

Dawid Wojciulik<sup>1</sup>, Agnieszka Joanna Wasilewska-Chrzanowska<sup>1</sup>, Karol Adam Kamiński<sup>2,3</sup>,  
Anna Moniuszko-Malinowska<sup>1</sup>

## THE IMPACT OF GENETIC POLYMORPHISM ON COURSE AND SEVERITY OF THE SARS-CoV-2 INFECTION AND COVID-19 DISEASE

### WPLYW POLIMORFIZMU GENETYCZNEGO NA PRZEBIEG ORAZ CIĘŻKOŚĆ ZAKAŻENIA WIRUSEM SARS-CoV-2 ORAZ CHOROBY COVID-19

<sup>1</sup>Department of Infectious Diseases and Neuroinfection, Medical University of Białystok, Poland

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

<sup>2</sup>Department of Population Medicine and Lifestyle Diseases Prevention, Medical University of Białystok, Poland

Zakład Medycyny Populacyjnej i Prewencji Chorób Cywilizacyjnych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

<sup>3</sup>Department of Cardiology and Internal Medicine with Cardiac Intensive Care Unit,

Medical University of Białystok, Poland

Klinika Kardiologii i Chorób Wewnętrznych z Oddziałem Intensywnego Nadzoru Kardiologicznego,

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

#### ABSTRACT

COVID-19 is severe respiratory and systemic disease with complex pathogenesis and many clinical symptoms, including symptoms from respiratory system, immunology system, cardio-vascular system, haematopoietic system and neurological system. Severe character of the disease is associated with occurrence of respiratory failure, septic shock, multiple organ dysfunctions syndrome, which can lead to patients death due to cardiac arrest.

Knowledge about interactions between the virus and human proteins as well as knowledge of immunological mechanisms against infection is a key to identifying the area of virus activity and severity factors of COVID-19. Multiple variants of genes encoding proteins involved in host cell invasion by SARS-CoV-2 virus have been identified: ACE2 and TMPRSS2, TMPRSS11A (HGNC:27954), ELANE (HGNC:3309), CTSL (HGNC:2537), IL-6 rs1800795 variant associated with an increased risk of COVID-19, variant rs35705950:G>T located in the promoter of the MUC5B gene (11p15.5), encoding a protein that plays a key role in maintaining the proper function of the bronchoalveolar epithelium, having a protective effect against the form of the disease requiring hospitalization of the patient, as well as GC rs2282679 gene variant in the vitamin D binding protein associated with a more severe course of COVID-19. 48 of these variants were proved to be directly specific for some populations.

Novel techniques of genome analysis enabled the research of the impact of specific polymorphism variants on the severity of various diseases including, COVID-19. Genetic factors analysis can permit understanding of disease pathogenesis, which is a chance to find effective treatment and prevention methods. Collected data from literature indicate that, in the case of COVID-19 disease, there are genes polymorphisms which affect the severity course.

**Keywords:** *polymorphism, gene, severity, COVID-19*

#### STRESZCZENIE

COVID-19 jest ciężką oddechową i ogólnoustrojową chorobą o złożonej patogenezie i szerokim spektrum objawów klinicznych, obejmującą objawy ze strony układu oddechowego, immunologicznego, sercowo-naczyniowego, pokarmowego, hematopoetycznego oraz neurologicznego. Ciężka postać choroby wiąże się z występowaniem niewydolności oddechowej, wstrząsu septycznego, niewydolności wielonarządowej, które w mechanizmie zatrzymania krążenia mogą skutkować zgonem pacjenta.

Znajomość interakcji wirusa z ludzkimi białkami oraz mechanizmu odpornościowego przeciwko infekcji ma kluczowe znaczenie dla identyfikacji miejsc działania wirusa oraz czynników ciężkości przebiegu COVID-19. Zidentyfikowano różne warianty genów kodujących białka biorące udział w inwazji komórki gospodarza wirusem SARS-CoV-2: ACE2 i TMPRSS2, TMPRSS11A (HGNC:27954), ELANE (HGNC:3309), CTSL (HGNC:2537), wariant IL-6 rs1800795 związany ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na COVID-19, wariant rs35705950:G>T zlokalizowany w promotorze genu MUC5B (11p15,5) kodującego białko odgrywające kluczową rolę w zachowaniu prawidłowej funkcji nabłonka oskrzelowo-pęcherzykowego, mający działanie protekcyjne przed postacią choroby wymagającą hospitalizacji pacjenta oraz wariant genu GC rs2282679 w białku wiążącym witaminę D związany z cięższym przebiegiem COVID-19. Obecnie wyróżniono 48 takich wariantów i część z nich okazała się występować częściej w konkretnych populacjach.

Techniki analizy genomu ludzkiego umożliwiły badania nad wpływem występowania poszczególnych polimorfizmów na ciężkość przebiegu różnych schorzeń, w tym infekcji COVID-19. Analiza czynników genetycznych może pozwolić zrozumieć jej patogenezę, co daje szansę na odnalezienie skutecznych metod leczenia oraz profilaktyki. Zebrane dane z piśmiennictwa wskazują, że w przypadku choroby COVID-19 istnieją polimorfizmy genów, które wpływają na ciężkość jej przebiegu.

**Słowa kluczowe:** *polimorfizm, COVID-19, gen, ciężkość choroby*

## INTRODUCTION

COVID-19 is a severe respiratory and systemic disease with complex pathogenesis and a wide spectrum of clinical symptoms, including symptoms of the respiratory, immune, cardiovascular, digestive, hematopoietic and neurological systems (1,2). Among more than 750 million SARS-CoV-2 infections worldwide, the disease has resulted in the death of over 7 million people (3). The course of the disease varies: from asymptomatic, through mild, to severe forms, resulting in respiratory failure and often leading to death. The risk factors for a severe course include: old age, smoking, hypertension, diabetes, COPD and cancer (4). The severe form of the disease is associated with the occurrence of respiratory failure, septic shock, and multi-organ failure, which may result in the patient's death due to cardiac arrest (5).

Knowledge on virus interactions with human proteins and the immune mechanism against infection is crucial to identifying the sites of viral action and the severity of COVID-19. SARS-CoV-2 infects alveolar epithelial cells through endocytosis via appropriate receptors. The SARS-CoV-2 spike (S) protein binds to the ACE2 receptor, which is expressed in several organs, including the lungs, heart, kidneys, and intestines (6). An increased level of ACE2 is associated with the occurrence of risk factors for COVID-19 disease and its clinical course, such as advanced age, male sex and smoking (7). After binding to the receptor, the virus enters the host cell cytosol through proteolytic cleavage of the S protein, during which certain proteases, including transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2) and cathepsin L (CTSL), cleave into the S domains, mediating transmembrane virus fusion (8). Various variants of genes encoding proteins involved in host cell invasion with the SARS-CoV-2

## WSTĘP

COVID-19 jest ciężką oddechową i ogólnoustrojową chorobą o złożonej patogenezie i szerokim spektrum objawów klinicznych, obejmującą objawy ze strony układu oddechowego, immunologicznego, sercowo-naczyniowego, pokarmowego, hemato-petycznego oraz neurologicznego (1,2). Spośród zarejestrowanych ponad 750 milionów zakażeń wirusem SARS-CoV-2 na świecie, choroba doprowadziła do zgonu ponad 7 milionów ludzi (3). Przebieg choroby jest zróżnicowany: od postaci bezobjawowych przez łagodne, aż po ciężkie, skutkujące niewydolnością oddechową, niejednokrotnie prowadzące do śmierci. Do czynników ryzyka ciężkiego przebiegu należą między innymi: podeszły wiek, palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, POChP oraz choroby nowotworowe (4). Ciężka postać choroby wiąże się z występowaniem niewydolności oddechowej, wstrząsu septycznego, niewydolności wielonarządowej, które w mechanizmie zatrzymania krążenia mogą skutkować zgonem pacjenta (5).

Znajomość interakcji wirusa z ludzkimi białkami oraz mechanizmu odpornościowego przeciwko infekcji ma kluczowe znaczenie dla identyfikacji miejsc działania wirusa oraz ciężkości przebiegu COVID-19. SARS-CoV-2 infekuje komórki nabłonka pęcherzyków płucnych poprzez endocytozę za pośrednictwem odpowiednich receptorów. Białko kolca (S) SARS-CoV-2 wiąże się z receptorem ACE2, który ulega ekspresji w kilku narządach, w tym w płucach, sercu, nerkach i jelitach (6). Podwyższony poziom ACE2 wiązany jest z występowaniem czynników ryzyka zachorowania COVID-19 oraz jego przebiegu klinicznego, takich jak: zaawansowany wiek, płeć męska oraz palenie tytoniu (7). Po związaniu się z receptorem wirus przedostaje się do cytozolu komórki gospodarza poprzez pro-

virus have been identified: ACE2 and TMPRSS2, TMPRSS11A (HGNC:27954), ELANE (HGNC:3309) and CTSL (HGNC:2537). Currently, 48 such variants have been identified and some of were proved to be more common in specific populations (9).

In a normal immune response to SARS-CoV-2 infection, recruited immune cells fight the infection in the lungs, leading to the patient's recovery. When the disease develops unfavorably, the so-called "cytokine storm" occurs, in which an increase in IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), IP-10, MCP-1, macrophage inflammatory protein1a (MIP-1a) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-a) is observed in the patient's serum (10). On the contrary, in patients with severe COVID-19, it is observed that an increase in IL-6 concentration is associated with an unfavorable prognosis (11). Several variants of the IL-6 gene (HGNC:6018) that presented different expression of this cytokine in multiple diseases, were tested. Variants rs1800795 (-174C) and variant rs1800796 (-572C) were associated with higher concentrations of this cytokine (12,13) and an increased risk of upper respiratory tract infections (14-16). IFN variants that are possibly associated with the severe course of COVID -19 were also detected, suggesting the use of IFN I as a potential therapy in these patients (17).

\* \* \*

Considering the documented influence of the genetic background on the course of many infectious diseases, including coronavirus infection (18), in this paper we present the tested and identified genetic variants that determine the inter-individual variability in the severity of COVID-19.

**ACE2.** ACE2 is an enzyme responsible for catalyzing disintegration Ang II to Ang (1-7), Ang I to Ang (1-9), and participates in the hydrolysis of different other peptides (19). ACE2 has an important role in regulating the hemodynamics of blood flow in blood vessels. As a result of hydrolysis, Ang (1-7) is formed, which binds to the Mas receptor and this leads to vasodilatation, antagonizing the action of Ang II (19,20).

The ACE2 receptor is a kind of „entrance door” the SARS-CoV-2 virus to human cells. It turns out that the virus uses its spike, which contains amino acid residues interacting with ACE2 receptor and in this way the virus uses receptor to enter the cell (21). In a meta-analysis conducted by Gupta et al., researchers identified ACE2 polymorphisms associated with an increased risk of severe symptoms in the course of COVID-19. These are ACE2 rs2285666, ACE2 rs 2106809, ACE2 rs2074192 polymorphisms (22).

teolityczne rozszczepienie białka S, podczas którego niektóre proteazy, w tym przez błonowa proteaza serynowa 2 (TMPRSS2) i katepsyna L (CTSL), rozszczepiają się do domen S, pośrednicząc w przezbłonowej fuzji wirusa (8). Zidentyfikowano różne warianty genów kodujących białka biorące udział w inwazji komórki gospodarza wirusem SARS-CoV-2: ACE2 i TMPRSS2, TMPRSS11A (HGNC:27954), ELANE (HGNC:3309) oraz CTSL (HGNC:2537). Obecnie wyróżniono 48 takich wariantów i część z nich okazała się występować częściej w konkretnych populacjach (9).

W prawidłowej odpowiedzi immunologicznej na zakażenie SARS-CoV-2, zrekrutowane komórki odpornościowe zwalczają infekcję na poziomie płuc, co prowadzi do wyzdrowienia pacjenta. W niekorzystnym rozwoju choroby dochodzi do tzw. „burzy cytokinowej”, w której w surowicy pacjenta obserwuje się wzrost IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, czynnika stymulującego kolonie granulocytów (G-CSF), IP-10, MCP-1, białka zapalnego makrofagów 1a (MIP-1a) oraz czynnika martwicy nowotworu-alfa (TNF-a) (10). Natomiast u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 obserwuje się, iż wzrost stężenia IL-6 wiąże się z niekorzystnym rokowaniem (11). Zbadano kilka wariantów genu IL- 6 (HGNC:6018), które wykazywały różną ekspresję tej cytokiny w wielu schorzeniach. Warianty rs1800795 (-174C) oraz wariant rs1800796 (-572C) wiązały się z wyższymi stężeniami tej cytokiny (12,13) oraz zwiększonym ryzykiem infekcji górnych dróg oddechowych (14-16). Wykryto również warianty IFN prawdopodobnie powiązane z ciężkim przebiegiem COVID-19 sugerując zastosowanie IFN I jako potencjalną terapię u tych pacjentów (17).

\* \* \*

Biorąc pod uwagę udokumentowany wpływ podłoża genetycznego na przebieg wielu chorób zakaźnych, w tym zakażenia koronawirusem (18), w niniejszej pracy przedstawiamy przebadane i zidentyfikowane warianty genetyczne determinujące zmienność międzyosobniczą w zakresie ciężkości przebiegu COVID-19.

**ACE2.** ACE2 jest enzymem odpowiedzialnym za katalizowanie rozpadu Ang II na Ang (1-7), Ang I na Ang (1-9) oraz uczestniczy w procesie hydrolyzy różnych innych peptydów (19). ACE2 pełni zatem istotną rolę w regulacji hemodynamiki przepływu krwi w naczyniach krwionośnych. W wyniku hydrolyzy powstaje Ang (1-7), która łączy się z receptorem Mas i to z kolei prowadzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych antagonizując działanie Ang II (19,20).

Receptor ACE2 jest rodzajem „drzwi wejściowych” dla wirusa SARS-CoV-2 do komórek organizmu ludz-

The observation has been made that the course of COVID-19 disease is more severe in ACE2 rs2285666 and rs2074192 homozygotes compared to heterozygotes (22). As a result of transcriptional changes, a stronger „splicing” place may be formed, which increases ACE2 expression by almost 50% (22-24). Rs2285666 heterozygotes show moderate expression of the ACE2 receptor, which may be associated with reduced chance of developing a severe form of the disease (22). As the result of ACE2 rs2074192 expression, there is decreased level of Ang (1-7) in the circulation which may antagonize the action of Ang II (19,20,25,26). In the case of this polymorphism a similar association was observed in ACE2 rs2285666. A significant association of the ACE2 rs2106809 polymorphism with the severity of SARS-CoV-2 infection was also demonstrated, but only in one genotype (23).

Two researches conducted on the Egyptian population showed that there was no significant association of the ACE2 rs2285666 polymorphism with the severity of COVID-19 disease. The correlation between the ACE2 rs2285666 polymorphism and the effect on the severity of COVID-19 disease may depend on ethnic origin (27,28).

Subject of interest was the polymorphism of the AGTR1 rs 5186 gene, for which Gupta K. et al. in their meta-analysis described a statistically significant association with the severe course of COVID-19 (22). AGTR1 is a gene encoding the type 1 receptor for angiotensin II, a protein of the renin-angiotensin system. This receptor enables the internalization of the SARS-CoV-2 virus into the host cell. In the infected cell, the expression of the ACE2 receptor is reduced. Reduced ACE2 levels lead to increased angiotensin II level, which is then converted to Ang 1-7. Increased angiotensin II levels cause the activation of transcription of the AGTR1 gene, which triggers NF- $\kappa$ B signaling and the expression of the proinflammatory cytokines (29). Gupta K et al. found that people with A allele or the AA genotype of AGTR1 have higher risk of progression COVID-19 to severe disease compared to people with C allele or the CA genotype, which would confirm the association of reduced AGTR1 levels in these people with a less severe disease (22).

**TMPRSS2.** This is the second enzyme, next to ACE2, which is very important in the process of SARS-CoV-2 penetration into the host cell. The virus uses the TMPRSS2 serine protease to prepare the S protein by its proteolytic cleavage, which allows the virus to enter the host cells (21). TMPRSS2 genes are expressed in many human tissues, including the kidneys, heart, respiratory tract and gastrointestinal tract (30). These organs are potentially susceptible to infection with the SARS-CoV-2 virus (31).

Okazuje się, że wirus wykorzystuje swój kołec, który zawiera reszty aminokwasowe oddziałujące z receptorem ACE2 i w ten sposób wykorzystuje receptor do wejścia do komórki (21). W metaanalizie przeprowadzonej przez Gupta i wsp. badacze zidentyfikowali szereg polimorfizmów ACE2 powiązanych z podwyższonym ryzykiem wystąpienia ciężkich objawów w przebiegu COVID-19. Są to polimorfizmy ACE2 rs2285666, ACE2 rs2106809, ACE2 rs2074192 (22).

Zaobserwowano cięższy przebieg choroby COVID-19 u homozygot ACE2 rs2285666 i rs2074192 w porównaniu z heterozygotami (22). W wyniku przemian transkrypcyjnych może dojść do powstania silniejszego miejsca „splicingu” co zwiększa ekspresję ACE2 o blisko 50% (22-24). Heterozygoty rs2285666 wykazują ekspresję receptora ACE2 na umiarkowanym poziomie co może wiązać się ze zmniejszeniem ryzyka rozwinięcia ciężkiej choroby (22). W wyniku ekspresji ACE2 rs2074192 dochodzi do obniżenia stężenia Ang (1-7) w krążeniu, która może antagonizować działanie Ang II (19,20,25,26). W przypadku tego polimorfizmu zaobserwowano podobny związek jak w ACE2 rs2285666. Wykazano też znaczące powiązanie polimorfizmu ACE2 rs2106809 z ciężkością przebiegu zakażenia wirusem SARS-CoV-2, ale tylko w jednym rodzaju genotypu (23).

W dwóch badaniach przeprowadzonych na populacji egipskiej wykazano z kolei brak istotnego powiązania polimorfizmu ACE2 rs2285666 z ciężkością choroby COVID-19. Korelacja między polimorfizmem ACE2 rs2285666, a wpływem na ciężkość przebiegu choroby COVID-19 może zależeć od pochodzenia etnicznego (27,28).

Przedmiotem zainteresowań okazał się również polimorfizm genu AGTR1 rs5186, w przypadku którego Gupta K. i wsp. w przeprowadzonej metaanalizie opisali istotne statystycznie powiązanie z ciężkim przebiegiem COVID-19 (22). AGTR1 to gen kodujący receptor typu 1 dla angiotensyny II, białka układu renina-angiotensyna. Receptor ten umożliwia internalizację wirusa SARS-CoV-2 do komórki gospodarza. W zainfekowanej komórce dochodzi do obniżenia ekspresji receptora ACE2. Obniżony poziom ACE2 prowadzi do wzrostu stężenia angiotensyny II, która następnie ulega konwersji do Ang 1-7. Podwyższone stężenie angiotensyny II powoduje aktywację transkrypcji genu AGTR1 co w dalszej kolejności wyzwala sygnalizację NF- $\kappa$ B i ekspresję cytokin prozapalnych (29). Gupta K i inni odkryli, iż posiadacze allelu A lub genotypu AA AGTR1 wykazują wyższe ryzyko progresji COVID-19 do postaci ciężkiej choroby w porównaniu do uczestników z allelem C lub genotypem CA, co potwierdzałoby powiązanie obniżonego poziomu AGTR1 u tych osób z mniejszym nasileniem choroby (22).

The role of TMPRSS2 rs12329760 gene polymorphism in the Ukrainian population has been described. Firstly, the distribution of the TMPRSS2 rs12329760 in this population has been described. Secondly, the study has proven that the TMPRSS2 rs12329760 is associated with a severe course of COVID-19. It was noted that among patients with genotypes TT, CT, CC and COVID-19 disease were significant differences whether they were treated with invasive or non-invasive oxygen therapy. The presence of the T allele in patients undergoing invasive oxygen therapy was higher than in the other groups of patients with COVID-19 disease in the Ukrainian population. Patients with a severe course of the disease were more often homozygotes with the TT genotype than patients with a moderate course of COVID-19. Additionally, it was observed that the frequency of the TMPRSS2 polymorphisms is different between various populations in the world (32).

Based on researches of the Iranian population a significant relationship between the T allele rs12329760 and the severity of the course of COVID-19 disease was also described (33). Researches on the UK population showed a reduced probability of developing a severe form of COVID-19 in patients with the presence of this allele (34). Research conducted on Italian population also showed that the rs12329760 polymorphism of the TMPRSS2 gene is a protective factor against the development of a severe form of COVID-19 disease (35). Researches conducted on the Egyptian population showed that the T allele of rs12329760 was significantly less present in patients with a severe course of COVID-19. According to the authors, the CT and TT genotypes reduce the risk of developing a severe form of COVID-19 disease (27). Therefore, TMPRSS2 and its correlation with the severity of the course of COVID-19 may be the result of the occurrence of ethnic origin-dependent risk alleles in these populations (28,33).

**IL-6.** Interleukin-6 plays a crucial role in the development of respiratory tract inflammation caused by SARS-CoV-2. Starting from mild forms of the disease, up to respiratory failure or ARDS. Inhibiting IL-6 and its signaling pathway can reduce the inflammatory process and improve the condition of patients in severe cases (36). Severe SARS-CoV-2 infections are characterized by excessive production of cytokines and higher mortality. The severity of the COVID-19 disease is closely related to the increased concentration of IL-6 (37,38).

Studies on the Turkish population assessed the relationship between IL-6 concentration, COVID-19 disease development and the occurrence of Macrophage Activation Syndrome (MAS). MAS is a group of diseases with a serious prognosis, characterized

**TMPRSS2.** Jest to drugi obok ACE2 enzym bardzo istotny w procesie wnikania SARS-CoV-2 do wnętrza komórki gospodarza. Wirus wykorzystuje proteazę serynową TMPRSS2 do odpowiedniego przygotowania białka S poprzez jego proteolityczne rozszczepienie, co umożliwia wniknięcie wirusa do komórek gospodarza (21). Geny TMPRSS2 ulegają ekspresji w wielu tkankach człowieka, między innymi w nerkach, sercu, drogach oddechowych czy w przewodzie pokarmowym (30). Narządy te są potencjalnie podatne na zakażenie wirusem SARS-CoV-2 (31).

Opisano rolę polimorfizmu genu TMPRSS2 rs12329760 w populacji ukraińskiej. Po pierwsze został opisany rozkład genotypu TMPRSS2 rs12329760 w tejże populacji. Po drugie, badanie wykazało, że polimorfizm TMPRSS2 rs12329760 jest powiązany z ciężkim przebiegiem COVID-19. Zauważono, że wśród pacjentów z genotypami TT, CT, CC i chorującymi na COVID-19 były znaczące różnice czy zostali poddani inwazyjnej bądź nieinwazyjnej tlenoterapii. Występowanie allelu T u pacjentów poddanych inwazyjnej tlenoterapii było wyższe niż w pozostałych grupach pacjentów z chorobą COVID-19 w populacji ukraińskiej. Pacjenci z ciężkim przebiegiem choroby częściej okazywali się homozygotami o genotypie TT niż pacjenci z umiarkowanym przebiegiem COVID-19. Dodatkowo zaobserwowano, że częstość występowania polimorfizmu TMPRSS2 jest różna między różnymi populacjami na świecie (32).

Opisano również istotną zależność na podstawie badań populacji Iranu. Odkryto zależność między allelem T rs12329760 oraz ciężkością przebiegu choroby COVID-19 (33). W badaniach na populacji Wielkiej Brytanii wykazano zmniejszenie prawdopodobieństwa rozwinięcia ciężkiej postaci COVID-19 u pacjentów z obecnością tego allelu (34). Z kolei w badaniach populacji włoskiej również wykazano, że polimorfizm rs12329760 genu TMPRSS2 jest czynnikiem ochronnym przed rozwojem ciężkiej postaci choroby COVID-19 (35). W przeprowadzonych badaniach na populacji egipskiej wykazano, że allel T rs12329760 znacznie rzadziej występował u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19. Według autorów genotypy CT oraz TT zmniejszają ryzyko rozwinięcia się ciężkiej postaci choroby COVID-19 (27). Zatem TMPRSS2 i jego korelacja z ciężkością przebiegu COVID-19 może wynikać z występowania etnicznie zależnych alleli ryzyka w danych populacjach (28,33).

**IL-6.** Interleukina-6 pełni kluczową funkcję w procesie rozwoju zapalenia dróg oddechowych wywołanych przez SARS-CoV-2. Zaczynając od łagodnych postaci choroby aż do niewydolności oddechowej czy ARDS. Hamowanie IL-6 i jej szlaku sygnałowego może zmniejszyć proces zapalny oraz poprawić stan pacjentów w ciężkich przypadkach (36). Ciężko

by excessive proliferation and accumulation of macrophages and dendritic cells, which results in symptoms of a generalized inflammatory reaction, enlargement of internal organs and cytopenia associated with hemophagocytosis of hematopoietic cells in the bone marrow (39). It has been proven that there is a statistically significant correlation between the IL-6 rs1800795 polymorphism and the risk of COVID-19 disease development. The quoted study reveals that the frequency of the GG genotype and G allele was significantly higher in the MAS group compared to the non-MAS group, so the authors presented the G allele as a risk factor for increased serum IL-6 concentration and progression to MAS (40).

After analyzing the results of studies conducted on the populations of many countries of different ethnic origins, it was shown that the IL-6 rs1800795 polymorphism, which is a variant of the IL-6 gene promoter, significantly affects the severity of pneumonia, especially among Caucasians. It was also observed that in people who are carriers of the IL-6 rs1800795 variant, the risk of septic shock caused by pneumonia increases by 2.42 times. In subjects with the C allele, a significant association between the occurrence of higher IL-6 concentrations and the development of more severe forms of pneumonia was demonstrated (41).

A statistically significant correlation was also observed between high IL-6 concentration values and low effectiveness of COVID-19 treatment; additionally, cytokine suppression using glucocorticoids, immunomodulators or cytokine receptor antagonists improved therapeutic results (42).

**MUC5B.** Research conducted by the Host Genetic Initiative (HGI) revealed that the rs35705950:G>T variant located in the promoter of the MUC5B gene (11p15.5) has a protective effect against the form of COVID-19 that requires hospitalization of the patient. The rs35705950 polymorphism is located in the region of the transcription-supporting sequence, the so-called transcription enhancer of the MUC5B gene, whose protein product belongs to the so-called major gel-forming mucins in the lungs, playing a crucial role in maintaining the proper function of the bronchoalveolar epithelium, mucus removal and host defense against respiratory pathogens (43-46). Consistent with the aforementioned studies, mouse models of gene knockout for MUC5B (inactivation of a specific gene, replacing it with an exogenous DNA fragment) presented increased susceptibility to bacterial infections of the respiratory tract and persistent inflammation.

In humans, the "T" allele of rs35705950 is associated with enhanced expression of the MUC5B gene transcript in lung tissue (47) and negatively

przebiegające zakażenia wirusem SARS-CoV-2 charakteryzują się nadmierną produkcją cytokin i większą śmiertelnością. Ciężkość przebiegu choroby COVID-19 jest ściśle związana z zwiększonym stężeniem IL-6 (37,38).

W badaniach na populacji tureckiej oceniano zależność pomiędzy stężeniem IL-6, zachorowaniem na COVID-19 a wystąpieniem zespołu aktywacji makrofaga (Macrophage Activation Syndrom, MAS). MAS jest to grupa chorób o poważnym rokowaniu, charakteryzujących się nadmierną proliferacją i gromadzeniem makrofagów oraz komórek dendrytycznych, co przebiega w postaci objawów uogólnionej reakcji zapalnej, powiększeniem narządów wewnętrznych oraz cytopenią związaną z hemofagocytozą komórek krwiotwórczych w szpiku (39). Wykazano, iż istnieje istotny statystycznie związek pomiędzy polimorfizmem IL-6 rs1800795, a ryzykiem zachorowania na COVID-19. Z niniejszego badania wynika, że częstość występowania genotypu GG i allelu G była istotnie wyższa w grupie z MAS niż w grupie bez MAS, zatem autorzy przedstawili allel G jako czynnik ryzyka zwiększonego stężenia IL-6 w surowicy i progresji do MAS (40).

Po analizie wyników badań przeprowadzonych na populacjach wielu krajów o różnym pochodzeniu etnicznym, wykazano, że polimorfizm IL-6 rs1800795 będący wariantem promotora genu IL-6 wpływa istotnie na ciężkość zapalenia płuc w szczególności wśród ludzi rasy kaukaskiej. Zaobserwowano również, że u osób będących nosicielami wariantu IL-6 rs1800795 2,42-krotnie wzrasta ryzyko wstrząsu septycznego wywołanego właśnie zapaleniem płuc. U badanych z obecnością allelu C wykazano istotne powiązanie z występowaniem wyższych stężeń IL-6 oraz rozwojem cięższych postaci zapalenia płuc (41).

Zaobserwowano również istotną statystycznie zależność pomiędzy wysokimi wartościami stężenia IL-6 a niską efektywnością leczenia COVID-19; zaś supresja cytokiny z użyciem glikokortykosteroidów, immunomodulatorów czy antagonistów receptora cytokinowego poprawiała wyniki terapeutyczne (42).

**MUC5B.** W badaniach przeprowadzonych przez Host Genetic Initiative (HGI) wykryto, iż wariant rs35705950:G>T zlokalizowany w promotorze genu MUC5B (11p15,5) ma działanie protekcyjne przed postacią COVID-19 wymagającą hospitalizacji pacjenta. Polimorfizm rs35705950 znajduje się w regionie sekwencji wspomagającej transkrypcję, tzw. wzmacniacza transkrypcji genu MUC5B, którego produkt białkowy należy do tzw. głównych mucyn tworzących żel w płucach (ang. *major gel-forming mucins*), odgrywający kluczową rolę w zachowaniu prawidłowej funkcji nabłonka oskrzelowo-pęcherzykowego, usuwaniu śluzu i obronie gospodarza przed patogenami

correlates with the occurrence of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) in a patient. The protective effect of the MUC5B variant in this respect is unexpected, considering the correlation between the occurrence of IPF and COVID-19 observed with other variants of this gene (48). Nevertheless, Peljto et al. in their research confirmed that the presence of this variant of the MUC5B gene promoter is associated with a twice higher survival rate among patients with already diagnosed IPF (49). Of note, although excess MUC5B protein is observed in respiratory bronchiolar epithelial cells and honeycomb cysts (44,45) of individuals with IPF, the relationship between the expression of the rs35705950 genotype in lung tissue and IPF stage has not been established and it is expected that there is a universally elevated level of MUC5B proteins in IPF patients, regardless of their rs35705950 allelic configuration.

Verma et al. (50) examined the association between the rs35705950-T polymorphism and clinical outcomes of COVID-19 infection in the Million Veteran Program (MVP), a multigenerational cohort of over 650,000 US veterans with detailed electronic health record (EHR) and genotyping data. This study also confirms that the "T" allele of rs35705950 in MUC5B is associated with reduced risk of COVID-19-related hospitalization among MVP participants (50).

**Vitamin D3.** There is a relationship between vitamin D3 levels and the severe course of SARS-CoV-2 infection. Patients with appropriate vitamin D levels have lower risk of death from COVID-19 (51). Vitamin D affects the regulation of cytokine levels (52) and can improve patients condition (53). Its appropriate levels can prevent or end the „cytokine storm” (53).

Data from research conducted in Portugal shows that over 60% of the adult population has vitamin D deficiency [ $25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$ ] (54). In a country with high sunlight levels, a high percentage of vitamin D deficiency in the population may indicate a significant impact of genetic factors such as GC or CYP24A1 genes on the vitamin D metabolism pathway compared to other European populations. In Portuguese population has been demonstrated the presence of genes which predispose to a more frequent occurrence of vitamin D deficiency than in other European countries. The DHCR7 rs 12785878 gene polymorphism occurred more often there than in other European populations. It was noted that patients with vitamin D deficiency developed more often severe COVID-19 disease, but also they died more often from it. Therefore, in populations with genetic susceptibility to vitamin D deficiency, the risk of a more severe course of COVID-19 increases. Identification of population – specific polymorphisms affecting synthesis or

układu oddechowego (43-46). Zgodnie z powyższymi badaniami, w mysich modelach nokautu genowego dla MUC5B (uniieczynnieniu określonego genu, zastępując go egzogennym fragmentem DNA) wykazano zwiększoną podatność na infekcje bakteryjne dróg oddechowych i utrzymujący się stan zapalny.

U ludzi allel „T” rs35705950 jest powiązany ze wzmocnioną ekspresją transkryptu genu MUC5B w tkance płuc (47) oraz ujemnie koreluje z wystąpieniem idiopatycznego włóknienia płuc (IPF) u pacjenta. Efekt ochronny wariantu MUC5B w tym zakresie jest zaskakujący, biorąc pod uwagę korelację pomiędzy wystąpieniem IPF i COVID-19 obserwowany w przypadku innych wariantów tego genu (48). Niemniej jednak Peljto i wsp. w swoich badaniach potwierdzili, iż obecność tego wariantu promotora genu MUC5B powiązana jest z dwukrotnie wyższym wskaźnikiem przeżycia wśród pacjentów z już rozpoznany IPF (49). Warto zauważyć, że chociaż nadmiar białka MUC5B obserwuje się w komórkach nabłonkowych oskrzelików oddechowych i torbieli plastra miodu (44,45) osób z IPF, zależność pomiędzy ekspresją genotypu rs35705950 w tkance płuc a jego stopniem zaawansowania nie została wyryta i prawdopodobnie można uznać powszechnie podwyższony poziom białka MUC5B u pacjentów z IPF, niezależnie od ich konfiguracji allelicznej rs35705950.

Verma i wsp. (50) zbadali związek między polimorfizmem rs35705950-T a przebiegiem klinicznym COVID-19 w programie Million Veteran Program (MVP), grupie wielopokoleniowej składającej się z ponad 650 000 amerykańskich weteranów posiadających szczegółową elektroniczną kartę zdrowia (EHR) i dane dotyczące genotypowania. Badanie to również potwierdza, że allel „T” rs35705950 w MUC5B powoduje zmniejszone ryzyko hospitalizacji związanej z COVID-19 wśród uczestników MVP (50).

**Witamina D3.** Istnieje zależność pomiędzy stężeniem witaminy D, a ciężkością przebiegu zakażenia wirusem SARS-CoV-2. U pacjentów z prawidłowym stężeniem witaminy D istnieje mniejsze ryzyko zgonu w wyniku COVID-19 (51). Witamina D wpływa na regulację stężenia cytokin (52) i możliwa jest dzięki niej poprawa stanu pacjentów (53). Jej odpowiednie stężenie, może zapobiec lub zakończyć „burzę cytokinową” (53).

Dane z badań przeprowadzonych na terenie Portugalii pokazują, że wśród dorosłej części populacji ponad 60% ma niedobór witaminy D [ $25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$ ] (54). W kraju o wysokim nasłonecznieniu duży odsetek niedoboru witaminy D wśród ludności może świadczyć o znaczącym wpływie czynników genetycznych takich jak geny GC czy CYP24A1 na szlak metabolizowania witaminy D w porównaniu z innymi populacjami europejskimi. W populacji portugal-

metabolism may have a significant impact on vitamin D concentration (52).

Research have been conducted on among various world population groups to confirm the relationship between vitamin D concentration in the body and the COVID-19 severity. Charoenngam et al. in retrospective research showed that people in the age group over 65 years old, appropriate high vitamin D levels was significantly associated with a reduced risk of death or the development of severe complications in the form of sepsis, septic shock or ARDS (55). In a prospective cohort research of people over 65 years old with COVID-19 disease, Baktash et al. showed that patients in this age group have higher risk of vitamin D deficiency and researchers suggested that vitamin D deficiency may be associated with worse outcomes of COVID-19 treatment (56). The results obtained by Entrenas Castillo et al. in a randomized research also supports the hypothesis that giving vitamin D to patients with COVID-19 may improve their clinical condition (57). A meta-analysis was also conducted based on available researches on the effect of vitamin D in patients with COVID-19 disease. The researchers suggest that vitamin D supplementation may have noticeable impact on the clinical condition of patients with COVID-19 disease, but also reduces mortality and the risk of the severe disease (58).

The GC gen is responsible for encoding information about vitamin D binding protein (DBP) and is one of the genes that influence vitamin D metabolism. The GC rs2282679 polymorphism in vitamin D binding protein is associated with the severity of COVID-19 (52). Current researches indicate that the protein produced by translation of mRNA of this gene may be chemotactic factor for neutrophils and may also activate macrophages leading to the development of the inflammatory process (59,60,61). Additionally, vitamin D binding protein participates in the removal of actin, which is released during cell destruction (62,63). Excess of actin can lead to intravascular coagulation, which can consequently leads to significant damage of various organs, but also in the worst case, to cardiac arrest. Richard R. Kew (64) in his research suggests that the actin-DBP complex is able to bind with neutrophil surface receptor, which leads to release calprotectin, a 24kDa heterodimer consisting of S100A8 and S100A9, from the neutrophil. S100A8/A9 has pro-inflammatory properties, facilitating chemotaxis of mature circulating cells, probably by binding to the TLR4 receptor on its plasma membrane. Although DBP-actin complexes are considered as benign by-product of cell damage, researches (both in vivo and in vitro) conducted by Richard R. Kew have shown that these complexes can act as alarmins and have a function very similar to cytokines. In addition

skiej wykazano obecność genów predysponujących do częstszego występowania niedoboru witaminy D niż w innych krajach europejskich. Polimorfizm genu DHCR7 RS12785878 występował częściej niż w innych populacjach europejskich. Zauważono, że pacjenci u których występował niedobór witaminy D, częściej rozwijali postać ciężką choroby COVID-19, ale też częściej z jej powodu umierali. Zatem w populacjach z podatnością genetyczną na niedobór witaminy D rośnie ryzyko cięższego przebiegu COVID-19. Identyfikacja polimorfizmów charakterystycznych dla danej populacji wpływających na syntezę czy metabolizm może mieć istotny wpływ na stężenie witaminy D (52).

Przeprowadzono badania na różnych grupach populacji na świecie, aby potwierdzić związek między stężeniem witaminy D w organizmie, a ciężkością przebiegu COVID-19. Charoenngam i wsp. w badaniu retrospektywnym wykazali, że u osób w grupie wiekowej powyżej 65 roku życia odpowiednio wysokie stężenie witaminy D było istotnie związane z zmniejszeniem ryzyka zgonu czy rozwinięciem ciężkich powikłań w postaci sepsy, wstrząsu septycznego czy ARDS (55). W prospektywnym badaniu kohortowym w grupie osób powyżej 65 roku życia z chorobą COVID-19 Baktash i wsp. wykazali, że u pacjentów w tej grupie wiekowej istniało większe ryzyko niedoboru witaminy D i sugerowali tezę, że niedobór witaminy D może być związany z gorszymi wynikami leczenia COVID-19 (56). Wyniki uzyskane przez Entrenas Castillo i wsp. w badaniu randomizowanym również popierają hipotezę, iż podawanie witaminy D pacjentom z COVID-19 może poprawić ich stan kliniczny (57). Przeprowadzono również metaanalizę na podstawie dostępnych badań na temat wpływu witaminy D na pacjentów z chorobą COVID-19. Badacze sugerują, iż suplementacja witaminy D może mieć znaczący wpływ na stan kliniczny pacjentów z COVID-19, ale też zmniejszać śmiertelność i ryzyko ciężkiego przebiegu choroby (58).

Gen GC jest odpowiedzialny za kodowanie informacji o białku wiążącym witaminę D (DBP) i jest jednym z genów, wpływającym na metabolizm witaminy D. Polimorfizm GC rs2282679 w białku wiążącym witaminę D wykazuje związek z ciężkością przebiegu COVID-19 (52). Obecne badania wskazują na to, że białko powstające w wyniku translacji mRNA tego genu może być czynnikiem chemotaktycznym dla neutrofilów, a także aktywować makrofagi prowadząc do rozwoju procesu zapalnego (59-61). Dodatkowo, białko wiążące witaminę D uczestniczy w usuwaniu aktyny, która jest uwalniana podczas destrukcji komórek (62,63). Nadmiar aktyny może doprowadzić do wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, co w konsekwencji może prowadzić do znacznych uszkodzeń



neutrophils release mediators that inhibit neutrophil infiltration leading to their apoptosis. Consequently, this indicated that DBP, through its action-binding function, probably plays a role in both mediating and terminating the inflammatory process (64).

## CONCLUSIONS

Nowadays, there are techniques for analyzing the human genome, which enables studies on the impact of different polymorphisms on the severity of various diseases, including COVID-19 infection. Analysis of genetic factors may allow to understand its pathogenesis, which gives a chance to find effective methods of treatment and prevention. Data collected from the literature indicate that in the case of COVID-19 disease, there are polymorphisms that affect the severity of its course. The presence of a given polymorphism in specific population may be a risk factor for developing severe symptoms as a result of SARS-CoV-2 virus infection, and for another population group it may be a factor reducing the risk of developing a severe form of COVID-19. The impact of different polymorphisms requires further research and determining the ethnic dependence of polymorphisms in given population groups.

### Funding.

*This research was funded by the National Science Centre, Poland grant within the program OPUS-19 [grant number 2020/37/B/NZ7/03380].*

## REFERENCES

1. Driggin E, Madhavan MV, Bikdeli B, Chuich T, Laracy J, Biondi-Zoccai G, et al. Cardiovascular Considerations for Patients, Health Care Workers, and Health Systems During the COVID-19 Pandemic. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75(18):2352-2371.
2. Terpos E, Ntanasios-Stathopoulos I, Elalamy I, Kastiris E, Sergentanis TN, Politou M, et al. Hematological findings and complications of COVID-19. *Am J Hematol.* 2020;95(7):834-847.
3. World Health Organisation (WHO), 2024. Number of COVID-19 cases reported to WHO (cumulative total) [cited 13 Sep 2024] Available from: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=o>
4. Liu X, Zhou H, Zhou Y, Wu X, Zhao Y, Lu Y, et al. Risk factors associated with disease severity and length of hospital stay in COVID-19 patients. *J Infect.* 2020;81(1):e95-e97.
5. Du Y, Tu L, Zhu P, Mu M, Wang R, Yang P, et al. Clinical Features of 85 Fatal Cases of COVID-19 from Wuhan. A Retrospective Observational Study.

różnych narządów, ale też w najgorszym wypadku do zatrzymania akcji serca. Kew (64) w swoim badaniu sugeruje, że kompleks aktyna-DBP jest w stanie połączyć się z powierzchniowym receptorem neutrofila, co w konsekwencji umożliwia uwolnienie z neutrofila kalcyprotektyny, 24 kDa heterodimeru składającego się z S100A8 oraz S100A9. S100A8/A9 wykazuje właściwości prozapalne, ułatwiając między innymi chemotaksję dojrzałych krążących komórek, prawdopodobnie wiążąc się z receptorem TLR4 w obrębie jego błony plazmatycznej. Mimo, iż kompleksy DBP-aktyna uznawane są za łagodny produkt uboczny uszkodzenia komórki, badania (zarówno *in vivo* jak i *in vitro*) przeprowadzone przez Kew wykazały, że kompleksy te mogą stanowić alarminę i wykazywać funkcję zbliżoną do cytokin. Ponadto dochodzi do uwalniania przez neutrofile mediatorów, które hamują naciek neutrofilowy prowadząc do ich apoptozy. W konsekwencji oznacza to, że DBP poprzez swoją funkcję wiązania aktyny, prawdopodobnie odgrywa rolę zarówno w pośredniczeniu jak i terminacji procesu zapalnego (64).

## PODSUMOWANIE

W obecnych czasach istnieją techniki analizy genomu ludzkiego dające możliwość badania wpływu występowania poszczególnych polimorfizmów na ciężkość przebiegu różnych schorzeń, w tym COVID-19. Analiza czynników genetycznych może pozwolić zrozumieć patogenezę choroby, co daje szansę na odnalezienie skutecznych metod leczenia oraz profilaktyki. Zebrane dane z piśmiennictwa wskazują, że w przypadku choroby COVID-19 istnieją polimorfizmy, które wpływają na ciężkość jej przebiegu. Obecność danego polimorfizmu w populacji może być czynnikiem ryzyka rozwinięcia ciężkich objawów w wyniku zakażenia wirusem SARS-CoV-2, a dla innej grupy populacji być czynnikiem zmniejszającym ryzyko rozwinięcia ciężkiej postaci COVID-19. Wpływ poszczególnych polimorfizmów wymaga dalszych badań oraz określenia zależności etnicznej polimorfizmów w danych grupach populacji.

### Źródło finansowania.

*Badanie zostało sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach programu OPUS-19 [numer grantu 2020/37/B/NZ7/03380].*

- Am J Respir Crit Care Med. 2020;201(11):1372-1379.
6. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-1418.
  7. González D, Ayala-Ramírez P, Gelvez N, Suarez-Obando F, Ariza B, Ruiz Z, et al. Epigenetic mechanisms and host factors impact ACE2 gene expression: Implications in COVID-19 susceptibility. *Infect Genet Evol*. 2022 Oct;104:105357.
  8. Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res*. 2015 Apr 16;202:120-34.
  9. Vargas-Alarcón G, Posadas-Sánchez R, Ramírez-Bello J. Variability in genes related to SARS-CoV-2 entry into host cells (ACE2, TMPRSS2, TMPRSS11A, ELANE, and CTSL) and its potential use in association studies. *Life Sci*. 2020 Nov 1;260:118313.
  10. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
  11. Chen X, Zhao B, Qu Y, Chen Y, Xiong J, Feng Y, et al. Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Nov 5;71(8):1937-1942.
  12. Sanderson SC, Kumari M, Brunner EJ, Miller MA, Rumley A, Lowe GD, et al. Association between IL6 gene variants -174G>C and -572G>C and serum IL-6 levels: Interactions with social position in the Whitehall II cohort. *Atherosclerosis* (2009) 204:459–64.
  13. Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, Dhamrait S, Luong L, Rumley A, et al. Interleukin-6 gene -174G > C and -572G > C promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2001) 21:1458–63.
  14. Doyle WJ, Casselbrant ML, Li-Korotky HS, Doyle AP, Lo CY, Turner R, et al. The interleukin 6 -174 C/C genotype predicts greater rhinovirus illness. *J Infect Dis*. 2010 Jan 15;201(2):199-206.
  15. Patel JA, Nair S, Revai K, Grady J, Saeed K, Matalon R, et al. Association of proinflammatory cytokine gene polymorphisms with susceptibility to otitis media. *Pediatrics*. 2006 Dec;118(6):2273-9.
  16. Revai K, Patel JA, Grady JJ, Nair S, Matalon R, Chonmaitree T. Association between cytokine gene polymorphisms and risk for upper respiratory tract infection and acute otitis media. *Clin Infect Dis*. 2009 Jul 15;49(2):257-61.
  17. Zhang Q, Bastard P, Liu Z, Le Pen J, Moncada-Velez M, Chen J, Ogishi M et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 2020 Oct 23;370(6515):eabd4570.
  18. Di Maria E, Latini A, Borgiani P, Novelli G. Genetic variants of the human host influencing the coronavirus-associated phenotypes (SARS, MERS and COVID-19): rapid systematic review and field synopsis. *Hum Genomics*. 2020 Sep 11;14(1):30.
  19. Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel EB. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021 May;40(5):905-919.
  20. Tikellis C, Bernardi S, Burns WC. Angiotensin-converting enzyme 2 is a key modulator of the renin-angiotensin system in cardiovascular and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011 Jan;20(1):62-8.
  21. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020 Apr 16;181(2):271-280.e8.
  22. Gupta K, Kaur G, Pathak T, Banerjee I. Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity. *Gene*. 2022 Nov 30;844:146790.
  23. Asselta R, Paraboschi EM, Mantovani A, Duga S. ACE2 and TMPRSS2 variants and expression as candidates to sex and country differences in COVID-19 severity in Italy. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(11):10087-10098.
  24. Wu YH, Li JY, Wang C, Zhang LM, Qiao H. The ACE2 G8790A Polymorphism: Involvement in Type 2 Diabetes Mellitus Combined with Cerebral Stroke. *J Clin Lab Anal*. 2017;31(2):e22033.
  25. Bosso M, Thanaraj TA, Abu-Farha M, Alanbaei M, Abubaker J, Al-Mulla F. The Two Faces of ACE2: The Role of ACE2 Receptor and Its Polymorphisms in Hypertension and COVID-19. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;18:321-327.
  26. Hamet P, Pausova Z, Attaoua R, Hishmih C, Haloui M, Shin J, et al. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Gene Is Associated with Hypertension and Severity of COVID 19: Interaction with Sex, Obesity, and Smoking. *Am J Hypertens*. 2021;34(4):367-376.
  27. Samy W, Gaber OA, Amer RM, El-Deeb NA, Abdelmoaty AA, Sharaf AL, et al. Role of ACE2 and TMPRSS2 polymorphisms in clinical severity and outcomes of COVID-19 in Egypt. *Afr J Lab Med*. 2024;13(1):2375.
  28. Elnagdy MH, Magdy A, Eldars W, Elgamal M, El-Nagdy AH, Salem O, et al. Genetic association of ACE2 and TMPRSS2 polymorphisms with

- COVID-19 severity; a single centre study from Egypt. *Virol J.* 2024;21(1):27.
29. Banu N, Panikar SS, Leal LR, Leal AR. Protective role of ACE2 and its downregulation in SARS-CoV-2 infection leading to Macrophage Activation Syndrome: Therapeutic implications. *Life Sci.* 2020;1 (256), 117905.
  30. Gkogkou E, Barnasas G, Vougas K, Trougakos IP. Expression profiling meta-analysis of ACE2 and TMPRSS2, the putative anti-inflammatory receptor and priming protease of SARS-CoV-2 in human cells, and identification of putative modulators. *Redox Biol.* 2020 Sep;36:101615.
  31. Trougakos IP, Stamatelopoulos K, Terpos E, Tsitsilonis OE, Aivalioti E, Paraskevis D, et al. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J Biomed Sci.* 2021 Jan 12;28(1):9.
  32. Kaidashev I, Izmailova O, Shlykova O, Kabaliei A, Vatsenko A, Ivashchenko D, et al. Polymorphism of *tmprss2* (rs12329760) but not *ace2* (rs4240157), *tmprss11a* (rs353163) and *cd147* (rs8259) is associated with the severity of COVID-19 in the Ukrainian population. *Acta Biomed.* 2023 Feb 13;94(1):e2023030.
  33. Yaghoobi A, Lord JS, Rezaiezhadeh JS, Yekaninejad MS, Amini M, Izadi P. TMPRSS2 polymorphism (rs12329760) and the severity of the COVID-19 in Iranian population. *PLoS One.* 2023 Feb 16;18(2):e0281750.
  34. David A, Parkinson N, Peacock TP, Pairo-Castineira E, Khanna T, Cobat A et al.; A common TMPRSS2 variant has a protective effect against severe COVID-19. *Curr Res Transl Med.* 2022 May;70(2):103333.
  35. Monticelli M, Hay Mele B, Benetti E, Fallerini C, Baldassarri M, Furini S, et al; Gen-Covid Multicenter Study. Protective Role of a TMPRSS2 Variant on Severe COVID-19 Outcome in Young Males and Elderly Women. *Genes (Basel).* 2021 Apr 19;12(4):596.
  36. Atal S, Fatima Z. IL-6 Inhibitors in the Treatment of Serious COVID-19: A Promising Therapy? *Pharmaceut Med.* 2020 Aug;34(4):223-231.
  37. Ulhaq ZS, Soraya GV. Interleukin-6 as a potential biomarker of COVID-19 progression. *Med Mal Infect.* 2020 Jun;50(4):382-383.
  38. Soraya GV, Ulhaq ZS. Crucial laboratory parameters in COVID-19 diagnosis and prognosis: An updated meta-analysis. *Med Clin (Barc).* 2020 Aug 28;155(4):143-151.
  39. Zoń-Giebel A, Giebel S. Review article. Macrophage activation syndrome – a reactive haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Rheumatology.* 2008;46(1):21-6.
  40. Kerget F, Kerget B. Frequency of interleukin-6 rs1800795 (-174G/C) and rs1800797 (-597G/A) polymorphisms in COVID-19 patients in Turkey who develop macrophage activation syndrome. *Jpn J Infect Dis.* 2021;74(6):543-548.
  41. Ulhaq ZS, Soraya GV. Anti-IL-6 receptor antibody treatment for severe COVID-19 and the potential implication of IL-6 gene polymorphisms in novel coronavirus pneumonia. *Med Clin (Engl Ed).* 2020 Dec 25;155(12):548-556.
  42. Yang L, Xie X, Tu Z, Fu J, Xu D, Zhou Y. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Signal Transduct Target Ther* 2021;6(1):255.
  43. Rose MC, Voynow JA. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev* 2006;86: 245–278.
  44. Seibold MA, Smith RW, Urbanek C, Groshong SD, Cosgrove GP, Brown KK, et al. The idiopathic pulmonary fibrosis honeycomb cyst contains a mucociliary pseudostratified epithelium. *PLoS One* 2013;8:e58658.
  45. Nakano Y, Yang IV, Walts AD, Watson AM, Helling BA, Fletcher AA, et al. MUC5B promoter variant rs35705950 affects MUC5B expression in the distal airways in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;193:464–466.
  46. Evans CM, Fingerlin TE, Schwarz MI, Lynch D, Kurche J, Warg L, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: a genetic disease that involves mucociliary dysfunction of the peripheral airways. *Physiol Rev* 2016;96:1567–1591.
  47. Seibold MA, Wise AL, Speer MC, Steele MP, Brown KK, Loyd JE, et al. A common MUC5B promoter polymorphism and pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2011;364:1503–1512.
  48. Fadista J, Kraven LM, Karjalainen J, Andrews SJ, Geller F; COVID-19 Host Genetics Initiative; Baillie JK, Wain LV, Jenkins RG, Feenstra B. Shared genetic etiology between idiopathic pulmonary fibrosis and COVID-19 severity. *EBioMedicine.* 2021 Mar;65:103277.
  49. Peljto AL, Zhang Y, Fingerlin TE, Ma SF, Garcia JG, Richards TJ, et al. Association between the MUC5B promoter polymorphism and survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *JAMA.* 2013 Jun 5;309(21):2232-9.
  50. Verma A, Minnier J, Wan ES, Huffman JE, Gao L, Joseph J, et al. Million Veteran Program COVID-19 Science Initiative. A MUC5B Gene Polymorphism, rs35705950-T, Confers Protective Effects Against COVID-19 Hospitalization but Not Severe Disease or Mortality. *Am J Respir Crit Care Med.* 2022 Nov 15;206(10):1220-1229.
  51. Freitas AT, Calhau C, Antunes G, Araújo B, Bandeira M, Barreira S, et al. Vitamin D-related polymorphisms and vitamin D levels as risk

- biomarkers of COVID-19 disease severity. *Sci Rep.* 2021 Oct 21;11(1):20837.
52. Hetta HF, Muhammad K, El-Masry EA, Taha AE, Ahmed EA, Phares C, et al. The interplay between vitamin D and COVID-19: protective or bystander? *Eur Rev Med. Pharmacol Sci.* 2021 Feb;25(4):2131-2145.
53. Slominski RM, Stefan J, Athar M, Holick MF, Jetten AM, Raman C, et al. COVID-19 and Vitamin D: A lesson from the skin. *Exp Dermatol.* 2020;29(9):885-890.
54. Duarte C, Carvalheiro H, Rodrigues AM, Dias SS, Marques A, Santiago T, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and its predictors in the Portuguese population: a nationwide population-based study. *Arch Osteoporos.* 2020;15(1):36.
55. Charoenngam N, Shirvani A, Reddy N, Vodopivec DM, Apovian CM, Holick MF. Association of Vitamin D Status With Hospital Morbidity and Mortality in Adult Hospitalized Patients With COVID-19. *EndocrPract.* 2021;27(4):271-278.
56. Baktash V, Hosack T, Patel N, Shah S, Kandiah P, Van den Abbeele K, et al. Vitamin D status and outcomes for hospitalised older patients with COVID-19. *Postgrad Med J.* 2021;97(1149):442-447.
57. Entrenas Castillo M, Entrenas Costa LM, Vaquero Barrios JM, Alcalá Díaz JF, López Miranda J, Bouillon R, et al. Effect of calcifediol treatment and best available therapy versus best available therapy on intensive care unit admission and mortality among patients hospitalized for COVID-19: A pilot randomized clinical study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2020;203:105751.
58. Pal R, Banerjee M, Bhadada SK, Shetty AJ, Singh B, Vyas A. Vitamin D supplementation and clinical outcomes in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest.* 2022;45(1):53-68.
59. Wood AM, Bassford C, Webster D, Newby P, Rajesh P, Stockley RA, et al. Vitamin D-binding protein contributes to COPD by activation of alveolar macrophages. *Thorax.* 2011;66(3):205-10.
60. Chun RF. New perspectives on the vitamin D binding protein. *Cell Biochem Funct.* 2012;30(6):445-56.
61. Delanghe JR, Speeckaert R, Speeckaert MM. Behind the scenes of vitamin D binding protein: more than vitamin D binding. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015;29(5):773-86.
62. Otterbein LR, Cosio C, Graceffa P, Dominguez R. Crystal structures of the vitamin D-binding protein and its complex with actin: structural basis of the actin-scavenger system. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(12):8003-8.
63. Meier U, Gressner O, Lammert F, Gressner AM. Gc-globulin: roles in response to injury. *Clin Chem.* 2006;52(7):1247-53.
64. Kew RR. The Vitamin D Binding Protein and Inflammatory Injury: A Mediator or Sentinel of Tissue Damage? *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:470.

**Received:** 22.07.2024

**Accepted for publication:** 11.10.2024

Otrzymano: 22.07.2024 r.

Zaakceptowano do publikacji: 11.10.2024 r.

**Address for correspondence:**

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. n. med. Anna Moniuszko-Malinowska

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji,

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

e-mail: [anna.moniuszko-malinowska@umb.edu.pl](mailto:anna.moniuszko-malinowska@umb.edu.pl)