFAR, Universidad de San Carlos de Guatemala - 2015
- Participación en la I Feria Científica del IIQB, con el Proyecto Conservación de primates del género Alouatta, utilizando puentes (corredores) biológicos en la selva guatemalteca - Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, CCQQFAR, Universidad de San Carlos de Guatemala - 2013
- Participación en la VI Olimpiada Interuniversitaria de Ciencias Básicas. Área de Biología Nivel 1
- Comité Organizador de la VI olimpiada interuniversitaria de Ciencias Básicas - 2012

VOLUNTARIADOS

- Participación y voluntariado en la Jornada de Salud - Unified Journeys, Medical Mission - 2017
- Campamento de Supervivencia - BALAM Guatemala - 2016
- Voluntariado en la Feria informativa INFOUSAC 2015 - Centro de Desarrollo Educativo de la Facultad

de Ciencias Químicas y Farmacia - 2015

- Voluntariado en la Unidad de Investigación Herbario BIGU, Departamento de Botánica, Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala - 2014

- Voluntariado en el Parque Zoológico Nacional La Aurora - 2014

SECRETARÍAS

- Vicepresidencia de la Asociación de Estudiantes de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia 2015-2016

- Miembro del Cuerpo Electoral Estudiantil, para elegir Decano de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Período 2015-2019

rsid: variante, chr: chromosom, hgnc_symbol: símbolo del gen por el Comité de Nomenclatura Genética HUGO, rf: alelo de referencia en la referencia humana (GRCh38), alt: alelo alternativo, minor_allele_freq: alelo de menor frecuencia cuando estaba disponible, cadd_phred: de 1-99, un valor más alto significa una variante más perjudicial; por encima de 10 significa que la variante está en el 10% superior, por encima de 20 en el 1% superior, fathmm-xf_score: entre 0-1, un valor más alto significa una variante más perjudicial, fathmm-xf predicen: "D" (DAÑO) si la puntuación > 0.5 o "N" (NEUTRAL) de lo contrario, annot_type: información sobre la ubicación de la variante, consequence: información sobre el efecto funcional, clinical_importance:

Anexo1: Lista de variantes génicas patogénicas asociadas a neumonía

rsid	chr	hgnc_symbol	ref	alt	minor_allele	cadd_ph	fathmm_xf	fathmm_xannot_type	consequence	clinical_significance	snpeff_ann
rs104895217	chr12	TNFRSF1A	A	G	NA	26.6	0.764702	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895219	chr12	TNFRSF1A	G	A	NA	25	0.791864	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895220	chr12	TNFRSF1A	C	A	NA	28	0.742954	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs121912691	chr2	SLC3A1	T	C	0.000399	25.7	0.945192	D	CodingTranscript;Intergen	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895271	chr12	TNFRSF1A	A	C	NA	0.003	0.118158	N	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895225	chr12	TNFRSF1A	A	C	NA	25.4	0.763789	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895218	chr12	TNFRSF1A	C	T	NA	29.2	0.701129	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895221	chr12	TNFRSF1A	A	G	NA	24.7	0.832361	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895222	chr12	TNFRSF1A	C	T	NA	25.7	0.818738	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895223	chr12	TNFRSF1A	C	G	NA	27.7	0.701129	D	CodingTranscript;Regulat	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs104895228	chr12	TNFRSF1A	A	T	NA	24	0.744673	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs121912693	chr2	SLC3A1	T	C	NA	24.7	0.937658	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs121912695	chr2	SLC3A1	C	G	NA	22.5	0.283983	N	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs121912696	chr2	SLC3A1	C	A	NA	25.6	0.795055	D	CodingTranscript;Transcri	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs121912697	chr2	SLC3A1	G	A	0.000399	29.3	0.775535	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs1361526419	chr2	SLC3A1	C	T	NA	43	0.147599	N	CodingTranscript	STOP_GAINED Pathogenic	HIGH
rs1361526419	chr2	SLC3A1	C	T	NA	43	0.147599	N	CodingTranscript	STOP_GAINED Pathogenic	HIGH
rs201502095	chr2	SLC3A1	C	T	2e-04	34	0.783575	D	CodingTranscript;Intergen	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs368796166	chr2	SLC3A1	C	T	NA	34	0.835648	D	CodingTranscript;Transcri	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs373176089	chr2	SLC3A1	C	T	NA	33	0.938594	D	CodingTranscript;Intergen	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs375399468	chr2	SLC3A1	C	G	NA	29.4	0.858369	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs375399468	chr2	SLC3A1	C	T	NA	34	0.83132	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs387907276	chr2	SLC3A1	T	A	NA	28.9	0.928818	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs4149584	chr12	TNFRSF1A	C	G	0.00599	25.5	0.422224	N	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs758627758	chr2	SLC3A1	T	A	NA	25.6	NA	NA	Transcript	CANONICAL_SPLIC Pathogenic	
rs768467260	chr2	SLC3A1	C	A	NA	29.2	0.371299	N	CodingTranscript	STOP_GAINED Pathogenic	HIGH
rs779941675	chr2	SLC3A1	CG	C	NA	NA	NA	NA		Pathogenic	HIGH
rs886039866	chr12	TNFRSF1A	G	A	NA	0.001	0.18281	N	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Pathogenic	MODERATE
rs886042834	chr2	SLC3A1	G	T	NA	NA	0.597614	D		Pathogenic	HIGH
rs104895287	chr12	TNFRSF1A	C	T	NA	NA	NA	NA		not provided	HIGH
rs104895291	chr12	TNFRSF1A	G	C	NA	35	0.19325	N	CodingTranscript	STOP_GAINED not provided	HIGH
rs1555108112	chr12	TNFRSF1A	C	T	NA	28.3	0.718304	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE
rs104895232	chr12	TNFRSF1A	A	G	NA	25.4	0.768446	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE
rs104895276	chr12	TNFRSF1A	G	A	NA	29.2	0.245939	N	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE
rs1555108112	chr12	TNFRSF1A	C	G	NA	26.7	0.864042	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE
rs1558450604	chr2	SLC3A1	T	G	NA	NA	NA	NA		Likely pathogenic	HIGH
rs184648701	chr2	SLC3A1	T	G	2e-04	28.8	0.897423	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	
rs567478582	chr2	SLC3A1	G	A	2e-04	32	0.874204	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE
rs776729515	chr2	SLC3A1	T	C	NA	29.1	0.926135	D	CodingTranscript;Transcri	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE
rs876661031	chr12	TNFRSF1A	C	T	NA	28.4	0.384387	N	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE
rs904926333	chr2	SLC3A1	G	T	NA	24	0.562842	D	CodingTranscript	NON_SYNONYMO Likely pathogenic	MODERATE

estándar para informar la importancia clínica, snpeff_ann: evaluación del posible impacto de la variante (HIGH, MODERATE, MODIFICADOR o BAJO).