



FACULTAD DE
MEDICINA UNIVERSIDAD
DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**ESTUDIO DE VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS A
MANIFESTACIONES SEVERAS DE LA ENFERMEDAD
COVID-19**

**STUDY OF GENETIC VARIANTS ASSOCIATED WITH
SEVERE MANIFESTATIONS OF COVID-19 DISEASE**

Autor: David Suárez Villanueva

Directora: Elena Cabezón Navarro

Santander, junio 2021

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
1.1 Estructura del virus	9
1.2 Mecanismo de infección	13
1.3 Respuesta inmune	15
2. ABORDAJE EXPERIMENTAL DEL ESTUDIO DE VARIANTES GENÉTICAS	18
● 2.1 Aproximación I: Estudios de asociación genética	18
○ 2.1.1 Estudio de asociación genética de COVID-19 severo con insuficiencia respiratoria	19
○ 2.1.2 El principal factor de riesgo genético para el COVID-19 grave se hereda de los neandertales	21
○ 2.1.3 Variantes genéticas del huésped humano que influyen en los fenotipos asociados al coronavirus (SARS, MERS y COVID-19)	22
● 2.2 Aproximación II: Selección de genes directamente relacionados con la infección y análisis de sus variantes genéticas.	22
○ 2.2.1 Variantes del receptor ACE-2; influencia potencial en la infección del virus y severidad de la COVID-19	23
○ 2.2.2 Variantes genéticas que imitan la inhibición terapéutica de la señalización del receptor de IL-6 y riesgo de COVID-19	24
○ 2.2.3 Variantes en la proteína TMPRSS2	25
3. VARIANTES GENÉTICAS MÁS RELEVANTES: RESULTADOS PROCEDENTES DE LOS DOS TIPOS DE APROXIMACIONES	26
● 3.1 Variantes del receptor ACE-2	26
● 3.2 Variantes de la proteína TMPRSS2	28
● 3.3 Variantes de la proteína DPP4	29
● 3.4 Variantes del “Toll-like receptor 7” (TLR7)	30
● 3.5 Variantes asociadas a la proteína ApoE	31
● 3.6 Otras variantes	33
○ 3.6.1 Variantes del antígeno leucocitario humano (HLA)	33
○ 3.6.2 Variantes del grupo ABO	34
○ 3.6.3 Variantes de SLC6A20 y LZTFL1	34
4. PERSPECTIVAS DE FUTURO	35
● 4.1 Terapia de supresión de andrógenos	35
● 4.2 Baticinib	37
● 4.3 Remdesivir	38
● 4.4 ACE-2 soluble (sACE2)	40

● 4.5 Inhibidores de la enzima GLP-1	41
5. CONCLUSIONES	42
6. AGRADECIMIENTOS	43
7. BIBLIOGRAFÍA	44

Abstract:

COVID-19 is a new disease caused by the SARS-CoV-2 virus (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2), discovered at the end of 2019 in Wuhan, China. Various determinants of disease progression such as age, sex, virus mutations, comorbidity, lifestyle, host immune response, and genetic background variation have caused clinical variability of COVID-19.

In this document we are doing a bibliographic review looking for genetic variants of the host affecting the outcome of the SARS-CoV-2 infection. Firstly, we present the two main ways to approach to the study of host's genetic variants, giving some representative examples of both strategies. Then we explain the most relevant genetic variants identified until May of 2021 and its role in infection's pathogenesis. Finally, we have a look at some new possible lines of the treatment of this disease and promising strategies to face this global challenge.

We concluded that the study of these variants contributes to a better understanding of the course of the pandemic, and it is vitally important for the researcher to consciously choose the type of approach to be carried out when studying a variant, knowing the advantages and disadvantages of each one. In addition, the clarification of the genetic determinants of the severity of COVID-19 would allow the stratification of individuals according to risk, so that those classified as high risk would be prioritized in terms of therapeutic indications and immunization.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, genetic variants, ACE-2, TMPRSS2, severity.

1. INTRODUCCIÓN

La COVID-19 es una nueva enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2), descubierto a finales del año 2019 en Wuhan, China. Este nuevo virus ha infectado a más de 160 millones de personas desde el comienzo de la pandemia y, a día de hoy, el número de contagios sigue aumentando. En abril de 2021, tras un año de pandemia, se ha notificado la muerte de más 3 millones de personas en todo el mundo(1).

Los coronavirus (Orthocoronavirinae) son una subfamilia de virus ARN monocatenario positivos perteneciente a la familia Coronaviridae y fueron descritos por primera vez en 1965(2). Se subdividen en los géneros Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus. Éstos incluyen grupos filogenéticamente similares de virus con una nucleocápside de simetría helicoidal con envoltura. Los Alphacoronavirus y Betacoronavirus provienen del pool genético que tiene al murciélago como huésped e incluyen a la mayoría de los coronavirus que afectan a los humanos(3). Los Gammacoronavirus y Deltacoronavirus son los dos géneros que provienen del pool genético que presenta huéspedes aviares y porcinos. Estos dos últimos provocan zoonosis, rara vez asociada a patología en el ser humano(4).

Los viriones tienen un diámetro de entre 50 y 200 nm de diámetro. Hasta abril de 2021 se han registrado 39 especies de coronavirus(5). Se trata de los virus de RNA (ribonucleic acid) con un genoma de mayor extensión, de 26 a 32 kilonucleótidos(6). Su apariencia al microscopio electrónico les da su nombre ya que sus espículas simulan una corona en un corte en 2 dimensiones(7).

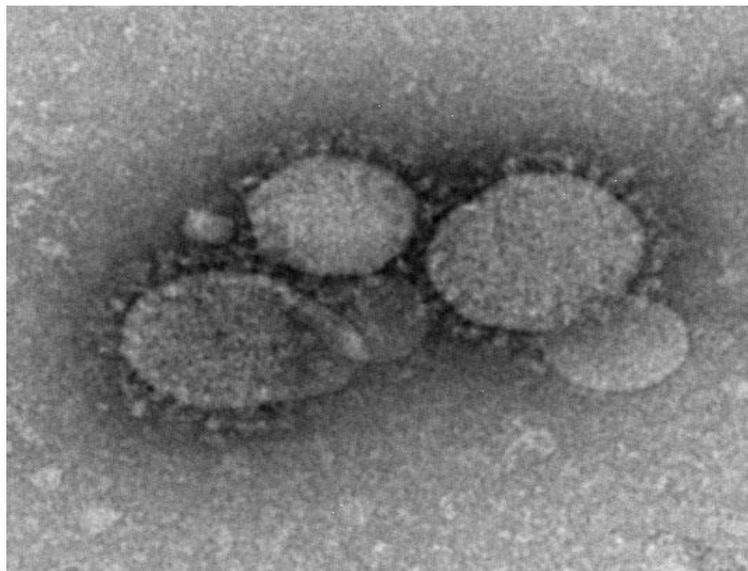


Figura1. Partículas del virus MERS vistas al microscopio electrónico de tinción negativa. Imagen obtenida de la página web del CDC (centro de control y prevención de enfermedades de EEUU)

Los coronavirus humanos se descubrieron en la cavidad nasal de pacientes en la década de los años 60 y se identificaron como patógenos causantes de resfriado común. Estos virus se denominaron coronavirus humano 229E y OC43. Posteriormente se identificaron las variantes HCoV-NL63 en 2004 y HKU1 en 2005. Estos virus mencionados circulan libremente por la población humana y se estima que causan alrededor de un tercio de los casos de resfriado común en el mundo. Pueden causar otras enfermedades más graves (bronquiolitis, neumonía, cuadros intestinales y enfermedades neurológicas) con una frecuencia mucho menor y relacionada a factores de riesgo del huésped (ancianos, niños, inmunodeprimidos, etc.) (8).

Por contra, existen otros tipos de coronavirus que afectan a humanos provocando cuadros de mayor gravedad. Destacan representantes como el SARS-CoV, causante del SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) que se identificó en China en el año 2003 o el MERS-CoV, que se muestra en la **Figura 1**, causante del MERS (Middle-East Respiratory Syndrome) que se detectó en Arabia Saudí en el año 2013. Estos virus comparten gran parte de su genoma con el nuevo coronavirus (70-80% con el SARS-CoV y alrededor del 50% con el MERS-Cov) (9). Sin embargo, hay una gran diferencia entre el nuevo coronavirus y sus predecesores. Estos últimos presentan un índice de letalidad notablemente más alto, lo que hacía que la enfermedad fuese más grave, pero también tenían un índice de transmisión menor, por lo que el virus se propagaba menos. Se da el caso contrario con el SARS-CoV-2, que presenta una letalidad significativamente más baja pero se transmite mucho más fácilmente (10).

En cuanto a la nueva enfermedad (COVID-19) y su severidad, nos encontramos con que alrededor del 81% de los casos son de gravedad media, un 14% son graves y un 5% son muy graves o críticos (11). El periodo de incubación oscila entre los 3 y los 10 días (12) y los síntomas de la infección más comunes incluyen fiebre, malestar general, tos seca o dolor de cabeza. En casos más graves la enfermedad puede afectar a riñones, pulmón, sistema digestivo, vasos sanguíneos o sistema nervioso central entre otros (9,13). En la severidad del cuadro influyen múltiples factores de riesgo o comorbilidades entre las que se encuentran la diabetes, enfermedad renal crónica, enfermedades respiratorias crónicas (EPOC, asma, bronquitis crónica...), patología cardiovascular previa, hipertensión y neoplasias activas (11,14). Un factor de riesgo fundamental en cuanto a la letalidad, además del sexo masculino, es la edad, que aumenta el riesgo de muerte por COVID-19 de manera más importante cuanto más anciano es el paciente.

La determinación de estos factores de riesgo en el huésped se llevó a cabo a partir de datos epidemiológicos. La siguiente tabla (**Tabla 1**) refleja los datos de un metaanálisis que evaluaba las cifras aportadas por los informes nacionales de España, Reino Unido, Nueva York, Italia y China hasta el 7 de mayo de 2020 (primeros 6 meses de pandemia). En la tabla se reflejan los datos obtenidos, organizados según algunos de

los factores de riesgo de los que hemos hablado (15). Es importante destacar que en este análisis únicamente se consiguió evidencia de asociación estadísticamente significativa en la mortalidad asociada a la edad. La hipertensión y la diabetes también son más prevalentes conforme avanza la edad y, por tanto, era esperable que, independientemente de su influencia en el desarrollo de enfermedad grave, también asociasen mayor mortalidad. Posteriormente se publicaron estudios que las identificaban como factores de riesgo para padecer una infección grave independientemente de la edad(11,14).

	China	Italia	España	Nueva York	Reino Unido	Total
Número de pacientes	44.672	214.103	220.375	2634	129.799	611.583
Edad (Media)	79.5	61	61	63	62	64.9
Número de muertes (%)	1023 (2,29)	27.955 (13,06)	17.489 (7,94)	553 (20,99)	27.008 (20,81)	74.028 (12,10)
Sexo (hombres)	22.981	99.667	96.297	3437	60.104	132.682
Hipertensión	2683		23.962	1366		
Diabetes	1102		19.850	757		

Tabla 1. Datos de pacientes en registros hospitalarios ingresados por COVID-19 desde el inicio de la pandemia hasta mayo de 2020. Clasificación según factores de riesgo y letalidad en cada país. Tabla obtenida de Bonanad y cols. (2015) (15).

Es destacable que, en el caso de la edad, se produce un salto muy importante en el riesgo de fallecimiento en la década de los 50-60 (**Tabla 2**). El riesgo, por tanto, no solo aumentaba significativamente en pacientes de “edad avanzada”, ya que el umbral de los 50 años resulta sorprendentemente bajo. No obstante, es importante tener en cuenta que existen considerables limitaciones en este estudio ya que hay importantes diferencias en la obtención de datos y en la composición de la población. Esto último es especialmente significativo en China y Europa (79,5 y 61 de media de edad respectivamente). Además se cree que hay una gran subestimación de las muertes e infecciones de gente mayor con asistencia domiciliar o institucionalizados cuyos datos no fueron recogidos en su totalidad (15).

GRUPOS DE EDAD	China	Italia	España	Nueva York	Reino Unido	Total
Edad <29	4584	16.007	13.795	131	12.081	46.598
Fallecimientos (%)	8 (0,2)	12 (0,1)	28 (0,2)	4 (0,3)	67 (0,6)	119 (0,3)
Edad (30-39)	7600	16.189	20.755	211	13.193	57.948
Fallecimientos (%)	18	54 (0,3)	57 (0,3)	8 (3,8)	134	271 (0,5)
Edad (40-49)	8571	27.553	32.208	432	15.712	84.476
Fallecimientos (%)	38	246 (0,9)	186	22 (5,1)	454	946 (1,1)
Edad (50-59)	10.00	38.299	39.355	515	19.436	107.613
Fallecimientos (%)	130 (1,3)	993 (2,6)	569 (1,4)	53 (10,2)	1518 (7,8)	3263 (3,0)
Edad (60-69)	8583	29.252	32.175	533	14.815	85.358
Fallecimientos (%)	309 (3,6)	2976 (10,2)	1543 (4,8)	84 (15,7)	3161 (21,3)	8073 (9,5)
Edad (70-79)	3918	31.627	30.844	451	18.273	85.113
Fallecimientos (%)	312 (8,0)	7849 (24,8)	4325 (14,02)	145 (32,2)	6765 (37,0)	19,396 (22,8)
Edad >80	1408	55.020	50.504	441	34.372	141.745
Fallecimientos (%)	208 (14,8)	15,825 (28,8)	10,781 (21,3)	237 (53,7)	14,907 (43,4)	41,958 (29,6)

Tabla 2. Datos de pacientes en registros hospitalarios ingresados por COVID-19 desde el inicio de la pandemia hasta mayo de 2020. Clasificación según factores de riesgo y letalidad en cada país. Tabla obtenida de Bonanad y cols. (2015) (15).

Ante el reto que suponía hacer frente a esta pandemia, investigadores de todo el mundo volcaron sus esfuerzos en estudiar la nueva enfermedad. Mayoritariamente, se puso el foco en determinar las características clínicas de la enfermedad y en la caracterización genética del SARS-CoV-2. Para ello se pusieron en marcha proyectos en los que laboratorios e investigadores de varios países cooperaron con transparencia para obtener los mejores resultados lo antes posible. Sin embargo, no se puso tanto énfasis en la caracterización genética del huésped, que sí que resultó estar relacionada con la susceptibilidad y la gravedad de otras infecciones virales ya conocidas (16,17).

Fruto de la necesidad de aplicar las mismas medidas de transparencia y cooperación en la investigación de las variantes genéticas del huésped se fundó '**COVID-19 Host Genetics Initiative**'. Se establecieron tres objetivos principales:

1. Brindar un entorno que favoreciera la difusión de recursos con el objetivo de facilitar el estudio de las variantes genéticas del huésped (diccionario de datos, cuestionarios, criterios, protocolos...)
2. Organizar actividades analíticas entre estudios para esclarecer los determinantes genéticos de la susceptibilidad y gravedad de la enfermedad.
3. Crear una plataforma para compartir los resultados de estas actividades y los datos que cada laboratorio va obteniendo con el fin del beneficio común de la comunidad científica.

A partir de ese momento múltiples equipos de investigación y laboratorios de todo el mundo se unieron y comenzaron a aportar datos. A fecha del 14 de abril de 2020 ya se habían unido 105 estudios y la cifra continúa expandiéndose hasta día de hoy. Se incluyen estudios tanto retrospectivos como prospectivos y se revisan y utilizan de manera descentralizada (Figura 2) (18).



Figura 2. Distribución mundial de los estudios pertenecientes a ‘COVID-19 Host Genetics Initiative’ en abril de 2020. Figura obtenida del artículo original (18).

En la actualidad (1/4/2021), este proyecto cuenta ya con 155 estudios registrados y ya se han emitido 11 publicaciones con todos los datos recogidos (19). En este trabajo, vamos a realizar una revisión de algunos de los estudios que formaron parte de esta iniciativa para tratar de aproximarnos a las variantes genéticas del huésped que más se asocian a la COVID-19 de gravedad.

1.1 Estructura del virus

El SARS-CoV-2 es un virus de RNA. Pertenece a la familia de los coronavirus y, como hemos mencionado antes, deben su nombre a la famosa “corona” que forman las proteínas “spikes” que se sitúan en su membrana. Su genoma contiene 29891 nucleótidos que codifican para 9860 aminoácidos.

Posee 4 proteínas estructurales: la proteína S (Spike protein), la proteína E (Envelope), la proteína M (Membrane) y la proteína N (Nucleocapsid) (20). La estructura del virus se basa en una membrana de glicoproteínas que albergan en su interior el RNA compactado con la proteína N. Incrustadas en esta membrana se sitúan las spikes que, como veremos más adelante, juegan un papel clave en el mecanismo de infección del virus. Esta última proteína tan importante (Spike) se compone de 2 subunidades:

- S1: Su función es llevar a cabo la unión del virión con el receptor de la célula huésped. Se compone de un dominio N-terminal (NTD) y un dominio de unión al receptor (RBD)
- S2: Su función es facilitar la fusión de membranas entre el virus y la célula huésped. Se compone de un péptido de fusión (FP), repetición de 7 residuos (HR1), hélice central (CH), dominio conector (CD), una nueva repetición de 7 residuos (HR2), dominio transmembrana (TM) y una cola citoplasmática (CT)

Además es importante resaltar el **sitio de escisión de la proteasa S1/S2** que se sitúa en el límite interior de ambas subunidades. Es el lugar donde se va a unir la serín-proteasa-transmembrana-2 (TMPRSS2) para realizar la división de las subunidades. Este paso es clave una vez realizada la interacción del dominio RBD con el receptor celular ACE-2 ya que permite la fusión de las membranas (21).

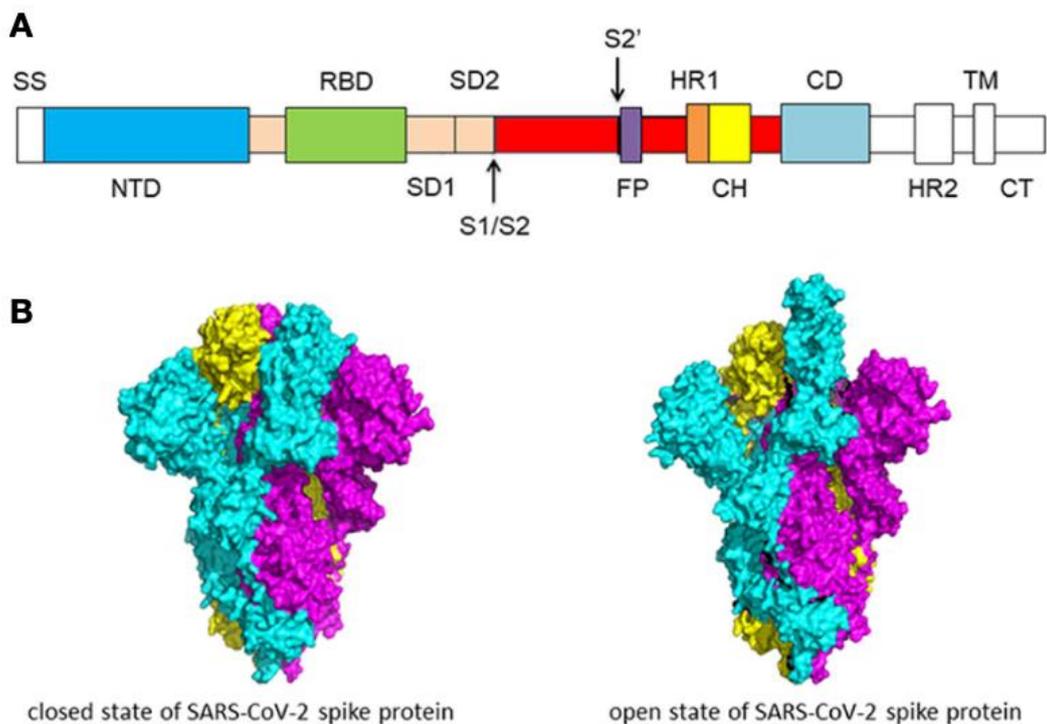


Figura 3. (A) Esquema de la estructura primaria de la proteína S. Se representan los dominios en diferentes colores y el sitio de escisión de la proteasa S1/S2 con la flecha. Las siglas corresponden a las estructuras anteriormente mencionadas que componen las subunidades S1 y S2. **(B)** Estructura obtenida con Cryo-EM de la proteína Spike que se representa en estado cerrado a la izquierda y abierto a la derecha. Imagen obtenida de Wang y cols. (2020) (22).

La proteína S contiene un dominio de unión al receptor (RBD) que se une específicamente al receptor ACE-2 y comprende 2 formas: una abierta y otra cerrada (**Figura 3**). En la forma cerrada, el dominio RBD no sobresale de la interfaz formada por los tres promotores de la spike. En la forma abierta el dominio RBD se encuentra expuesto, de forma que permite la unión al receptor ACE-2 y la fusión de membranas del SARS-CoV-2 y de la célula huésped, facilitando su entrada en la célula.

Además de las proteínas estructurales ya mencionadas, su RNA codifica 16 proteínas no estructurales (Nsp 1-16) que van a ser también clave en el mecanismo de infección del virus:

- Nsp1 media el procesamiento y replicación del RNA.
- Nsp2 modula las señales de supervivencia de la célula huésped.
- Nsp3 es una proteína papain-like que actúa como proteasa.
- Nsp4 es una proteína que modifica la membrana del retículo endoplásmico de la célula huésped.
- Nsp5 interviene en el procesamiento de poliproteínas (proteína que se va a dividir en varias tras su traducción mediante enzimas específicas (23)).
- Nsp6 es de función incierta.
- Nsp7 y nsp8 catalizan la unión de Nsp12 y el cebador-molde del RNA. Entre las dos forman un supercomplejo hexadecamérico que adopta forma de cilindro y que actúa en la fase de replicación.
- Nsp9 tiene como función unirse al ssRNA (single strand RNA).
- Nsp10 es clave en la metilación del capuchón del RNA viral.
- Nsp11 no tiene una función conocida. Es idéntica al primer segmento de Nsp12.
- Nsp12 es una RNA polimerasa RNA-dependiente (RdRp); una proteína fundamental en la replicación y transcripción de los coronavirus.
- Nsp13 se une al ATP y su dominio de unión al zinc participa en el proceso de replicación y transcripción.
- Nsp14 tiene un dominio con función exoribonucleasa que corrige errores en la replicación.
- Nsp15 tiene actividad endoribonucleasa dependiente de manganeso.
- Nsp16 es una 2'-O-ribosa metiltransferasa que interviene en la colocación del capuchón en el extremo 5' del RNA viral (24).

Además de todas estas funciones, hay estudios que indican que estas Nsp tienen un efecto inhibitor sobre las defensas de la célula huésped:

- Nsp16 se une a los dominios de reconocimiento de mRNA de U1 y U2 para inhibir el splicing del mRNA. Tanto U1 como U2 son snRNA (small nuclear RNA) y forman parte del “spliceosoma”, un complejo molecular RNA-proteico cuya función es cortar el pre-RNA(mRNA mensajero).
- Nsp1 se une al RNA 18S ribosomal en el canal de entrada de RNA del ribosoma para interferir en su traslación.
- Nsp8 y Nsp9 se unen al 7SL RNA que se localiza en los Signal Recognition Particle (SRP), interfiriendo en el tráfico de proteínas de la célula(25).

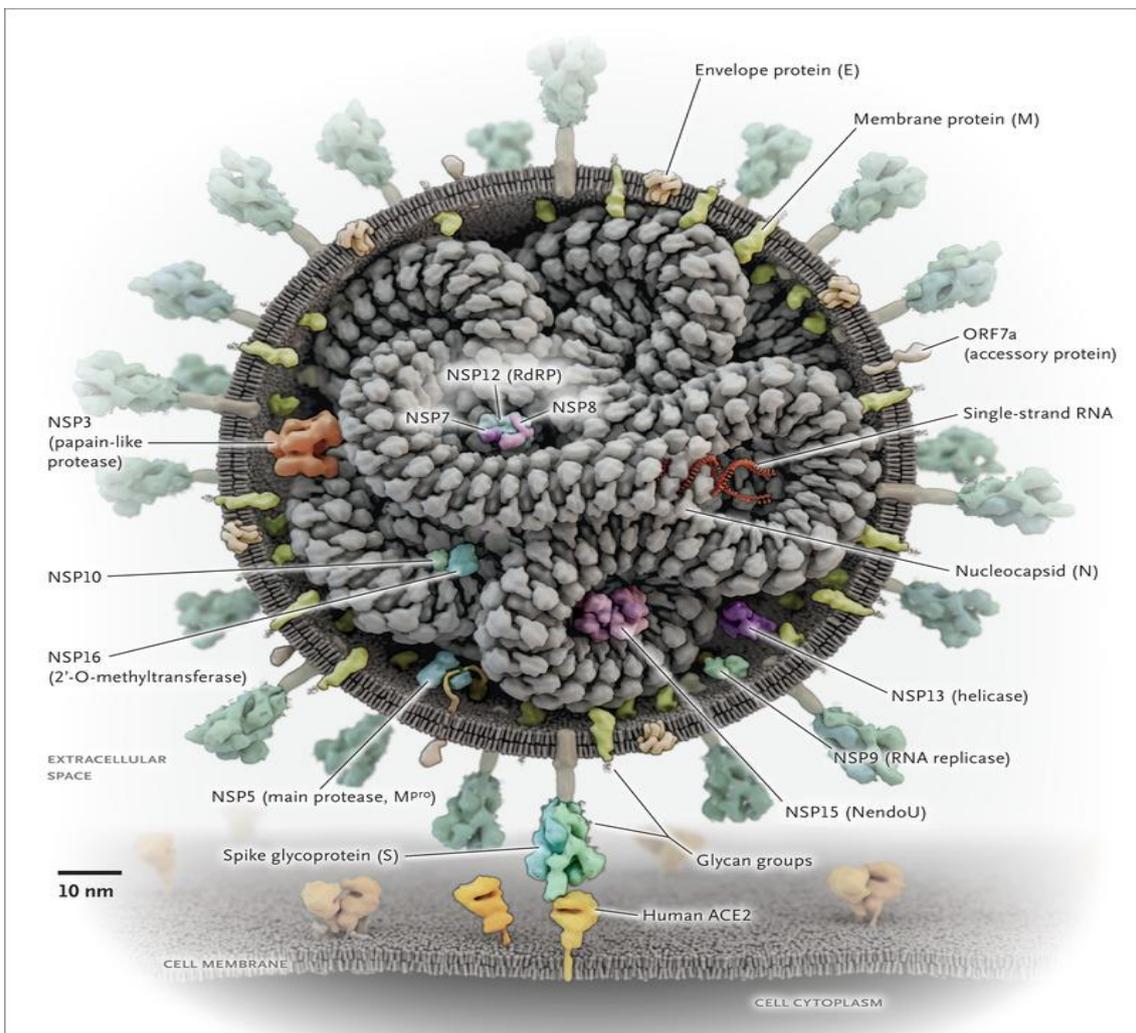


Figura 4 Representación esquemática de un virión SARS-CoV-2 en la que se puede apreciar la distribución de las proteínas estructurales (la proteína S, la proteína E, la proteína M y la proteína N), además de las NSP. Imagen obtenida de Parks y cols. (2020) (26).

En definitiva, a día de hoy ya se conocen en profundidad las estructuras más importantes en la patogénesis del virus; un paso fundamental para el desarrollo de nuevos fármacos, anticuerpos o vacunas eficaces contra el nuevo virus.

1.2 Mecanismo de infección

Este virus entra en la célula mediante la interacción de la proteína S con el receptor ACE-2 (27), que en el ser humano tiene la función de catalizar la reacción que convierte la angiotensina I en angiotensina II.

Para que se produzca esta interacción, es necesario el contacto entre el dominio RBD de la spike con el receptor ACE-2. Para ello, RBD dispone de 9 residuos de cisteína (Cys) que, distribuyéndose en 4 pares y 1 estabilizador, van a interactuar con el dominio proteasa N-terminal del receptor ACE-2. La unión al receptor provoca la desestabilización de la estructura de la spike, provocando la separación de S1 y el plegamiento de S2 en una forma post-fusión. La configuración específica del dominio RBD del SARS-CoV-2 hace que la afinidad de la spike por el receptor ACE-2 sea significativamente más alta (28).

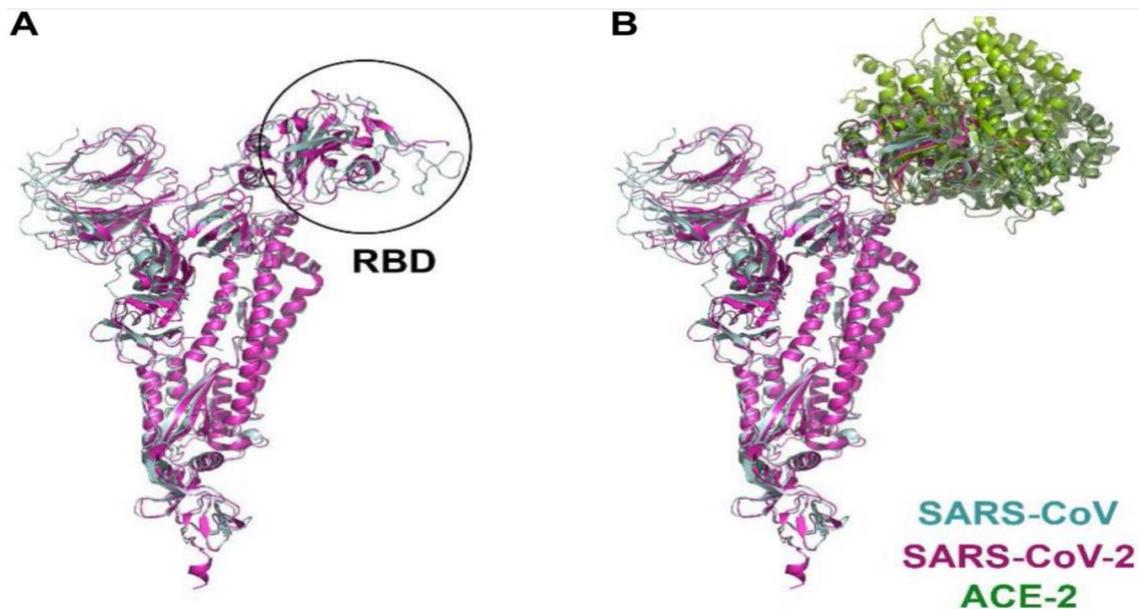


Figura 5. (A) Comparación de la estructura de la proteína S del SARS-CoV (azul) y el SARS-CoV-2 (rosa). **(B)** Interacción del dominio RBD de ambos virus con el receptor de ACE-2. Imagen obtenida de Cabezón y Arechaga (2020) (29).

Tras estos procesos, se producirá la fusión de membranas y el material genético del virus penetrará en la célula. Esto no es siempre así, ya que también es posible que el virus entre por endocitosis. En este caso la membrana del virus se fusionará con el lisosoma una vez dentro de la célula. La activación de la proteína S está mediada por la

proteasa celular TMPRSS2, que suele localizarse cerca de ACE-2. TMPRSS2 corta la proteína S, lo que activa proteínas de la envoltura viral que favorecen la fusión con la membrana celular.

Una vez el RNA viral se encuentra en la célula, éste debe liberarse de las proteínas que se encuentran unidas a él. Este fenómeno se produce cuando las enzimas proteolíticas naturalmente presentes en el citoplasma celular degradan las proteínas virales, desnudando así el RNA vírico.

Una vez se han producido estos pasos, el virus está listo para replicarse. Para ello, al igual que gran parte de los virus de RNA, va a emplear directamente la maquinaria celular para comenzar su replicación. Primeramente, se sintetiza la polimerasa viral, que será la encargada de traducir el RNA subgenómico, que a su vez contiene la información necesaria para sintetizar las 4 proteínas mencionadas anteriormente. Cuando estas 4 proteínas han alcanzado una concentración suficiente en el citoplasma celular, éstas comienzan a unirse mediante diversos mecanismos moleculares, cuyo resultado es la formación del virión maduro, consistente en el genoma del virus fusionado con la proteína N y rodeado del resto de proteínas estructurales.

Finalmente, el virión ya formado se une a la membrana citoplasmática y se libera mediante un mecanismo de exocitosis. Llegados a este punto, el nuevo virus debe viajar hasta contactar con otro receptor ACE-2 para infectar otra célula y reiniciar el ciclo (30,31).

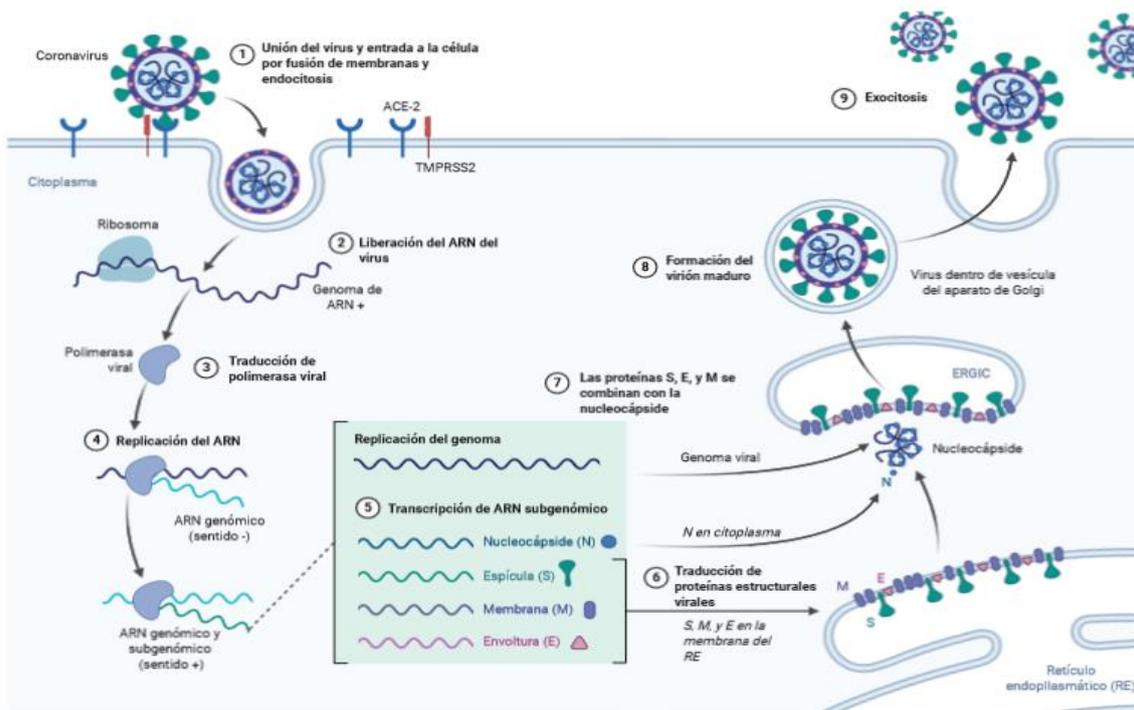


Figura 6 Resumen del mecanismo de infección del SARS-CoV-2. Se representa la entrada en la célula a través del receptor ACE-2 ①, liberación del ARN viral ②, traducción de la polimerasa viral ③, replicación del ARN ④, transcripción del ARN subgenómico ⑤, traducción de proteínas virales estructurales ⑥, ensamblaje de proteínas virales ⑦, formación del virus maduro ⑧ y finalmente la exocitosis ⑨ (32). Figura obtenida de Goldman-Israelow B. (2020) (33).

1.3 Respuesta inmune

Tras la infección por el virus, el sistema inmune innato es capaz de reaccionar frente a él gracias al reconocimiento de antígenos virales como el ARN viral. Una vez reconocido el antígeno, se pone en marcha una respuesta inmune mediada por factores de transcripción entre los que se incluyen NF- κ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas), IRF3 (factor regulador de interferón-3), y AP-1 (proteína activadora-1). Estos factores favorecen sinérgicamente la producción de **interferón 1 (IFN-I)**. Esta no es una ruta específica de defensa frente al SARS-CoV-2 ya que forma parte de las vías del sistema inmune innato para responder a la infección por muchos virus.

El IFN-1 va a dificultar la entrada de nuevos virus y su replicación. Para ello, esta citoquina va a ser liberada, actuando de forma paracrina en células vecinas a través de su reconocimiento por los receptores IFNAR (receptor de IFN tipo 1). Esta interacción va a provocar la expresión de genes estimulados por interferón (ISGs), produciendo IFN-1 y reiniciando el ciclo. En este caso, la transcripción del IFN-I va a ser facilitada mediante

la vía JAK-STAT (kinasa de Janus (JAK)-transductor de señal y activador de transcripción (STAT))(34).

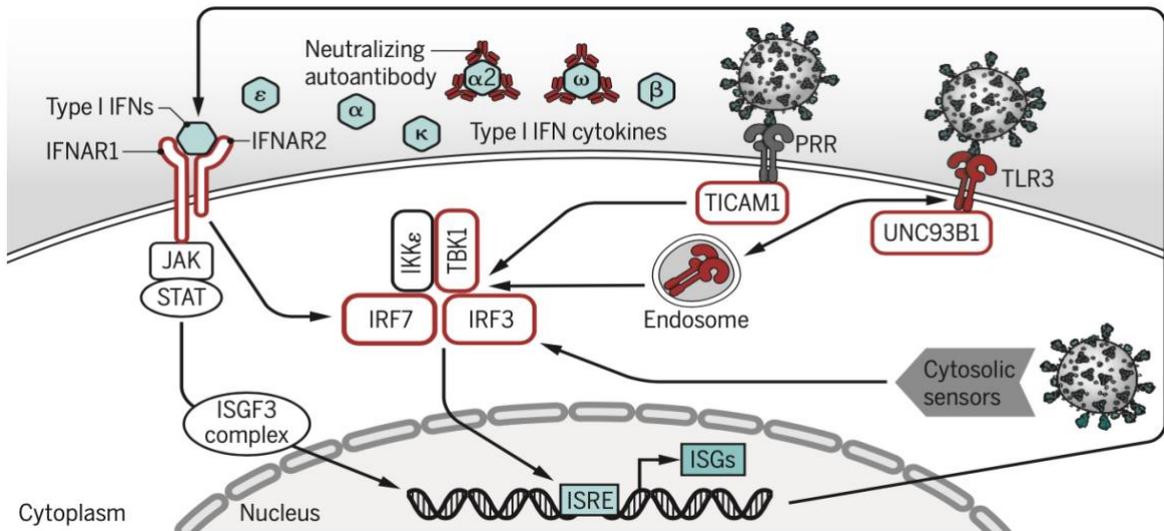


Figura 7. Reacción inflamatoria frente a SARS-CoV-2 en la que se resumen los mecanismos celulares de producción de IFN-1. Se representa el interferón-1 (IFN), receptor de IFN tipo 1 (IFNAR), genes estimulados por IFN (ISG), factor de ISG3 (ISGF3), inhibidor de NFκB (IKKε), elemento de respuesta estimulada por IFN (ISRE), factor regulador de IFN (IRF), kinasa de Janus (JAK), receptor reconocedor de patrones (PRR), transductor de señal y activador de transcripción (STAT), kinasa de unión a TANK (TBK1), dominio TIR contenido de molécula adaptadora 1 (TICAM1) y toll like receptor (TLR). Figura obtenida de Berck y Aksentijevich (2020) (35).

El ascenso de los niveles de IFN-I provoca una reacción inflamatoria en la que se favorece la permeabilidad capilar a neutrófilos, macrófagos y más células inflamatorias en el pulmón. Estas células van a comenzar a liberar citoquinas de manera masiva, provocando una tormenta de citoquinas proinflamatorias. Esta reacción va a activar el sistema inmune adaptativo, de manera que linfocitos Th1, Th17, macrófagos M1 y células NK van a secretar aún más citoquinas que atraerán más células inflamatorias. Se va a crear así un sistema de feedback positivo que va aumentando progresivamente el grado de inflamación (36).

Es importante destacar que el virus no se limita a invadir los tejidos de forma agresiva y provocar inflamación. Como en el resto de los coronavirus, el SARS-CoV-2 ostenta un mecanismo de evasión de la respuesta inmune, que le va a permitir diseminarse en mayor medida antes de que se pongan en marcha todos los mecanismos contra el patógeno (37). Entre estos mecanismos se encuentran múltiples estrategias que explicamos a continuación:

1. **Vesículas de doble membrana (DMV):** El virus es capaz de formarlas y en el espacio extracelular actúan como escudos para el dsRNA y permiten evitar su

reconocimiento por proteínas PRRs (receptores de reconocimiento de patrones). En el espacio intracelular evitan la interacción con RIG-1 (gen inducible por ácido retinoico-1) Y MDA5 (proteína asociada a la diferenciación del melanoma-5) (38).

2. Supresión del mecanismo de acción del **IFN-1** mediante el uso de sus 8 proteínas virales específicas (37).
3. **Nsp 14 y 16:** Una de las maneras que tiene la célula para detectar material genético ajeno a ella es colocar un capuchón en el extremo 5' del material genético propio, de forma que no puede ser reconocido por las PRRs (pattern recognition receptors). Estas proteínas están disueltas en el citoplasma y su función es unirse a antígenos ajenos y favorecer su digestión. En este caso el SARS-CoV-2 también tiene una estrategia para evitar la degradación. Posee 2 proteínas no estructurales (nsp14 y nsp16) que permiten la incorporación del capuchón al RNA viral, evitando por tanto la interacción con las PRRs al igual que no lo hace el material genético celular (9,39,40).
4. **PLpro:** Existen otras proteínas no estructurales que permiten la evasión de la respuesta inmune como son nsp3 o PLpro (proteína similar a la papaína). Esta última es una enzima catalítica que permite la división de otras Nsps. Favorece la resistencia a la inflamación antagonizando IFN-1 según estudios realizados en ratones(41,42).

En definitiva, este virus alberga un excepcional arsenal de herramientas que le permiten realizar una infección más eficaz que otros representantes de su misma familia. La comprensión de estos mecanismos es necesaria para entender por qué este virus se ha diseminado con tanta rapidez y por qué las manifestaciones y síntomas más graves de esta enfermedad COVID-19 han puesto en jaque a toda la sociedad.

Como veremos en las páginas posteriores, estos mecanismos van a ser la principal arma del virus para diseminarse en el mayor número de huéspedes posible. Sin embargo, el conocimiento de estas vías y de los factores que predisponen a un mayor riesgo, nos van a permitir combatirlo. Podemos actuar consecuentemente con medidas como extremar las precauciones en el caso de ser una persona con riesgo de padecer enfermedad grave y pautar el tratamiento de manera óptima y específica para cada paciente.

2. ABORDAJE EXPERIMENTAL DEL ESTUDIO DE VARIANTES GENÉTICAS

Uno de los principales problemas a los que nos vamos a enfrentar en estas investigaciones es la manera en la que nos vamos a aproximar al estudio de los casos graves. Como en cualquier otro ámbito de la ciencia debemos de optimizar el abordaje experimental ya que nos va permitir centrar nuestros esfuerzos en los aspectos clave del reto emergente. Fundamentalmente hay dos maneras de identificar variantes genéticas de riesgo en la actualidad:

- **2.1 Aproximación I: Estudios de asociación genética**

La primera es una aproximación epidemiológica, mediante **estudios de asociación genética**. Se van a realizar estudios estadísticos en personas afectadas por manifestaciones graves de COVID-19 en diversos centros sanitarios. Es la estrategia más empleada, ya que permite dar un enfoque al estudio con gran respaldo de evidencia estadística y está basado en los datos reales que se van obteniendo de los pacientes según va avanzando el tiempo.

Los estudios estadísticos nos van a dar datos sobre las variantes más prevalentes en pacientes que han sufrido manifestaciones graves de la enfermedad. Una vez que hemos establecido los factores que vamos a tener en cuenta, seleccionaremos a los pacientes que cumplan el mayor número de criterios para ser incluidos en nuestro estudio. En nuestro caso, vamos a incluir a los pacientes que presenten una enfermedad más agresiva o letal además de aquellos que hayan manifestado un mayor número de síntomas de gravedad. Podemos incluir además pacientes de determinados grupos poblacionales en los que se haya identificado una mayor morbilidad de la infección.

El siguiente paso es la realización de pruebas genéticas para caracterizar el perfil de estos pacientes. Hasta hace unos años, estas pruebas debían estar dirigidas a regiones de interés en el genoma. Sin embargo, en la actualidad con la llegada de las técnicas de secuenciación masiva, podemos registrar la totalidad del genoma de los sujetos incluidos en el estudio. Esto nos permite optimizar la caracterización de regiones de interés mediante el uso de software diseñado específicamente para ello, analizando simultáneamente miles e incluso millones de muestras.

Finalmente, se revisarán los resultados arrojados por el software en busca de sesgos o errores en el procesamiento de la información. Las variantes genéticas obtenidas van a ser sometidas a estudios para conocer su funcionalidad en el caso de no ser conocidas. Las que sí que estén registradas y tengan una función ya conocida, se estudiarán para poder dar una plausibilidad biológica que explique por qué la variante en cuestión favorece la infección grave.

El entusiasmo inicialmente suscitado por los estudios de asociación genética se basó en la facilidad con la que permitían ir un paso más allá sobre la aproximación epidemiológica convencional en el conocimiento de la causalidad de la enfermedad y/o en la de los factores de riesgo asociados a la enfermedad. Esta relativa facilidad permitió un crecimiento exponencial del número de trabajos publicados. Sin embargo, esta información podía quedar sesgada debido a los siguientes factores:

- La acción o efecto de una determinada variante dentro de un gen debe interpretarse en el contexto de una red compleja que incluya además las interacciones con otras variantes y con el medio ambiente. La propia complejidad de la ruta biológica en la cual el gen está inmerso, debería comprometer inicialmente la validez de una estrategia de asociación (43).
- Ausencia de reproducibilidad en otras series y poblaciones debido a la falta de poder estadístico.
- Inadecuada caracterización de la población en estudio.
- Falta de una adecuada evaluación de la población.
- Reclutamiento inadecuado de los casos y/o de los controles.
- Tamaño de muestra insuficiente.

Estos problemas generan un cierto escepticismo que pueden rebatirse con la caracterización de fenotipos adecuados, análisis de fenotipos intermedios intermedios, caracterización de haplotipos y análisis de la estructura poblacional entre otros. De esta forma, los estudios de asociación genética pueden preservar su cualidad como una de las herramientas de aproximación práctica más poderosas que existen (44).

A continuación se presentan los estudios de asociación genética más relevantes en cuanto al descubrimiento de nuevas variantes de riesgo.

- **2.1.1 Estudio de asociación genética de COVID-19 severo con insuficiencia respiratoria**

Se trata de un estudio de asociación genética con una gran trascendencia en el estudio de la enfermedad, publicado en el “New England Journal of Medicine” (45), en el que se analizó el genoma completo de 1980 pacientes con síntomas severos de 7 hospitales de España e Italia junto con el de 2205 controles. Se llegaron a procesar unos 8,582,968 single-nucleotide polymorphisms (SNP) y se realizó un metaanálisis de 2 paneles con los casos y controles (uno por cada país).

El estudio descubrió un clúster de genes en el cromosoma 3 (3p21.31) que constituía un locus clave en el riesgo de padecer fallo respiratorio agudo por COVID-19. En este clúster se expandieron los genes SLC6A20, LZTFL1, CCR9, FYCO1, CXCR6 y XCR1, varios de los cuales tienen funciones que son potencialmente relevantes para la fisiopatología de la enfermedad. Sin embargo, los datos actuales no pueden implicar de forma fiable un gen causante. Un candidato es el gen SLC6A20, que codifica un transportador de prolina dependiente de sodio (SIT1) y que interactúa funcionalmente con el receptor ACE-2. Además, el locus contiene genes que codifican receptores de quimiocinas, incluido el receptor de quimiocinas de motivo CC 9 (CCR9) y el receptor de quimiocina de motivo CXC 6 (CXCR6), el último de los cuales regula la ubicación específica de las células T CD8 de memoria en los pulmones durante la respuesta inmune sostenida a patógenos respiratorios como los virus de la gripe.

Por otro lado, confirmaba la potencial relación de la sintomatología grave con el grupo ABO del huésped, ya que el análisis relacionaba variaciones en la sintomatología de la infección con variantes de un locus en el cromosoma 9 (9q34.2), que coincidía con el locus que determina este grupo sanguíneo. De esta manera, los grupos sanguíneos A ó B estarían más expuestos a desarrollar sintomatología grave, mientras que el grupo O tendría un factor protector. Ambos descubrimientos fueron realmente esperanzadores para la comunidad científica, pero finalmente no se pudo comprobar que el grupo O pudiera llegar a proteger de la COVID-19 grave a pesar de que algunos estudios, finalmente refutados, sí señalaran al grupo O como cierto factor protector. Uno de los directores de estos estudios (46), Andre Franke de la Christian-Albrecht University of Kiel, declaró públicamente que muchos pacientes del grupo O habían fallecido por esta enfermedad y que realmente no es un factor protector.

Como veremos a continuación, este estudio fue el punto de partida de muchos avances posteriores ya que aportaba con un buen nivel de evidencia, asociaciones que a través de “COVID-19 Host Genetics Initiative” se estudiarían de manera conjunta y coordinada en todo el mundo.

- **2.1.2 El principal factor de riesgo genético para el COVID-19 grave se hereda de los neandertales**

Este estudio fue dirigido por los genetistas evolucionistas Svante Pääbo y Hugo Zemberg (45). Partieron del estudio anterior, que identificó un clúster de genes en el cromosoma 3, donde algunas variantes constituían un factor de riesgo para desarrollar fallo respiratorio agudo secundario a la infección por el SARS-CoV-2. Posteriormente, “COVID-19 Host Genetics Initiative” inició otro estudio (47) que analizaba 3199 casos hospitalizados con COVID-19 y controles, en el que se concluyó que este clúster resulta ser el principal factor de riesgo para desarrollar síntomas severos.

Los autores descubrieron que los alelos de riesgo de este clúster de unas 50 kilobases se encontraban en homocigosis en muestras de ADN recuperadas en yacimientos de Neandertales(48). Como ya es conocido, la mayoría de la población Europea, Asiática y nativa Americana conserva ciertos genes heredados de estos homínidos. En nuestro caso, estos alelos están presentes en el 16% de la población europea y hasta en el 50% en el caso de la población del sur de Asia. En la siguiente sección (sección 3) se tratará en profundidad este tema, analizando los posibles genes y las variantes de los mismos que podrían estar asociados a una mayor susceptibilidad frente a la enfermedad.

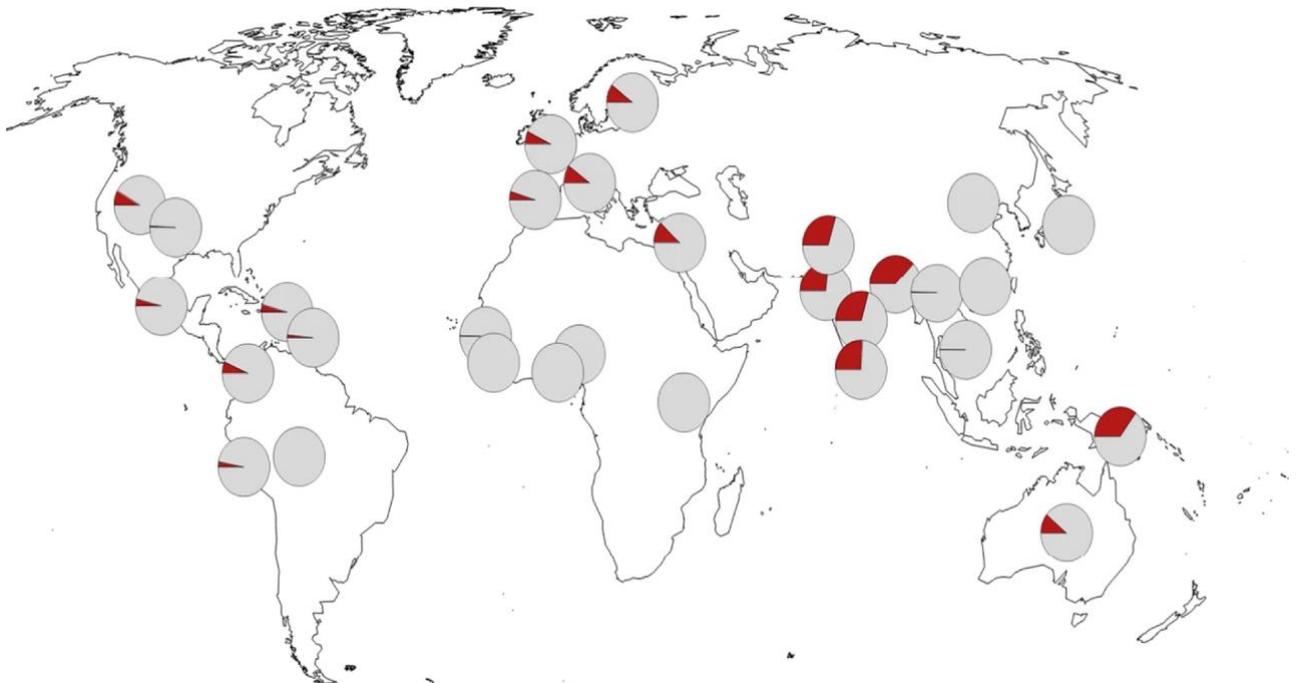


Figura 8. Distribución geográfica del haplotipo Neandertal relacionado con alto riesgo de COVID-19 severa. Se puede comprobar la alta prevalencia en el sur de Asia, más reducida en Europa y ciertas partes de América y casi nula en África. Imagen obtenida de Zeberg H y Pääbo S. (2020) (49)

- **2.1.3 Variantes genéticas del huésped humano que influyen en los fenotipos asociados al coronavirus (SARS, MERS y COVID-19)**

En este caso, el objetivo de este estudio era recopilar la mayor cantidad de información relevante a partir de estudios de asociación llevados a cabo en pacientes afectados con cualquiera de las tres enfermedades graves causadas por coronavirus (SARS, MERS y Covid-19). Se incluyeron, por lo tanto, estudios desde 2003 hasta 2020, con el fin de identificar los trabajos más relevantes que permitieran encontrar variantes genéticas comunes determinantes en el curso clínico de un paciente infectado por cualquiera de estos tres tipos de coronavirus (SARS-CoV-1, MERS-CoV y SARS-CoV-2) (50).

Se empleó un protocolo de revisión Ad Hoc llamado PRISMA (51), que inicialmente identificó 33 estudios elegibles. 10 de estos estudios analizaban variantes de HLA (Antígeno Leucocitario Humano) y no proporcionaron resultados significativos. Los 22 restantes analizaban genes candidatos y los más relacionados fueron: ACE-2, CLEC4M (L-SIGN), MBL, MxA, ACE, CD209, FCER2, OAS-1, TLR4 y TNF- α . Sin embargo, el número de estudios para cada variante no fue suficiente para poder realizar un metaanálisis que permitiera llegar a resultados concluyentes. Otra limitación fue la incapacidad del estudio para medir la magnitud del efecto de las variantes genéticas estudiadas en el curso clínico, aspecto que en estudios posteriores se fue comprobando.

A pesar de sus limitaciones, este estudio tuvo una gran trascendencia ya que permitió a otros investigadores centrar sus esfuerzos en estas variantes prometedoras. Como veremos más adelante, muchas de ellas demostraron ser clave en el curso clínico en pacientes hospitalizados por COVID-19.

- **2.2 Aproximación II: Selección de genes directamente relacionados con la infección y análisis de sus variantes genéticas.**

El segundo tipo de abordaje es el inverso al explicado anteriormente y corresponde a análisis de **polimorfismos en genes directamente relacionados con la**

infección. En este caso vamos a partir de un análisis detallado de la fisiopatología de la infección, además de toda la información disponible sobre la reacción inflamatoria que se asocia a manifestaciones graves. Una vez realizada esa búsqueda, se pueden elaborar hipótesis sobre posibles alteraciones en esos mecanismos que puedan favorecer la aparición de síntomas graves o letales.

El primer paso, por tanto, es investigar sobre posibles genes que puedan ser clave en la producción de dichas alteraciones, ya sea porque codifiquen una proteína estructural, un mediador, un paso de una cascada o un factor de transcripción. Posteriormente, se pueden buscar variantes en esos genes que puedan provocar un cambio conformacional, una ganancia o pérdida de función de un mediador o una enzima o cualquier otra alteración que plausiblemente pueda interferir en la patogénesis de la enfermedad. Analizando la presencia de estas determinadas variantes en pacientes afectados gravemente por la enfermedad podremos determinar si nuestra hipótesis sobre el efecto de la variante en cuestión se corresponde con la realidad de manera estadísticamente significativa.

El ejemplo paradigmático en el caso de la COVID-19 sería el estudio de las variantes o polimorfismos del gen del receptor de la ACE-2, ya que al ser la molécula con la que interaccionaba la proteína spike del virus para penetrar en la célula, juega un papel fundamental en la infección. La investigación se inició por lo tanto con este gen al ya conocerse su papel en la infección por otros coronavirus.

- **2.2.1 Variantes del receptor ACE-2; influencia potencial en la infección del virus y severidad de la COVID-19**

Se trata de un estudio que, al contrario que los anteriores, tiene como objetivo analizar los polimorfismos de una región de interés en concreto: el receptor ACE-2 (52). Como hemos mencionado en la sección previa, la proteína spike del SARS-CoV-2 es la principal proteína viral que contribuye a la fusión de la partícula del virus con la célula huésped a través del receptor ACE-2. Dado que éste es el punto estratégico por el cual el virus entra en las células huésped, el efecto de cualquier variante en la secuencias de aminoácidos del receptor ACE-2 podría afectar a la susceptibilidad del huésped a la infección por SARS-CoV-2.

El estudio analizó cómo diferentes variantes de ACE2 pueden afectar la estabilidad de la proteína, influyendo en la interacción con la proteína spike por la imposición de nuevos cambios conformacionales. Algunas de esas variantes causaban una disminución o un aumento en la afinidad ligando-receptor, pero otras variantes resultaron encontrarse en el sitio de escisión de la proteasa. Se descubrió que los polimorfismos de regiones reguladoras y no codificantes, como el promotor en ACE2, pueden desempeñar un papel crucial en diferentes niveles de expresión de ACE2 entre diferentes individuos.

La gran utilidad de este estudio fue la de recopilar gran cantidad de información, ordenarla y analizarla con el fin de llegar a un gran número de conclusiones de gran utilidad. Los resultados contribuyeron a conocer la afinidad de las variantes de ACE2 con la proteína spike y ayudaron a la industria biofarmacéutica a diseñar enfoques efectivos como la terapia de sACE2 recombinante (Receptor ACE-2 soluble) y a la vacunación de la enfermedad COVID-19 (secciones 3 y 4).

- **2.2.2 Variantes genéticas que imitan la inhibición terapéutica de la señalización del receptor de IL-6 y riesgo de COVID-19**

Este estudio se realizó con el objetivo de identificar un tratamiento para la enfermedad ya que, hasta la fecha de su publicación (Septiembre de 2020), existían pocas opciones terapéuticas para estos pacientes. Los autores se centraron en investigar grandes cantidades de registros genéticos pertenecientes a 'COVID-19 Host Genetics Initiative' para comprobar si el bloqueo o pérdida de función del receptor de interleukina-6 (IL-6) pudiese constituir un beneficio terapéutico en pacientes hospitalizados por COVID-19 (50). Para ello se analizaron 7 variantes genéticas que se encontraban cerca o dentro del gen IL6R, que en otros estudios estaban relacionadas con concentraciones alteradas de proteína C-reactiva, fibrinógeno, IL-6 circulante y receptor de IL-6 soluble. Estos efectos se observaban con el bloqueo farmacológico del receptor de IL-6 (53,54), por lo que las variantes "simulaban" un bloqueo del receptor.

Tras un posterior análisis de estas variantes en pacientes, se concluyó que las variantes de IL6R que simulaban el bloqueo de IL-6-R se relacionaban con un menor riesgo de hospitalización por COVID-19 y, por tanto, de la gravedad del cuadro. Este hallazgo fue clave, ya que abría la puerta a la posibilidad de administrar tratamientos

que bloqueen este receptor con el objetivo de reducir la gravedad de la enfermedad. Hallazgo, sin embargo, no fue considerado concluyente debido a la posibilidad de que se hubiese cometido un sesgo de selección, ya que los pacientes con síntomas más graves tendían a realizarse una PCR con más frecuencia que aquellos con síntomas más leves.

○ 2.2.3 Variantes en la proteína TMPRSS2

Por último, otro de los estudios importantes se centró en otra proteína clave en la patogenia del SARS-CoV-2: la proteína TMPRSS2 (55). Se buscaron posibles componentes genéticos asociados a la gravedad de COVID-19 al observar variaciones en los niveles de expresión y las variantes en los genes ACE2 y TMPRSS2. Se utilizaron datos de exoma y matriz SNP (array) de una gran cohorte italiana para comparar la carga de variantes raras y la frecuencia de polimorfismos en europeos y asiáticos del este. Además, se emplearon bases de datos de expresión génica para verificar la diferente expresión según el sexo. Finalmente, identificaron una variante exónica de TMPRSS2 y 2 haplotipos distintos que parecían influir en su expresión. Los alelos raros de estos haplotipos parecen inducir niveles más altos de TMPRSS2 y son más frecuentes en la población italiana que en la del este de Asia. En uno de los casos, el haplotipo podría regularse a través de andrógenos, lo que podría explicar la influencia del sexo en la gravedad de COVID-19. No se encontró evidencia de la influencia de las variantes de ACE2 en la gravedad del cuadro asociada al sexo.

Tal y como se ha explicado en la sección 1 de este trabajo, la proteína TMPRSS2 juega un papel fundamental en la entrada del virus en la célula. La expresión de esta proteína puede ser regulada por esteroides, de forma que, al ser una proteína a priori no esencial para la supervivencia de la célula, su inhibición puede resultar una buena aproximación en la infección por SARS-CoV-2. El estudio de variantes genéticas que afecten a esta expresión podría proporcionar información relativa a una diferente susceptibilidad frente a la infección del virus.

3. VARIANTES GENÉTICAS MÁS RELEVANTES: RESULTADOS PROCEDENTES DE LOS DOS TIPOS DE APROXIMACIONES

La gravedad de la COVID-19 viene determinada por factores de riesgo que hasta la actualidad no se conocen completamente. Como mencionamos anteriormente, entre ellos parecen encontrarse la edad, sexo, cepas del virus, comorbilidades, respuesta inmune del huésped, estilo de vida y la genética del huésped. Como resultado de las dos aproximaciones mencionadas en la sección 2, se identificaron una serie de genes de interés cuyas variantes o polimorfismos podrían estar implicados en manifestaciones más graves de la enfermedad. En este apartado, vamos a centrarnos en revisar esas variantes genéticas más importantes.

● 3.1 Variantes del receptor ACE-2

El receptor **ACE-2** se presenta en la membrana de células de diferentes tejidos y tiene un papel clave en la fisiología cardíaca, vascular, pulmonar y renal. Su función principal es facilitar la reacción en la que a partir de Angiotensina I se obtiene Angiotensina II, cuyos principales efectos (clásicos) son sobre el endotelio y va a provocar:

- Vasoconstricción: Aumentando las resistencias periféricas y, por tanto, un ascenso de la presión arterial.
- Reabsorción de sodio y agua: De manera directa en el túbulo contorneado proximal y de manera indirecta a través de la secreción de aldosterona en la corteza suprarrenal.

La Angiotensina II va a tener un papel protagonista en la regulación del volumen circulante a través del eje renina-angiotensina-aldosterona. Mediante los mecanismos anteriormente descritos, va a ser liberada en situaciones fisiológicas en las que sea necesario retener volumen (hipotensión, deshidratación, fallo renal...)(56). Sin embargo, el receptor ACE-2 no solo interactúa con el sustrato principal de su función fisiológica. Como muchas otras proteínas de membrana, puede ser reconocida por virus encapsulados, que emplean estas estructuras para reconocer y acceder a las células del huésped. En el caso del receptor ACE-2, esta va a ser el punto de entrada a la célula de algunos coronavirus, incluyendo el SARS-CoV(57), HCoV-NL63(58) y el ya famoso SARS-CoV-2(27).

Debido a su papel clave en la patogénesis de la enfermedad, el receptor ACE-2 ha sido investigado exhaustivamente. En cuanto al estudio genético del mismo, ha sido uno de los principales objetos de análisis de polimorfismos en genes directamente relacionados con la infección, ya que era esperable que alguno de estos polimorfismos afectase a la afinidad con la que el virus se une a él. Incluso existía la posibilidad de que alguna de estas variantes dotase de inmunidad al portador. Por contra, todavía no se ha encontrado una variante que confiera inmunidad total, pero los estudios dieron su fruto y ya se han identificado multitud de variantes del receptor ACE-2 que van a afectar directamente a su unión con las spike del virus, destacando los polimorfismos c.1166C>A p.(Pro389His) y c.1051C>G p.(Leu351Val) (59). Son variantes raras que afectan a un dominio altamente hidrofóbico, induciendo cambios conformacionales que influyen en la interacción con la proteína spike. Estas variantes fueron identificadas en la población italiana e interfieren en la internalización del virus por parte de la célula huésped.

En cuanto a la influencia de las variantes genéticas de este receptor en la gravedad de la enfermedad, se cree que **tanto variantes en regiones codificantes como aquellas que afectan a regiones no codificantes pueden llegar a afectar tanto a la susceptibilidad como a la gravedad de la COVID-19** (52,60,61). De manera que, si afecta a una región codificante y se produce una alteración estructural, es esperable que alguna de ellas confiera menor afinidad en la unión con la proteína spike y, por tanto, una menor tasa de infección. Por otro lado, variantes que afectan a regiones no codificantes pueden ser importantes si influyen en la expresión de dicho receptor.

Con esta premisa, se analizó la asociación entre polimorfismos del locus ACE2 y la severidad de la COVID-19 en 62 pacientes con PCR positiva. 23 de ellos requirieron hospitalización y se identificaron 61 SNP (single nucleotide polymorphism) de la cohorte escogida. 10 de estos SNP estaban significativamente asociados a la regulación de la expresión tisular de este receptor. Se aplicó una regresión logística ajustada a edad y sexo y finalmente resultó que 6 de los 10 SNP analizados (rs4240157, rs6632680, rs4830965, rs1476524, rs2048683 y rs1548474) estaban relacionados de manera estadísticamente significativa con el riesgo de hospitalización. Esto suponía una evidencia preliminar de que ciertos polimorfismos en el locus ACE2 se asociaban a la gravedad de la enfermedad (61). En concreto, a los niveles de expresión de este receptor.

Actualmente, el efecto específico de cada variante sobre el devenir de la infección no está claro. Se pueden considerar dos escenarios posibles para el efecto de las variantes de ACE2 en los resultados de la infección por SARS-CoV-2:

- En el primer escenario, múltiples variantes del receptor ACE-2 tienen un efecto sinérgico sobre la progresión de la enfermedad.
- En el segundo, una o algunas variantes raras tienen un impacto importante por sí mismas en el resultado de la infección.

Otro aspecto importante de las variantes del receptor ACE-2 es su interacción con nuevas variantes del virus que pueden presentar mutaciones en la spike. La aparición de nuevas variantes del virus puede condicionar la susceptibilidad de infección:

- **Variante D614G:** Cuando se identificó por primera vez en Wuhan (Marzo de 2020), pasó a convertirse en la variante dominante de la pandemia (62). El cambio de aminoácidos en D614G es causado por la mutación 23403A>G en el gen que codifica la proteína S. En cuanto al mecanismo de acción, estudios ya sugieren que la sustitución D614G suprime una interacción de enlace de hidrógeno con el residuo T859 de la spike, lo que provoca un cambio conformacional en el dominio RBD, que pasa a tener una conformación abierta, promoviendo la unión con el receptor ACE-2 y aumentando la infectividad del virión(63).
- **Variante B.1.1.7:** Comúnmente llamada **variante inglesa**. Incluye 17 mutaciones en el genoma viral. De éstas, 8 mutaciones se encuentran en la proteína spike (delección Δ 69-70, delección Δ 144, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H). N501Y muestra una mayor afinidad de la proteína spike por el receptor ACE-2, lo que mejora la unión viral y la entrada posterior en las células huésped (64–66).
- **Variante B.1.617:** Comúnmente llamada **variante india**. Tiene al menos 15 mutaciones, con dos mutaciones específicas en la proteína spike que la definen: E484Q y L452R. Estas dos variantes parecen presentar un mayor potencial de unión al receptor ACE-2, así como una mayor capacidad para evadir el sistema inmunológico en comparación con otras variantes (67,68).

● 3.2 Variantes de la proteína TMPRSS2

La serín-proteasa-transmembrana-2 (**TMPRSS2**) es una proteína transmembrana que se expresa fundamentalmente en el endotelio. Su función específica es actualmente

desconocida, pero como la mayoría de serín-proteasas, va a favorecer reacciones catalíticas. Además, el gen que la codifica y que lleva su nombre, es clave en el desarrollo del cáncer de próstata, por lo que se cree que tiene un papel relacionado con el metabolismo de los andrógenos (69). Esto es importante ya que, como mencionaremos posteriormente, el uso de andrógenos podría llegar a ser una alternativa terapéutica para la enfermedad en un futuro.

En cuanto a la infección por el SARS-CoV-2, se cree que TMPRSS2 constituye junto con el receptor ACE-2 la principal diana del tropismo del virus (70). Tal y como se ha explicado en la introducción, esta proteína se va a unir al sitio de escisión de la proteasa S1/S2, dividiendo la proteína spike y facilitando la fusión de membranas. Debido a su papel clave en la patogenia de la enfermedad, esta enzima ha sido investigada en multitud de estudios, al igual que el receptor ACE-2. Un ejemplo es el trabajo dirigido por Gilberto Vargas-Alarcón en el cual, empleando datos del “1000 Genome Project”, se analizaron polimorfismos candidatos a modificar el curso de la enfermedad, entre los que se encontraban los de TMPRSS2 (71). Se encontró un polimorfismo que se relacionaba con un peor pronóstico de la infección (rs12329760) en el que se producía una mutación de un aminoácido (Val160Met) cuyo efecto sobre la patogenia aún no está esclarecido. Este estudio identificó además 17 polimorfismos en las regiones no codificantes de TMPRSS2, así como 31 polimorfismos adicionales con posibles consecuencias funcionales al proporcionar sitios de unión para factores de transcripción y miARN, en las secuencias no codificantes de los siguientes genes: 3 en ACE2, 10 en TMPRSS11A, 12 en una elastasa de neutrófilos (ELANE) y 6 en catepsina L (CTSL). Volviendo a las variantes asociadas a TMPRSS, las funciones oncogénicas de esta proteína también pueden estar relacionadas con cursos adversos de la COVID-19 (72). El gen se localiza en 21q22.3, por lo que podría provocar que personas con síndrome de Down tengan alto riesgo de infección por COVID-19 (73). Además, es interesante la regulación de la expresión de TMPRSS2, que es más alta en células ciliadas y células epiteliales alveolares de tipo I (AT1) y que aumenta con el envejecimiento en humanos y ratones. Este hallazgo puede proporcionar el vínculo de la protección relativa de los niños contra el COVID-19 severo, y la mayor probabilidad de padecerlo conforme aumenta la edad (74).

● 3.3 Variantes de la proteína DPP4

También conocida como CD26, la dipeptidil-peptidasa-4 (**DPP4**), es una proteína cuya función principal es enzimática. Se trata de una proteína transmembrana que se expresa en la mayoría de células del cuerpo. Interviene en las reacciones de multitud de

sustratos, entre los cuales destacan factores de crecimiento, quimiocinas, neuropéptidos, y péptidos vasoactivos. Resulta especialmente relevante su acción en la degradación de ciertas incretinas entre las que se encuentra GLP-1 (péptido similar al glucagón tipo 1) o su unión de alta afinidad con la enzima ADA (adenosin-deaminasa) cuya relevancia clínica aún no está esclarecida (75). Su papel en cuanto a la patogenia de la infección por SARS-CoV-2 proviene de anteriores estudios que identificaron esta proteína como vía de entrada a la célula para otros coronavirus como el MERS-CoV (76). Estudios recientes sugieren que DPP4 puede ser una proteína clave en la infección por el virus, actuando como una segunda vía de entrada además del receptor ACE-2 (77).

En un nuevo estudio dirigido por los genetistas evolucionistas Pääbo y Hugo Zemberg (mencionados anteriormente), se descubrió que esta proteína presenta variantes distintas en fósiles recuperados en yacimientos de Neanderthales. Como ya es conocido, la mayoría de la población Europea, Asiática y nativa Americana conserva ciertos genes heredados de estos homínidos (desde el 1,8 al 2,6%). Entre ellos se encuentran variantes del gen DPP4.

Se realizó un análisis del genoma de pacientes con patología grave por COVID-19 de multitud de países, en donde se encontró que las **variantes Neanderthales tenían una mayor prevalencia que en los controles**. Además se estimó que el hecho de presentar una sola copia de esta variante duplicaba el riesgo de infección grave, mientras que tener dos copias de la misma cuadruplicaba el riesgo (78). Es importante destacar que estas variantes genéticas no codifican un cambio estructural en la proteína, que es idéntica. El cambio se produce en el gen promotor, de manera que se modifica en qué lugar y en qué cantidad se expresa. Este hecho es esperanzador, ya que abre la puerta a la posibilidad de que la infección pueda ser tratada con antidiabéticos ya existentes como los inhibidores de GLP-1.

● 3.4 Variantes del “Toll-like receptor 7” (TLR7)

El caso del Toll-like receptor 7 del cromosoma X (**X-chromosomal TLR7**) es curioso. Se encontraron variantes poco comunes y sin aparente funcionalidad que resultaban estar relacionadas con una expresión anormal de IFN1 e IFN2 y que fueron identificadas mediante secuenciación masiva del exoma. El estudio se realizó sobre 4 pacientes jóvenes holandeses que habían desarrollado COVID-19 grave. Eran 2 parejas de hermanos menores de 35 años que no estaban relacionadas. En una de las 2 familias, se identificó una mutación heredada de la madre consistente en una delección de 4 nucleótidos (c.2129_2132del; p.[Gln710Argfs]*18) y uno de los dos hermanos falleció

de la enfermedad. Los miembros afectados en la segunda familia heredaron una mutación de cambio de sentido (c.2383G>T; p.[Val795Phe), también en el gen TLR7.

La señalización del interferón tipo I (IFN) se redujo transcripcionalmente en las células mononucleares de sangre periférica primaria (PBMC) de los pacientes en comparación con otros miembros de la familia y los controles. Para comprobarlo, midieron la expresión de ARNm (ARN mensajero), que resultó estar significativamente disminuida para la expresión de los mediadores de inflamación IRF7 (Interferon Regulatory Factor 7), IFNB1 (Interferón Beta 1) y ISG15 (interferon-stimulated gene 15) tras estimulación con imiquimod (agonista de TLR7). La producción de IFN- γ (Interferón Gamma) de tipo II también disminuyó en los pacientes en respuesta a la estimulación con imiquimod (79). Estos hallazgos apuntan a que TLR7 parece ser un componente esencial de la inmunidad innata frente a los coronavirus, incluido el SARS-CoV-2 (80–82). Además de descubrir un nuevo vínculo genético que podría abrir una vía novedosa para la exploración de tratamientos potenciales, este estudio posiblemente también proporcione una explicación de la tendencia observada de mayor mortalidad por COVID-19 en hombres que en mujeres (83).

● 3.5 Variantes asociadas a la proteína ApoE

En el caso de la **ApoE**, su investigación se inició a partir de la evidencia aportada por un estudio que trataba de determinar factores de riesgo para la gravedad de la COVID-19 a partir de datos aportados por el UK Biobank (Biobanco de Reino Unido). Este Biobanco almacena muestras biológicas para un rápido acceso a datos representativos de grandes poblaciones para estudios científicos. La demencia preexistente se identificó como un factor de riesgo importante (Odds Ratio [OR] = 3,07, IC del 95%: 1,71 a 5,50) para la gravedad de la COVID-19 en adultos mayores (84). Debido a que se sabe desde hace décadas que ciertas variantes de la proteína ApoE están asociadas a un mayor riesgo de padecer la demencia más prevalente en nuestra población (Enfermedad de Alzheimer, EA), muchos investigadores comenzaron a estudiar la influencia de sus variantes en el desarrollo de enfermedad grave (85).

El gen de la apolipoproteína E (APOE) tiene tres isoformas principales, APOE2, APOE3 y APOE4, que están codificadas por los alelos e2, e3 y e4, respectivamente (86). Cada isoforma tiene diferentes características (la interacción de dominio, la estabilidad de la proteína y el plegamiento de la proteína), que influyen en diversas patologías. Con el objetivo de determinar si la variante ApoE e4e4 constituía en sí misma un factor de riesgo para la infección grave, un estudio (87) analizó datos del UK Biobank que se reflejan en la **Tabla 3**.

	n	Negativo o no realizado	Positivo	Ratio de positividad por cada 100000	OR (95% IC)	Valor de p
Todos						
e3e3	223457	223056	402	179	-	-
e3e4	90469	90285	184	203	1,14 (0,95-1,35)	0,15
e4e4	9022	8985	37	410	3,31 (1,65-3,24)	1,19E-6
Excluyendo hipertensión						
e3e3	222968	222574	394	177	-	-
e3e4	90013	89840	173	192	1,09 (0,91-1,31)	0,338
e4e4	8877	8840	37	417	2,39 (1,71-3,35)	4,26E-7
Excluyendo demencia						
e3e3	151018	150792	226	150	-	-
e3e4	61249	61157	92	150	1,00 (0,79-1,28)	0,981
e4e4	6120	6098	22	359	2,41 (1,56-3,74)	8,21E-5
Excluyendo enfermedad coronaria						
e3e3	204017	203684	333	163	-	-
e3e4	82099	81948	151	184	1,13 (0,93-1,37)	0,207
e4e4	8164	8132	32	392	2,43 (1,69-3,50)	1,65E-6
Excluyendo DM2						
e3e3	211482	211136	346	164	-	-
e3e4	85983	85827	156	181	1,11 (0,92-1,34)	0,275
e4e4	8616	8581	35	406	2,51 (1,77-3,55)	2,42E-7

Tabla 3. Se representan los resultados de las pruebas PCR de los pacientes incluidos en el ensayo respecto a los genotipos de ApoE4 y excluyendo factores de riesgo. De los 623 participantes incluidos que dieron positivo por COVID-19, el laboratorio señaló que 417 (67%) estaban hospitalizados cuando se tomó la muestra. Incluir solo pacientes hospitalizados cuando se les realizó la prueba supuso poca diferencia en el exceso de riesgo asociado con el estado de ApoE e4e4 (OR = 2,32, IC del 95%: 1,54 a 3,29), en comparación con OR = 2,31 (IC del 95%: 1,65 a 3,24) utilizando todas las muestras analizadas. Tabla obtenida de Kuo C-L y cols. (2020) (87).

En cuanto a los resultados del análisis, los homocigotos ApoE e4e4 tenían más probabilidades de ser positivos en la prueba COVID-19 (OR = 2,31, IC del 95%: 1,65 a 3,24, $p = 1,19 \times 10^{-6}$) en comparación con los homocigotos e3e3 (Tabla 3). La asociación fue similar después de eliminar a los participantes con enfermedades asociadas a ApoE e4 que también estaban relacionadas con la gravedad de COVID-19. Se incluyeron participantes sin demencia (OR = 2,39, IC del 95%: 1,71 a 3,35); hipertensión (OR = 2,41, IC del 95%: 1,56 a 3,74); enfermedad de las arterias coronarias (infarto de miocardio o angina) (OR = 2,43, IC del 95%: 1,69 a 3,50) o diabetes tipo 2 (OR = 2,51, IC del 95%: 1,77 a 3,55) (Tabla 3). De los 623 participantes incluidos que dieron positivo por COVID-19, el laboratorio indicó que 417 (67%) estaban hospitalizados cuando se tomó la muestra. Desafortunadamente, los datos sobre el ingreso posterior al hospital no están disponibles.

En conclusión, el genotipo homocigoto ApoE e4e4 parece aumentar el riesgo de COVID-19 grave, independientemente de la demencia preexistente, la enfermedad cardiovascular y la diabetes tipo 2. Otro aspecto a tener en cuenta es que el gen ApoE es uno de los genes altamente expresados en las células alveolares de tipo II en los pulmones, donde el receptor ACE-2 está también altamente expresado (86). En cualquier caso, son necesarios más estudios para esclarecer el papel de las variantes e4 de ApoE en la patogénesis de la infección por SARS-CoV-2.

● 3.6 Otras variantes

Además de las mencionadas anteriormente, existen multitud de variantes que se han identificado como posibles factores de riesgo para desarrollar COVID-19 grave. Sin embargo, las vamos a incluir en este apartado debido a que no se dispone de un suficiente nivel de evidencia para destacarlas. Entre estas variantes se encuentran:

○ 3.6.1 Variantes del antígeno leucocitario humano (HLA)

Las variantes de los genes de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) (antígeno leucocitario humano [HLA] A, B y C) fueron de las primeras en ser investigadas debido a que en estudios previos se relacionaron con una manifestación más grave de la enfermedad en la infección por SARS-CoV-1 (88). La variante HLA-B*46:01 presentó la menor cantidad de péptidos de unión previstos para el SARS-CoV-2, sugiriendo que podría suponer un factor de riesgo para desarrollar COVID-19 grave debido a la menor capacidad para desarrollar una respuesta inmunitaria adaptativa. Por

otro lado, la variante que mayor cantidad de péptidos de unión presentó fue HLA-B*15:03, que podría suponer un factor protector en cuanto a la enfermedad grave (89).

Además otros investigadores ya han relacionado más variantes que pueden llegar a suponer un mayor riesgo de síntomas graves (HLA-A*11:01, -B*51:01, y -C*14:02), HLA-DRB1*15:01, HLA-DQB1*06:02 y HLA-B*27:07 (90,91). Sin embargo, se deben realizar más estudios para confirmar su implicación.

○ 3.6.2 Variantes del **grupo ABO**

Al igual que en el caso anterior, las variantes del grupo ABO comenzaron a estudiarse rápidamente debido a anteriores evidencias de su implicación en la patogenia del SARS-CoV-1 en estudios de asociación (92). En el caso del SARS-CoV-2, los grupos sanguíneos A y O se han asociado con un riesgo mínimamente aumentado y disminuido, respectivamente, de enfermar por COVID-19 (45,92,93). Además, se encontró que los grupos sanguíneos Rh positivos estaban asociados con un mayor riesgo de infección por SARS-CoV-2 y de muerte después de la infección (94). No obstante, las asociaciones observadas con los tipos de sangre no fueron corroboradas por la COVID-19 Host Genetics Initiative (47), ya que las asociaciones observadas pudieron ser circunstanciales, derivadas de factores no relacionados con la COVID-19.

○ 3.6.3 Variantes de **SLC6A20** y **LZTFL1**

Se trata de variantes halladas en el clúster anteriormente mencionado que se sitúa en el cromosoma 3 (3p21.31). Actualmente se desconoce el mecanismo fisiopatológico que hace que estas variantes se relacionen con la COVID-19 grave pero presentan una evidencia estadística significativa de que así es (45). Se sabe que uno de los genes presentes en este clúster que codifica la proteína LZTFL1 se expresa predominantemente en las células pulmonares humanas y que, otro de los genes, el transportador de prolina dependiente de sodio (SIT1), que codifica el gen SLC6A20, interactúa funcionalmente con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE-2).

4. PERSPECTIVAS DE FUTURO

La COVID-19 ha supuesto un reto global. Además de toda la repercusión económica, social y geopolítica, la comunidad científica se ha visto obligada a trabajar contrarreloj. Primero para tratar de minimizar los daños provocados por las primeras olas en las que se conocía con poca profundidad la enfermedad y su patógeno, el SARS-CoV-2. Después, una vez habituados a lidiar con la nueva pandemia, para encontrar una vacuna que evite en la medida de lo posible los contagios y para desarrollar tratamientos eficaces contra la infección una vez establecida.

Uno de los principales objetivos por los que se han realizado los estudios de variantes genéticas es precisamente éste, el desarrollo de terapias basadas en los hallazgos de estos estudios y, en nuestro caso particular, encontrar aquellas que sean útiles para reducir la gravedad de la enfermedad una vez contraída. En este apartado vamos a hacer una revisión de las posibles aplicaciones que surgen del estudio de estas variantes genéticas y de los retos que todavía están pendientes en cuanto a aumentar nuestro entendimiento sobre la patogenia del virus y nuestra capacidad de acción sobre ella.

● 4.1 Terapia de supresión de andrógenos

Como hemos visto en apartados anteriores, la proteína TMPRSS2 y el receptor ACE-2 son las principales dianas del SARS-CoV-2, facilitando la entrada del virus en las células huésped. TMPRSS2 y ACE2 se expresan en múltiples tejidos humanos más allá del pulmón, incluidos los testículos. TMPRSS2 es un gen sensible a los andrógenos y su fusión representa una de las alteraciones más frecuentes en el cáncer de próstata (97).

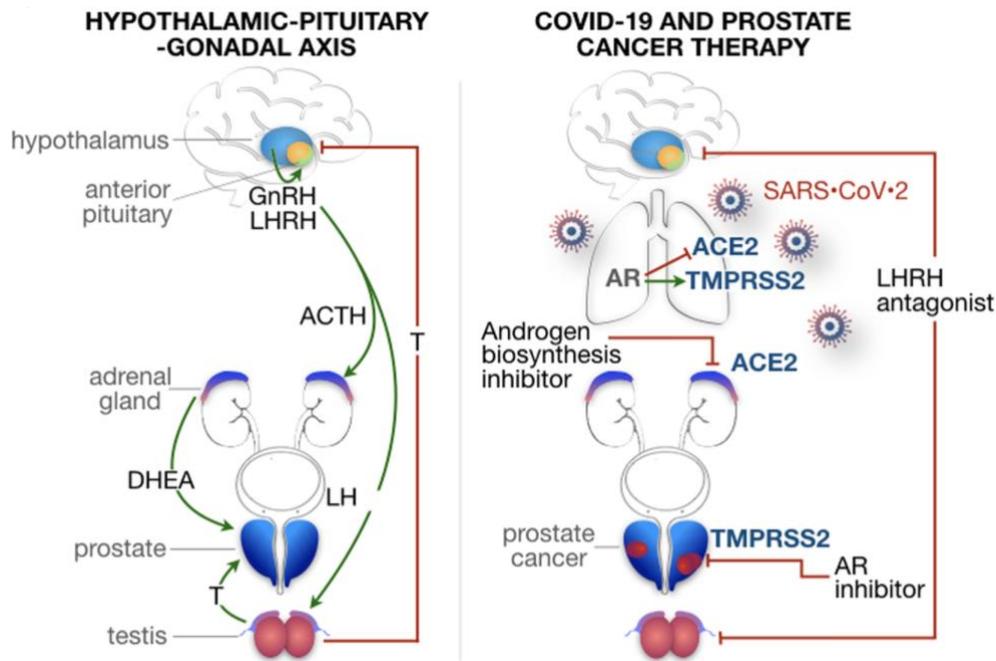


Figura 9. Esquema de la influencia de la terapia androgénica en el cáncer de próstata y COVID-19. La estimulación continua de los receptores de GnRH hipofisarios da como resultado la desensibilización y la disminución de la expresión de estos receptores con una consecuente disminución de los esteroides sexuales circulantes, incluidos los andrógenos. Este circuito de retroalimentación negativa sirve como base para la terapia de privación de andrógenos a través de agonistas de LHRH. Otra alternativa es antagonizar el receptor de LHRH para suprimir la secreción de la testosterona mediante la inhibición de la acción de la LH en su receptor. Imagen obtenida de Bhowmick NA. y cols. (2020) (98).

TMPRSS2 y ACE2 parecen ser genes regulados por andrógenos en aquellos tejidos donde los receptores de andrógenos se expresan (pulmones, testículos...). De hecho, se ha demostrado que la activación del receptor de andrógenos (AR) aumenta la expresión de TMPRSS2 al tiempo que disminuye la expresión de ACE2. Por lo tanto, TMPRSS2 podría constituir una diana de acción sobre el SARS-CoV-2 a través de la supresión de la señalización de andrógenos (un paradigma de tratamiento estándar en el cáncer de próstata).

Si seguimos este razonamiento, la expresión de ACE2 aumentaría con dicha supresión de andrógenos. Este aumento en la expresión de ACE2 parece tener un efecto protector en el desarrollo de Síndrome de Distress Respiratorio Agudo (SDRA) según varios estudios. Este hecho podría explicar por qué ciertos estados en los que la expresión del receptor ACE-2 está disminuida a través de estos mecanismos de regulación con andrógenos (edad avanzada, sexo masculino, comorbilidades...) confieren al paciente un peor pronóstico (99).

Se desconoce si esto daría lugar a un aumento en el riesgo de infección grave o a un beneficio potencial al preservar los efectos protectores de la expresión de la

proteína ACE-2, al tiempo que obstaculiza un paso clave en la entrada viral a la célula del huésped. Serán necesarios más estudios y ensayos clínicos para esclarecer el papel que puede llegar a tener la terapia androgénica.

● 4.2 Baticinib

Baricitinib es un inhibidor selectivo y reversible de la Janus quinasa JAK1 y JAK2, actualmente comercializado para el tratamiento de la Artritis Reumatoide. Según la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), podría reducir la tormenta de liberación de citoquinas inflamatorias al inhibir la vía JAK1/JAK2(100). Ambas quinasas inician la transducción de la señal iniciada por la unión de la IL-6 a su receptor. Baricitinib, además podría reducir la endocitosis viral mediada por el receptor al inhibir también la enzima AAK1 (AP2 Associated Kinase 1) como se muestra en la **Figura 10**.

Tal y como hemos explicado en la sección 2, ciertas variantes del gen IL6R que “simulan” un bloqueo del receptor IL-6, produciendo concentraciones alteradas de proteína C-reactiva, fibrinógeno, IL-6 circulante y receptor de IL-6 soluble. Estos efectos resultaron estar asociados con un menor riesgo de hospitalización por COVID-19 y, por tanto, de la gravedad del cuadro (53,54). En este caso, el Baricitinib actuaría de manera similar al efecto de bloqueo de estas variantes sobre la vía JAK/STAT. De esta manera, sería esperable que la terapia con un inhibidor de JAK1 y 2 ayudase en la reducción de riesgo de padecer síntomas graves.

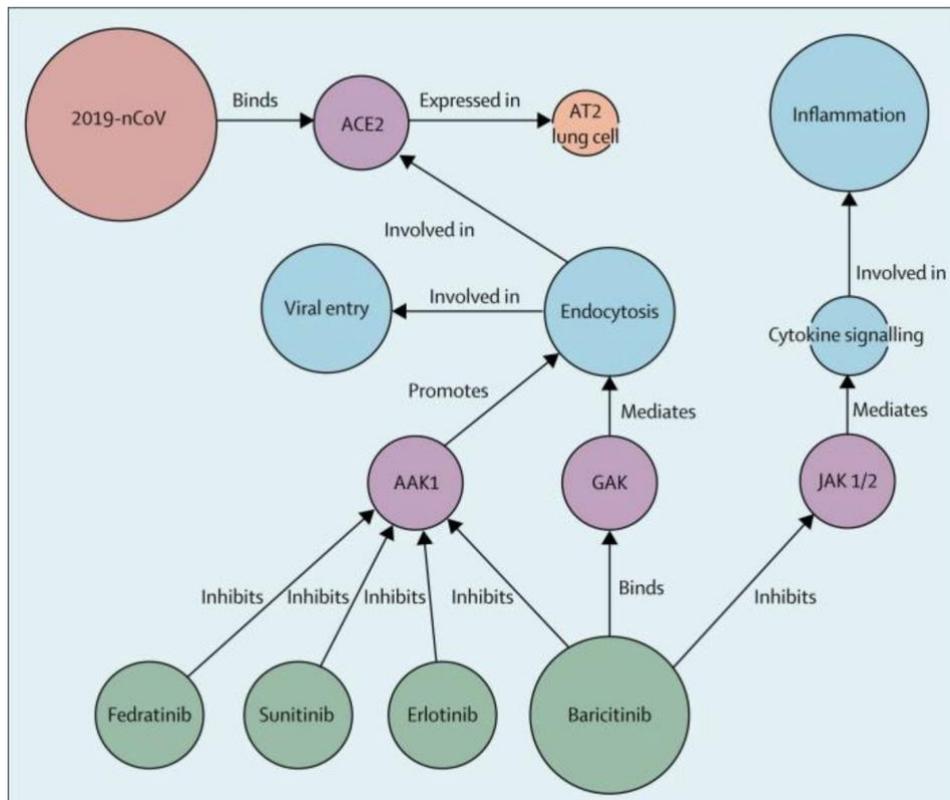


Figura 10. Esquema que refleja el papel del Baricitinib en la patogenia de la COVID-19. AAK1= Kinasa asociada a AP-2 .GAK=kinasa asociada a ciclina. JAK1/2=kinasa de janus. Imagen obtenida de Richardson P y cols. (2020) (101).

Sin embargo, surge cierta preocupación en cuanto a su perfil de seguridad. El interferón es una de las respuestas inmunitarias innatas más poderosas para prevenir la replicación viral durante las primeras fases de la infección. La transcripción a través de la vía de señalización JAK-STAT y activada por interferones, conduce a la regulación positiva de muchos genes controlados por interferón que acaban rápidamente con los virus en las células infectadas. La importancia de este mecanismo de defensa se confirma por el hecho de que la mayoría de los virus han desarrollado estrategias para contrarrestar los efectos de los interferones, constituyendo determinantes de la virulencia muy importantes. En consecuencia, el bloqueo de la señal JAK-STAT por baricitinib produce un deterioro de la respuesta antiviral mediada por interferón, con un posible efecto facilitador sobre la evolución de la infección por SARS-CoV-2. Además, se cree que este mecanismo está implicado en un mayor riesgo de infección por herpes zoster y simple(102).

En cuanto a la evidencia científica de este posible tratamiento, en un estudio piloto abierto, no aleatorizado, con 12 pacientes, la terapia combinada de baricitinib + lopinavir/ritonavir vs terapia estándar mejoró significativamente los parámetros clínicos y de laboratorio. Ninguno de los pacientes requirió el apoyo de UCI, no se produjeron eventos adversos y la mayoría fueron dados de alta (103). Hay que tener en cuenta que aunque el estudio haya encontrado evidencia de eficacia, al tratarse de una muestra tan pequeña se compromete su validez externa. Sin embargo, los resultados son prometedores para continuar con ensayos clínicos que abarquen más pacientes candidatos a la terapia. Por otro lado, otros autores consideran que puede no ser un fármaco ideal, ya que para iniciarlo el paciente no debe tener linfopenia ni neutropenia. Además puede aumentar la incidencia de anemia y, como se mencionó antes, aumentar el riesgo de coinfección y reactivación de infecciones latentes(104).

En conclusión, más allá de la oportunidad de bloquear directamente la penetración del SARS-CoV-2 en la célula, el uso de baricitinib en pacientes susceptibles con manifestaciones de gravedad por COVID-19 debe considerarse con extrema precaución.

● 4.3 Remdesivir

Hasta ahora, hemos mencionado tratamientos que se suelen emplear para otras patologías no infecciosas. Uno de los principales objetivos de la comunidad científica es

desarrollar fármacos antimicrobianos con una eficacia alta para tratar la COVID-19. Sin embargo, hasta la fecha no se ha probado la eficacia de ningún tratamiento antiviral específico para el SARS-CoV-2. Uno de los principales candidatos para formar parte de la pauta recomendada para tratar la infección es el **Remdesivir** (105).

Se trata de un fármaco que forma parte del grupo de análogos de nucleótido, el cual inhibe la polimerasa viral. Su mecanismo de acción se basa en unirse a la polimerasa viral, que va a incorporarlo al RNA como si fuese un nucleótido más. Sin embargo, el Remdesivir no cumple la funcionalidad normal de un nucleótido y termina por detener la replicación del RNA viral (**Figura 11**).

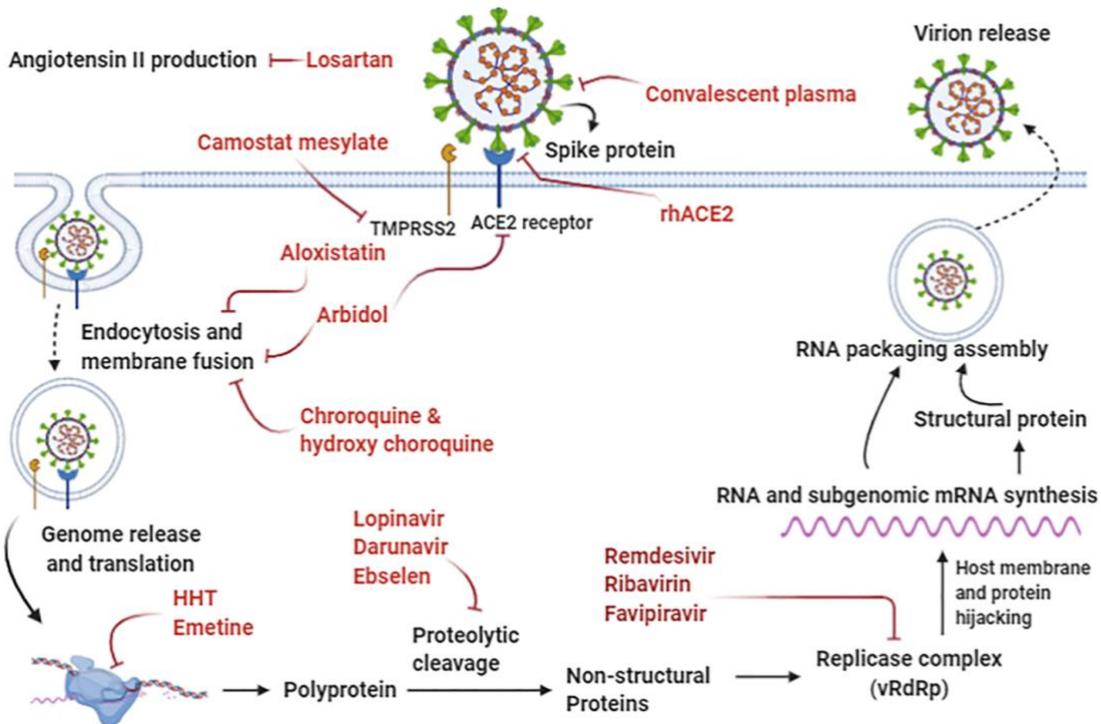


Figura 11. Mecanismo de entrada a la célula del SARS-CoV-2 y dianas de posibles tratamientos en el ciclo de replicación del virus. Se representan la enzima convertidora de la angiotensina-2 (ACE2), homoharringtonina (HHT), ACE-2 humana recombinante (rhACE2), serín-proteasa-transmembrana-2 (TMPRSS2) y polimerasa viral dependiente de RNA (vRdRp). Imagen obtenida de Bakhshandeh B y cols. (2020) (52).

En cuanto a la evidencia científica de su eficacia, ya existen multitud de ensayos que la están evaluando (106–108). Sus actividades virales contra el SARS-CoV-2 se han demostrado en estudios *in vitro* e *in vivo*. Remdesivir se ha utilizado en varios países como tratamiento de emergencia para pacientes con COVID-19, y algunos pacientes mostraron mejores resultados clínicos. Un ejemplo representativo de este caso es un

estudio observacional abierto que analizó una pequeña cohorte de pacientes (n = 61) que estaban gravemente enfermos debido al SARS-CoV-2. La cohorte de pacientes presentó una mejoría clínica con la terapia con remdesivir. Sin embargo, el estudio no demostró causalidad (109,110).

En abril de 2021 no se dispone todavía de una evidencia clara del beneficio que constituye el tratamiento con remdesivir de manera generalizada. El informe publicado por el Ministerio de Sanidad de España en ese mismo mes concluye que los datos disponibles no permiten asegurar que el tratamiento con remdesivir aporta un beneficio en términos de mortalidad. El perfil de seguridad tampoco está completamente caracterizado y no se puede descartar la aparición de hepatotoxicidad o nefrotoxicidad. Sin embargo, en tanto no se disponga de más información, y en las actuales circunstancias de excepcionalidad y escasez de alternativas eficaces, el uso de remdesivir podría ser aceptable en pacientes que precisen oxígeno de bajo flujo y estén aún en una fase inicial de la enfermedad, sin que pueda asegurarse por el momento la relevancia de su beneficio clínico. Los resultados preliminares deben ser validados con urgencia mediante ensayos aleatorizados y controlados para obtener evidencia más concluyente sobre la eficacia y seguridad del remdesivir en COVID-19 (111).

● 4.4 ACE-2 soluble (sACE2)

La proteína ACE-2 soluble (**sACE2**) es una variante diseñada por ingeniería genética del receptor ACE-2 con su dominio transmembrana eliminado, de modo que se une a la proteína S del SARS-CoV-2 y la neutraliza (112). Actúa como un receptor señuelo y mediante inhibición competitiva, impide la unión del SARS-CoV-2 a los receptores unidos a la membrana, disminuyendo así la entrada del virus en el tejido (**Figura 12**). La farmacodinamia y la farmacocinética se han estudiado previamente en individuos sanos en ensayos clínicos piloto y su uso es seguro en sujetos (113). Anteriormente, en un ensayo clínico piloto en sujetos con síndrome de distress respiratorio agudo sin infección por SARS-CoV-2, se demostró que sACE2 era bien tolerada, allanando el camino para su uso futuro en otras afecciones (114).

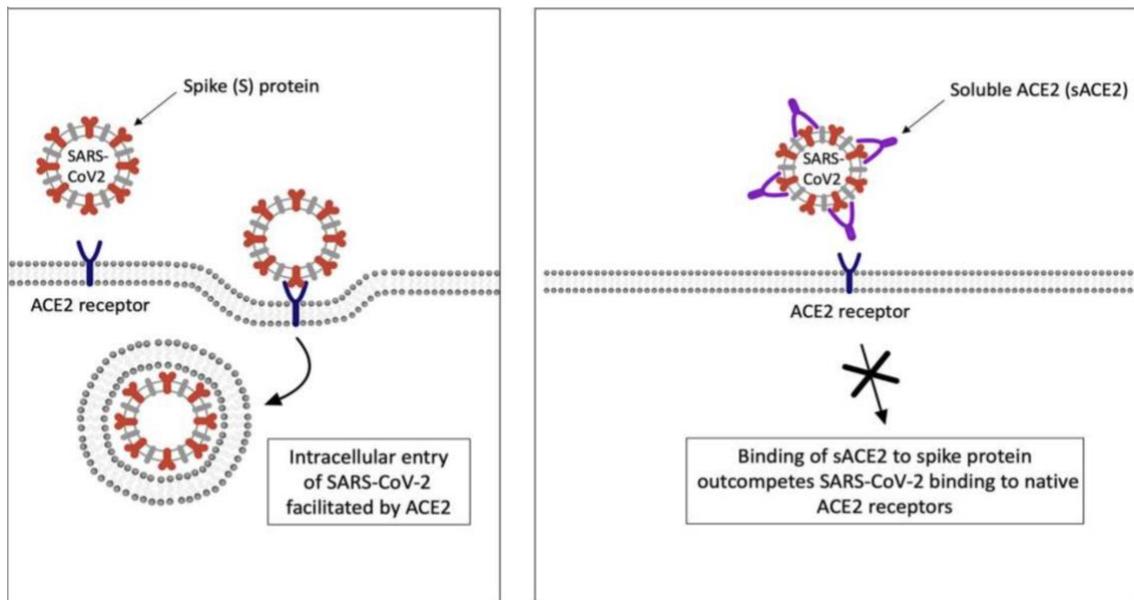


Figura 12. Izquierda: la entrada a la célula del virus SARS-CoV-2 se ve facilitada por los receptores ACE-2 endógenos en la superficie celular. Derecha: variantes diseñadas de ACE2 soluble (sACE2) con alta afinidad por la proteína Spike del SARS-CoV-2 podrían minimizar la infección al aumentar la disponibilidad de ACE-2 nativo en las superficies celulares y potencialmente disminuir la inflamación asociada con la infección por COVID-19. Imagen obtenida de Krishnamurthy S y cols. (2021) (115).

Como explicamos en el apartado de terapia de supresión de andrógenos, existen evidencias de que unos niveles bajos de receptor ACE-2 en el tejido pulmonar se asocian a peor pronóstico de la infección debido a la predisposición a desarrollar un cuadro de distress respiratorio agudo. Se están explorando numerosos métodos para aumentar los niveles de ACE-2 y así disminuir los niveles de Ang II y prevenir los efectos inflamatorios de la infección por COVID-19 (115). Actualmente es una terapia en la que se depositan muchas esperanzas. Sin embargo, se necesitan más ensayos clínicos para demostrar la eficacia de sACE2 en la infección por COVID-19.

● 4.5 Inhibidores de la enzima GLP-1

Como mencionamos en el apartado de variantes de DPP4, es posible que la COVID-19 pueda ser tratada con antidiabéticos convencionales. Esto es debido a la íntima relación de esta proteína con algunas incretinas, degradando algunas como GLP-1 o ADA. Se cree que el bloqueo farmacológico de estas incretinas puede llegar a influir en la expresión de DPP4, interfiriendo así en la segunda vía de entrada que tiene el SARS-CoV-2 a la célula.

El nivel de evidencia actual permite recomendar su uso en el control de la diabetes en pacientes con COVID-19. Sin embargo, no se recomienda iniciar o mantener esta terapia en situaciones agudas o críticas (como COVID-19 grave) porque tardarán un

tiempo en ser efectivas, debido al aumento lento de la titulación, además de poder provocar náuseas y vómitos (116). Tampoco existe ningún estudio que haya demostrado su eficacia en cuanto al control de la enfermedad y sus manifestaciones graves.

5. CONCLUSIONES

Tras esta revisión bibliográfica de las variantes genéticas que se han asociado a manifestaciones graves por COVID-19, podemos sacar varias conclusiones:

- El estudio de estas variantes contribuye a un mayor entendimiento del curso de la pandemia hasta ahora, facilitando la predicción de futuros contagios y pudiendo actuar en consecuencia con medidas preventivas.
- Resulta de vital importancia para el investigador elegir conscientemente el tipo de aproximación que se va a realizar a la hora de estudiar una variante, conociendo las ventajas e inconvenientes de cada una. De esta manera se evitarán sesgos y conclusiones erróneas o poco significativas.
- Nuestra mayor comprensión de los mecanismos biológicos subyacentes a la infección podría orientar el desarrollo de terapias dirigidas al nuevo patógeno.
- El esclarecimiento de los determinantes genéticos de la gravedad de la COVID-19 permitiría la estratificación de los individuos según el riesgo, de modo que aquellos clasificados como de alto riesgo serían priorizados en cuanto a las indicaciones terapéuticas y a la inmunización.
- Debería ser prioritario continuar con este tipo de estudios ya que la mayoría de ellos, pese a arrojar resultados prometedores, no disponen del suficiente nivel de evidencia para sacar conclusiones fiables.

6. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer especialmente su labor como tutora a la doctora Maria Elena Cabezón Navarro, por guiarme en un mundo nuevo para mi, que son los estudios genéticos. Además de llevar a cabo con éxito la difícil tarea de conducir a un alumno como yo, lo ha hecho de una manera cercana, clara y brillante. Atendiendo en todo momento mis necesidades y ayudándome en los aspectos más específicos de su campo.

Para continuar quiero agradecer el resultado de este trabajo a todas las personas que me han impulsado hasta aquí. Desde mi familia y mis amigos de toda la vida que me han visto crecer y formarme hasta los profesores que en secundaria ya empezaban a sembrar una semilla por la biología que eclosionaría finalmente a lo largo de mi formación en medicina (Don Javier, Marisa Peña, Pablo Cuesta, Pablo San Vicente y más profesores que aún impartiendo otras materias consiguieron inspirarme). A mi abuela Maribel, que estuvo trabajando conmigo desde que no sabía escribir hasta que finalmente obtuvo un estudiante capaz de hacer lo que se ha propuesto.

Me gustaría hacer una especial mención a todas aquellas personas que han estado conmigo, dotándome de un apoyo incondicional pese a todas las presiones que he podido sufrir a lo largo de la carrera y su consiguiente irascibilidad. En concreto, este tramo final del grado en el que debido a la situación excepcional que hemos vivido, quizá, haya sentido que no he podido exprimir al máximo una de las etapas más maravillosas de toda mi vida. Sin embargo todo ha sido muchísimo más llevadero a su lado. Gracias al “hood”, a los “shuwoyman” y a todos mis compañeros que algún día me enseñaron algo.

Finalmente, me gustaría destacar a 4 personas que no han estudiado conmigo, y que no estuvieron desde el principio. De hecho, llegaron en el ecuador de mi vida universitaria, pero que, para mí, son un pilar básico de mi entorno social. Ellos son Ibón Iglesias Juárez, Miguel Álvarez Rubio, Jesús Moreno Iglesias y Pedro Enríquez Gómez, estas almas han supuesto para mi vida fuera del contexto académico, un soplo de aire fresco cuando todo se cernía oscuro y no era capaz de ver la luz al final del túnel. Por ello, os doy las gracias, a vosotros y a todas las personas que se han mantenido a mi lado y han hecho que este sueño se haya podido hacer realidad.

GRACIAS.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cited 2021 Mar 25]. Available from: <https://covid19.who.int>
2. Tyrrell DAJ, Bynoe ML. Cultivation of a Novel Type of Common-cold Virus in Organ Cultures. *Br Med J*. 1965 Jun 5;1(5448):1467–70.
3. Holmes KV. CORONAVIRUSES (CORONAVIRIDAE). *Encycl Virol*. 1999;291–8.
4. Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, Lau CCY, Tsang AKL, Lau JHN, et al. Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus. *J Virol*. 2012 Apr;86(7):3995–4008.
5. Taxonomy [Internet]. [cited 2021 Mar 25]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
6. Woo PCY, Huang Y, Lau SKP, Yuen K-Y. Coronavirus Genomics and Bioinformatics Analysis. *Viruses*. 2010 Aug 24;2(8):1804–20.
7. CDC. MERS-CoV Photos [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [cited 2021 Mar 29]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/mers/photos.html>
8. Lim YX, Ng YL, Tam JP, Liu DX. Human Coronaviruses: A Review of Virus–Host Interactions. *Diseases* [Internet]. 2016 Jul 25 [cited 2021 Apr 8];4(3). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5456285/>
9. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Lond Engl*. 2020 Feb 15;395(10223):507–13.
10. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med*. 2020;174–84.
11. Nikpouraghdam M, Jalali Farahani A, Alishiri G, Heydari S, Ebrahimnia M, Samadinia H, et al. Epidemiological characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients in IRAN: A single center study. *J Clin Virol*. 2020 Jun;127:104378.
12. Poutanen SM, Low DE, Henry B, Finkelstein S, Rose D, Green K, et al. Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. *N Engl J Med*. 2003 May 15;348(20):1995–2005.
13. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020 Mar 19;382(12):1177–9.
14. Zhang Q, Bastard P, Liu Z, Le Pen J, Moncada-Velez M, Chen J, et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 2020 Oct 23;370(6515).
15. Bonanad C, García-Blas S, Tarazona-Santabalbina F, Sanchis J, Bertomeu-González V, Fácila L, et al. The Effect of Age on Mortality in Patients With COVID-19: A Meta-Analysis With 611,583 Subjects. *J Am Med Dir Assoc*. 2020 Jul 1;21(7):915–8.

16. Tian C, Hromatka BS, Kiefer AK, Eriksson N, Noble SM, Tung JY, et al. Genome-wide association and HLA region fine-mapping studies identify susceptibility loci for multiple common infections. *Nat Commun.* 2017 Sep 19;8(1):599.
17. International HIV Controllers Study, Pereyra F, Jia X, McLaren PJ, Telenti A, de Bakker PIW, et al. The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. *Science.* 2010 Dec 10;330(6010):1551–7.
18. The COVID-19 Host Genetics Initiative. The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic. *Eur J Hum Genet.* 2020 Jun;28(6):715–8.
19. COVID-19 Host Genetics Initiative [Internet]. [cited 2021 Apr 13]. Available from: <https://www.covid19hg.org/publications/>
20. Brian DA, Baric RS. Coronavirus genome structure and replication. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2005;287:1–30.
21. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell.* 2020 Apr 16;181(2):281-292.e6.
22. Wang M-Y, Zhao R, Gao L-J, Gao X-F, Wang D-P, Cao J-M. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:587269.
23. poliproteína viral | Real Academia de Ingeniería [Internet]. [cited 2021 Apr 13]. Available from: <http://diccionario.raing.es/es/lema/poliprote%C3%ADna-viral>
24. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020 Oct 1;1866(10):165878.
25. K N, Y M, Da PK, C K, T I, S W, et al. Structure and assembly of the spliceosomal snRNPs. Novartis Medal Lecture. *Biochem Soc Trans.* 2001 May 1;29(Pt 2):15–26.
26. Parks JM, Smith JC. How to Discover Antiviral Drugs Quickly. *N Engl J Med.* 2020 Jun 4;382(23):2261–4.
27. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet Lond Engl.* 2020 Feb 22;395(10224):565–74.
28. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature.* 2020 May;581(7807):215–20.
29. Cabezón E, Arechaga I. Drug Weaponry to Fight Against SARS-CoV-2. *Front Mol Biosci* [Internet]. 2020 Aug 25 [cited 2021 May 28];7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7477106/>
30. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 3]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
31. 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.

32. Li Y-D, Chi W-Y, Su J-H, Ferrall L, Hung C-F, Wu T-C. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. *J Biomed Sci.* 2020 Dec;27(1):1–23.
33. Coronavirus Replication Cycle [Internet]. [cited 2021 May 28]. Available from: <https://app.biorender.com/biorender-templates/t-5e56d97d1b689000850f8f93-coronavirus-replication-cycle>
34. Taefehshokr N, Taefehshokr S, Hemmat N, Heit B. Covid-19: Perspectives on Innate Immune Evasion. *Front Immunol* [Internet]. 2020 Sep 30 [cited 2021 May 3];11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7554241/>
35. Beck DB, Aksentijevich I. Susceptibility to severe COVID-19. *Science.* 2020 Oct 23;370(6515):404–5.
36. Rahmani-Kukia N, Abbasi A, Pakravan N, Hassan ZM. Measurement of oxidized albumin: An opportunity for diagnoses or treatment of COVID-19. *Bioorganic Chem.* 2020 Dec;105:104429.
37. Guo X, Chen Z, Xia Y, Lin W, Li H. Investigation of the genetic variation in ACE2 on the structural recognition by the novel coronavirus (SARS-CoV-2). *J Transl Med.* 2020 Aug 24;18(1):321.
38. Kikkert M. Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses. *J Innate Immun.* 2020;12(1):4–20.
39. Daffis S, Szretter KJ, Schriewer J, Li J, Youn S, Errett J, et al. 2'-O methylation of the viral mRNA cap evades host restriction by IFIT family members. *Nature.* 2010 Nov 18;468(7322):452–6.
40. Totura AL, Baric RS. SARS coronavirus pathogenesis: host innate immune responses and viral antagonism of interferon. *Curr Opin Virol.* 2012 Jun;2(3):264–75.
41. Knaap RCM, Fernández-Delgado R, Dalebout TJ, Oreshkova N, Bredenbeek PJ, Enjuanes L, et al. The deubiquitinating activity of Middle East respiratory syndrome coronavirus papain-like protease delays the innate immune response and enhances virulence in a mouse model. *bioRxiv.* 2019 Aug 29;751578.
42. Nelemans T, Kikkert M. Viral Innate Immune Evasion and the Pathogenesis of Emerging RNA Virus Infections. *Viruses.* 2019 Oct 18;11(10).
43. Colhoun HM, McKeigue PM, Davey Smith G. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet Lond Engl.* 2003 Mar 8;361(9360):865–72.
44. Rodríguez Esparragón F, Rodríguez Pérez JC, García Bello MA. Guía práctica a los estudios de asociación genética: Consideraciones sobre su utilidad clínica. *Nefrol Madr.* 2009;29(6):582–8.
45. Group TSC-19 G. Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Jun 17 [cited 2021 May 15]; Available from: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2020283>
46. Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility | medRxiv [Internet]. [cited 2021 May 16]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.11.20031096v2>
47. The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic | *European Journal of Human Genetics* [Internet]. [cited 2021 Apr 12]. Available from:

<https://www.nature.com/articles/s41431-020-0636-6>

48. Prüfer K, Filippo C de, Grote S, Mafessoni F, Korlević P, Hajdinjak M, et al. A high-coverage Neanderthal genome from Vindija Cave in Croatia. *Science*. 2017 Nov 3;358(6363):655–8.
49. Fig. 3: Geographical distribution of the Neanderthal core haplotype that confers risk for severe COVID-19. | *Nature*. [cited 2021 May 15]; Available from: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2818-3/figures/3>
50. 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.
51. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med*. 2009 Jul 21;6(7):e1000100.
52. Bakhshandeh B, Sorboni SG, Javanmard A-R, Mottaghi SS, Mehrabi M, Sorouri F, et al. Variants in ACE2; potential influences on virus infection and COVID-19 severity. *Infect Genet Evol*. 2021 Jun;90:104773.
53. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis - PubMed [Internet]. [cited 2021 May 16]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22421340/>
54. Georgakis MK, Malik R, Gill D, Franceschini N, Sudlow CLM, Dichgans M, et al. Interleukin-6 Signaling Effects on Ischemic Stroke and Other Cardiovascular Outcomes: A Mendelian Randomization Study. *Circ Genomic Precis Med*. 2020 Jun;13(3):e002872.
55. 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*. 2020 Jun 5;12(11):10087–98.
56. Ichikawa I, Harris RC. Angiotensin actions in the kidney: renewed insight into the old hormone. *Kidney Int*. 1991 Oct;40(4):583–96.
57. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003 Nov 27;426(6965):450–4.
58. Hofmann H, Pyrc K, van der Hoek L, Geier M, Berkhout B, Pöhlmann S. Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 May 31;102(22):7988–93.
59. Benetti E, Tita R, Spiga O, Ciolfi A, Birolo G, Bruselles A, et al. ACE2 gene variants may underlie interindividual variability and susceptibility to COVID-19 in the Italian population. *Eur J Hum Genet*. 2020 Nov;28(11):1602–14.
60. Chaudhary M. COVID-19 susceptibility: potential of ACE2 polymorphisms. *Egypt J Med Hum Genet* [Internet]. 2020 [cited 2021 May 18];21(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7502288/>
61. Wooster L, Nicholson CJ, Sigurslid HH, Cardenas CLL, Malhotra R. Polymorphisms in the ACE2 Locus Associate with Severity of COVID-19 Infection. *medRxiv*. 2020 Jun 22;2020.06.18.20135152.

62. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020 Aug 20;182(4):812-827.e19.
63. Plante JA, Liu Y, Liu J, Xia H, Johnson BA, Lokugamage KG, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature*. 2021 Apr;592(7852):116–21.
64. Wu K, Werner AP, Moliva JJ, Koch M, Choi A, Stewart-Jones GBE, et al. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. *BioRxiv Prepr Serv Biol*. 2021 Jan 25;
65. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*. 2021 Apr 9;372(6538).
66. Walensky RP, Walke HT, Fauci AS. SARS-CoV-2 Variants of Concern in the United States—Challenges and Opportunities. *JAMA*. 2021 Mar 16;325(11):1037.
67. Verghese M, Jiang B, Iwai N, Mar M, Sahoo MK, Yamamoto F, et al. Identification of a SARS-CoV-2 Variant with L452R and E484Q Neutralization Resistance Mutations. *J Clin Microbiol*. 2021 May 5;
68. Chen J, Gao K, Wang R, Wei G-W. Revealing the threat of emerging SARS-CoV-2 mutations to antibody therapies. *BioRxiv Prepr Serv Biol*. 2021 Apr 12;
69. Yu J, Yu J, Mani R-S, Cao Q, Brenner CJ, Cao X, et al. An Integrated Network of Androgen Receptor, Polycomb, and TMPRSS2-ERG Gene Fusions in Prostate Cancer Progression. *Cancer Cell*. 2010 May 18;17(5):443–54.
70. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*. 2020 Apr 1;14(2):185–92.
71. 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.
72. Yu J, Ouyang W, Chua MLK, Xie C. SARS-CoV-2 Transmission in Patients With Cancer at a Tertiary Care Hospital in Wuhan, China. *JAMA Oncol*. 2020 Jul 1;6(7):1108–10.
73. Hou Y, Zhao J, Martin W, Kallianpur A, Chung MK, Jehi L, et al. New insights into genetic susceptibility of COVID-19: an ACE2 and TMPRSS2 polymorphism analysis. *BMC Med*. 2020 Jul 15;18(1):216.
74. Schuler BA, Habermann AC, Plosa EJ, Taylor CJ, Jetter C, Kapp ME, et al. Age-determined expression of priming protease TMPRSS2 and localization of SARS-CoV-2 infection in the lung epithelium. *bioRxiv*. 2020 Aug 3;2020.05.22.111187.
75. Chen X. Biochemical properties of recombinant prolyl dipeptidases DPP-IV and DPP8. *Adv Exp Med Biol*. 2006;575:27–32.
76. Wang N, Shi X, Jiang L, Zhang S, Wang D, Tong P, et al. Structure of MERS-CoV spike receptor-binding domain complexed with human receptor DPP4. *Cell Res*. 2013 Aug;23(8):986–93.
77. Solerte SB, Di Sabatino A, Galli M, Fiorina P. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibition in COVID-19. *Acta Diabetol*. 2020 Jul;57(7):779–83.

78. Zeberg H, Pääbo S. The MERS-CoV receptor gene is among COVID-19 risk factors inherited from Neandertals. *bioRxiv*. 2020 Dec 12;2020.12.11.422139.
79. van der Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J, van den Heuvel G, Mantere T, Kersten S, et al. Presence of Genetic Variants Among Young Men With Severe COVID-19. *JAMA*. 2020 Aug 18;324(7):663–73.
80. Moreno-Eutimio MA, López-Macías C, Pastelin-Palacios R. Bioinformatic analysis and identification of single-stranded RNA sequences recognized by TLR7/8 in the SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV genomes. *Microbes Infect*. 2020 May 1;22(4):226–9.
81. Cervantes-Barragan L, Züst R, Weber F, Spiegel M, Lang KS, Akira S, et al. Control of coronavirus infection through plasmacytoid dendritic-cell-derived type I interferon. *Blood*. 2007 Feb 1;109(3):1131–7.
82. Channappanavar R, Fehr AR, Zheng J, Wohlford-Lenane C, Abrahante JE, Mack M, et al. IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes. *J Clin Invest*. 2019 Jul 29;129(9):3625–39.
83. Anastassopoulou C, Gkizarioti Z, Patrinos GP, Tsakris A. Human genetic factors associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease severity. *Hum Genomics*. 2020 Oct 22;14(1):40.
84. Atkins JL, Masoli JAH, Delgado J, Pilling LC, Kuo C-L, Kuchel GA, et al. Preexisting Comorbidities Predicting COVID-19 and Mortality in the UK Biobank Community Cohort. *J Gerontol Ser A*. 2020 Oct 15;75(11):2224–30.
85. Muñoz SS, Garner B, Ooi L. Understanding the Role of ApoE Fragments in Alzheimer’s Disease. *Neurochem Res*. 2019 Jun;44(6):1297–305.
86. Kuo C-L, Pilling LC, Atkins JL, Kuchel GA, Melzer D. ApoE e2 and aging-related outcomes in 379,000 UK Biobank participants. *Aging*. 2020 Jun 8;12(12):12222–33.
87. Kuo C-L, Pilling LC, Atkins JL, Masoli JAH, Delgado J, Kuchel GA, et al. APOE e4 Genotype Predicts Severe COVID-19 in the UK Biobank Community Cohort. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2020 Oct 15;75(11):2231–2.
88. Lin M, Tseng H-K, Trejaut JA, Lee H-L, Loo J-H, Chu C-C, et al. Association of HLA class I with severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *BMC Med Genet*. 2003 Sep 12;4(1):9.
89. Nguyen A, David JK, Maden SK, Wood MA, Weeder BR, Nellore A, et al. Human Leukocyte Antigen Susceptibility Map for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *J Virol* [Internet]. 2020 Jun 16 [cited 2021 May 23];94(13). Available from: <https://jvi.asm.org/content/94/13/e00510-20>
90. Wang F, Huang S, Gao R, Zhou Y, Lai C, Li Z, et al. Initial whole-genome sequencing and analysis of the host genetic contribution to COVID-19 severity and susceptibility. *Cell Discov*. 2020 Nov 10;6(1):1–16.
91. Novelli A, Andreani M, Biancolella M, Liberatoscioli L, Passarelli C, Colona VL, et al. HLA allele frequencies and susceptibility to COVID-19 in a group of 99 Italian patients. *HLA*. 2020 Nov;96(5):610–4.
92. Cheng Y, Cheng Y, Cheng G, Chui CH, Lau FY, Chan PKS, et al. ABO blood group and susceptibility to severe acute respiratory syndrome. *JAMA*. 2005 Mar 23;293(12):1450–1.
93. Wu Y, Feng Z, Li P, Yu Q. Relationship between ABO blood group distribution and clinical

- characteristics in patients with COVID-19. *Clin Chim Acta*. 2020 Oct 1;509:220–3.
94. Zietz M, Zucker J, Tatonetti NP. Testing the association between blood type and COVID-19 infection, intubation, and death. *medRxiv* [Internet]. 2020 Sep 10 [cited 2021 May 23]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7276013/>
 95. Everitt AR, Clare S, Pertel T, John SP, Wash RS, Smith SE, et al. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. *Nature*. 2012 Apr;484(7395):519–23.
 96. Wang Z, Zhang A, Wan Y, Liu X, Qiu C, Xi X, et al. Early hypercytokinemia is associated with interferon-induced transmembrane protein-3 dysfunction and predictive of fatal H7N9 infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jan 14;111(2):769–74.
 97. Tomlins SA, Laxman B, Varambally S, Cao X, Yu J, Helgeson BE, et al. Role of the TMPRSS2-ERG Gene Fusion in Prostate Cancer. *Neoplasia* N Y N. 2008 Feb;10(2):177–88.
 98. Bhowmick NA, Oft J, Dorff T, Pal S, Agarwal N, Figlin RA, et al. COVID-19 and androgen-targeted therapy for prostate cancer patients. *Endocr Relat Cancer*. 2020 Sep;27(9):R281–92.
 99. Cheng H, Wang Y, Wang G-Q. Organ-protective effect of angiotensin-converting enzyme 2 and its effect on the prognosis of COVID-19. *J Med Virol*. 2020 Jul;92(7):726–30.
 100. Gutiérrez-Lorenzo M, CuadrosMartínez CM. Baricitinib en el tratamiento de infección por SARS-CoV-2. *Rev Esp Quimioter*. 2020;33(4):294–5.
 101. Richardson P, Griffin I, Tucker C, Smith D, Oechsle O, Phelan A, et al. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease. *Lancet Lond Engl*. 2020;395(10223):e30–1.
 102. Smolen JS, Genovese MC, Takeuchi T, Hyslop DL, Macias WL, Rooney T, et al. Safety Profile of Baricitinib in Patients with Active Rheumatoid Arthritis with over 2 Years Median Time in Treatment. *J Rheumatol*. 2019 Jan;46(1):7–18.
 103. Cantini F, Niccoli L, Matarrese D, Nicastrì E, Stobbione P, Goletti D. Baricitinib therapy in COVID-19: A pilot study on safety and clinical impact. *J Infect*. 2020 Aug;81(2):318–56.
 104. Praveen D, Puvvada RC, M VA. Janus kinase inhibitor baricitinib is not an ideal option for management of COVID-19. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 May;55(5):105967.
 105. Mehta N, Mazer-Amirshahi M, Alkindi N, Pourmand A. Pharmacotherapy in COVID-19; A narrative review for emergency providers. *Am J Emerg Med*. 2020 Jul 1;38(7):1488–93.
 106. Gilead Sciences. A Phase 3 Randomized Study to Evaluate the Safety and Antiviral Activity of Remdesivir (GS-5734™) in Participants With Severe COVID-19 [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2020 Dec [cited 2021 May 27]. Report No.: NCT04292899. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04292899>.
 107. National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). A Multicenter, Adaptive, Randomized Blinded Controlled Trial of the Safety and Efficacy of Investigational Therapeutics for the Treatment of COVID-19 in Hospitalized Adults [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2020 Dec [cited 2021 May 27]. Report No.: NCT04280705. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04280705>.
 108. kamran sultan mehmoood. Role of Investigational Therapies Alone or in Combination to Treat Moderate, Severe and Critical COVID-19 [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2020 Jul [cited 2021 May 27]. Report No.: NCT04492501. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04492501>.

109. Augustin M, Hallek M, Nitschmann S. Remdesivir bei Patienten mit schwerer COVID-19. *Internist*. 2020 Apr 24;1–2.
110. Frediansyah A, Nainu F, Dhama K, Mudatsir M, Harapan H. Remdesivir and its antiviral activity against COVID-19: A systematic review. *Clin Epidemiol Glob Health*. 2021;9:123–7.
111. Informe de Posicionamiento Terapéutico de remdesivir (Veklury®) en el tratamiento de la COVID-19. :12.
112. Chan KK, Dorosky D, Sharma P, Abbasi SA, Dye JM, Kranz DM, et al. Engineering human ACE2 to optimize binding to the spike protein of SARS coronavirus 2. *Science*. 2020 Sep 4;369(6508):1261–5.
113. Haschke M, Schuster M, Poglitsch M, Loibner H, Salzberg M, Bruggisser M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in healthy human subjects. *Clin Pharmacokinet*. 2013 Sep;52(9):783–92.
114. Khan A, Benthin C, Zeno B, Albertson TE, Boyd J, Christie JD, et al. A pilot clinical trial of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Lond Engl*. 2017 Sep 7;21(1):234.
115. Krishnamurthy S, Lockey RF, Kolliputi N. Soluble ACE2 as a potential therapy for COVID-19. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2021 Mar 1;320(3):C279–81.
116. Lim S, Bae JH, Kwon H-S, Nauck MA. COVID-19 and diabetes mellitus: from pathophysiology to clinical management. *Nat Rev Endocrinol*. 2020 Nov 13;1–20.