

На правах рукописи

РАКИТИН Сергей Сергеевич

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ
КСЕНОБИОТИКОВ, РЕПАРАЦИИ ДНК И РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА В
ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА ЖЕЛУДКА**

14.03.03 – патологическая физиология

14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации»

Научные руководители:

Доктор медицинских наук,
профессор, академик РАМН,
заслуженный деятель науки РФ

**Новицкий
Вячеслав Викторович**

Доктор медицинских наук

**Дмитриева
Алла Ивановна**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук,
профессор

Хлусов
Игорь Альбертович

Доктор медицинских наук,
профессор

Кондакова
Ирина Викторовна

Ведущая организация: Российский онкологический научный центр им.
Н.Н.Блохина РАМН

Защита состоится «__» _____ 2011 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации».

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России.

Автореферат разослан «__» _____ 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

И.В. Петрова

ОБЩАЯ ХАРАКТИРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Рак желудка (РЖ) стабильно остается на четвертом месте в структуре онкологических заболеваний в мире. Ежегодно регистрируется почти 800 тысяч новых случаев и 628 тысяч смертей от этого заболевания. В России самый высокий показатель заболеваемости раком желудка приходится на Новгородскую область и республику Тыва, минимальные показатели регистрируются в регионах Северного Кавказа, Магаданской области и Чукотском автономном округе. На протяжении последних лет в Томской области отмечается увеличение количества впервые выявленных случаев рака желудка, так в 2008 году было зарегистрировано 247, в 2009 – 253, а в 2010 году – 294 случая [Чиссов В.И., 2011]. По уровню смертности от рака желудка Россия в ранжированном ряду 45 стран занимает 2 место среди причин смерти у мужчин и 3 – у женщин [Имянитов Е.Н., 2009].

В настоящее время не вызывает сомнения, что рак желудка является мультифакториальным заболеванием, инициирующую роль в развитии которого играют многие гены, формирующие «генные сети». К структурным компонентам, формирующим «патологические» генные сети, можно отнести систему биотрансформации ксенобиотиков, различные системы репарации, регуляторы клеточного цикла. Работа этих систем направлена на предупреждение повреждений генетического материала клеток, исправление возникающих нарушений и поддержание генетической стабильности организма в целом.

Ключевую роль в обеспечении индивидуальной устойчивости организма к агрессивным факторам внешней и внутренней среды играет система биотрансформации ксенобиотиков [Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко И.Н., 2000; Имянитов Е.Н., Хансон К.П., 2004], полиморфные варианты генотипов которой в определенных условиях могут предрасполагать, либо, напротив, препятствовать проявлению заболевания [Nebert D.W., Carvan M.J., 1997]. В случае возникновения мутационной изменчивости включается механизм, восстанавливающий целостность генетического аппарата клетки, важнейшим представителем которой является система эксцизионной репарации ДНК, осуществляющая исправления наиболее часто встречающихся изменений в структуре ДНК. Репаративный синтез тесно сопряжен и опосредованно регулируется системой генов-регуляторов клеточного цикла [Yiu G., Tao S., 2009].

Гены-регуляторы клеточного цикла, эксцизионной репарации и

биотрансформации ксенобиотиков, вступая в сложные взаимодействия на уровне белковых продуктов, обладающих разной конформацией, предопределенной наличием полиморфных вариантов, формируют тем самым «генные сети», обуславливающие индивидуальную восприимчивость организма к развитию злокачественных новообразований [Wu E., 2009].

Цель исследования: установить роль полиморфных вариантов генов-регуляторов клеточного цикла, репарации ДНК и генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе рака желудка.

Задачи исследования:

1. Выявить частоту встречаемости вариантных генотипов системы эксцизионной репарации ДНК (*XRCC1* G280A, *XRCC1* G399A, *XRCC1* C194T, *XPD* A751C) у больных раком желудка и у здоровых лиц.
2. Определить встречаемость полиморфных вариантов генов-регуляторов клеточного цикла (*p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C и *Rb1* T137C) у больных раком желудка и у здоровых индивидов.
3. Оценить распределение полиморфных вариантов генов ферментов первой (*CYP1A1* A4889G) и второй фаз биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1* A105G, *GSTM1* и *GSTT1*) у больных раком желудка и здоровых доноров.
4. Выявить распределение полиморфных вариантов генов-регуляторов клеточного цикла, эксцизионной репарации и биотрансформации ксенобиотиков у больных раком желудка в зависимости от гистологического типа опухоли.
5. Оценить статистическую ассоциацию вариантных генов системы биотрансформации ксенобиотиков, регуляторов клеточного цикла, эксцизионной репарации ДНК с наличием регионарных и отдаленных метастазов у больных раком желудка.
6. Оценить суммарный эффект вариантных генотипов изучаемых генов трех систем на формирование риска развития злокачественных новообразований желудка.

Научная новизна: В настоящей работе представлены результаты впервые осуществленного комплексного анализа роли полиморфных генов трех систем: эксцизионной репарации, регуляторов клеточного цикла, ферментов биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе рака желудка, а также оценена популяционная частота встречаемости генов эксцизионной репарации ДНК

(*XRCC1* G280A, *XRCC1* G399A, *XRCC1* C194T, *XPD* A751C), генов-регуляторов клеточного цикла (*p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C и *Rb1* T137C), генов ферментов первой (*CYP1A1* A4889G) и второй фаз биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1* A105G, *GSTM1* и *GSTT1*) у относительно здорового населения г. Томска и Томской области. Выявлена статистическая ассоциация «патологических» вариантов генов *XRCC1* C194T, *XPD* A751C, *CYP1A1* A4889G, *GSTP1* A105G, *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C с развитием злокачественных новообразований желудка. Вариантные Т-аллель гена *XRCC1* C194T и С-аллель гена *XPD* A751C ассоциированы с формированием опухолей желудка диффузного гистологического типа. Показано увеличение частоты минорных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков *CYP1A1*, *GSTP1* и *GSTM1* и регуляторов клеточного цикла *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C у больных РЖ с выявленными очагами метастазирования. Оценены рискованные шансы развития злокачественных новообразований желудка, а также определены риски метастазирования и формирования опухолей разного гистологического типа при носительстве «патологических» вариантов генотипов. Рассчитан суммарный эффект сочетаний вариантных генотипов изученных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, эксцизионной репарации ДНК и регуляторов клеточного цикла на развитие новообразований желудка, превосходящий вклад в формирование повышенного риска развития рака желудка единичного гена. Впервые выявлен совместный вклад генов эксцизионной репарации, регуляторов клеточного цикла и биотрансформации ксенобиотиков в формирование «генной сети», приводящей к развитию злокачественных новообразований желудка, показана возрастающая рискованная значимость развития злокачественных новообразований желудка при увеличении количества минорных вариантов генов в сочетании.

Теоретическая и практическая значимость. Получены новые данные фундаментального характера о влиянии полиморфных вариантов генов эксцизионной репарации ДНК (*XRCC1* G280A, *XRCC1* G399A, *XRCC1* C194T, *XPD* A751C), генов-регуляторов клеточного цикла (*p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C и *Rb1* T137C) и генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A1* A4889G, *GSTP1* A105G, *GSTM1* и *GSTT1*) на развитие злокачественных новообразований желудка. Риск развития метастазов увеличивается при наличии минорных вариантов генов *CYP1A1*, *GSTP1*,

GSTM1, *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C. Для носителей «патологических» аллелей гена *XRCC1* C194T и *XPB* A751C повышена рискованная значимость формирования диффузного рака желудка. Оценен кумулятивный эффект отдельных вариантных генотипов в формировании сочетаний протективного и предрасполагающего характера, как в отношении развития рака желудка, так и очагов метастазирования.

Результаты данного исследования могут быть положены в основу разработки новых методов ранней диагностики рака желудка с учетом полиморфного статуса генов *XRCC1* C194T, *XPB* A751C, *p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C, *CYP1A1* A4889G, *GSTP1* A105G для формирования групп повышенного онкологического риска, а также как прогностический критерий клинического течения заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Минорные аллели генов *XRCC1* C194T, *XPB* A751C, *GSTP1* A105G, *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C и профицитный G-аллель цитохрома P-450 *CYP1A1* A4889G играют важную роль в этиологии и патогенезе рака желудка, поскольку частота встречаемости данных вариантных генотипов у онкологических больных статистически значимо превышает таковую у здоровых доноров.
2. Функционально неполноценные варианты генов *XRCC1* C194T, *XPB* A751C, *GSTP1* A105G, *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C и *CYP1A1* A4889G определяют повышенный риск развития злокачественных новообразований желудка.
3. «Патологические» варианты генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков *CYP1A1* 4889GG, *GSTP1* 105GG и *GSTM1* 0/0 и минорные варианты генотипов регуляторов клеточного цикла *p53* 72CC, *p21* 1026AA, *p21* 369CC статистически ассоциированы с формированием метастатических очагов у больных раком желудка.
4. Минорные варианты генов *XRCC1* C194T и *XPB* A751C ассоциированы с развитием диффузного гистологического типа рака желудка.
5. Суммарное предрасполагающее влияние полиморфных функционально неполноценных генов каждой из изучаемых систем: биотрансформации ксенобиотиков, регуляции клеточного цикла, эксцизионной репарации ДНК на формирование предрасположенности к развитию рака желудка превышает индивидуальный эффект вариантных генотипов.

Вклад автора: автором выполнено выделение ДНК из ядродержащих клеток периферической крови 200 больных раком желудка и 260 здоровых доноров, генотипирование образцов ДНК, статистическая обработка данных, их анализ и оформление диссертации.

Реализация и апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на VII съезде онкологов России (г. Москва, 2009); на XIV Российском онкологическом конгрессе (г. Москва, 2010).

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры патофизиологии (раздел «Патофизиология тканевого роста») и кафедры биологии и генетики ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России (разделы «Молекулярная генетика» и «Популяционная генетика»), а также в научно-практической деятельности НИИ гастроэнтерологии имени Г.К. Жерлова ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ, из них 4 статьи в ведущих рецензируемых журналах из «Перечня ...» ВАК РФ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 178 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4-х глав, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 14 рисунками, 41 таблицей. Библиографический указатель включает 261 источник, из них 76 отечественных и 185 зарубежных.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2007-2013 годы: Государственный контракт № 02.740.11.0311 от 07.07.2009 г. и Государственный контракт № П 805 от 17.08.2009г.

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу работы положены результаты клинико-лабораторного обследования 200 больных раком желудка и 260 здоровых доноров.

Обследованные пациенты находились на стационарном лечении и диспансерном учете в ОГУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск (главный врач – канд. мед. наук С.А. Коломиец) и в НИИ Гастроэнтерологии имени Г.К. Жерлова ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России, г. Северск (директор – д-р мед. наук, профессор А.П. Кошель) в период с 2008 по 2010 год. Диагноз в каждом конкретном

случае подтверждался результатами клинического, морфологического, рентгенологического, эндоскопического обследований.

Взятие биологического материала (венозная кровь) выполнялось у всех обследованных лиц однократно до начала лечения на базе диагностического отделения ОГУЗ «Томский областной онкологический диспансер» средним медицинским персоналом (заведующая диагностическим отделением – д-р мед. наук А.И. Дмитриева). Впоследствии больным раком желудка были проведены радикальные операции в сочетании с химио-/ лучевой терапией.

Средний возраст онкологических больных, среди которых было 125 мужчин и 75 женщин, на момент взятия материала составил 56 ± 9 лет.

В группу больных раком желудка и здоровых доноров были включены индивидуумы только европейского происхождения, проживающие на территории г. Томска и Томской области, поскольку существуют значительные межрасовые различия в распределении исследуемых генотипов и аллелей.

Для формирования групп больных без метастазов и пациентов, имеющих очаги метастазирования в регионарных лимфоузлах и/или в отдаленных органах использовалась международная классификация злокачественных опухолей по системе TNM (1997). Первую группу (T1-4N0M0) составили пациенты без выявленных очагов метастазирования ($n=142$, 71%); вторую – с очагами метастазирования ($n=58$, 29%), среди последних больные с поражением регионарных лимфатических узлов (T1-4N1-2M0) – 39 пациентов, с сочетанными метастатическими поражениями регионарных лимфоузлов и отдаленных органов (T1-4N1-2M1) – 19 пациентов.

Гистологическое исследование биопсийного и операционного материала больных раком желудка было проведено в лаборатории патоморфологии диагностического отделения ОГУЗ «Томский областной онкологический диспансер» (врачом-патологоанатомом, канд. мед. наук М.Ф. Яловой). В зависимости от морфологического строения опухоли больные раком желудка были разделены на 2 группы в соответствии с классификацией P. Lauren (1965). В первую группу вошли пациенты, имеющие интестинальный гистологический тип опухоли ($n=137$, 68,5%), во вторую группу – больные диффузным типом рака желудка ($n=63$, 31,5%), представленного мелко-, полиморфно- и перстневидноклеточным раком.

Группу сравнения составили здоровые лица (первичные и штатные доноры крови ОГУЗ «Томская областная станция переливания крови»),

главный врач – канд. мед. наук Е.В. Малый) с сопоставимыми характеристиками по полу и возрасту, без выявленных заболеваний желудочно-кишечного тракта, а также заболеваний онкологической природы.

Материалом для генетического исследования явилась ДНК, выделенная из ядродержащих клеток венозной крови методом осаждения ДНК на сорбенте (набор «ДНК-сорб-АМ», ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г.Москва).

Праймеры, зонды и условия ПЦР приведены в табл. 1.

Таблица 1.

Последовательность праймеров, зондов и условия проведения генотипирования

Ген (классификация rs)	Последовательность праймеров и зондов	t° отжига, С°	РТ-ПЦР/ ПДРФ	Эндо-нуклеаза
<i>GSTP1</i> A105G (rs1695)	F5'-ACC-CCA-GGG-CTC-TAT-GGG-AA-3' R5'-TGA-GGG-CAC-AAG-AAG-CCC-CT-3'	64	ПДРФ	BSTMA1
<i>GSTT1</i> (rs71957720)	F5'-GGT-CAT-TCT-GAA-GGC-CAA-GG-3' R5'-TTT-GTG-GAC-TGC-TGA-GGA-CG-3'	63	ПЦР	-
<i>GSTM1</i> (rs71900371)	F5'-TGC-TTC-ACG-TGT-TAT-GGA-GGT-TC-3' R5'-GTT-GGG-CTC-AAA-TAT-ACG-GTG-G-3'	63	ПЦР	-
<i>CYP1A1</i> A4889G (rs28588839)	F5'-TAG-GAG-TCT-TGT-CTC-ATG-CC-3' R5'-GCA-CTT-AAG-CAG-TCT-GTT-TGA-G-3'	55	ПДРФ	MspI
<i>XRCC1</i> C194T (rs1799782)	F5'-GGT-AAG-CTG-TAC-CTG-TCA-CTC-3' R5'-GAC-CCA-GGA-ATC-TGA-GCC-3' 5'-FAM-TTCTTCAGCTGGATC-3' 5'-ROX-CAGCCGGATCAACAAG-3'	64	РТ-ПЦР	-
<i>XRCC1</i> G280A (rs25489)	F5'-TGG-GGC-CTG-GAT-TGC-TGG-GTC-TG-3' R5'-CAG-CAC-TAC-CAC-ACC-CTG-AAG-G-3' 5'-FAM-GTG-CCA-GCT-CCA-ACT-CGT-ACC-3' 5'-ROX-TCC-AAC-TCA-TAC-CCC-AGC-C-3'	58	РТ-ПЦР	-
<i>XRCC1</i> G399A (rs25487)	F5'-TTG-TGC-TTT-CTC-TGT-GTC-CA-3' R5'-TCC-TCC-AGC-CTT-TAC-TGA-TA-3' 5'-FAM-CTG-CTC-CCC-GCG-TGG-CCC-3' 5'-ROX-CTG-CTC-CCC-CCG-TGG-CCC-3'	62	РТ-ПЦР	-
<i>XPD</i> A751C (rs13181)	F5'-TCA-AAC-ATC-CTG-TCC-CTA-CT-3' R5'-TCA-AAC-ATC-CTG-TCC-CTA-CT-3' 5'-FAM-CTC-TAT-CCT-CTG-CAG-CG-3' 5'-ROX-TAT-CCT-CTT-CAG-CGT-CT-3'	60	РТ-ПЦР	-
<i>p53</i> C72G (rs56275308)	F5'-ATG-AAG-CTC-CCA-GAA-TGC-3' R5'-GCC-GGT-GTA-GGA-GCT-3' 5'-FAM-CTG-CTC-CCC-GCG-TGG-CCC-3' 5'-ROX-CTG-CTC-CCC-CCG-TGG-CCC-3'	58	РТ-ПЦР	-
<i>Rb1</i> T137C (rs66624868)	F5'-GTG-CAC-AAG-CTC-CAT-AAA-GTT-CTG3' R5'-GCT-TGA-GGA-AAA-GAA-AAA-GCT-TGA3' 5'-FAM-ACT-GCT-ACT-GCG-CAA-C-3' 5'-ROX-CAA-AAC-TGC-TAC-TAC-GCA-AC-3'	58	РТ-ПЦР	-
<i>p21</i> G1026A (rs1052150)	F5'-CAT-TTC-TTT-GCT-GCA-TGA-TCT-GAG-T3' R5'-CCC-TAC-ACT-CAC-CTG-AAC-AGA-AGG-3' 5'-FAM-CAA-CCA-CAG-GGG-TTT-3' 5'-ROX-CAG-GGA-TTT-CTT-CTG-T-3'	64	РТ-ПЦР	-

Генотипирование ДНК по генам *GSTT1* и *GSTM1* проводили, используя аллель-специфичную ПЦР. Полиморфный статус генов *GSTP1* A105G и *CYP1A1* A4889G определяли методом ПЦР-ПДРФ. Визуализацию продуктов амплификации и рестрикции генов *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* A105G, *CYP1A1*

A4889G проводили с помощью электрофореза в агарозном геле. Анализ распределения полиморфных вариантов генов *XRCC1* G280A, *XRCC1* G399A, *XRCC1* C194T, *XPB* A751C, *p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C и *Rb1* T137C проводили методом RT-ПЦР, используя амплификатор "iQ iCycler" 5.0 (Bio-Rad, США). Детекция продуктов осуществлялась с помощью системы TaqMan Assay прибора "iQ iCycler" 5.0.

При сравнении частоты генотипов и аллелей использовался стандартный критерий χ^2 Пирсона [Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., 2006].

Относительный риск (OR – oddis ratio) развития заболевания оценивали по стандартной формуле: $OR = a/b * d/c$, где a и b – количество больных, имеющих и не имеющих мутантный генотип, d и c – количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих мутантный генотип. OR указан с 95%-ным доверительным интервалом CI (Confidence interval) [Флейс. Дж., 2007].

В соответствии с Указом Президента РФ от 24.12.1993 № 2288 было получено разрешение этического комитета № 1267 от 18 января 2010 на взятие клинического материала для проведения исследования, а также информированные согласия пациентов и здоровых доноров.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Множество работ подчеркивают важную роль генетических полиморфизмов, т.е. существование не одной, а нескольких различающихся по структурно-функциональной организации форм гена, предопределяющих ограниченный протективный либо предрасполагающий эффект к онкологическим заболеваниям [Чердынцева Н.В. и др. 2006; Имянитов Е.Н., 2009; Карселадзе А.И., 2009]. Аллельные варианты генов лежат в основе таких мультифакториальных заболеваний, как атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, бронхиальная астма, опухоли, формируя «генные сети». В каждой из таких сетей выделяют главные гены, обеспечивающие координацию функций остальных элементов, и дополнительные, называемые также генами-модификаторами, которые ускоряют и углубляют патологический процесс [Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко И.Н., 2000].

В ходе проведенного исследования выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости профицитного G-аллеля гена *CYP1A1* и минорного варианта гена *GSTP1* у больных раком желудка ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц (табл. 2).

Распределение вариантных генотипов (в абс. знач. и в %) генов *XRCC1 G280A*, *XRCC1 G399A*, *XRCC1 C194T*, *XPB A751C*, *p53 G72C*, *p21 G1026A*, *p21 G369C*, *Rb1 T137C*, *CYP1A1 A4889G*, *GSTP1 A105G*, *GSTM1* и *GSTT1* у больных раком желудка и здоровых лиц

Ген	Генотип	Здоровые лица, n=260		Больные раком желудка, n=200		p, χ^2
		n	%	n	%	
<i>XRCC1 G280A</i>	GG	237	91,2	176	88,0	p=0,114 $\chi^2=4,34$
	GA	23	8,8	21	10,5	
	AA	0	0	3	1,5	
<i>XRCC1 G399A</i>	GG	167	64,2	115	57,5	p=2,64 $\chi^2=0,26$
	GA	72	27,7	62	31,0	
	AA	21	8,1	23	11,5	
<i>XRCC1 C194T</i>	CC	242	93,1	167	83,5	p=0,003 $\chi^2=11,5$
	CT	18	6,9	31	15,5	
	TT	0	0	2	1,0	
<i>XPB A751C</i>	AA	209	80,4	93	46,5	p=0,000 $\chi^2=68,72$
	AC	44	16,9	62	31,0	
	CC	7	2,7	45	22,5	
<i>p53 G72C</i>	GG	76	29,2	43	21,5	p=0,010 $\chi^2=9,134$
	GC	127	48,9	89	44,5	
	CC	57	21,9	68	34,0	
<i>p21 G1026A</i>	GG	168	64,5	102	51,0	p=0,001 $\chi^2=13,064$
	GA	75	28,9	67	33,5	
	AA	17	6,5	31	15,5	
<i>p21 G369C</i>	GG	198	76,2	132	66,0	p=0,007 $\chi^2=9,963$
	GC	53	20,4	48	24,0	
	CC	9	4,4	20	10,0	
<i>Rb1 T137C</i>	TT	185	71,2	137	68,5	p=0,225 $\chi^2=2,980$
	TC	66	25,4	49	24,5	
	CC	9	3,4	14	7,0	
<i>CYP1A1 A4889G</i>	AA	243	93,5	159	79,5	p=0,000 $\chi^2=21,10$
	AG	17	6,5	38	19,0	
	GG	0	0,0	3	1,5	
<i>GSTP1 A105G</i>	AA	177	68,1	93	46,5	p=0,000 $\chi^2=33,901$
	AG	74	28,5	107	53,5	
	GG	9	3,46	0	0,0	
<i>GSTT1</i>	+	203	78,1	169	84,5	p=0,105 $\chi^2=2,61$
	0/0	57	21,9	31	15,5	
<i>GSTM1</i>	+	145	55,8	93	46,5	p=0,060 $\chi^2=3,53$
	0/0	115	44,2	107	53,5	

Примечание: p – уровень статистической значимости различий частоты генотипов между группами больных раком желудка и здоровыми донорами, χ^2 – стандартный критерий Пирсона для сравнения частоты генотипов и аллелей генов

При проведении сравнительного генотипирования *XRCC1 G399A* была выявлена лишь тенденция к увеличению частоты встречаемости минорного А-аллеля у больных РЖ по сравнению с таковой у здоровых (27,0 и 21,9% соответственно). Анализ распределения генотипов *XRCC1 G399A* в группах обследованных лиц достоверных отличий не выявил (рис 1).

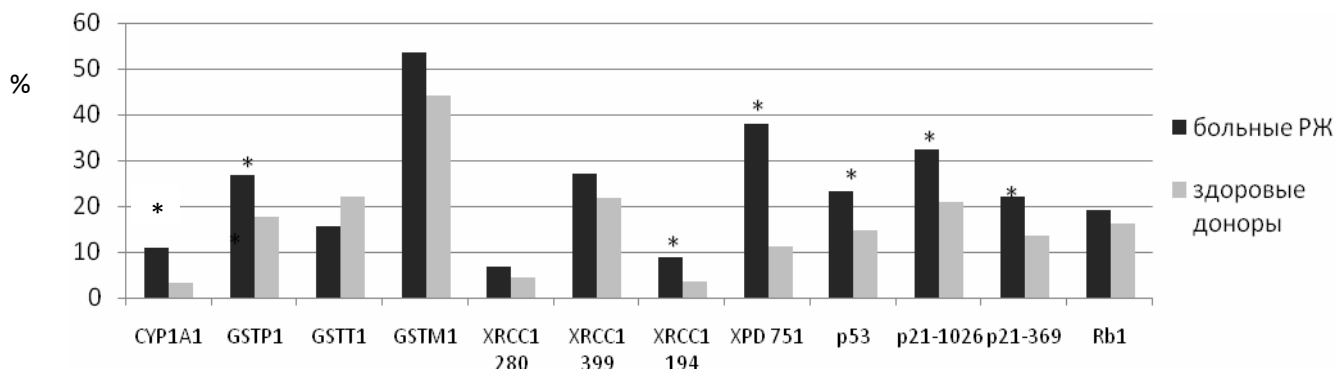


Рис. 1. Частота (в %) G-аллеля гена *CYP1A1*, G-аллеля гена *GSTP1*, функционально неполноценных генотипов генов *GSTT1*, *GSTM1* и «патологических» вариантов аллелей генов *XRC1* G280A, *XRC1* G399A, *XRC1* C194T, *XPD* A751C, *p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C, *Rb1* T137C у больных раком желудка и здоровых доноров. * – достоверность различий в распределении аллелей у группы больных РЖ по сравнению с аналогичным показателем у здоровых доноров.

Реализация главной задачи генетического материала (сохранение целостности и первоначальной структуры ДНК) не возможна без участия регуляторов клеточного цикла, обеспечивающих продвижение клетки по митотическому циклу. Наличие полиморфных вариантов генов, участвующих в регуляции клеточного цикла, обеспечивает индивидуальную особенность в восприимчивости клетки и организма в целом к факторам внешней и внутренней среды и другим особенностям в реализации метаболических, репаративных и митотических событий [Кузьмина Н.С., и др. 2007; Шилова О.Ю., 2008; Шилова О.Ю., Уразова Л.Н., 2010]. Согласно полученным данным относительно распределения полиморфных вариантов генов клеточного цикла, у больных раком желудка было выявлено значимое увеличение частоты встречаемости «патологического» аллеля С гена *p53* G72C (рис. 1), выполняющего центральную регуляторную функцию в клеточном цикле, зачастую называемого в литературе «хранителем генома», по сравнению с таковой у здоровых лиц (56,25 и 46,35% соответственно, при $p < 0,05$). Кроме того, обращало на себя внимание значимое увеличение частоты встречаемости СС-генотипа гена *p53* у больных РЖ по сравнению с таковой у здоровых доноров (34,00 и 21,92% соответственно).

Осуществление основной функции *p53* является сложным многокомпонентным процессом, требующим экспрессии многих генов, в том числе *p21* и *Rb1*. В ходе проведенного исследования были оценены два генных полиморфизма гена *p21* – это G1026A и G369C. Для обоих из них были выявлены значимые отличия при сравнении распределения частоты

встречаемости у больных РЖ и здоровых доноров (табл. 2). Было показано статистически значимое увеличение частоты А-аллеля гена *p21 G1026A* у больных РЖ по сравнению с таковой у здоровых лиц (32,25 и 20,96% соответственно, при $p < 0,05$). Обращало на себя внимание также достоверное увеличение ($p < 0,05$) частоты встречаемости GA- и AA-генотипов (табл.2) у больных раком желудка (33,50 и 15,50% соответственно) по сравнению с таковой у здоровых лиц (28,85 и 6,54% соответственно). Аналогичная закономерность была выявлена при изучении распределения вариантных генотипов гена *p21 G369C*. Было зарегистрировано, в частности, увеличение частоты встречаемости минорного аллеля гена *p21 G369C* у больных РЖ по сравнению с таковой у здоровых (32,25 и 10,96% соответственно). Анализ распределения генотипов выявил также наличие статистически значимого увеличения частоты патологических GC- и CC-генотипов гена *p21 G369C* у больных РЖ (24,00 и 10,00% соответственно) по сравнению с аналогичным показателем у лиц без выявленной онкопатологии (20,38 и 3,46% соответственно, $p < 0,05$).

Увеличение частоты встречаемости минорных генотипов и аллелей гена *p21* у больных раком желудка может свидетельствовать о значимости привносимых изменений «патологических» генотипов в конформационную или функциональную характеристику кодируемого белкового продукта, обеспечивающего индивидуальные особенности во взаимодействии компонентов – участников регуляции клеточного цикла.

Изучение встречаемости аллельных вариантов гена *Rb1* не выявило значимых различий в распределении их частоты у больных раком желудка и здоровых лиц ($p > 0,05$).

В ходе проведенного анализа частоты распределения аллельных вариантов генов *XRCC1 C194T*, *XPD A751C*, *p53 G72C*, *p21 G1026A*, *p21 G369C*, *CYP1A1 A4889G*, *GSTP1 A105G* были оценены риски развития злокачественных новообразований желудка (рис.2), носительство минорных аллелей которых повышает риск развития интервале 1,6-4,8 раза.

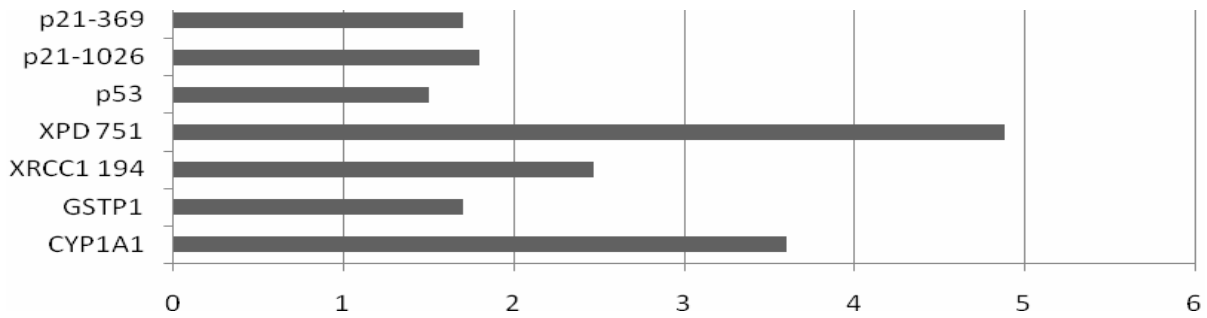


Рис. 2. Показатели относительного риска (OR) развития злокачественных новообразований желудка для носителей минорных аллелей генов *XRC1* C194T, *XPD* 751, *p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C, *CYP1A1* A4889G, *GSTP1* A105G при $p < 0,05$.

В настоящее время достаточно подробно описаны процессы, способствующие реализации агрессивного поведения опухолевого клона. Ключевым фактором в реализации метастазирования, по мнению авторов [Parkin D.M. et al., 2004; Yio J. et al., 2007] эпителиально-мезенхимальный переход, потеря адгезивных контактов, изменение концентрации ионов, имеет значение также автономность опухолевого клона, приобретение новых свойств клетками опухолевого клона. Существует мнение [Карселадзе А.И., 2009], согласно которому, приобретение вышеописанных свойств оценивается как результат повышенной мутагенности и реализации естественного отбора внутри первично трансформированных клеток опухоли.

С целью изучения участия вариантных генов системы биотрансформации ксенобиотиков, регуляторов клеточного цикла и репарации ДНК в приобретении опухолевым клоном способности к метастазированию в настоящей работе была осуществлена попытка изучения распределения аллельных вариантов генотипов у больных РЖ с очагами метастазирования и без таковых. Для этого всех пациентов в зависимости от распространенности опухолевого процесса разделили на две группы в зависимости от наличия, либо отсутствия очагов метастазирования. Анализ результатов исследования по распределению полиморфных вариантов генотипов и аллелей генов биотрансформации ксенобиотиков первой и второй фазы, регуляторов клеточного цикла показал увеличение частоты минорных вариантов генов *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C у больных РЖ с выявленными очагами метастазирования по сравнению с аналогичным показателем у больных без таковых (рис. 3) при $p < 0,05$. Анализ полиморфного статуса системы эксцизионной репарации ДНК не выявил значимых различий

в распределении полиморфных вариантов генов *XRCC1* и *XPB* у больных с очагами метастазирования и без таковых.

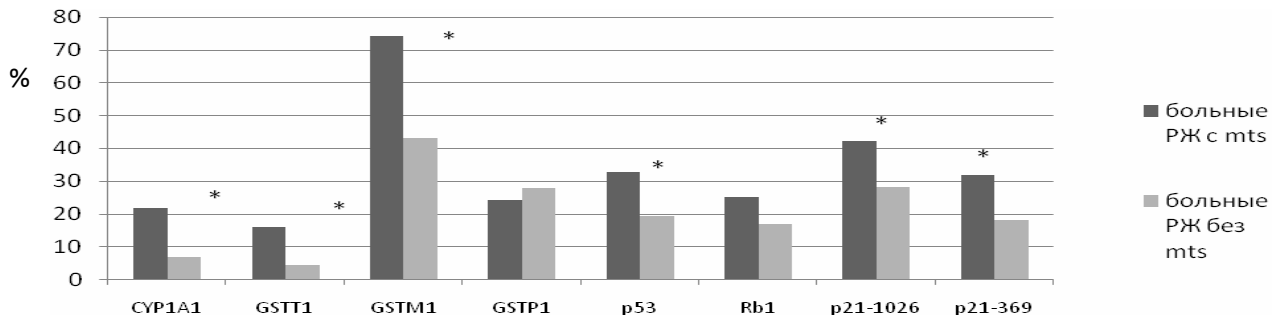


Рис. 3. Частота встречаемости (%) «патологических» генотипов генов *GSTT1*, *GSTM1* и минорных аллелей *p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C, *CYP1A1* A4889G, *GSTP1* A105G у больных раком желудка с метастазами и без таковых. * - достоверность различий по сравнению с больными РЖ без метастазов ($p < 0,05$).

Полученные данные об увеличении частоты встречаемости минорных вариантов аллелей позволяют предполагать важность влияния генетических полиморфизмов изученных генов-регуляторов клеточного цикла и биотрансформации ксенобиотиков на приобретение опухолевым клоном новых свойств, позволяющих увеличивать агрессивность поведения. С целью определения количественной оценки влияния «патологических» генов на развитие очагов метастазирования была осуществлена попытка расчета рисков метастазирования (рис.4).

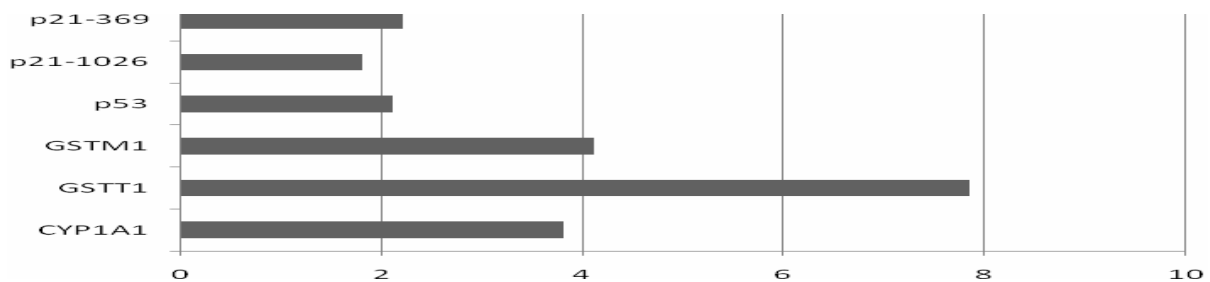


Рис. 4. Показатели относительного риска (OR) метастазирования у больных раком желудка для носителей минорных аллелей генов *p53* G72C, *p21* G1026A, *p21* G369C, *GSTT1*, *GSTM1*, *CYP1A1* A4889G при $p < 0,05$.

Интересным, на наш взгляд, представлялось оценить частоту распределения полиморфных вариантов изученных генов в зависимости от гистологического типа опухоли.

Проведенное изучение частоты распределения вариантных генотипов генов-регуляторов клеточного цикла и биотрансформации ксенобиотиков у

больных с разными гистологическими типами опухоли не выявило значимых отличий. Анализ же распределения генов эксцизионной репарации ДНК показал, что минорные варианты генов *XPD A751C* и *XRCC1 C194T* статистически ассоциированы с развитием диффузного типа рака желудка.

В ходе проведенного анализа распределения вариантных генотипов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, репарации ДНК и регуляторов клеточного цикла в зависимости от размера опухолевого узла (стадия T) у больных РЖ значимых отличий выявлено не было.

Авторы работ, посвященных изучению влияния полиморфизмов на развитие заболеваний, в том числе онкологической природы, высказывают мнение о том, что вклад одного генного полиморфизма в развитие патологии не является значительным и не может предопределять развитие или течение того или иного заболевания [Пирузян Л.А., 2000; Севостьянова Н.В. и др., 2005; Дмитриева А.И., 2009]. При этом каждый клинически значимый генный полиморфизм несет определенный малый эффект, сумма которых зачастую, формируя «патологические генные сети», способствует реализации патологического процесса на уровне организма.

Оценка вклада генных сетей в развитие РЖ на уровне выявления комбинаций, обладающих протективным или предрасполагающим свойствами, показала наличие подобных комбинаций во всех трех изученных системах. Так, для системы биотрансформации ксенобиотиков нами были выявлены комбинации, предрасполагающие к развитию РЖ. Примером таких сочетаний могут служить следующие комбинации: *CYP1A1AG/GSTP1AG/GSTM1/GSTT1*; *CYP1A1AG/GSTP1AA/GSTM0/GSTT1* и *CYP1A1AA/GSTP1AG/GSTM0/GSTT1*, частота встречаемости которых у больных раком желудка значимо превосходила аналогичный показатель у здоровых лиц ($p < 0,05$), при этом риск развития РЖ при носительстве данных генотипов у здоровых индивидов возрастает в диапазоне от 3,27 до 9,39. Характерной особенностью выявленных комбинаций генов, обладающих предрасполагающими свойствами к формированию риска развития злокачественных новообразований желудка, явилось наличие двух генов в минорном варианте генотипа. Аналогичным образом выявлены и комбинации, обладающие протективным действием: *CYP1A1AA/GSTP1AA/GSTM1/GSTT1*, *CYP1A1AA/GSTP1AA/GSTM1/GSTT0* и *CYP1A1AA/GSTP1AA/GSTM0/GSTT0*, риск развития (OR) для носителей данных комбинаций колеблется в диапазоне 0,25-0,48 при $p < 0,05$. Особенностью

протекторных комбинаций явилось наличие в них минорных генотипов генов *GSTM1* и *GSTT1* в различных вариантах и отсутствие минорных вариантов генов *CYP1A1* и *GSTP1*.

Проведенный анализ сочетаний генов эксцизионной репарации ДНК также выявил комбинации с выраженным протективным (*XRCC1 280GG/XRCC1 399GG/XRCC1 194CC/XPD751AA*) и предрасполагающим действием (*XRCC1 280GG/XRCC1 399GG/XRCC1 194CT/XPD 751AC*, *XRCC1 280GG/XRCC1 399GG/XRCC1 194CC/XPD 751CC*, *XRCC1 280GG/XRCC1 399 GA/XRCC1 194CC/XPD 751CC*). Риск развития (ОР) РЖ для носителей данных предрасполагающих сочетаний генов, особенностью которых является наличие в генотипе как минимум двух минорных аллелей, одним из которых является обязательно вариантный С-аллель гена *XPD A751C*, увеличивается в диапазоне от 6 до 14 раз, при $p < 0,05$.

При изучении сочетаний генотипов регуляторов клеточного цикла было выявлено 5 комбинаций генов, обладающих протективным действием: *p53 72GG/p21 1026GA/p21 369GG/Rb1 TT*, *p53 72GC/p21 1026GA/p21 369GG/Rb1 TT*, *p53 72GG/p21 1026GA/p21 369CC/Rb1 TT*, *p53 72CC/p21 1026GA/p21 369GG/Rb1 TT* и *p53 72GG/p21 1026GA/p21 369GG/Rb1 TC* и 4 комбинации с предрасполагающим действием: *p53 72GG/p21 1026GG/p21 369GG/Rb1 TT*, *p53 72GC/p21 1026GG/p21 369GG/Rb1 TT*, *p53 72CC/p21 1026GG/p21 369GG/Rb1 TT*, *p53 72CC/p21 1026GG/p21 369GC/Rb1 TT*, увеличивающие риск развития злокачественных новообразований желудка при носительстве у здоровых доноров в диапазоне от 6 до 12 раз. Выявленной характерной особенностью предрасполагающих комбинаций генов эксцизионной репарации явилось наличие в них GG-генотипов гена *p21 G1026A* и TT-генотипа гена *Rb1 C137T*.

Изучение распределения вариантных генотипов компонентов систем биотрансформации ксенобиотиков, регуляции клеточного цикла и репарации ДНК является не случайным. Выбор этих трех систем в виде объекта исследования обусловлен сложными механизмами, взаимно связывающими эти системы функционально. Слаженная работа на уровне системы биотрансформации ксенобиотиков обеспечивает инактивацию экзо- и эндогенных генотоксических соединений и их выведение из организма.

Первая фаза системы биотрансформации ксенобиотиков является ключевым звеном активации метаболитов, реализация которой проходит при

участии цитохромов P-450, важную роль среди которых играет изоформный белок, кодируемый геном *CYP1A1* [Дмитриева А.И., 2009]. Изученный полиморфный вариант гена *CYP1A1*, характеризующийся заменой А→G предопределяет повышенную ферментативную активность продукта транскрипции гена *CYP1A1* [Дмитриева А.И., 2009]. Активируя широкий спектр канцерогенных веществ, изученный полиморфный вариант гена *CYP1A1* способствует накоплению в клетке большого количества веществ, обладающих генотоксическими эффектами [Wei Q. et al., 1996; Buterin T. et al., 2000; Tang M.S. et al., 2000; Shimada T., 2004]. Однако активированные промежуточные метаболиты при гармоничном сопряжении двух фаз биотрансформации инактивируются в том числе глутатион-S-трансферазами путем конъюгации [Armstrong R.N., 1997; Townsend D.M., Tew K.D., 2003]. Влияние изученных нами полиморфных вариантов генов четырех ферментов биотрансформации: *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* на формирование предрасположенности и увеличение вероятности реализации злокачественного процесса дает возможность на основании выявленной статистической ассоциации встречаемости минорных вариантов и наличия сочетаний генотипов, обладающих явными предрасполагающими свойствами, обосновать значимость вариаций генотипов ферментов первой и второй фазы биотрансформации ксенобиотиков в развитии злокачественных новообразований желудка. При этом не вызывает сомнения, что реализация злокачественных новообразований желудка не возможна без участия многих других факторов и систем, участвующих в поддержании клеточного гомеостаза.

Наличие минорных вариантов генов-регуляторов клеточного цикла делает возможным изменение уровня контроля над остановкой клеточного цикла и не обеспечивает полноценной реализации исправления генетического аппарата клетки. С-генотип гена *p53* и минорные варианты генов *p21* и *Rb1* оказывают значимое влияние на развитие злокачественных новообразований желудка, уменьшая контроль над прохождением клеточного цикла и не осуществляя элиминации измененных клеток путем апоптотической гибели [Marchenko N.D. et al., 2000], которая в норме осуществляется через *p53*-опосредованное увеличение экспрессии *p21* и активацию каспаз [Fan G. et al. 2004; Bai L., Zhu W.G., 2006]. Важной функцией *p53* в поддержании клеточного гомеостаза является контроль над реализацией репаративных процессов. Так, для

полиморфного варианта гена *p53* (С-аллель), кодирующего Pro-фенотип, была показана более высокая степень контроля над активацией и реализацией основной функции репаративной системы, а для Arg-фенотипа (G-аллель) *p53* – большая специфичность в запуске и реализации апоптоза клетки [Siddique M.M. et al., 2005; Cherdyntseva N.V., et al., 2010]. Регуляторы клеточного цикла запускают экспрессию генов, кодирующих компоненты системы репарации ДНК. В зависимости от степени выраженности повреждения запускаются разные системы репарации ДНК, однако, согласно имеющимся данным, чаще всего при обычных условиях обитания (без чрезмерных канцерогенных нагрузок) активируется система эксцизионной репарации, являющаяся самой ранней по времени запуска и исправляющая однонуклеотидные замены и измененные сахаро-фосфатные остовы в нити ДНК.

Существование множества изоформ генов, тонкая организация работы, многоплановое их функционирование в реализации многих процессов, протекающих в клетке, позволили рассматривать влияние полиморфизмов изученных генов как значимые факторы формирования предрасположенности к развитию новообразований желудка. Об этом могут свидетельствовать полученные нами данные по распределению генотипов и аллелей, а также результаты оценки суммарного вклада генов в комбинации, обладающие предрасполагающим или протективным действием.

Проведенное исследование распределения генетических полиморфизмов у больных раком желудка с разными клинико-морфологическими характеристиками выявило значимость вариантных генотипов в формировании предрасположенности к развитию рака желудка и его отдельных клинико-морфологических характеристик. При этом, однако, необходимо отметить, что вклад каждого из генов в реализацию злокачественного процесса не является определяющим для его развития. В большей степени реализации злокачественных новообразований желудка способствует формирование генных сетей, состоящих из множества «патологических» форм генов, в конечном итоге определяющих развитие процесса и характер его течения, о чем может свидетельствовать интегральный вклад суммы «патологических» генотипов в формирование высоких рисков показателей развития злокачественных новообразований желудка.

ВЫВОДЫ

1. Частота полиморфных вариантов генов *XRCC1* C194T и *XPB* A751C, характеризующихся меньшим сродством к компонентам репаративного комплекса, у больных раком желудка превышает таковую у здоровых лиц.
2. При распределении вариантных генотипов генов системы регуляции клеточного цикла у пациентов со злокачественными новообразованиями желудка частота встречаемости минорных (дефицитных) вариантов генов *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C выше, чем у здоровых доноров.
3. Частота G-аллеля гена *CYP1A1* G4889A и G-аллеля гена *GSTP1* G105A у больных раком желудка увеличена по сравнению с таковой у здоровых.
4. Рисковую значимость для развития злокачественных новообразований желудка имеет носительство «патологических» вариантов следующих генов: *CYP1A1* G4889A, *GSTP1* G105A, *XRCC1* C194T, *XPB* A751C, *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C.
5. Частота встречаемости минорных аллелей генов *XRCC1* C194T и *XPB* A751C у больных диффузным раком желудка выше таковой у пациентов, имеющих интестинальный тип опухоли.
6. «Патологические» варианты генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков *CYP1A1* G4889A, *GSTP1* G105A и *GSTM1*, минорные варианты генотипов регуляторов клеточного цикла: *p53* G72C, *p21* G1026A и *p21* G369C статистически ассоциированы с развитием метастатических поражений у больных раком желудка, обуславливая приобретение агрессивных свойств опухолевыми клонами.
7. Влияние функционально неполноценных генов систем биотрансформации ксенобиотиков, регуляции клеточного цикла, эксцизионной репарации ДНК в комбинациях оказывают более выраженный предрасполагающий эффект на развитие злокачественных новообразований желудка, чем отдельный аллельный вариант гена.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Исследование полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков GSTT1, GSTM1 и GSTP1 у больных раком предстательной железы / С.С. Ракитин // Материалы Всероссийской 66-ой итоговой студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова, г. Томск, 23-25 апреля 2007 г. – Томск, 2007. – С. 348-349.
2. Анализ полиморфных вариантов генов глутатион-S-трансфераз T1, M1 и P1 у больных раком предстательной железы / Н.А. Давыдова, А.И. Дмитриева, Н.В. Севостьянова, С.П. Селиванов, С.С. Ракитин, В.В. Новицкий // Материалы XI Российского онкологического конгресса, г. Москва, 20-22 ноября 2007 г. – Москва, 2007. – С. 224.
3. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз как фактор генетической предрасположенности к раку легкого и раку предстательной железы / Т.А. Никонова, О.С. Шкода, С.С. Ракитин // Материалы Всероссийской 67-ой итоговой студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова, г. Томск, 21-23 апреля 2008 г. – Томск, 2008. – С. 392-393.
4. Исследование полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков GSTT1, GSTM1 и CYP1A1 у больных раком легкого / И.А. Кузнецова, С.С. Ракитин // Материалы Всероссийской 68-ой итоговой студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова, г. Томск, 20-22 апреля 2009 г. – Томск, 2009. – С. 279-280.
5. Полиморфизм генов эксцизионной репарации ДНК и генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков у больных раком желудка / Н.В. Севостьянова, А.М. Некрасова, А.П. Кошель, А.И. Дмитриева, С.И. Мартов, С.С. Клоков, С.С. Ракитин // **Якутский медицинский журнал.** – 2009. – № 2 (26). – С. 111-113.
6. Роль генов эксцизионной репарации ДНК в патогенезе рака желудка / С.С. Ракитин, А.И. Дмитриева, С.И. Мартов, А.П. Кошель, Н.Н. Плотникова, Н.В. Севостьянова, И.В. Панкратов, В.В. Новицкий // Сборник материалов научно-практической конференции с международным участием «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и онкологии. Национальная онкологическая программа» в рамках VII съезда онкологов России, г. Москва, 29-30 ноября 2009 г. – Москва, 2009. – С. 75-76.

7. Полиморфизм гена CYP1A1 у больных раком желудка / А.И. Дмитриева, А.П. Кошель, С.И. Мартов, Н.В. Севостьянова, С.С. Ракитин, С.С. Клоков, Р.С. Лобачев, А.В. Красноперов // Сборник материалов научно-практической конференции с международным участием «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и онкологии. Национальная онкологическая программа» в рамках VII съезда онкологов России, г. Москва, 29-30 ноября 2009 г. – Москва, 2009. – С. 93-94.
8. Полиморфизм генов первой и второй фазы биотрансформации ксенобиотиков у больных раком желудка / С.И. Мартов, Н.В. Севостьянова, А.И. Дмитриева, А.П. Кошель, Е.А. Степовая, С.С. Клоков, С.С. Ракитин, Е.В. Залесная, А.В. Карпович, Е.И. Маевский // **Сибирский онкологический журнал.** – 2010. – № 4. С. 30-33.
9. Анализ полиморфизма генов репарации ДНК XRCC1 G280A, XRCC1 C194T, XRCC1 G399A и XPD A751C у больных раком желудка / А.И. Дмитриева, В.В. Новицкий, С.С. Ракитин, Н.В. Севостьянова, С.А. Коломиец // Сборник материалов XIV Российского онкологического конгресса, г. Москва, 23-25 ноября 2010 г. – Москва, 2010. – С. 287-288.
10. Роль генов эксцизионной репарации ДНК и генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в ранней диагностике рака желудка / А.П. Кошель, Н.В. Севостьянова, С.С. Клоков, А.В. Карпович, А.И. Дмитриева, С.С. Ракитин, С.И. Мартов, Е.В. Залесная // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2010. – Т. 3, № 4. – С. 339-343.
11. Генетический полиморфизм системы репарации ДНК у больных раком желудка с различными гистологическими типами опухоли / С.С. Ракитин, А.И. Дмитриева, В.В. Новицкий, И.А. Кузнецова, Н.В. Севостьянова // **Фундаментальные исследования.** – 2011. – № 3. – С. 125-130.