

*Original Article*

## **A survey of association between TMPRSS6 gene polymorphism (rs855791 V736A) and biochemical indicators of iron in male regular blood donors of Tehran transfusion center**

**Samiee M.P.<sup>1</sup>, Chegini A.<sup>1</sup>, Shahabi M.<sup>1</sup>, Teimourpour A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

Regular blood donors may experience iron deficiency due to repeated blood donation. Genetic differences might have an impact on iron deficiency in regular blood donors. Some of these genes include those involved in activities related to iron absorption and transfer in blood. In this study, the association of the rs855791 single nucleotide polymorphism in TMPRSS6 gene with iron levels in male regular blood donors was investigated.

#### **Materials and Methods**

In this cross-sectional study, 130 male regular blood donors participated. CBC tests, serum iron, ferritin, and Total Iron Binding Capacity (TIBC) were performed on their blood samples. The genotypes of the target polymorphisms were determined using the allele-specific PCR method. All collected data were analyzed using R software for statistical analysis.

#### **Results**

The average age of the regular male blood donors was 45 years with a standard deviation of 10.5. Among the 130 regular blood donors, 28 individuals (21.54%) were homozygous for the T/T allele, 29 individuals (22.31%) were homozygous for the C/C allele, and 73 individuals were heterozygous for the C/T allele. No significant association was observed between the rs855791 single nucleotide polymorphism and iron assessment indicators.

#### **Conclusions**

Single nucleotide polymorphism of *TMPRSS6* gene (rs855791 v736A) was not associated with iron level and related quantities in regular blood donors.

**Key words:** Blood Donors, Anemia, Iron-Deficiency, Polymorphism (Genetic)

Received: 8 Jan 2024

Accepted: 24 Jan 2024

---

Correspondence: Chegini A., MD. Specialist in Anesthesiology. Assistant Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine. P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052256; Fax: (+9821) 88601599  
E-mail: a.chegini@ibto.ir

## ارتباط بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (*rs855791 V736A*) ژن *TMPRSS6* با میزان شاخص های بیوشیمیایی آهن در اهداکنندگان مستمر مرد پایگاه اهدای خون تهران

محمد پویا سمیعی<sup>۱</sup>، آریتا چگینی<sup>۲</sup>، مجید شهابی<sup>۳</sup>، امیر تیمورپور<sup>۴</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

اهدانندگان مستمر به دلیل اهدای مکرر خون، ممکن است به کمبود آهن در بدن دچار شوند. تفاوت های ژنتیکی ممکن است بر کمبود آهن در اهدانندگان مستمر خون تأثیرگذار باشند. برخی از این ژن ها شامل ژن هایی هستند که در فعالیت های مرتبط با جذب و انتقال آهن در خون نقش دارند. در مطالعه حاضر ارتباط پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*) با میزان آهن در اهدانندگان مستمر مرد مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع مقطعی بوده و ۱۳۰ اهدانکننده مستمر مرد در آن شرکت داشتند. آزمایش های CBC با استفاده از دستگاه Sysmex K1000، آهن سرم با استفاده از روش کالریمتری، فریتین با استفاده از روش الایزا و TIBC با استفاده از روش مستقیم بر روی نمونه خون آن ها انجام شد. ژنوتیپ پلی مورفیسم های مورد نظر با استفاده از روش Allele specific PCR تعیین شد. تمامی داده های جمع آوری شده به وسیله نرم افزار R تحت تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. سطح معناداری در این مطالعه ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### یافته ها

میانگین سنی اهدانکنندگان مستمر مورد مطالعه ۴۵ سال با انحراف معیار ۱۰/۵ بود. از بین ۱۳۰ نفر اهدانکننده مستمر خون، ۲۸ نفر (۲۱/۵۴ درصد) حامل آلل هموزیگوت T/T، ۲۹ نفر (۲۲/۳۱ درصد) حامل آلل هموزیگوت C/C و ۷۳ نفر (۵۶/۱۵ درصد) حامل آلل هتروزیگوت C/T بودند. ارتباط معنادار بین پلی مورفیسم *rs855791* و شاخص های ارزیابی آهن مشاهده نشد.

#### نتیجه گیری

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*) با سطح آهن و کمیت های مرتبط با آن در اهدانکنندگان مستمر خون ارتباط ندارد.

**کلمات کلیدی:** اهدانندگان خون، کم خونی فقر آهن، پلی مورفیسم (ژنتیک)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۴

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران  
۲- مؤلف مسئول: متخصص بیماری های - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق

پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷

۳- PhD فرآورده های بیولوژیک - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۴- PhD آمار زیستی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

## مقدمه

اهدانندگان خون در سازمان انتقال خون بسیار با اهمیت هستند و نگهداری آن‌ها در چرخه اهدا بسیار مهم است. به طور کلی اهدانندگان خون در سه گروه اهدانندگان بار اول، با سابقه و مستمر طبقه‌بندی می‌شوند (۱). نزدیک به ۷۰ درصد خون‌های اهدایی از اهدانندگان مستمر دریافت می‌شود و مطالعه‌های متعدد نشان دادند که اهدانندگان مستمر میزان آلودگی‌های خونی کمتری نسبت به اهدانندگان بار اول و با سابقه دارند (۲). یک واحد خون (۴۵۰ میلی‌لیتر) حاوی نزدیک به ۲۵۰ میلی‌گرم آهن است که حدود ۳۰ درصد از میانگین ذخایر آهن بدن را در مردان و نزدیک به ۸۰ درصد را در زنان شامل می‌شود (۳). آهن یک عنصر ضروری برای تولید هموگلوبین است که نقش مهمی در حمل اکسیژن به سراسر بدن ایفا می‌کند. کم‌خونی فقر آهن معمولاً به دلیل کمبود آهن در بدن ایجاد می‌شود. کم‌خونی فقر آهن یکی از رایج‌ترین انواع کم‌خونی است که در جوامع سراسر دنیا رخ می‌دهد. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که در برخی از گروه‌های جمعیتی در ایران، شیوع کم‌خونی فقر آهن بالا است. از جمله عواملی که می‌تواند به افزایش شیوع این نوع کم‌خونی در ایران کمک کند، مصرف غذاهای کم آهن، عدم تنوع تغذیه، بارداری‌های پیاپی و شرایط اقتصادی ضعیف می‌باشد (۴، ۵).

جوادزاده شهنشاهی و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطالعه‌ای به منظور بررسی شیوع فقر آهن و عوامل مرتبط با آن در اهدانندگان خون در مرکز انتقال خون یزد انجام دادند. آن‌ها کاهش ذخایر آهن را در ۴۸ درصد اهدانندگان مستمر مرد مشاهده کردند. شیوع فقر آهن در اهدانندگان مستمر مرد ۲۸ درصد بود، در حالی که ۱۶ درصد از این اهدانندگان کم‌خونی فقر آهن داشتند (۶).

تفاوت‌های ژنتیکی نیز ممکن است بر کمبود آهن در اهدانندگان مستمر خون تأثیرگذار باشند. به عبارت دیگر، وجود تنوع ژنتیکی در افراد می‌تواند باعث شود که برخی از افراد در معرض کمبود آهن بیشتری قرار بگیرند. تحقیقات نشان داده است که برخی ژن‌ها و متغیرهای ژنتیکی می‌توانند نقش مهمی در جذب، نگهداری و استفاده از آهن توسط بدن داشته باشند. برخی از این ژن‌ها شامل

ژن‌هایی هستند که در فعالیت‌های مرتبط با جذب و انتقال آهن در خون نقش دارند (۷).

وجود تفاوت‌های ژنتیکی متعدد در ژن‌های دخیل در متابولیسم آهن در انسان، سهم ژنتیک در کمبود آهن را محتمل می‌سازد (۸). بررسی‌ها در سال ۲۰۲۰ نشان‌دهنده کاهش آهن در اهدانندگان مستمر خون بود (۳). مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱، نشان داد که افزایش دفعات اهدای خون با کاهش هموگلوبین و میزان فریتین مرتبط است (۹). همچنین در سال ۲۰۱۳، دانشمندان یافته‌های هماتولوژیک، سطح فریتین سرم و تعداد دفعات اهدا را با وضعیت جهش ژن *HIF-1α* مقایسه کردند و نشان دادند که پلی‌مورفیسم *HIF-1α* (Pro-582-Ser)، اهدانندگان مستمر خون را از ابتلا به فقر آهن و کم‌خونی محافظت می‌کند (۱۰). پروتئین‌های اصلی درگیر در کنترل آهن عبارتند از ترانسفرین (Tf) و گیرنده ترانسفرین (TFR1) برای انتقال و استفاده از آهن، فریتین برای ذخیره‌سازی و هپسیدین (HAMP) برای کنترل و هماهنگی این فرآیندها (۱۱).

چندین واریانت ژنتیکی در ژن‌های تنظیم‌کننده آهن با عدم تعادل در هموستاز آهن مرتبط هستند که می‌توانند باعث کمبود آهن شوند. واریانت‌های ژنتیکی منجر به آهن اضافی بدن عمدتاً در ژن هموکروماتوز (*HFE*) رخ می‌دهند، اما در ژن‌های هپسیدین (*HAMP*)، گیرنده ترانسفرین ۲ (*TFR2*)، کدکننده فروپورتین صادرکننده آهن سلولی (*SLC40A1*)، هموژولین (*HJV*) و *TF* نیز دیده می‌شوند. این جایگاه‌ها نقش مهمی در مسیرهای هموستاز آهن دارند. به عنوان مثال، هپسیدین جذب و آزادسازی آهن را تنظیم می‌کند. پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در ژن‌های دخیل در مسیر سرکوب‌کننده هپسیدین مانند *TMPRSS6*، با میزان پایین آهن و وضعیتی که به عنوان کم‌خونی فقر آهن مقاوم به درمان با آهن شناخته می‌شود، مرتبط است. انواع ژنتیکی *TMPRSS6* می‌تواند منجر به درجات مختلف کمبود آهن و کم‌خونی شود. علاوه بر این، پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (*SNP*) در ژن ترانسفرین (*TF*)، بر میزان آهن تأثیر می‌گذارند و منجر به کمبود آهن می‌شوند (۱۲).

نظر به اهمیت اهدانندگان خون در سازمان انتقال خون

و نگهداری آن‌ها در چرخه اهدای خون بر آن شدیم تا به بررسی تفاوت‌های ژنتیکی ژن‌های تنظیم‌کننده آهن در اهداکنندگان خون پردازیم تا با تشخیص واریانت ژنتیکی در ژن‌های تنظیم‌کننده آهن در اهداکنندگان مستمر ایرانی بتوانیم به ارتباط بین تفاوت‌های ژنتیکی ژن‌های تنظیم‌کننده آهن پی ببریم و از آن در الگوریتم‌های اهدای خون استفاده نموده و اهداکنندگان مستمر را در چرخه اهدا حفظ نماییم.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی از بهمن ۱۴۰۱ تا فروردین ۱۴۰۲ در مرکز انتقال خون تهران اجرا شد. ۱۳۰ اهداکننده مرد مستمر خون به صورت تصادفی وارد مطالعه شدند. حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار G\*power (<http://www.gpower.hhu.de>) و تحت آزمون کای دو محاسبه گردید. برای محاسبه حجم نمونه با در نظر گرفتن یک جدول ۲ در ۳ که یکی وضعیت سطح آهن (و سایر شاخص‌های مورد نظر مطالعه) در دو سطح (طبیعی و غیر طبیعی) و متغیر دیگر پلی مورفسم با سه سطح TC، TT و CC بود در نظر گرفته شد، در نتیجه درجه آزادی مورد نظر برابر ۲ خواهد بود. با در نظر گرفتن سطح معناداری ۰/۰۵ و توان ۹۵ درصد و اندازه اثر متوسط ( $W = 0/35$ )، حداقل حجم نمونه مورد نیاز برابر ۱۳۰ محاسبه گردید. تمامی داده‌های جمع‌آوری شده به وسیله نرم‌افزار R (<https://www.r-project.org>) تحت تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای توصیف متغیرهای کمی از شاخص‌های میانگین و انحراف معیار و برای توصیف متغیرهای کیفی از فراوانی و درصد فراوانی استفاده شد. برای مقایسه میانگین بیش از دو گروه از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. سطح معناداری در این مطالعه ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

معیارهای ورود به مطالعه، اهداکننده مستمر خون بر اساس تعریف سازمان انتقال خون ایران (حداقل ۲ بار اهدای خون در طی یک سال گذشته) و سابقه حداقل ۵ اهدای موفق خون طی ۳ سال گذشته بودند. با توجه به تفاوت‌های هورمونی و از دست دادن خون در طول

قاعدگی و بارداری، زنان در معرض خطر کم خونی فقر آهن هستند، لذا فقط اهداکنندگان مستمر مرد وارد این مطالعه شدند. به دلیل تاثیر کاذب التهاب بر روی پارامترهای مورد اندازه‌گیری، معیار خروج از مطالعه نتیجه آزمایش CRP مثبت اهداکنندگان در نظر گرفته شد.

بعد از دریافت رضایت نامه از ۱۳۰ نفر از اهداکنندگان، ۴ میلی‌لیتر خون در لوله‌های CBC حاوی EDTA و ۶ میلی‌لیتر خون در لوله‌های لخته ژل‌دار دریافت شد تا پارامترهای مختلف از جمله آزمایش CBC و آزمایش‌های مربوط به بررسی میزان آهن بدن از جمله سطح فریتین، سطح سرمی آهن، TIBC و TSAT اندازه‌گیری شوند.

آزمایش CBC با استفاده از دستگاه شمارش سلول‌های خونی Sysmex K1000 انجام شد. آزمایش‌های شاخص بیوشیمیایی آهن سرم و TIBC به ترتیب با کیت تعیین کمی آهن سرم و کیت تعیین کمی TIBC شرکت دلتا درمان پارت با دستگاه Hitachi Automatic Analyzer 912 و آزمایش فریتین با کیت اندازه‌گیری فریتین شرکت پیشتاز طب به روش الایزا انجام شد. از روش کالریمتری (Ferrozine) برای اندازه‌گیری میزان آهن استفاده شد که این روش بر اساس تشکیل یک کمپلکس رنگی بین آهن ( $Fe^{2+}$ ) و فروزین (Ferrozine) بود. از روش مستقیم (Direct) برای اندازه‌گیری میزان TIBC استفاده شد. اساس این روش اتصال آهن به رنگ در مرحله اول و در مرحله بعد ترانسفرین با جدا کردن آهن از کمپلکس آهن-رنگ به سرعت به آن متصل می‌شود. میزان کاهش مشاهده شده در جذب کمپلکس آهن-رنگ به طور مستقیم متناسب با میزان TIBC سرم است. اساس کیت فریتین به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال بود که حساسیت ( $1 \text{ ng/mL}$ ) و اختصاصیت (حدود ۹۸ درصد) داشت. هم‌چنین مقادیر TSAT با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$TSAT (\%) = \frac{\text{Iron}}{\text{TIBC}} \times 100$$

تشخیص کم خونی فقر آهن معمولاً از طریق

۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. تعیین غلظت و کیفیت DNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ نشان‌دهنده کیفیت و کمیت مطلوب نمونه‌ها بود.

از نرم‌افزار Primer BLAST سایت NCBI برای طراحی آغازگر استفاده شد. پس از طراحی آغازگرهای مورد نظر، اختصاصی بودن آغازگرها مورد بررسی قرار گرفت تا اطمینان حاصل شود که آغازگرهای طراحی شده فقط قطعه مورد نظر را تکثیر خواهند کرد. برای این منظور به سایت NCBI مراجعه کرده و به بخش BLAST و سپس به Nucleotide Blast مراجعه شد. بر این اساس آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر قسمتی از ژن که حاوی پلی‌مورفیسم‌های مورد نظر بود طراحی و بررسی شد. تعدادی نمونه با این آغازگرها و با روش PCR معمولی تکثیر شده و محصول PCR تعیین توالی شد. پس از بررسی تعیین توالی، از این نمونه‌ها به عنوان کنترل استفاده شد.

برای شناسایی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در ژن *TMP RSS6* (*rs855791 V736A*) از روش PCR ویژه آلل (Allele Specific PCR) استفاده شد. روش‌های متعددی برای انجام PCR وجود دارد که با اصلاحات کوچک در مراحل ابتدایی آن‌ها، جهت دستیابی به اهداف خاص طراحی و به کار گرفته می‌شوند. یکی از این روش‌ها، روش آلل خاص PCR (ASP) است. در واقع، این روش بر اساس تفاوت‌های نوکلئوتیدی در انتهای 3' آغازگرها، جهت تمایز آلل‌های مختلف توسعه یافته است و امکان تشخیص تغییر یک نوکلئوتید یا پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی را فراهم می‌کند. در این روش، دو واکنش PCR با استفاده از یک الگو اجرا می‌شوند. در واکنش اول، از آغازگری استفاده می‌شود که تنها توانایی تکثیر یک آلل را دارد، در حالی که در واکنش دوم از آغازگر اختصاصی آلل دیگر استفاده می‌شود.

بعد از اتمام PCR محصول تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. در جداول زیر مقادیر اجزای مخلوط PCR و برنامه زمانی و دمایی واکنش PCR برای آلل‌های T و C پلی‌مورفیسم *rs855792* ذکر شده است (جداول ۶-۲).

اندازه‌گیری سطح هموگلوبین، میزان آهن سرم و TIBC انجام می‌شود. اندازه‌گیری سطح فریتین سرم نیز معمولاً به عنوان نشانه‌ای از ذخیره آهن بدن در نظر گرفته می‌شود.

مقادیر مرجع شاخص‌های ارزیابی آهن در جدول گزارش شده است (جدول ۱). برای شاخص‌های آهن و فریتین مقادیر کمتر از مرجع به عنوان کمبود آهن و مقادیر بیشتر از مرجع به عنوان اضافه بار آهن در نظر گرفته شد.

جدول ۱: مقادیر مرجع شاخص‌های اندازه‌گیری شده مرتبط با آهن

| شاخص                            | مقادیر مرجع                 |
|---------------------------------|-----------------------------|
| آهن سرم<br>( $\mu\text{g/dL}$ ) | مردان ۶۰-۱۶۰<br>زنان ۸۰-۱۸۰ |
| فریتین<br>( $\mu\text{g/dL}$ )  | مردان ۱۲-۳۰۰<br>زنان ۱۰-۱۵۰ |
| TIBC<br>( $\mu\text{g/dL}$ )    | مردان و زنان ۲۵۵-۴۵۰        |
| TSAT<br>( $\mu\text{g/dL}$ )    | مردان ۲۰-۵۰<br>زنان ۱۵-۵۰   |

برای استخراج DNA از نمونه‌های خون از محلول‌های استخراج DNA خون کامل سازمان انتقال خون استفاده شد. این کیت بر اساس روش ستونی (column) می‌باشد که برای استخراج سریع DNA ژنومی از خون کامل، پلاسما و گلبول‌های سفید خون طراحی شده است.

برای اطمینان از کیفیت نمونه‌های استخراج شده، باید غلظت DNA استخراج شده مورد بررسی قرار گیرد. به این منظور، از دستگاه نانودراپ و طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر استفاده شد. ۲ میکرولیتر از نمونه استخراج شده را بر روی دستگاه قرار داده و غلظت آن در طول موج

جدول ۲: اطلاعات مربوط به آغازگرهای مورد استفاده

| آغازگر | سکانس 5'-3'          | دما (درجه سانتی گراد) | GC (درصد) | طول محصول (nt) |
|--------|----------------------|-----------------------|-----------|----------------|
| TMP-f  | CACCTGACAGGCATCCTTCT | ۵۹/۸۲                 | ۵۲/۳۸     |                |
| TMP-rT | CAGGACCTGTGCAGCGACGT | ۶۳/۴۵                 | ۶۵        | ۹۳             |
| TMP-rC | CAGGACCTGTGCAGCGAGGC | ۶۵/۵۰                 | ۷۰        |                |

جدول ۳: اجزای مخلوط PCR با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر برای

آلل T پلی مورفیسم rs855791

| معرف           | حجم اضافه شده (μL) | غلظت   |
|----------------|--------------------|--------|
| Master Mix     | ۵                  | ۲X     |
| Primer Forward | ۰/۲                | ۰/۲ μM |
| Primer Reverse | ۰/۲                | ۰/۲ μM |
| DNA            | ۲                  | –      |
| DW             | ۲/۶                | –      |

جدول ۵: برنامه زمانی و دمایی واکنش ASP برای آلل T

پلی مورفیسم rs855791

| مرحله | دما (درجه سانتی گراد)            | زمان                             | شماره چرخه |
|-------|----------------------------------|----------------------------------|------------|
| ۱     | ۹۵                               | ۵ دقیقه                          | ۱          |
| ۲     | ۹۵<br>۶۲/۵ (–۰/۵ °C/cycle)<br>۷۲ | ۳۰ ثانیه<br>۳۰ ثانیه<br>۳۰ ثانیه | ۱۰         |
| ۳     | ۹۵<br>۵۷<br>۷۲                   | ۳۰ ثانیه<br>۳۰ ثانیه<br>۳۰ ثانیه | ۲۵         |
| ۴     | ۷۲                               | ۵ دقیقه                          | ۱          |

جدول ۴: اجزای مخلوط PCR با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر برای

آلل C پلی مورفیسم rs855791

| معرف           | حجم اضافه شده (μL) | غلظت   |
|----------------|--------------------|--------|
| Master Mix     | ۵                  | ۲X     |
| Primer Forward | ۰/۲                | ۰/۲ μM |
| Primer Reverse | ۰/۲                | ۰/۲ μM |
| DNA            | ۲                  | –      |
| DW             | ۱/۶                | –      |
| DMSO           | ۱                  | –      |

جدول ۶: برنامه زمانی و دمایی واکنش ASP برای آلل C

پلی مورفیسم rs855791

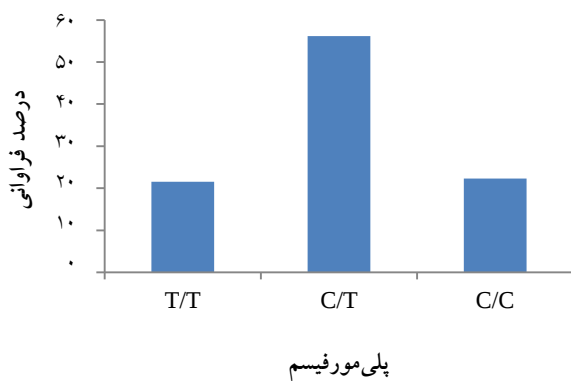
| مرحله | دما (درجه سانتی گراد)          | زمان                             | شماره چرخه |
|-------|--------------------------------|----------------------------------|------------|
| ۱     | ۹۵                             | ۵ دقیقه                          | ۱          |
| ۲     | ۹۵<br>۶۵/۵ (–۱ °C/cycle)<br>۷۲ | ۳۰ ثانیه<br>۴۵ ثانیه<br>۴۵ ثانیه | ۱۰         |
| ۳     | ۹۵<br>۵۴/۵<br>۷۲               | ۳۰ ثانیه<br>۳۰ ثانیه<br>۳۰ ثانیه | ۲۲         |
| ۴     | ۷۲                             | ۵ دقیقه                          | ۱          |

## یافته‌ها

میانگین سنی اهداکنندگان مستمر مورد مطالعه ۴۵ سال با انحراف معیار ۱۰/۵ بود. نتیجه آزمایش CRP برای تمامی نمونه‌های مورد بررسی منفی بود. بنابراین تعداد ۱۳۰ نفر از اهداکنندگان مستمر مرد مراجعه‌کننده به پایگاه انتقال خون تهران، وارد مطالعه شدند. از بین اهداکنندگان ۲۸ نفر (۲۱/۵۴ درصد) حامل آلل هموزیگوت T/T، ۲۹ نفر (۲۲/۳۱ درصد) حامل آلل هموزیگوت C/C و ۷۳ نفر (۵۶/۱۵ درصد) حامل آلل هتروزیگوت C/T بودند (نمودار ۱). توزیع فراوانی ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*) در جدول گزارش شده است (جدول ۷):

نتایج تجزیه و تحلیل Allele specific PCR برای تعدادی از نمونه‌ها در شکل آمده است (شکل‌های ۱ و ۲). مقایسه میانگین نتایج آزمایش CBC و نتایج آزمایش‌های اندازه‌گیری میزان آهن در سه گروه از ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*) به ترتیب در جداول ۳ و ۴ گزارش شده است. با توجه به نتایج جدول ۳، ارتباط معناداری

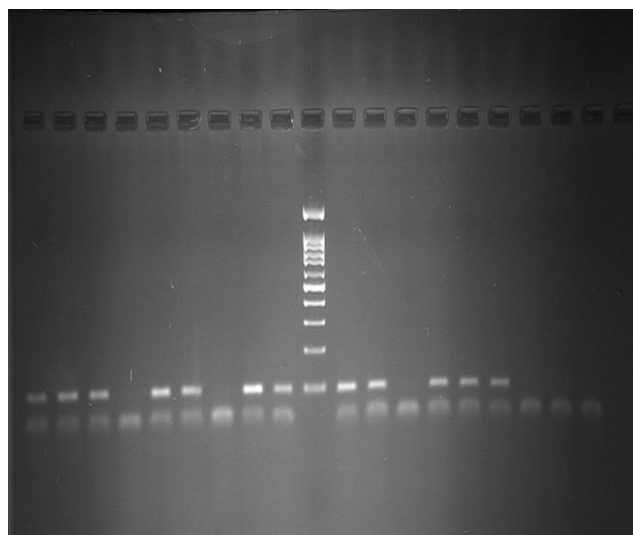
بین پارامترهای خونی و واریانت‌های ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*) مشاهده نشد. همچنین با توجه به نتایج جدول ۴ رابطه معناداری بین پارامترهای آهن سرم، فریتین، TIBC و TSAT و واریانت‌های ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*) مشاهده نشد (جدول ۸).



نمودار ۱: توزیع فراوانی یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی مربوط به ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*)



شکل ۲: ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آلل C پلی‌مورفیسم *TMPRSS6* در ژن *rs855791*



شکل ۱: ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آلل T پلی‌مورفیسم *rs855791*

جدول ۷: مقایسه نتایج آزمایش CBC در واریانت‌های SNP ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*)

| متغیر                                | Rs855791 | شماره | میانگین | انحراف معیار | p-value* | محدوده طبیعی |
|--------------------------------------|----------|-------|---------|--------------|----------|--------------|
| RBC<br>( $\times 10^9/\mu\text{L}$ ) | T/T      | ۲۸    | ۵/۶۶    | ۰/۵۲         | ۰/۷۷۵    | ۵-۴/۸        |
|                                      | C/T      | ۷۳    | ۵/۶۰    | ۰/۴۰         |          |              |
|                                      | C/C      | ۲۹    | ۵/۵۸    | ۰/۴۶         |          |              |
| Hb<br>(gr/dl)                        | T/T      | ۲۸    | ۱۶/۴۴   | ۱/۳۴         | ۰/۷۵۳    | ۱۳/۱۷-۵      |
|                                      | C/T      | ۷۳    | ۱۶/۵۵   | ۱/۱۵         |          |              |
|                                      | C/C      | ۲۹    | ۱۶/۶۷   | ۱/۰۴         |          |              |
| HCT<br>(%)                           | T/T      | ۲۸    | ۴۸/۴۲   | ۴/۱۱         | ۰/۸۶۹    | ۴۰-۵۱        |
|                                      | C/T      | ۷۳    | ۴۸/۳۴   | ۳/۱۲         |          |              |
|                                      | C/C      | ۲۹    | ۴۸/۷۳   | ۲/۹۴         |          |              |
| MCV<br>(fL)                          | T/T      | ۲۸    | ۸۵/۷۸   | ۴/۸۳         | ۰/۳۸۰    | ۸۰-۹۶        |
|                                      | C/T      | ۷۳    | ۸۶/۵۵   | ۵/۰۰         |          |              |
|                                      | C/C      | ۲۹    | ۸۷/۶۱   | ۵/۱۴         |          |              |
| MCH<br>(pg)                          | T/T      | ۲۸    | ۲۹/۱۵   | ۲/۱۱         | ۰/۳۳۱    | ۲۷/۳۳-۳/۲    |
|                                      | C/T      | ۷۳    | ۲۹/۶۳   | ۱/۸۸         |          |              |
|                                      | C/C      | ۲۹    | ۲۹/۹۱   | ۱/۹۹         |          |              |
| MCHC<br>(g/dL)                       | T/T      | ۲۸    | ۳۳/۹۸   | ۰/۹۵         | ۰/۵۲۴    | ۳۱-۳۶        |
|                                      | C/T      | ۷۳    | ۳۴/۲۰   | ۰/۹۹         |          |              |
|                                      | C/C      | ۲۹    | ۳۴/۲۲   | ۰/۸۱         |          |              |
| RDW<br>(%)                           | T/T      | ۲۸    | ۱۳/۴۷   | ۱/۵۳         | ۰/۵۱۷    | ۱۱/۱۴-۶/۶    |
|                                      | C/T      | ۷۳    | ۱۳/۳۹   | ۱/۴۰         |          |              |
|                                      | C/C      | ۲۹    | ۱۳/۰۹   | ۰/۹۴         |          |              |

 جدول ۸: مقایسه نتایج آزمایش‌های اندازه‌گیری آهن در واریانت‌های SNP ژن *TMPRSS6* (*rs855791 V736A*)

| متغیر                         | rs855791 | شماره | میانگین | انحراف معیار | p-value* | محدوده طبیعی |
|-------------------------------|----------|-------|---------|--------------|----------|--------------|
| آهن<br>( $\mu\text{L/dL}$ )   | T/T      | ۲۸    | ۱۰۱/۹۸  | ۳۰/۳۰        | ۰/۴۹۴    | ۶۰-۱۶۰       |
|                               | C/T      | ۷۳    | ۱۰۶/۲۵  | ۴۷/۷۸        |          |              |
|                               | C/C      | ۲۹    | ۱۱۵/۰۲  | ۳۹/۶۸        |          |              |
| فریتین<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | T/T      | ۲۸    | ۴۲/۴۲   | ۲۹/۴۲        | ۰/۳۶۱    | ۱۲-۳۰۰       |
|                               | C/T      | ۷۳    | ۵۳/۱۱   | ۳۱/۰۵        |          |              |
|                               | C/C      | ۲۹    | ۴۷/۵۱   | ۴۶/۲۳        |          |              |
| TIBC<br>( $\mu\text{g/L}$ )   | T/T      | ۲۸    | ۲۹۲/۹۶  | ۴۱/۶۳        | ۰/۲۳۶    | ۲۵۵-۴۵۰      |
|                               | C/T      | ۷۳    | ۲۸۴/۴۷  | ۴۲/۱۲        |          |              |
|                               | C/C      | ۲۹    | ۲۹۸/۹۷  | ۳۴/۵۴        |          |              |
| TSAT<br>(%)                   | T/T      | ۲۸    | ۳۵/۷۲   | ۱۲/۴۷        | ۰/۷۱۱    | ۲۰-۵۰        |
|                               | C/T      | ۷۳    | ۳۸/۳۱   | ۱۷/۹۶        |          |              |
|                               | C/C      | ۲۹    | ۳۸/۹۱   | ۱۳/۴۹        |          |              |

## بحث

از بین ۱۳۰ اهداکننده مستمر، ۲۸ نفر (۲۱/۵۴ درصد) حامل آلل هموزیگوت T/T، ۲۹ نفر (۲۲/۳۱ درصد) حامل آلل هموزیگوت C/C و ۷۳ نفر (۵۶/۱۵ درصد) حامل آلل هتروزیگوت C/T بودند. در این مطالعه رابطه معنادار آماری بین ژن *TMPRSS6* (rs855791 V736A) و شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده نشد.

آهن یک عنصر مهم در بدن انسان است که نقش مهمی در عملکرد سلول‌ها و سیستم‌های بدن دارد. میزان آهن در بدن باید در محدوده مناسبی باشد تا عملکرد صحیح بدن حفظ شود. آهن در بدن انسان نقش حیاتی در فرآیندهای بیولوژیکی از جمله حمل اکسیژن در بدن، تولید انرژی، ساختن و عملکرد آنزیم‌ها دارد. همچنین، آهن در ساخت هموگلوبین، پروتئینی که در گلبول‌های قرمز خون وجود دارد و مسئول حمل اکسیژن به اعضا و بافت‌ها است، نقش کلیدی دارد. میزان آهن مورد نیاز بدن، تحت تأثیر عوامل متعددی مانند سن، جنسیت، وضعیت بارداری و شیردهی، وضعیت سلامت عمومی و عادات غذایی قرار می‌گیرد (۱۳، ۱۴). مطالعه‌ها نشان می‌دهد که در برخی از گروه‌های جمعیتی در ایران، شیوع کم‌خونی فقر آهن بالا است. عواملی همانند مصرف غذاهای کم آهن، عدم تنوع تغذیه، بارداری‌های پیاپی و شرایط اقتصادی ضعیف، می‌تواند به افزایش شیوع این نوع کم‌خونی در ایران کمک کند (۵، ۴). اهدای یک واحد خون (حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر) باعث افت ۲۵۰ میلی‌گرمی آهن در بدن می‌شود. این موضوع یک نگرانی مهم در حوزه بهداشت عمومی در کشورهای در حال توسعه است که کمبود آهن و کم‌خونی عارضه‌ای رایج در جمعیت عمومی آن‌ها محسوب می‌شود. شناسایی عوامل قابل پیش بینی کاهش میزان آهن می‌تواند به مراکز جذب اهداکنندگان خون کمک کند تا گروه‌های در معرض خطر را از اهدای خون مستثنی کرده و این افراد را از Sideropenia در دوره پس از اهدای خون محافظت کند (۱۵).

مطالعه‌های زیادی بر روی تاثیر پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی مختلف روی میزان آهن بدن اهداکنندگان خون انجام شده است. جاکو و همکاران ارتباط بین ۸۲ واریانت

ژنتیکی با سطح آهن بدن در ۴۸ اهداکننده مستمر خون را بررسی کردند. تنها واریانت rs8177181، به طور آماری ارتباط معنادار با سطح فریتین پلاسما داشت. آلل‌های هتروزیگوت این واریانت ژنتیکی به طور معناداری اثر مثبتی بر سطح فریتین داشت (۱۶).

سورنسن و همکاران تأثیر شش پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی بر سطح فریتین در ۱۴۱۲۶ نفر از اهداکنندگان خون در چهار ژن را مورد بررسی قرار دادند (۱۷). مست و همکاران در ۷۷۵ نفر از اهداکنندگان ارتباط چهار واریانت ژنتیکی با متابولیسم آهن را بررسی کردند (۱۸). در مطالعه حاضر ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژنتیکی rs855791 که از فراوانی زیادی در جمعیت برخوردار است با میزان شاخص‌های بیوشیمیایی آهن شامل میزان آهن سرم، فریتین، TIBC و میزان اشباع ترانسفرین در ۱۳۰ اهداکننده مستمر خون مورد بررسی قرار گرفت.

پتید کبدی هپسیدین نقش حیاتی در تعادل آهن از طریق کنترل جذب آهن رژیم و آزادسازی آهن ماکروفاژها در انسان ایفا می‌کند. ماترپیتاز-۲ که توسط ژن *TMPRSS6* رمزگذاری می‌شود، یک سرین پروتئاز است که نقش مهمی در بیان هپسیدین و در نتیجه حفظ تعادل آهن دارد. مطالعه‌های ژنتیکی در انسان‌ها نشان داده‌اند که جهش‌های *TMPRSS6* با آنمی فقر آهن مقاوم به درمان با آهن مرتبط هستند. اخیراً، GWAS‌ها چندین واریانت متداول در *TMPRSS6* را شناسایی کرده‌اند که با غلظت‌های سرمی آهن و غلظت هموگلوبین در جمعیت‌هایی از نژاد اروپایی و آسیایی هندی مرتبط هستند. rs855791 یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در دومین سرین پروتئاز شبیه تریپسین است که جزو واریانت‌های دارای بیشترین ارتباطات معنادار با غلظت هموگلوبین می‌باشد (۱۹).

چندین مطالعه در مورد ارتباط ژن *TMPRSS6* (rs855791) با میزان شاخص‌های آهن خون انجام شده است که نشان می‌دهد SNP‌های ژن *TMPRSS6* با سطوح آهن ارتباط دارند. گزارش‌های ابتدایی که بر اختلالات متابولیسم آهن تمرکز داشتند، نشان دادند که جهش‌های نادر در *TMPRSS6* باعث کمبود شدید آهن می‌شود (۲۰).

(۱۸).

در مطالعه حاضر رابطه معنادار آماری بین ژن *TMPRSS6* (*rs855791* *V736A*) و شاخص‌های بیوشیمیایی مشاهده نشد که می‌تواند به دلیل محدودیت در تعداد افراد مورد مطالعه و تفاوت‌های نژادی در جمعیت‌های مورد نظر باشد. به دلیل محدودیت در منابع مالی و بودجه، تعداد اهداکنندگان کمی وارد این مطالعه شدند و تعداد نمونه‌های موجود در این مطالعه ممکن است بر توانایی تعمیم‌پذیری نتایج به جمعیت کلی تأثیر گذاشته باشد. هم‌چنین متغیرهایی مانند عوامل محیطی، عادات و رفتارهای اهداکننده، تغذیه و مسائل بهداشتی که ممکن است بر شاخص‌های آهن تأثیر داشته باشند، در این مطالعه در نظر گرفته نشده‌اند.

### نتیجه‌گیری

کمبود آهن و تعادل منفی آهن پس از اهدای خون به عنوان مسأله‌ای مهم و قابل توجه در حوزه بهداشت عمومی در جوامع در حال توسعه باید مورد توجه قرار گیرد. تشخیص و مدیریت دقیق‌تر این وضعیت در اهداکنندگان خون می‌تواند بهبود سلامت و کیفیت زندگی این افراد را تضمین کند و در نهایت، اثر مثبتی بر کمبود آهن و کم‌خونی فقر آهن در جوامع مورد نظر ایجاد کند. در این مطالعه، ارتباط ژن *TMPRSS6* (*rs855791* *V736A*) با وضعیت آهن بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم فوق با سطح آهن و کمیت‌های مرتبط با آن ارتباط ندارد. با توجه به اهمیت اهدای خون و نقش آن در انتقال خون و مراقبت از بیماران، شناسایی افرادی که در معرض خطر کاهش میزان آهن قرار دارند، امری اساسی است. این شناسایی می‌تواند به مراکز جذب اهداکنندگان خون کمک کند تا به‌طور دقیق‌تر گروه‌های در معرض خطر را تشخیص داده و اقدامات مناسبی را برای حفاظت از این افراد در دوره پس از اهدای خون انجام دهند.

### پیشنهادات

برای تأیید دقیق‌تر و تعمیم‌پذیری نتایج، می‌توان مطالعه‌هایی با حجم نمونه‌های بزرگتر و متنوع‌تر در

نتایج مطالعه‌های جهانی ژن نشان دادند که SNP‌های متداول (از جمله *rs855791*) در *TMPRSS6* با کاهش تغییرات شدید در سطح آهن سرم یا هموگلوبین (Hb) مرتبط هستند (۲۲، ۲۱). اخیراً، یک متا-آنالیز شامل داده‌های ۱۴ مطالعه نشان داد که آلل T پلی مورفیسم *rs855791* با میزان کمتری از فریتین در جمعیت‌های نژادی مختلف مرتبط است (۲۳).

نقش ژن *TMPRSS6* (*V736A* *rs855791*) در اهداکنندگان خون نیز بررسی شده است. در مطالعه سورنسن و همکاران در سال ۲۰۱۲ روی اهداکنندگان خون دانمارکی، هیچ ارتباطی بین ژن *TMPRSS6* (*rs855791* *V736A*) و کمبود آهن پیدا نشد و آن‌ها نتایجی مشابه با مطالعه حاضر گزارش کردند (۲۴) ولی از آن جایی که مطالعه اولیه آن‌ها قدرت آماری کافی برای شناسایی اثرات کوچک اما مرتبط با بالین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نداشت، تجزیه و تحلیل را در جمعیت بزرگتری از اهداکنندگان تکرار کردند. سورنسن و همکاران در سال ۲۰۱۶ تأثیر ۶ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی از جمله *rs855791* بر میزان فریتین خون در ۱۴۱۲۶ اهداکننده خون را بررسی کردند. و در مطالعه دومشان آن‌ها نشان دادند که در مردان، آلل T پلی مورفیسم *rs855791* در ژن *TMPRSS6* با سطوح پلاسمایی کمتری از فریتین مرتبط بود. نتایج مطالعه دوم آن‌ها تأیید کرد که حاملان آلل T پلی مورفیسم *rs855791* خطر بالاتری از کمبود آهن دارند، آن‌ها مشاهده کردند که این ژنوتیپ تأثیر قابل توجهی بر سطح فریتین تنها در میان اهداکنندگان خون مرد دارد. با این حال، این ژنوتیپ خطر کمبود آهن را افزایش نداد (۱۷). یافته‌های مست و همکاران بر روی *rs855791* در سه گروه اهداکننده خون آمریکایی در مطالعه REDS-III در گروه‌های مختلف زن و مرد و اهداکننده باراول و مستمر بررسی شد و مشاهده کردند که سطوح فریتین سرمی در ژنوتیپ‌های زنان، اما نه مردان، متغیر است. در مطالعه REDS-III، اهداکنندگان خون هموزیگوت برای آلل C پلی مورفیسم *rs855791* سطوح میانگین فریتین ۷۶ درصد بالاتر از اهداکنندگان خون هموزیگوت برای آلل T بودند، در حالی که حاملان هتروزیگوت ۵۳ درصد بیشتر از سطوح فریتین داشتند

### عدم تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع در مطالعه حاضر وجود نداشته است.

### نقش نویسندگان

محمد پویا سمیعی: انجام مراحل عملی، تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج و تهیه پیش نویس مقاله  
دکتر آزیتا چگینی: مدیریت و طراحی مطالعه، تفسیر نتایج و بازبینی و اصلاح پیش نویس مقاله  
دکتر مجید شهابی: طراحی مطالعه، انجام مراحل عملی و تهیه پیش نویس مقاله

دکتر امیر تیمورپور: طراحی مطالعه، تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج و اصلاح پیش نویس مقاله

### تشکر و قدردانی

برای همکاری صمیمانه پرسنل بخش اهداکنندگان اداره کل انتقال خون استان تهران و مرکز تحقیقات انتقال خون کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

جمعیت ها انجام داد. این اقدام می تواند به تجزیه و تحلیل دقیق تر ارتباط ها و تأثیرات تعدیل کننده در نظر گرفته شده کمک کند. با وجود نتایج متناقض در برخی موارد، این پژوهش مبنایی قوی برای ادامه تحقیقات در زمینه ارتباط بین پلی مورفسم های ژنتیکی و تعادل آهن فراهم می کند. ادامه تحقیقات با توجه به تأثیرات ترکیبی این پلی مورفسم ها و تعاملات مختلف میان عوامل مولکولی، مسیرهای متابولیسم آهن و شاخص های بیوشیمیایی ضروری به نظر می رسد.

### حمایت مالی

این مطالعه بدون هیچ گونه حمایت مالی انجام شده است.

### ملاحظات اخلاقی

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی دوره کارشناسی ارشد رشته خون شناسی مرکز تحقیقات مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون با کد اخلاق IR.TMI.REC.1401.021 می باشد.

### References:

- 1- Ranjbarian P. Comparison of positive HBsAg prevalence in first-time , repeat, and regular blood donors for the purpose of selecting donors in Hamedan Blood Transfusion Center. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2008; 4(5): 359-63. [Article in Farsi]
- 2- Hasanzadeh A, Farahini F, Akbari N, Aghahosseini M, Pirzadeh A. Survey of effective factors on continuous blood donation in Isfahan province based on the theory of planned behavior. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2013; 10(2): 182-9. [Article in Farsi]
- 3- Reddy KV, Shastry S, Raturi M, Baliga BP. Impact of Regular Whole-Blood Donation on Body Iron Stores. Transfus Med Hemother 2020; 47(1): 75-9.
- 4- Pasricha SR, Caruana SR, Phuc TQ, Casey GJ, Jolley D, Kingsland S, et al. Anemia, iron deficiency, meat consumption, and hookworm infection in women of reproductive age in northwest Vietnam. Am J Trop Med Hyg 2008; 78(3): 375-81.
- 5- Zamani M, Poustchi H, Shayanrad A, Pourfarzi F, Farjam M, Noemani K, et al. Prevalence and determinants of anemia among Iranian population aged  $\geq 35$  years: A PERSIAN cohort-based cross-sectional study. PLoS One 2022; 17(2): e0263795.
- 6- Javadzadeh Shahshahani H, Attar M, Taher Yavari M. A study of the prevalence of iron deficiency and its related factors in blood donors of Yazd, Iran, 2003. Transfus Med 2005; 15(4): 287-93.
- 7- Ji Y, Flower R, Hyland C, Saiepour N, Faddy H. Genetic factors associated with iron storage in Australian blood donors. Blood Transfus 2018; 16(2): 123-9.
- 8- Kiss JE, Vassallo RR. How do we manage iron deficiency after blood donation? Br J Haematol 2018; 181(5): 590-603.
- 9- Hindawi S, Badawi M, Hussein D, Al-Riyami AZ, Daghman NA, Rafie NI, et al. The impact of blood donation on blood counts and ferritin levels: A multi-center study from the Eastern Mediterranean region. Transfus Apher Sci 2021; 60(3): 103072.
- 10- Torti L, Teofili L, Capodimonti S, Nuzzolo ER, Iachininoto MG, Massini G, et al. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ (Pro-582-Ser) polymorphism prevents iron deprivation in healthy blood donors. Blood Transfus 2013; 11(4): 553-7.
- 11- Sukiennicki GM, Marciniak W, Muszyńska M, Baszuk P, Gupta S, Białkowska K, et al. Iron levels, genes involved in iron metabolism and antioxidative processes and lung cancer incidence. PLoS One 2019; 14(1): e0208610.
- 12- Jallow MW, Cerami C, Clark TG, Prentice AM, Campino S. Differences in the frequency of genetic variants associated with iron imbalance among global populations. PLoS One 2020; 15(7): e0235141.
- 13- Hurrell R, Egli I. Iron bioavailability and dietary

- reference values. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(5): 1461s-7s.
- 14- Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR. *Modern nutrition in health and disease*. USA: Wolters Kluwer Health Adis; 2012. p. 1-161.
- 15- Rigas AS, Pedersen OB, Magnussen K, Erikstrup C, Ullum H. Iron deficiency among blood donors: experience from the Danish Blood Donor Study and from the Copenhagen ferritin monitoring scheme. *Transfus Med* 2019; 29 Suppl 1: 23-7.
- 16- Jacko G, Sivakaanthan A, Obeysekera M, Welvaert M, Viennet E, Hyland C, *et al.* Next generation sequencing to identify iron status and individualise blood donors' experience. *Blood Transfus* 2023; 21(6): 463-71.
- 17- Sørensen E, Rigas AS, Thørner LW, Burgdorf KS, Pedersen OB, Petersen MS, *et al.* Genetic factors influencing ferritin levels in 14,126 blood donors: results from the Danish Blood Donor Study. *Transfusion* 2016; 56(3): 622-7.
- 18- Mast AE, Langer JC, Guo Y, Bialkowski W, Spencer BR, Lee TH, *et al.* Genetic and behavioral modification of hemoglobin and iron status among first-time and high-intensity blood donors. *Transfusion* 2020; 60(4): 747-58.
- 19- Gan W, Guan Y, Wu Q, An P, Zhu J, Lu L, *et al.* Association of *TMPRSS6* polymorphisms with ferritin, hemoglobin, and type 2 diabetes risk in a Chinese Han population. *Am J Clin Nutr* 2012; 95(3): 626-32.
- 20- Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, Aydinok Y, Pearson HA, Hartman KR, *et al.* Mutations in *TMPRSS6* cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nat Genet* 2008; 40(5): 569-71.
- 21- Benyamin B, Esko T, Ried JS, Radhakrishnan A, Vermeulen SH, Traglia M, *et al.* Novel loci affecting iron homeostasis and their effects in individuals at risk for hemochromatosis. *Nat Commun* 2014; 5: 4926.
- 22- Tanaka T, Roy CN, Yao W, Matteini A, Semba RD, Arking D, *et al.* A genome-wide association analysis of serum iron concentrations. *Blood* 2010; 115(1): 94-6.
- 23- Gichohi-Wainaina WN, Towers GW, Swinkels DW, Zimmermann MB, Feskens EJ, Melse-Boonstra A. Inter-ethnic differences in genetic variants within the transmembrane protease, serine 6 (*TMPRSS6*) gene associated with iron status indicators: a systematic review with meta-analyses. *Genes Nutr* 2015; 10(1): 442.
- 24- Sørensen E, Grau K, Berg T, Simonsen AC, Magnussen K, Erikstrup C, *et al.* A genetic risk factor for low serum ferritin levels in Danish blood donors. *Transfusion* 2012; 52(12): 2585-9.