

Н.В.Севостьянова^{1,2}, М.Б.Фрейдin^{3,5}, Л.М.Огородова², В.П.Пузырев^{2,3}, Н.В.Чердынцева², Н.Н.Плотникова², С.А.Коломиец⁴, Л.Н.Уразова², А.Б.Карпов⁵, Р.М.Тахауов⁵, И.А.Тен^{2,5}, Е.В.Неруш², А.И.Дмитриева²

Особенности репаративного синтеза ДНК и полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков у больных раком легкого

¹ ГУ НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН, Томск; ² Сибирский государственный медицинский университет, Томск; ³ ГУ НИИ медицинской генетики, Томск; ⁴ Томский областной онкологический диспансер, Томск; ⁵ ДГУП Северский биофизический научный центр, Северск

N.V.Sevoctyanova, M.B.Freidin, L.M.Ogorodova, V.P.Puzyrev, N.V.Cherdyntseva, N.N.Plotnikova, S.A.Kolomiets, L.N.Urazova, A.B.Karpov, R.M.Takhaouov, I.A.Ten, E.V.Nerush, A.I.Dmitrieva

Features of DNA reparative synthesis and gene polymorphism of biotransformation enzymes of xenobiotics in lung cancer patients

Summary

This paper shows results of comparative study of DNA repair system and gene polymorphism of biotransformation enzymes of xenobiotics in patients with lung cancer (LC), chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and healthy adults.

We examined 50 patients with central LC: 41 males, 9 females with the average age of 56.57 ± 7.96 yrs treated in Oncology Research Institute in Tomsk. Comparative groups involved 46 chronic bronchitis patients with preneoplastic lesions of bronchial epithelium proved by morphologic and endoscopic examinations and 50 healthy men of the same age without respiratory pathology.

Cell reparative activity was studied in blood lymphocytes. DNA samples of the LC and COPD patients were typed for polymorphism of GSTT1, GSTM1 and CYP2C19 biotransformation genes.

The results showed reduced functional activity of DNA repair systems as well as in chronic bronchitis patients and LC patients. Investigation of DNA reparative synthesis intensity revealed significant inhibition of this process in most of the LC patients. This intensity was related to a histological type of the tumour and its stage. The LC patients had decreased rate of the GSTM1 null genotype that could be specific for this pathology. The genotype spread in the LC patients greatly differed from that in healthy ($p = 0.047$) but the spread in the COPD patients was close to that in healthy. A difference between the LC patients and COPD patients was not found because of a small size of the groups. Thus, studies with larger sizes are required. Practical importance of such studies could be development of genotyping test sets to predict an increased risk for neoplasm occurrence.

Резюме

В настоящей работе проведено сравнительное изучение показателей системы репарации ДНК и полиморфизма генов ферментов биотрансформации у больных раком легких (РЛ), хроническими obstructивными болезнями легких (ХОБЛ) и у здоровых лиц. Обследованы 50 больных центральным РЛ (41 мужчина, 9 женщин), которые находились на лечении в клинике НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН г. Томска. Средний возраст пациентов равен $56,57 \pm 7,96$ лет. Группы сравнения составили 46 больных хроническим бронхитом с предопухолевыми (диспластическими) изменениями бронхиального эпителия (диагноз был подтвержден морфологически и эндоскопически) и 50 здоровых мужчин соответствующего возраста без бронхолегочной патологии.

Репаративную активность клеток исследовали в лимфоцитах периферической крови. Образцы ДНК больных РЛ и ХОБЛ были протипированы по полиморфизму 3 генов биотрансформации: GSTT1, GSTM1 и CYP2C19.

Полученные результаты указывают на снижение функциональной активности ДНК репарационных систем как у больных хроническим бронхитом, так и РЛ. Изучение интенсивности репаративного синтеза ДНК у больных РЛ в большинстве случаев выявило значительное ингибирование этого процесса. При этом установлена связь между интенсивностью репаративного синтеза ДНК с гистологическим типом опухоли и стадией заболевания.

Больные РЛ характеризуются сниженной частотой нулевого генотипа гена GSTM1, и этот маркер может быть специфичен именно для данной нозологии.

Распределение генотипов в выборке больных РЛ статистически значимо отличается от такового у здоровых лиц ($p = 0,047$). При этом распределение генотипов у больных ХОБЛ близко к таковому у здоровых. Отличий между больными ХОБЛ и больными РЛ не получено из-за малого размера выборок.

Необходимы дальнейшие исследования на больших по объему выборках. Практическим выходом такого рода исследований может быть создание генотипических тест-систем предиктивной диагностики повышенной подверженности к онкологической патологии в конкретных средовых условиях.

В настоящее время хорошо известно, что в основе процессов спонтанного (ненаследственного) канцерогенеза лежат мутационные изменения соматических клеток, не подвергшиеся репарации. Система репарации является одной из основных систем сохранения гомеостаза организма на молекулярном уровне, обеспечивающих нормаль-

ное функционирование и стабильность генома как в норме, так и при повреждающих воздействиях. При нарушении системы репарации клетки проявляют повышенную чувствительность к действию различного рода мутагенов, что приводит в конечном итоге к повышенному уровню мутационных преобразований, гибели или злокаче-

ственным перерождению клеток [1]. В то же время остаются неясными многие принципиальные моменты в работе системы репарации при конкретных онкологических патологиях, в частности при раке легкого (РЛ).

Система репарации по сути дела исправляет уже возникшие нарушения в геноме, появление которых зависит от многих факторов, в т. ч. и от способности организма противостоять действию ксенобиотиков, многие из которых являются мутагенами и канцерогенами, на этапах, когда последние еще не проникли в клеточное ядро и не повлияли на геном. Всевозрастающий и непрерывно меняющийся поток ксенобиотиков, многие из которых несовместимы с нормальной жизнедеятельностью, представляет собой непривычную субстанцию для неадаптированных к ней систем трансформации биологически активных веществ организма человека. Результатом этого является рост частоты многих социально значимых патологий, таких как онкопатология, сердечно-сосудистые заболевания и т. д. Поэтому изучение механизмов защиты организма от ксенобиотиков и биологических основ адаптации к ним представляет большой интерес.

Проведение физиологических и биохимических исследований позволило установить наличие у человека фенотипов «быстрых» и «медленных» метаболизаторов, различающихся по относительной скорости деградации различных веществ. Это означает, что разные люди с различной скоростью справляются с потоком поступающих извне вредных веществ, в т. ч. канцерогенов, а значит, по-разному подвержены различным заболеваниям. В основе этих особенностей лежит индивидуальный спектр изоформ ферментов биотрансформации — цитохромов, трансфераз, гидролаз и др. В свою очередь, данный изозимный спектр определяется полиморфизмом кодирующих их генов.

Таким образом, актуальной становится задача изучения индивидуального генетического фона и поиска сочетаний аллельных форм генов, ответственных за формирование фенотипов «быстрого» или «медленного» метаболизера и связанной с ними предрасположенности к заболеваниям. В настоящее время накапливаются данные о роли полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в развитии РЛ. В нашей стране таких исследований немного, несмотря на их явную актуальность.

В настоящей работе проведено сравнительное изучение показателей системы репарации ДНК и полиморфизма генов ферментов биотрансформации у больных РЛ, хроническими обструктивными болезнями легких (ХОБЛ) и у здоровых лиц — жителей Томска.

Обследованы 50 больных центральным РЛ (41 мужчина, 9 женщин), которые находились на лечении в клинике НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН г. Томска. Средний возраст пациентов со-

ставлял $56,57 \pm 7,96$ лет. Диагноз РЛ в каждом наблюдении был подтвержден морфологически, эндоскопически, рентгенологически.

У 42 больных морфологически верифицирован плоскоклеточный РЛ. Преобладали II и III стадии заболевания, $T_{2-3}N_{0-1}M_{0-1}$ (II стадия — 47,83 % больных, III стадия — 36,96 %).

Группы сравнения составили 46 больных хроническим бронхитом с предопухольными (диспластическими) изменениями бронхиального эпителия (диагноз был подтвержден морфологически и эндоскопически) и 50 здоровых мужчин соответствующего возраста без бронхолегочной патологии.

В качестве объекта исследования репаративной активности клеток использовали лимфоциты периферической крови. Забор венозной крови проводили утром, натощак, в стерильную пробирку, содержащую 25 Ед / мл раствора гепарина.

Активность системы ДНК-репарации определяли методом жидкостной сцинтилляционной радиометрии по рекомендациям Г.Д. Засухиной (1978 г.). Репаративный синтез, индуцированный УФ-излучением, измеряли по включению ³H-тимидина в общий пул клеток. В качестве источника УФ-излучения использовали 2 бактерицидные лампы ДБ-15 (длина волны — 254 нм), расположенные на фиксированном расстоянии (30 см) от объекта, что определяет дозу и мощность облучения — 15 Дж / м² и 1,6 Дж / с соответственно. После инкубации лимфоциты собирали на миллиметровые (диаметр пор — 0,22 мкм) стекловолоконные фильтры («Wellcome», Норвегия) с помощью автоматического устройства «Harvester», «Flow», затем отмывали дистиллированной водой и фиксировали 5 мл 5%-ного раствора ТХУ, 2 мл 96%-ного этанола. Учет радиоактивности (имп / с) производили на сцинтилляционном счетчике «Mark-3» (США). Уровень репаративного синтеза ДНК оценивали по соотношению интенсивности биосинтеза ДНК, стимулированного УФ-облучением, и контрольных образцов и определяли по формуле:

$$ИС = \frac{\text{Максимальная радиоактивность облученной пробы}}{\text{Радиоактивность контрольной пробы}}$$

В норме ИС составляет 2,0—3,0 условные единицы (у. е.)

Выделение ДНК проводили стандартным методом с использованием фенол-хлороформной очистки [2]. Образцы ДНК больных РЛ и ХОБЛ были протипированы по полиморфизму 3 генов биотрансформации: GSTT1, GSTM1 (кодируют соответственно глутатион-S-трансферазы $\theta 1$ и $\mu 1$) и CYP2C19 (кодирует белок семейства цитохрома p-450 2C19).

Типирование образцов по генам GSTT1 и GSTM1 проводили путем мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием 3 пар олигонуклеотидных праймеров, спе-

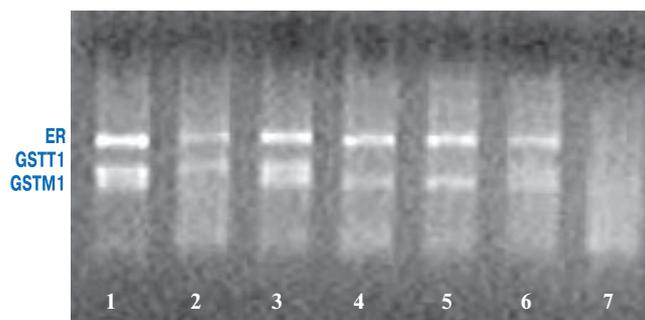


Рис. 1 Пример идентификации 0/0 и + генотипов по генам GSTT1 и GSTM1 с помощью мультиплексной ПЦР-амплификации
 ER – контроль ПЦР (181 п.н.);
 1, 3, 6 – генотип GSTT1 + GSTM1 + (131 и 114 п. н. соответственно);
 2 – GSTT1 + GSTM1 0/0;
 4, 5 – GSTT1 0/0 GSTM1 +; 7 – отсутствие ПЦР-продукта.

мере одной нормальной (без делеции) копии генов (гомо- и гетерозиготы, +/+ и +/0). Участок гена ER размером 181 п. н. использовали в качестве внутреннего контроля амплификации (рисунок).

Для гена CYP2C19 определяли полиморфизм, связанный с наличием в 5-м экзоне гена «дикого типа» или «мутантного» аллелей, характеризующихся соответственно наличием или отсутствием сайта рестрикции для Sma I [4]. По современной номенклатуре, эти аллели обозначаются соответственно CYP2C19*1 и CYP2C19*2. Для генотипирования индивидов по этому полиморфизму использовали следующие праймеры: F: 5'-aat-tac-aac-cag-agc-ttg-gc и R: 5'-tat-cac-ttt-cca-taa-aag-saa-g. Состав остальных компонентов смеси для амплификации был аналогичен используемому для типирования полиморфизма генов GST. Программа амплификации включала в себя 5 мин предварительной денатурации при 94 °С, 33 цикла: 94 °С — 40 с, 60 °С — 1 мин, 72 °С — 40 с и финальную элонгацию при 72 °С в течение 5 мин. Размер продукта амплификата составляет 169 п. н. После амплификации образцы гидролизуют в течение ночи рестриктазой Sma I («Сибэнзим», г. Новосибирск) при 37 °С. Эта температура отличается от рекомендованной производителем (25 °С), так как при этом повышается эффективность рестрикции.

Продукты рестрикции фракционировали в 3%-ном агарозном геле с бромистым этидием в течение 30 мин при напряжении 130 В и визуализировали в УФ-свете.

Гомозиготность по аллелю CYP2C19*1 определяли по наличию 2 бэндов в 120 и 49 п. н., гомозиготность по альтернативному аллелю — по наличию 1 бэнда в 169 п. н., гетерозиготы имели все 3 бэнда.

Для расчетов использовали стандартные алгоритмы биометрии, в т. ч. сравнение частот генов и генотипов в различных группах больных и здоровых лиц с помощью точного теста Фишера—Ирвина и критерия χ^2 Пирсона [5].

На основании полученных данных было выявлено (табл. 1), что средние значения индекса стимуляции репаративного синтеза ДНК у здоровых доноров соответствовали $2,957 \pm 0,059$ у. е., что достоверно ниже, чем в группе больных РЛ (при $p < 0,001$).

В исследование были включены 46 пациентов с ХОБЛ. Из них у 30 пациентов был обнаружен только хронический бронхит. У 16 пациентов хронический бронхит сочетался с диспластическими изменениями эпителия бронхов, что было диагностировано при проведении фибробронхоскопии. Функциональная активность систем ДНК-репарации у больных бронхитом в сочетании с дисплазией была заметно снижена, по сравнению с контрольными значениями, и составила $1,445 \pm 0,024$ у. е. ($p < 0,05$). У больных хроническим бронхитом этот показатель также был снижен до $1,51 \pm 0,08$ у. е. ($p < 0,0001$). При изучении систе-

Таблица 1

Показатель индекса репаративной активности ДНК у больных с патологией легких

Характеристика обследованных	Средний возраст (лет)	Индекс стимуляции ДНК
Здоровые (контрольная группа)	54,60 ± 8,75	2,95 ± 0,059
ХОБЛ	52,30 ± 10,58	1,51 ± 0,08
РЛ	56,57 ± 7,96	1,33 ± 0,06
<i>p</i>		$p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,0000$

Примечание: *p* — достигнутый уровень значимости, для сравнения групп: здоровых с ХОБЛ и РЛ со здоровыми.

цифичных к участку гена рецептора эстрогенов, ER (F: 5'-caa-gtc-tcc-cct-cac-tcc-cc; R: 5'-gtg-cga-gtg-gct-cag-tgt-gt) и генов GSTT1 (F: 5'-ggt-cat-tct-gaa-ggc-caa-gg; R: 5'-ttt-gtg-gac-tgc-tga-gga-cg), и GSTM1 (F: 5'-tgc-ttc-acg-tgt-tat-gga-ggt-tc; R: 5'-ggt-ggg-ctc-aaa-tat-acg-gtg-g) [3]. Смесь для амплификации объемом 12 мкл содержала 100—200 нг ДНК, 2,5 пмоль каждого праймера, 1 мМ смеси 4 dNTP, 1 мМ MgCl₂, 0,5 ед. / акт. Таq ДНК-полимеразы («Сибэнзим», г. Новосибирск) и 10 × буфер, поставляемый производителем вместе с ферментом. Программа амплификации включала в себя 5 мин предварительной денатурации при 94 °С, 4 цикла: 94 °С — 20 с, 65 °С — 25 с, 72 °С — 20 с; 4 цикла: 94 °С — 20 с, 63 °С — 25 с, 72 °С — 20 с; 25 циклов: 94 °С — 20 с, 61 °С — 25 с, 72 °С — 20 с. Программу завершала элонгация при 72 °С в течение 3 мин.

Продукты амплификации фракционировали в 3%-ном агарозном геле с бромистым этидием в течение 30 мин при напряжении 130 В и визуализировали в УФ-свете.

Гомозиготность по нулевым аллелям (0/0) генов GSTT1 и GSTM1 определяли по отсутствию на электрофореграммах фрагментов размером 131 и 114 п. н. соответственно. Наличие этих фрагментов свидетельствовало о присутствии по крайней

Таблица 2

Частота (в %) нулевых (0/0) и не нулевых (+) генотипов генов *GSTT1* и *GSTM1* у больных РЛ, ХОБЛ и здоровых жителей Томска

Ген	Генотип	РЛ, n = 50	ХОБЛ, n = 46	Здоровые, n = 100	p_1	p_2
<i>GSTT1</i>	0 / 0	58,0	30,43	15,00	0,113	0,000
	+	42,0	69,57	85,00		
<i>GSTM1</i>	0 / 0	48,0	56,52	73,00	0,029	0,017
	+	52,0	43,48	27,00		

Примечание: p_1, p_2 — достигнутый уровень значимости для теста χ^2 соответственно для сравнения выборки РЛ с ХОБЛ и РЛ со здоровыми лицами.

Таблица 3

Частоты аллелей и генотипов (в %) по полиморфизму гена *CYP2C19* у больных РЛ, ХОБЛ и здоровых жителей Томска

Группа	Генотип			p_1	Аллели		p_2
	*1/*1	*1/*2	*2/*2		*1	*2	
РЛ, n = 50	76	14,0	2,0	0,397	90,22	9,78	0,298
ХОБЛ, n = 46	50,0	19,56	2,17		83,33	16,67	
Здоровые, n = 100	63,0	35,0	2,0	0,047	80,50	19,50	0,151

Примечание: p_1 — достигнутый уровень значимости для точного теста Фишера (сравнение частот генотипов у больных РЛ и референсных групп); p_2 — достигнутый уровень значимости для критерия χ^2 (сравнение частот аллелей у больных РЛ и референсных групп).

мы репарационной активности ДНК у больных РЛ было выявлено, что степень репаративного показателя зависела от тяжести заболевания и гистологического типа опухоли. Так, у 84 % больных был верифицирован плоскоклеточный рак легкого и индекс стимуляции составил $1,42 \pm 0,068$ у. е., у 16 % больных с мелкоклеточным РЛ было обнаружено достоверное снижение репаративного индекса до $0,93 \pm 0,067$ у. е. ($p < 0,0016$). Следует отметить, что в группе больных с мелкоклеточным РЛ доминируют пациенты с III и IV стадиями заболевания $T_{3-4}N_{0-2}M_{0-1}$, при плоскоклеточном раке легкого преобладали II и III стадии заболевания $T_{2-3}N_{0-2}M_{0-1}$. Выявленные при проведении исследований различия индекса стимуляции у обследованных больных РЛ позволили разделить их на 2 подгруппы. К 1-й подгруппе были отнесены больные с коэффициентом стимуляции репаративного синтеза ДНК менее 1 у. е., что отражает процесс ингибирования обоих путей репарации ДНК; ко 2-й подгруппе — с коэффициентом стимуляции репаративного синтеза ДНК от 1 до 1,740 у. е. (минимальные значения показателя у здоровых доноров), что свидетельствует о снижении процессов репарации ДНК. Оказалось, что у 64 % обследованных больных имело место снижение репарации ДНК, в 36 % случаев были зарегистрированы значения индекса репаративного синтеза ДНК менее 1 у. е., что свидетельствует о редком варианте ингибирования системы восстановления ДНК, когда повреждались оба пути эксцизионной репарации ДНК.

Следует отметить, что у 18 (39,13 %) больных плоскоклеточным РЛ III–IV стадий заболевания

($T_{3-4}N_{0-2}M_{0-1}$) диагностированы процессы метастазирования, и индекс стимуляции составил $1,21 \pm 0,102$ у. е. А у 32 больных без наличия метастазов индекс стимуляции соответствовал $1,41 \pm 0,078$, что позволяет предположить положительную тенденцию данного результата ($p < 0,067$).

Полученные данные указывают на снижение функциональной активности ДНК репаративных систем у больных как хроническим бронхитом, так и РЛ, что может привести к увеличению в периферической крови у этих групп больных количества клеток с генетическими нарушениями. Таким образом, изучение интенсивности репаративного синтеза ДНК в лимфоцитах периферической крови у больных РЛ выявило значительное ингибирование этого процесса у большинства обследованных пациентов. При этом установлена связь между интенсивностью репаративного синтеза ДНК с гистологическим типом опухоли и со стадией заболевания.

Для сравнительного анализа частот аллелей и генотипов исследованных генов у больных РЛ в качестве групп сравнения была использована выборка больных ХОБЛ, а также здоровые жители Томска ($n = 100$). Средний возраст ($\pm SD$) больных РЛ составил $56,6 \pm 1,2$ года, средний возраст больных ХОБЛ — $52,3 \pm 1,9$ года, средний возраст здоровых добровольцев — $43,1 \pm 1,16$ года. В выборке РЛ было 9 женщин и 41 мужчина, в выборке ХОБЛ — 9 женщин и 35 мужчин, в выборке здоровых жителей Томска — 51 мужчина и 49 женщин. Частоты нулевых и не нулевых генотипов генов *GSTT1* и *GSTM1*, а также частоты аллелей и генотипов *CYP2C19* представлены соответственно в табл. 2 и 3.

В исследованных выборках наибольшая частота

та нулевого генотипа гена GSTT1 отмечена у больных РЛ, при этом различия между РЛ и здоровыми лицами статистически значимы ($p = 0,000$). Выборка больных ХОБЛ по этой частоте занимает промежуточное положение между больными РЛ и здоровыми жителями Томска. Различия между выборками РЛ и ХОБЛ статистически не значимы, возможно, в силу небольшого объема материала. Таким образом, можно сделать предварительный вывод о том, что нулевой генотип гена GSTT1 не является специфическим предрасполагающим фактором именно РЛ, но может иметь отношение к другим легочным заболеваниям неонкологического генеза. Иная ситуация с геном GSTM1: в выборке больных РЛ отмечена минимальная частота нулевого генотипа, по сравнению с больными ХОБЛ и здоровыми добровольцами. В обоих случаях различия статистически значимы. Интересно, что частота нулевого генотипа у больных ХОБЛ и здоровых лиц практически одинакова. Таким образом, больные РЛ характеризуются сниженной частотой нулевого генотипа гена GSTM1, и этот маркер может быть специфичен именно для данной нозологии, что достаточно неожиданно, поскольку предполагается, что именно нулевой генотип гена GSTM1 является потенциально патологическим: нулевые аллели генов глутатион-S-трансфераз не кодируют функционально активные ферменты, которые являются важнейшим компонентом фазы детоксикации ксенобиотиков, в т. ч. известных канцерогенов, входящих, например, в состав табачного дыма.

Следует отметить, что в выборке РЛ частота нулевого генотипа гена GSTM1 в большей степени соответствует оценкам, полученным для других европеоидных популяций [6], в то время как в контроле эта частота явно завышена. Объяснить это обстоятельство пока не представляется возможным.

При анализе полиморфизма гена CYP2C19 установлено, что распределение генотипов в выборке больных РЛ статистически значимо отличается от такового у здоровых лиц ($p = 0,047$). При этом распределение генотипов у больных ХОБЛ близко к таковому у здоровых, и отличий между больными ХОБЛ и больными РЛ не показано, явно в силу малого объема исследованных выборок. Не установлено статистически значимых различий по частотам аллелей гена CYP2C19 в исследованных выборках, хотя стоит отметить, что у больных РЛ — самая низкая частота потенциально патологического аллеля CYP2C19*2, а у больных ХОБЛ — самая высокая частота этого аллеля. В целом полученные данные свидетельствуют о связи изученных маркеров генов глутатион-S-трансфераз $\theta 1$ и $\mu 1$ с РЛ (генотипы GSTT1 0/0 и GSTM1+) и об отсутствии таковой для исследованного маркера гена CYP2C19. В основе полученных ассоциаций, по-видимому, лежит функциональное значение этих поли-

морфных вариантов в детоксикации канцерогенов, специфичных для данных заболеваний. Это показано, например, при исследовании рисковости значимости для развития РЛ содержания в пище изотиоцианатов у носителей разных генотипов генов GSTT1 и GSTM1: риск заболевания был в 1,5 раза выше у лиц с нулевым генотипом по гену GSTT1, потреблявших пищу, богатую изотиоцианатами [7]. При этом риск существенно модифицировался курением: риск развития РЛ существенно повышался у курящих больных и зависел от интенсивности курения. Модифицирующее значение для риска РЛ у носителей нулевых генотипов генов GST показан также для таких факторов, как пол, возраст и генотип по другим генам [8].

Понятно, что полиморфизм генов GST — лишь один из многих наследственных факторов, существенных для развития РЛ и других онкологических заболеваний. Необходимы дальнейшие исследования на больших по объему выборках больных и контрольных индивидов. Практическим выходом их исследований такого рода может быть создание генотипических тест-систем предиктивной диагностики повышенной подверженности к онкологической патологии в конкретных средовых условиях.

Литература

1. Дубинин Н.П., Засухина Г.Д. Репаративные механизмы клеток и вирусы. М.: Наука; 1975.
2. Lahiri D. K., Bye S., Nunberg J. I. et al. A non-organic and non-enzymatic extraction method gives higher yields of genomic DNA from whole-blood samples than do nine other methods used. *J. Biochem. Biophys. Meth.* 1992; 25: 193—205.
3. Spurdle A.B., Webb P.M., Purdie D.M. et al. Polymorphisms at the glutathione S-transferase GSTM1, GSTT1, and GSTP1 loci: risk of ovarian cancer by histological subtype. *Carcinogenesis* 2001; 22: 67—72.
4. de Morais S.M.F., Wilkinson G.R., Blaisdell J. et al. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in human. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 15419—15422.
5. Флейс Дж. Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций. М.: Финансы и статистика; 1989.
6. Попова С.Н., Сломинский П.А., Галушкин С.Н. и др. Полиморфизм глутатион-S-трансфераз M1 T1 в ряде популяций России. *Генетика* 2002; 38 (2): 281—284.
7. Spitz M.R., Duphorne C.M., Detry M.A. et al. Dietary intake of isothiocyanates: evidence of a joint effect with glutathione S-transferase polymorphisms in lung cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000; 9: 1017—1020.
8. Alexandrie A.-K., Sundberg M.I., Seidegård J. et al. Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on CYP1A1 and GSTM1: a study on host factors in relation to age at onset, gender and histological cancer types. *Carcinogenesis* 1994; 15 (9): 1785—1790.