УДК: 616.89:578.834]-036.1-092:577.152.34
DOI: 10.15587/2519-4798.2025.348232

ТКАНИННО-СПЕЦИФІЧНА eQTL-МОДУЛЬОВАНА РЕГУЛЯЦІЯ ВАРІАНТУ TMPRSS2 (RS12329760) ТА ЙОГО ПОТЕНЦІЙНА РОЛЬ У СПРИЙНЯТЛИВОСТІ ДО COVID-19

М. О. Соколенко, Л. П. Сидорчук

The aim of research *– to analyze tissue-associated expression of the TMPRSS2 gene (rs12329760) using quantitative expression loci and assess its potential contribution to the formation of individual susceptibility to COVID-19.*

Material and methods. *Genotyping of TMPRSS2 (rs12329760) was performed for 48 patients with mild COVID-19 and 72 patients with moderate and severe disease. Peripheral blood leukocytes were used to isolate genomic DNA, and real-time polymerase chain reaction was used to genotyping gene polymorphisms. eQTL analysis was applied based on publicly available data from the QTLbase database to establish tissue-specific transcriptional effects of the TMPRSS2 variant (rs12329760).*

Results. *It was found that TMPRSS2 (rs12329760) showed the highest number of transcripts in prostate tissue. A total of 80 eQTLs associated with rs12329760 were identified, all of which were driven exclusively by cis-regulatory mechanisms, with these associations distributed across 19 tissues and involving regulatory interactions with 18 genes. The T allele of rs12329760 was associated with significantly increased expression of MX1, MX2, and AP001610.1 in CD4$^+$ T lymphocytes, circulating monocytes, and B lymphocytes. In contrast, the C allele was associated with increased expression of FAM3B and BACE2 in CD16$^+$ neutrophils and CD14$^+$ monocytes. Opposing regulatory effects were also found: rs12329760 was associated with transcriptional suppression of C2CD2, PRDM15, TMPRSS3, and UMODL1 in CD4$^+$ T cells and B lymphocytes, predominantly mediated by the T allele.*

Conclusions. *The TMPRSS2 gene (rs12329760) has broad tissue-specific regulatory activity, enhancing the expression of genes involved in the formation of the human antiviral response, while involving mechanisms related to the complement system and serine protease. These transcriptional effects suggest that rs12329760 may serve as a functional modifier of susceptibility and immune response in COVID-19*

Keywords: *COVID-19, TMPRSS2 (rs12329760), genes, expression quantitative trait loci (eQTL), polymorphism*

How to cite:
Sokolenko, M., Sydorchuk, L. (2025). eQTL-driven tissue-specific modulation by TMPRSS2 (RS12329760) and its potential role in COVID-19 susceptibility. ScienceRise: Medical Science, 4 (65), 24–29. http://doi.org/10.15587/2519-4798.2025.348232

© The Author(s) 2025
This is an open access article under the Creative Commons CC BY license

1. Вступ

Пандемія коронавірусної хвороби 2019 року (COVID-19), спричинена тяжким гострим респіраторним синдромом коронавірусу 2 (SARS-CoV-2), спричинила значну захворюваність та смертність, а також надзвичайні соціально-економічні потрясіння в усьому світі [1, 2]. Після потрапляння в організм людини SARS-CoV-2 взаємодіє з клітинними білками респіраторних епітеліальних клітин, активуючи трансмембранні серинові протеази TMPRSS2 та HAT, які можуть розщеплювати та активувати шипоподібний білок (S) вірусу для його злиття з мембраною клітини. Однак механізм, що лежить в основі посилення інфекції, незрозумілий, а роль протеолізу ACE2 у TMPRSS2/HAT-залежній активації SARS-S невідома [3]. Варто зазначити, що трансмембранна серинова протеаза 2 відіграє подвійну роль у патогенезі розвитку коронавірусної хвороби, оскільки вона також розщеплює ACE2, що збільшує поглинання віріонів SARS-CoV-2, при цьому активність даного протеази кодується геном TMPRSS2, який є одним із найцікавіших генів-кандидатів, відповідальних за проникнення SARS-CoV-2 в організм людини [4, 5]. Поліморфізм гена TMPRSS2 (rs12329760) спричиняє амінокислотну заміну Val160Met та має здатність модифікувати ферментативні властивості TMPRSS2 і, відповідно, впливати на сприйнятливість організму до COVID-19 [6]. За даними таких ресурсів як Ensembl, Gtex, ExPASY 2, GEPIA, CCLE, KEGG та QTLbase rs12329760 також функціонує як локус кількісної ознаки тканинної експресії (eQTL), впливаючи на транскрипцію не тільки TMPRSS2, а і численних генів, пов'язаних з індивідуальною противірусною відповіддю організму людини, його епітеліальним гомеостазом та запальною сигналізацією [7]. Тому існує потреба у проведенні дослідницького аналізу,

що інтегруватиме його тканинно-специфічні транскрипційні ефекти в різних імунних та запальних аспектах. З'ясувавши ці механізми, ми створимо умови для встановлення молекулярних детермінант, що лежать в основі мінливості індивідуальної реакції людини на проникнення та розвиток SARS-CoV-2.

2. Матеріали і методи

Дослідження проводилось на базах Навчально-наукової лабораторії Буковинського державного медичного університету та Міжкафедрального навчально-наукового лабораторного центру Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України у 2024–2025 роках.

Генотипування TMPRSS2 (rs12329760) було проведено для 120 хворих на COVID-19.

Дослідження виконувалося з дотриманням міжнародних етичних і біоетичних норм, відповідно до вимог ICH-GCP, Декларації Гельсінкі (1964 р. з наступними поправками), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), а також чинного законодавства України. Протокол дослідження був розглянутий і схвалений Комітетом з етики Буковинського державного медичного університету (Протокол № 2, жовтень 2025 р.). Перед включенням до дослідження всі учасники підписали письмову інформовану згоду.

Для виділення геномної ДНК використовували лейкоцити периферичної крові з використанням комерційного набору (Thermo Scientific™ GeneJET™ Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit). 200 мкл цільної крові кожного учасника розщеплювали протеїназою К з подальшим додаванням буфера для лізису. Наступні кроки включали промивання та елюцію очищеної ДНК. Для генотипування поліморфізму гену TMPRSS2 (rs12329760) використовували полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (RT-PCR). Для цієї мети використовували систему детекції ПЛР у реальному часі CFX96™ (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Для кожного цільового SNP використовували специфічні набори TaqMan™. Генотипування проводили з використанням зондів TaqMan® та основної суміші для генотипування TaqMan® (4371355) у поєднанні з системою детекції ПЛР у реальному часі CFX96™, що було описано в нашій попередній публікації [4]. Протокол ПЛР суворо дотримувався інструкцій виробника (Applied Biosystems, США). Основна суміш для генотипування TaqMan® включає ДНК-полімеразу AmpliTaq Gold®, dNTP, референсний барвник ROX™ та оптимізовані реакційні буфери. Для ідентифікації алелів генів використовували зонди TaqMan®, які являють собою алель-специфічні олігонуклеотиди з репортерними барвниками (VIC® для алеля 1 та 6-FAM™ для алеля 2), приєднаними до 5'-кінця, та нефлуоресцентним гасителем (NFQ) на 3'-кінці. Геномну ДНК (10 мкл) ампліфікували в реакційній суміші, що містить праймери, зонди, основну суміш та цільову ДНК. Для генотипування використовували дискримінацію алелів на основі відносних одиниць флуоресценції (RFU) за допомогою програмного забезпечення CFX-Manager™. Умови циклу ПЛР були наступними: початкова денатурація: 95°C протягом 10 хвилин; цикли ампліфікації (49 циклів); денатурація: 95°C протягом 15 секунд; відпал: 60°C протягом 1 хвилини 10 секунд; аналіз кінцевої кривої плавлення: підвищення температури до 95°C. Визначення генотипу проводили на основі аналізу кривої плавлення за допомогою програмного забезпечення CFX96™ Real-Time PCR Basic (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Тканиноспецифічні транскрипційні ефекти варіанта TMPRSS2 (rs12329760) надалі аналізували методом eQTL на основі відкритих даних бази QTLbase.

Статистичну обробку даних проводили відповідно до сучасних вимог біомедичних досліджень із використанням програмного забезпечення Statistica 13.0 (StatSoft Inc., США; ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J).

Для оцінки відмінностей у розподілі частот генотипів застосовували критерій χ^2 (Пірсона). Значущість різниць між незалежними вибірками з розподілом, наближеним до нормального, визначали за допомогою t-тесту Стьюдента, тоді як для даних із ненормальним розподілом використовували критерій Вілкоксона–Манна–Уїтні. Статистично значущими вважали результати при $p < 0,05$.

3. Результати дослідження

Найвищий рівень експресії гена TMPRSS2 (dbSNP: rs12329760) виявлено у тканині простати (Median TPM = 166,2). Майже удвічі нижчі значення зафіксовані в шлунку (Median TPM = 97,58), тоді як у поперечно-ободовій кишці експресія була приблизно втричі меншою (Median TPM = 55,25). Ще нижчі показники встановлено в підшлунковій залозі, термінальному відділі клубової кишки, малих слинних залозах, легеневій тканині, мозковій речовині та корі нирок, а також у слизовій оболонці стравоходу (TPM = 41,47–23,83). Мінімальний рівень експресії спостерігався у щитоподібній залозі (TPM = 17,05), тоді як у всіх інших досліджених тканинах він не перевищував 10 TPM (рис. 1).

Знайдено 80 локусів кількісних ознак експресії rs12329760 (eQTL) за рахунок цисрегуляцій (без трансрегуряцій), у 19 тканинах, через взаємодію із 18 генами (рис. 2).

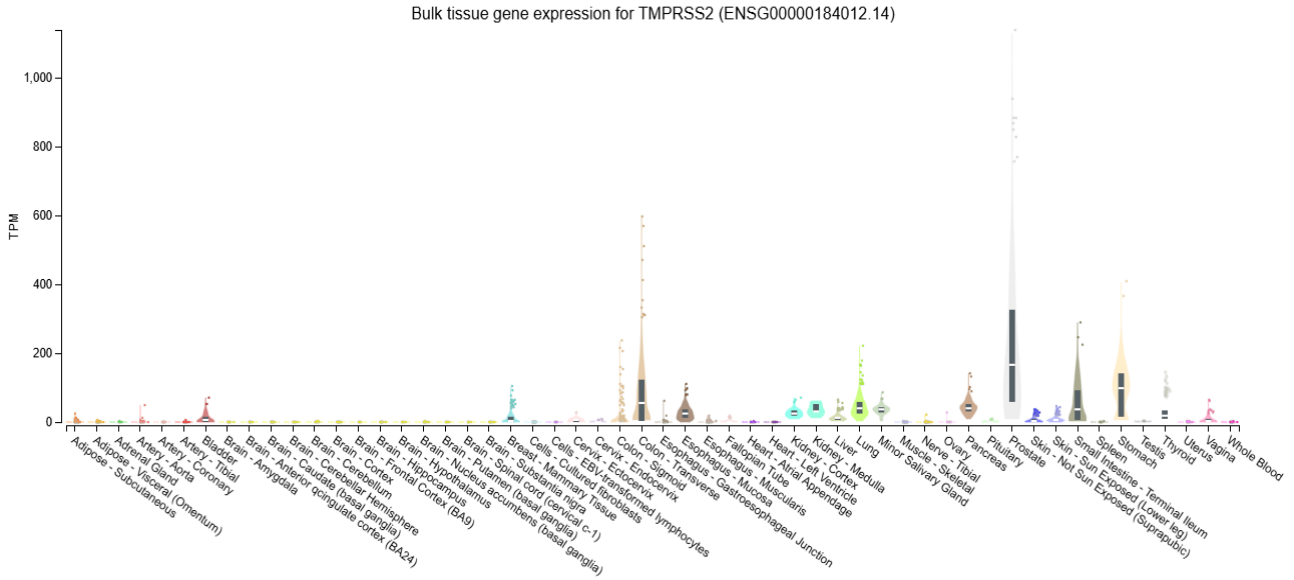

Рис. 1. Тканинно-специфічна експресія eQTL гена TMPRSS2 (rs12329760)

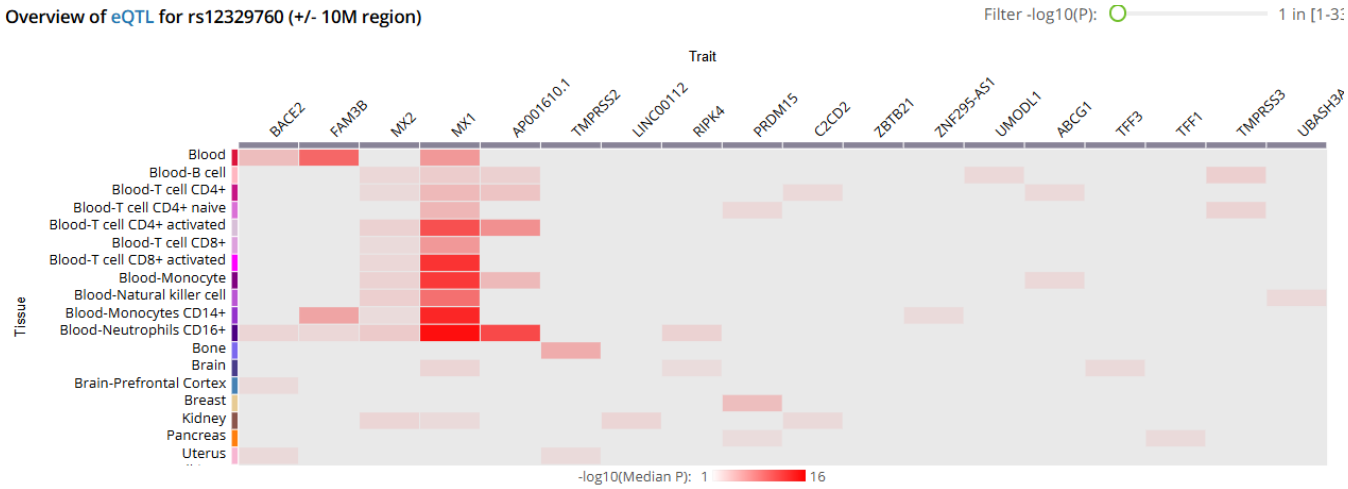

Рис. 2. Теплова карта локусів кількісних ознак експресії eQTL (ділянка +/- 10M) для dpSNP: rs12329760 гена TMPRSS2 у 19 тканинах, взаємодія із 18 поліморфізмами генів і 80 асоціацій (цисрегуляцій) (chr21:42852497 (hg19)). Насиченість кольору лунки відповідає eQTL медіані -log10 (Median P).

Інтенсивність кольору в кожній клітинці теплової карти відображає медіанне значення eQTL – $\log_{10}(P)$. Аналіз регуляторної архітектури навколо локусу TMPRSS2 rs12329760 показав, що цей варіант бере участь у цис-взаємодіях з 18 генами через 80 різних регуляторних асоціацій, підмножина яких узагальнена в табл. 1. Алель T rs12329760 був пов'язаний зі значно підвищеною експресією MX1, MX2 та AP001610.1, причому найсильніші транскрипційні ефекти спостерігалися в $CD4^+$ T-лімфоцитах, циркулюючих моноцитах та B-лімфоцитах (β = 0,1062–2,4871; p = 0,0438–$1{,}71\times10^{-23}$). Більш помірне збільшення експресії генів було виявлено в активованих $CD8^+$ T-клітинах та $CD16^+$ нейтрофілах (β = 0,2318–0,2383; p = $8{,}69\times10^{-12}$–$2{,}91\times10^{-13}$). Алель C rs12329760 був пов'язаний з підвищеною транскрипцією FAM3B та BACE2 у $CD16^+$ нейтрофілах та $CD14^+$ моноцитах (β = 0,2187–0,4229; p = 0,0241–$9{,}92\times10^{-20}$). Незначне збільшення експресії RIPK4 та C2CD2 також спостерігалося у стовбурових клітинах, отриманих з iPSC (β = 0,1555–0,1755; p = 0,0264–0,0071). На противагу цьому, rs12329760 був пов'язаний з транскрипційною репресією C2CD2, PRDM15, TMPRSS3 та UMODL1 у $CD4^+$ T-клітинах та B-лімфоцитах, переважно через активність алеля T (β = –0,1097 до –0,2865; p = 0,0492–0,0096).

Таблиця 1

Найбільш високо достовірні та найсильнішого впливу кількісні ознаки експресії eQTL гена TMPRSS2 (dpSNP: rs12329760) у тканинах

Ген, на експресію якого чиниться вплив	Тканина	Ефективний алель взаємодії	Сила ефекту β	SE	P
MX1	Т-клітини крові $CD4^+$	T	2,4871–0,1822	0,9604–0,0266	0,0129– $2,610e^{-11}$
	Кров	T	2,2566–0,2099	0,9660–0,0318	0,0240– $4,000e^{-11}$
	Моноцити крові	T	2,1571–0,1939	0,9686	0,0310– $1,710e^{-23}$
	Т-клітини крові $CD8^+$ активовані	T	0,2318	0,0307	2,910e–13
	В-лімфоцити	T	–0,0549	0,0200	0,0063
MX2	В-лімфоцити	T	2,0162	0,9720	0,0438
	Нирки	–	0,2083	0,0925	0,0266
AP001610.1	Моноцити крові	T	2,4074–0,1817	0,9626–0,0405	0,0161– 9,540e–6
	Нейтрофіли крові $CD16^+$	T	0,2383	0,0339	8,690e–12
	Т-клітини крові $CD4^+$ активовані	T	0,2052	0,0406	6,370e–7
	В-лімфоцити	T	0,1062	0,0423	0,0124
FAM3B	Нейтрофіли крові $CD16^+$	C	0,4229	–	9,920e–20
	Моноцити крові $CD14^+$	C	0,3469	0,0779	1,400e–5
BACE2	Нейтрофіли крові $CD16^+$	C	0,2187	0,0962	0,0241
	Нейтрофіли крові $CD16^+$	T	–0,0743	0,0349	0,0338
RIPK4	Стовбурові клітини-iPSC	–	0,1755	0,0652	0,0071
C2CD2	Стовбурові клітини-iPSC	–	0,1555	0,0701	0,0264
	Т-клітини крові $CD4^+$	T	–0,1097	0,0556	0,0492
ABCG1	Моноцити крові	T	0,1360	0,0663	0,0409
PRDM15	Грудь	T	0,1200	0,0356	7,720e–4
	Т-клітини крові $CD4^+$	–	–0,2536	0,1247	0,0420
TMPRSS3	В-лімфоцити	T	–0,1332	0,0512	0,0096
	Т-клітини крові $CD4^+$	–	–0,2865	0,1242	0,0211
UMODL1	В-лімфоцити	T	–0,1253	0,0620	0,0437

Примітка: SE (standard error) - стандартна похибка

4. Обговорення результатів дослідження

Проведений нами eQTL-аналіз продемонстрував, що Т-алель гена TMPRSS2 (rs12329760) підсилює транскрипцію противірусних генів AP001610.1, MX1 та MX2 в імунних клітинах організму людини, що відповідає концепції, відповідно якої посилена базальна активність противірусних генів може пригнічувати реплікацію вірусу [8]. Це також підтверджується останніми даними, які демонструють, що кодуючий варіант rs12329760 (p.Val197Met) знижує стабільність білка TMPRSS2 та зв'язування з ACE2, тим самим зменшуючи проникнення вірусу в клітини [9]. Водночас зниження експресії генів C2CD2, PRDM15 та TMPRSS3, які пов'язані із протеолізом та системою комплементу, свідчить про те, що варіант rs12329760 гена TMPRSS2 здатний змінювати запальні та протеолітичні механізми, залучені до розвитку ушкодження тканин та поширення SARS-CoV-2 [10].

Значна неоднорідність експресії TMPRSS2 у різних тканинах - особливо у імунних клітинах, легенях та простаті вказує на те, що функціональні наслідки rs12329760 значною мірою залежать від тканинних та клітинних зв'язків. Об'єднання епідеміологічних характеристик, генотипових показників і результатів eQTL-картування дозволила отримати комплексне уявлення про те, як цей варіант SNP впливає на транскрипційну регуляцію у багатьох тканинах організму людини. Незважаючи на те, що кореляції «генотип–фенотип» окреслюють можливі варіанти прогнозування тяжкості коронавірусної хвороби [11], саме встановлення специфічних

функціонально-геномних механізмів може дозволити ідентифікувати механістичні процеси, що лежать в основі розвитку COVID-19 [12]. Активація експресії досліджених противірусних генів, яка пов'язана з Т-алелем TMPRSS2 (rs12329760), вказує на потенційну стимуляцію вродженого імунітету, що, у свою чергу, може впливати на здатність проникнення коронавірусу 2 типу у клітини-мішені і розвиток індивідуальної відповіді на інфекцію SARS-CoV-2 [13].

Отримані нами результати можуть мати важливе значення у вивченні процесу генетичної трансляції у хворих з COVID-19. Унікальні профілі локусів кількісних ознак експресії можуть бути біомаркерами сприйнятливості до COVID-19, а такі функціональні snp гену TMPRSS2, як rs12329760, можуть бути використаними для персоналізації терапевтичних підходів - наприклад, шляхом поєднання різних стратегій підсилення вродженої індивідуальної імунної відповіді у носіїв Т-алеля та блокування TMPRSS2. Перспективи подальших досліджень ми вбачаємо у проведенні фундаментального аналізу регуляторних ефектів гена TMPRSS2 (rs12329760) у хворих на COVID-19 для виявлення та підтвердження його механістичного впливу на активність та функціональність трансмембранної серинової протеази 2.

Обмеження дослідження. Основними обмеженнями даного дослідження були залежність від наявності доступу до наборів eQTL даних, неоднорідність обстеженої популяції хворих та відсутність динамічних аналізів, які спрямовані окремо на кожну стадію COVID-19.

Перспективи подальших досліджень. Виглядають перспективними майбутні дослідження, які будуть зосередженні на функціональній оцінці rs12329760 із мультиетнічними клінічними когортами для уточнення впливу TMPRSS2 на індивідуальну імунну відповідь та клінічні результати COVID-19.

5. Висновки

Отже, за результатами проведеного аналізу встановлено, що rs12329760 гена TMPRSS2 демонструє широку тканинно-специфічну регуляторну активність, посилюючи експресію противірусних генів, одночасно модулюючи шляхи, пов'язані з протеазою та комплементом. Разом з тим, алель-специфічне зниження активності генів, залучених до протеолітичних та запальних шляхів, вказує на його потенційний модулюючий вплив на запальні реакції господаря. Крім того, заміщення rs12329760 p.Val197Met знижує стабільність білка TMPRSS2 та якість проникнення вірусу, відповідно ці транскрипційні ефекти підтверджують подвійну захисну роль алеля Т і свідчать про те, що rs12329760 може служити функціональним модифікатором сприйнятливості та імунної відповіді при COVID-19.

Конфлікт інтересів

Автори декларують, що не мають конфлікту інтересів стосовно даного дослідження, в тому числі фінансового, особистісного характеру, авторства чи іншого характеру, що міг би вплинути на дослідження та його результати, представлені в даній статті.

Фінансування

Дослідження проводилося без фінансової підтримки.

Доступність даних

Рукопис має пов'язані дані у сховищі даних.

Використання засобів штучного інтелекту

Автори підтверджують, що не використовували технології штучного інтелекту при створенні представленої роботи.

Внески авторів

Соколенко Максим Олександрович: Концептуалізація, Методологія, Програмне забезпечення, Формальний аналіз, Розслідування, Ресурси, Курування даних, Написання – оригінальний чернетка, Написання – рецензування та редагування, Візуалізація, Залучення фінансування; **Сидорчук Лариса Петрівна:** Концептуалізація, Методологія, Програмне забезпечення, Валідація, Формальний аналіз, Розслідування, Ресурси, Курування даних, Написання – рецензування та редагування, Керівництво, Адміністрування проєкту, Залучення фінансування.

Література

1. Chan, J. F.-W., Yuan, S., Chu, H., Sridhar, S., Yuen, K.-Y. (2024). COVID-19 drug discovery and treatment options. Nature Reviews Microbiology, 22 (7), 391–407. https://doi.org/10.1038/s41579-024-01036-y

2. Sydorchuk, L., Sokolenko, M., Škoda, M., Lajcin, D., Vyklyuk, Y., Sydorchuk, R. et al. (2025). Management of Severe COVID-19 Diagnosis Using Machine Learning. Computation, 13 (10), 238. https://doi.org/10.3390/computation13100238

3. Heurich, A., Hofmann-Winkler, H., Gierer, S., Liepold, T., Jahn, O., Pöhlmann, S. (2014). TMPRSS2 and ADAM17 Cleave ACE2 Differentially and Only Proteolysis by TMPRSS2 Augments Entry Driven by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein. Journal of Virology, 88 (2), 1293–1307. https://doi.org/10.1128/jvi.02202-13

4. Sokolenko, M., Sydorchuk, L., Sokolenko, A., Sydorchuk, R., Kamyshna, I., Sydorchuk, A. et al. (2025). Antiviral Intervention of COVID-19: Linkage of Disease Severity with Genetic Markers FGB (rs1800790), NOS3 (rs2070744) and TMPRSS2 (rs12329760). Viruses, 17 (6), 792. https://doi.org/10.3390/v17060792

5. Fuentes-Prior, P. (2021). Priming of SARS-CoV-2 S protein by several membrane-bound serine proteinases could explain enhanced viral infectivity and systemic COVID-19 infection. Journal of Biological Chemistry, 296, 100135. https://doi.org/10.1074/jbc.rev120.015980

6. Verma, S., Verma, S., Siddiqi, Z., Raza, S. T., Faruqui, T., Ansari, A. I. et al. (2025). Association of VDR and TMPRSS2 gene polymorphisms with COVID-19 severity: a computational and clinical study. Molecular Biology Reports, 52 (1). https://doi.org/10.1007/s11033-025-10417-2

7. Paniri, A., Hosseini, M. M., Akhavan-Niaki, H. (2020). First comprehensive computational analysis of functional consequences of TMPRSS2 SNPs in susceptibility to SARS-CoV-2 among different populations. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 39 (10), 3576–3593. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1767690

8. Bizzotto, J., Sanchis, P., Abbate, M., Lage-Vickers, S., Lavignolle, R., Toro, A. et al. (2020). SARS-CoV-2 Infection Boosts MX1 Antiviral Effector in COVID-19 Patients. IScience, 23 (10), 101585. https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101585

9. Andolfo, I., Russo, R., Lasorsa, V. A., Cantalupo, S., Rosato, B. E., Bonfiglio, F. et al. (2021). Common variants at 21q22.3 locus influence MX1 and TMPRSS2 gene expression and susceptibility to severe COVID-19. IScience, 24 (4), 102322. https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102322

10. Ravikanth, V., Sasikala, M., Naveen, V., Latha, S. S., Parsa, K. V. L., Vijayasarathy, K. et al. (2021). A variant in TMPRSS2 is associated with decreased disease severity in COVID-19. Meta Gene, 29, 100930. https://doi.org/10.1016/j.mgene.2021.100930

11. Anu, K. R., Das, S., Joseph, A. (2023). Genotype and phenotype correlations in COVID-19. Omics Approaches and Technologies in COVID-19, 41–59. https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91794-0.00013-5

12. Mir, R., Altemani, F. H., Algehainy, N. A., Alanazi, M. A., Elfaki, I., Alsayed, B. A. et al. (2025). Correction: Identification of Novel Genomic Variants in COVID-19 Patients Using Whole-Exome Sequencing: Exploring the Plausible Targets of Functional Genomics. Biochemical Genetics, 63 (6), 5001–5002. https://doi.org/10.1007/s10528-025-11024-3

13. Sheehan, G., Farrell, G., Kavanagh, K. (2020). Immune priming: the secret weapon of the insect world. Virulence, 11 (1), 238–246. https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1731137

Received 18.11.2025
Received in revised form 15.12.2025
Accepted 23.12.2025
Published 30.12.2025

Максим Олександрович Соколенко, кандидат медичних наук, доцент, кафедра інфекційних хвороб та епідеміології, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 58002
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7150-7146

Лариса Петрівна Сидорчук, доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри, Кафедра сімейної медицини, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 58002
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9279-9531

***Corresponding author:** *Maksym Sokolenko, e-mail: sokolenko_maks@ukr.net*