

Аналіз мутацій C282Y та H63D гена спадкового гемохроматозу HFE серед населення України та хворих з гліальними пухлинами мозку

В. М. Пампуха, В. Д. Розуменко¹, А. П. Черченко¹, Л. А. Лівшиць

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

¹Інститут нейрохірургії АМН України
Вул. Мануїльського, 32, Київ, 03053, Україна

E-mail: livshits@imbg.org.ua

Досліджено розповсюдженість мутацій C282Y і H63D гена спадкового гемохроматозу HFE серед населення різних регіонів України та хворих з гліальними пухлинами мозку. Виявлено, що частота поширення мутації C282Y в популяції України складає 2,5 %, у тому числі в східному регіоні — 2,9 %, центральному — 2,0 %, західному — 2,5 %, у популяції кримських татар — 1 %. Частота поширення мутації H63D в Україні складає 17 %. Серед 86 хворих з пухлинами мозку різної етіології спостерігається тенденція до зниження кількості гетерозигот з мутацією H63D.

Вступ. Залізо є життєво необхідним елементом для всіх живих організмів. Воно залучене до різних метаболічних процесів, найважливішими серед яких є транспорт кисню, синтез ДНК, транспорт електронів. В організмі існує складна система контролю метаболізму заліза, оскільки надлишкове його надходження призводить до утворення вільних радикалів і (за умов недостатньо контрольованої активації перекисного окислення мембранних ліпідів) до пошкодження тканин. Хвороби людини, пов'язані з порушенням обміном заліза, є досить поширеними і охоплюють широкий спектр патологій з різними клінічними проявами. За останні декілька років досягнуто значного прогресу в розумінні механізмів обміну заліза та його регуляції. Показано важливу роль у надходженні та накопиченні заліза в організмі білка гемохроматозу HFE [1], імпортера заліза Nramp2 [2—5], експортера заліза Ireg-1 (ferroportin 1, SCL40A1) [6], другого трансферинного рецептора Tfr2 [7, 8].

Найпоширенішим аутосомно-рецесивним захворюванням, пов'язаним з обміном заліза, є спадковий гемохроматоз, при якому спостерігається надлишкова абсорбція заліза в шлунково-кишково-

му тракту і прогресуюче накопичення його в тканинах організму, перш за все, у печінці, підшлунковій залозі, серці. Перевантаження залізом спричинює розвиток цирозу печінки, цукрового діабету, кардіоміопатій. За відсутності ефективних методів лікування хворі на гемохроматоз помирають найчастіше від цирозу або карциноми печінки.

У 1976 р. Симон та співавт. повідомили про асоціацію спадкового гемохроматозу з ділянкою HLA-A, тобто ген гемохроматозу був локалізований на короткому плечі хромосоми 6 [9]. У 1996 році ген спадкового гемохроматозу, названий HFE, було ідентифіковано в області br21.3 і встановлено, що він складається з семи екзонів [1]. Було також визначено, що кодований ним білок HFE налічує 343 амінокислотних залишки (а. з.) і має високу гомологію з молекулами області HLA класу 1. За структурою білок складається з екстрацелюлярної зв'язуючої пептид області (петлі альфа1 та альфа2), Ig-подібного домену (петля альфа3), трансмембранної ділянки та короткої цитоплазматичної послідовності. Подібно до протейнів HLA класу 1, білок HFE містить дисульфідний місток між доменами альфа2 та альфа3, який стабілізує просторову структуру [10].

У більшості хворих на спадковий гемохроматоз

виявляють дві мутації — C282Y (екзон 4) та H63D (екзон 2). Причому мутацію C282Y у гомозиготному стані виявляють у 60—100 % хворих. Інші пацієнти є компаунд-гетерозиготами за мутаціями, C282Y- та H63D-гетерозиготами або гомозиготами за мутацією H63D. У незначній частині хворих на спадковий гемохроматоз вищезазначених мутацій не знайдено [1, 11—18]. Мажорна мутація C282Y є результатом заміни G на A в позиції нуклеотиду 845 і зумовлює синтез тирозину замість цистеїну. Саме ця мутація руйнує дисульфідний місток між доменами альфа2 та альфа3 білка HFE і порушує його взаємодію з бета2-мікроглобуліном [1, 10, 19]. Друга мутація (H63D) є результатом заміни C на G і спричинює заміну гістидину на аспарагінову кислоту. Функціональна роль цієї мутації лишається невідомою, і на даний час вона розглядається як мутація з низькою пенетрантністю [20, 21].

Після відкриття гена HFE з'являються численні гіпотези та повідомлення щодо можливої асоціації мутацій в гені HFE і захворювань, при яких спостерігають накопичення заліза в тканинах. Обговорюється вплив мутацій в гені HFE на розвиток коронарної хвороби серця [22, 23], ревматоїдного артрити [24], шкіряної порфірії [25, 26], раку товстої кишки [27, 28], гострої мієлоїдної лейкемії [29, 30]. Більше 20 % хворих на цукровий діабет другого типу є носіями мутації C282Y [31]. Хворі на гемохроматоз за відсутності лікування можуть померти від раку печінки [32]. Гетерозиготні носії мутацій, які зазнали інфекції гепатитом B чи зловживали алкоголем, мають високий ризик захворіти на рак печінки [33]. Також показано, що носії мутації C282Y гена HFE в комбінації з гомозиготністю за мутацією Ser142Gly гена TFR мають підвищений ризик захворіти на рак грудей, рак товстої кишки [34, 35]. Нещодавно з'явилось повідомлення, що у хворих з гліальними пухлинами мозку спостерігають підвищену частоту мутації H63D [36].

Метою нашого дослідження був аналіз розповсюдженості мутацій C282Y та H63D гена HFE в популяціях різних регіонів України та вивчення асоціації носійства цих мутацій з розвитком злоякісних гліальних пухлин мозку.

Матеріали і методи. Зразки крові здорових донорів отримано на станціях переливання крові міст Києва, Львова, Кременчука Полтавської області та Алчевська Луганської області, зразки крові хворих з пухлинами головного мозку було надано Інститутом нейрохірургії АМН України. ДНК із зразків свіжої крові виділяли, згідно з методом, запропонованим Венертом та співавт. [37]. ДНК з крові з великими термінами давності виділяли за

допомогою стандартного методу — шляхом гідролізу лізатів клітин протеїназою K з наступною фенольною екстракцією.

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Perkin Elmer» («Cetus», США), а також на ампліфікаторах виробництва фірми «Біокон» (Росія) за загальним методом [38]. Реакційні суміші об'ємом 15—25 мкл містили: 67 мМ трис-НСІ (рН 8,8, 25 °С), 16,7 мМ (NH₄)₂SO₄, 6,7 мкМ ЕДТА, 2,5—4 мМ MgCl₂, 170 мкг/мл бичачого сироваткового альбуміну, 10 мМ β-меркаптоетанол, dNTP в концентрації 400 мкМ кожний, 1 мкг ДНК, 0,5 од. акт. термостабільної ДНК-полімерази, по 1·10⁻³ опт. од. кожного з олігонуклеотидних праймерів [39].

ПЛР проводили за наступною схемою: денатурація ДНК — 45 с, 94 °С; відпалювання праймерів — 45 с, 57—61 °С, елонгація — 1 хв, 72 °С. Продукти ампліфікації аналізували за допомогою електрофорезу в 1,5 %-му агарозному гелі. Для проведення рестрикційного аналізу продуктів ПЛР до проб додавали по 5—10 од. акт. ендонуклеаз рестрикції *RsaI* та *BclI* для аналізу мутацій C282Y та H63D відповідно. Продукти гідролізу ампліфікованих послідовностей аналізували за допомогою електрофорезу в 2 %-му агарозному гелі або у 8 %-му поліакриламідному гелі (співвідношення акриламід:бісакриламід — 29:1).

Результати і обговорення. Для виявлення частоти поширення мутації C282Y гена HFE в популяціях України нами було обстежено індивідів із східного (70 осіб), центрального (100 осіб) та західного (100 осіб) регіонів, а також з популяції кримських татар (100 осіб). Аналіз мутацій C282Y та H63D гена HFE наведено на рис. 1 і 2. За результатами наших досліджень, частота поширення мутації C282Y серед населення України становить: у східному регіоні — 2,9 %; в центральному — 2,0 %; в західному — 2,5 %, а в популяції кримських татар — 1 %. У загальній популяції частота розповсюдженості C282Y становить 2,5 %.

Для визначення повних генотипів гена HFE нами було здійснено аналіз частоти розповсюдженості мутації H63D серед 97 осіб із загальної популяції та серед 100 кримських татар. За отриманими нами даними, частота розповсюдженості цієї мутації в загальній популяції становить 17 %, а в популяції кримських татар — 10 %.

Як відомо, частота поширення мутацій C282Y та H63D гена HFE широко коливається в різних популяціях світу. Так, мутація C282Y відсутня у представників чорної раси, а в популяціях Азії зустрічається досить рідко. В Європі частота розповсюдження мутації C282Y варіює в значних ме-

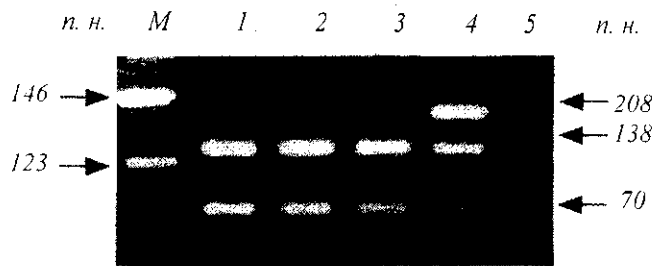


Рис. 1. Визначення мутації *H63D* гена *HFE* методом ПЛР/ПДРФ (2 %-й агарозний гель). Розщеплення продуктів ПЛР рестриктазою *BclI*: *M* — маркер молекулярної маси (Ladder 123 п. н.); 1—3 — індивіди без мутації; 4 — гетерозиготний носій мутації; 5 — негативний контроль ПЛР

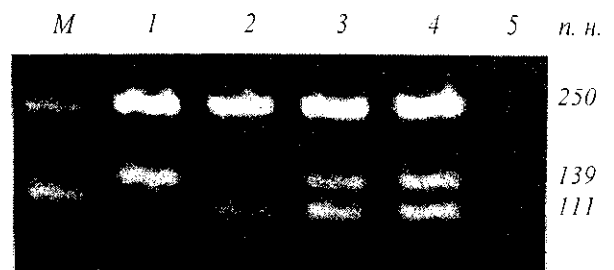


Рис. 2. Визначення мутації *C282Y* методом ПЛР/ПДРФ (2 %-й агарозний гель). Розщеплення продуктів ПЛР рестриктазою *RsaI*: *M* — маркер молекулярної маси (Ladder 123 п. н.); 1 — здоровий індивід; 2 — гомозиготний за наявністю мутації; 3—4 — гетерозиготні носії мутації; 5 — негативний контроль ПЛР

Генотипи за мутаціями *H63D* і *C282Y* гена *HFE* хворих з пухлинами головного мозку

Генотип	Хворі з гліобlastомами III—IV ступеня злоякісності, n = 35		Хворі з негліальними пухлинами мозку, n = 51		Контрольна група, n = 97	
	Кількість	Відсоток	Кількість	Відсоток	Кількість	Відсоток
C282Y/WILD	1	2,9	2	3,9	3	3,2
WILD/WILD	26	74,2	38	74,6	62	63,9
H63D/H63D	1	2,9	1	1,9	1	1,0
H63D/WILD	7	20,0*	10	19,6*	30	30,9*
C282Y/H63D	0	0,0	0	0,0	1	1,0

* $p = 0,08$

жах — від 1 % серед удмуртів до 14 % серед ірландців [40—42]. Мутацію *H63D* виявляють серед представників усіх рас і частота її поширення в різних популяціях сильно коливається. У європейців вона знаходиться в межах від 4,5 % у grenладців до 30 % серед басків [40—43]. Результати наших досліджень вказують на певні особливості поширення мутацій *C282Y* та *H63D* гена *HFE* серед населення різних регіонів України.

Враховуючи дані літератури щодо асоційованості порушень метаболізму заліза з онкологічними захворюваннями у людини, в тому числі у хворих з пухлинами головного мозку [44—48], для вивчення ролі мутацій гена спадкового гемохроматозу в нейроонкогенезі нами проаналізовано мутації *H63D* та *C282Y* гена *HFE* серед 86 нейроонкологічних хворих стаціонару Інституту нейрохірургії АМН України. В процесі постопераційного уточнення діагнозу шляхом морфологічних досліджень тканин видалених пухлин хворих було розподілено на дві групи: 1) 35 пацієнтів з гліальними злоякісними пухлинами головного мозку; 2) 51 — з пухлинами негліального походження. Контрольну

групу склали 97 здорових осіб. Генотипи обстежених осіб наведено в таблиці.

Встановлено, що як у загальній вибірці хворих з пухлинами головного мозку різного походження та ступеня злоякісності, так і у відібраній групі з морфологічно підтвердженим діагнозом злоякісних гліобlastом спостерігається тенденція до зниження розповсюдженості гетерозигот за мутацією *H63D* у порівнянні з контрольною групою ($p = 0,08$). Отримані нами дані не збігаються з результатами італійських дослідників [36], які виявили статистично вірогідну різницю між контрольною групою та хворими з гліобlastомами в бік підвищення розповсюдженості даного генотипу у групі хворих. Можливо, що такі якісні розбіжності обумовлені тим, що мутація *H63D* є лише фактором спадкової схильності, а не визначальним фактором онкогенезу, але ця проблема потребує подальшого дослідження. Таким чином, питання про роль мутацій гена *HFE* в розвитку гліальних пухлин мозку залишається відкритим і потребує комплексного вивчення мутацій гена і інших факторів, залучених до процесів регуляції обміну заліза на більш

чисельній групі хворих з морфологічно підтвердженим діагнозом гліобластом.

V. M. Pampukha, V. D. Rozumenko, A. P. Cherchenko, L. A. Livshits

Analysis of C282Y and H63D mutations of the hereditary haemochromatosis gene HFE among the Ukrainian population and patients with brain glial tumor

Summary

The research deals with the spreading of C282Y and H63D mutations of hereditary chromatosis gene HFE among the inhabitants of various regions of Ukraine as compared to the people with brain tumors. It was found that the frequency of C282Y mutation is 2.5 % within the whole population of Ukraine whereas it is 2.9 % for the eastern regions, 2 % for the central regions, 2.5 % for the western regions, and 1 % as for the Crimean Tatar population. The frequency of H63D mutation within the whole population is 17 %. As for the people suffering from brain tumors (86 patients investigated) a tendency of decreasing H63D-mutated heterozygotes has been shown.

В. М. Пампуха, В. Д. Разуменко, А. П. Черченко, Л. А. Лившиц

Аналіз мутацій C282Y і H63D гена наследственного гемохроматаза HFE среди населения Украины и больных с глиальными опухолями мозга

Резюме

Исследована распространенность мутаций C282Y и H63D гена наследственного гемохроматоза HFE среди населения различных регионов Украины и среди больных с опухолями мозга. Установлено, что частота встречаемости мутации C282Y в общей популяции Украины составляет 2,5 %, в том числе в восточном регионе — 2,9 %, центральном — 2,0 %, западном — 2,5 %, в популяции крымских татар — 1 %. Частота распространенности мутации H63D в Украине составляет 17 %. Среди 86 больных с опухолями мозга различной этиологии отмечена тенденция к снижению уровня встречаемости гетерозигот с мутацией H63D.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

- Feder J. N., Gnirke A., Thomas W., Tsuchihashi Z., Ruddy D. A., Basava A., Dormishian F., Domingo R., Jr., Ellis M. C., Fullan A., Hinton L. M., Jones N. L., Kimmel B. E., Kronmal G. S., Lauer P., Lee V. K., Loeb D. B., Mapa F. A., McClelland E., Meyer N. C., Mintier G. A., Moeller N., Moore T., Morikang E., Wolff R. K. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis // *Nature Genet.*—1996.—13.—P. 399—408.
- Fleming M. D., Trenor C. C., Su M. A., Foerzler D., Beier D. R., Dietrich W. F., Andrews N. C. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene // *Nature Genet.*—1997.—16.—P. 383—386.
- Gunshin H., Mackenzie B., Berger U. V., Gunshin Y., Romero M. F., Boron W. F., Nussberger S., Gollan J. L., Hediger M. A. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter // *Nature.*—1997.—388.—P. 482—488.
- Zoller H., Pietrangelo A., Vogel W., Weiss G. Duodenal metal-transporter (DMT-1, NRAMP-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis // *Lancet.*—1999.—353.—P. 2120—2123.
- Fleming R. E., Migas M. C., Zhou X., Jiang J., Britton R. S., Brunt E. M., Tomatsu S., Waheed A., Bacon B. R., Sly W. S. Mechanism of increased iron absorption in murine model of hereditary hemochromatosis: increased duodenal expression of the iron transporter DMT1 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1999.—96.—P. 3143—3148.
- Donovan A., Brownlie A., Zhou Y., Shepard J., Pratt S. J., Moynihan J., Paw B. H., Drejer A., Barut B., Zapata A., Law T. C., Brugnara C., Lux S. E., Pinkus G. S., Pinkus J. L., Kingsley P. D., Palis J., Fleming M. D., Andrews N. C., Zon L. I. Positional cloning of zebrafish ferroportin identifies a conserved vertebrate iron exporter // *Nature.*—2000.—403.—P. 776—781.
- Kawabata H., Yang R., Hiramata T., Vuong P. T., Kawano S., Gombart A. F., Koeffler H. P. Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family // *J. Biol. Chem.*—1999.—274.—P. 20286—20832.
- Camaschella C., Roetto A., Cali A., de Gobbi M., Garozzo G., Carella M., Majorano N., Totaro A., Gasparini P. The gene Tfr2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22 // *Nature Genet.*—2000.—25.—P. 14—15.
- Simon M., Bourel M., Fauchet R., Genetet B. Association of the HLA-A3 and HLA-B14 antigens with idiopathic hemochromatosis // *Gut.*—1976.—17.—P. 332—334.
- Waheed A., Parkkila S., Zhou X. Y., Tomatsu S., Tsuchihashi Z., Feder J. N., Schatzman R. C., Britton R. S., Bacon B. R., Sly W. S. Hereditary hemochromatosis: Effects of C282Y and H63D mutations on association with beta2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in cos-7 cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1997.—94.—P. 12384—12389.
- Beutler E., Gelbart T., West C., Lee P., Adams M., Blackstone R., Pockros P., Kosty M., Venditti C. P., Phatak P. D., Seese N. K., Chorney K. A., Ten Elshof A. E., Gerhard G. S., Chorney M. Mutation analysis in hereditary hemochromatosis // *Blood Cells Mol. Dis.*—1996.—22.—P. 187—194.
- Jazwinska E. C., Cullen L. M., Busfield F., Pyper W. R., Webb S. I., Powell L. W., Morris C. P., Walsh T. P. Haemochromatosis and HLA-H // *Nature Genet.*—1996.—14.—P. 249—251.
- Jouanolle A. M., Gandon G., Jezequel P., Blayau M., Campion M. L., Yaouanq J., Mosser J., Fergelot P., Chauvel B., Bouric P., Carn G., Andrieux N., Gicquel I., Le Gall J. Y., David V. Haemochromatosis and HLA-H // *Nature Genet.*—1996.—14.—P. 251—252.
- Carrella M., D'Ambrosio L., Totaro A., Grifa A., Valentino M. A., Piperno A., Girelli D., Roetto A., Franco B., Gasparini P., Camaschella C. Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients // *Amer. J. Hum. Genet.*—1997.—60.—P. 828—832.
- Cardoso E. M., Star P., Hagen K., Cabeda J. M., Esin S., de Sousa M., Hultcrantz R. Hfe mutations in patients with hereditary hemochromatosis in Sweden // *J. Int. Med.*—1998.—243.—P. 203—208.
- Rossi E., Henderson S., Chin C. Y. B., Olynyk J., Beilby J. P., Reed W. D., Jeffrey G. P. Genotyping as diagnostic aid in genetic haemochromatosis // *J. Gastroenterol. hepatol.*—1999.—14.—P. 423—426.
- Brissot T., Moirand R., Jouanolle A. M., Guyader D., Gall J.-Y., Deugnier Y., David V. A genotypic study of 217 unrelated probands diagnosed as genetic hemochromatosis on classical criteria // *J. Hepatol.*—1999.—30.—P. 588—593.
- Piperno A., Sampietro M., Pietrangelo A., Arosio C., Lupica L., Montosi G., Vergani A., Fraquelli M., Girelli D., Pasquero P., Roetto A., Gasparini P., Fargion S., Conte D., Camaschella C. Heterogeneity of hemochromatosis in Italy // *Gastroenterology.*—1998.—114.—P. 996—1002.

19. Feder J. N., Tsuchihachi Z., Irrinki A., Lee V. K., Mapa F. A., Morikang E., Prass C. E., Starnes S. M., Wolff R. K., Parkkila S., Sly W. S., Schatzman R. C. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts beta2-microglobulin interaction and cell surface expression // *J. Biol. Chem.*—1997.—272.—P. 14025—14028.

20. Barton J. C., Shih W. W. H., Savada-Hirai R., Acton R. T., Harmon L., Rivers C., Rothenberg B. E. Genetic and clinical description of hemochromatosis probands and heterozygotes: Evidence that multiple genes linked to the major histocompatibility complex are responsible for hemochromatosis // *Blood Cells, Molecules, and Disease.*—1997.—23, N 8.—P. 135—145.

21. Beutler E. The significance of the 187G (H63D) mutation in hemochromatosis // *Amer. J. Hum. Genet.*—1997.—61.—P. 762—764.

22. Rasmussen M. L., Folsom A. R., Catellier D. J., Tsai M. Y., Garg U., Eckfeldt J. H. A prospective study of coronary heart disease and the hemochromatosis gene (HFE) C282Y mutation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study // *Atherosclerosis.*—2001.—154, N 3.—P. 739—746.

23. Kelly C. Can excess iron increase the risk for coronary heart disease and cancer // *Nutr. Bull.*—2002.—27.—P. 165—179.

24. Li J., Zhu Y., Singal D. P. Hfe gene mutations in patients with rheumatoid arthritis // *J. Rheumatol.*—2000.—27, N 9.—P. 2074—2077.

25. Sampietro M., Piperno A., Lupica L., Arosio C., Vergani A., Corbetta N., Malosio I., Mattioli M., Fracanzani A. L., Cappellini M. D., Fiorelli G., Fargion S. High prevalence of the His63Asp HFE mutation in Italian patients with porphyria cutanea tarda // *Hepatology.*—1998.—27, N 1.—P. 181—184.

26. Bulaj Z. J., Philips J. D., AjokabR S., Franklin M. R., Griffen L. M., Guinee D. I., Edwards C. Q., Kushner J. P. Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda // *Blood.*—2000.—95, N 5.—P. 1565—1571.

27. Macdonald G. A., Tarish J., Whitehall V. J., McCann S. J., Mellick G. D., Buttenshaw R. L., Johnson A. G., Young J., Legett B. A. No evidence of increased risk of colorectal cancer in individuals heterozygous for the Cys282Tyr hemochromatosis mutation // *J. Gastroenterol. Hepatol.*—1999.—14, N 12.—P. 1188—1191.

28. Alties A., Gimferrer E., Capella G., Barcelo M. J., Baiget M. Colorectal cancer and HFE gene mutations // *Haematologica.*—1999.—84, N 5.—P. 479—480.

29. Gimferrer E., Nomdedeu J., Gich I., Barcelo M. J., Baiget M. Prevalence of hemochromatosis related HFE gene mutations in patients with acute myeloid leukemia // *Leuk. Res.*—1999.—23, N 6.—P. 597—598.

30. Dorak M. T., Burnett A. K., Worwood M., Sproul A. M., Gibson B. E. The C282Y mutation of HFE is another male-specific risk factor for childhood acute lymphoblastic leukemia // *Blood.*—1999.—94.—P. 3957—3958.

31. Kwan T., Leber B., Ahuja S., Carter R., Gerstein H. C. Patients with type2 diabetes have a high frequency of the C282Y mutation of the hemochromatosis gene // *Clin. Invest. Med.*—1998.—21, N 6.—P. 251—257.

32. Willis G., Wimperis J. Z., Lonsdale R., Fellows I. W., Watson M. A., Skipper L. M., Jennings B. A. Incidence of liver disease in people with HFE mutants // *Gut.*—2000.—46.—P. 401—404.

33. Fargion S., Stazi M. A., Fracanzani A. L., Mattioli M., Sampietro M., Tavazzi D., Bertelli C., Patriarca V., Mariani C., Fiorelli G. Mutation in the hfe gene their interaction with exogenous risk factors in hepatocellular carcinoma // *Blood Cells, Molecules, and Disease.*—2001.—27, N 2.—P. 505—511.

34. Beckman L. E., Van Landeghem G. F., Sikstrom C., Wahlin A., Markevarn B., Hallmans G., Lenner P., Athlin L., Stenling R., Beckman L. Interaction between haemochromatosis and transferrin receptor genes in different neoplastic disorders // *Carcinogenesis.*—1999.—20.—P. 1231—1233.

35. Van Landeghem G. F., Beckman L. E., Wahlin A., Markevarn B., Beckman L. Interaction between haemochromatosis and transferrin receptor genes in multiple myeloma // *Lancet.*—1998.—352.—P. 1285—1286.

36. Di Montemuros M. F., Tavazzi D., Salsano E., Piepoli T., Pollo B., Fiorelli G., Finocchiaro G. High frequency of the H63D mutation of the hemochromatosis gene (HFE) in malignant gliomas // *Neurology.*—2001.—57, N 7.—P. 1342.

37. Wehnert M., Herrmann F. H., Metzke H. Erste Ergebnisse bei der Genomischen Carrier Diagnostik in Risikosippen mit Haemophilie A und B in der DDR // *Z. Gesamte Inn. Med.*—1988.—43, N 16.—S. 441—444.

38. Saiki R. K., Gelfand D. H., Stoffel S. S., Scharf S. J., Higuchi R., Horn G. T., Mullis K. B., Erlich H. A. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase // *Science.*—1988.—239, N 8580.—P. 487—491.

39. Lynas C. A cheaper and more rapid polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for the detection of the HLA-H gene mutations occurring in hereditary hemochromatosis // *Blood.*—1997.—90.—P. 4235—4236.

40. Merryweather-Clarke A. T., Pointon J. J., Jouanolle A. M., Rohette J., Robson K. J. H. Geography of HFE C282Y and H63D mutations // *Genet. Testing.*—2000.—4, N 4.—P. 183—198.

41. Merryweather-Clarke A. T., Pointon J. J., Sherman J. D., Robson K. J. H. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations // *J. Med. Genet.*—1997.—4, N 4.—P. 275—278.

42. Ryan E., O'Keane C., Crove J. Hemochromatosis in Ireland and HFE // *Blood Cells, Molecules, and Disease.*—1998.—24, N 20.—P. 428—432.

43. Mortimore M., Merryweather-Clarke A. T., Robson K. J. H., Powell L. The haemochromatosis gene: A global perspective and implications for the Asia-Pacific region // *J. Gastroenterol. and Hepatol.*—1999.—14.—P. 838—843.

44. Connor J. R. Cellular and regional maintenance of iron homeostasis in brain tissue // *Iron in central nervous disorders.*—New-York: Springer, 1993.—P. 1—18.

45. Mykhaylyk O. M., Dudchenko N. A., Razumenko V. D., Cherchenko A. P., Dudchenko N. A. Glial brain tumor in patients is associated with hyperferremia in the blood, plasma, tumor and peritumoral brain tissue // *Mengem- und Spurenelemente.*—Leipzig: Harald Schubert, 1999.—P. 592—599.

46. Зозуля Ю. П., Михайлик О. М., Розуменко В. Д., Черченко А. П., Дудченко Н. О. Особливості обміну негемового заліза в організмі хворих з гліомами головного мозку // *Укр. нейрохірург. журн.*—2000.—№ 2.—С. 29—37.

47. Зозуля Ю. П., Михайлик О. М., Черченко А. П., Розуменко В. Д., Дудченко Н. О., Лебедєв Є. О., Шурунов Б. С. Особливості метаболізму негемового заліза при експериментальних гліальних пухлинах мозку щурів // *Журн. АМН України.*—2001.—7, № 1.—С. 3—21.

48. Mychaylyc O., Dudchenko N., Cherchenko A., Razumenko V. D., Zozulya Y. P. Peculiarities of nonheme iron metabolism upon glial brain tumors // *3rd Int. Symp. «On trace elements in human: new perspectives» Proc. book (4—6 Oct. 2001).*—New York, 2001.—P. 1100—1110.

УДК 577.213.3:616.831-006.484
Надійшла до редакції 12.03.03