

## فراوانی و بیان بیوشیمیایی موتاسیون‌های ژن هموکروماتوز (HFE) در ۱۰۲۹ اهداکننده خون در ایران

محمد رضا آگاه\*، مریم ظفرقندی\*، زهرا مطهری\*، هانیه السادات جزایری\*،  
بشیر حاجی بیگی\*\*، زهره عطارچی\*\*، تاجبخش رجبی\*\*، محمدرضا زالی\*

\* مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی  
\*\* مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

### چکیده

سابقه و هدف: تا به حال مطالعه‌ای در مورد فراوانی و بیان بیوشیمیایی موتاسیون‌ها در ارتباط با بیماری هموکروماتوز (H63D/C282Y) در جمعیت بالغ ایرانی انجام نشده است. هدف این مطالعه ارزیابی فراوانی موتاسیون‌های ژن هموکروماتوز در گروهی از جمعیت ایرانی می‌باشد.

روش بررسی: فراوانی موتاسیون‌های ژن HFE شامل C282Y/H63D را در ۱۰۲۹ اهداکننده خون ایرانی که به طور تصادفی انتخاب شده بودند، همراه با میزان اشیاع ترانسفرین (TS)، آهن سرم و مقدار فریتین سرم بررسی نمودیم. استخراج DNA به روش Salting out از نمونه‌های خون انجام شد و آنالیز موتاسیون‌های ژن هموکروماتوز از طریق آمپلیفیکاسیون به روش PCR و سپس هضم آنزیمی از طریق آنزیمهای محدودکننده BclI و RsaI به انجام رسید.

یافته‌ها: میانگین سنی اهداکنندگان خون  $40 \pm 11$  سال بود و ۹۲٪ از آنها مرد بودند. هیچ یک از افراد از نظر موتاسیون C282Y هموزیگوت نبودند. میزان هتروزیگوت بودن برای موتاسیون C282Y ۰/۲ درصد بود در حالیکه در مورد موتاسیون H63D میزان هتروزیگوت و هموزیگوت بودن به ترتیب ۱۹/۶٪ و ۱/۶٪ بدست آمد. همچنین هیچ یک از افراد مورد مطالعه دارای هر دو موتاسیون به طور همزمان (compound heterozygote) نبودند. این نتایج نشان دهنده فراوانی آلیلی ۱۱/۳ و ۰/۱ درصد به ترتیب برای موتاسیون‌های H63D و C282Y هستند. میزان آهن سرمی و اشیاع ترانسفرین نیز تحت تاثیر نوع موتاسیون H63D و C282Y قرار نگرفتند. به طور مشابه، تفاوتی در سطح فریتین سرمی بر اساس نوع موتاسیون HFE در بین اهداکنندگان خون وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان دهنده فراوانی آلیلی پایین برای موتاسیون‌های ذکر شده در ایران می‌باشد. در ضمن این نتایج بیانگر این مساله هستند که هیچ ارتباطی بین موتاسیون‌های ژن HFE، سطح آهن، اشیاع ترانسفرین و سطح فریتین در جمعیت ایرانی وجود ندارد. بنابراین غربالگری ژنتیکی از نظر موتاسیون ژن HFE در ایران تا زمانیکه شیوع واقعی بقیه موتاسیون‌های مربوط به تمامی ژن‌های هموکروماتوز مشخص نشده‌اند، توصیه نمی‌شود.

واژگان کلیدی: ژن HFE، هموکروماتوز، فریتین، اشیاع ترانسفرین، بیوشیمیایی.

### مقدمه

بیماری هموکروماتوز ارثی یک اختلال اتوزومال مغلوب است. این بیماری روی متابولیسم آهن اثر می‌گذارد و اضافه بار آهن

در بدن باعث تجمع آن در کبد و سایر اعضا شده و منجر به ایجاد آسیب کبدی و اختلالات دیگر بالینی مانند سیروز و کارسینوم هپاتوسلولار می‌شود که از طریق تشخیص زودرس و درمان با فلپوتومی قابل پیشگیری می‌باشد (۱).

این بیماری از حداقل ۲ موتاسیون ژن HFE (که قبلاً به نام ژن HLA شناخته می‌شد) ناشی می‌شود. این ژن روی بازوی کوتاه کروموزوم ۶ (6p22,1) قرار گرفته است (۲، ۳). موتاسیون

آدرس نویسنده مسئول: تهران، بیمارستان آیت الله عینی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد،

دکتر محمدرضا آگاه (email: article@rcgld.org)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۳/۱۰/۲۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۲/۱۹

قرار گرفتند که همگی منفی بودند. همچنین میزان سرمی آلانین آمینوترانسفراز نیز در آنها تعیین شد.

آهن سرمی، میزان ترانسفیرین و فریتین از طریق روشهای استاندارد بیوشیمیایی در تمامی آنها اندازه‌گیری شد و همچنین مقدار اشباع ترانسفیرین مورد محاسبه قرار گرفت.

DNA ژنومیک به روش رسوب نمک (salting out) از لکوسیت‌های خون محیطی جدا شد (۹). موتاسیون‌های H63D و C282Y با تکنیک PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفتند. واکنش‌های PCR در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۲ پیکومول از پرایمرهای اگزون ۲ ژن برای موتاسیون H63D

5'-GCCACATCTGGCTTCAAATT-3'  
5'-CAGCCCATCCCCTAACCAAAG-3'

و واکنش دیگری با ۱۲ پیکومول از پرایمرهای اگزون ۴ ژن HFE برای موتاسیون C282Y

5'-CAGCCCATCCCCTAACCAAAG-3',  
5'-CCTTCCTCCAACCTATAGAA-3'

انجام گرفت. برای هر دو واکنش، از ۵۰-۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک، یک واحد DNA پلی می مراز (HT Bioscience, England)، ۰/۲ میلی مول dNTP، ۲ میلی مول  $MgCl_2$ ، و بافر  $1 \times PCR$  (۵۰ میلی مول KCl، ۲۰ میلی مول Tris-HCl، PH:8.4) استفاده کردیم (۱۰).

آمپلیفیکاسیون (تکثیر) در دستگاه ترموسایکلر Personal (Eppendorf, Gubh, Hamhurg, Germany) و در شرایط استاندارد با دمای اتصال  $55^{\circ}C$  برای C282Y و  $58^{\circ}C$  برای H63D انجام شد. سپس محصولات PCR ژن HFE، ۲۰۸ جفت باز برای اگزون ۲ و ۴۸۶ جفت باز برای اگزون ۴، از طریق الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱٪ رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید دیده شدند. محصولات آمپلیفیکاسیون از طریق RsaI (Fermentas, Germany) برای موتاسیون C282Y، آنزیم BclI (Fermentas, Germany) برای موتاسیون H63D تحت هضم آنزیم قرار گرفتند. بدین منظور ما از ۵ میکرولیتر DNA تکثیر شده همراه با ۵ واحد از آنزیم RsaI و ۱۰ واحد از آنزیم BclI برای هر واکنش و در شرایط مناسب استفاده کردیم. پس از هضم آنزیمی، محصولات بدست آمده روی ژل اکرلامید ۱۰٪ (۱:۲۹) و از طریق رنگ آمیزی نیترات نقره از یکدیگر تفکیک شدند.

اختلاف در فراوانی آلل در جنسهای مختلف از طریق آزمون Chi-square ارزیابی شد. در مواردیکه اثر جنسیت در تمام ژنوتیپ‌ها ثابت نبود (تداخل جنسیت، ژنوتیپ) از آنالیز واریانس (ANOVA) برای طبقه بندی اطلاعات استفاده

C282Y، تبدیل نوکلئوتیدی G به A در ناحیه ۸۴۵ (845 A-G)، باعث جایگزینی اسید آمینه سیستئین بوسیله تیروزین در کدون ۲۸۲ و در ناحیه آلفا ۳ از مولکول می‌شود. موتاسیون H63D، که یک تغییر در موقعیت ۱۸۷ از C به G می‌باشد، باعث جایگزینی آمینو اسید ۶۳ در ناحیه آلفا از هیستیدین به آسپارات می‌گردد (۲). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که موتاسیون C282Y تداخل بین مولکول HFE و بتا ۲ میکروگلوبولین ایجاد می‌کند و همچنین قرارگیری این مولکول در سطح سلول را مختل می‌کند. در حالیکه موتاسیون H63D، از قرارگیری پروتئین در سطح سلول و بیان آن جلوگیری نکرده و فقط در تداخل این مولکول با رسپتور ترانسفیرین اختلال ایجاد می‌کند (۴).

C282Y شایعترین موتاسیون در بیماران هموکروماتوز می‌باشد. بین ۶۰ تا ۱۰۰٪ این بیماران برای این موتاسیون هموزیگوت هستند (۵). اما نقش موتاسیون H63D در پاتوفیزیولوژی این بیماری هنوز نامشخص می‌باشد. هموکروماتوز ارثی (HH) بسیاری از معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) را برای انجام یک برنامه غربالگری جمعیت در حد وسیع دارا می‌باشد (۶). البته مهمترین مساله در هر جمعیتی فراوانی موتاسیون‌هایی است که می‌توانند بالقوه باعث ایجاد بیماری شوند (۷، ۸) و این مشکل در مورد موتاسیون‌های HFE در جمعیت ایرانی هنوز وجود دارد.

به همین دلیل ما فراوانی موتاسیون‌های HFE در جمعیت ایرانی را به همراه اندکسهای سرمی آهن بررسی نمودیم تا اثر ژنوتیپ را بر پارامترهای آهن، بخصوص اشباع ترانسفیرین و سطح سرمی فریتین تعیین نماییم.

## مواد و روشها

نمونه‌های خون از ۱۰۲۹ فرد داوطلب اهداکننده خون شامل ۹۵۴ مرد و ۷۵ زن به طور تصادفی و در مرکز انتقال خون ایران واقع در تهران حین ماههای بهمن و اسفند ۱۳۸۲ جمع‌آوری شد. از تمامی بیماران رضایت‌نامه گرفته شد و مطالعه توسط کمیته اخلاق مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی تایید شد.

از تمامی افراد در مورد سابقه انتقال خون، استفاده از قرص آهن و مصرف روزانه الکل سوال شد. در ضمن همه افراد شرکت‌کننده از نظر داشتن هپاتیت ویروسی مزمن از طریق انجام الایزا (ELISA) برای آنتی ژن سطحی هپاتیت B (HbsAg) و آنتی بادی ضد هپاتیت C در سرم مورد ارزیابی

۳۱ و ۳۵ ساله و با جنسیت مرد بودند و یکی از آنها دارای اشیاع ترانسفرین بیش از ۰.۴۵٪ بود.

در مورد اشیاع ترانسفرین، ۱۰٪ ناقلین H63D (۲۲ نفر از ۲۱۸) و ۷/۶٪ از افراد دارای آلل H63D نرمال (۶۲ نفر از ۸۱۱ فرد) درصد اشیاع ترانسفرین بیش از ۰.۴۵٪ داشتند.

تفاوت در سطح سرمی فریتین بین افراد دارای ژنوتیپ‌های مختلف H63D، بدون در نظر گرفتن جنسیت، از نظر آماری معنی دار نبود (NS). با این وجود تمایلی به وجود سطوح بالاتر فریتین در مردان هتروزیگوت و هموزیگوت از نظر موتاسیون H63D در مقایسه با آلل نرمال وجود داشت. (P=0.06) (میزان میانه ۹۳mg/l در هتروزیگوت‌ها و ۱۰۱mg/l در هموزیگوت‌ها) (جدول ۲). در دو فرد حامل موتاسیون C282Y، میزان فریتین سرمی در محدوده نرمال یعنی زیر ۴۳۰ mg/l برای مردان قرار داشت. با توجه به این نکته که هیچ یک از ناقلین C282Y سطح فریتین بالاتر از حد نرمال یا آنزیم کبدی غیرطبیعی نداشتند، انجام بیوپسی کبد ضروری به نظر نرسید. در مورد فریتین سرم، دو نفر از ۱۰۲۹ فرد شرکت کننده (۰/۱۹٪) میزان فریتین بالاتر از نرمال نشان دادند و البته هر دو دارای آلل‌های نرمال HFE بودند.

در این مطالعه سطوح آهن بین افراد دارای ژنوتیپ‌های مختلف H63D تفاوت معنی داری نداشت (NS). در بین زنان و مردان نیز میزان میانه آهن در افراد هتروزیگوت و هموزیگوت برای H63D به طور معنی دار بالاتر از این میزان در افراد حامل آلل نرمال نبود (NS) (جدول ۲). در دو فرد دارای موتاسیون C282Y نیز سطح آهن در محدوده نرمال یا عبارتی کمتر از ۲۰۰mg/l قرار داشت.

همچنین ۵/۵٪ از ناقلین آلل H63D (۱۲/۲۱۸ نفر) و ۳/۹٪ از افراد دارای آلل نرمال H63D (۳۲/۸۱۱ نفر) دارای آهن بالاتر از سطح نرمال (آستانه) بودند.

## بحث

هموکروماتوز یکی از چند بیماری ژنتیکی است که برای آن درمان ساده و موثری وجود دارد: خارج کردن آهن از طریق فلبوتومی باعث بهبود بقاء بیماران علامتدار می‌شود (۱۲). در ضمن، این بیماری کاندیدای مناسبی جهت انجام برنامه‌های وسیع غربالگری در جمعیت‌ها است. در سالهای گذشته توجه زیادی به آنالیز فنوتیپی و ژنوتیپی این بیماری و فراوانی آن در جمعیت‌های مختلف معطوف شده است (۲۰-۱۳). در این

شد (۱۱). ارزش P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از سیستم نرم افزاری SPSS V.11.5 (SPSS Inc, Chicago, IL) انجام شد.

## یافته‌ها

۱۰۲۹ داوطلب اهداکننده خون سالم، شامل ۹۵۴ مرد و ۷۵ زن، بررسی شدند. آنها دارای میانگین سنی ( $\pm$  انحراف معیار)  $40 \pm 11$  سال بودند (محدوده ۸۱-۱۵ سال). هیچ اختلاف معنی داری از نظر میانگین سنی بین ژنوتیپ‌های مختلف وجود نداشت. در ضمن اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ‌ها و دفعات اهدای خون وجود نداشت. بر اساس داده‌های بالینی مربوط به افراد مورد مطالعه، میزان استفاده روزانه از الکل در تمامی آنها کمتر از ۱۰ گرم در روز بود و هیچ یک از آنها مارکرهای سرولوژیک هپاتیت ویروسی را نداشتند. نتایج ژنوتیپ‌ها و فراوانی آللی موتاسیون‌های H63D و C282Y بر اساس جنسیت در جدول ۱ نشان داده شده است.

هیچ فردی در گروه مورد مطالعه برای موتاسیون C282Y هموزیگوت نبود. در بین ۹۵۴ مرد موجود در مطالعه، ۲ نفر (۰/۲٪) برای موتاسیون C282Y هتروزیگوت بودند در حالیکه در مورد موتاسیون H63D، ۱۸۴ نفر (۱۹/۳٪) هتروزیگوت و ۱۴ نفر (۱/۵٪) هموزیگوت بودند. در بین ۷۵ زن بررسی شده، هیچ یک برای موتاسیون C282Y هتروزیگوت نبودند در حالیکه از نظر موتاسیون H63D ۱۸ نفر (۲۴٪) هتروزیگوت و ۲ نفر (۲/۷٪) هموزیگوت بودند.

در مطالعه ما هیچ فردی که دارای موتاسیون‌های H63D و C282Y روی یک کروموزوم باشد، وجود نداشت. به طور کلی میزان هتروزیگوت بودن در جمعیت تحت مطالعه ۰/۲٪ برای C282Y بود در حالیکه میزان هتروزیگوت بودن و هموزیگوت بودن برای H63D به ترتیب ۱۹/۶٪ و ۱/۶٪ بدست آمد.

بر اساس نتایج بدست آمده، فراوانی آلل C282Y در جمعیت ایرانی ۰/۰۹۷٪ و فراوانی آلل H63D ۱۱/۳٪ محاسبه شد. این فراوانی‌ها تفاوت معنی داری بین مردان و زنان نداشتند.

میزان سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) تحت تاثیر نوع موتاسیون HFE قرار نگرفت. سطح اشیاع ترانسفرین نیز تفاوت معنی داری بر اساس ژنوتیپ‌های مختلف H63D نشان نداد (NS). در هیچ یک از گروه‌های جنسی میزان مدیان (میانه) اشیاع ترانسفرین تفاوت معنی داری بین افراد هموزیگوت یا هتروزیگوت برای H63D در مقایسه با افراد دارنده آلل نرمال نداشت (NS) (جدول ۲). دو فرد هتروزیگوت از نظر C282Y،

جدول ۱ - فراوانی ژنوتیپ HFE (اعداد داخل پرانتز درصد هستند)

ژنوتیپ C282Y/H63D	-- / --	- / +	+ / +	- / -	+ / -	فراوانی آلل C282Y	فراوانی آلل H63D
مذکر (n=۹۵۴)	۹۵۲(۹۹/۸)	۱۸۴(۱۹/۳)	۱۴(۱/۵)	۲(۰/۲)	۰/۱	۰/۱	۱۱/۱
مونث (n=۷۵)	۷۵(۱۰۰)	۱۸(۲۴)	۲(۲/۷)	۰(۰/۰)	۰	۰	۱۴/۶
کل (n=۱۰۲۹)	۱۰۲۷(۹۹/۸)	۲۰۲(۱۹/۶)	۱۶(۱/۶)	۲(۰/۲)	۰/۰۹۷	۰/۰۹۷	۱۱/۳

جدول ۲ - تست‌های آهن سرمی بر اساس ژنوتیپ‌های HFE و جنسیت

جنس	C282Y	H63D	درصد اشباع ترانسفرین (محدوده)	فریتین سرم (ng/ml) (محدوده)	آهن سرم (mg/dl) (محدوده)
مذکر	* - / -	- / -	۲۵(۲-۱۶۰)	۶۳(۱-۵۰۰)	۹۵(۸-۶۰۳)
مذکر	- / -	- / +	۲۸(۰/۵-۱۰۲)	۷۷(۱-۳۷۰)	۹۸(۲-۴۲۷)
مذکر	- / -	+ / +	۲۴(۱۲-۸۲)	۱۰۰(۱۴-۱۹۶)	۱۰۳(۴۵-۳۰۰)
مذکر**	- / +	- / -	(۲۵-۵۶)	(۲۶-۷۴)	(۹۸-۱۵۸)
مونث	- / -	- / -	۲۰(۱-۷۵)	۲۰(۱-۲۳۴)	۷۸(۶-۲۸۹)
مونث	- / -	- / +	۱۸(۹-۳۴)	۲۵(۰/۶-۱۵۰)	۶۵(۳۸-۱۲۸)
مونث***	- / -	+ / +	(۱۸-۲۲)	(۸-۲۰)	(۸۲-۸۳)

\* علامت منفی نشانه آلل wild و مثبت آلل mutant است  
 \*\* محدوده برای دو C282Y هتروزیگوت آمده است.  
 \*\*\* محدوده برای دو H63D هوموزیگوت آمده است.

فريتین سرمی نرمال داشتند در حالیکه فرد مسن‌تر از میان آنها اشباع ترانسفرین بالای ۴۵٪ را نشان داد. در مورد فراوانی آلل H63D، فراوانی ۱۱/۳٪ این مطالعه پایین‌تر از فراوانی‌هایی است که برای این موتاسیون از کشور ترکیه (۲۴/۸٪) و اسپانیا (۲۰/۸٪) گزارش شده‌اند (۲۳،۲۴). بدون شک انجام مطالعه در اهداکنندگان خون ممکن است محدودیت‌هایی نیز داشته باشد. به عنوان مثال می‌تواند به طور کاذب ذخایر آهن بدن را پایین نشان دهد. در هر حال، در مطالعه ما، هیچ تفاوت معنی‌داری در فراوانی اهداء خون بین ژنوتیپ‌های مختلف وجود نداشت. با در نظر گرفتن افرادی که ژنوتیپ‌های مشابه داشتند، مردها دارای سطح بالاتری از اشباع ترانسفرین و میزان فریتین سرمی در مقایسه با زن‌ها بودند (جدول ۲) که این نکته مشابه سایر مطالعات بوده (۲۵،۲۶) و شاید دلیل اثر از دست دادن خون در دوره‌های ماهیانه باشد. در این مطالعه ۷/۵٪ از افرادی که آلل‌های نرمال C282Y/H63D داشتند دارای اشباع ترانسفرین بیش از ۴۵٪ بودند. این مقدار بیش از درصدی است که در جمعیت‌های دیگر با نژاد اروپای شمالی (۰/۵٪) بدست آمده است (۱۴) اما مشابه مطالعه‌ای است که در ایتالیا انجام شده است (۲۰).

مطالعه، فراوانی موتاسیون‌های ژن HFE (هموکروماتوز) را در نمونه بزرگی از اهداکنندگان خون ایرانی بررسی کرده و اثر آن را بر پارامترهای آهن از جمله فریتین سرمی، اشباع ترانسفرین و میزان آهن سرم سنجیده‌ایم. نتایج ما نشان می‌دهد که در ایران موتاسیون‌های H63D و C282Y به ترتیب با فراوانی آللی ۰/۰۹۷٪ و ۱۱/۳٪ رخ می‌دهند. هموزیگوت بودن برای C282Y در آمریکای شمالی و بیشتر کشورهای اروپایی شایع است (۰/۴٪ تا ۰/۵٪)، ولی در آسیا، هند، آفریقا و خاورمیانه و استرالیا بسیار ناشایع است یا عبارتی تقریباً وجود ندارد. فراوانی هتروزیگوت‌های C282Y در آمریکای شمالی و کشورهای جنوب شرقی اروپا به ترتیب ۹٪ و ۱-۳٪ گزارش شده است (۲۱). همچنین مطالعات اولیه که به صورت کوهورت و در گروه‌های کوچک از جمعیت ایتالیا انجام شده‌اند نشان می‌دهند که آلل C282Y به طور نادر در افراد سالم ایتالیایی وجود دارد (۰/۵٪) (۲۲). این مطالعه در جمعیت ایرانی، در حالیکه دو مرد هتروزیگوت را شناسایی کرده است، هیچ فرد هموزیگوتی برای موتاسیون‌های C282Y پیدا نکرده است. بدلیل تعداد کم نمونه، ارزیابی نقش احتمالی ژنوتیپ HFE بر بیان فنوتیپی مقدور نمی‌باشد. به هر حال این افراد که هر دو مذکر بودند،

جنس تفاوتی نداشت (جدول ۲). این نتیجه در تضاد با چیزی است که در مطالعات Case-report دیگر گزارش شده است. (۳۱-۳۳).

نمی‌توان ثابت کرد افراد دارای ژنوتیپ نرمال C282Y/H63D با اشباع ترانسفرین بالا دارای اضافه بار آهن هستند، هر چند که سطح نرمال فریتین این قضیه را نامحتمل می‌سازد. البته استاندارد طلایی برای این موضوع بیوپسی کبدی است. با توجه به اینکه این افراد دارای ترانس آمیناز سرمی نرمال بودند انجام بیوپسی کبدی از نظر اخلاقی و دستورات عملی علمی درست به نظر نمی‌رسید.

بدون شک نمی‌توان نتایج این مطالعه را به کل جمعیت ایران تعمیم داد، با این حال تنها زمانی می‌توان استفاده از غربالگری فنوتیپی هموکروماتوز در کشور ایران را مورد ارزیابی قرار داد که از شیوع واقعی تمامی موتاسیون‌های ژن HFE و دیگر ژن‌های هموکروماتوز در کشورمان مطلع باشیم. بنابراین، برعکس جمعیت‌های آمریکایی و اروپایی، غربالگری ژنتیکی از نظر موتاسیون C282Y در ژن HFE برای تشخیص و یا غربالگری بیماری هموکروماتوز در جمعیت ایرانی مناسب نبوده و تا زمانی که شیوع حقیقی بقیه موتاسیون‌ها در تمامی ژن‌های هموکروماتوز مشخص نشده‌اند، توصیه نمی‌گردد.

به طور مشابه، ۷۲/۶٪ از افرادی که اشباع ترانسفرین بیش از حد نرمال داشتند دارای ژنوتیپ نرمال C282Y/H63D بودند. در ضمن باید بر این نکته تأکید کنیم که هیچ یک از افرادی که با آل‌های نرمال ژن HFE دارای ترانسفرین بالا بودند، فاکتورهای دیگر موثر بر پارامترهای آهن نظیر سوءاستفاده از الکل، تالاسمی و هیپاتیت ویروسی را نیز نداشتند (۲۰).

سطح فریتین در دو فرد هتروزیگوت برای C282Y بالاتر از حد نرمال نبود. این مساله در توافق با این موضوع است که ذخایر آهن بدن در افراد هتروزیگوت از نظر C282Y معمولاً نرمال و یا فقط کمی افزایش یافته‌اند (۲۷) و همچنین مشابه نتایج مطالعات دیگری است که اخیراً انجام شده‌اند و نشان می‌دهند که سطح فریتین سرم در ارتباط با ژنوتیپ‌های HFE افزایش نمی‌یابد (۲۵، ۲۸، ۲۹).

در اینجا باید به این نکته هم اشاره شود که هر دو نفری که فریتین بیش از نرمال داشتند دارای ژنوتیپ نرمال بودند.

در مورد موتاسیون H63D در پروتئین HFE، شواهد اولیه نشان می‌دهند که نقش آن در بیان بیماری ناچیز است و یا حداقل محدود به مواردی است که هتروزیگوت مرکب C282Y/H63D وجود داشته باشد (۲۸، ۳۰). در این مطالعه سطح اشباع ترانسفرین در افرادی که برای موتاسیون H63D هموزیگوت بودند در مقایسه با افراد دارای آل‌های نرمال در هر دو

## REFERENCES

- Juan M, Reta A, Castiella A, et al. HFE gene mutations analysis in Basque hereditary hemochromatosis patients and controls. *Eur J Hum Gen* 2001;9:961-64.
- Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. *Nature Genet* 1996;13:399.
- Baty D, Terron-Kwiatkowski A, Mechan D, et al. Development of a multiplex ARMS test for mutations in the HFE gene associated with hereditary hemochromatosis. *J Clin Pathol* 1998;51:73.
- Lebronn JA, Bennett MJ, Vaughn DE et al: Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998; 93: 111-123.
- Merryweather-Clarke AT, Pointon JJ, Jouanolle AM, et al. Geography of HFE C282Y and H63D mutations. *Genet Testing* 2000;4:183-98.
- Wilson JMG, Jungner G. Principles of screening for diseases. Rome: WHO, 1968; p:26-39.
- Adams PC, Gregor JC, Kertesz AE, et al. Screening blood donors for hereditary hemochromatosis: decision analysis based on a 30-years database. *Gastroenterology* 1995;109:177-88.
- Balan V, Baldus W, Fairbanks V, et al. Screening for hemochromatosis: a cost-effectiveness study based on 12,258 patients. *Gastroenterology* 1994;107:453-9.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215-18.
- Zborovsky SS, Misyurin AV, Scherbinina SP. An attempt of genetic testing hereditary hemochromatosis in Russia. *Hematol Transfusiol (Rus)* 2001;46:64-65.
- Zar JH, editor. Biostatistical analysis. 4th edition. Prentice Hall, New Jersey, 1999.

12. Burke W, Thomson E, Khoury MJ, et al. Consensus statement: hereditary hemochromatosis. Gene discovery and its implications for population-based screening. *JAMA* 1998;280:172.
13. Burt MJ, George PM, Upton JD, et al. The significance of hemochromatosis gene mutations in the general population: implications for screening. *Gut* 1998;43:830–36.
14. Olynyk JK, Cullen DJ, Aquilia S, et al. Population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999;341:718–24.
15. McDonnell SM, Hover A, Gloe D, et al. Population-based screening for hemochromatosis using phenotypic and DNA testing among employees of health maintenance organizations in Springfield, Missouri. *Am J Med* 1999;107:3037.
16. Adams PC, Kertesz AE, McLaren CE, et al. Population screening for hemochromatosis: a comparison of unbound iron binding capacity, transferrin saturation and C282Y genotyping in 5,211 voluntary blood donors. *Hepatology* 2000;31:1160–64.
17. Asberg A, Hveem K, Thorstensen K, et al. Screening for hemochromatosis: high prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:1108–15.
18. Jackson HA, Carter K, Darke C, et al. HFE mutations, iron deficiency and overload in 10,500 blood donors. *Br J Haematol* 2001;114:474–84.
19. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, et al. Penetrance of 845G-A (C282Y) HFE hereditary hemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002;359:211–18.
20. Cassanelli S, Pignatti E, Montosi G, et al. Frequency and biochemical expression of C282Y/H63D hemochromatosis (HFE) gene mutations in the healthy adult population in Italy. *J Hepatol* 2001;34:523–28.
21. Hanson EH, Imperatore G, Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2001;154:193–206.
22. Merryweatherclarke AT, Pointon JJ, Shearman JD, et al. Global prevalence of putative hemochromatosis mutations. *J Med Genet* 1997;34:275-78.
23. Simse H, Sumer H, Yilmaz E, et al. Frequency of HFE mutations among Turkish blood donors according to transferrin saturation. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:671-75
24. Sa´nchez M, Villa M, Ingelmo M, et al. Population screening for hemochromatosis: a study in 5370 Spanish blood donors. *J Hepatol* 2003;38:745–50.
25. Merryweather-Clarke AT, Worwood M, Parkinson L, et al. The effect of HFE mutations on serum ferritin and transferrin saturation in the Jersey population. *Br J Haematol* 1998;101:369-73.
26. Crawford DH, Jazwinska EC, Cullen LM, et al. Expression of HLA-linked hemochromatosis in subjects homozygous or heterozygous for the C282Y mutation. *Gastroenterology* 1998;103:469-73.
27. Powell LW, Jazwinska EC. Hemochromatosis in heterozygotes. *N Engl J Med* 1996;335:1837-39.
28. Moirand R, Jouanolle AM, Brissot P, et al. Phenotypic expression of HFE mutations: a French study of 1110 unrelated iron-overloaded patients and relatives. *Gastroenterology* 1999;116:372-77.
29. Distant S, Berg JP, Lande K, et al. High prevalence of the hemochromatosis-associated Cys282Tyr HFE gene mutation in a healthy Norwegian population in the city of Oslo, and its phenotypic expression. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:529-34.
30. Martinez PA, Biron C, Blanc, et al. Compound heterozygotes for hemochromatosis gene mutations: may they help to understand the pathophysiology of the disease. *Blood Cells Mol Dis* 1997;23:269-76.
31. Beutler E. The significance of the 187G (H63D) mutation in hemochromatosis. *Am J Hum Genet* 1997;61:762-64.
32. Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A, et al. Heterogeneity of hemochromatosis in Italy. *Gastroenterology* 1998;114:996-1002.
33. Sham RL, Ou CY, Cappuccio J, et al. Correlation between genotype and phenotype in hereditary hemochromatosis: analysis of 61 cases. *Blood Cells Mol Dis* 1997;23:314-20.