

بررسی ارتباط پلی مورفیسم *TMPRSS6* rs4820268 با کم خونی فقر آهن در جمعیت ساکن در استان کردستان: یک مطالعه‌ی مورد-شاهدی

اسراء ملکی^۱، بهرام نیکخو^۲، فاطمه کشاورزی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کم خونی، شرایطی است که در آن غلظت هموگلوبین (Hb (Hemoglobin) و یا تعداد گلبول‌های قرمز خون (Red blood cell) RBC) کمتر از حد طبیعی است و برای تأمین نیازهای فیزیولوژیکی فرد کافی نیست. چندین پلی مورفیسم ژنتیکی مرتبط با وضعیت آهن شناسایی شده است. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs4820268G>A با آنمی فقر آهن در شهر سنندج بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی مربوط به بهار سال ۱۳۹۴، تعداد ۱۲۰ نفر شامل ۴۰ فرد مبتلا به آنمی فقر آهن و ۸۰ فرد سالم (بر اساس نتایج تست فریتین؛ هموگلوبین، CBC (Complete blood count) و MCV (Mean corpuscular volume)) با تکنیک RFLP-PCR و آنزیم HPY99I بررسی شدند.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های AA AG و GG در بیماران (۱۰) ۲۵، (۴) ۱۰ و (۲۶) ۶۵ درصد و در گروه سالم (۵۷) ۷۱/۲۵، (۱۷) ۲۱/۲۵ و (۶) ۷/۵ درصد بود. نسبت شانس OR (Odds ratio) ژنوتیپ GG، ۲۲ برابر نسبت به AA خطر بیماری را بیشتر می‌کند. همچنین، آزمون هاردی-وینبرگ (Hardy-Weinberg) نشان داد که جمعیت مورد ارزیابی در این تجزیه و تحلیل متعادل است.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد، رابطه‌ی معنی‌داری بین ژنوتیپ GG و AA به ترتیب با بیماری و سلامتی وجود دارد ($P < 0/001$). به عبارتی، افراد دارای ژنوتیپ GG دارای MCV، HGB و Ferritin پایین‌تری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ AA و AG بودند.

واژگان کلیدی: آنمی فقر آهن؛ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی؛ *TMPRSS6* rs4820268

ارجاع: ملکی اسراء، نیکخو بهرام، کشاورزی فاطمه. بررسی ارتباط پلی مورفیسم *TMPRSS6* rs4820268 با کم خونی فقر آهن در جمعیت ساکن در استان کردستان: یک مطالعه‌ی مورد-شاهدی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۵۹): ۶۱-۵۵

کار در بزرگسالان (۷)، کاهش رشد شناختی و رفتاری در کودکان همراه است (۸).

ژن *Transmembrane Protease Serine 6 (TMPRSS6)* کد کننده‌ی آنزیمی است که به عنوان یک عامل مؤثر در متابولیسم آهن در انسان و حیوان حائز اهمیت می‌باشد. این ژن عمدتاً در کبد بیان شده و بر روی تولید هپسیدین که یک هورمون تنظیم‌کننده‌ی آهن سیستمیک است، اثر کاهشی دارد (۳). در انسان پروتئین هپسیدین توسط ژن *HAMP* کد گذاری شده و یک تنظیم‌کننده‌ی کلیدی هموستاز آهن است که باعث تخریب فروپورتین یعنی تنها حامل شناخته شده برای تسهیل خروج آهن از ماکروفاژها و انتروسیت‌ها

مقدمه

کم خونی، شرایطی است که در آن غلظت هموگلوبین (Hb (Hemoglobin) و یا تعداد گلبول‌های قرمز خون (Red blood cell) RBC) کمتر از حد طبیعی است و برای تأمین نیازهای فیزیولوژیکی فرد کافی نیست (۱). غلظت‌های ثابت پلاسما و سطوح کافی آهن سلولی از طریق کنترل دقیق یک سری مراحل مهم که جذب، حمل، ذخیره‌سازی و بازیافت خود را تنظیم می‌کند، حفظ و نگهداری می‌شود (۱). این بیماری تقریباً بر یک سوم جمعیت جهان تأثیر می‌گذارد (۲). کم خونی، با افزایش عوارض و مرگ و میر در زنان و کودکان (۳، ۴)، عوارض بدو تولد (۵، ۶)، کاهش بهره‌وری

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات کردستان، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲- دانشیار، گروه آسیب‌شناسی و علوم آزمایشگاهی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

Email: f.keshavarzi@iausdj.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: فاطمه کشاورزی؛ دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

در سندج بود.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع مورد-شاهدی می‌باشد. این بررسی توسط شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات کردستان از لحاظ اخلاقی و پژوهشی با کد ۲۷۷۲ پ تأیید شد. نمونه‌گیری به صورت در دسترس در یک فاصله‌ی زمانی ۳ ماهه در بهار سال ۱۳۹۴ و با همکاری آزمایشگاه‌های خصوصی در سطح شهر سندج انجام شد. نمونه‌های خون محیطی ۴۰ بیمار با آنمی فقر آهن و ۸۰ فرد سالم به عنوان شاهد، مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات دموگرافیک و پارامترهای هماتولوژیک در بیماران و افراد کنترل سالم غربال شده در این مطالعه در جدول ۱ آمده است. معیارهای ورود به مطالعه با توجه به معیارهای تشخیص کم خونی بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی یعنی آزمایش‌های CBC اندازه‌ی گلبول‌های قرمز ($MCH < 27$ و $MCV < 80$)، هماتوکریت، سطح فریتین > 15 نانوگرم/میلی‌لیتر و هموگلوبین > 12 گرم/دسی‌لیتر صورت گرفت. رضایت کتبی از افراد دریافت گردید و به آن‌ها اطلاع داده شد که نمونه‌برداری فقط برای تحقیقات انجام شده است. سپس ۵ میلی‌لیتر نمونه‌ی خون از همه‌ی شرکت‌کنندگان جمع‌آوری شد و در لوله‌های CBC حاوی ماده‌ی ضد انعقاد قرار گرفت و در فریزر -20 تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

آزمایشات مولکولی

۱. استخراج DNA: DNA ژنومی با استفاده از کیت خون شرکت سیناکلون (DN8115C، تهران، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. سپس برای تعیین کمیت غلظت DNA ژنومی استخراج شده از نانودرآپ (Thermo Scientific) استفاده گردید و خلوص DNA توسط نسبت جذب نوری A260/A280 ارزیابی گردید.

می‌گردد (۷). در فقر آهن، هپسیدین تنظیم کاهشی انجام می‌دهد تا واسطه‌ی فروپورتین در جذب آهن را افزایش و کمبود آهن را جبران کند (۸). ژن *TMPRSS6* پروتئینی تحت عنوان ماتریپتاز دو را کد می‌کند که از خانواده ترانس ممبرین پروتئاز سرین نوع دو می‌باشد (۹). مشاهده شده که عدم سنتز ماتریپتاز دو، باعث به وجود آمدن فنوتیپ‌های کم خونی فقر آهن و ریزش مو می‌گردد که این امر می‌تواند به علت افزایش هپسیدین و بلوکه شدن انتقال آهن به پلاسما رخ دهد (۳).

چندین جهش رایج در *TMPRSS6* شناسایی شده که به شکل معنی داری با غلظت آهن سرم و غلظت‌های هموگلوبین در ارتباط است. در میان آن‌ها یک (Single nucleotide polymorphism) SNP غیر مرتبط (Missense) در دومین شبه تریپسین سرین پروتئاز (V736A) و یک SNP مرتبط در گیرنده‌ی LDL دومین‌های کلاس شبه A (D521D) بیشترین ارتباط معنی‌دار را با غلظت‌های هموگلوبین نشان داده‌اند (۱۰، ۱۱).

مطالعات نشان داده‌اند که rs4820268 دارای یک ارتباط معنی‌دار با غلظت هموگلوبین است (۱۰). این SNP در آگرون ۱۳ ژن *TMPRSS6* می‌باشد و آلل مینور آن منجر به یک تغییر در موقعیت ۵۲۱ نوکلئوتید می‌گردد. این تغییر آللی با کاهش غلظت هموگلوبین و فریتین سرم و افزایش غلظت ترانسفرین و گیرنده‌ی ترانسفرین سرم در بیشتر نژادهای بررسی شده، همراه است (۱۱). متآنالیز ارتباطی rs4820268 با Hb و فریتین در میان نژادهای آسیایی و قفقازی حاکی از این است که آلل G، منجر به پایین آمدن غلظت Hb می‌شود (۱۱). همچنین در مطالعه‌ی دیگری مشاهده شد که فراوانی آلل، خطر rs4820268 را در جمعیت آسیایی بیش از ۶۳ درصد نشان داد در حالی که در جمعیت قفقازی کمتر از ۴۵ درصد بوده است (۱۲).

بنابر آنچه گفته شد، هدف از این مطالعه، بررسی تغییر تک نوکلئوتیدی rs4820268 در تعدادی از بیماران مبتلا به آنمی فقر آهن

جدول ۱. اطلاعات دموگرافیک و پارامترهای هماتولوژیک در بیماران و افراد شاهد سالم غربال شده در مطالعه.

ویژگی‌ها	بیماران (n = ۴۰)	گروه شاهد (n = ۸۰)	P
سن (سال)	۲/۹ ± ۲/۱۶	۹/۶ ± ۸۲/۲۲	< ۰/۰۱
جنس (مرد/زن)	۲۷/۱۳	۵۴/۲۶	< ۰/۰۱
هموگلوبین (دسی‌لیتر/گرم) (Hb)	۴/۳ ± ۱۲/۱۰	۶/۱ ± ۱۲۸/۱۳	< ۰/۰۱
میانگین حجم گلبول قرمز (فمتولیت) (MCV (fL))	۸/۱۳ ± ۸۲/۲۲	۱/۴ ± ۸۱/۸۵	< ۰/۰۱
میانگین هموگلوبین در یک گلبول قرمز (پیکوگرم) (MCH (pg))	۵/۳ ± ۹۶/۲۲	۹/۱ ± ۶۵/۲۹	< ۰/۰۱
آهن سرم (lg/dL)	۸/۴۸ ± ۷۲/۵۲	۸/۲۶ ± ۳۲/۹۵	< ۰/۰۱
فریتین سرم (ng/mL)	۸/۳۳ ± ۱۸۳/۲۷	۷۱/۶۳ ± ۲/۹۴	< ۰/۰۱

Hb: hemoglobin; MCV: Mean corpuscular volume; MCH: Mean corpuscular hemoglobin; fL: Femtoliter

یافته‌ها

با استفاده از نرم افزار NEBcutter آنزیم مورد استفاده در این مطالعه، Hpy99I انتخاب و بررسی شد. خروجی نرم افزار نشان داد که اگر جهش تک نوکلئوتیدی rs4820268 در ژن رخ داده باشد، محصول PCR شکسته و دو قطعه ۲۴۴ bp و ۱۳۸ bp را ایجاد می‌کند و در غیر این صورت در آن یک باند ۳۸۲ bp مشاهده می‌شود. شکل ۱، نمونه‌ی ژل الکتروفورز محصول RFLP آورده شده است؛ که در آن یک باند ۳۸۲ bp نشان‌دهنده‌ی ژنوتیپ AA، دو باند ۲۴۴ bp و ۱۳۸ bp نشان‌دهنده‌ی ژنوتیپ GG و سه باند ۲۴۴ bp، ۱۳۸ bp و ۳۸۲ bp نشان‌دهنده‌ی ژنوتیپ AG است.



شکل ۱. نمونه‌ی ژل الکتروفورز محصول RFLP. چاهک ۱: نمونه‌ی هتروزیگوت (AG) شناسایی شده در نمونه‌های بیمار. چاهک ۲: نمونه‌ی هموزیگوت AA شناسایی شده در نمونه‌های بیمار. چاهک ۳: نمونه‌ی هموزیگوت GG شناسایی شده در نمونه‌های بیمار. چاهک ۴: نمونه‌ی هموزیگوت AA شناسایی شده در نمونه‌های بیمار. چاهک ۵: نمونه‌ی هموزیگوت AA شناسایی شده در نمونه‌های بیمار. شاهد.

نتایج آنالیز آماری: در میان ۴۰ بیمار مورد بررسی، ۱۰ بیمار، دارای ژنوتیپ AA، ۴ بیمار، دارای ژنوتیپ AG و در نهایت ۲۶ بیمار، دارای ژنوتیپ GG بودند. همچنین گروه شاهد (n = ۸۰) ۵۷ بیمار دارای ژنوتیپ AA، ۱۷ فرد، ژنوتیپ AG و ۶ فرد، دارای ژنوتیپ GG بودند. نتایج حاصل از RFLP و آنالیز آماری توسط رگرسیون لجستیک در این مطالعه در جدول ۲ خلاصه شده است.

جدول ۲. نتایج RFLP و نقش ژنوتیپ‌ها AA در سلامتی افراد و رابطه‌ی بین ژنوتیپ AA و آنمی به صورت معنی‌دار ($P < 0.001$)

TMPRSS6 rs4820268			
ژنوتیپ	AA (درصد)	AG (درصد)	GG (درصد)
گروه شاهد (n = ۸۰)	۵۷ (۷۱/۲۵)	۱۷ (۲۱/۲۵)	۶ (۷/۵)
گروه بیمار (n = ۴۰)	۱۰ (۲۵)	۴ (۱۰)	۲۶ (۶۵)
P	< ۰/۰۰۱	۰/۱۳۵	< ۰/۰۰۱
OR (95% CI)	۰/۱۳۵ (۰/۰۵۷-۰/۳۱۹)	-----	۲۲/۹۰۵ (۷/۹۷۰-۶۵/۸۲۱)

OR: Odds Ratio; CI: Confidence Interval

به علاوه، کیفیت DNAهای استخراج شده توسط الکتروفورز بر روی ژل ۱ درصد بررسی شد و در ادامه، DNA جداسازی شده در میکروتیوب‌های جداگانه قرار گرفته و در دمای ۲۰- تا زمان انجام PCR نگهداری شد.

۲. PCR-RFLP ژن TMPRSS6

ابتدا برای تکثیر ژن TMPRSS6 پرایمر مقابل با نرم افزار بر خط 3 Primer طراحی، بلاست و بیلات شد (R: 5'-TCGTGACAAGAGCGAGACAT-3', F: 5'-AATACAGAGGGGTTGGTGG-3') و از طریق شرکت سیناژن، سنتز گردید. در ادامه با استفاده از کیت PCR شرکت سیناکلون به شماره PR901638 بر اساس دستورالعمل مربوطه، ژن تکثیر یافت. بر اساس بروشور ۱۲/۵μL مسترمیکس، ۸/۵μL آب مقطر ۲ بار تقطیر، ۱ μL پرایمر فوروارد و ۱ μL پرایمر ریورس ترکیب شد و از مواد ترکیب شده، ۲۳ لاند برداشته و در میکروتیوب‌ها قرار گرفت. سپس به هر میکروتیوب، ۲ میکرولیتر DNA اضافه و به آرامی پیتینگ گردید. یک نمونه‌ی کنترل هم تهیه شد، سپس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه (میکرواسپین) یک اسپین کوچک شده و در داخل دستگاه PCR قرار داده شدند.

تعیین ژنوتیپ‌ها: از محصول PCR هر نمونه، میزان ۸μL به تیوب‌های جدید منتقل شد. سپس به ازای هر نمونه ۱۰μL از بافر RFLP (CutSmart@Buffer) که با رقت ۱ به ۹ با DDW رقیق شده بود و ۲μL آنزیم Hpy99I (با استفاده از نرم افزار NEBcutter آنزیم Hpy99I برای این SNP انتخاب گردید) اضافه شد. نمونه‌ها طبق دستورالعمل آنزیم به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس با ولتاژ ۴۰V در ژل ۲ درصد الکتروفورز شدند. در ادامه، ۱۰ μL از محصول RFLP با ۲ μL از رنگ الکتروفورز ران شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: با استفاده از آزمون χ^2 و نرم افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۰ (IBM Corporation, Armonk, NY) تفاوت‌های معنی‌داری تعیین شد. OR و ۹۵٪ CIها با استفاده از آزمون χ^2 برای تعیین تنوع ژنتیکی در گروه‌های بیمار و سالم محاسبه گردید.

جدول ۳. مطالعه‌ی تعادل هاردی واینبرگ و هتروزیگوسی برای دو گروه بیمار و سالم

ژنوتیپ	AA	AG	GG	A	G	P
گروه‌ها	۶۷	۲۱	۳۲	۱۵۵	۸۵	<۰/۰۰۰۱
بیماران	۱۰	۴	۲۶	۲۴	۵۶	۰/۰۰۰۱
شاهد	۵۷	۱۷	۶	۱۳۱	۲۹	<۰/۰۰۰۱

سالم بررسی شدند. نتایج نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های AA AG و GG در میان مبتلایان (۲۵(۱۰)، ۴(۱) و ۶۵(۲۶) درصد و در گروه سالم (۵۷(۷۱/۲۵)، ۱۷(۲۱/۲۵) و ۷(۶) درصد می‌باشد لذا نتایج، رابطه‌ی معنی‌داری بین ژنوتیپ GG را با بیماری کم خونی فقر آهن و AA با سلامتی نشان داد (P < ۰/۰۰۱). همچنین نتایج، ارتباط معنی‌داری بین پایین بودن MCV، Hb و Ferritin و ژنوتیپ را نشان داد، به طوری که افراد دارای ژنوتیپ GG، دارای MCV، Hb و Ferritin پایین‌تر نسبت به افراد دارای ژنوتیپ AA بودند.

Tanaka و همکاران در مطالعه‌ای دریافتند که بین پلی مورفیسم‌های rs4820268 و rs855791 با سطح آهن ارتباط معنی‌دار وجود دارد و همچنین دلایل علمی بیشتری از ارتباط آن با دیگر پدیده‌های مرتبط با آنمی را ارائه دادند. در این مطالعه، P برای rs4820268 برابر با ۰/۰۰۳ بود و در مطالعه‌ی ما، P برابر با ۰/۰۰۱ < به دست آمد که تقریباً نتایج نزدیک به هم بودند (۱۳).

An و همکاران دیدند که OR پلی مورفیسم rs855791 در همان ۱/۸۷ و ۱/۵۶ در ژوانگ بود. آن‌ها دیدند که یافته‌ها برای rs4820268 مشابه با rs855791 می‌باشد و نتیجه گرفتند که این دو پلی مورفیسم در ارتباط با آنمی اثر دارند (۴). در نتایج مطالعه‌ی حاضر، OR برای rs4820268 برابر با ۲۲/۹۰۵ بود که بسیار بیشتر از نتایج مطالعه‌ی An و همکاران (۴) می‌باشد.

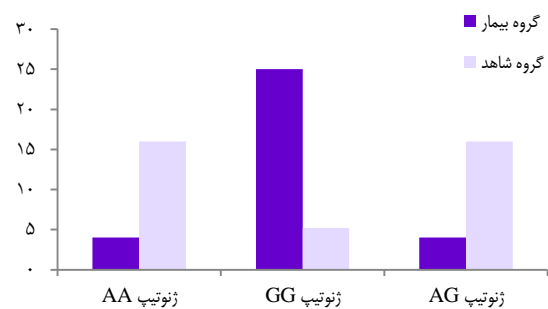
Ye و همکاران، رابطه بین ژنوتیپ‌های موجود در ژن *TMPRSS6* را با آنمی در افرادی با پیوند کلیه سنجیدند و دریافتند که تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مختلف این ژن با آنمی وجود ندارد (P = ۰/۲۶) (۱۴).

Delbini و همکاران نتیجه گرفتند که پلی مورفیسم rs4820268 ارتباط معنی‌داری با کم‌خونی فقر آهن دارد (P < ۰/۰۰۱) که در مطالعه‌ی ما نیز همین نتیجه به دست آمد (۱۵).

Lewis و همکاران به بررسی ژنوتیپ‌های مختلف در مادران باردار و نوزادان آن‌ها پرداختند و به این نتیجه رسیدند که ژنوتیپ GG در rs4820268 با سطح پایین هموگلوبین مرتبط است (۱۶).

پلی مورفیسم ژن *TMPRSS6* علاوه بر آنمی در ارتباط با بیماری‌های دیگر نیز دیده شده است. از جمله‌ی این بیماری‌ها می‌توان

با توجه به نتایج، ژنوتیپ‌ها AA در سلامتی افراد نقش داشته و رابطه‌ی بین ژنوتیپ AA و آنمی به صورت معنی‌دار مشاهده می‌شود (P < ۰/۰۰۱) اما بر اساس OR به دست آمده برای ژنوتیپ AA در جدول ۲ می‌توان فهمید که این رابطه معکوس می‌باشد، به عبارت دیگر، وقتی فردی دارای ژنوتیپ AA باشد احتمال اینکه دارای آنمی باشد خیلی پایین است. در آنالیز رگرسیون، هرچه OR به صفر نزدیک‌تر باشد این رابطه بیشتر معکوس می‌شود که در اینجا ۰/۱۳۵ به دست آمد که نزدیک به صفر است. همچنین حضور ژنوتیپ GG با آنمی ارتباط معنی‌داری داشت. OR در ژنوتیپ GG ۲۲/۹۰۵ به دست آمد، به این معنی که فرد دارای ژنوتیپ GG، ۲۲ برابر بیشتر شانس داشتن بیماری (آنمی) را دارد. بین هتروزیگوت (AG) افراد سالم و بیمار بودن ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. همچنین تعادل هاردی واینبرگ و هتروزیگوسی نیز برای دو گروه، مورد بررسی قرار گرفت. آزمون هاردی-واینبرگ نشان داد که جمعیت مورد ارزیابی متعادل است (P = ۰/۰۰۱) (جدول ۳). شکل ۲، فراوانی ژنوتیپ‌ها در نمونه‌های شاهد و بیمار را نشان می‌دهد. همچنین نتایج، ارتباط معنی‌داری بین پایین بودن MCV، HGB و Ferritin و ژنوتیپ را نشان داد، به طوری که افراد دارای ژنوتیپ GG، دارای MCV، HGB و Ferritin پایین‌تر نسبت به افراد دارای ژنوتیپ AA و AG بودند.



شکل ۲. فراوانی ژنوتیپ‌های فرآوانی ژنوتیپ‌های AA، GG و AG در گروه شاهد و بیمار

بحث

در این بررسی، ۱۲۰ فرد شامل ۴۰ مبتلا به آنمی فقر آهن و ۸۰ فرد

و همچنین Webb و همکاران (۱۸) در سال ۲۰۱۲ اعلام شد.

نتیجه گیری

ژنوتیپ AA در سلامتی افراد نقش داشته و حضور ژنوتیپ GG با آنمی فقر آهن ارتباط معنی داری داشت؛ در حالی که شرایط هتروزیگوت (AG) بین افراد سالم و بیمار، ارتباط معنی داری ایجاد نمی کرد. لذا، پلی مورفیسم rs4820268 با ابتلا به کم خونی فقر آهن در حجم مورد بررسی مرتبط بود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر منتج از پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد واحد علوم و تحقیقات کردستان است، که با کد ۲۷۷۲ پ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات کردستان به تصویب رسید.

به سرطان پستان، پروستات و برخی بیماری‌های کبدی اشاره کرد. مطالعاتی در مورد این بیماری‌ها می توان ذکر کرد به عنوان مثال Webb و همکاران در سال ۲۰۱۱ اظهار داشتند که تعداد زیادی از خانواده‌ی سرین پروتئاز گذرنده از غشاء با انواع مختلف سرطان در انسان مرتبط است و ناشی از الگوی بیان مختلف در این پروتئازها بین بافت‌ها و سلول‌های نرمال و سرطانی است (۱۷، ۱۸).

همچنین مطالعه‌ای که توسط Hartikainen و همکاران انجام شد، درباره‌ی ارتباط بین ماتریپتاز ۲ و سرطان پستان بود که به وسیله‌ی مطالعه‌ی نمونه (شاهد) در جامعه‌ی فنلاند شرقی انجام گرفت و مشخص شد که SNP (rs733655) از *TMPRSS6* با افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه همراه است (۱۹).

ماتریپتاز ۲ در شرایط آزمایشگاهی در تهاجم تومور و متاستاز در سرطان پروستات نقش دارد، این مطلب توسط Sanders و همکاران (۲۰)

References

- Allison J, Drury L, Ford JB. Two novel *TMPRSS6* variants in a compound heterozygous child with iron refractory iron deficiency anemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2020; 4(4): e238-9.
- Finberg KE, Whittlesey RL, Fleming MD, Andrews NC. Down-regulation of Bmp/Smad signaling by *Tmprss6* is required for maintenance of systemic iron homeostasis. *Blood* 2010; 115(18): 3817-26.
- Ramsay AJ, Quesada V, Sanchez M, Garabaya C, Sardà MP, Baiget M, et al. Matriptase-2 mutations in iron-refractory iron deficiency anemia patients provide new insights into protease activation mechanisms. *Hum Mol Gen* 2009; 18(19): 3673-83.
- An P, Wu Q, Wang H, Guan Y, Mu M, Liao Y, et al. *TMPRSS6*, but not *TF*, *TFR2* or *BMP2* variants are associated with increased risk of iron-deficiency anemia. *Hum Mol Genet* 2012; 21(9): 2124-31.
- Nalado AM, Dickens C, Dix-Peek T, Mahlangu N, Olorunfemi G, Paget G, et al. *MPRSS6* rs855791 polymorphism and susceptibility to iron deficiency anaemia in non-dialysis chronic kidney disease patients in South Africa. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2019; 10(1): 1-9.
- Benyamin B, Ferreira MA, Willemsen G, Gordan S, Middelberg R, McEvoy BP, et al. Common variants in *TMPRSS6* are associated with iron status and erythrocyte volume. *Nat Genet* 2009; 41(11): 1173-5.
- Çakmakli S, Acipayam C, Yenmiş İnan MN, Doğan H. Iron refractory iron deficiency anemia due to 374 base pairs deletion in the *tmprss6* gene. *J Pediatr Hematol Oncol* 2019; 41(5): e333-e335.
- Fairweather-Tait SJ, Guile GR, Valdes AM, Wawer AA, Hurst R, Skinner J, et al. The contribution of diet and genotype to iron status in women: a classical twin study. *PLoS One* 2013; 8(12): e83047.
- Batar B, Bavunogl I, Hacioglu Y, Cengiz M, Mutlu T, Yavuzer S, et al. The role of *TMPRSS6* gene variants in iron-related hematological parameters in Turkish patients with iron deficiency anemia. *Gene* 2018; 673: 201-5.
- Al-Amer O, Hawasawi Y, Oyouni AAA, Alshehri M, Alasmari A, Alzaharani O, et al. Study the association of transmembrane serine protease 6 gene polymorphisms with iron deficiency status in Saudi Arabia. *Gene* 2020; 751: 144767.
- Shinta D, Asmarinah, Adhiyanto C, Htet MK, Fahmida U. The association of *TMPRSS6* gene polymorphism and iron intake with iron status among under-two-year-old children in Lombok, Indonesia. *Nutrients* 2019; 11(878): 878.
- Lan Q, Shen M, Garcia-Rossi D, Chanock S, Zheng T, Berndt SI, et al. Genotype frequency and F ST analysis of polymorphisms Role of matriptase-2 (*TMPRSS6*) in iron metabolism. *Acta Haematol* 2007; 122: 87-96.
- Tanaka T, Roy CN, Franco OH, Matteini A, Semba RD, Arking D, et al. A genome-wide association analysis of serum iron concentrations. *Blood* 2010; 115(1): 94-6.
- Ye X, Yu Z, Li H, Shah T, Min DI, Liu Y, et al. Distributions of C-reactive protein and its association with metabolic syndrome in middle-aged and older Chinese people. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(17): 1798-805.
- Delbini P, Vaja V, Graziadei G, Duca L, Nava I, Refaldi C, et al. Genetic variability of *TMPRSS6* and its association with iron deficiency anaemia. *Br J Haematol* 2010; 151(3): 281-4.
- Lewis SJ, Bonilla C, Brion MJ, Lawlor DA, Gunnell D, Ben-Shlomo Y, et al. Maternal iron levels early in pregnancy are not associated with offspring IQ score at age 8, findings from a Mendelian randomization study. *Eur J Clin Nutr* 2014; 68(4): 496-502.
- Webb SL, Sanders AJ, Mason MD, Jiang WJ. Type II transmembrane serine protease (TTSP) deregulation

- in cancer. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2011; 16(2): 539-52.
18. Webb S, Sanders AJ, Mason MD, Jiang WJ. The influence of matriptase-2 on prostate cancer in vitro: a possible role for β -catenin. *Oncology Reports* 2012; 28(4): 1491-7.
19. Hartikainen JM, Tuhkanen H, Kataja V, Eskelinen M, Uusitupa M, Kosma VM, et al. Refinement of the 22q12-q13 breast cancer--associated region: evidence of TMPRSS6 as a candidate gene in an eastern Finnish population. *Clin Cancer Res* 2006; 12(5): 1454-62.
20. Sanders AJ, Parr C, Martin TA, Lane J, Mason MD, Jiang WG. Genetic upregulation of matriptase-2 reduces the aggressiveness of prostate cancer cells in vitro and in vivo and affects FAK and paxillin localisation. *J Cell Physiol* 2008; 216(3): 780-9.

The Association of *TMPRSS6rs4820268* Polymorphism with Iron Deficiency Anemia among the Population of Kurdistan: A Case Control Study

Asra Maleki¹, Bahram Nikkhoo², Fatemeh Keshavarzi³

Original Article

Abstract

Background: Anemia is a condition in which the concentration of hemoglobin (Hb) or red blood cell count (RBC) is lower than normal and is not sufficient to meet the physiological needs of the individual. Several genetic polymorphisms associated with iron status have been identified. The aim of this study was to investigate the relationship between rs4820268G > A polymorphism and iron deficiency anemia in Sanandaj.

Methods: In this case-control study, 120 individuals including 40 patients with iron deficiency anemia (based on the results of ferritin test; hemoglobin, CBC and MCV) alongside 80 healthy individuals were studied. After DNA extraction, genotypes of individuals were examined by RFLP-PCR technique and the effect of HPY99I enzyme.

Findings: The frequency of AA, AG and GG genotypes among patients were (25) 25, (4) 10 and (26) 65% and in healthy group (57) 71.25, (17) 21.25 and (6) 5/ 7%, respectively. The odds ratio (OR) of the genotype, GG, is 22 times higher than that of AA. Also, the Hardy-Weinberg test showed a balanced population in this analysis.

Conclusion: The results showed a significant relationship between GG and AA genotypes with disease and health, respectively ($P < 0.001$). In other words, individual with GG genotype had lower Hb, MCV and Ferritin than people with AA and AG genotypes.

Keywords: Iron deficiency anemia; Single nucleotide polymorphism; *TMPRSS6 rs4820268*

Citation: Maleki A, Nikkhoo B, Keshavarzi F. The Association of *TMPRSS6rs4820268* Polymorphism with Iron Deficiency Anemia among the Population of Kurdistan: A Case Control Study. J Isfahan Med Sch 2022; 40(659): 55-61.

1- MSc, Kurdistan Science and Research Branch, Department of Biology, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

2- Associate Professor, Department of Pathology and Clinical Laboratory, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

3- Associate Professor, Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Corresponding Author: Fatemeh Keshavarzi, Associate Professor, Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran; Email: f.keshavarzi@iausdj.ac.ir