



Pregled | Review

# Genetička varijabilnost i bolest COVID-19

## Genetic variability and COVID-19 disease

Irena Drmić Hofman<sup>1,3</sup>, Snježana Židovec Lepej<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Katedra za medicinsku kemiju i biokemiju, Split

<sup>2</sup> Odjel za imunološku i molekularnu dijagnostiku, Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb

<sup>3</sup> Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Sveučilište u Splitu, Odsjek za medicinsko-laboratorijsku dijagnostiku, Split

### Ključne riječi

COVID-19,  
SARS-CoV-2,  
GENETIČKA VARIJABILNOST,  
ISHODI LIJEČENJA

### Key words

COVID-19,  
SARS-CoV-2,  
GENETIC VARIABILITY,  
CLINICAL OUTCOMES

**SAŽETAK.** Brojna su istraživanja opisala gene i lokuse koji su povezani s težim oblikom bolesti COVID-19, poput onih za angiotenzin-konvertirajući enzim 2 (ACE2), transmembransku serinsku proteazu tipa 2 (TMPRSS2), tirozin kinazu 2 (TYK2), dipeptidil peptidazu 9 (DPP9), ABO sustav krvnih grupa, određene alele i gene sustava HLA koji kodiraju receptore imunološkog sustava. Međutim, potrebno je istaknuti da varijante u genima koji kodiraju sintezu molekula značajnih za biološki učinak interferona klase I i III, poput gena TLR, povezane su s najvišim procijenjenim rizikom za razvoj teške kritične bolesti COVID-19, posebice u muškaraca. Značaj muškog spola kao rizičnog čimbenika za razvoj teškog oblika bolesti COVID-19 pokazan je u nekoliko nacionalnih i globalnih studija. Recentna istraživanja ukazala su i na povezanost gena za dva enzima iz obitelji uridin difosfat (UDP)-glukuronoziltransferaza (*UGT2A1* i *UGT2A2*) s gubitkom osjeta okusa i/ili mirisa tijekom bolesti COVID-19. Cilj ovog rada je izdvojiti genetičke biljege za koje su znanstvena istraživanja nedvojbeno dokazala biološku i kliničku značajnost u infekciji virusom SARS-CoV-2, posebice u smislu prijemljivosti domaćina na infekciju te procjene težine i ishoda bolesti.

**SUMMARY.** Numerous studies have described genes and loci associated with severe COVID-19 disease such as those for angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), transmembrane serine protease type 2 (TMPRSS2), tyrosine kinase 2 (TYK2), dipeptidyl peptidase 9 (DPP9), the ABO blood group system, certain alleles and the genes of HLA system encoding immune system receptors. However, it should be noted that a variant in genes encoding molecules important for the biological effect of class I and III interferons, such as the TLR gene, is associated with the highest estimated risk of developing severe critical disease COVID-19, especially in men. The importance of male biological sex as a risk factor for the development of severe COVID-19 disease has been proven by several national and global studies. Recent research has also shown an association between the gene for two enzymes from the uridine diphosphate (UDP)-glucuronosyltransferase family (*UGT2A1* and *UGT2A2*) and the smell and/or taste loss during COVID-19 disease. The aim of this paper is to list out genetic markers for which scientific research has proven biological and clinical significance in SARS-CoV-2 infections, especially in terms of host susceptibility to infection and assessment of disease severity and outcome.

Od pojave novog koronavirusa SARS-CoV-2, u prosincu 2019. i pojave globalne pandemije bolesti COVID-19 u cijelom svijetu zabilježeno je više od 431 milijun slučajeva ove bolesti te više od 5,9 milijuna smrtnih slučajeva.<sup>1</sup>

Suočena s tako velikim izazovom, globalna znanstvena zajednica udružila je snage kako bi pokušala dati odgovore na izazov i doprinijeti boljem razumijevanju mehanizama infekcije i heterogenosti virulencije SARS-CoV-2, kao i raspona simptoma i čimbenika rizika za smrtnost. Rizični čimbenici povezani s teškim oblikom bolesti COVID-19 su starija dob, muški spol i kronične bolesti poput hipertenzije, astme, dijabetesa i debljine.<sup>2</sup> Međutim, pojava teških oblika bolesti i smrtni ishodi opisani u mlađih, prethodno zdravih osoba, bez poznatih komorbiditeta, potaknula je i brojna istraživanja moguće povezanosti genetičkih parametara i kliničke prezentacije bolesti.<sup>3</sup> Biološki

mehanizmi i klinička primjenjivost različitih genetičkih čimbenika kao prediktora razvoja teškog oblika bolesti COVID-19 i mortaliteta analizirana je u brojnim studijama primjenom metoda molekularne biologije, poput sekvenciranja genoma, eksoma ili određenih gena, odnosno cjelogenomskim istraživanjima (GWAS, od engl. *genome wide association studies*).<sup>4</sup>

Analizom dostupnih podataka može se uočiti kako su genomske studije zaraznih bolesti u ljudi i dalje vrlo rijetke u odnosu na druge imunološke bolesti, kao što su primjerice autoimuni poremećaji. Jedan od glavnih razloga tome je što se proučavanje zaraznih bolesti obično fokusira na mikroorganizam koji uzrokuje bo-

#### ✉ Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Irena Drmić Hofman, ErCLG Certified,  
Medicinski fakultet i Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Sveučilište u Splitu, Split,  
e-pošta: irena.drmic.hofman@mefst.hr

lest, a ne na domaćina. Za otkrivanje relevantnih genetskih čimbenika potrebne su dodatne studije velikih, dobro karakteriziranih skupina ispitanika. Ne treba smetnuti s uma da je, za razliku od kroničnih bolesti, istraživanje težine i ishoda zaraznih bolesti često ograničeno na kratko razdoblje tijekom kojeg oboljeli imaju simptome bolesti.

U ovom kratkom preglednom radu prikazani su odabrani genetički biljezi, prediktori podložnosti za infekciju virusom SARS-CoV-2, kao i prediktori težine kliničke slike i ishoda bolesti u kontekstu bioloških mehanizama koji definiraju njihovo značenje u imunopatogenezi bolesti COVID-19. Bit će prikazano kako genetički obrasci mogu promijeniti rizik od infekcije, ulazak virusa, imunološki odgovor na virus, težinu COVID-19 i smrti.

### Genetička istraživanja u bolesti COVID-19

Poznato je kako genetička konstitucija pojedine osobe može utjecati na rizik od infekcije i ozbiljnosti simptoma bolesti. Međunarodni konzorcij, sastavljen od 3.000 znanstvenika i kliničara, okupljenih u Inicijativu za genetiku domaćina COVID-19 (HGI, od engl. *COVID-19 Host Genetics Initiative*, <https://www.covid19hg.org/>) pokušao je identificirati genske varijante koje objašnjavaju individualnu razliku u osjetljivosti na COVID-19, kao i težini bolesti.<sup>5</sup> Proveli su meta-analizu 46 studija iz 19 zemalja te su usporedili genome 49.562 osobe s COVID-19 (od toga 13.641 osoba hospitaliziranih zbog infekcije i 6.179 onih koji su bili u kritičnom stanju) s genomima približno 2 milijuna osoba iz kontrolne skupine, bez poznate infekcije. Analizom je potvrđeno 13 lokusa u genomu, od kojih su četiri povezana s općom osjetljivošću na virus SARS-CoV-2, dok je devet povezano s težinom bolesti. Zanimljivo, dva prethodno nepovezana lokusa otkrivena su tek kada su u studiju uključene osobe podrijetlom iz istočne Azije, što potvrđuje vrijednost uključivanja ispitanika iz različitih populacija u genomske studije. Kako bi bolje razumjeli biološku podlogu i mehanizme koji povezuju te lokuse s ishodima bolesti COVID-19, autori su pretraživali gene u blizini svakog lokusa (tzv. "kandidatni geni"). Identificirali su više od 40 gena kandidata, od kojih je nekoliko prethodno bilo uključeno u imunološku funkciju ili imaju poznate funkcije u plućima, što sugerira da bi varijante u genomskim regijama istaknute u nalazima autora mogle utjecati na ishod COVID-19.<sup>5</sup>

Studija koju su proveli znanstvenici okupljeni oko *Covid-19 Host Genetics Initiative* predstavlja veliku prekretnicu u razumijevanju uloge genetike u infekciji SARS-CoV-2, no ostaju još neke dileme.

Naime, može se uočiti kako je u provedenoj studiji bilo približno 80 % ispitanika europskog podrijetla.

Stoga su potrebne dodatne studije koje će uključivati veći broj osoba drugačijeg geografskog podrijetla, kako bi rezultati bili primjenjivi i na populacije s drugih kontinenata te kako bi se detaljnije analizirala povezanost genskih varijanti i lošijih ishoda bolesti. Budući eksperimenti trebali bi biti sveobuhvatniji te usmjereni na određivanje svih gena, signalnih putova i bioloških mehanizama koji povezuju identificirane genomske lokuse s ishodima bolesti COVID-19, kao i uključivanje u analizu negenetičkih parametara (primjerice socio-demografski čimbenici, kao što su dob ili pristup zdravstvenoj skrbi).

Unatoč ograničenjima, implikacije rezultata HGI studije su dalekosežne. Ova studija nije važna samo za bolje razumijevanje osjetljivosti na COVID-19, već naglašava i vrijednost globalne suradnje za pojašnjenje uloge genetičke varijabilnosti u sklonosti prema obolijevanju od zaraznih bolesti. Infekcije ostaju među glavnim uzrocima smrtnosti u zemljama s nižim dohotkom i predstavljaju rastuću globalnu prijetnju zbog klimatskih promjena, urbanizacije i povećanja broja stanovnika.

### Varijante ljudskih gena za receptore SARS-CoV-2 koje utječu na težinu bolesti COVID-19

#### Angiotenzin-konvertirajući enzim 2 (ACE2)

Studije poremećaja ekspresije otprije su potvrdile važnu ulogu angiotenzin-konvertirajućeg enzima 2 (ACE2) u regulaciji krvnog tlaka i uopće kardiovaskularnog sustava.<sup>6</sup>

Dodatnu pozornost ACE2 je dobio s pojavom teškog akutnog respiratornog sindroma (SARS), kad je potvrđena važna uloga ACE2 kao ciljnog, primarnog staničnog receptora domaćina koji omogućava ulazak virusa u stanicu domaćina i inicijaciju virusne infekcije. ACE2 je široko rasprostranjen u ljudskim tkivima, uključujući površinu plućnih stanica koje predstavljaju primarno mjesto infekcije.<sup>7,8</sup>

Koronavirus SARS-CoV-2 ulazi u stanice preko receptora za ACE2, čime je omogućena fuzija virusa i ulazak u staničnu membranu te invazija stanice domaćina. Međutim, iako su istraživani u brojnim studijama, substancična lokalizacija ACE2, specifičnost, kao i putovi razgradnje i stanične razmjene još uvijek nisu dobro razjašnjeni.<sup>9</sup>

Štoviše, osim ACE2, drugi alternativni receptori/koreceptori i stanične proteaze također su uključene u patogenezu SARS-CoV-2, poput CD147 (osnovni imunoglobulin ili Basigin), neuropilin-1 (NRP1), receptor MERS-CoV dipeptidil peptidaza 4 (DPP-4) alanil aminopeptidaza (ANPEP) i glutamil aminopeptidaza (ENPEP).<sup>10,11</sup>

Nakon niza provedenih studija ACE2, 2009. uvedena je ciljana primjena rekombinantnog proteina ACE2

u liječenju hipertenzije. Iako rezultati nekih recentnih studija pokazuju kako bi ACE2 mogao biti terapijski cilj za viruse povezane sa SARS-om, još uvijek postoje brojne nepoznanice pa su potrebna daljnja istraživanja za procjenu moguće upotrebe ACE2 kao vjerodostojnog terapijskog cilja<sup>12,13</sup>.

Prethodne studije pokazale su da osobe s određenim polimorfizmom ACE2 koji imaju transmembranske serinske proteaze tipa 2 (TMPRSS2, od engl. *transmembrane protease, serine 2*) za S-protein imaju visok rizik od infekcije virusom SARS-CoV-2.

TMPRSS2 se eksprimira u epitelnim stanicama specifičnih tkiva, uključujući i one u plućima i probavnom sustavu. Proteaza TMPRSS2 potrebna je za ulazak i širenje virusa u domaćinu i predstavlja kritični čimbenik koji omogućuje staničnu infekciju koronavirusima, ne samo SARS-CoV-2 nego i drugim vrstama virusa (npr. H1N1).<sup>14</sup>

U *in vitro* studijama provedenim na staničnim linijama i primarnim plućnim stanicama te na mišjem *knockout* modelu pokazano je kako bi kontrola ekspresije ili aktivnosti TMPRSS2 mogla voditi prema potencijalnoj primjeni u liječenju COVID-19.<sup>14</sup>

Brojne epidemiološke studije ukazuju da učestalost i težina bolesti COVID-19, kao i drugih virusnih infekcija ovisnih o TMPRSS2 (poput gripe), mogu biti izraženije u muškaraca nego u žena.

Fuzija gena TMPRSS2–ERG najčešća je preuredba u primarnom karcinomu prostate. Modulacija ekspresije androgenim hormonima mogla bi objasniti pojavu većeg broja muškaraca s teškim oblikom COVID-19. Zanimljivo, barem na razini mRNA, čini se kako nema razlike u konstitutivnoj ekspresiji TMPRSS2 u plućnom tkivu između muškaraca i žena. Ipak, postoji varijacija između spolova u razinama ekspresije mRNA. Niske razine androgena prisutnih u žena mogu biti dovoljne za održavanje ekspresije TMPRSS2. Osim toga, TMPRSS2 (i tumori s fuzijom TMPRSS2–ERG) mogu reagirati na terapiju estrogenima. Terapije koje inhibiraju androgene receptore možda mogu smanjiti težinu plućnih simptoma i smrtnost od COVID-19. Budući nema poznate važne funkcije, a inhibitori njegove aktivnosti su već u primjeni, TMPRSS2 je zanimljiv cilj za moguću prevenciju ili liječenje respiratornih virusnih infekcija.<sup>14</sup>

### Tirozin kinaza 2 (TYK2) i dipeptidil peptidaza 9 (DPP9)

Rezultati studije *Genetics Of Mortality In Critical Care* (GenOMICC), istraživanja povezanosti genoma, provedenoj na 2.244 kritično bolesna pacijenta s COVID-19 iz 208 jedinica intenzivnog liječenja u Ujedinjenom Kraljevstvu ukazali su na još neke gene kandidate koje se može dovesti u vezu s teškim oblikom COVID-19. Jedan od njih je lokus u blizini gena za

receptorsku tirozin kinazu 2 (engl. *tyrosine-protein kinase*, TYK2), na 19. kromosomu. Varijante ovog gena mogu povećati osjetljivost na infekcije drugim virusima, bakterijama i gljivicama. U skladu s tim, autori su izvijestili da osobe koje nose određene mutacije u TYK2 imaju povećan rizik od hospitalizacije ili razvoja teškog oblika COVID-19.<sup>15</sup>

Drugi primjer je gen za dipeptidil peptidazu 9 (od engl. *dipeptidyl peptidase 9*, DPP9), koji ima različite unutarstanične funkcije, uključujući cijepanje anti-virusnog signalnog medijatora CXCL1041 i ključne uloge u prezentaciji antigena i aktivaciji inflammasoma. Autori su pronašli da intronska varijanta ovog gena povećava rizik od teškog oblika bolesti COVID-19. Značajno je naglasiti i da ista genska varijanta može povećati rizik od nastanka idiopatske plućne fibroze, rijetke plućne bolesti koju karakteriziraju ožiljci na plućnom tkivu.<sup>15</sup>

### Muški spol kao rizični čimbenik u bolesti COVID-19

Značaj muškog spola kao rizičnog čimbenika za razvoj teškog oblika bolesti COVID-19 dokazan je brojnim nacionalnim i globalnim istraživanjima.<sup>16</sup> Ramirez i sur. (2021.) su analizirali stopu smrtnosti od infekcije (IFR) te rizik od smrti povezan s bolesti COVID-19 u 40.187.894 muškaraca (1.274.663 smrtnih ishoda) i 42.933.757 žena (971.899 smrtnih ishoda) iz 72 zemlje.<sup>17</sup> Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je IFR veći u muškaraca (3,17 %) u usporedbi sa ženama (2,26 %) te da je rizik od smrti povezan s bolesti COVID-19 veći u muškaraca no da su podatci u različitim zemljama svijeta varijabilni.<sup>17</sup>

Tazerji i sur. (2022.) su analizirali podatke o rizičnim čimbenicima povezanih s mortalitetom i morbiditetom od bolesti COVID-19 u 12 zemalja/geografskih regija i također pokazali veću incidenciju, mortalitet i omjer smrtnosti slučajeva (engl. *case fatality ratio*) u muškaraca u usporedbi sa ženama.<sup>18</sup>

Nadalje, meta analizom Patanavanicha i sur., kojom je obuhvaćeno 46 recenziranih radova s ukupno 22.939 pacijenata oboljelih od COVID-19, pušenje cigareta potvrđeno je kao neovisni rizični čimbenik za progresiju bolesti i povećani mortalitet od COVID-19, posebice u mlađih pušača (< 45 godina). Činjenica kako je pušenje općenito češće među muškarcima, možda bi mogla objasniti veću učestalost infekcije u muškaraca.<sup>19</sup>

Zanimljivo je istaknuti kako je ovdje već spominjani gen ACE2 smješten na kromosomu X (Xp22.2). Zato se odmah nameće pitanje o genskoj neravnoteži i razlici ekspresije između spolova, a značajne razlike između muškaraca i žena pokazane su u nekim studijama.<sup>20</sup> Dobivene razlike su objašnjene činjenicom da gen ACE2 izbjegava inaktivaciju jednog kromosoma X u žena, pa je utemeljena pretpostavka da neki geni na X

TABLICA 1. ODABRANI GENI POVEZANI S TEŽINOM I SIMPTOMIMA BOLESTI COVID-19

Gen	Naziv	Pozicija na kromosomu	Funkcija
ACE2	angiotenzin-konvertirajući enzim 2	Xp22.2	regulator sustava renin-angiotenzin, receptor za ulazak virusa SARS-CoV-2
TMPRSS2	transmembranska serinska proteaza tipa 2	21q22.3	blokira ulazak SARS-CoV-2 u stanicu
TYK2	tirozin kinaza 2	19p13.2	enzim uključen u signalizaciju interferona
DPP9	dipeptidil peptidaza 97	19p13.3	enzim uključen u imuni odgovor i nastanak plućnih bolesti
ABO	ABO antigeni	9q34.2 i 3p21.31	sustav krvnih grupa
HLA sustav	humani leukocitni antigen	6p21	indukcija i regulacija imunološkog odgovora
TLR7	toll-like receptor	Xp22.2	indukcija IFN I i proizvodnja drugih upalnih citokina, antivirusni odgovor
UGT2A1, A2	uridin difosfat (UDP)-glukuronozil transferaza 1 i 2	4q13.3	enzimi za detoksikaciju, eksprimirani u olfaktornom neuroepitelu

kromosomu i spolni hormoni mogu objasniti smanjenu smrtnost od COVID-19 u žena.<sup>21</sup>

#### Varijante gena TLR7 i teška kritična bolest COVID-19 u muškaraca

Receptori nalik proteinu Toll (engl. *toll-like receptors*, TLR) pripadaju skupini receptora urođenog imunološkog sustava koji prepoznaju karakteristične molekularne strukture patogena te uzrokuju aktivaciju transkripcije gena koji kodiraju sintezu proupalnih i antivirusnih citokina, posebice interferona (IFN) klase I, II i III. U imunopatogenezi bolesti COVID-19 posebno značajnu ulogu ima receptor TLR7 koji prepoznaje molekule jednolančane RNA, poput genoma virusa SARS-CoV-2. Bortolotti i sur. (2021.) dokazali su da TLR7 aktivira transkripcijski faktor NFκB i sintezu IFN klase I, IFN-γ, i IFN-λ3 nakon infekcije stanica Calu-3/MRC-5 virusom SARS-CoV-2 *in vitro*.<sup>22</sup>

Van der Made i sur. su cjeloegzozmskim sekvenciranjem genoma četiri mlada zdrava muškarca bez poznatih komorbiditeta (dva para braće iz nesrodnih obitelji), u dobi od 21 do 31 godinu, koji su bili hospitalizirani zbog teške kritične bolesti COVID-19 otkrili patogene varijante u genu *TLR7* (tablica 1). U jednog para braće europskog podrijetla (smrtni ishod bolesti) dokazana je delecija c.2129\_2132del; p.[Gln710Argfs\*18] povezana s kompletnim gubitkom funkcije gena *TLR7* (majka je homozigot za navedenu deleciju).<sup>23</sup> Funkcionalni testovi *in vitro* u kojima je dokazan gubitak funkcije TLR u bolesnika s opisanim mutacijama temelje se na praćenju smanjenja ekspresije mRNA za transkripcijske faktore IRF7 (engl. *interferon response factor*), ISG15 (engl. *interferon stimulated gene*) i gena za IFNβ1 i IFN-γ u primarnim kulturama mononuklearnih stanica periferne krvi bolesnika, nakon stimulacije agonistom TLR7 imikvimodom.<sup>23</sup>

Solanich i sur. (2021.) su u prospektivnom istraživanju muškaraca u dobi od 18–50 godina, bez komorbiditeta, koji su zbog teškog kritičnog oblika bolesti COVID-19 hospitalizirani u jedinicama intenzivnog liječenja u Barceloni, Nijmegenu i Rotterdamu otkrili dvije nove *missense* varijante gena *TLR7* u 2 od 14 bolesnika (14,3 %) koje dovode do gubitka funkcije.<sup>24</sup> Varijanta [c.644A>G;p.(Asn215Ser)] otkrivena je u dva brata porijeklom iz Dominikanske Republike kao i u njihove majke (homozigot), dok je u druga dva brata europskog podrijetla otkrivena varijanta [c.2797T>C;p.(Trp933Arg)]. Funkcionalni testovi *in vitro* pokazali su da se radi o *loss-of-function* varijanti koja uzrokuje smanjenje ekspresije gena za IFN klase I i II.<sup>24</sup> Rezultati ovog istraživanja pokazali su da su varijante gena *TLR7* povezane s teškim oblikom bolesti COVID-19 u mladih muškaraca, ipak, relativno rijetke.<sup>24</sup>

U svrhu procjene učestalosti klinički značajnih varijanti gena *TLR7* u populaciji, Fallerini i sur. (2021.) su u prospektivnom presječnom istraživanju analizirali 156 muškaraca, mlađih od 60 godina iz talijanske GEN-COVID kohorte, od kojih je 79 razvilo teški oblik bolesti koji je zahtijevao primjenu mehaničke ventilacije (invazivne ili neinvazivne), dok je 77 bolesnika imalo oligoasimptomatsku bolest ili asimptomatsku infekciju virusom SARS-CoV-2 koja nije zahtijevala hospitalizaciju.<sup>25</sup> Missense varijante gena *TLR7* otkrivene su u 5 od 79 (6,3 %) muškaraca s teškim oblikom bolesti COVID-19, dok u asimptomatskih i oligosimptomatskih bolesnika varijante nisu detektirane (tablica 1). U dodatnoj analizi kohorte muškaraca mlađih od 60 godina (n=56) s teškim oblikom bolesti i 27 asimptomatskih kontrola iz drugog vala talijanske epidemije virusa SARS-CoV-2, missense varijanta gena *TLR7* otkrivena je u jednog bolesnika (1,7 %) s teškim oblikom bolesti.<sup>25</sup>



Analizom kompletne kohorte bez dobnog ograničenja (n=561.261 bolesnik s teškim oblikom bolesti i 300 zaraženih osoba kao kontrolna skupina) otkrivena su još tri bolesnika s missense varijantama gena TLR (dvije osobe u dobi od 65 i 66 godina) te jedna osoba iz kontrolne skupine.<sup>25</sup>

Funkcionalna analiza učinka missense varijanti gena TLR7 na ekspresiju gena značajnih za biološku funkciju IFN klase I i II *in vitro* pokazala je statistički značajno smanjenje ekspresije svih gena povezanih sa signalnim putem receptora TLR7 u bolesnika s missense varijantama c.901 T > C, p.Ser301Pro i c.3094G > A, p.Ala1032Thr čime je dokazano da se radi o loss-of-function mutacijama. Analize *in silico* predvidjele su identičan loss-of-function učinak još jedne missense varijante c.2759G > A, p.Arg920Lys.<sup>25</sup> Varijanta c.655G > A, p.Val219Ile imala je samo hipomorfni učinak i uzrokovala je smanjenje transkripcijske aktivnosti samo dva gena interferonskog sustava (za IRF7 i IFN- $\gamma$ ). Dvije varijante (c.863C > T, p.Ala288Val i c.1342C > T, p.Ala448Val) su neutralne tj. nemaju učinak na signalizaciju putem TLR7. Varijanta p.Val222Asp koja je detektirana u jednog muškarca iz kontrolne skupine također je svrstana u grupu varijanti koje imaju niski učinak na funkciju proteina TLR7.<sup>25</sup>

Rezultati ovog opsežnog istraživanja tri kohorte muškaraca s teškim oblikom bolesti COVID-19, pokazali su da je zastupljenost mladih muškaraca bez komorbiditeta s loss-of-function mutacijama gena TLR7 oko 1 %.

Svemu navedenome treba dodati i činjenicu da je nekoliko TLR signalnih gena, uključujući TLR3, TLR4 i TLR7, kodirano sekvencama koje se nalaze na kromosomu X.

### Krvne grupe i dijagnoza bolesti COVID-19

COVID-19 ima širok raspon težine bolesti, od asimptomatske u nekih osoba do smrtonosnog ishoda u drugih. Na temelju studije na više od milijun sudionika istraživanja tvrtke za genetička istraživanja *23andMe* izvještavano je o genetičkim i negenetičkim povezanostima s pozitivnim testom na SARS-CoV-2, respiratornim simptomima i hospitalizacijom.<sup>26</sup> Koristeći studije povezanosti genoma trans-predaka, potvrđena je izrazita povezanost između krvne grupe i dijagnoze COVID-19, kao i genski bogat lokus na kromosomu 3p21.31, koji je snažnije povezan s ozbiljnošću ishoda. Čimbenici rizika za hospitalizaciju uključuju stariju dob, muški spol, pretilost, niži socioekonomski status, neeuropsko podrijetlo i prethodne kardio-metaboličke smetnje.<sup>27</sup> Iako je neeuropsko podrijetlo bilo značajan čimbenik rizika za hospitalizaciju, nakon prilagodbe na sociodemografiju i postojeće zdravstvene uvjete, nisu pronađeni dokazi da ove dvije primarne genske povezanosti objašnjavaju

razlike u riziku za teške ishode COVID-19 između pojedinih populacija.<sup>26</sup>

### Povezanost lokusa uz gene i gubitak osjeta mirisa i/ili okusa

Anosmija (gubitak osjeta mirisa) i ageuzija (gubitak osjeta okusa) karakteristični su simptomi bolesti COVID-19 koji se javljaju u 20–85 % bolesnika, najčešće u vrlo ranoj fazi infekcije virusom SARS-CoV-2.<sup>27</sup> Patofiziološki mehanizmi gubitka mirisa i okusa tijekom infekcije virusom SARS-CoV-2 nedostavno su proučeni, no pretpostavlja se da infekcija sustentakularnih stanica i osjetilnih pupoljaka koji eksprimiraju virusni receptor ACE2 dovodi do direktnog, virusom-potaknutog oštećenja olfaktornog i gustacijskog sustava. Direktna infekcija humanih perifernih senzornih neurona virusom SARS-CoV-2 kao molekularna osnova patogeneze kemosenzornog oštećenja u bolesti COVID-19 analizirana je u eksperimentalnim modelima. Primjenom *in vitro* modela perifernih neurona, diferenciranih iz humanih embrionskih zametnih stanica, koji eksprimiraju ACE2 receptor, Lyoo i sur. (2022.) dokazali su promjene u ekspresiji molekula, koje su značajne za kemosenzornu funkciju osjetilnih neurona olfaktornog ili gustatornih organa.<sup>28</sup> Uz to, Meinhardt i sur. (2021.) su imunohistokemijskim metodama u post-mortem tkivu COVID-19 bolesnika dokazali SARS-CoV-2 u neuronima olfaktorne mukoze, no navedene rezultate treba dodatno potvrditi zbog iznimno malog broja uzoraka u navedenom istraživanju.<sup>29</sup>

U recentnoj studiji objavljenoj u *Nature Genetics*, Shelton i sur. (2022.) proveli su analizu genoma ispitanika s bolesti COVID-19 koji su imali izražene simptome gubitka osjeta mirisa i okusa. Autori su analizirali podatke milijun osoba iz baze podataka tvrtke *23andMe* za koje su postojali podatci o sekvenci eksoma te, primjenom online ankete, identificirali ukupno 69.841 osobu koja je imala barem jedan pozitivan SARS-CoV-2 test.<sup>30</sup> Gubitak osjeta okusa i/ili mirisa opisan je u čak 68 % ispitanika s pozitivnim SARS-CoV-2 testom, a rizik od pojave ovih simptoma bio je značajno niži u osoba podrijetlom iz istočne Azije i Afrike (omjer rizika 0,8 i 0,88) u usporedbi s bolesnicima europskog podrijetla, dok su žene imale nešto veću vjerojatnost pojave ovih simptoma u odnosu na muškarce (72 % naspram 61 %).

Primjenom cjelogenomskih istraživanja na uzorku od 89.373 osobe različitog etničkog podrijetla, Shelton i sur. (2022.) otkrili su značajnu povezanost samo s jednim lokusom na 4. kromosomu (q13.3), dok je indeks SNP (od engl. *single nucleotide variant*) na tom lokusu bio rs7688383 (C/T, rizični alel T,  $P = 1,4 \times 10^{-14}$ , OR = 1,11) (tablica 1).<sup>30</sup> Navedeni SNP nalazi se unutar intronskih preklapajućih regija gena za

dva enzima *UGT2A1* i *UGT2A2*. Enzimi *UGT2A1* i *UGT2A2* dio su obitelji uridin difosfat (UDP)-glukuronoziltransferaza koji su eksprimirani u stanicama olfaktornog neuroepitela (apikalnom dijelu sustentakularnih stanica) te na membrani cilija olfaktornih osjetilnih neurona). Imaju značajnu ulogu u metabolizmu osjeta mirisa te u detoksifikaciji tako što kataliziraju konjugaciju UDP-glukuronske kiseline tj. biotransformaciju različitih mirisa, koja dovodi ili do njihove eliminacije ili do sinteze novog poticaja mirisa. Gen *UGT2A2* je varijanta gena *UGT2A1* koja nastaje alternativnom preuredbom gena, pri čemu nastaje protein s modificiranim N-terminalnim dijelom molekule. Iako biološki mehanizmi koji bi objasnili povezanost SNP-a u blizini gena *UGT2A1* i *UGT2A2* s gubitkom osjeta mirisa tijekom bolesti COVID-19 nisu u potpunosti razjašnjeni, uloga ovih enzima u fiziologiji nastanka mirisa indirektno ukazuje da infekcija virusom SARS-CoV-2 može modulirati ekspresiju ovih gena te posljedično biti povezana s gubitkom njihovih bioloških funkcija.

### Povezanost alela HLA-A\*03:01 i rizika od nuspojava na mRNA cjepiva

Cjepiva protiv bolesti COVID-19 iznimno učinkovito štite od pojave teškog kritičnog oblika bolesti COVID-19 i smrti. Povećana reaktogenost cjepiva povezuje se s mlađom dobi i prethodnom infekcijom virusom SARS-CoV-2, no pretpostavlja se da postoje i drugi parametri koji utječu na varijabilnost u težini nuspojava cijepjenja protiv bolesti COVID-19.<sup>31</sup>

Prema procjenama sa sveučilišta *John Hopkins*, do 25. veljače 2022., u svijetu je primijenjeno ukupno više od 11 milijardi doza mRNA, vektorskih i proteinskih cjepiva protiv bolesti COVID-19.<sup>1</sup> Primjena iznimno velikog broja doza cjepiva na globalnoj razini omogućila je istraživanja povezanosti genetičkih čimbenika s odabranim parametrima značajnim za bolest COVID-19 u osoba koje su prethodno već bile uključene u različita genetička istraživanja tj. za koje su podatci o sekvenciranju kompletnog eksoma već dostupni.

Bolze i sur. (2022.) analizirali su nuspojave cijepjenja protiv bolesti COVID-19 (4 lokalna i 20 sistemskih simptoma) nakon primjene mRNA cjepiva BNT162b2 tvrtke *Pfizer-BioNTech* i mRNA-1273 cjepiva tvrtke *Moderna* u 17.440 ispitanika koji su prethodno sudjelovali u istraživanjima *Helix DNA Discovery Project* i *Healthy Nevada Project* i za koje su postojali podatci o sekvenci kompletnog eksoma dobivene testom *Helix Exome+ assay*.<sup>32</sup> Rezultati GWAS istraživanja pokazali su značajnu povezanost između teških nuspojava koje onemogućuju uobičajene dnevne aktivnosti i alela HLA-A\*03:01 u osoba koje su primile BNT162b2 cjepivo ( $n = 3,694$ ;  $p = 4,70E-11$ ; omjer rizika = 2,07 [95%

CI 1,67-2,56]), dok je za primjenu mRNA-1273 cjepiva povezanost bila manje značajna, uz omjer rizika od  $OR = 1,32$  [95% CI 1,09-1,59] ( $n = 3,610$ ;  $p = 0,005$ ) (tablica 1). Dob, spol ispitanika i preboljenje bolesti COVID-19 nisu utjecali na povezanost alela HLA-A\*03:01 i učestalosti nuspojava na cijepjenje. Najčešće nuspojave primjene mRNA cjepiva u ispitanika s alelom HLA-A\*03:01 bile su zimice, vrućica, i umor.<sup>32</sup>

### Zaključak

Nakon brojnih studija provedenih tijekom posljednje dvije godine, može se zaključiti kako genomika može dati dobar uvid u razumijevanje bioloških mehanizama koji su u podlozi imunološkog odgovora na specifične infekcije (primjerice sa SARS-CoV-2) te poslužiti za prepoznavanje rizičnih osoba, kao i za razvoj novih lijekova i cjepiva. Ipak, potrebno je provesti dodatne studije na različitim populacijama kako bi se dodatno objasnio mehanizam djelovanja identificiranih gena.

### LITERATURA

1. *John Hopkins University of Medicine Coronavirus Resource Center*. COVID-19 dashboard. 2022 Feb [pristupljeno 2022 Feb 25] [1 str.]. Dostupno na: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
2. Gao YD, Ding M, Dong X, Zhang JJ, Kursat Azkur A, Azkur D i sur. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy*. 2021;76:428–455.
3. Choudhary S, Sreenivasulu K, Mitra P, Misra S, Sharma P. Role of genetic variants and gene expression in the susceptibility and severity of COVID-19. *Ann Lab Med*. 2021;41:129–138.
4. Colona VL, Vasiliou V, Watt J, Novelli G, Reichardt JKV. Update on human genetic susceptibility to COVID-19: susceptibility to virus and response. *Hum Genomics*. 2021;15:57. Erratum in: *Hum Genomics*. 2021;15:59.
5. *COVID-19 Host Genetics Initiative*. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*. 2021;600:472–477.
6. Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, Yagil C, Kozieradzki I, Scanga SE i sur. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature*. 2002;417:822–8.
7. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol*. 2020;16:e9610.
8. Badawi S, Ali BR. ACE2 nascence, trafficking, and SARS-CoV-2 pathogenesis: the saga continues. *Hum Genomics*. 2021;15:8.
9. Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol*. 2020;5:562–569. 77
10. Li Y, Zhang Z, Yang L, Lian X, Xie Y, Li S i sur. The MERS-CoV receptor DPP4 as a candidate binding target of the SARS-CoV-2 spike. *iScience*. 2020;23:101160.
11. Qi F, Qian S, Zhang S, Zhang Z. Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types and receptors of human coronaviruses. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;526:135–140.
12. Khan A, Benthin C, Zeno B, Albertson TE, Boyd J, Christie JD, i sur. A pilot clinical trial of recombinant human angiotensin-

- converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care*. 2017;21:234.
13. Li Y. A randomized, open label, controlled clinical study to evaluate the recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 (rhACE2) in adult patients with COVID-19. Clinical trial registration.clinicaltrials.gov; 2020 Feb [pristupljeno 2022 Feb 25] [1 str.]. Dostupno na: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
  14. Stopsack KH, Mucci LA, Antonarakis ES, Nelson PS, Kantoff PW. TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or opportunity for intervention? *Cancer Discov*. 2020;10:779–782.
  15. Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L *i sur*. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature* 2021;591:92–98.
  16. Scully EP, Haverfield J, Ursin RL, Tannenbaum C, Klein SL. Considering how biological sex impacts immune responses and COVID-19 outcomes. *Nat Rev Immunol*. 2020;20:442–447.
  17. Ramírez-Soto MC, Ortega-Cáceres G, Arroyo-Hernández H. Sex differences in COVID-19 fatality rate and risk of death: an analysis in 73 countries, 2020–2021. *Infez Med*. 2021; 29:402–407.
  18. Tazerji SS, Shahabinejad F, Tokasi M, Rad MA, Khan MS, Safdar M, *i sur*. Global data analysis and risk factors associated with morbidity and mortality of COVID-19. *Gene Rep*. 2022;26:101505.
  19. Patanavanich R, Glantz SA. Smoking is associated with worse outcomes of COVID-19 particularly among younger adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2021;21:1554.
  20. Liu J, Ji H, Zheng W, Wu X, Zhu JJ, Arnold AP, Sandberg K. Sex differences in renal angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) activity are 17 $\beta$ -oestradiol-dependent and sex chromosome-independent. *Biol Sex Differ*. 2010;1:6.
  21. Tukiainen T, Villani AC, Yen A, Rivas MA, Marshall JL, Satija R, *i sur*. GTEx Consortium; Laboratory, Data Analysis & Coordinating Center (LDACC)—Analysis Working Group; Statistical Methods groups—Analysis Working Group; Enhancing GTEx (eGTEx) groups; NIH Common Fund; NIH/NCI; NIH/NHGRI; NIH/NIMH; NIH/NIDA; Biospecimen Collection Source Site—NDRI; Biospecimen Collection Source Site—RPCI; Biospecimen Core Resource—VARI; Brain Bank Repository—University of Miami Brain Endowment Bank; Leidos Biomedical—Project Management; ELSI Study; Genome Browser Data Integration & Visualization—EBI; Genome Browser Data Integration & Visualization—UCSC Genomics Institute, University of California Santa Cruz, Lapalainen T, Regev A, Ardlie KG, Hacohen N, MacArthur DG. Landscape of X chromosome inactivation across human tissues. *Nature*. 2017;550:244–248.
  22. Bortolotti D, Gentili V, Rizzo S, Schiuma G, Beltrami S, Strazabosco G *i sur*. TLR3 and TLR7 RNA sensor activation during SARS-CoV-2 Infection. *Microorganisms*. 2021;9:1820.
  23. van der Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J, van den Heuvel G, Mantere T, Kersten S *i sur*. Presence of genetic variants among young men with severe COVID-19. *JAMA*. 2020;324:663–73.
  24. Solanich X, Vargas-Parra G, Caspar I, van del Made, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J *i sur*. Genetic screening for TLR7 variants in young and previously healthy men with severe COVID-19. *Front Immunol*. 2021;12:2965.
  25. Fallerini C, Daga S, Mantovani S, Benetti E, Picchiotti N, Francisci D *i sur*. GEN-COVID Multicenter Study, Renieri A, Mondelli MU, Frullanti E. Association of Toll-like receptor 7 variants with life-threatening COVID-19 disease in males: findings from a nested case-control study. *Elife*. 2021;10: e67569.
  26. Shelton JF, Shastri AJ, Ye C, Weldon CH, Filshtein-Sonmez T, Coker D *i sur*. 23andMe COVID-19 Team, Aslibekyan S, Auton A. Trans-ancestry analysis reveals genetic and nongenetic associations with COVID-19 susceptibility and severity. *Nat Genet*. 2021;53:801–808.
  27. Khani E, Khiali S, Beheshtirouy S, Entezari-Maleki T. Potential pharmacologic treatments for COVID-19 smell and taste loss: a comprehensive review. *Eur J Pharmacol*. 2021;912: 174582.
  28. Lyoo KS, Kim HM, Lee B, Che YH, Kim SJ, Song D *i sur*. Direct neuronal infection of SARS-CoV-2 reveals cellular and molecular pathology of chemosensory impairment of COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2022;11:406–11.
  29. Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R *i sur*. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci*. 2021;24:168–75.
  30. Shelton JF, Shastri AJ, Fletez-Brant K; 23andMe COVID-19 Team, Aslibekyan S, Auton A. The UGT2A1/UGT2A2 locus is associated with COVID-19-related loss of smell or taste. *Nat Genet*. 2022;54:121–4.
  31. Menni C, Klaser K, May A, Polidori L, Capdevila J, Louca P *i sur*. Vaccine side-effects and SARS-CoV-2 infection after vaccination in users of the COVID Symptom Study app in the UK: a prospective observational study. *Lancet Infect Dis*. 2021;21:939–949.
  32. Bolze A, Neveux I, Schiabor Barrett KM, White S, Isaksson M, Dabe S *i sur*. HLA-A\*03:01 is associated with increased risk of fever, chills, and stronger side effects from Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccination. *HGG Adv*. 2022;3:100084.