

Генетическая изменчивость антиоксидантной активности плазмы крови в выборке населения г. Северска Томской области

Марусин А.В., Пузыр, в В.П., Салюков В.Б., Брагина Е.Ю.

Genetic variability antioxidant activity of blood plasma in urban population (Seversk) of Tomsk region

Marusin A.V., Puzyryov V.P., Salyukov V.B., Bragina E.Yu.

*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск
НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН, г. Томск*

© Марусин А.В., Пузыр, в В.П., Салюков В.Б., Брагина Е.Ю.

У 185 жителей г. Северска (члены 43 семей и неродственные индивиды) изучена антиоксидантная активность (АОА) крови, определяемая по способности плазмы крови снижать выход продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в модельной системе «лецитин-ионы Fe^{2+} ». Проведено также исследование локуса гастроинтестинальной глутатионпероксидазы (GPX2) (диаллельный полиморфизм TC повторов) у 208 человек. При отсутствии влияния факторов пола и возраста на изменчивость АОА, показана сезонная изменчивость признака. Выявлено, что около 50% фенотипической вариабельности АОА обусловлено аддитивным эффектом генов. Не обнаружено ассоциации генетического полиморфизма GPX2 с изменчивостью АОА. Оценка вклада локуса в изменчивость признака составила 2,53%.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, наследуемость, глутатионпероксидаза, генетическая изменчивость.

Antioxidant activity (AOA) was measured in 185 inhabitants of the town of Seversk (members of 43 families and unrelated individuals). AOA was defined on the ability of a blood plasma to reduce an output of products, reacting with thiobarbituric acid in the model system «lecithine- Fe^{2+} -ions». Polymorphism of gastrointestinal glutathione peroxidase (GPX2) gene (two-allelic dinucleotide (TC)_n repeat polymorphism) was investigated in 208 individuals. The presence of seasonal changes was revealed and no influences of sex and age on AOA in the considered group were shown. Approximately 50% variance in total AOA was due to the additive effects of genes. No statistical significant association between genetic variability of GPX2 and AOA variation was revealed. Estimation of GPX2 genetic variability contribution to AOA level was 2.53%.

Key words: antioxidant activity, heritability, glutathione peroxidase, genetic variability.

УДК 575:612.1(571.16)

Введение

Образование активных форм кислорода (АФК) является неотъемлемой частью клеточного метаболизма. АФК, по причине их высокой реакционной способности, могут повреждать биологические системы и, следовательно, вовлекаться в патогенез многих заболеваний, процессы старения, адаптации, стресса и апоптоза [2, 3, 27, 30]. Для защиты организма от избыточного образования АФК, репарации возникающих повреждений,

поддержания оптимального баланса окислительно-восстановительных процессов еще на ранних этапах эволюции сформировалась антиоксидантная система (АОС) [4, 6, 8]. Ряд авторов определяет АОС как единую, интегрированную и регулируемую структуру, находящуюся под генетическим контролем [14, 17, 23, 28, 33]. Тем не менее число работ, посвященных исследованию вклада генетической составляющей общей фенотипической изменчивости параметров АОС и оценкам генетической вариабельности полиморфных ло-

кусов генов, вовлеченных в формирование АОС, явно недостаточно. В значительной мере это связано

с использованием разнообразных и различных методических подходов к оценке многокомпонентных параметров АОС, включающих перехват свободных радикалов, восстановление и разрушение гидро- и липоперекисей, связывание и окисление ионов металлов переменной валентности (потенциальных катализаторов свободно-радикального окисления), репарацию окислительных повреждений биологических структур [7, 9].

Цель исследования: оценить значение генетических факторов в общей фенотипической вариабельности уровня АОА плазмы крови в городской популяции и оценить вклад полиморфных вариантов гена гастроинтестинальной глутатионпероксидазы (GPX2) в изменчивость показателя антиоксидантной активности организма.

Материал и методы

Исследованные на АОА плазмы крови индивиды, преимущественно русские по национальности (87,03%), проживали в г. Северске Томской области (104 мужчины и 81 женщина). Средний возраст обследованных составил $43,59 \pm 1,24$ лет. Образцы цельной гепаринизированной венозной крови взяты в период с октября 1996 по июнь 1998 г.

Для оценки вклада генетических факторов в изменчивость признака использовали два подхода: 1) внутрисемейный корреляционный анализ АОА плазмы крови с оценкой вклада генетической компоненты в общую вариабельность признака и 2) анализ ассоциаций полиморфного варианта гена GPX2 с АОА плазмы крови.

Анализируемый материал включал информацию по АОА в 22-х полных семьях (обследованы отец, мать и дети, 75 человек), 16-ти неполных (обследован один из родителей и дети, 40 человек), а также 5-ти семей, в которых не было информации о родителях, но обследованы sibсовы пары (брат—брат, брат—сестра, сестра—сестра). В исследованной выборке зарегистрировано 60 неродственных инди-

видов, среди которых отмечено 8 супружеских пар.

Генотипирование по локусу GPX2 проведено у 208 человек в возрасте $42,88 \pm 1,13$ (из них 151 индивид изучен по АОА). Они были разделены на две группы: 1) неродственные индивиды — 137 человек в возрасте $52,52 \pm 0,84$ (группа I) и 2) индивиды, состоящие в первой степени родства между собой и/или с представителями первой группы, — 71 человек в возрасте $24,28 \pm 0,92$ (группа II).

АОА плазмы крови определялась методом, разработанным в лаборатории молекулярной и клеточной радиобиологии (заведующий — профессор Н.И. Рябченко) НИИ медицинской радиологии РАМН (г. Обнинск). Метод основан на спектрофотометрическом определении малонового диальдегида (МДА), образующегося в модельной системе, в результате реакции перекисного окисления липосом лецитина индуцированной ионами двухвалентного железа в присутствии анализируемого образца плазмы крови [10, 13]. АОА выражали в относительных единицах условного стандартного раствора плазмы, полученного смешиванием равных количеств 59 случайно выбранных образцов плазмы.

ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли стандартным перхлоратным методом в присутствии фенола [24]. Амплификацию по повторым ТС на 3' конце интрона гена GPX2 проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием программируемого четырехканального амплификатора (ТП4-ПЦР-01-«Терцик», производства ЗАО «НПФ ДНК-Технология», г. Москва). Общий объем (20 мкл) включал: 0,1 — 0,5 мкг геномной ДНК, 2,5 пМ прямого и обратного праймеров, смесь четырех основных dNTP в концентрации по 0,2 мМ каждого, 1,5 ед. акт. Taq ДНК-полимеразы (ООО «СибЭнзим», г. Новосибирск), 60 мМ Трис-НСI (рН = 8,5), 25 мМ КСI, 3,5 мМ MgCl₂, 10 мМ 2-меркаптоэтанол и 0,1% Тритона X-100. Смесь до конечного объема доводили деионизированной водой и наслаивали 15 мкл минерального масла. ПЦР проводилась в следующем режиме: денатурация — 5 мин при 94 °С, 30 циклов — 94 °С/40 с, 56 °С/1 мин, 72 °С/1,5 мин, элонгация — 4 мин при 72 °С. Праймеры поставлены ООО

«Лаборатория МЕДИГЕН» (г. Новосибирск) в соответствии с описанной структурой [20].

Продукты ПЦР (аллель A_1 , содержащий 5-ТС повторов, длиной 203 п.н. и аллель A_2 — 7 повторов, 207 п.н.) разделяли в денатурирующем 8% полиакриламидном геле с 7 М мочевиной при напряжении 60 В/см

в течение 1,5 часов с последующим окрашиванием бромистым этидием [12]. Перед нанесением в гель 2 мкл продуктов амплификации, смешивали с 3 мкл деионизированного формамида, нагревали в течение 10 мин при 95 °С и охлаждали во льду. Визуализацию и документирование гелей проводили с использованием компьютерных программ Video Studio v.1.0 (Ulead Systems Inc.) и Video Packer Plus v.1.2p (Aura Vision Corp. & VIC Hi Tech Corp.).

Для sibсовых пар вычислялись внутрикласовые, а для пар «родитель—потомок» — межклассовые коэффициенты корреляции К. Пирсона. Усреднение коэффициентов проводилось с помощью z-преобразования Р. Фишера после их сравнения на значимость различий. Оценку наследуемости (h^2) получали как удвоенный коэффициент корреляции у родственников первой степени родства [11, 15]. Коррекцию различий в значениях признака проводили путем введения поправочных коэффициентов, полученных делением среднего значения АОА во всей выборке на среднее значение АОА в подгруппе. Для оценки связи изменчивости полиморфного локуса GPX2 с АОА использовался однофакторный дисперсионный анализ. Вклад полиморфизма анализируемого локуса оценивали также по методу [18, 31]. Частоты аллелей и их ошибки, соответствие распределения равновесию Харди-Вайнберга (РХВ), наблюдаемую и ожидаемую гетерозиготности

и их ошибки вычисляли общепринятыми методами популяционной биометрии [5]. Расчеты проводили в пакете прикладных программ «STATISTICA 5.0» и в программе «Microsoft Excel 97».

Результаты и их обсуждение

Антиоксидантная активность (АОА) плазмы крови, определяемая в модельной системе леци-

тин-ионы Fe^{2+} по выходу продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), отражает общее состояние АОС организма. Преимущества этого методического подхода заключаются в способности интегрально оценить такие компоненты АОС, как связывание и окисление ионов железа, перехват свободных радикалов, восстановление и разрушение гидро- и липоперекисей, образующихся в ходе реакции [9, 10, 13].

Варьирование уровней АОА плазмы крови в обследованной выборке характеризовалось логнормальным распределением и для использования в дальнейшем параметрических критериев сравнений данные были подвергнуты логарифмическому преобразованию после их умножения на 100 для исключения отрицательных значений признака.

Получено статистически значимое различие АОА между индивидами мужского и женского пола ($P < 0,001$; табл. 1). Женщины имеют более низкий уровень АОА плазмы крови по сравнению с мужчинами. Однако, на наш взгляд, этот факт не обязательно может быть интерпретирован как свидетельство меньшей активности и пониженной «буферной емкости» АОС у женщин или сниженной устойчивости к воздействиям внешней среды.

В.В. Соколовский (1988) приводит следующие факторы, влияющие на формирование «буферной емкости» АОС: 1) генетические; 2) возрастные; 3) сезонные; 4) гелиофизические [14]. Выявленное нами различие по АОА между представителями разных полов нельзя приписать различиям в среднем возрасте мужчин и женщин ($P = 0,001$), так как не обнаружено статистически значимой корреляционной связи между уровнем АОА плазмы крови и возрастом индивидов. Данные литературы также свидетельствуют о высокой возрастной устойчивости АОА, по крайней мере, до преклонного возраста (75—80 лет) [10, 16, 26, 29].

Таблица 1

Антиоксидантная активность плазмы крови и возраст индивидов в выборке населения г. Северска

	%	&	% + &
АОА	4,133 ± 0,091	3,683 ± 0,099	3,936 ± 0,069
Возраст	47,26 ± 1,59	38,89 ± 1,85	43,59 ± 1,24

<i>n</i>	104	81	185
----------	-----	----	-----

Примечание: представлены средние значения и стандартные ошибки АОА в относительных единицах и возраста индивидов в годах; *n* — объем выборки; % — мужской пол, & — женский пол.

Для проверки гипотезы о влиянии времени года на АОА плазмы крови мы провели однофакторный дисперсионный анализ изменчивости признака в связи с месяцем сбора проб крови отдельно в группах мужчин и женщин, а также в суммарной выборке. В весенний период (март, апрель, май) наблюдалось снижение уровней АОА как во всей выборке ($F = 7,18; P = 10^{-6}$), так и отдельно у мужчин ($F = 2,53; P = 0,025$) и у женщин ($F = 4,48; P = 0,0001$). Кроме того, отмечалось повышение дисперсии уровней АОА у лиц, обследованных в зимний период года (февраль). Таким образом, по-видимому, выявленные различия по АОА плазмы крови между полами можно в большей степени интерпретировать именно как следствие поэтапного сбора образцов крови в продолжительный период времени. Так, доля мужчин, у которых сбор образцов крови осуществлялся в весенний период (март, апрель, май), составила 14,42% размера выборки, а соответствующая доля женщин была выше и равнялась 60,49 %.

Полученные данные свидетельствуют о напряжении антиоксидантной системы защиты в зимне-весенний период и, возможно, об индивидуальной реакции организма на сезонные изменения. Несмотря на то, что в литературе имеются противоречивые данные о сезонных вариациях антиоксидантного статуса [1, 32], несомненным остается факт о качественном и количественном изменении пищевого рациона в разные периоды года, который определенным образом влияет на обеспеченность организма веществами, необходимыми для функционирования АОС [14]. Очевидно, что структура выборки (наличие родственных связей между индивидами) может смещать оценки выявленных закономерностей. Все вышеописанные различия и связи сохранялись и для группы индивидов, не являющихся родственниками.

Для устранения влияния фактора сезонной изменчивости данные по АОА каждого индивида

были подвергнуты корректировке путем умножения их значений на поправочные коэффициенты, в зависимости от месяца обследования. Коэффициенты получены делением среднего значения признака во всей выборке на средние в подгруппах отдельно для каждого месяца обследования. После преобразования различие между полами по уровню АОА не выявлялось ($P = 0,451$).

При анализе семейных корреляций значений АОА плазмы крови в выборке г. Северска не было выявлено статистически значимых оценок в парах «родитель—потомок». Тем не менее в парах «родитель—дочь» и «отец—ребенок» коэффициенты корреляций оказались близки к статистически значимым ($r = 0,242 \pm 0,132$ и $0,271 \pm 0,148; n = 51$ и $39; P = 0,087$ и $0,096$ соответственно). Не обнаружено ассортативности по АОА между супругами ($r = 0,182 \pm 0,174; P = 0,328; n = 31$). Статистически значимые корреляции отмечены в общей группе всех пар сибсов («сестра—сестра», «брат—брат» и «брат—сестра», $r = 0,451 \pm 0,148; n = 29; P = 0,009$), а также в группе разнополых сибсов («брат—сестра») по АОА ($r = 0,655 \pm 0,153; n = 14; P = 0,003$). Следует подчеркнуть, что коррекция значений АОА в подгруппах по месяцу отбора проб крови не привела ни к выявлению статистически значимых корреляций в парах «родитель—потомок», ни к уточнению выявленных корреляций в парах сибсов. Высокие коэффициенты корреляции в парах «сибс—сибс» и «брат—сестра», по-видимому, менее надежны и, возможно, являются следствием как систематической средовой компоненты, так и случайных причин. Усредненные коэффициенты корреляции составили $0,252 \pm 0,102$ для пар «родитель—потомок» и $0,522 \pm 0,115$ для пар сибсов.

Таким образом, с высокой степенью достоверности (90—99%) можно утверждать, что не менее половины общей фенотипической изменчивости АОА плазмы крови обусловлено вкладом аддитивной генетической компоненты (h^2 в пределах от 50 до 100%). Полученные результаты согласуются с данными Wang X.L. с соавт. (2001), которые показали, что приблизительно 51% то-

тальной АОА плазмы крови объясняется аддитивным эффектом генов [33]. Стоит, однако, отметить, что в исследовании этих авторов общую АОА определяли по способности плазмы крови перехватывать свободные перекисные радикалы, что, по нашему мнению, позволяет оценить только один компонент АОС.

Предполагая функциональное единство комплекса генов, интегрированных в АОС, мы включили в исследование анализ взаимосвязи показателя антиоксидантной активности с полиморфизмом интрона гена GPX2 (динуклеотидные ТС-повторы).

У человека известно, по меньшей мере, 4 типа глутатионпероксидаз (ГП): классическая (цитозольная) ГП (GPX1), ГП фосфолипидных гидропероксидов (GPX4), экстраклеточная (плазменная) ГП (GPX3) и гастроинтестинальная ГП (GPX2). Первые два типа фермента экспрессируются в большинстве проанализированных тканей. GPX3 встречается в печени, почках, сердце, легких, мозге и плаценте. GPX2 представлена в тканях желудочно-кишечного тракта. Это цитозольный тетрамерный фермент, содержащий селеноцистеин в активном центре и, подобно GPX1, восстанавливающий с привлечением двух молекул глутатиона перекись водорода и гидроперекиси жирных кислот, но не гидроперекиси фосфолипидов или холестерина [25].

F.-F. Chu с соавт. локализовали ген GPX2 на хромосоме 14q24.1 и показали, что он содержит 2 экзона и интрон размером 2,6 кВ [19, 20]. В настоящее время уже описано три полиморфных варианта гена GPX2: динуклеотидные ТС-повторы на 3' конце интрона и однонуклеотидная замена Т→А на 5' конце, а также изменение в первом экзоне гена двух нуклеотидов, приводящее к замене лейцина на аргинин. Последний полиморфный вариант не выявляется при анализе однонитового конформационного полиморфизма (SSCP), а его частота и функциональное значение не изучены [20].

Распределение генотипов по изученному локусу гена GPX2 в выборке неродственных индивидов г. Северска соответствовало ожидаемому при

$$RXB \quad (\chi^2 =$$

$= 0,01, P > 0,90$, табл. 2). В исследовании, проведенном F.-F. Chu с соавт. (1996), у 22 европеоидов частота аллеля A_1 (5 повторов ТС) составила 0,8409, а аллеля A_2 (7 повторов) — 0,1591 [20]. Наше исследование свидетельствует, что изученный полиморфизм гена GPX2 характеризуется невысоким уровнем изменчивости, а значения частот аллелей в обследованной выборке городского населения практически совпадают с данными литературы.

Таблица 2

Изменчивость гена GPX2 в выборке неродственных индивидов

Генотип/аллель	Частота	Количество	Ho	He	D	n_e	n
A_1A_1	0,5912	81					
A_1A_2	0,3577	49					
A_2A_2	0,0511	7					
A_1	$0,7701 \pm \pm 0,0254$	211	$0,3577 \pm \pm 0,0410$	$0,3541 \pm \pm 0,0274$	$0,0100 \pm \pm 0,0853$	$1,5483 \pm \pm 0,0274$	137
A_2	$0,2299 \pm \pm 0,0254$	63					

Примечание: Приведены частоты генотипов, значения и стандартные ошибки частоты аллелей, наблюдаемой (Ho) и ожидаемой (He) гетерозиготностей, D — отклонения Ho от He, n_e — эффективное число аллелей.

Для проверки гипотезы о нейтральности изученного полиморфизма гена GPX2 с использованием критерия χ^2 были сопоставлены оценки частот аллелей в группах I (неродственные индивиды, $n = 137$, средний возраст — $52,52 \pm 0,84$ года) и II (родственники индивидов I группы, $n = 71$, средний возраст — $24,28 \pm 0,92$). Не выявлено значимых различий в оценках частот аллелей сравниваемых групп. Разделение группы I на подгруппы согласно возрасту индивидов (средний и старший возраст — $n = 56$ и $n = 81$, соответственно) также не показало различия в частотах аллелей и, следовательно, можно говорить об отсутствии связи изменчивости локуса GPX2 с возрастом и в поколениях.

При исследовании связей между изменчивостью локуса GPX2 и АОА были использованы скорректированные значения количественного признака. В результате однофакторного дисперсионного анализа не было выявлено ассоциаций между полиморфизмом локуса и вариабельностью АОА ни в общей выборке, ни в группе I. Для оценки

эффектов аллелей и вклада изменчивости изученного локуса в вариацию признака был использован метод, предложенный в 1985 г. C.F. Sing и J. Davignon [18, 31].

Усредненные эффекты аллелей выражены в различной степени и малы: +0,0231 для аллеля A₁, который ассоциирован с повышенным на 0,6% средневывборочным значением признака, и – 0,1070 для аллеля A₂, ассоциированным со сниженным на 2,7% значением. Оценка доли дисперсии, связанной с изменчивостью локуса гена GPX2, также оказалась невысока — 2,53%. Хотя белок GPX2 не обнаружен в плазме крови, а внутриинтронный полиморфизм, вероятно, является нейтральным по отношению к функционированию фермента, по нашему мнению, можно говорить о том, что, экспрессируясь в тканях желудочно-кишечного тракта, GPX2 является важным фактором выживаемости особи [21, 22], а полученные оценки вклада генетического полиморфизма фермента в изменчивость АОА плазмы крови могут быть обусловлены функциональным единством организма.

В заключение следует отметить:

1. На параметры АОА плазмы крови, определяемые в модельной системе лецитин-ионы Fe²⁺, отсутствует влияние факторов пола и возраста индивидов, по крайней мере, в пределах от 6 до 75 лет. В то же время наблюдается сезонная изменчивость АОА, что свидетельствует о необходимости учитывать этот фактор при планировании исследований.

2. Не менее половины общей фенотипической изменчивости АОА обусловлено аддитивными эффектами многих генов, что предполагает необходимость и возможность идентификации генетических детерминант АОС.

3. Изменчивость изученного полиморфного гена GPX2 определяет незначительную часть наследственного разнообразия АОА. Тем не менее полученная оценка вклада локуса в вариацию АОА плазмы крови, с нашей точки зрения, свидетельствует в пользу гипотезы функционального единства комплекса генов, вовлеченных в формирования интегрированной системы неспецифической резистентности организма.

Авторы выражают благодарность Л.П. Назаренко, И.А. Гончаровой, А.И. Кутмину за предоставление материала и методическую помощь в его анализе.

Литература

1. Банкова В.В., Никанорова Т.М., Поляков С.Д., Тагиева Т.А. Деградация малонового диальдегида и ее возрастные, сезонные и суточные изменения // *Вопр. мед. химии*. 1988. Т. 34. < 6. С. 27—30.
2. Величковский Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды // *Вестн. РАМН*. 2001. < 6. С. 45—52.
3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // *Вестн. РАМН*. 1998. < 7. С. 43—51.
4. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови // *Укр. биохим. журн.* 1992. Т. 64. < 2. С. 3—15.
5. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
6. Журавлев А.И. Биоантиокислители в животном организме // *Труды МОИП*. 1982. Т. LII. С. 15—29.
7. Зайцев В.Г., Закревский В.И. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // *Вестник Волгоградской медицинской академии*. 1998. Вып. 4. С. 49—53.
8. Зборовская И.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме, клинические аспекты // *Вестн. РАМН*. 1995. < 6. С. 53—59.
9. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. и др. Антиоксидантная активность сыворотки крови // *Вестн. РАМН*. 1999. < 2. С. 15—22.
10. Кутмин А.И., Марусин А.В. Антиоксидантная активность плазмы крови у лиц с разной дозой редкоизирующего хронического облучения // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 1999. Т. 127. Прил. 1. С. 34—37.
11. Лылин Е.Т., Трубников В.И., Ванюков М.М. Введение в современную фармакогенетику. М.: Медицина, 1984. 160 с.
12. *Методы молекулярной генетики и геной инженерии* / А.В. Мазин, К.Д. Кузнецов, А.С. Краев и др. Новосибирск: Наука. Сиб. Отд-ние, 1990. 248 с.
13. Семенова И.В., Эрнестова Л.С., Конев В.В., Рябенко Н.И. Использование метода перекисного окисления липидов для биотестирования водной среды // *Гигиена и санитария*. 1997. < 1. С. 51—52.
14. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие (Обзор) // *Вопр. мед. химии*. 1988. Т. 34. < 6. С. 2—11.
15. Фолкнер Д.С. Введение в генетику количественных признаков / Пер. с англ. А.Г. Креславского и В.Г. Черданцева. М.: ВО «Агропромиздат», 1985. 486 с.
16. Barnett Y.A., King C.M. An investigation of antioxidant status, DNA repair capacity and mutation as a function of age in humans // *Mutat. Res.* 1999. V. 338. < 1.

- P. 115—128.
17. *Berry E.M., Kohen R.* Is the biological antioxidant system integrated and regulated? // *Med. Hypotheses.* – 1999. – V. 53. < 5. P. 397—401.
 18. *Boerwinkle E., Sing C.F.* Bias of the contribution of single-locus effects to the variance of a quantitative trait // *Am. J. Hum. Genet.* 1986. V. 39, < 1. P. 137—144.
 19. *Chu F.-F.* The human glutathione peroxidase genes GPX2, GPX3 and GPX4 map to chromosome 14, 5 and 19, respectively // *Cytogenet. Cell Genet.* 1994. V. 66. P. 96—98.
 20. *Chu F.-F., de Silva R., Esworthy R.S. et al.* Polymorphism and chromosomal localization of the GI-form of human glutathione peroxidase (GPX2) on 14q24.1 by in situ hybridization // *Genomics.* 1996. V. 32, < 2. P. 272—276.
 21. *Esworthy R.S., Baker M.A., Chu F.F.* Expression of selenium-dependent glutathione peroxidase in human tumor breast cell lines // *Cancer Res.* 1995. V. 55. < 4. P. 957—962.
 22. *Esworthy R.S., Mann J.R., Sam M., Chu F.-F.* Low glutathione peroxidase activity in Gpx1 knockout mice protects jejunum crypts from gamma-irradiation damage // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2000. V. 279, < 2. P. G426—G436.
 23. *Halliwel B., Gutteridge J.M.C.* The Antioxidants of Human Extracellular Fluids // *Arch. of Biochemistry and Biophysics.* 1990. V. 280, < 1. P. 1—8.
 24. *Johns M., Paulus-Thomas J.* Purification of human genomic DNA from whole blood using sodium perchlorate in place of phenol // *Anal. Biochem.* 1989. V. 80. < 2. P. 276—278.
 25. *Kelner M.J., Bagnell R.D., Montoya M.A. et al.* Structural organization of the human gastrointestinal glutathione peroxidase (GPX2) promoter and 3'-nontranscribed region: transcriptional response to exogenous redox agents // *Gene.* 2000. V. 248. < 1—2. P. 109—116.
 26. *King C., Bristow-Craig P., Gillespie E., Barnett Y.* In vivo antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultured lymphocytes from healthy 75-to 80-year-old humans // *Mutat. Res.* 1997. V. 377. < 1. P. 137—147.
 27. *Lenaz G.* Role of mitochondria in oxidative stress and ageing // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. V. 1366. < 1—2. P. 53—67.
 28. *Lewin G., Popov I.* The antioxidant system of the organism. Theoretical basis and practical consequences // *Med. Hypotheses.* 1994. V. 42. < 4. P. 269—275.
 29. *Marcovic' S., Dordevic' J., Majkic'-Singh N., Maslac' S. et al.* Reference Values of Total Plasma Antioxidant Status // *Clin. Lab.* 1999. < 45. P. 665—668.
 30. *Mates J.M., Sanches-Jimenes F.M.* Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2000. V. 32, < 2. P. 157—170.
 31. *Sing C.F., Davignon J.* Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation // *Am. J. Hum. Genet.* 1985. V. 37. < 2. P. 268—285.
 32. *Van de Vijver L.P., Van Duyvenvoorde W., Buytenhek R. et al.* Seasonal variation in low density lipoprotein oxidation and antioxidant status // *Free Radic. Res.* 1997. V. 27. < 1. P. 89—96.
 33. *Wang X.L., Rainwater D.L., VandeBerg J.F. et al.* Genetic contributions to total plasma antioxidant activity // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. V. 21. < 7. P. 1102—1103.

Поступила в редакцию 21.03.2002 г.