

Оригінальні статті

УДК 616.831—006.484:612.015

Особливості обміну негемового заліза в організмі хворих з гліомами головного мозку

Зозуля Ю. П., Михайлик О. М., Розуменко В.Д., Черченко А. П., Дудченко Н. А., Лебедєв Є.О., Шурунов Б. С.

Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова АМН України, м. Київ, Україна
Інститут прикладних проблем фізики і біофізики НАН України, м. Київ, Україна
Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, м. Київ, Україна

Ключові слова: гліальні пухлини головного мозку людини, метаболізм негемового заліза, залізо феритину, залізо, здатне до хелатування, залізо трансферину, метод кількісної спектроскопії електронного спінового резонансу.

Залізо є дуже важливим елементом для нормального розвитку і функціонування організму, водночас надмір його чи локальне накопичення в тканинах займають важливе місце в патогенезі найтяжчих і найпоширеніших хвороб людини [53]. Стани перевантаження організму залізом класифікують, виділяючи первинний (спадковий) і вторинний (набутий) гемохроматоз. Спадковий гемохроматоз пов'язують насамперед з успадкуванням мутацій у нещодавно відкритому HFE-гені за гомозиготним типом [20, 64]. Частота гомозиготності становить приблизно 1 випадок з 200. Схильність до надмірного накопичення заліза є характерною також для гетерозиготних носіїв мутантних генів, асоційованих з гемохроматозом [46], які виявляються у 13% населення.

Більша частина заліза, що міститься у біологічних тканинах у нормі, перебуває у формі гемових білків. Негемове залізо включає залізо, що входить до складу феритину (гемосидерину) та трансферину, і невеличку кількість його у формі низькомолекулярних комплексів з такими лігандами, як цитрат, АТФ, цистеїн та ін. [34]. Механізми ураження тканин при перевантаженні залізом ще не зовсім вивчені. На молекулярному рівні відбуваються зміни у напрямку накопичення заліза і підвищення концентрації цього елемента в складі білків, що його транспортують і депонують, — трансферину і феритину (гемосидерину). Крім того, підвищується концентрація низькомолекулярних комплексів заліза чи заліза, здатного до хелатування [29].

Присутність заліза в тканинах головного моз-

ку виявлено давно [58]. Концентрація його в деяких ділянках мозку перевищує концентрацію в печінці [2, 26]. Окрім того, що залізо відіграє надзвичайно важливу роль в окислювальному фофорилуванні, є кофактором деяких ферментів, що сприяють синтезу і деградації нейротрансмітерів, воно необхідне для нормального метаболізму допаміну і процесів окислювального метаболізму в тканинах головного мозку [8, 66]. Нестача заліза призводить до порушення функції руху [7]. В цілому у білій речовині кортексу більше заліза, ніж у сірій [12]. Картина розподілу феритину, білка, в якому відкладається залізо, співпадає з картиною вмісту заліза взагалі. Феритин знаходять, головним чином, в олігодендроцитах і в клітинах мікроглії, які виконують фагоцитуючу функцію в тканинах мозку [11, 38]. Астроцити також здатні накопичувати залізо [13]. У складі феритину залізо в нормі складає від 1/3 до 3/4 вмісту його в тканинах мозку [51]. Феритин — найменше вивчений компонент регуляторної системи головного мозку [13]. Трансферин локалізується переважно в олігодендроцитах [10] і в клітинах ендотелію мікросудин мозку [21]. Деяка кількість трансферину детектується в астроцитах, де збільшується з віком людини [11]. Трансферин, як правило, не виявляється в нейронах. У головному мозку людини рівень трансферину в білій речовині вищий, ніж у сірій речовині, найвищий він у моторній корі, так само, як рівень феритину і заліза. Зміни в розподілі заліза на регіональному, клітинному та молекулярному рівні відбуваються: при неонатальному розвитку [8, 18], старінні [26], дефіциті за-

ліза [13, 66], периферичному накопиченні його в деяких зонах мозку [36, 60], при деяких нейродегенеративних захворюваннях [35, 57], розсіяному склерозі [15], травматичних ураженнях мозку, ВІЛ-інфекції [23]. Загалом спостерігається збільшення вмісту заліза в головному мозку з віком [11], і цей процес має тенденцію прискорюватися при деяких патологічних обставинах.

Патогенетична роль заліза в розвитку неврологічних захворювань ще не до кінця з'ясована і потребує подальшого дослідження. Нейротоксичність заліза полягає насамперед у каталізі під його впливом процесів вільнорадикального окислення та в ураженні тканин мозку внаслідок стресу, спричиненого цими процесами. Тканини мозку надзвичайно чутливі до окислювального ураження, внаслідок високих рівнів окислювального метаболізму та вмісту ненасичених жирних кислот і низької активності антиоксидантних ферментів [6,19,22,25], порівняно з іншими тканинами організму. Особливу небезпеку токсичність заліза становить для мітохондрій [42]. Вважають, що інгібування мітохондріального переносу електронів відбувається в результаті утворення динітрозильних комплексів заліза з залізо-сірчаними білками — компонентами електронтранспортного ланцюга мітохондрій [14] — і призводить до пригнічення енергопродукції [35].

Роль систем транспорту і накопичення заліза в онкогенезі сьогодні інтенсивно досліджується. Оскільки залізо конче необхідне для росту пухлинних клітин [56], перевантаження ним організму є фактором ризику щодо виникнення раку. Нові наукові дані свідчать, що вміст “лабільного” заліза — один із суттєвих факторів регуляції співвідношення процесів проліферації і апоптозу клітин [55]. Сформульовано гіпотезу стосовно гіпоферимії як захисної реакції організму проти неоплазій та інфекцій [31, 65]. Підвищення концентрації депонованого заліза при перевантаженні ним організму також є фактором ризику ще небезпечнішого ураження тканин, зокрема при хімотерапії онкологічних хворих чи дії підвищеного рівня радіації [16]. У такому разі в основі негативного ефекту лежить посилення радіаційно-хімічних процесів у середовищі, наповненому високодисперсним матеріалом із значною густиною, яким є біологічна тканина, збагачена на залізо у складі неорганічного “ядра” білка, що його депонує, — феритину (гемосидерину). Можливий також каталіз процесів вільнорадикального окислення в локальних магнітних

полях [41] у тканинах, збагачених на залізо в складі білків, враховуючи унікальне магнітне упорядкування заліза в ядрі феритину (динамічно усереднений антиферромагнітний стан з надмірним спіном [27]).

Масштабними епідеміологічними дослідженнями доведено, що перевантаження організму залізом, зокрема підвищення ступеня насичення трансферину плазми крові, є фактором ризику розвитку онкологічних хвороб [28, 39]. Наявність спадкового гемохроматозу посилює ризик захворювання на рак печінки. Роль гетерозиготності в HFE-локусі та перевантаження організму залізом іншої етіології у виникненні різних видів онкологічних захворювань вивчено недостатньо. Дані щодо взаємозв'язку між надміром заліза в організмі та утворенням пухлин головного мозку в науковій літературі відсутні.

Відомо, що транспорт заліза в тканини головного мозку забезпечується головним чином трансферином і рецепторами до нього на поверхні ендотеліальних та інших типів клітин [8]. Різні пухлини мозку (особливо гліобластоми) характеризуються значно підвищеною експресією трансферинових рецепторів порівняно з нормальними тканинами мозку [44, 54]. Це явище, як вважають, пов'язане з високою потребою пухлинних клітин в залізі для їх росту і проліферації, зокрема в G1- фазі клітинного циклу [9]. Значно менше відомо про зміни обміну негемового заліза при рості пухлин мозку. Існують трансфериннезалежні шляхи транспорту заліза [37]. Нещодавно виявлено, що феритин може виконувати транспортну роль, зокрема олігодендроцити експресують рецептори до феритину і поглинають феритин шляхом опосередкованого рецепторами ендоцитозу [32,33]. Однак розподіл рецепторів до трансферину не ідентичний розподілу рецепторів до феритину, так само неоднаково розподілені в мозку залізо, трансферин і трансферинові рецептори [17].

Злоякісні гліоми є найпоширенішими первинними пухлинами головного мозку дорослих людей. У нашому дослідженні гліальних пухлин мозку в експерименті на щурах ми виявили гіпотрансферинемію (зниження концентрації заліза у складі трансферину і ступеня насичення трансферину, визначених у цільній крові), що супроводжувалась збагаченням тканин мозку на залізо у складі феритину і “лабільне” залізо по відношенню до тварин з групи порівняння [49]. Метою нашого наукового дослідження було вивчення показників обміну негемового заліза в крові

і тканинах головного мозку пацієнтів з гліальними пухлинами мозку.

Матеріали і методи. Зразки крові і плазми крові брали від дев'яти дорослих пацієнтів з гліальними пухлинами мозку. Біопсійний матеріал одержували під час оперативного втручання з приводу видалення пухлин із трьох ділянок мозку: зони пухлини; перифокальної зони, прилеглої до пухлини (перифокальна зона I); — перифокальної зони, віддаленої від пухлини (перифокальна зона II). Анапластичні астроцити III ступеня злоякісності видалено у 2 хворих, олігодендроастроцити III ступеня злоякісності — у 4 хворих, епендимоастроцити III—IV ступеня злоякісності — у 2 хворих. Пацієнти були віком від 29 до 60 років. Показник гемоглобіну крові (Hb) в групі хворих становив від 106 до 156 г/л, індекс гематокриту (Ht) — $0,45 \pm 0,03$. Група порівняння складалась із 12 здорових дорослих людей віком від 27 до 62 років, з показниками гемоглобіну крові від 120 до 165 г/л, індексу гематокриту — $0,47 \pm 0,06$ (табл. 1).

Показники обміну негемового заліза визначали в мікрозразках масою 20—100 мг, використовуючи процедури, розроблені нами на основі кількісної спектроскопії електронного спінового резонансу (ЕСР) [1, 45, 48]: концентрацію заліза у формі білків, що його накопичують, — феритину (гемосидерину) $[Фт-Fe]$ — в цільній крові, плазмі крові і тканинах; концентрацію заліза у складі транспортного білка трансферину $[Тф-Fe]$ в цільній крові і плазмі крові; концентрацію білка трансферину в цільній крові $[Тф]_{кр}$; ступінь насичення трансферину залізом в цільній крові $\%Тф_{кр}$; концентрацію заліза, що хелатується з десферіоксаміном В $[Дф-Fe]$ в цільній крові, плазмі крові і тканинах. Концентрацію заліза трансферину, асоційованого з форменими елементами крові $[Тф-Fe]_{фек}$, розраховували, виходячи з показників концентрації заліза трансферину в цільній крові $[Тф-Fe]_к$ і плазмі крові $[Тф-Fe]_{па}$ з урахуванням індексу гематокриту (Ht), користуючись співвідношенням: $[Тф-Fe]_{па} (1-Ht) + [Тф-Fe]_{фек} Ht = [Тф-Fe]_к$.

На відміну від рутинних методів, що застосовуються сьогодні в клінічних дослідженнях для оцінки стану обміну негемового заліза, методи аналізу форм негемового заліза з використанням спектроскопії ЕСР забезпечують ефективне вивчення зразків цільної крові. Наявність спектрів ЕСР, які є характерними лише для заліза у складі комплексів з трансферином (рис., А) [5], робить можливим специфічне визначення індексів обміну заліза в пулі трансферину в цільній крові та плазмі крові. Відомий факт використання методу спектроскопії ЕСР для оці-

нки пулу заліза, специфічно зв'язаного з трансферином у сироватці крові пацієнтів з гіперсидерозами [4]. Аналіз зразків цільної крові дає змогу адекватніше оцінювати обмін заліза в пулі трансферину, враховуючи, що високонасичений залізом трансферин частково втрачається при одержанні плазми чи сироватки крові із цільної крові [50]. Ідентифікація спектрів ЕСР феритину (гемосидерину) в біологічних тканинах (рис., Б) і визначення оптимальних умов реєстрації спектрів, каліброваних за даними гамма-резонансної спектроскопії [45], дозволяють виявляти вміст заліза у складі феритину (гемосидерину) в біологічних зразках. Концентрацію заліза, здатного до комплексоутворення в біологічних тканинах, визначали по утворенню комплексу з десферіоксаміном В [1,40], який має характерний спектр ЕСР з $g=4,3$ (рис., В). Наші експериментальні дані [1] узгоджуються з ідеєю [43] щодо доцільності вивчення здатності заліза до хелатування, а не розміру пулу низькомолекулярних комплексів його.

Дані представлені як $M \pm \delta(m)$, де M — середнє значення, δ — показник стандартного відхилення, m — статистична помилка середнього значення. Використовували кількісну статистичну міру (P_I) відмінностей між експериментальними даними і даними порівняння (відстань між вибірками даних): $P_I = \Phi_{nm}(T_I(x,y))$, де $\Phi_{nm}(x)$ — функція Снедекора-Фішера;

$$T_I(\xi, \eta) = \frac{n+m-1}{I} \times \frac{nm}{(n+m)(n+m-2)} D_I^2(\xi, \eta), \text{ де } D_I^2(\xi, \eta) —$$

відстань Махалобіса, I — число параметрів (факторів) [3]. Параметри n, m визначаються за розміром вибірки для групи експериментальних даних та групи даних порівняння. Переваги такої вірогідної оцінки принаймні такі: значення P_I нормалізоване і змінюється в межах 0—1; чим ближче P_I до 1, тим менш вірогідна так звана “нульова” гіпотеза щодо відсутності ефекту (рівності середніх значень двох вибірок); оцінка враховує взаємозв'язки між факторами та їх сукупні зміни. У частинному випадку при кількості параметрів $I=1$ $P_I = S_{nm}(T_q(x,y))$, де $S_n(x)$ — функція розподілу Ст'юдента, або $P_I = 1-p$, де p — рівень значущості “нульової” гіпотези щодо рівності середніх значень параметра, визначених в експериментальній групі і групі порівняння. Метод реалізовано як діалогову систему для ПК та застосовано для обробки статистичних даних параметрів обміну заліза в організмі пацієнтів з гліальними пухлинами головного мозку.

Результати та обговорення. Результати дослідження свідчать, що обмін заліза в

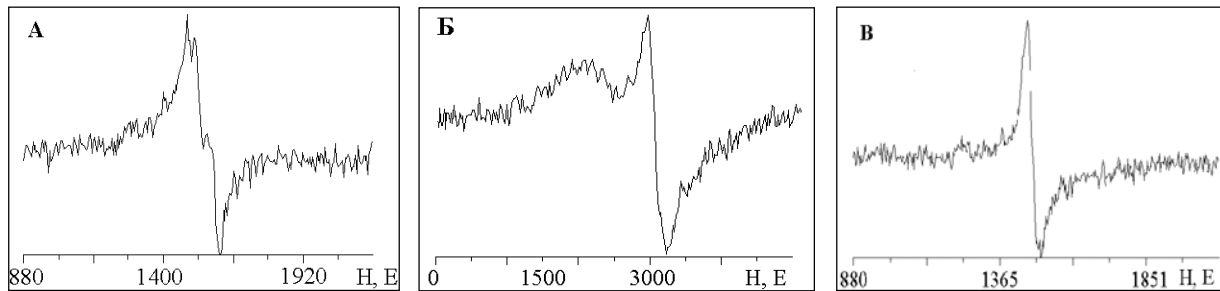


Рис. Фрагменти спектрів ЕСР. А — крові здорової людини: частота — 9,39 ГГц, мікрохвильова потужність — 70 мВт, T — 105 К; Б — тканини з зони пухлини пацієнта з гліальною пухлиною мозку: частота — 9,30 ГГц, мікрохвильова потужність — 20 мВт, T — 145 К; В — комплексу заліза (III) з десферіоксаміном В в плазмі крові людини: частота — 9,39 ГГц, мікрохвильова потужність — 50 мВт, T — 105 К. Амплітуда модуляції — 10 Гс. По осі абсцис — магнітне поле (H) в ерстедах (E).

організмі пацієнтів з гліальними пухлинами головного мозку значно відрізняється від обміну в організмі здорових дорослих людей (табл. 1). Концентрація заліза у складі трансферину в цільній крові пацієнтів ($19,5 \pm 2,9$ мкМ) значно і статистично достовірно перевищувала ($P_1=0,9921$) дані порівняння, одержані в групі здорових осіб ($15,3 \pm 2,8$ мкМ). Показник концентрації заліза трансферину в плазмі крові також був вірогідно вищий ($P_1=0,9946$) у хворих ($29,9 \pm 4,7$ мкМ), ніж у здорових дорослих ($24,3 \pm 3,6$ мкМ). Концентрація заліза трансферину, асоційованого з форменими елементами крові, у пацієнтів дорівнювала $7,5 \pm 6,1$ мкМ і перевищувала відповідні дані порівняння, одержані в групі здорових дорослих, — $5,7 \pm 3,2$ мкМ, але це підвищення не було статистично вірогідним ($P_1=0,4578$). Ступінь насичення трансферину залізом був у середньому вищим у хворих ($33,6 \pm 10,0\%$) ніж в групі

порівняння ($25,6 \pm 6,0\%$) з досить високою статистичною вірогідністю ($P_1=0,9418$). У групі пацієнтів з гліомами головного мозку спостерігалась статистично вірогідна кореляція між концентрацією заліза феритину і білка трансферину в цільній крові ($r=0,7676$; $p=0,044$) та концентрацією заліза трансферину в плазмі крові ($r=0,7617$; $p=0,047$). Статистично вірогідну негативну кореляцію виявлено між концентрацією білка трансферину в цільній крові і концентрацією заліза трансферину, асоційованого з форменими елементами крові ($r=0,9976$; $p=0,044$).

Відомо, що білок феритин має тенденцію накопичуватись у плазмі крові при злоякісних новоутвореннях різного походження [65]. Згідно з нашими спостереженнями, у пацієнтів з гліальними пухлинами головного мозку вміст заліза у складі феритину в цільній крові (36 ± 17

Таблиця 1. Показники обміну негемового заліза (концентрація заліза у складі трансферину $[T\phi-Fe]$, концентрація білка трансферину $[T\phi]_{кр}$, ступінь насичення трансферину $\%T\phi_{кр}$, концентрація заліза у складі феритину $[\Phi m-Fe]$, визначені в цільній крові і плазмі крові пацієнтів з гліальними пухлинами головного мозку, і відповідні дані порівняння, одержані в групі здорових дорослих ($M \pm \delta(m)$).

Середовище	Параметр	Пацієнти (n=9)	Група порівняння (n=12)	Патологічні зміни параметра	P_1
Цільна кров	Вік, років	49±11	44±12	N	0,7968
	Hb, г/л	138±14	137±15	N	0,4150
	Ht	0,45±0,03	0,47±0,06	N	0,6532
	$[T\phi-Fe]_{кр}$, мкМ	19,5±2,9 (0,96)	15,3±2,9 (0,85)	↑	0,9921
	$[T\phi]_{кр}$, мкМ	29,8±6,3 (2,1)	30,7±8,1 (2,3)	N	0,2988
	$\%T\phi_{кр}$, %	33,6±10 (3,3)	25,6±6,0 (1,7)	↑	0,9418
	$[\Phi m-Fe]_{кр}$, мкМ	36±17 (5,8)	42±25 (7)	N	0,4441
Клітини крові	$[T\phi-Fe]_{фек}$, мкМ	7,5±6,1 (2,0)	5,7±3,2 (0,9)	N	0,4578
Плазма крові	$[T\phi-Fe]_{пл}$, мкМ	29,9±4,7 (1,6)	24,3±3,6 (1,1)	↑	0,9946
	$[\Phi m-Fe]_{пл}$, мкМ	42±18 (6)	42±47 (14)	N	0,1294

↑ — зростання, N — в межах інтервалу порівняння.

мкМ) і плазмі крові (42 ± 18 мкМ) близький до відповідних показників у групі здорових людей (42 ± 25 мкМ і 42 ± 47 мкМ). Концентрація заліза феритину значно (в 3—4 рази) і статистично вірогідно вища в пухлинній тканині (135 ± 129 мкМ) і перифокальній зоні I (182 ± 162 мкМ) порівняно із зоною II, віддаленою від пухлини (50 ± 21 мкМ), та вища за концентрацію заліза феритину в крові і плазмі крові тих самих пацієнтів (табл. 2). Інакше кажучи, пухлинні тканини відрізняються від нормальних (здорових) тканин і крові значно підвищеною концентра-

цією заліза феритину. Статистично вірогідна кореляція спостерігається між концентрацією білка трансферину в цільній крові і концентрацією заліза феритину в пухлинній тканині мозку ($r=0,9981$; $p=0,040$).

Концентрація “лабільного” заліза вища в пухлинній тканині ($15,6 \pm 8,9$ мкМ) і перифокальній зоні I ($18,2 \pm 4,2$ мкМ) порівняно з концентрацією у перифокальній зоні II, віддаленій від пухлини ($6,6$ мкМ), в цільній крові ($6,5 \pm 1,4$ мкМ) і плазмі крові ($< 5,9$ мкМ). Виявлена різниця є статистично вірогідною (див. табл. 2). Висо-

Таблиця 2. Концентрація заліза у складі феритину [$\Phi m-Fe$] і заліза, здатного до хелатування з десферіоксаміном В [$Д\phi-Fe$], в крові, пухлинній тканині, перифокальній зоні I і перифокальній зоні II головного мозку пацієнтів з гліальними пухлинами цієї локалізації ($M \pm \delta$). У данному випадку P_1 — значення нормалізованої вірогідності міри відстані параметра від відповідних даних, визначених в крові тих самих хворих

Параметр	Кров	Пухлинна тканина	Перифокальна зона I	Перифокальна зона II
[$\Phi m-Fe$], мкМ	36 ± 17	135 ± 129	182 ± 162	50 ± 21
Зміни параметра відносно значень у цільній крові пацієнтів	—	↑	↑	N
P_1	0	0,9673	0,9889	0,6714
[$Д\phi-Fe$], мкМ	$6,5 \pm 1,4$	$15,6 \pm 8,9$	$18,2 \pm 4,2$	$6,6$
Зміни параметра відносно значень у цільній крові пацієнтів	—	↑	↑	N
P_1	0	0,9687	0,9999	0,0286

↑ — зростання, N — у межах інтервалу порівняння

ка концентрація заліза в перифокальній зоні I може пояснюватись підвищеною потребою в ньому у ділянці росту пухлини. Статистично значуща кореляція спостерігається між концентрацією заліза у складі феритину і рівнем заліза, здатного до хелатування в пухлинній тканині мозку ($r=0,9989$; $p=0,030$), що узгоджується з уявленням про роль феритину в контролюванні “лабільного” пула заліза [52].

У пошуку нових підходів та інформативних параметрів для діагностики гліальних пухлин головного мозку ми проводили сукупний статистичний аналіз відстані між вибірками експериментальних даних і даних порівняння, які простежувались у групі здорових людей, за параметрами обміну негемового заліза в організмі. В табл. 3 наведено відстань Мехалобіса K_1 і нормалізовану відстань P_1 між експериментальними даними у пацієнтів з гліальними пухлинами мозку і даними порівняння як результат сукупного розгляду восьми параметрів обміну негемового заліза. Наведено 18 комбінацій параметрів з нормалізованою відстанню між групами даних P_1 0,99 із загальної кількості 2^8 можливих комбінацій. Високі (близькі до 1) значення P_1 і збільшення відстані між вибірками даних при сукупному розгляді факторів порівняно з одержаними при розгляді кожного із факторів окремо вказують на інформативність

параметрів обміну негемового заліза і ефективність багатофакторного підходу для оцінки різниці між групами даних. Нормалізована відстань між вибірками залежить від комбінації параметрів обміну негемового заліза і може бути використана як суттєвий параметр при побудові моделей оцінки ризику виникнення гліальних пухлин головного мозку у людини.

Таким чином, одержані нами дані свідчать, що пацієнтам з гліальними пухлинами мозку притаманна гіперферемія (підвищення концентрації заліза у складі трансферину в цільній крові і плазмі крові та ступеня насичення трансферину, визначеного в цільній крові), в той час як гіпоферемія (зниження концентрації заліза трансферину і ступеня насичення трансферину у сироватці крові) виявляється при деяких неоплазіях внутрішніх органів і крові людини [31, 65] та при експериментальних гліальних пухлинах мозку у щурів [49]. Постає питання про перевантаження організму залізом як фактор ризику виникнення гліальних пухлин головного мозку людини і генетично обумовлену схильність до розвитку гліальних пухлин мозку, можливо пов'язану з мутаціями в HFE- локусі.

Той факт, що тканини пухлини і тканини перифокальної зони мозку, прилеглої до пухлини, в групі пацієнтів з гліомами головного мозку збагачені на залізо у складі феритину і

Таблиця 3. Відстань Мехалонобіса D_I і нормалізована відстань P_I між експериментальними даними (n=8) і даними порівняння (m=12) як результат сукупного розгляду восьми параметрів обміну негемового заліза: $[Tf-Fe]_{кр}$, $[Tf-Fe]_{пл}$, $[Tf-Fe]_{фекс}$, $[Tf]_{кр}$, $\%Tf_{кр}$, $[Фт-Fe]_{кр}$, $[Фт-Fe]_{пл}$, $[Фт-Fe]_т$, визначених у пацієнтів з гліальними пухлинами головного мозку і групі здорових дорослих (наведено комбінації з $P_I > 0,99$ із 2⁸ можливих комбінацій факторів)

Випадок	Відстань Мехалонобіса D_I	Нормалізована відстань P_I
1000 0001	4,234231	0,997368
0100 0000	2,584444	0,996443
0100 0001	3,764323	0,995749
1000 0000	2,259114	0,994285
0110 0001	4,684360	0,993613
10000101	4,674421	0,993559
11000001	4,650462	0,993428
10100001	4,426074	0,992040
10111000	5,846166	0,991916
10000011	4,374987	0,991680
10010001	4,302353	0,991135
11000000	3,089308	0,991062
10100000	3,080177	0,990967
01010000	3,053747	0,990687
10001001	4,234624	0,990591
11011000	5,615613	0,990556
01000010	3,019803	0,990312
10011000	4,189304	0,990206

Примітка. $[Фт-Fe]_т$ — концентрація заліза феритину в пухлинній тканині порівняно з концентрацією заліза феритину в цільній крові; інші параметри ті ж, що й у табл. 1.
Цифра “1” в колонці “Випадок” означає, що параметр включено в комбінацію факторів; “0” — параметр вилучено.

“лабільне” залізо, дає підстави вважати, що заслуговує на увагу тестування хелаторів заліза [63] як потенційних антипроліферативних агентів. Відомо, що деякі хелатори заліза значно інгібують ріст пухлинних клітин *in vitro* і мають значну протипухлинну активність *in vivo* [9, 28, 55]. Синтезовано хелатори заліза, здатні проникати крізь бар’єр кров—мозок [24], показано також ефективність десферіоксаміну В щодо зменшення накопичення заліза в центральній нервовій системі [47].

Виявлені нами особливості обміну негемового заліза в організмі можуть бути корисними для діагностики гліальних пухлин головного мозку людини. При цьому як суттєвий параметр моделей оцінки ризику захворювання може бути використана нормалізована відстань між вибірками даних за сукупністю параметрів обміну негемового заліза.

Висновки. 1. Пацієнтам з гліальними пухли-

нами головного мозку притаманна гіперферемія, що проявляється статистично вірогідним підвищенням концентрації заліза трансферину в крові і плазмі крові та ступеня насичення трансферину, визначеного в цільній крові.

2. У пухлинній тканині мозку і прилеглий до неї перифокальній зоні у пацієнтів з гліальними пухлинами головного мозку значно і статистично вірогідно підвищується концентрація заліза у складі феритину (гемосидерину) порівняно з концентрацією депонованого заліза у перифокальній зоні, віддаленій від пухлини, і цільній крові.

3. Виявлені особливості метаболізму заліза вказують на нові, потенційно ефективні підходи до ранньої діагностики гліальних пухлин головного мозку з урахуванням низки параметрів обміну заліза в організмі і терапії з використанням хелаторів заліза як антипроліферативних агентів.

4. Необхідно поставити питання про переваження організму людини залізом як фактор ризику щодо можливого виникнення гліальних пухлин головного мозку і про генетично обумовлену схильність людей до розвитку гліальних пухлин головного мозку, асоційовану з гомо- чи гетерозиготністю в HFE-локусі.

Список літератури

1. Дудченко Н.А., Михайлик О.М. Визначення в біологічних тканинах концентрації заліза, що хелатується, методом спектроскопії електронного спінового резонансу // Укр. біохім. журн. — 1999. — Т. 71, №3. — С. 122—127.
2. Зозуля Ю.П., Черченко А.П., Михайлик О.М. та ін. Особливості розподілу заліза у складі феритину та низькомолекулярних комплексів у різних ділянках мозку // Доповіді НАН України. — 1998. — №2. — С. 194—200.
3. Копанев В.А., Гинсбург Е. Х., Семенова В. Н. Методы вероятностной оценки токсического эффекта. — Новосибирск, 1988.
4. Левина А.А., Андреева А.П., Цибульська М.М. та ін. К вопросу об общей железосвязывающей способности трансферрина и гиперсидеремиях // Гематология. — 1992, №4. — С. 13—16.
5. Aisen P., Pinkowitz R.A., Leibman A. EPR and other studies of the iron-binding sites of transferrin / Ann. N. Y. Academy Sci. — 1973. — V.222, N.12. — P. 337—346.
6. Barja de Quiroga G., Perez-Campo R., Lopez-Torres M. Antioxidant defences and peroxidation in liver and brain of aged rats // Biochem. J. — 1990. — V. 272. — P. 247—250.
7. Baynes R.K. Iron deficiency // Iron metabolism in health and disease. — London, UK: Saunders Co Ltd, 1994. — P.189—225.
8. Beard J.L., Connor J.R., Jones B.C. Iron in the brain // Nutr. Rev. — 1993. — V. 51. — P. 157—170.
9. Brodie C., Siriwardana G., Lucas J. та ін. Neuroblastoma sensitivity to growth inhibition by deferoxamine: evidence for a block in G1 phase of the cell cycle // Cancer Res. — 1993. — V. 53, N17. — P. 3968—3975.
10. Connor J.R., Fine R.E. The distribution of transferrin immunoreactivity in the rat central nervous system // Brain Research. — 1986. — V.368. — P.319—328.
11. Connor J. R., Menzies S. L., St. Martin S. M. та ін. Cellular distribution of transferrin, ferritin, and iron in normal and aged human brains // J. Neurosci. Res. — 1990. — V. 27. — P. 5995—611.
12. Connor J.R. Proteins of iron regulation in the brain in Alzheimer's disease // Iron and human disease / Ed. R. B. Lauffer. — Florida, USA: CRC Press Inc., 1993- P. 365—393.
13. Connor J. R. Cellular and Regional maintenance of iron homeostasis in the brain: normal and diseased states // Iron in central nervous system disorders / Eds. P. Riederer, M.B.H. Youdim. — N.-Y., USA: Springer-Verlag, 1993. — P. 1—18.
14. Cooper C. E., Brown G. C. The interaction between nitric oxide and brain nerve terminals as studied by electron paramagnetic resonance // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1995. — V. 1212 — P. 404—412.
15. Krayner B., Burger P., Hurvita B. та ін. Reduced signal intensity on MR images of thalamus and putamen in Multiple sclerosis: increased iron content // Amer.J.N.R. — 1987. — V.8 — P. 413—419.
16. Kurken M., Neubauer F., Ehgelhardt R. та ін. Iron overload in longterm survivors after bone marrow transplantation // Abstract of an oral report at the World Congress on Iron metabolism BIKIRkN'99 (May 23—28). — Sorrento, Italy, 1999. — P. 110.
17. Kwork A. J., Schon E. A., Herbert J. Nonidentical distribution of transferrin and ferric iron in human brain // Neuroscience. 1988. — V. 26. — P. 333—345.
18. Kwork A.J., Lawler G., Zybert P.A., Ksman M., Wilson N and Barkai A.I. An autoradiographic study of the uptake and distribution of iron by the brain of the young rat // Brain Res. — 1990. — V.518. — P.31—39.
19. Evans P.H. Free radicals in brain metabolism and pathology // Brit. Med. Bull.- 1993.- V. 49.- P.577—587.
20. Feder J.N., Penny K.M., Ivrinki A. та ін. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A- 1998. — V. 95, N4 — P. 1472—1477.
21. Friden P.M. Receptor mediated transport of peptides and proteins across the blood-brain barrier // The blood-brain barrier / Ed. W. M. Pardridge. — 1993 — P.229—247.
22. Gutteridge J.M.C. Iron and oxygen radicals in brain. // Ann. Neurol.- 1992.- V. 32.- P.16—21.
23. Gelman B.B., Rodrigua-Wolf M.S., Wen J. Siderotic cerebral macrophages in the acquired immunodeficiency syndrom // Arch. Pathol. Lab. Med. — 1992. — V.116. — P.509.
24. Habgood M.K., Liu Z.K., Kehkordi L.S. та ін. Investigation into the correlation between the structure of hydroxypyridinones and blood-brain barrier permeability // Biochem. Pharmacol. — 1999. — V. 57, N11. — P. 1305—1310.
25. Halliwell B. кxygen radicals as key mediators in neuronal disease: fact or fiction // Ann. Neurol.- 1992.- V.32.- P. 10—15.
26. Hallgren B., Sourander P. The effect of age on the non-haemin iron in the human brain // J. Neurochem. — 1958. — V.3. — P.41—51.
27. Harris J. G. H., Grimaldi J. E., Aushalom K. K.

- Excess Spin and the Dynamics of Antiferromagnetic Ferritin // *Cond-mat/9904051* (April 2, 1999). — 1999. — <http://www.laul.gov>.
28. *Head J.F., Wang F., Elliott R.L.* Antineoplastic drugs that interfere with iron metabolism in cancer cells // *Adv. Enzyme Regul.* — 1997. — V. 37. — P. 147—169.
29. *Hershko C.G., Graacham G.W., Bates E.A.* Non-specific serum iron in talassemia: An abnormal serum iron fraction of potential toxicity // *British J Haematology.* — 1978. — V.40. — P.255—263.
30. *Herrinton L.J., Friedman G.K., Baer K. ma in.* Transferrin saturation and risk of cancer // *Am. J. Epidemiol.* — 1995. — V. 142. — P. 692—698.
31. *Huges N. R.* Serum transferrin and ceruloplasmin concentrations in patients with carcinoma, melanoma, sarcoma and cancers of haematopoietic tissues // *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* — 1972. — V. 50. — P. 97—107.
32. *Hulet S.W., Hess E.J., Kebinsky W. et al.* Characterization and distribution of ferritin binding sites in the adult mouse brain. *JNeurochem.* — 1999. — V. 72. — P. 868—874.
33. *Hulet S.W., Powers S., Connor J.R.* Kistribution of transferrin and ferritin binding in normal and multiple sclerotic human brains // *J. Neurol. Sci.* — 1999. — V. 165, N.1. — P. 48—55.
34. *Jacobs A.* Low molecular weight iron transport compounds // *Blood.* — 1977. — V.50. — P.433—439.
35. *Jellinger K., Kienzl E.* Iron deposits in brain disorders // *Iron in central nervous system disorders / Eds. P. Riederer, M.B.H.Youdium.* — N.-Y., USA: Springer-Verlag, 1993. — P. 19—36.
36. *Jellinger K.* Pathogenese und Pathophysiologie der Parkinson-Krankheit // *Neuropsychiatrie.* — 1993. — V. 7. — P. 29—37.
37. *Jordan I., Kaplan J.* The mammalian transferrin independent iron transport system may involve a surface ferrireductase activity. // *Biochem. J.* — 1994. — V. 302. — P. 875—879.
38. *Kaneko Y., Kitamoto T., Tateishi J., Yamaguchi K.* Ferritin immunohistochemistry as a marker for microglia // *Acta Neuropathol.* — 1989. — V.79. — P.129—136.
39. *Knekt P., Reunanen A., Takkinen H. ma in.* Body iron stores and risk of cancer // *Int. J. Cancer.* — 1994. — V. 56. — P. 379—382.
40. *Kozlov A., Yegorov K., Vladimirov Y., Azizova K.* Intracellular free iron in liver tissue and liver homogenate — studies with electron-paramagnetic resonance on the formation of paramagnetic complexes with desferal and nitric oxide // *Free Rad. Biol. Med.* — 1992. — V. 13. — P. 9 — 16.
41. *Lalo U.V., Pankratov Y.V., Mikhailik K.M.* Steady magnetic fields effect on lipid peroxidation kinetics // *Redox report.* — 1994. — V. 1. — P. 71—75.
42. *Link G., Saada A., Pinson A. ma in.* Mitochondrial respiratory enzymes are a major target of iron toxicity in rat heart cells // *J. Lab. Clin. Med.* — 1998. — V. 131. — P. 466- 474.
43. *Mann S., Wade V. J., Kickson K. P. E. ma in.* Structural specificity of hemosiderin iron cores in iron-overload diseases // *Febbs Letters.* — 1988, V. 234. — P. 67—72.
44. *Martell L.A., Agrawal A., Ross K.A. ma in.* Efficiency of transferrin receptor-targeted immunotoxins in brain tumor cell lines and pediatric brain tumours // *Cancer Research.* — 1993. — V.53, N6. — P.1348—1353.
45. *Mikhailik K. M., Razumov K. N., Kudchenko A. K. ma in.* Use of ESR, Mossbauer spectroscopy and SQUID-magnetometry for the characterization of magnetic nanoparticles on the base of metal iron and its implications in vivo // *Scientific and clinical applications of magnetic carriers / Eds. U. Hafeli та in.* — N.-Y.: Plenum Press, 1997. — P. 277—298.
46. *Milman N.* Iron status markers in hereditary haemochromatosis: distinction between individuals being homozygous and heterozygous for the haemochromatosis allele // *Eur J Haematol.* — 1991. — V.47, N4. — P. 292—298.
47. *Miyajima H., Takahashi Y., Kamata T. ma in.* Use of desferrioxamine in the treatment of aceruloplasminemia // *Ann. Neurol.* — 1997. — V. 41. — P. 404—407.
48. *Mykhaylyk K. M., Kudchenko N. A.* Nonheme iron determination in biological samples on evidence derived from electron spin resonance data // *Metal Ions in Biology and medicine. V. 5 / Eds. Ph. Collery та in.* — Paris: John Libbey Eurotext, 1998.- P.3—7.
49. *Mykhaylyk K. M., Cherchenko A. P., Kudchenko N. A. ma in.* Peculiarities of nonheme iron metabolism upon experimental modelling of rat glial brain tumour. Perspectives for diagnosis and treatment // *Abstracts of the 10th International Symposium on Trace Elements in Man and Animals, TEMA10* (May, 2—7, 1999). — Evian, France. — P.141.
50. *Mykhaylyk K.M., Kudchenko N.A., Krlova T.A. ma in.* Assesment of Nonheme Iron Status in the Whole Blood, Plasma and Serum: Healthy Neonates and Patients with Iron kverload // *Abstracts of the 10th International Symposium on Trace Elements in Man and Animals, TEMA10* (May 2—7, 1999).— Evian, France, 1999. — P. 404.
51. *кстахе J.N., Schneider Y.J., Trouet A. ma in.* Iron uptake and utilization by mammalian cells. 1. Cellular uptake of transferrin and iron // *Trends Biochem. Sci.* — 1983. — V. 8. — P.217.
52. *Picard V., Epsztein S., Santambrogio P. ma in.* Role of ferritin in the control of the labile iron pool in murine erythroleukemia cells // *J. Biol. Chem.* — 1998. — V. 273. — P. 15382—15386.
53. *Randall B. Lauffer (Ed.).* Iron and Human Kisease — Boca Raton, USA: CRC Press, 1992. — 518 p.

54. *Recht L., Torres C.K., Smith T.W. et al.* Transferrin receptor in normal and neoplastic brain tissue: implications for brain-tumor immunotherapy // *J. Neurosurg.* — 1990. — V. 72. — P.941—945.
55. *Richardson K. R., Milnes K.* The potential of iron chelators of the pyridoxal isonicotinoyl hydrazone class as effective antiproliferative agents II: the mechanism of action of ligands derived from salicylaldehyde benzoyl hydrazone and 2-hydroxy-1-naphthylaldehyde benzoyl hydrazone // *Blood.* — 1997. — 89, N. 8. — P. 3025—3038.
56. *Seligman P.A., Schleicher R.B., Srinivardana G. et al.* Effects of agents that inhibit cellular iron incorporation on bladder cancer cell proliferation // *Blood.* — 1993. — V. 82, N. 5. — P.1608—17.
57. *Sofic E., Riedeter P., Heisen H. et al.* Increased iron (III) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain // *J. Neural Transm.* — 1988. — V.74. — P.199.
58. *Spatz H.* Über den Eisennachweis im Gehirn, besonders in Zentren des extrapyramidalen-motorischen Systems // *Z. Ges. Neurol. Psychiatr.* — 1922. — V.77. — P.261—290.
59. *Stevens R.G., Jones K.Y., Micozzi M.S. et al.* Body iron stores and the risk of cancer // *New Eng. J. Med.* — 1988. — P. 1047—1051.
60. *Stevens I., Petersen K., Grodd W. et al.* Superficial siderosis of the central nervous system // *Arch. Psych. Clin. Neurol.* — 1991. — V.241. — P.57—60.
61. *Ten Kate J., Wolthuis A., Westerhuis B. et al.* The iron content of serum ferritin: physiological importance and diagnostic value // *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* — 1997. — V. 35, N. 1. — P. 53—56.
62. *Tilbrook G.S., Hider R.C.* Iron chelators for clinical use // *Met. Ions Biol. Syst.* — 1998. — V. 35. — P. 691—730.
63. *Torti S.V., Torti F.M., Whitman S.P. et al.* Tumor Cell Cytotoxicity of a Novel Metal Chelator // *Blood.* — 1998. — V. 92, N4. — P. 1384—1389.
64. *Waheed A., Parkkila S., Zhou X.Y. et al.* Hereditary hemochromatosis: effects of C282Y and H63K mutations on association with beta2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in CxS—7 cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 1997. V.94, N23. — P.12384—12389.
65. *Weinberg E. K.* Iron withholding: a defence against infection and neoplasia // *Physiol. Rev.* — 1984. V.64. — P. 65—102.
66. *Youdim M.B.H., Ben-Shachar K.* Minimal brain damage induced by early iron deficiency modified dopaminergic neurotransmission // *Isr. J. Med.Sci.* — 1987. V.23. — P.19—25.

Особенности обмена негемового железа в организме больных с глиомами головного мозга

Зозуля Ю.А., Михайлик О.М., Розуменко В.Д., Черченко А.П., Дудченко Н.А., Лебедев Е.А., Шурунов Б.С.

Показатели обмена негемового железа определены в крови, плазме крови и тканях мозга пациентов с глиальными опухолями мозга методом количественной спектроскопии электронного спинового резонанса. Выявлены гиперферемия, или статистически достоверное повышение концентрации железа трансферрина в крови и плазме крови, а также степени насыщения железом трансферрина в цельной крови, по отношению к данным сравнения, и повышение концентрации железа в составе ферритина (гемосидерина) в опухолевой ткани мозга и ткани перифокальной зоны, прилежащей к опухоли, по сравнению с концентрацией депонированного железа в перифокальной зоне, отдаленной от опухоли. Обнаруженные особенности метаболизма железа могут быть применены в ранней диагностике опухолей мозга с использованием набора параметров обмена железа и терапии с использованием хелаторов железа как антипролиферативных агентов. Должен быть поставлен вопрос о перегрузке организма железом как факторе риска развития глиальных опухолей мозга и генетической предрасположенности к глиальным опухолям головного мозга, ассоциированной с гомо- и гетерозиготностью в HFE- локусе.

Peculiarities of nonheme iron metabolism in patients bearing glial brain tumours

Zozulya Yu., Mykhaulyk O., Rozumenko V., Cherchenko A., Kudchenko N., Lebedev E., Shurunov B.

Nonheme iron indices in the blood and brain tissues have been determined in a group of patients bearing glial brain tumours by quantitative electron spin resonance spectroscopy. Hyperferremia (statistically significant increase in transferrin iron concentration in the blood and plasma as well as in transferrin saturation in the blood relative to the reference data) and also an increase in ferritin iron concentration in the tumour and peritumoral brain tissue relative to respective values determined in the blood and in the adjacent apparently normal brain tissue are characteristics of malignant glial brain tumours in human beings. The revealed peculiarities of nonheme iron metabolism point to the new potentially useful approaches to glial brain tumour diagnosis using a set of iron exchange parameters and therapy using iron chelators as promising antiproliferative agents. The question have to be arisen about iron overload as a risk factor for glial brain tumours in human beings and the genetic predisposition for glial brain cancer associated with homo- or heterozygosity at the HFE locus.