

## ارتباط پلی مورفیسم *TMPRSS6* rs855791 با آنمی فقر آهن

آناهیتا بابان<sup>۱</sup>، فاطمه کشاورزی<sup>۲</sup>، بهرام نیکخو<sup>۳</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

بر اساس مطالعه‌های گذشته، میان پلی مورفیسم‌های *TMPRSS6* گزارش شده مرتبط با آنمی فقر آهن، rs855791 بیشترین ارتباط را با سطح هموگلوبین و شدت بیماری دارد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط rs855791 با آنمی فقر آهن در سندج بود.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد - شاهدهی مربوط به بهار سال ۱۳۹۴، فراوانی پلی مورفیسم *TMPRSS6* rs855791 در ۴۰ بیمار مبتلا به کم خونی فقر آهن و ۸۰ فرد سالم با انتخاب تصادفی و بدون محدودیت سن و جنس توسط روش PCR-RFLP بررسی شد. سپس ارتباط rs855791 و سطح هموگلوبین، فریتین و MCV در افراد بیمار و سالم با نرم افزار آماری SPSS ۱۹ مطالعه گردید.

#### یافته‌ها

فراوانی CC، CT و TT در بین ۴۰ بیمار و ۸۰ فرد سالم به ترتیب ۱۵، ۳۷/۵، ۴۷/۵ و ۳۳/۷۵، ۴۲/۵ و ۲۳/۷۵ درصد بود. لذا رابطه معناداری بین ژنوتیپ TT و ابتلا به بیماری وجود داشت (p= ۰/۰۱۰). هم‌چنین بین فراوانی CC و عدم ابتلا به بیماری رابطه معناداری مشاهده شد (p= ۰/۰۳۵، OR= ۰/۳۴). فراوانی بیشتر CT در گروه کنترل نسبت به بیمار، نشان دهنده احتمال ابتلای کمتر افرادی با ژنوتیپ CT است. نتایج ارتباط معناداری بین پایین بودن Hb، MCV، Ferritin و ژنوتیپ را نشان داد، به طوری که افراد دارای ژنوتیپ TT دارای Hb، MCV و Ferritin پایین‌تر نسبت به افراد دارای ژنوتیپ CC و TC بودند.

#### نتیجه‌گیری

پلی مورفیسم *TMPRSS6* rs855791 در بیماران مورد بررسی مبتلا به کم خونی فقر آهن در شهر سندج مؤثر بود.

**کلمات کلیدی:** آنمی فقر آهن، فریتین، هموگلوبین

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست‌شناسی، واحد سندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سندج، ایران  
۲- مؤلف مسئول: دکترای ژنتیک مولکولی، دانشیار گروه زیست‌شناسی، واحد سندج، دانشگاه آزاد سندج، سندج، ایران، کد پستی: ۶۶۱۶۹۳۵۳۹۱  
۳- متخصص آسیب شناسی، دانشیار گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سندج، ایران

## مقدمه

از آن جایی که تمام سلول‌های بدن انسان برای زنده ماندن به اکسیژن وابسته‌اند، کمبود آن باعث هیپوکسی شده و گستره وسیعی از مشکلات را به همراه دارد (۱-۵).

کم خونی می‌تواند در تمامی مراحل زندگی رخ دهد اما بیشتر در دوران بارداری و سنین پایین و یا افراد مسن خود را نشان می‌دهد (۲). کم خونی انواع گوناگونی دارد که هر یک علت خاص خود را دارند. این بیماری بر اساس گوناگونی ریخت‌شناسی گلبول‌های قرمز و مکانیسم‌های اتیولوژیک طبقه‌بندی می‌شود. سه علت اصلی آن از دست رفتن حجم زیادی از خون (خون‌ریزی‌های حاد یا مزمن)، از بین رفتن سلول‌های خونی (همولیز) و کمبود تولید سلول‌های خونی است. از علل کاهش تولید سلول‌های خونی؛ کمبود آهن، کمبود ویتامین B12، تالاسمی و تعدادی نئوپلاسم مغز استخوان می‌باشد. علل افزایش همولیز شامل تعدادی شرایط ژنتیکی مانند کم خونی داسی شکل، عفونت مانند مالاریا و برخی از بیماری‌های خود ایمنی است (۳).

عموماً آزمایش شمارش کامل خون را جزو آزمایش‌های نخستین برای تشخیص کم خونی، در نظر می‌گیرند. علاوه بر شمارش گلبول‌های قرمز و مقدار هموگلوبین، دستگاه خودکار شمارنده، اندازه گلبول‌های قرمز را با فلوسیتومتری اندازه می‌گیرند که یک عامل مهم در افتراق میان علل گوناگون کم خونی می‌باشد. برای مردان بالغ هموگلوبین کمتر از ۱۳ gr/dL، نشانه کم خونی است و برای زنان بالغ این مقدار ۱۲ gr/dL می‌باشد (۴، ۵).

علاوه بر عوامل تغذیه‌ای و بیماری‌های عفونی که از مهم‌ترین عوامل بیماری کم خونی فقر آهن هستند، جهش‌های ژنتیکی نیز در کم خونی فقر آهن مؤثرند. جهش در ژن‌های کد کننده زیر واحدهای هموگلوبین که منجر به تالاسمی و جهش در ژن *TMPRSS6* (Serine 6، Transmembrane protease که باعث کم‌خونی فقر آهن می‌شود، از آن جمله است (۱). در انسان محصول ژن *TMPRSS6* پروتئینی به نام ماتریپتاز ۲ است که تنظیم کننده پروتئین دیگری به نام هپسیدین می‌باشد. هپسیدین تنظیم‌کننده کلیدی تعادل آهن در بدن

است (۱).

ژن *TMPRSS6* از ۱۸ اگزون تشکیل شده است، که این اگزون‌ها کدکننده دومین‌های پروتئین ماتریپتاز ۲ هستند، دومین سرین پروتئازی پروتئین توسط اگزون‌های ۱۵ تا ۱۸ کد می‌شوند (۳). ماتریپتاز ۲، سرین پروتئاز سطح سلولی با ساختار نوسانی است که به عنوان تنظیم‌کننده منفی بیان هپسیدین می‌باشد (۴). این هورمون به عنوان اصلی‌ترین تنظیم‌کننده آهن خون در انسان و سایر پستانداران شناخته شده است (۶، ۱).

فعال شدن هپسیدین باعث کمبود شدید آهن در موش و انسان می‌گردد در حالی که بیان بالای هپسیدین باعث کم خونی فقر آهن می‌شود (۶). جهش‌های ژن *TMPRSS6* تا حد زیادی میزان عملکرد ماتریپتاز ۲ را کاهش می‌دهد. کمبود ماتریپتاز ۲ سطح بسیار بالایی از هپسیدین را به وجود می‌آورد که این منجر به مهار جذب آهن در رژیم غذایی و ایجاد فنوتیپ کم خونی فقر آهن شدید می‌شود. بنابراین ماتریپتاز ۲ به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی بیان ژن هپسیدین مشخص شده است (۱).

مطالعه‌های مرتبط با ژنوم چندین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (Single Nucleotide polymorphism، SNP) را که بر فنوتیپ سلول‌های خونی مؤثرند، نشان داده است. همه این پلی مورفیسم‌های شناسایی شده مربوط به ژن *TMPRSS6* است که در میان آن‌ها rs855791 بیشترین ارتباط را با سطح هموگلوبین داشته است (۷، ۶).

در سال ۲۰۱۸، باتار و همکاران، نقش برخی از انواع پلی مورفیسم‌های این ژن را در پارامترهای خون مرتبط با آهن در بیماران ترک با کم خونی فقر آهن بررسی کردند و دریافتند که تغییرات rs855791 با افزایش RBC و TIBC در این بیماران همراه است (۸). در سال ۲۰۱۹، کاکماکلی و همکاران طیف جهش‌های ژن *TMPRSS6* را در کم خونی فقر آهن با گزارش یک حذف ۳۷۴ جفت بازی هموزیگوت در اگزون ۱۵ ژن گزارش دادند (۹). در آفریقای جنوبی سال ۲۰۱۹، نالادو شناسایی و ارتباط بین چند شکلی rs855791 را با افزایش حساسیت به کم خونی فقر آهن در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه بدون دیالیز انجام داد (۱۰).

## استخراج DNA:

استخراج DNA از خون با کیت استخراج High Yield DNA Purification Kit محصول شرکت سیناژن (سیناژن: تهران، ایران) و بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. در ادامه با استفاده از جذب نوری در اسپکتروفتومتر و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪، تعیین کمیت و کیفیت DNA های استخراج شده، صورت گرفت. DNA جداسازی شده در میکروتیوب‌های جداگانه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام PCR نگهداری شد.

## تعیین ژنوتیپ‌ها:

توالی آغازگرها از مطالعه‌های پیشین، بعد از انجام بلاست تایید و به شرکت سیناژن سفارش داده شد (۱) (جدول ۱). فرآیند PCR در حجم نهایی ۲۰ μL با استفاده از کیت PCR شرکت سیناژن و توسط دستگاه سیکلوترون Rotor-Gene Q (Corbett Life Science) انجام شد (جدول ۲). برای اطمینان از تکثیر درست قطعه مورد نظر، محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۸ درصد بارگذاری و تعیین کیفیت گردید (شکل ۱).

جهت مشاهده پلی‌مورفیسم طبق دستورالعمل، ۱ میکرولیتر از آنزیم محدود کننده Stu I به ۱۰ میکرولیتر محصول PCR اضافه شد و سپس به آن ۲ میکرولیتر بافر اضافه گردید. سپس حجم نهایی توسط ۲۷ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر به ۴۰ میکرولیتر رسید و به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد دستگاه بن ماری انکوبه شد. پس از انکوبه کردن، محصول حاصله دوباره الکتروفورز گردید (شکل ۲).

برای برش ناحیه مورد نظر، آنزیم Stu I جایگاه تشخیص آن در rs855791 به صورت توالی پالیندرومیک AGGCCCT می‌باشد و در نتیجه در صورت وجود آلل C در جایگاه پلی‌مورف آنزیم قطعه را برش می‌دهد و در صورت وجود آلل T قطعه برش نمی‌خورد. با توجه به این که اگر فرد سالم باشد آنزیم Stu I آلل وحشی را که C می‌باشد برش می‌دهد، لذا ۲ باندها در ۱۲۳ و ۱۲۶ داریم و با توجه به این که این طول قطعه‌ها به هم نزدیک هستند، هنگام الکتروفورز محصول روی ژل فقط یک باندها در

پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs855791 بر روی کروموزوم ۲۲، آگزون ۱۷ بخش عملکردی ژن *TMPRSS6* را به نام V736A شناخته است. در موقعیت ۷۳۶ این ژن یک تغییر تک نوکلئوتیدی منجر به جایگزینی آمینو اسید آلانین به جای والین شده و لذا توانایی آنزیم برای مهار رونویسی هپسیدین کاهش یافته است (۱۱، ۱۲). یافته‌ها نشان می‌دهد که این جایگزینی ممکن است باعث تغییر در ساختار پروتئین شده و باعث کاهش دسترسی به جایگاه فعال‌سازی پیش آنزیم *TMPRSS6* گردد (۱۳).

لذا هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم *TMPRSS6* rs855791 با آنمی فقر آهن در افراد مبتلا در شهر سنندج بود.

## مواد و روش‌ها

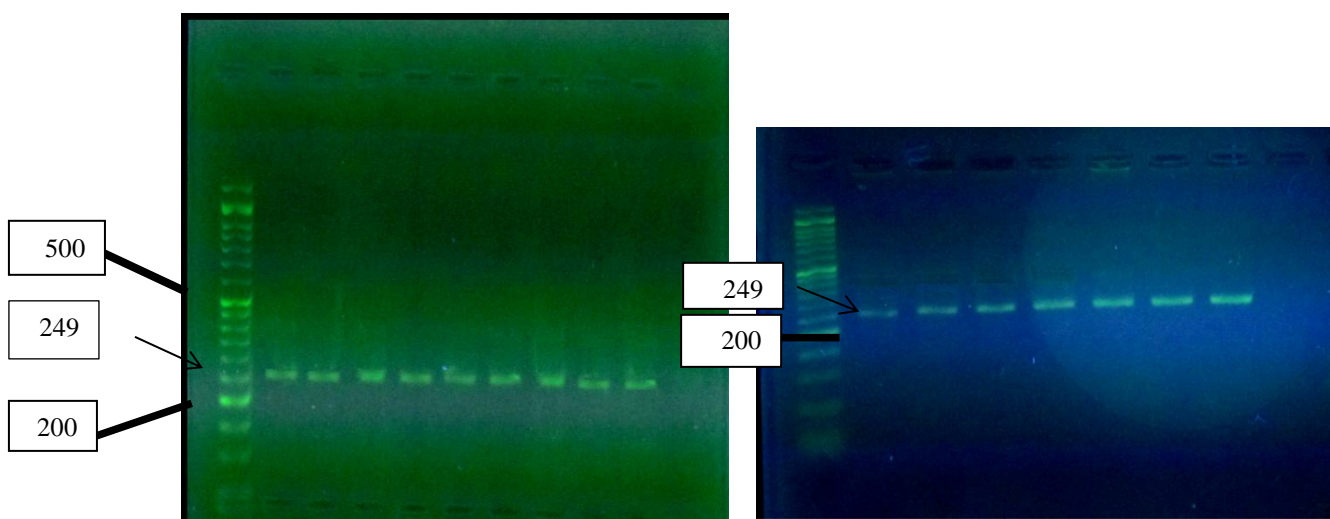
تحقیق حاضر یک مطالعه شاهد - موردی بود. این بررسی در قالب یک پایان‌نامه کارشناسی ارشد توسط شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات کردستان از لحاظ اخلاقی و پژوهشی تایید شد. نمونه‌گیری به صورت تصادفی بدون محدودیت سن و جنس و فقط بر اساس نتایج آزمایش‌های کم‌خونی در یک فاصله زمانی ۳ ماهه در بهار سال ۱۳۹۴ و با همکاری آزمایشگاه‌های خصوصی در سطح شهر سنندج انجام شد. در مجموع ۱۲۰ نفر با رضایت شخصی و به صورت تصادفی انتخاب شده و در این مطالعه شرکت کردند. تشخیص کم‌خونی بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی یعنی آزمایش‌های CBC، اندازه گلبول‌های قرمز ( $MCH < 27$  و  $MCV < 80$ )، هماتوکریت، هموگلوبین (برای مردان بالغ کمتر از ۱۳ gr/dL و برای زنان بالغ کمتر از ۱۲ gr/dL) و آزمایش فریتین (کمتر از ۱۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر با حساسیت ۵۹٪ و ویژگی ۹۹٪) صورت گرفت. از این تعداد با توجه به نتایج آزمایش‌ها و بر اساس تائید پزشک، ۴۰ نفر از افراد با آنمی فقر آهن، و ۸۰ نفر کنترل سالم بودند. ۵ میلی‌لیتر نمونه خون از همه شرکت‌کنندگان در لوله‌های CBC حاوی ماده ضد انعقاد جمع‌آوری شد و بعد از چند بار اینورت کردن در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش قرار گرفت.

جدول ۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده جهت تکثیر rs855791

	TM	Per Products (bp)
F: 5'-TAGAGAACAGGGGCTCCAGG-3'	۵۸	۲۴۹ bp
R: 5'-ATGTGGGCAGCATCCTTTC-3'	۵۸	

جدول ۲: برنامه PCR دستگاه سیکلوترون جهت تکثیر rs855791 در ۱۲۰ نمونه مورد بررسی

شرایط چرخه PCR					
ژن	دنا توراسیون اولیه	دنا توراسیون	آنبلینگ	اکستنشن	اکستنشن نهایی
<i>TMPRSS6</i>	۹۵ درجه سانتی گراد	۹۴ درجه سانتی گراد	۵۸ درجه سانتی گراد	۷۲ درجه سانتی گراد	۷۲ درجه سانتی گراد
	۲ دقیقه	۴۵ ثانیه	۳۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۵ دقیقه
تکرار شده برای ۳۴ چرخه					

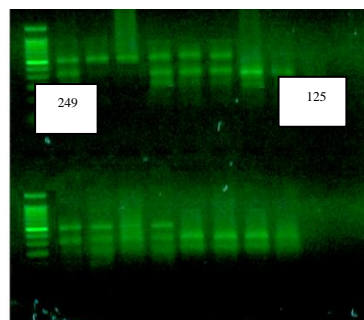


(A) نمونه‌های بیمار

(B) نمونه‌های سالم

شکل ۱: تکثیر قطعه ۲۴۹ جفت بازی مربوط به آغازگرهای طراحی شده برای پلی مورفیسم rs855791 بر روی ژل الکتروفورز. PCR (A) نمونه‌های بیمار، چاهک اول مارکر ۵۰ جفت باز، چاهک ۲ تا ۹ نمونه‌ها. PCR (B) نمونه‌های سالم، با توجه به این که همه نمونه‌ها ژن را داشتند باند تکثیر یافته در همه لاین‌ها مشاهده شد.

شکل ۲: نتایج حاصل از RFLP پلی مورفیسم *TMPRSS6* rs855791. لاین‌های با تک باند ۲۴۹ bp نمونه‌های با ژنوتیپ هموزیگوت TT، لاین‌های با تک باند ۱۲۵ bp نمونه‌های با ژنوتیپ هموزیگوت CC، لاین‌های با دو باند هم در ۲۴۹ و هم در ۱۲۵ جفت بازی نمونه‌های با ژنوتیپ هتروزیگوت TC می‌باشند.



طبق نتایج به دست آمده  $p=0/010$  و  $OR=2/905$ ، رابطه معناداری بین ژنوتیپ TT و ابتلا به بیماری کم خونی فقر آهن در افراد بیمار نسبت به افراد سالم وجود دارد که نشان دهنده غالب بودن ژنوتیپ TT در بین افراد بیمار می باشد و هم چنین با توجه به  $OR=2/905$  به دست آمده می توان نتیجه گرفت در افراد سالمی که دارای ژنوتیپ TT می باشند، احتمال ابتلا به کم خونی فقر آهن بالا است.

جدول ۳: درصد فراوانی توزیع ژنوتیپ ها در بین افراد بیمار و سالم

ژنوتیپ	بیماران		کنترل		p value
	n= 40	(%)	n= 80	(%)	
CC	6	(15)	27	(33/75)	0/035
CT	15	(37/5)	34	(42/5)	0/600
TT	19	(47/5)	19	(23/75)	0/01

هم چنین نمودارهای ۱ تا ۳ ارتباط بین پلی مورفیسم های rs855791 و سطح فاکتورهای خونی هموگلوبین، حجم متوسط گلبول قرمز خون و میزان فریتین بیماران و افراد کنترل را با توجه به بررسی پرونده بیماران و پرسش نامه های پر شده نشان می دهد. نتایج ارتباط معناداری بین پایین بودن MCV، Hb و Ferritin و ژنوتیپ را نشان می دهد، به طوری که افراد دارای ژنوتیپ TT دارای MCV، Hb و Ferritin پایین تر نسبت به افراد دارای ژنوتیپ CC و TC می باشند.

نزدیک ناحیه ۱۲۵ می بینیم، یعنی هر دو آلل آن فرد سالم بوده (هموزیگوت) و به صورت CC می باشد. مشاهده یک باند ۲۴۹ جفت بازی بر روی ژل نشان دهنده پلی مورفیسم می باشد با توجه به این که آنزیم آلل C را برش می دهد، در این حالت جایگاه برش آنزیم Stu I نمی باشد و در حین run کردن بر روی ژل در ناحیه ۲۴۹ تک باند داریم که به صورت TT است. در صورتی که سه باند در الکتروفورز مشاهده گردد، ژنوتیپ به صورت TC قابل مشاهده می باشد. یک باند در ناحیه ۲۴۹ و دو باند در ناحیه ۱۲۳ و ۱۲۶ باید داشته باشیم که به علت نزدیک بودن، باند را در ناحیه نزدیک ۱۲۵ می بینیم.

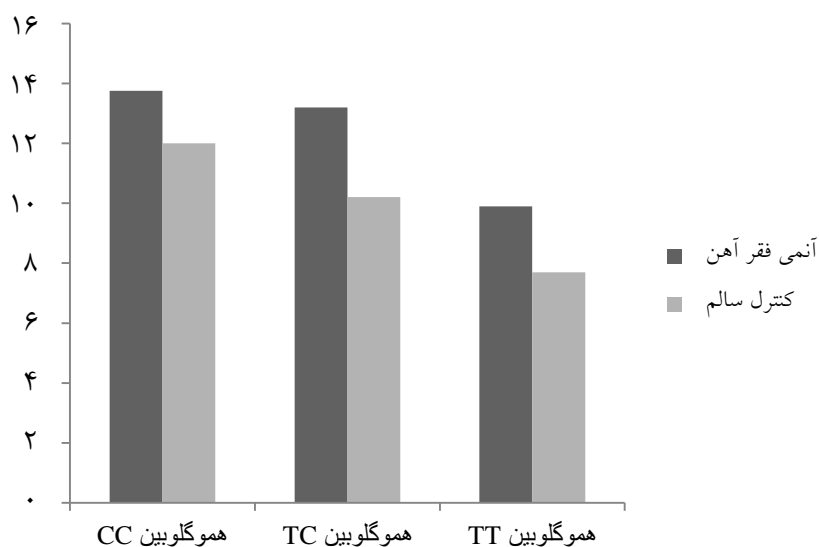
تحلیل آماری:

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار ۱/۳۲ popgene و ۱۹ SPSS و در سطح معنادار ( $p < 0/05$ ) انجام شد.

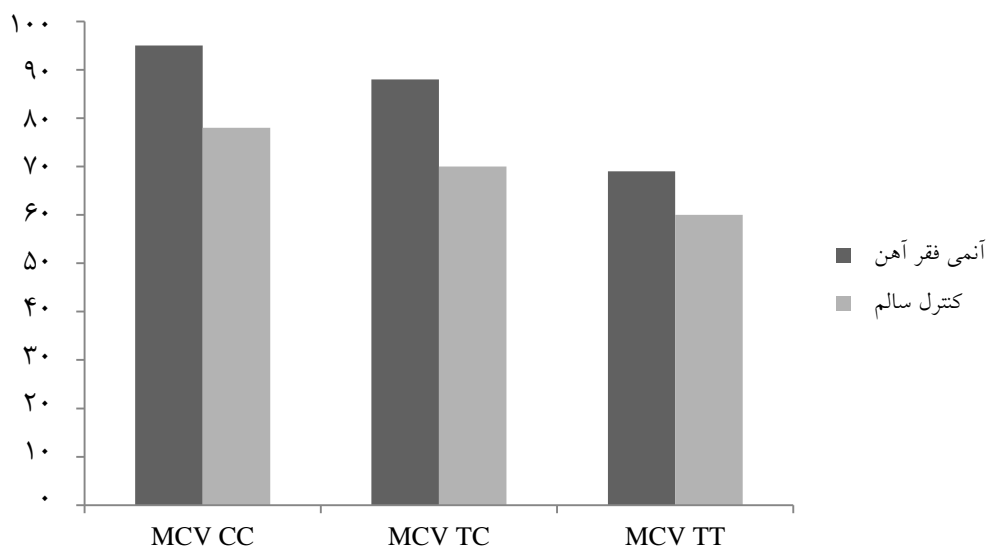
#### یافته ها

نتایج تجزیه و تحلیل آماری توزیع ژنوتیپ rs855791 در جدول آمده است (جدول ۳). همان طور که مشاهده می شود فراوانی ژنوتیپ های CC، CT و TT در بین ۴۰ بیمار و ۸۰ نفر کنترل سالم به ترتیب ۱۵، ۳۷/۵، ۴۷/۵ و ۳۳/۷۵، ۴۲/۵ و ۲۳/۷۵ درصد بوده است (نمودار ۱). فراوانی TT در افراد بیمار بالا (۴۷/۵٪) و فراوانی آن در افراد سالم تا حدودی بالا (۲۳/۷۵٪) بود. با توجه به نتایج به دست آمده ارتباط معناداری وجود دارد ( $p=0/01$ ). با توجه به جدول ۳، تجزیه و تحلیل داده های ژنوتیپ CC نشان می دهد که چون  $p=0/035$  و  $OR=0/346$  است و هم چنین فراوانی ژنوتیپ CC در افراد سالم از بیمار بیشتر است که این نشان دهنده غالب بودن ژنوتیپ CC در افراد سالم نسبت به افراد بیمار می باشد، در نتیجه احتمال بروز ایجاد کم خونی فقر آهن در افراد سالم که دارای ژنوتیپ CC می باشند کم است.

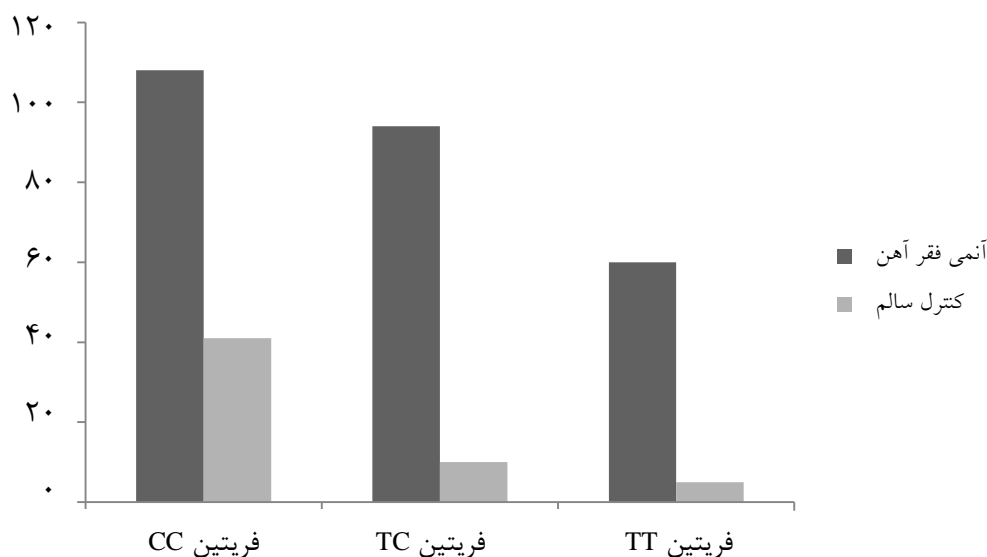
هم چنین در ارتباط با ژنوتیپ CT، مشاهده می شود که p معنادار نمی باشد و هم چنین فراوانی بیشتر CT در گروه کنترل نسبت به گروه بیمار، نشان می دهد که احتمال ابتلا به کم خونی فقر آهن در افرادی با ژنوتیپ CT کمتر است.



نمودار ۱: توزیع هموگلوبین در ژنوتیپ‌های *CC*، *TC*، *TT* بین افراد مبتلا به آنمی فقر آهن و افراد کنترل سالم. نمودار نشان می‌دهد، مبتلایان به آنمی در هر ۳ ژنوتیپ هموگلوبین پایین‌تری نسبت به افراد سالم دارند. به علاوه، افراد دارای ژنوتیپ *TT* دارای هموگلوبین پایین‌تری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ *CC* و *TC* می‌باشند.



نمودار ۲: توزیع مقدار *MCV* در ژنوتیپ‌های *CC*، *TC*، *TT* بین افراد مبتلا به آنمی فقر آهن و افراد کنترل سالم. نمودار نشان می‌دهد، مبتلایان به آنمی در هر ۳ ژنوتیپ، *MCV* پایین‌تری نسبت به افراد سالم دارند. به علاوه، افراد دارای ژنوتیپ *TT* دارای *MCV* پایین‌تری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ *CC* و *TC* می‌باشند.



نمودار ۳: توزیع مقدار فریتین در ژنوتیپ‌های CC، TC، TT بین افراد مبتلا به آنمی فقر آهن و افراد کنترل سالم. نمودار نشان می‌دهد، مبتلایان به آنمی در هر ۳ ژنوتیپ فریتین پایین‌تری نسبت به افراد سالم دارند و این تفاوت در مورد ژنوتیپ TT بسیار زیاد است. به علاوه، افراد دارای ژنوتیپ TT دارای فریتین پایین‌تری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ CC و TC می‌باشند.

بنیامین و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ۲۵۱۶ نوجوان استرالیایی، ارتباط میان سطح فاکتورهای خونی MCV و هموگلوبین با پلی‌مورفیسم rs855791 را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که پایین بودن سطح هموگلوبین رابطه معناداری با پیش‌آگهی و افزایش خطر ابتلا به همراه دارد (p=۰/۰۰۸) (۶).

در مطالعه‌ای که جان چمبرز و همکارانش در سال ۲۰۰۹ بر روی ۵۱۸۷ نفر اروپایی و ۶۷۲۱ نفر آسیایی (هندی) انجام دادند، مشخص شد که ارتباط معناداری بین تغییر نوکلئوتیدی والین به آلانین در ناحیه ۷۳۶ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs855791 با سطح هموگلوبین و شدت بیماری وجود دارد (p=۰/۰۰۱). هم‌چنین مطالعه نشان داد، در مناطقی با فقر تغذیه‌ای، کم‌خونی فقر آهن به صورت چشمگیری افزایش یافته و سطح هموگلوبین و آهن ذخیره‌ای بدن کاهش می‌یابد (۷).

در مطالعه‌ای که پائلو دلینی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در میلان ایتالیا بر روی ۱۶ فرد بیمار انجام دادند، اثر پلی‌مورفیسم‌های rs855791 بر مسیر سیگنالینگ پروتئین ماتریتاز ۲ و اختلال در تولید هپسیدین بررسی شد. نتایج نشان داد در افراد بیماری با ژنوتیپ TT، سطح هموگلوبین

## بحث

در تحقیق حاضر ارتباط بین پلی‌مورفیسم T/C rs855791 و آنمی فقر آهن در ۴۰ فرد مبتلا به آنمی فقر آهن و ۸۰ فرد سالم در سنجج بررسی شده است. فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT در بین ۴۰ بیمار و ۸۰ نفر کنترل سالم به ترتیب ۱۵، ۳۷/۵، ۴۷/۵ و ۳۳/۷۵، ۴۲/۵ و ۲۳/۷۵ درصد بود. با توجه به نتایج آماری، رابطه معناداری بین ژنوتیپ TT و ابتلا به بیماری وجود داشت (p=۰/۰۱۰). هم‌چنین بین فراوانی ژنوتیپ CC و عدم ابتلا به کم‌خونی فقر آهن رابطه معناداری مشاهده شد (p=۰/۰۳۵ و OR=۰/۳۴۶). فراوانی بیشتر CT در گروه کنترل نسبت به گروه بیمار، نشان داد که احتمال ابتلا به کم‌خونی فقر آهن در افرادی با ژنوتیپ CT کمتر است. هم‌چنین در بررسی‌های صورت گرفته بر روی ارتباط پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs855791 با سطح فاکتورهای Hb، MCV و فریتین، نتایج نشان داد که این پلی‌مورفیسم احتمال خطر ابتلا به کم‌خونی فقر آهن را در بین افرادی با ژنوتیپ TT بالا برده و فاکتورهای کمبود هموگلوبین، فریتین و MCV این خطر را تا حدود زیادی بالا می‌برد.



کم خونی هم‌چنان به عنوان یک مشکل بهداشت جهانی گسترده و قابل توجه باقی مانده است که باید به طور کافی مورد بررسی قرار گیرد. اگر چه آنمی فقر آهن در اکثر مناطق دلیل اصلی کم خونی است، اما تحقیق‌های اخیر نشان می‌دهد که علت کم خونی پیچیده و مختص به هر منطقه‌ای است. برای درک بیشتر چگونگی کمک به دلایل اصلی کم خونی، از جمله آنمی فقر آهن و سایر کمبودهای تغذیه‌ای، بیماری‌ها و اختلالات Hb، در کم خونی لازم است تلاش شود تا مداخلات مناسب در شرایط خاص قابل اجرا باشد. هم‌چنین مطالعه‌های بیشتر در مقیاس بیماران بیشتر برای شناسایی هاپلوتیپ‌های بالقوه و چند شکلی‌های مسئول پاسخ کم به درمان خوراکی آهن ضروری است و ممکن است برای برنامه‌ریزی یک مکمل صحیح آهن مفید باشد. سؤال دیگری که در این بررسی‌ها باید به آن پاسخ داد این است که آیا تجویز مکمل غذایی آهن به کودکان، باید بر اساس مشخصات ژنتیکی باشد، به ویژه برای کودکانی که در *TMPRSS6* جهش دارند؟

### نتیجه‌گیری

بالا بودن فراوانی ژنوتیپ TT در بین افراد مبتلا به کم خونی فقر آهن (۴۷/۵٪)، در جمعیت مورد بررسی نشان می‌دهد خطر ابتلا به بیماری با ژنوتیپ TT رابطه معناداری دارد (OR= ۲/۹۰۵ و p= ۰/۰۱۰). هم‌چنین رابطه معناداری بین ژنوتیپ TT و سطح پایین فاکتورهای خونی هموگلوبین، فریتین و حجم متوسط گلبول‌های قرمز وجود داشت.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله از همکاری پرسنل زحمت‌کش آزمایشگاه پاتولوژی نور، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

به طور چشمگیری پایین بوده و بین این پلی مورفیسم و سطح هموگلوبین رابطه معناداری وجود دارد (p= ۰/۰۰۱، OR= ۵/۱۸). هم‌چنین این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی بد معنی (rs855791) باعث ایجاد تغییر در ناحیه دومین سرین پروتئازی پروتئین ماتریپتاز ۲ شده، در نتیجه عملکرد کاتالیتیکی این پروتئین دچار اختلال می‌شود (۱۴).

گان و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی ۱۵۷۴ فرد چینی، ارتباط پلی مورفیسم‌های ژن *TMPRSS6* با فریتین، هموگلوبین و خطر ابتلا به دیابت نوع دوم را مطالعه کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که پلی مورفیسم rs855791 با کاهش هموگلوبین و هم‌چنین فریتین پلاسما خطر افزایش بار آهن را در بدن بالا برده و احتمال خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را نیز بالا خواهد برد (p= ۰/۰۳۱) (۱۵).

سال ۲۰۱۴ پی و همکاران ارتباط پلی مورفیسم rs855791 با کم خونی فقر آهن را بر روی ۶۷ مبتلا و ۱۰۷ نفر داوطلب سالم به روش PCR-RFLP بررسی نمودند. نتایج نشان داد همه شاخص‌های گلبول قرمز، پلاکت، هموگلوبین، فریتین و حجم متوسط گلبول‌های قرمز به طور قابل توجهی بین دو گروه متفاوت است (p= ۰/۰۳)، که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد (۱۶). در مطالعه شیتتا و همکاران سال ۲۰۱۹ در لومبوک شرقی و اندونزی بر روی کودکان ۶ تا ۱۷ ماهه هیچ ارتباطی بین پلی مورفیسم rs855791 با گیرنده ترانسفرین محلول (sTfR) و غلظت هموگلوبین سرم به دست نیامد (۱۷).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۰ توسط آل‌مر روی ۱۰۸ دانشجوی دختر ۱۸ تا ۲۵ سال در پادشاهی عربستان سعودی، پلی مورفیسم rs855791 با وضعیت آهن دارای ارتباط معناداری بود (۱۱).



### References:

- 1- 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): 238-9.
- 2- Finberg K, Whittlesey R, Fleming M, Andrews N. Down-regulation of Bmp/Smad signaling by Tmprss6 is required for maintenance of systemic iron homeostasis. *Blood* 2010; 18: 3817-26.
- 3- Ramsay AJ, Quesada V, Sanchez M, Garabaya C, Sarda 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; 10: 55-9.
- 4- Dunne JR, Malone D, Tracy JK, Gannon C, Napolitano LM. Perioperative anemia: an independent risk factor for infection, mortality, and resource utilization in surgery. *J Surg Res* 2002; 2: 237-44.
- 5- Nemeth E, Ganz T. Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annu Rev Nutr* 2006; 26: 323-42.
- 6- Benyamin B, Ferreira MA, Willemsen G, Gordan S, Middelberg R. Common variants in TMPRSS6 are associated with iron status and erythrocyte volume. *Nat Genet* 2009; 41: 1173-5.
- 7- Chambers JC, Zhang W, Li Y, Sehmi J, Zabaneh D. Genome-wide association study identifies variants in TMPRSS6 associated with hemoglobin levels. *Nat Genet* 2009; 41: 1170-2.
- 8- Batar B, Bavunogl I, Hacıoglu 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.
- 9- Cakmakli S, Acipayam C, Yenmis Inan MN, Dogan H. Iron refractory iron deficiency anemia due to 374 base pairs deletion in the tmprss6 gene. *J Pediatr Hematol Oncol* 2019; 41(5): e333-5.
- 10- 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.
- 11- Al-Amer O, Hawasawi Y, Oyouni AAA, Alshehri M, Alasmari A, Alzahrani O, *et al.* Study the association of transmembrane serine protease 6 gene polymorphisms with iron deficiency status in Saudi Arabia. *Gene* 2020; 751: 144767.
- 12- David P, Stefan GD, Madelon M. Messing up disorder: how do missense mutations in the tumor suppressor protein APC lead to cancer. *Mol Cancer J* 2009; 10: 101.
- 13- Rishi G, Wallace DF, Subramaniam VN. Hepcidin: regulation of the master iron regulator. *Bio Sci* 2015; 35(3): e00192.
- 14- Delbini P, Vaja V, Graziadei G, Refaldi C, Cappellini M. Genetic variability of TMPRSS6 and its association with iron deficiency anaemia. *Br J Haematol* 2010; 151: 281-4.
- 15- Gan W, Guan Y, Wu Q, Makrides M, Jing L. Association of TMPRSS6 polymorphisms with ferritin, hemoglobin, and type 2 diabetes risk in a Chinese Han population. *AM J Clin Nutr* 2012; 95: 626-32.
- 16- Pei N, Chunma M, You H, Yuankou C, Mingrau K. Common variants in TMPRSS6 are associated with iron status and erythrocyte volume. *J Med Sci* 2014; 11: 614.
- 17- Shinta D, Asmarinah., Adhiyanto C, Htet MK, Fahmida UShinta D, *et al.* 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): 1-9.

**Original Article**

## Association of rs855791Tmprss6 polymorphism with iron deficiency anemia

Baban A.<sup>1</sup>, Keshavarzi F.<sup>1</sup>, Nikkhoo B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

<sup>2</sup>Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

### Abstract

#### Background and Objectives

According to the relevant studies, among the reported Tmprss6 polymorphisms associated with iron deficiency anemia, rs855791 has the highest association with hemoglobin level and disease severity. The aim of this study was to investigate the relationship between rs855791 and iron deficiency anemia in Sanandaj.

#### Materials and Methods

In this case-control study conducted in the Spring of 2016, the frequency of rs855791 polymorphism in Tmprss6 gene was evaluated in 40 patients with iron deficiency anemia and 80 healthy randomly selected individuals without age and sex restrictions by PCR-RFLP method. Then, the relationship between rs855791 and the level of hemoglobin, ferritin, and MCV in sick and healthy individuals was investigated by SPSS V19 statistical software.

#### Results

The frequencies of CC, CT, and TT among 40 patients were 15, 37.5, and 47.5 and they were 33.75, 42.5, and 23.75% among 80 healthy controls, respectively. Therefore, there was a significant relationship between TT genotype and disease ( $p= 0.010$ ). Also, a significant relationship was observed between the frequency of CC and the absence of disease [OR= 0.34,  $p= 0.035$ ]. The higher frequency of CT in the control group than the indicates a lower risk of people with CT genotype. The results also show a significant relationship between low Hb, MCV, and Ferritin with the genotype so that people with TT genotype had lower Hb, MCV, and ferritin than people with CC and TC genotypes.

#### Conclusions

Tmprss6 rs855791 polymorphism was shown to be effective in subject patients with iron deficiency anemia in Sanandaj city.

**Key words:** Iron-Deficiency Anemia, Ferritin, Hemoglobin

Received: 1 May 2021

Accepted: 9 Jun 2021

Correspondence: Keshavarzi F., PhD in Molecular Genetics. Associate Professor of Sanandaj Branch, Islamic Azad University.

Postal Code: 6616935391, Sanandaj, Iran. Tel: (+9887) 33288661; Fax: (+9887) 33288661

E-mail: f.keshavarzi@iausbj.ac.ir