

APLIKÁCIE MÖSSBAUEROVEJ SPEKTROMETRIE V ŠTÚDIU BIOLOGICKÝCH TKANÍV

IVANA BONKOVÁ^a, MAREK BUJDOŠ^a
a MARCEL MIGLIERINI^b

^a Ústav laboratórneho výskumu geomateriálov, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, ^b Ústav jadrového a fyzikálneho inžinierstva, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Ilkovičova 3, 812 19 Bratislava
ivana.bonkova@gmail.com, ugeol@fns.uniba.sk

Došlo 19.8.16, prepracované 24.8.17, prijaté 31.8.17.

Kľúčové slová: Mössbauerova spektrometria, železo, pečeň, slezina, mozog, feritín, ferihydrít

Obsah

1. Úvod
2. Železo v biozlúčeninách
 - 2.1. Hemoproteíny
 - 2.2. Fe-S proteíny
 - 2.3. Metaloproteíny
3. Štúdium biologických tkanív pomocou Mössbauerovej spektrometrie
4. Záver

1. Úvod

Mössbauerova spektrometria je experimentálnou metódou, ktorá sa používa pri skúmaní vlastností a zloženia rôznych tuhých látok a materiálov^{1,2}. Táto technika je založená na Mössbauerovom efekte, ktorý je fenoménom v rezonančnej fluorescencii³. Ide o jav založený na princípe bezdrážovej absorpcie alebo emisie jadrového γ -žiarenia, ktorý bol prvý raz pozorovaný na jadrách ¹⁹¹Ir (cit.^{1,2,4,5}). V priebehu niekoľkých rokov sa analytické možnosti Mössbauerovej spektrometrie uplatnili v širokej škále aplikácií, pretože táto experimentálna metóda poskytuje informácie o štruktúre, valenčnom stave a magnetických vlastnostiach študovaných látok¹. V súčasnosti poznáme vyše 43 prvkov s viac ako 100 prechodmi, na ktorých je možné pozorovať Mössbauerov jav, avšak z praktických dôvodov sa používa len približne 20 prvkov^{1,2}. Jedným z týchto prvkov je aj izotop ⁵⁷Fe, ktorý má široké použitie, najmä vďaka svojim vlastnostiam a výskytu v rôznych materiáloch.

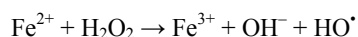
Mössbauerovej spektrometrii na jadrách ⁵⁷Fe sa venuje veľké množstvo vedeckých prác. V štúdiu biologických tkanív sa táto metóda zameriava najmä na zistenie štruktúrneho usporiadania železa v biozlúčeninách, ako aj na zistenie oxidačných stavov týchto zlúčenín^{6,7}.

2. Železo v biozlúčeninách

Železo je neušľachtilý kov s elektrónovou konfiguráciou [Ar]3d⁶4s², ktorý patrí do skupiny prechodných d-prvkov. Má malú elektrónovú afinitu a pomerne vysokú ionizačnú energiu, preto sa jeho atómy v zlúčeninách najčastejšie nachádzajú vo forme kationov. Železo môže nadobúdať rôzne oxidačné stavy (od –II do VI), pričom najtypickejšie sú oxidačné stavy Fe^{II} (d⁶) a Fe^{III} (d⁵) (cit.^{8,9}).

Vo vodných roztokoch sa ión Fe²⁺ samovoľne oxiduje molekulárnym kyslíkom na Fe³⁺ za vzniku Fe(OH)₃ (cit.^{9,10}). V dôsledku toho je maximálna rozpustnosť Fe iónov v oxidačnom prostredí, ako sú napríklad extracelulárne tekutiny, obmedzená konštantou rozpustnosti produktu Fe(OH)₃. Železo je dobre rozpustné vo svojej redukovanej forme (Fe²⁺), avšak oveľa menej rozpustné vo svojej oxidovanej forme (Fe³⁺). Vzhľadom na nízku rozpustnosť Fe iónov v prítomnosti kyslíka boli organizmy nútené vyvinúť proteíny, ktoré sú schopné viazať Fe³⁺ a udržať ho termodynamicky stabilné, ale zároveň ho kineticky sprístupniť pre biologické procesy^{8,10}.

Pre živé organizmy predstavuje železo esenciálny prvok, ktorý hrá hlavnú úlohu v niektorých dôležitých procesoch, ako je transport kyslíka, jeho ukladanie a využívanie v oxidačno-redukčných reakciách, ale aj transport elektrónov vnútri buniek a syntéza DNA^{9,11}. Napriek tomu, že železo je v tele nenahraditeľné, jeho koncentrácia v biologických tkanivách musí byť prísne regulovaná, pretože nadmerné množstvo železa môže viesť k poškodeniu tkaniva a následnej tvorbe voľných radikálov, ktoré sú pre organizmus toxické. Železo sa v biologických tkanivách nachádza v oxidačných stavoch Fe^{II} a Fe^{III}. Takéto železo je viazané v cytochrómoch, prenášačoch kyslíka (hemoglobín a myoglobín), FeS proteínoch a niektorých enzýmoch. V živom organizme sa železo okrem týchto bunkových foriem nachádza aj vo forme, v ktorej nie je viazané na proteíny. Je to takzvané „non-protein-bound free iron“ alebo „voľné železo“. Akékoľvek uvoľnené Fe^{II} je hneď po uvoľnení chelatované zlúčeninami, ako je citrát alebo adenosín difosfát a takto vzniknuté „voľné železo“ sa podieľa na tvorbe vysoko reaktívnych foriem kyslíka (ROS – reactive oxygen species) rôznymi reakciami¹². Medzi najbežnejšie patrí Fentonova reakcia, v ktorej hydroxylové radikály vznikajú reakciou kationu Fe²⁺ s peroxidom vodíka¹³:



ROS sú extrémne silné oxidačné činidlá schopné spôsobiť nezvratné poškodenie buniek, zlyhanie orgánov a prípadne smrť¹³.

2.1. Hemoproteíny

Hemoproteíny tvoria prvú triedu proteínov, ktoré obsahujú železo. Železo vo vnútri týchto molekúl je viazané štyrmi atómami dusíka porfyrínovej molekuly. Porfyrín alebo hém je organická cyklická zlúčenina tvorená štyrmi pyrolovými kruhmi spojenými metylénovými mostíkmi⁹. Významnými hemoproteínmi sú hemoglobín a myoglobín, ktoré slúžia ako prenášače kyslíka. Myoglobín obsahuje jeden porfyrínový kruh, kde železo je v oxidačnom stave Fe^{II}. Hemoglobín obsahuje štyri porfyrínové kruhy s atómami Fe^{II}, v ktorom je centrálny atóm bez prítomnosti dikyslíka päťnásobne koordinovaný^{9,14}.

2.2. Fe-S proteíny

Druhú triedu bioorganických zlúčenín železa vytvárajú Fe-S proteíny⁹. Sú to vysokomolekulové zlúčeniny obsahujúce atómy železa, sulfidickú síru a síru viazanú v organickej časti molekuly (cysteín). Atóm Fe^{II} alebo Fe^{III} je v týchto zlúčeninách tetraédricky koordinovaný atómami síry. Tieto biokomplexy železa vystupujú vo všetkých formách života ako katalyzátory redoxných reakcií^{8,9,14}.

2.3. Metaloproteíny

Metaloproteíny sú osobitnou skupinou proteínov, ktoré majú vo svojej štruktúre ako kofaktor naviazaný nejaký kov alebo inú funkčnú skupinu⁹. Najznámejším metaloproteínom je feritín, ktorý bol objavený v prvej polovici 20. storočia¹⁵. Od jeho objavenia bolo publikovaných množstvo prác, ktoré boli zamerané na charakterizáciu jeho štruktúry. Molekula feritínu sa skladá z jadra a bielkovinového obalu. Pozostáva z 24 podjednotiek^{9,11}, pričom v jadre sa nachádza približne 4500 atómov železa viazaných ako Fe(O)OH a Fe(O)H₂PO₄ (cit. ^{9,11,14}). Vonkajší priemer feritínu je 12–13 nm a vnútorný priemer (priemer jadra) je približne 8 nm (cit. ^{9,10,15}). Kation Fe³⁺ sa z obalu uvoľňuje po redukcii na Fe²⁺ kyselinou askorbovou alebo inými organickými redukovadlami. Pri nadbytku železa v živom organizme sa feritín agreguje do väčších celkov. Tento celok sa nazýva hemosiderín a v organizme plní funkciu zásobnej formy železa.

3. Štúdium biologických tkanív pomocou Mössbauerovej spektrometrie

Vhodnou oblasťou pre aplikovanie Mössbauerovej spektrometrie je štúdium biologických tkanív. Od objavenia tejto metódy bolo publikovaných množstvo prác zameraných práve na biologické tkanivá. Prvá štúdia, v ktorej bola použitá Mössbauerova spektrometria, bola zazname-

naná v roku 1965. U. Gonser¹⁶ študoval vzorky molekúl hemoglobínu, O₂-hemoglobínu, CO₂-hemoglobínu, CO-hemoglobínu (pochádzajúci z červených krviniek) a molekuly hemínu a hematínu v kryštalickom stave. Parametre získané z Mössbauerových spektier meraných pri nízkych teplotách (5 K) ukazujú, že hodnoty kvadrupólového štiepenia pre hemoglobín sa pohybujú okolo 2,25 ± 0,05 mm s⁻¹ a pre hemín a hematín okolo 0,78 ± 0,03 mm s⁻¹.

G. R. Hoy a spol.¹⁷ skúmali pomocou Mössbauerovej spektrometrie vzorky hemoglobínu obohateného o ⁵⁷Fe. Výsledky získané z Mössbauerových spektier sa zhodujú s predchádzajúcimi prácami, čím demonštrovali tvrdenie, že chemické obohatenie nemá vplyv na výsledné parametre merania.

V ďalších rokoch sa použitie Mössbauerovej spektrometrie rozšírilo. Študovali sa baktérie, ochorenia krvi ako talasémia a malária¹⁸, vzorky pečene, sleziny, pankreasu a ďalších tkanív. Najčastejšie bola použitá Mössbauerova spektrometria na jadrách ⁵⁷Fe, no v niektorých prípadoch boli aplikované izotopy iných prvkov ako ¹²⁷I, ¹²⁹I, ⁶⁷Zn, ¹³³Cs (substituovaný na Na⁺ alebo K⁺) a ¹⁵¹Eu (substituovaný na Ca^{II})³.

Timothy G. St. Pierre a spol.^{19–21} zamerali svoje práce na štúdium štruktúry železa v biologických tkanivách. Pomocou Mössbauerovej spektrometrie analyzovali feritín a hemosiderín vo vzorkách pankreasu od pacientov postihnutých β-talasémiou/hemoglobínu E. Mössbauerova spektrometria potvrdila prítomnosť železa v oxidačnom stave Fe^{III}. Parametre získané zo spektier izolovaného feritínu ukázali, že železo sa v ňom nachádza vo forme minerálu, konkrétne ferihydritu (5Fe₂O₃·9H₂O). Nízko teplotné merania feritínu odhalili prítomnosť superparamagnetických Fe^{III} komponentov. Podľa výsledných hodnôt parametrov spektier hemosiderínu identifikovali v jeho jadre tri rôzne štruktúry železa – železo v nekryštalickej forme, železo vo forme ferihydritu a železo nachádzajúce sa v porušenej štruktúre goethitu¹⁹. V ďalšej štúdií sa zamerali na depozity oxidov železa vo vzorkách sleziny pacientov taktiež s β-talasémiou hemoglobínu E. V tejto práci porovnávali vzorky thajských a austrálskych pacientov, ktorí podstúpili alebo nepodstúpili výmenu krvi a chelátovú terapiu. Hyperjemné parametre Mössbauerových spektier poukázali na vysoko spinový stav Fe^{III} paramagnetických alebo superparamagnetických komponentov^{20,21}.

Mössbauerovej spektrometrii aplikovanej pri štúdiu železa v pečeni a slezine sa venovali M. I. Oshtrakh a spol.^{22,23}. Vo svojich dvoch predbežných štúdiách porovnávali ľudský feritín izolovaný z pečene, pečeň a slezinu zdravých kurčiat, pečeň a slezinu kurčiat s lymfatickou leukémiou a pečeň kurčiat s Marekovou chorobou. Z Mössbauerových spektier prvej štúdie zistili, že pečeň a slezina u kurčiat s lymfatickou leukémiou má nižší obsah železa ako u zdravých kurčiat, čo sa odrazilo na malých rozdieloch kvadrupólového štiepenia pri porovnávaní parametrov týchto vzoriek. V druhej štúdií zistili rozdiely v hodnotách kvadrupólového štiepenia a izoméneho posunu ľudského feritínu izolovaného z ľudské pečene

a pečene zdravých kurčiat. Mössbauerove parametre pečene zdravých kurčiat a kurčiat s Marekovou chorobou boli rovnaké. V oboch štúdiách sa potvrdila prítomnosť železa v oxidačnom stave Fe^{III} , pričom železo bolo vo forme feritínu.

W. Chua-Anusorn a spol.^{24,25} analyzovali pomocou Mössbauerovej spektrometrie pečene a sleziny dugonga (morský cicavec) a potkanov. Na základe nameraných Mössbauerových parametrov pečene dugonga demonštrovali prítomnosť Fe^{III} vo forme goethitu v štruktúre hemosiderínu. V prípade potkanov sa zamerali na jedince, ktoré mali v pečeni a slezine nadbytok železa. Aj v tejto štúdií zistili prítomnosť goethitu v štruktúre hemosiderínu, ktorú identifikovali na základe sextetu v nameranom Mössbauerovom spektre.

Štruktúrnemu usporiadaniu železa v ľudskej a konskej slezine sa venoval M. Miglierini a spol.^{26–28}. Pomocou Mössbauerovej spektrometrie na jadrách ^{57}Fe vykonali sériu meraní pri rôznych teplotách. Mössbauerove spektrá namerané pri izbovej teplote potvrdili prítomnosť hematitu a ferihydrítu v štruktúre hemosiderínu a feritínu, v ktorých sa železo nachádza v oxidačnom stave Fe^{III} . Nízko teplotné merania poukázali na prítomnosť paramagnetických častíc, ktoré pravdepodobne predstavujú magnetit alebo maghemit.

Mössbauerova spektrometria bola aplikovaná aj na štúdium železa, ktoré sa nachádza v niektorých oblastiach mozgu. J. Galazka-Friedman a spol.^{18,29,30} pomocou Mössbauerovej spektrometrie skúmali štruktúru železa v troch častiach mozgu – *Hippocampal Cortex*, *Substantia Nigra* a *Globus Pallidus*. Mössbauerove spektrá získané pri teplote 90 K zobrazujú dublety, ktorých parametre sú charakteristické pre železo v oxidačnom stave Fe^{III} . Rozdiely v intenzitách týchto spektier sú dôsledkom rôznej koncentrácie železa v meraných vzorkách. Merania pri teplote 4,1 K zobrazujú sextety, ktoré sa vyvinuli z pôvodne superparamagnetických komponentov. Hyperjemné parametre nameraných Mössbauerových spektier zodpovedajú hodnotám typickým pre feritín a neuromelanín izolovaný z oblasti *Substantia Nigra*.

Železo v mozgu stanovovali aj M. Miglierini a spol.³¹. Lyofilizované vzorky ľudskeho mozgu z oblasti *Globus Pallidus* boli analyzované pomocou ^{57}Fe Mössbauerovej spektrometrie v transmisnej geometrii. Získané hodnoty kvadrupólového štiepenia a izoméneho posunu potvrdili prítomnosť vysoko spinového Fe^{III} vo forme feritínu.

E. Bauminger a spol.³² použili Mössbauerovu spektrometriu na jadrách ^{57}Fe ako jednu z metód na stanovenie železa vo vzorkách zubov, zubnej skloviny a kostí. Vzorky boli študované dvomi spôsobmi, a to *in vitro* a *in vivo*. Výsledky oboch prác sa zhodovali. Hyperjemné parametre Mössbauerových spektier meraných pri teplote 85 K potvrdili prítomnosť Fe^{III} s relatívnou intenzitou 90 %, pričom hodnoty kvadrupólového štiepenia a izoméneho posunu boli podobné ako pre FeOOH . Nízko teplotné merania potvrdili prítomnosť superparamagnetických nanočastíc.

Pomocou Mössbauerovej spektrometrie bola identifikovaná a charakterizovaná štruktúra železa aj vo vzorkách

kostnej drene odobratej zo zdravých pacientov. Mössbauerove spektrá merané pri teplote 77 K potvrdili prítomnosť šiestich komponentov obsahujúcich železo, a to: O_2 -hemoglobín, hemoglobín a jeho α - a β -podjednotky, mono- a poly-protoporfyrín IX, feritín a mitochondriálne železo. V prípade hodnôt kvadrupólového štiepenia a izoméneho posunu feritínu sa potvrdil aj vysoko spinový stav Fe^{III} a prítomnosť paramagnetických častíc³³.

V rokoch 1976 až 1978 L. Guest^{34,35} demonštroval vhodnosť Mössbauerovej spektrometrie na analýzu vzoriek ľudských pľúc. Pomocou tejto metódy stanovoval jednotlivé formy železa vo vzorkách, ktoré pochádzali od pacientov pracujúcich v uhoľnej a hematitovej bani, zlievarenských podnikoch a od pacientov postihnutých bronchitídou a pneumokoniózou. Vzorky boli merané pri teplote 298 K a pri teplotách nižších ako 20 K. Výsledky merania porovnal s výsledkami vzoriek zdravých pľúc, pričom zistil, že obsah železa v pľúcach od pacientov postihnutých bronchitídou a pneumokoniózou je tri až päťkrát vyšší ako vo vzorkách zdravých pľúc.

Dôležité výsledky boli získané z analýz krvného séra pomocou Mössbauerovej spektrometrie. A. Yayon a spol.³⁶ skúmali červené krvinky potkanov infikovaných malarickým parazitom *Plasmodium berghei*. Hlavným cieľom ich štúdie bolo stanoviť fyzikálne parametre, ktoré charakterizujú železo v malarickom pigmente citlivom alebo rezistentnom na chlorochín. Vzorky erytrocytov boli obohatené o ^{57}Fe a merané pri 90 K. Z parametrov Mössbauerovej spektrometrie zistili, že železo sa v malarickom pigmente nachádza vo vysoko spinovom stave Fe^{III} a jednotlivé železité komponenty vytvárajú mikroagregáty s priemerom 25 Å.

Kvantitatívnej analýze železa v forme feritínu v červených krvinkách sa venovali E. R. Bauminger a spol.³⁷. Použitím bezodrazovej rezonančnej absorpcie Mössbauerovského jadra ^{57}Fe skúmali zmrazené vzorky erytrocytov (RBC – red blood cells) zdravých pacientov a pacientov postihnutých β -talasémiou major a intermedia, poruchou hemoglobínu H (α -talasémia), kosáčikovitou anémiou, nestabilným hemoglobínom Hammersmith, autoimúnnou hemolytickou anémiou a zhubnou anémiou. Mössbauerove spektrá RBC z periférnej krvi zdravých pacientov boli merané pri teplote kvapalného dusíka a hélia. Spektrá sa skladali z dvoch subspektier, ktorých parametre zodpovedali hodnotám pre deoxyhemoglobín a oxyhemoglobín. Spektrá vzoriek RBC pacientov postihnutých β -talasémiou a poruchou hemoglobínu H ukázali, že železo sa v krvnom sére nachádza v troch formách, a to ako deoxyhemoglobín, oxyhemoglobín a ako feritín alebo hemosiderín. Nízko teplotné merania potvrdili prítomnosť superparamagnetických komponentov a na kvantitatívnu analýzu boli použité parametre namerané pri teplote kvapalného dusíka. V prípade vzoriek pacientov postihnutých kosáčikovitou anémiou a nestabilným hemoglobínom Hammersmith zistili, že železo je v podobe feritínu a tvorí 8 % celkového množstva železa v červených krvinkách. Vo vzorkách pacientov s autoimúnnou hemolytickou anémiou a zhubnou anémiou nebola potvrdená prítomnosť

železa v podobe feritínu.

Pomocou Mössbauerovej spektrometrie bola sledovaná aj oxidácia hemoglobínu v červených krvinkách po spracovaní acetylfenylhydrazínu (APH)³⁸. Vzorky RBC pochádzali od zdravých pacientov a pacientov s rakovinou prsníka. Výsledky tejto práce potvrdili hypotézu, že oxidácia erytrocytov *in vitro* prebieha rozdielne u zdravých pacientov a u pacientov postihnutých rakovinou prsníka. Parametre Mössbauerových spektier ďalej potvrdili, že proces oxidácie hemoglobínu je výraznejší u pacientov s rakovinou prsníka, kde k tvorbe hemínu dochádza už po 50 min po aplikácii APH. V rovnakej dobe bola u zdravých pacientov potvrdená len prítomnosť metemoglobínu a hemichrómov.

4. Záver

Mössbauerova spektrometria je vhodnou metódou na identifikáciu železa v biologických tkanivách. Oproti iným fyzikálnym metódam je táto metóda nedeštruktívna, pretože si nevyžaduje chemickú úpravu vzoriek, čím sa predchádza zmene v štruktúre železa v biologických tkanivách. Na základe parametrov, konkrétne kvadrupólového štiepenia a izoméneho posunu získaných z Mössbauerových spektier, dostávame informácie o oxidačnom a spinovom stave, o elektronegativite a o vlastnostiach chemickej väzby železa. Magnetická dipólová interakcia zase poskytuje informáciu o prítomnosti magnetických komponentov v biologických tkanivách. Pomocou Mössbauerovej spektrometrie bolo doteraz analyzovaných viacero typov biologických tkanív ako mozog, pankreas, pečeň, slezina, ale aj vzorky krvi, kostnej drene, či zubov. Najčastejšie bola použitá Mössbauerova spektrometria v transmisnej geometrii. Výsledky doteraz publikovaných vedeckých prác demonštrovali, že železo sa v organizme nachádza predovšetkým v dvoch oxidačných stavoch – Fe^{II} a Fe^{III}. Tieto kationy vytvárajú v biologických tkanivách štruktúry feritínu, ferihydrítu, hematitu a hemosiderínu. Nízokoteplotné merania preukázali prítomnosť paramagnetických a superparamagnetických komponentov.

LITERATÚRA

- Gütlich P., Bill E., Trautwein A. X.: *Mössbauer Spectroscopy and Transition Metal Chemistry, Fundamentals and Applications*. Springer-Verlag, Berlin 2011.
- Kuzmann E., Homonnay Z., Nagy S., Nomura K., v knize: *Handbook of Nuclear Chemistry* (Vértes A., Nagy S., Klencsár Z., Lovas R. G., Rösch F., ed) kap. 25. Springer, Dordrecht 2011.
- Dickson D. P. E., Johnson C. E., v knize: *Structural and Resonance Techniques in Biological Research* (Rousseau D. L., ed.) kap. 3. Academic Press Inc, London 1984.
- Mössbauer R. L.: *Z. Naturforsch.* 14a, 211 (1959).
- Mössbauer R. L.: *Nobel Lecture, Physics 1942-1962*. Elsevier, Amsterdam 1964.
- Oshtrakh M. I.: *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 269, 407 (2006).
- Meyrick D., Webb J., Cole C.: *Inorg. Chim. Acta* 339, 481 (2002).
- Crichton R. R.: *Biological Inorganic Chemistry, An Introduction*. Elsevier, Amsterdam 2008.
- Crichton R. R.: *Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism: From Molecular Mechanisms to Clinical Consequences*. J. Wiley, Chichester 2001.
- Arredondo M., Núñez M. T.: *Mol. Aspects Med.* 26, 313 (2005).
- Carmona F., Palacios Ó., Gálvez N., Cuesta R., Atrian S., Capdevila M., Domínguez-Vera J. M.: *Coord. Chem. Rev.* 257, 2752 (2013).
- Jomova K., Valko M.: *Curr. Pharm. Des.* 17, 3460 (2011).
- Heli H., Mirtorabi S., Karimian K.: *Expert Opin. Ther. Pat.* 21, 819 (2011).
- Lawrance G. A.: *Introduction to Coordination Chemistry*. J. Wiley, Chichester 2010.
- Friedman A., Arosio P., Finazzi D., Kozirowski D., Galazka-Friedman J.: *Parkinsonism Relat. Disord.* 17, 423 (2011).
- Gonser U., Grant R. W.: *Biophys. J.* 5, 823 (1965).
- Hoy G. R., Cook D. C., Berger R. L., Friedman F. K.: *Biophys. J.* 49, 1009 (1986).
- Galazka-Friedman J., Friedman A., Bauminger E.: *Hyperfine Interact.* 189, 31 (2009).
- Webb J., St. Pierre T. G., Tran K. C., Chua-Anusorn W., Macey D. J., Pootrakul P.: *Inorg. Chim. Acta* 243, 121 (1996).
- St. Pierre T. G., Chua-Anusorn W., Webb J., Macey D., Pootrakul P.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Basis Dis.* 1407, 51 (1998).
- Hackett S., Chua-Anusorn W., Pootrakul P., St. Pierre T. G.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Basis Dis.* 1772, 330 (2007).
- Oshtrakh M. I., Milder O. B., Semionkin V. A., Malakheeva L. I., Prokopenko P. G.: *Hyperfine Interact.* 165, 321 (2005).
- Oshtrakh M. I., Milder O. B., Semionkin V. A., Prokopenko P. G., Malakheeva L. I.: *Hyperfine Interact.* 156-157, 279 (2004).
- Rahman I. H. A., Chua-Anusorn W., Webb J., Macey D. J., Pierre T. G. S.: *Anal. Chim. Acta* 393, 235 (1999).
- Chua-Anusorn W., Webb J., Macey D. J., De La Motte Hall P., St. Pierre T. G.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Basis Dis.* 1454, 191 (1999).
- Miglierini M., Dekan J., Kopani M., Lancok A., Kohout J., Cieslar M.: *AIP Conf. Proc.* 1489, 107 (2012).
- Boča R., Dlháň E., Kopáni M., Miglierini M., Mrázová V., Čaplovičová M.: *Polyhedron* 66, 65 (2013).
- Miglierini M., Lancok A.: *Acta Phys. Pol., A* 118, 944 (2010).
- Friedman A., Galazka-Friedman J., Bauminger E. R., Kozirowski D.: *J. Neurol. Sci.* 248, 31 (2006).

30. Galazka-Friedman J., Bauminger E. R., Koziorowski D., Friedman A.: *Biochim. Biophys. Acta* 1688, 130 (2004).
31. Miglierini M., Boča R., Kopani M., Lančok A.: *Acta Phys. Pol., A* 126, 240 (2014).
32. Bauminger E., Ofer S., Gedalia I., Horowitz G., Mayer I.: *Calcif. Tissue Int.* 37, 386 (1985).
33. Jumpertz C.-M., Rimbart J.-N.: *Biometals* 6, 207 (1993).
34. Guest L.: *Ann. Occup. Hyg.* 19, 49 (1976).
35. Guest L.: *Ann. Occup. Hyg.* 21, 151 (1978).
36. Yayon A., Bauminger E. R., Ofer S., Ginsburg H.: *J. Biol. Chem.* 259, 8163 (1984).
37. Bauminger E. R., Cohen S., Ofer S., Rachmilewitz E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 939 (1979).
38. Croci S., Pedrazzi G., Passeri G., Piccolo P., Ortalli I.: *Biochim. Biophys. Acta* 1568, 99 (2001).

I. Bonková^a, M. Bujdoš^a, and M. Miglierini^b
(^a*Institute of Laboratory Research on Geomaterials, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava;*
^b*Institute of Nuclear and Physical Engineering, Faculty of Electrical Engineering and Information Technology, Slovak Technical University, Bratislava*): **Applications of Mössbauer Spectrometry in the Study of Biological Tissues**

Mössbauer spectrometry is a progressive method of analysis of materials which is widely used for the study of various molecular and biomolecular systems, as well as various other objects and materials containing Mössbauer nuclides. This work is focused on applications of Mössbauer spectroscopy in the area of studying iron in biological tissues. The results of the published works show that iron in this case is present in the oxidation states Fe^{II} and Fe^{III}, and constitutes a part of molecules, such as ferritin, ferrihydrite, hematite, and haemosiderin. Low-temperature measurements of some types of biological tissues confirmed the presence of paramagnetic and superparamagnetic components.

Keywords: Mössbauer spectroscopy, iron, liver, spleen, brain, ferritin, ferrihydrite