

مقال بحثي

**The Frequency of Rs8134378 and Rs12329760 Gene Polymorphism in A Cohort of Healthy and Compromised Syrians**

تواتر التعددين الشكليين rs8134378 و rs12329760 في جين TMPRSS2 لدى جمهرة من الأصحاء والمرضى السوريين

**SJSI**

المؤلفون:

مجد الجمالي

لمى يوسف

الجهات: كلية الصيدلة، جامعة دمشق - الهيئة العامة للتقانة الحيوية - الجامعة الدولية الخاصة للعلوم والتكنولوجيا  
التواصل: [maljamali@gmail.com](mailto:maljamali@gmail.com)تاريخ التقديم: ٤ آذار ٢٠٢٣  
تاريخ القبول: ٤ نيسان ٢٠٢٣**ABSTRACT**

The COVID-19 pandemic is characterized by spatial heterogeneity in prevalence, morbidity, severity, and mortality rates in different human populations. Although environmental, demographic (i.e., age and gender) and clinical factors (i.e., comorbidities) cannot be excluded, heterogeneity in the genetic makeup of individuals of different races and ethnicities could be a contributing, and perhaps a decisive, factor in the observed variations in the frequency and severity of cases. Recently, several hypotheses have proposed a role for single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the gene encoding the viral receptor (ACEII) expressed on cell surfaces and the transmembrane serine protease (TMPRSS2) involved in the pathogenicity of the virus via cleaving the viral spike protein and facilitating the binding of the latter to its receptor. This study comes as a contribution to identifying the genetic makeup that may be associated with the spread of COVID-19 and severity of the disease in healthy Syrian subjects well as individuals diagnosed with diseases related to severity of the disease. We investigated the frequency of two SNPs; rs8134378 (G>A) and rs12329760 (C>T) in the TMPRSS2 gene. We designed and performed a PCR using specific primers for the site of each of the two SNPs, followed by sequencing of the amplification products to identify nucleotide change for each. Our findings revealed a high frequency of the rs8134378 "A" minor allele in the healthy subjects (11.4%) and male patients (17.9%), and in contrast a low frequency of the rs12329760 "T" allele in healthy subjects (19%) and male patients (16.7%), compared with the average frequencies of (7.7%) and (22.5%), respectively, in other populations in the world. Nevertheless, all these observed differences were not statistically significant ( $p > 0.05$  for all comparisons). Our results suggest a possible association between the frequencies of both polymorphisms in the population studied and the reported low rates

of severe morbidity and mortality in the Syrian population. The major limitation of this study is the relatively small size of its population.

**Key Words:** *TMPRSS2* gene, Syrians, prevalence, SNP, rs8134378, rs12329760.

### الملخص

اتسمت جائحة كوفيد-19 بتغايرية مكانية في نسب الانتشار والمرض والشدة ومعدلات المواتة في الجمهرات البشرية المختلفة. وعلى الرغم من عدم استبعاد أي من العوامل البيئية والديموغرافية (مثل العمر والجنس) والسريية (مثل الأمراض المرافقة)، إلا أن التغيرات في التكوين الجيني للأفراد المنحدرين من أعراق وإثنيات مختلفة يمكن أن تكون عاملاً مساهماً وربما حاسماً في التباينات المشاهدة في تواتر الإصابات وشدها. مؤخراً، اقترحت فرضيات عدة دوراً للتعددات الشكلية مفردة النكليوتيد SNPs في الجين المرمرمة لمستقبل الفيروس (ACEII) المعبر عنه على سطوح الخلايا وبروتينات السيرين العابرة للغشاء (*TMPRSS2*) المشارك في إمراضية الفيروس عن طريق شطره للبروتين الشوكي للفيروس وتيسير ارتباط الأخير بمستقبله. تأتي هذه الدراسة مساهمة لاستعراف التركيبة الجينية التي قد ترتبط بانتشار داء كوفيد-19 وشدة المرض لدى جمهرة من السوريين. قمنا في هذه الدراسة بتحري تواتر تعددين شكليين مفرد النكليوتيد هما rs8134378 (G>A) و rs12329760 (C>T) في جين *TMPRSS2* لدى أفراد سوريين أصحاء ومرضى بأدواء ترتبط بشدة المرض. قمنا بتصميم تفاعل بوليميراز سلسلي PCR وإجرائه باستخدام مشاريع نوعية لموقع كل من التعددين الشكليين، متبوعاً بسلسلة منتجات التضخيم واستعراف التغير النكليوتيدي لكل منهما. بينت نتائجنا تواتراً مرتفعاً للأليل الأصغري rs8134378 "A" لدى الأصحاء (١١,٤%) والمرضى الذكور (١٧,٩%)، وبالمقابل تواتراً منخفضاً للأليل rs12329760 "T" لدى الأصحاء (١٩%) والمرضى الذكور (١٦,٧%)، بالمقارنة مع وسطي تواترات هذين التعددين الشكليين (٧,٧%) و (٢٢,٥%)، على الترتيب، في جمهرات أخرى في العالم. غير أن جميع هذه الفروقات لم تكن ذات دلالة إحصائية ( $p > 0.05$  لجميع المقارنات). تقترح نتائجنا ارتباطاً محتملاً بين نسب تواتر كلا التعددين الشكليين في الجمهرة المدروسة والمعدلات المنخفضة المصريح عنها للإصابات الشديدة والوفيات في المجتمع السوري. يُعد حجم الجمهرة الصغير نسبياً أهم محدوديات هذه الدراسة.

**الكلمات المفتاحية:** جين *TMPRSS2*، السوريون، انتشار، تعدد شكلي مفرد النكليوتيد SNP، rs8134378، rs12329760.

### المقدمة:

الشديد أو المهدد للحياة من كوفيد-19. على المقلب الآخر، تبنت أبحاث عالمية عديدة فرضيات ربطت بين شدة الإصابة بكوفيد-19 والتأهب الوراثي الناتج عن تباينات مرتبطة بالتعدد الشكلي لجين الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ٢ Angiotensin converting enzyme 2 أو اختصاراً ACE<sub>2</sub> في العديد من الجمهرات السكانية، بصفته المستقبل الرئيس لفيروس SARS-CoV-2 على سطوح الخلايا المضيفة<sup>(١)</sup>. من جهة أخرى، يعد بروتين بروتياز السيرين العابرة للغشاء Transmembrane serine protease 2 أو اختصاراً *TMPRSS2* مرشحاً آخر مرتبطاً بمرضاة داء كوفيد-19، إذ يعزز التعبير عن بروتين *TMPRSS2* غزوانية الفيروس

اكتسحت الجائحة العالمية لداء كوفيد-19 المسببة بفيروس SARS-CoV-2 البشرية جمعاء وشكلت تهديداً غير مسبوق للمنظومات الصحية واقتصاديات البلدان المتقدمة والنامية على حد سواء. غير أن وبائيات الجائحة اتسمت بالتباينية الشديدة في شدة المرض بين الأفراد وكذلك بتغايرية عالية في نسب المواتة وشدة المرض بين الجمهرات السكانية المختلفة حول العالم. انسقت التقارير المتواترة منذ بدء الجائحة في اقتراح جملة من عوامل الخطورة مثل التقدم في العمر والجنس (الذكورة) والحالات المرضية المزمنة المسبقة (مثل ارتفاع التوتر الشرياني وداء السكري والأمراض القلبية الوعائية) التي تزيد من الأهبة للشكل

تلوي Meta-analysis حديث بوضوح أنّ لدى الرجال معدّل اختطار أعلى للإصابة بداء كوفيد-19 بالمقارنة مع النساء وبشكلٍ مستقلٍّ عن العمر، مما قد يعزى إلى الاختلاف في تأثير الهرمونات الجنسية في التعبير الجيني وبالمحصلة في التعبير عن بروتين TMPRSS2<sup>(8)</sup>. كما بيّنت تحليلات النمذجة *in silico* وجود موقع يستجيب للأندروجينات يقع حوالي ١٣ ألف شغف أساسٍ صعوداً من جين *TMPRSS2*، ويؤدي إلى زيادة التعبير عن البروتين بعد ارتباط الأندروجينات بهذا الموقع. وتم استعراف تعددٍ شكليّ هو rs8134378 ضمن عنصر الاستجابة للأندروجين يمكن أن يؤثر في التعبير عن بروتين *TMPRSS2* أو انصهار البروتين، حيث أثبت أنّ كليهما يتأثران بالأندروجين. ويمكن لهذا التعدد الشكلي أن يملك أهميةً سريريّةً فهو يخفض ارتباط الأندروجين بمستقبله وبالتالي قد يخفض من التعبير الجيني عن *TMPRSS2*<sup>(5)</sup>.

يُعدّ بروتين *TMPRSS2* عضواً في عائلة السيرين بروتياز العابرة للغشاء من النمط الثاني، والتي تضم ١٧ سيرين بروتياز تتميز بمجال سيتوبلازمي قصير في النهاية الأمينية، ومجالٍ وحيدٍ عابر للغشاء، ومجالٍ خارج خلوي في النهاية الكربوكسيلية يحتوي على مجال السيرين بروتياز. وبصورة عامة، تتخرط إنزيمات السيرين بروتياز في العديد من العمليات الفيزيولوجيّة والمرضيّة. ويتم التعبير عن بروتين *TMPRSS2* في خلايا الرئة والقنوات والقولون والمعدة والبنكرياس والغدد اللعابية وعددٍ آخر من النسيج<sup>(2)</sup>. وكما أشرنا أعلاه، يتم التعبير عن بروتين *TMPRSS2* بقربٍ مكاني من بروتين *ACE2*، والذي يُنظر إليه بوصفه أفضل مستقبل خلوي معروف لفيروس SARS-Cov-2<sup>(9)</sup>. يتألف بروتين *TMPRSS2* من منطقة سيتوبلازمية (الثمالات ١-٨٤)، ومجالٍ عابر للغشاء transmembrane domain (الثمالات ٨٥-١٠٥)، ونطاقٍ خارج خلويّ (الثمالات ١٠٦-٤٩٢) والذي يضم بدوره ثلاثة مجالات؛ مجال مستقبل الـ LDL (LDLR) من النوع A والذي يمتدّ بين الثمالات ١١٢-١٤٩، والمجال الغني بالسيستئين للمستقبل الكانس (الثمالات ١٥٠-٢٤٢)، والبيتيداز S1 (الثمالات ٢٥٦-٤٨٩)، والتي تحتوي على الموقع الفعال

للخلايا المضيفة المعتمدة على *ACE2* عبر عمله مستقبلاً مشاركاً *co-receptor*، حيث يقوم بشرطٍ حالٍ للبروتين proteolytic cleavage وتفعيل البروتينات السكرية لغلاف عددٍ من الفيروسات، مثل فيروسات الإنفلونزا والفيروسات التاجية و *HCoV-229E* و *MERS-CoV* و *SARS-CoV*، وفيروس *SARS-CoV-2* المسبب لداء COVID-19<sup>(2)</sup>. وقد اقترح أن زيادة فعالية الشطر الذي يقوم به بروتين *TMPRSS2* تنقص من قدرة تعرّف الأضداد المحيطة على الفيروس عبر تفعيل البروتين الشوكي Spike على سطح الفيروس وتسهّل الارتباط الفعال للفيروس بمستقبله *ACE2*، الأمر الذي يعدّ عامل اختطار للمضاعفات الشديدة لداء كوفيد-19<sup>(3)</sup>. وبذلك، فمن المنطقي صياغة فرضية تقول بارتباط التغييريّة الجينيّة في جين *TMPRSS2* مع تعديل في إعدائية الفيروس لدى البشر، وبالتالي مع تغييريّة في إمراضية الفيروس من شخص لآخر. إضافةً إلى شطره وتفعيله للبروتينات السكرية لفيروس كورونا وفيروس الإنفلونزا A و B، يمكن أن يتعرّض بروتين *TMPRSS2* إلى الشطر الذاتي والذي يؤدي إلى تحرير المجال المحفز الذواب من سطح الخلية التي تعبّر عن البروتين، على الرغم من أن الشروط التي تحقّق ذلك غير معروفة حتى الآن<sup>(4)</sup>.

تقع جين *TMPRSS2* على الصبغي الجسدي ٢١، ويزداد التعبير عنها في خلايا سرطان البروستات استجابةً للهرمونات الأندروجينية في حين ينخفض التعبير عنها في نسيج سرطان البروستات غير المعتمد على الأندروجينات. تكتسب هذه الجين أهمية خاصة لدى أطباء الأورام نظراً لخضوعها لإعادة ترتيبٍ جينيّ يؤدي إلى تشكيل جينٍ منصهر fusion gene مكوّن من جينتي *TMPRSS2* و *ERG*، وهو العيب الجيني الأكثر شيوعاً لدى مرضى سرطان البروستات<sup>(5)</sup>. وعلى اعتبار أن *TMPRSS2* جينٌ مستجيب للأندروجين، ينتج عن الانصهار تعبيرٌ جينيّ عن *ERG* معتمداً على الأندروجين في خلايا سرطان البروستات<sup>(5)</sup>. كما اقترحت دراساتٌ أنّ الرجال قد يمتلكون مستويات أعلى من التعبير الجيني عن *TMPRSS2* في الرئة أيضاً، الأمر الذي قد يزيد من ولوج فيروس كورونا إلى الخلايا ويفاقم من إعدائته لديهم<sup>(6,7)</sup>. في الواقع، بيّن تحليلٌ

واحد بالمئة (1%) لدى الجمهرة السكانية. وقد تمّ توقُّع وجود أكثر من 600 مليون SNPs لدى الجمهرات البشرية في أنحاء العالم (11).

وبناءً على ما سبق، فقد هدف هذا البحث إلى تحري تواتر تعددين شكليين مفردى النكليوتيد في جين *TMPRSS2*؛ التعدد الشكلي rs8134378، ويقع في إنترون جين *TMPRSS2*؛ والتعدد الشكلي rs12329760، ويقع في إكسون الجين ذاتها ويؤدي إلى استبدال الحمض الأميني الميثيونين في الموقع ١٦٠ بالفالين، أو اختصاراً Val160Met، وذلك لدى جمهرة من الأصحاء السوريين، وجمهرة من المرضى المصابين بأمراض ارتفاع ضغط الدم والداء السكري والخثار وأمراضٍ قلبيةٍ تطلّبت استبدال أحد صمّامات القلب، ومقارنة التواترات مع مثيلاتها لدى جمهرات الأوروبيين والآسيويين والأفارقة. وقد اختير هذان التعددان بناء على ما اقترحته دراسات عدّة عن ارتباط هذين التعددين مع إمرضية داء كوفيد-١٩ من بين العشرات من التعددات الشكلية التي تمت دراستها سابقاً (4).

#### المواد والطرائق:

##### جمهرة الأصحاء والمرضى

صُمّمت هذه الدراسة لتكون مقطعية cross-sectional بهدف استعراف تواتر التعددين rs8134378 و rs12329760 في جمهرة من الأصحاء ومقارنته مع التواترات المسجّلة في جمهرات الأصحاء عالمياً، كما شمل التصميم دراسة حالة-شاهد case-control لمقارنة تواتر التعددين الشكليين المدروسين بين جمهرة الأصحاء من جهة ومجموعة من مرضى مشخصين بأمراض مزمنة (مثل ارتفاع ضغط الدم والداء السكري والخثار والأمراض القلبية) والتي تُعدّ عوامل اختطار للإصابة الشديدة أو المهددة للحياة بـ كوفيد-١٩، وذلك بعد الحصول على الموافقة الأخلاقية من اللجنة الوطنية لأخلاقيات المعارف العلمية والتكنولوجية في الهيئة العليا للبحث العلمي CONEST، ومن لجنة أخلاقيات البحث العلمي في كلية الصيدلة-جامعة دمشق.

ضمّت جمهرة البحث ٦٧ فرداً، ٢٢ منهم أصحاء (٨ إناث و ١٤ ذكور، وبمتوسط أعمارٍ قدره ٤٧,٢ (±١٩,٩ عاماً) و ٤٥ مريضاً (١٥ أنثى و ٣٠ من الذكور، بمتوسط أعمار ٥٠,٨ (±13.6)

للبروتياز والمكوّن من شمالات الهيستيدين ٢٩٦ والحمض الأسبارتي ٣٤٥ والسيرين ٤٤١ (9).

قيمت الدراسات الحديثة التغيرية الوراثية ومرسمات التعبير عما يدعى بمواقع الخاصية الكمية للتعبير expression quantitative trait locus أو اختصاراً eQTL لجين *TMPRSS2*، وأشارت إلى اختلافات مرتبطة بالجنس والجمهرات السكانية والأعراق المختلفة يمكن أن تؤثر في الإمرضية المحدثة بالفيروس. ومما تجب الإشارة إليه أنّ هذه الدراسات ركّزت فقط على الجمهرات الأوروبية والأمريكية والشرق آسيوية. من جهةٍ أخرى، تشير إحصائيات منظمة الصحة العالمية أنّ نسب الوفيات والحالات الشديدة لداء كوفيد-١٩ في المنطقة العربية أقل منها في الدول الغربية وشرق آسيا (10)، مع العلم أنّ نسب انتشار البدانة وارتفاع ضغط الدم والداء السكري تُعدّ مرتفعة في هذه المنطقة، وهي جميعها عوامل اختطارٍ لشدة المراضة والموتة لدى المصابين بداء كوفيد-١٩، مما يطرح التساؤل حول السبب أو الأسباب التي يُعزى إليها انخفاض نسب الإصابة بداء كوفيد-١٩ لدى هذه الجمهرات السكانية، دون التّغاضي عن حقيقة إمكانية انخراط العديد من العوامل التي يصعب حصرها، ومنها العوامل البيئية، مثل ارتفاع درجة الحرارة على سبيل المثال. غير أنّ من الممكن أيضاً افتراض أن يكمن السبب في انخفاض نسب الوفيات في المنطقة العربية في تغيّرية جينية للجينات المرّمزة لبروتينات تعدّ اللاعب الأساسي في وصولية الفيروس إلى الخلايا الهدف. وكنتيجة لذلك، فإنّ من الضرورة بمكان دراسة هذه التغيرية المفترضة في الجينات المرشحة وذلك في جمهرات شعوب الشرق الأوسط لتحقيق فهم أكبر للمكونات الجينية الطبيعية واختبار فرضية مسؤوليتها أو مساهمتها في هذه الاختلافات.

تُعرّف التعددات الشكلية مفردة النكليوتيد Single Nucleotide Polymorphisms، أو اختصاراً SNPs، بأنها النمط الأكثر شيوعاً للتغيرية الجينية بين الأفراد، بحيث يمثّل كل SNP اختلافاً في نكليوتيد واحد فقط وتواتر حدوثٍ يُقدّر بواحدٍ في كل ١٠٠٠ نكليوتيد وسطياً، مما يعني أن هنالك قرابة أربعة إلى خمسة مليون SNPs في جينوم كلّ فردٍ منا. ويختلف الـ SNP عن الطفرة النقطية point mutation بكون تواتره أعلى من

الدنا، و ٣٠ ثانية بالدرجة ٥٧°س لارتباط المِشارِع، ودقيقة واحدة بالدرجة ٧٢°س للإطالة، ومن ثم اختتم التفاعل بـ ١٠ دقائق بالدرجة ٧٢°س. رُحِلت منتجات تفاعلات الـ PCR للتحقق من جودتها على هلامه الأغاروز بتركيز ١,٥% والحماية على صبغة الإيثيديوم بروميد، وظُهِرت نواتج التفاعل بتعرض الهلامة للأشعة فوق البنفسجية باستعمال جهاز توثيق الهلام من شركة Cleaver scientific الإنكليزية. تمت تنقية عينات الـ PCR وسلسلة منتجات التّضخيم وفق الطرق المرجعية في شركة MacroGen الكورية الجنوبية.

#### الدراسة المعلوماتية الحيوية والإحصائية

استخدمت برمجية متضمّنة في قاعدة البيانات SNPedia ([www.snpedia.com](http://www.snpedia.com)) للحصول على المِشارِع النوعية لكل من التعددين الشكليين، ومن ثم تم اختبار نوعية المِشارِع وفق برمجية MFPrimer-3.1

(<https://mfprimer3.igenetech.com/spec>)، إذ تم التأكد من منتج التّضخيم الصحيح والوحيد باستخدام زوجي المِشارِع السابقين وبالطول المتوقع. بعد الحصول على نتائج سلسلة العينات، تمّت قراءة التسلسلات من أشكال الكروماتوغرام المرفقة بنتائج السلسلة لتحديد الأنماط الجينية لجميع المشاركين، وباستخدام برمجية Geneious ([www.geneious.com](http://www.geneious.com)) بالنسبة للتعدد الشكلي rs1239760 تم إدخال التسلسل البروتيني للـ TMPRSS2، بعد استبدال الحمض الأميني الميثيونين بدلا من الفالين، في برمجية SWISS MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>)، وتم الحصول على نموذج ثلاثي الأبعاد متوافق مع البنية المقاسة للبروتين الشائع ذي الرمز meq7 في قاعدة بيانات Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) (PDB) ومقارنة النموذجين ثلاثي الأبعاد للبروتين الشائع، الحاوي على الفالين، والبروتين مع التعدد الشكلي الميثيونين، بواسطة برمجية RasMol ([www.openrasmol.org](http://www.openrasmol.org))، والتي تُمكن من مشاهدة التغييرات الحاصلة على البنية الفراغية كما تقيس المسافة الجزئية بين الحموض الأمينية مقدّرة بالأنغستروم. تمت مقارنة تواترات كل

عاماً) مصابين بارتفاع الضغط الشرياني (n=١٦ مريضاً) وخثار وريدي عميق (n=19 مريضاً) واستبدال أحد صمامات القلب (n=٦ مريضاً) والداء السكري (n=٤ مريضاً)، مع الأخذ بعين الاعتبار عدم وجود أي صلة قريبي بين أفراد الدراسة. وبُزِلت عينات الدم الوريدي (٥ مل) ضمن أنابيب تحتوي EDTA بعد إعطاء جميع المشاركين في الدراسة موافقاتهم المستتيرة، وجمّدت العينات بالدرجة -٢٠°س إلى حين استخلاص الدنا الجينومي genomic DNA.

#### تضخيم وسلسلة الدنا الجينومي

استخلص الـ DNA الجينومي من العينات الدموية باستخدام عتيدة Wizard® من شركة Promega الأمريكية، وقيست تراكيز الدنا ونقاوته باستخدام جهاز NanoDrop من شركة Maestrogen التايوانية، وأجريت تفاعلات البوليميراز التسلسلي polymerase chain reaction (PCR) على عينات الدنا الجينومي المستخلصة باستخدام جهاز مدور حراري من شركة SensoQuest الألمانية، باستخدام عتيدة مناسبة من شركة GeneDireX الأمريكية. استخدم زوج المِشارِع primers التالية لتضخيم التسلسل ضمن جين *TMPRSS2* في المنطقة المتضمنة للتعدد الشكلي rs8134378؛ المِشارِع التقدّمي forward primer ذي التسلسل 5`AGCCTTGTGACTTCACCC3` والمِشارِع العكسي reverse primer ذي التسلسل 5`AGACATACGCCCCACAACAG3` واللذين يضحمان نظرياً منتجاً بطول ٣٥٢ شفع أساس، واستعمل للتعدد الشكلي rs12329760؛ كلٌّ من المِشارِع التقدّمي ذي التسلسل 5`TCGCCTCTACGGACCAAAC3` والمِشارِع العكسي ذي التسلسل 5`GCCCGTAGTTCTCG-TTCCAG3`، واللذين يضحمان نظرياً منتجاً بطول ٩٨ شفع أساس، وتم الحصول على المِشارِع الأربعة من شركة MacroGen الكورية الجنوبية. أمثلت شروط تفاعل بوليميراز الدنا التسلسلي PCR بهدف الحصول على منتج نوعي ووحيد لكل من التعددين الشكليين المستهدفين، واعتمدت شروط تفاعل التّضخيم التالية لكلٍ منهما؛ ٥ دقائق بالدرجة ٩٤°س، متبوعة بـ ٢٥ دورة تضمنت كل منها ٣٠ ثانية بالدرجة ٩٤°س لصهر

و(١٠٤,١%) و(١٥,٩%) لدى المرضى، و(٨٥,٧%) و(١٤,٣%) لدى مجموع عينات الدراسة، على الترتيب، ودون أية فوارق ذات دلالة إحصائية بين تواترات المجموعات لجميع المقارنات ( $p > 0.05$ ). إضافةً لذلك، تمت مقارنة تواترات الأليلين G و A بين مجموعة الأصحاء في دراستنا مع تواترها في عددٍ من المجموعات العرقية في العالم (الجدول ٢).

**نتائج التعدد الشكلي TPRSS2 rs12329760 (T<C) و Met<Val في الحمض الأميني (١٦٠).**

تم تضخيم التسلسل النكليوتيدي لجين *TPRSS2* ما بين المشرعين النّقْمي والعكسي النوعيين لهذا التعدد الشكلي بنجاح، إذ أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي لمنتجات التضخيم عُصابةً وحيدةً بطولٍ قريبٍ من العياري ١٠٠ شفع أساس، بينما الطول المتوقع نظرياً هو ٩٦ شفع أساس (الشكل ٢). ويُظهر الشكل نفسه أمثلةً لعيناتٍ تمثل الأنماط الجينية الثلاثة؛ C/T و C/C و T/T. بلغ عدد عينات أفراد الدراسة الكلي المنمّطة جينياً لهذا التعدد ٦٦ عيّنة توزّعت بين إناث ٢٣ (٣٥%) - ذكور ٤٣ (٦٥%)، وبين أصحاء ٢١ (٣٢%) ومرضى (٦٨%)، وبعدد الأليل كَلّي قدره ١٣٢ أليلاً.

من التعددين الشكليين بتطبيق اختبار فيشر كاي مربع، مع اعتبار وجود فارق معنوي عند مستوى دلالة  $p < 0.05$ .

## النتائج

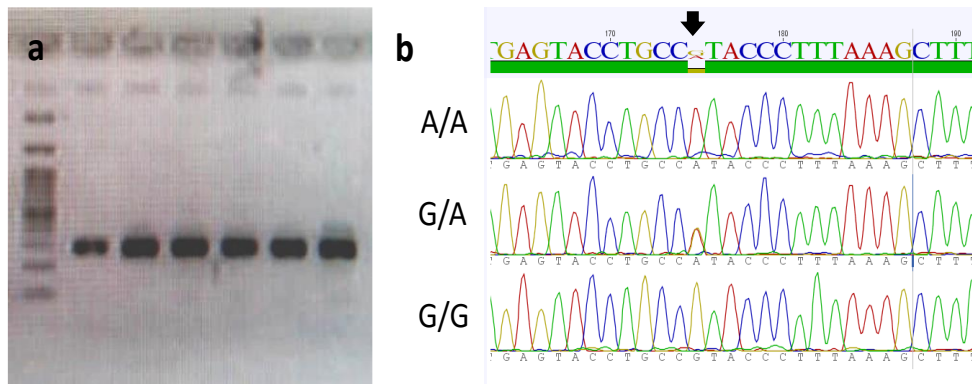
**نتائج التعدد الشكلي TPRSS2 rs8134378 (T<G) و (A<G).**

ضُخِّم التسلسل النكليوتيدي لجين *TPRSS2* ما بين المشرعين النّقْمي والعكسي لهذا التعدد الشكلي بصورة نوعية، إذ أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي لمنتجات التضخيم عُصابةً وحيدةً بطولٍ يقع بين عُصابتَي الشاهدين العياريين ٣٠٠ و ٤٠٠ شفع أساس، علماً أنّ الطول المتوقع نظرياً هو ٣٥٢ شفع أساس (الشكل ١). ويُظهر الشكل ذاته نتائج التضخيم لعيناتٍ تمثل الأنماط الجينية الثلاثة؛ G/A و G/G و A/A. بلغ عدد عينات أفراد الدراسة المنمّطة جينياً لهذا التعدد ٦٣ عيّنة توزّعت بين 22 أنثى (٣٥%) و 41 ذكراً (٦٥%)، وبين أصحاء بلغ عددهم ٢٢ فرداً (٣٥%) و ٤١ مريضاً (٦٥%)، وبعدد الأليل كَلّي قدره ١٢٦ أليلاً. حُسب تواتر الأنماط الجينية الثلاثة وتواتر الأليلين G و A في عينات كلٍّ من مجموعتي الأصحاء والمرضى وصُنِّفت إلى مجموعات فرعية (الجدول ١)، حيث بلغ تواتر الأليل G (٨٨,٦%) والأليل A (١١,٤%) لدى الأصحاء،

الجدول ١. تواتر الأنماط الجينية والأليل للتعدد الشكلي rs8134378 لجين *TPRSS2* في جمهرة الدراسة

تواتر الأليل n (%)		تواتر الأنماط الجينية n (%)			
الأليل A %	الأليل G %	A/A	G/A	G/G	
٣ (١٦,٧%)	١٥ (٨٣,٣%)	٠ (%)	٣ (33.3%)	٦ (66.7%)	أصحاء إناث (٩) - n (%)
٢ (٧,٧%)	٢٤ (٩٢,٣%)	٠ (%)	٢ (١٥,٤%)	١١ (٨٤,٦%)	أصحاء ذكور (١٣) - n (%)
٥ (١١,٤%)	٣٩ (٨٨,٦%)	٠ (%)	٥ (٢٢,٧%)	١٧ (٧٧,٣%)	جميع الأصحاء (٢٢) - n (%)
٣ (١١,٥%)	٢٣ (٨٨,٥%)	٠ (%)	٣ (٢٣,١%)	١٠ (٧٦,٩%)	مرضى إناث (١٣) - n (%)
١٠ (١٧,٩%)	٤٦ (٨٢,١%)	٢ (٧,٢%)	٦ (٢١,٤%)	٢٠ (٧١,٤%)	مرضى ذكور (٢٨) - n (%)
١٣ (١٥,٩%)	٦٩ (٨٤,١%)	٢ (٤,٨%)	٩ (٢٢%)	٣٠ (٧٣,٢%)	جميع المرضى (٤١) - n (%)
6 (13.6%)	38 (86.4%)	0 (%)	٦ (٢٧,٣%)	١٦ (٧٢,٧%)	جميع الإناث (٢٢) - n (%)
12 (14.6%)	70 (85.4%)	٢ (٤,٩%)	٨ (١٩,٥%)	٣١ (٧٥,٦%)	جميع الذكور (٤١) - n (%)
18 (14.3%)	108 (85.7%)	2 (٣,٧%)	١٤ (٢٤,٤%)	٤٧ (٧١,٩%)	المجموع (٦٣) - n (%)

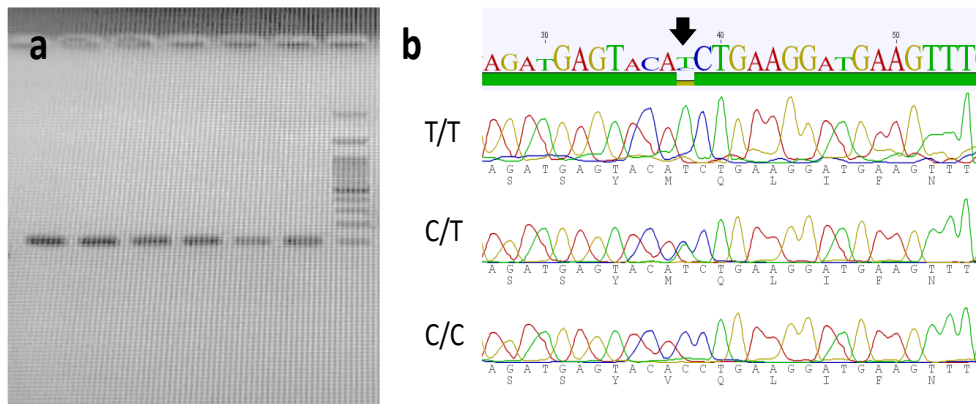




الشكل ١. (a) نتائج الرحلان الكهربائي بمنتجات تضخيم التسلسل النكليوتيدي الحاوي على موقع التعدد الشكلي rs8134378، وتظهر عصابة بين العيارين ٣٠٠ و ٤٠٠ شفع أساس في جميع العينات. (b) مقارنة نتائج السلسلة لثلاث عينات؛ الأولى متماثلة الزيغوت للأليل A، والثانية متخالفة الزيغوت G/A، والثالثة متماثلة الزيغوت للأليل G.

الجدول ٢. مقارنة تواترات الأليل التعدد الشكلي rs8134378 لجين *TMPRSS2* في جبهة الدراسة مع عدد من الأعراق

P value بالمقارنة مع دراستنا	الأليل A %	الأليل G %	الأليل T %	المجموعة البشرية
P>0.05	%8	%92	%0	الأوروبيون
P>0.05	%10.6	%89.4	%0	الأفارقة
P=0.055	%0	%100	%0	الآسيويون
P>0.05	%7.7	%92.3	%0	عالمياً
----	%١١,٤	%٨٨,٦	%0	دراستنا



الشكل ٢. (a) نتائج الرحلان الكهربائي لمنتجات تضخيم التسلسل النكليوتيدي الحاوي على موقع التعدد الشكلي rs12329760، وتظهر عصابة تقارب ١٠٠ شفع أساس في جميع العينات. (b) مقارنة نتائج السلسلة لثلاث عينات؛ الأولى متماثلة الزيغوت للأليل C، والثانية متخالفة الزيغوت C/T، والثالثة متماثلة الزيغوت للأليل T.

الدراسة، على الترتيب. وعقدت مقارنات بين تواترات الأليلين C و T لدى مجموعة الأصحاء في دراستنا مع تواترها في عدد من المجموعات العرقية في العالم كما يُظهر الجدول 4. اعتمدنا أداة SwissModel للحصول على نموذج افتراضي ثلاثي الأبعاد يحتوي الميثيونين في الموقع ١٦٠ بناءً على بنية

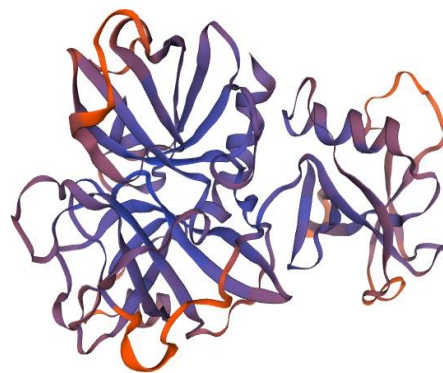
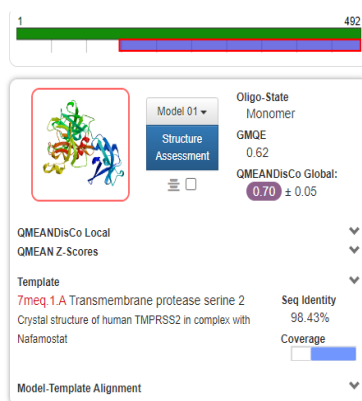
حسبت تواترات الأنماط الجينية الثلاثة والأليلين C و T في عينات كل من الأصحاء والمرضى وصُنِّقت إلى مجموعات فرعية (الجدول ٣)، حيث بلغ تواتر الأليل C (%٨١) والأليل T (%١٩) لدى الأصحاء، و(%٨٢) و(%١٧,٨) لدى المرضى، و(%٨١,٨) و(%١٨,٢) لدى مجموع عينات

بين الأحماض الأمينية في الجيب الكاره للماء ضمن النموذج الافتراضي الحاوي على الميثيونين، والتي أظهرت تقارباً لثمالة الميثيونين في الموقع ١٦٠ الناجمة عن التعدد الشكلي rs12329760 مع كلٍ من الهيستيدين في الموقع ١٦٩ والتيروزين في الموقع ٢٢٢ واللوسين في الموقع ٢٢٥ بالمقارنة مع الفالين في الموقع ١٦٠ في النمط الشائع من البروتين، على الترتيب، بينما تباعدت ثمالتا الحمضين الأمينين الهيستيدين ١٦٩ والتيروزين ٢٢٢ عن بعضهما البعض بمقدار ٠,٩٩ أنغستروماً (الجدول ٥).

متضمنة في قاعدة البيانات PDB تحت رقم الوصول 7Meq (الشكل ٣). ويظهر الشكل 4 البنية الفراغية المقاسة لبروتين TMPRSS2 والمتضمنة في قاعدة البيانات PDB تحت رقم الوصول 7Meq بالمقارنة مع النموذج الافتراضي ثلاثي الأبعاد للبروتين، مع الإشارة إلى موقع كلٍ من الحمضين الأمينيين الفالين والميثيونين ضمن النموذجين السابقين. كما يوضح الشكل ذاته التأثير الجزيئي بين الفالين أو الميثيونين في الموقع ١٦٠ من البنية الأولية للبروتين مع ثمالات الأحماض الأمينية المجاورة ضمن الجيب الكاره للماء الذي يحتله الفالين أو الميثيونين. وباستخدام أداة RasMol، قيست المسافة الجزيئية

الجدول ٣. تواتر الأنماط الجينية والألائل للتعدد الشكلي TMPRSS2 rs12329760 في جبهة الدراسة

تواتر الألائل n (%)		تواتر الأنماط الجينية n (%)			
الأليل T %	الأليل C %	T/T	C/T	C/C	
٣ (١٨,٧%)	١٣ (٨١,٣%)	٠ (٠%)	٣ (٣٧,٥%)	٥ (٦٢,٥%)	أصحاء إناث (٨) - n (%)
٥ (١٩,٢%)	٢١ (٨٠,٨%)	١ (٧,٧%)	٣ (٢٣,١%)	٩ (٦٩,٢%)	أصحاء ذكور (١٣) - n (%)
٨ (١٩%)	٣٤ (٨١%)	١ (٤,٨%)	٦ (٢٨,٦%)	١٤ (٦٦,٦%)	جميع الأصحاء (٢١) - n (%)
٦ (٢٠%)	٢٤ (٨٠%)	٠ (٠%)	٦ (٤٠%)	٩ (٦٠%)	مرضى إناث (١٥) - n (%)
١٠ (١٦,٧%)	٥٠ (٨٣,٣%)	١ (٣,٣%)	٨ (٢٦,٧%)	٢١ (٧٠%)	مرضى ذكور (٣٠) - n (%)
١٦ (١٧,٨%)	٧٤ (٨٢,٢%)	١ (٢,٢%)	١٤ (٣١,١%)	٣٠ (٦٦,٧%)	جميع المرضى (٤٥) - n (%)
٩ (١٩,٦%)	٣٧ (80.4%)	0 (0%)	٩ (٣٩,١%)	١٤ (٦٠,٩%)	جميع الإناث (٢٣) - n (%)
١٥ (١٧,٤%)	٧١ (٨٢,٦%)	2 (٤,٦%)	١١ (٢٥,٦%)	٣٠ (٦٩,٨%)	جميع الذكور (٤٣) - n (%)
٤٢ (١٨,٢%)	١٠٨ (81.8%)	2 (٣,١%)	٢٠ (٣٠,٣%)	٤٤ (٦٦,٦%)	المجموع (٦٦) - n (%)

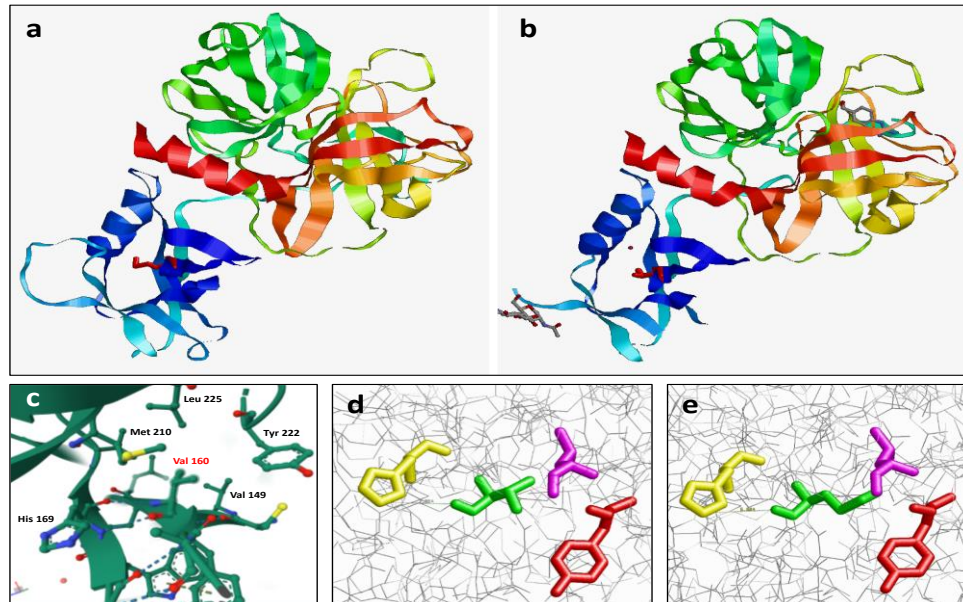


الشكل ٣. نموذج افتراضي ثلاثي الأبعاد لبروتين TMPRSS2 مع الميثيونين في الموقع ١٦٠ تم إنشاؤه باعتماد أداة SwissModel بالنمذجة المقارنة مع بنية النمط الشائع للبروتين (محافظة في قاعدة البيانات Protein Data Bank بلسم 7meq) والحوي على الفالين في الموقع ١٦٠.



الجدول ٤. تواتر الألائل للتعدد الشكلي TMPRSS2 rs12329760 في جمهرات عالمية

P value	الأليل T %	الأليل C %	المجموعة البشرية
P>0.05	%22	%78	الأوروبيون
P=0.058	%29	%71	الأفارقة
P<0.05	%39	%61	الآسيويون
P>0.05	%22.5	%77.5	عالمياً
----	%١٩	%٨١	دراستنا



الشكل ٤. البنية ثلاثية الأبعاد لبروتين TMPRSS2 مع التعدد الشكلي (a) Met160 والنمط الشائع (b) Val160، ويظهر كل من الميثيونين والفالين باللون الأحمر. (c) رسم تخطيطي من البنية Meq7 للنمط الشائع من بروتين TMPRSS2 يوضح تأثير الفالين في الموقع ١٦٠ مع بعض ثمالات الأحماض الأمينية المجاورة التي تشكل معه جيبياً كارهياً للماء. (d) و (e) المسافات الجزيئية بين كل من الفالين والميثيونين (باللون الأخضر)، على التوالي، وبين الهيستيدين ١٦٩ (باللون الأصفر)، والتيروسين ٢٢٢ (باللون الأحمر) و اللوسين ٢٢٥ (باللون البنفسجي)

الجدول ٥. مقارنة المسافات الجزيئية بين الأحماض الأمينية في الجيب الكاره للماء حول الفالين أو الميثيونين في الموقع ١٦٠ في بروتين TMPRSS2

الفارق	Our Model (Met160)	7MEQ (Val160)	ثمالات الحموض الأمينية التي تجري المقارنة بينها
2.18 A°	٥,٦٨ A°	٧,٨٦ A°	Val160 مع His169 أو (Met160 مع His169)
3.96 A°	٣,٥٦ A°	٧,٥٢ A°	Val160 مع Tyr222 أو (Met160 مع Tyr222)
0.97 A°	٦,٨٨ A°	٧,٨٥ A°	Val160 مع (Met160 مع Leu225)
0.99 A°	١٢,٢٤ A°	١١,٢٥ A°	His169 و Tyr222
0.02 A°	١٠,٢٥ A°	١٠,٢٣ A°	His169 و Leu225

## المناقشة

لم تُظهر نتائجنا وجود أي فارق جوهري في تواتر الأليل A للتعدد الشكلي rs8134378 في أيٍّ من المقارنات التي عقدت بين مجموعات الدراسة، حيث كانت قيم p في جميع هذه المقارنات أكبر من مستوى الدلالة 0.05 ( $p > 0.05$ )؛ بين الإناث (١٣,٦%) والذكور (١٤,٦%)، والأصحاء (١١,٤%) والمرضى (١٥,٩%)، وكان لافتاً أنّ الفارق كان أعظمياً لدى مقارنة التواتر الأعلى لهذا الأليل لدى المرضى الذكور (١٧,٩%) بالمقارنة مع الذكور الأصحاء الذين لم يتجاوز تواتر الأليل لديهم (٧,٧%)، لكن دون وجود دلالة إحصائية ربما بسبب محدودية هذه الدراسة والتي تتجلى بالعدد القليل لأفراد الدراسة في كلتا المجموعتين (الجدول ١).

وبالمقارنة بين التواترات التي أفضت إليها دراستنا والتواترات المرجعية العالمية المستقاة من موقع SNPedia للتعدد الشكلي rs8134378 والمبيّنة في الجدول ٢، يتّضح غياب الأليل T لدى جمهورتنا من السوريين بما يتفق مع انعدام تواتره في الأعراق الأخرى، كما يلاحظ غياب الأليل A أيضاً لدى الآسيويين فقط، في حين تسلّط نتائجنا الضوء على تواتر هو الأعلى للأليل A في جمهورتنا بالمقارنة مع الجمهورات السكانية العالمية، الأمر الذي قد ينسجم مع معدلات منخفضة للإصابات والوفيات لدى الشرق الأوسطيين<sup>(10)</sup>، ومن بينهم جمهرة دراستنا من السوريين. وكان يمكن لدراسة تواتر هذا التعدد الشكلي لدى المصابين بداء كوفيد 19 وربطه مع شدة الإصابة لديهم أن يشكّل إضافةً مهمةً لهذا البحث.

## التعدد الشكلي rs12329760

بالمقارنة مع الدور المقترح للتعدد الشكلي rs8134378، تبدو الصورة السريرية أقلّ ضبابية بعض الشيء بالنسبة لارتباط التعدد الشكلي rs12329760 مع إمرضية أقلّ شدةً لداء كوفيد-١٩، إذ يبدو أنّ التوافق أكبر حول الدور الذي يؤديه الأخير من خلال عدد من الدراسات التي أجريت في العامين الماضيين<sup>(14-18)</sup>. فقد أوضحت نتائج Ravikanth وزملاؤه<sup>(19)</sup> أن شطر البروتين الشوكي Spike ينخفض في بروتين TMPRSS2 المعدل نتيجة التعدد الشكلي rs12329760، مما يؤدي غالباً إلى انخفاض في معدّل ولوج الفيروس إلى

لا يراودنا الشكّ أن البحث عن العوامل الجينية المؤهبة ضمن العدد الضخم من التعددات الشكلية التي يمكن أن تشكل المخزون الجيني والوراثي لكل فرد تحدّ بالغ الصعوبة. وعلى سبيل المثال، هنالك 11,184 تعدداً شكلياً في جين TMPRSS2 من بينها ٢١ تعدداً شكلياً فقط تؤثر في فعالية البروتين، وتسعة تعددات شكلية منها فقط، بما في ذلك التعدد الشكلي rs8134378، يختلف تواترها بين الشعوب في شرق آسيا وبقية الجمهورات في العالم<sup>(4)</sup>. وتقترض بعض الدراسات بأنّ التتويجات في جين TMPRSS2 يمكن أن تكون المبرر الجزيئي للبيانات الوبائية المتباينة حول انتشار SARSCoV-2 وشدة المرض بين الأعراق والإثنيات<sup>(12)</sup>. وقد اخترنا لدراستنا تعددين شكليين، rs8134378 و rs12329760، كانا من بين أهم التعددات الشكلية في جين TMPRSS2 التي سلّط الضوء عليها في الدراسات التي أجريت خلال العامين الماضيين من حيث ارتباطها بإمراضية داء كوفيد-١٩.

## التعدد الشكلي rs8134378

يتوضّع الأليل rs8134378 في المعزاز المستجيب للأندروجين لجين TMPRSS2، وعلى بعد 13 كيلو أساساً من موقع بدء انتساخها. وكما أشرنا آنفاً، يمكن لهذا التعدد أن يخفض التعبير الجيني المحرّض بالأندروجين، وبالتالي من المتوقع أن يكون لهذا التعدد الشكلي تأثير وقائي أو مخفف لشدة الأعراض لدى مرضى داء كوفيد<sup>(5)</sup>. من جهة أخرى، برز هذا التعدد الشكلي واحتمال ارتباطه مع إمرضية COVID-19، حين أشار Asselta وزملاؤه إلى نمط جيني فرداني Haplotype يضم تسعة من التعددات الشكلية المرتبطة بعضها ببعض والتي كانت عالية التواتر لدى جمهرة الإيطاليين، في محاولة من الباحثين تفسير معدلات الوفيات المرتفعة في تلك الجمهرة بالمقارنة مع غيرها من الجمهورات الأوروبية والآسيوية<sup>(13)</sup>. وتبين أن هذه التعددات التسعة السابقة ترتبط إلى eQTL خاص بالتعدد الشكلي rs8134378، مما قد يقترح ارتباطاً إيجابياً لهذا التعدد بإمراضية داء كوفيد-١٩.

الخلية، وبالتالي إلى مرض أقل شدة. وقد دعمت هذه الفرضية بانخفاض شدة المرض لدى جمهرة مرضى في الهند. حيث أشار Paniri وزملاؤه (4) إلى ارتباط الأليل T في التعدد الشكلي rs12329760 بانخفاض احتمالية تطور داء COVID-19 شديد لدى المرضى، وكان هذا الارتباط أقوى لدى متماثلي الزيغوت من عموم المجتمع، كما ترافق الأليل T مع انخفاض اختطار الاستشفاء بعد العدوى المؤكدة. وأشار Choudhary وزملاؤه (3) أن معدلات الوفيات والتعايرية في شدة الإصابة بداء كوفيد-19 كانت أعلى بشكل هام إحصائياً لدى الجمهرة الإيطالية بالمقارنة مع جمهرة من الشرق آسيويين، وترافق ذلك مع تواتر أقل للتعدد الشكلي V160M في البروتين لدى الإيطاليين بالمقارنة مع الجمهرات الأوروبية الأخرى، مما يقترح زيادة في فعالية بروتين TMPRSS2 لدى الإيطاليين. وعلى التقيض مما سبق، أشار Abdelsattar وزملاؤه (20) في دراسة حديثة أجريت على جمهرة مصرية إلى زيادة هامة في تواتر النمط الجيني CT و TT للتعدد الشكلي rs12329760 لدى المرضى الذين يعانون من داء كوفيد-19 شديد بالمقارنة مع أصحاب النمط الجيني الشائع CC، كما ارتبط النمطان الجينين CT و TT مع ارتفاع في المعالم الالتهابية لدى المرضى (مثل CRP، فيريتين، LDH، D-Dimer).

بنوبياً، تبين أن الفالين في الموقع ١٦٠ ثابت مع عدد من الثمالات الأمينية غير القطبية بحيث يشكل معها جيوباً كارهة للماء وهي Val 149 و Met210 و Tyr222 و Leu225. ولدى استبدال الميثيونين Met160 محل الفالين تظهر إعاقة فراغية مع الثمالات المجاورة التي لا تحتوي الميثيونين بسبب بنيته الطويلة نسبياً، الأمر الذي يخفض ثباتية البروتين (19). أضف إلى ذلك، يمكن للميثيونين، وهو حمض أميني أقل كرهاً للماء من الفالين، أن يززع شبكة التأثيرات غير القطبية التي يقوم بها الفالين. وقد بين التحليل الجزيئي ل Val160Met أنه ليس بالإمكان المحافظة على الشبكة الكارهة للماء بوجود الميثيونين في الموقع ١٦٠، وأن هنالك اصطداماً فراغياً بين الميثيونين وبعض الأحماض الأمينية القريبة، مثلها التيروزين ٢٢٢، مما يقترح بأن هذه الطفرة تززع بنية البروتين (21). في الواقع، أظهرت الاختبارات في الزجاج *in vitro* أن التغيير إلى الحمض الأميني الميثيونين قد أثر في فعالية شطر بروتين

لم تظهر نتائجنا وجود أي فرق جوهري ( $p > 0.05$ ) في جميع المقارنات التي عقدناها لتواترات الأليل T للتعدد الشكلي rs12329760 بين مجموعات الدراسة، سواء بين الإناث (19.6%) والذكور (17.4%)، أم الأصحاء (19%) والمرضى (17.8%)، مع كون التواتر الأعلى لهذا الأليل لدى المرضى الإناث (20%) بالمقارنة مع الأخفض لدى المرضى الذكور (16.7%)، لكن دون وجود فرق ذي دلالة إحصائية ربما بسبب محدودية العدد القليل لأفراد الدراسة في كلتا المجموعتين (الجدول ٣).

من جهة أخرى، أظهرت نتائجنا أن تواتر الأليل T (19%) في جمهرة دراستنا كان الأدنى بالمقارنة مع جميع الجمهرات السكانية الأخرى (الجدول ٤)، كما كان الأقرب للتواتر المسجل لدى الأوروبيين (22%)، بينما بلغ تواتر الأليل T نسبه الأعلى لدى الآسيويين وبفارق ذي دلالة إحصائية بالمقارنة مع تواتره لدى جمهرة دراستنا ( $p < 0.05$ ). وقد ربطت دراسة الاختلافات في تواتر الأليل rs12329760 بين الإيطاليين (١٧،٤%) من جهة وشعوب شرق آسيا (٣٨،٤%) من جهة أخرى، بموضع الخاصية الكمية للتعبير Expression quantitative trait locus (eQTL)، أي مجموعات البيانات الجينومية من جهة

والفوندابارينوكس fondaparinux لزيادة الفعالية المثبطة لبروتين TMPRSS2، وبالتالي يمكن مستقبلاً تحري إمكانية إدراج هذين الدوائين في استطبانات تشمل علاج داء كوفيد - ١٩ أو غيره من الاضطرابات السريرية التي يُعتقد بتورط بروتين TMPRSS2 في آلياتها المرضية (26).

### الاستنتاجات والتوصيات

في حدود معرفتنا، فإنّ هذا التقرير هو الأول من نوعه من حيث تحري تواتر التعددين الشكليين rs8134378 و rs12329760 في جين *TMPRSS2* لدى جمهرة من السوريين. وعلى الرغم من محدودية الدراسة الناجمة عن صغر حجم الجمهرة من الأصحاء والمرضى المنخرطين في هذا البحث، فقد أظهرت نتائجنا توافقاً تقريبياً بين تواتر كلٍ من هذين التعددين الشكليين في جمهرة السوريين وتواترهما في عدد من الجمهرات السكانية العالمية، مع نزعة لتواتر أعلى لـ rs8134378 وأخفض لـ rs12329760 في جمهرة دراستنا، يمكن أن يكون لها دلالات في انخفاض معدل الإصابات والوفيات في المجتمع السوري بالمقارنة مع المجتمعات الأخرى. زيادة على ذلك، يمكن أن تشير النزعة بوجود تواتر أعلى لـ rs8134378 وأخفض لـ rs12329760 لدى جمهرة المرضى المصابين باضطرابات ارتفاع ضغط الدم والختار، بالمقارنة مع الجمهرات الأخرى المدروسة من قبلنا، إلى دورٍ محتملٍ لما يسبب من قبل لإنزيم TMPRSS2 في إمرضات هذه الأدوية.

### المراجع

1. Lukassen S, Chua RL, Trefzer T, Kahn NC, Schneider MA, Muley T, et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *EMBO J* (2020):e105114 Apr 4.
2. Vaarala MH, Porvari KS, Kellokumpu S, Kyllonen AP, Vihko PT. Expression of transmembrane serine protease TMPRSS2 in mouse and human tissues. *J Pathol* (2001); 193(1):134-40 Jan.
3. Choudhary S, Sreenivasulu K, Mirta P, et al. Role of genetic variants and gene expression in the susceptibility and severity of COVID-19. *Ann Lab Med* (2021); 41:129-138.
4. Paniri A, Hosseini MM, and Akhavan-Niaki H. First comprehensive computational analysis of functional consequences of TMPRSS2 SNPs in susceptibility to

ونواسخ transcriptomes الأفراد من جهة أخرى لاستعراف المواقع المؤثرة في والتعبير الجيني مقدراً بمجمل جزيئات الرنا المرسال، وذلك في ظلّ المعطيات التي تقيد بأنّ معدّل الوفيات الناجمة عن COVID19 وشدة المرض لدى الإيطاليين كانت أعلى وبفارق ذات دلالة إحصائية في كلا الجنسين بالمقارنة مع سكان دول شرق آسيا (13). ويمكن أن يترافق التواتر المرتفع نسبياً لدى الشرق آسيويين مع نوع من الوقاية ضد داء كوفيد- ١٩ لديهم بالمقارنة مع الأعراق الأخرى التي تمتلك تواتراً منخفضاً نسبياً من التعدد الشكلي rs12329760 (21).

لعلّ من النتائج المثيرة للاهتمام في دراستنا امتلاك المرضى الذكور المشخصين بارتفاع التوتر الشرياني والختارات التواتر الأدنى للأليل T للتعدد الشكلي rs12329760 بالمقارنة مع المجموعات الأخرى كافةً، بينما كان تواتر الأليل A للتعدد الشكلي rs8134378 في جمهرة الذكور المرضى الأعلى، علماً أن الأدبيات الطبية تخلو من ربط مباشر بين فعالية الجين *TMPRSS2* مع هذه الاضطرابات السريرية، بينما ظهرت العلاقة غير المباشرة فقط بعد جائحة كورونا، إذ أنّ وجود تعبير أعلى للجين يحرض دخول الفيروس ويزيد من احتمالية الاضطرابات السريرية المرافقة لداء كوفيد-١٩، من بينها ارتفاع ضغط الدم الانقباضي والانقباضي ومعدل الخثرات لدى المرضى (22-24). بناءً عليه، قد تقترح نتائجنا ارتباطاً مباشراً غير مثبت سابقاً لجين *TMPRSS2* في الاضطرابات السريرية المتعلقة بارتفاع ضغط الدم والختارات. وبخاصة أن بروتين *TMPRSS2* ينخرط في الحفاظ على استتباب العديد من التغيرات التطورية ويشكل بذلك هدفاً دوائياً في المستقبل يمكن التحكم بالدور الذي يلعبه، سواء في إمرضات داء كوفيد-١٩ أو في اضطرابات سريرية أخرى في حال إثبات دوره في إمرضاتهما، وذلك عن طريق مثبطات السيرين بروتياز مثل camostat mesylate (25). زيادة على ذلك، أظهرت دراسة نُشرت حديثاً أن مضاد التخثر الأنتي الثرومبين يمكنه الارتباط ببروتين *TMPRSS2* وتثبيط فعاليته الشاطرة لبروتين فيروس كورونا الشوكي وبالتالي يمكن للأنتي ثرومبين أن يسهم في حجب ولوج الفيروس إلى الخلايا. ويقترح هذا إمكانية استخدام مفعلات الأنتي ثرومبين، مثل الهيبارين heparin



17. Monticelli M, Mele BH, Benetti E, et al. Protective Role of a TMPRSS2 Variant on Severe COVID-19 Outcome in Young Males and Elderly Women. *Genes* (2021), 12, 596. <https://doi.org/10.3390/genes12040596>.
18. Saengsiwaritt W, Jittikoon J, Chaikledkaew U, and Udomsinprasert W. Genetic polymorphisms of ACE1, ACE2, and TMPRSS2 associated with COVID-19 severity: A systematic review with meta-analysis. *Rev Med Virol.* (2022); 32:e2323. <https://doi.org/10.1002/rmv.2323>.
19. Ravikanth V., Sasikala M., Naveen V., et al. A variant in TMPRSS2 is associated with decreased disease severity in COVID-19. *Meta Gene* (2021), 29, 100930.
20. Abdelsattar S, Kasemy ZA, Ewida SF, et al. ACE2 and TMPRSS2 SNPs as determinants of susceptibility to, and severity of, a covid-19 infection. *Br J Biomed Sci* (2022), 79:10238. doi: 10.3389/bjbs.2021.10238
21. Duman N. Tuncel G, Bisgin A, et al. Analysis of ACE2 and TMPRSS2 coding variants as a risk factor for SARS-CoV-2 from 946 whole exome sequencing data in the Turkish Population. *J Med Vir.* (2022). doi: 10.1002/jmv.27976
22. Shibata S, Kobayashi K, Tanaka M, et al. COVID-19 pandemic and hypertension: an updated report from the Japanese Society of Hypertension project team on COVID-19. *Hypertension Research* (2023) 46:589–600. <https://doi.org/10.1038/s41440-022-01134-5>.
23. Alshahaway M et al. Sex-mediated effects of ACE2 and TMPRSS2 on the incidence and severity of COVID-19; the need for genetic implementation. *Current Research in Translational Medicine* (2020); 68:149–150.
24. Rokni M, Heidari M, Nia MH, et al. Association of TMPRSS2 Gene Polymorphisms with COVID-19 Severity and Mortality: a Case-Control Study with Computational Analyses. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (2022) 194:3507–3526. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03885-w>.
25. Wettstein L, Immenschuh P, Weil T, et al. Native and activated antithrombin inhibits TMPRSS2 activity and SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol.* (2022); 95: e28124.
26. Wettstein L, Kirchhoff F, Munch J. The Transmembrane Protease TMPRSS2 as a Therapeutic Target for COVID-19 Treatment. *Int. J. Mol. Sci.* (2022), 23, 1351. <https://doi.org/10.3390/ijms23031351>.
- SARS-CoV-2 among different populations. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* (2020). <https://doi.org/10.1080/07391102.2020>.
5. Clinckemalie L, Spans L, Dubois V, et al. Androgen Regulation of the TMPRSS2 Gene and the Effect of a SNP in an Androgen Response Element. *Mol Endocrinol* (2013), 27(12):2028–2040.
6. Piva F, Sabanovic B, Cecati M, Giulietti M. Expression and co-expression analyses of TMPRSS2, a key element in COVID-19. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* (2021) 40:451–455.
7. Foresta C, Rocca MS, Di Nisio A. Gender susceptibility to COVID-19: a review of the putative role of sex hormones and X chromosome. *Journal of Endocrinological Investigation* (2021) 44:951–956.
8. Fabiao J, Sassi B, Pedrollo EF, et al. Why do men have worse COVID-19-related outcomes? A systematic review and meta-analysis with sex adjusted for age. *Braz J Med Biol Res* (2022) 55: e11711, <https://doi.org/10.1590/1414-431X2021e11711>.
9. David A, Parkinson N, Peacock TP, et al. A common TMPRSS2 variant has a protective effect against severe COVID-19. *Current Research in Translational Medicine* (2020), 70 pp: 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.retram.2022.103333>.
10. <https://covid19.who.int/>, accessed on Feb 23 2023.
11. NIH Medline Plus bulletin. <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/genomicresearch/snp/>
12. Dieter C, Brondani L, Lemos NE, et al. Polymorphisms in ACE1, TMPRSS2, IFIH1, IFNAR2, and TYK2. Genes Are Associated with Worse Clinical Outcomes in COVID-19. *Genes* (2023), 14, 29. <https://doi.org/10.3390/genes14010029>.
13. 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); 12:10087-98.
14. Yildirim Z, Sahin OS, Yazar S, and Cetintas VB. (2021) Genetic and epigenetic factors associated with increased severity of Covid-19. *Cell Biology International, Cell Biol Int.* (2021); 45:1158–1174. DOI: 10.1002/cbin.11572.
15. Wulandari L, Hamidah B, Pakpahan C, et al. (2021) Initial study on TMPRSS2 p.Val160Met genetic variant in COVID-19 patients. *Human Genomics* (2021) 15:29. doi.org/10.1186/s40246-021-00330-7.
16. Shirazi SSB, Sakhaee F, Sotoodehnejadnematlahi F, et al. rs12329760 Polymorphism in Transmembrane Serine Protease 2 Gene and Risk of Coronavirus Disease 2019 Mortality. *BioMed Research International* (2022). doi.org/10.1155/2022/7841969.

### الشكر والعرفان

يتقدم الباحثان بالشكر الجزيل للأنسة رهام أنطاكي على الدعم التقني المتميز الذي قدمته لإنجاز العمل، ولسائر العاملين في قسم التقانات الحيوية الصيدلانية والمناعية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية.