



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **57452** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/49 (2011.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО МАРКЕРА ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ У ХВОРИХ НА ЛІМФОМУ ХОДЖКІНА

1

2

(21) u201010230

(22) 19.08.2010

(24) 25.02.2011

(46) 25.02.2011, Бюл.№ 4, 2011 р.

(72) ХРАНОВСЬКА НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА, КРЯЧОК ІРИНА АНАТОЛІЇВНА, СВЕРГУН НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА, ТИТОРЕНКО ІРИНА БОРИСІВНА, НОВОСАД ОЛЬГА ІГОРІВНА, ПОЗУР ВОЛОДИМИР КОСТЯНТИНОВИЧ, СІТЬКО ВАЛЕНТИНА ВІТАЛІЇВНА, СКАЧКОВА ОКСАНА ВОЛОДИМІРІВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ

(57) Спосіб визначення молекулярно-генетичного маркера прогнозування перебігу захворювання у хворих на лімфому Ходжкіна, що включає виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти з біологічного матеріалу та проведення ампліфікації поліморфного району методом полімеразної ланцюгової реакції, який **відрізняється** тим, що визначення поліморфного варіанта гена проводять в один етап з використанням флуоресцентних TaqMan-зондів MGB-типу з детекцією результатів в режимі реального часу.

Заявка належить до медицини, а саме до онкології, і може бути використана для визначення поліморфного варіанту гену глутатіон-S-трансферази P1 (GSTP1) у хворих на лімфому Ходжкіна (ЛХ).

Сучасні принципи лікування ЛХ ґрунтуються на визначенні факторів прогнозу перебігу захворювання з метою максимально раннього та точного формування «груп ризику» хворих, що забезпечить можливість оптимізації програм терапії вже на ранніх етапах лікування. До прогностичних факторів ЛХ належать: вік, стать, стадія захворювання, наявність симптомів інтоксикації, об'єм пухлинної маси, масивне ураження селезінки, наявність ізольованого екстранодального пошкодження, залучення трьох і більше зон лімфатичних вузлів, підвищення швидкості зсідання еритроцитів. Відповідно до наявності або відсутності цих факторів хворих розподіляють на три прогностичні групи: зі сприятливим, несприятливим та проміжним прогнозом. [1] Досі у кожній групі ризику залишається 10-20 % хворих, у яких застосування сучасних лікувальних програм недостатньо ефективно, отже, вивчення факторів, що дозволяють прогнозувати перебіг захворювання, залишається актуальним. Тому багатьма лабораторіями ведеться активний пошук молекулярних і генетичних факторів, які могли б прогнозувати більш агресивний перебіг ЛХ й визначити групу хворих, які потребують інтенсифікації терапії. [2]

У всьому світі інтенсивно досліджується потенційна роль генетичного поліморфізму гену GSTP1 у захисті організму від оксидативного стресу, виникненні та перебігу злоякісних новоутворень. GSTP1 - фермент II фази детоксикації ксенобіотиків, задіяний у метаболізмі канцерогенів, протиракових препаратів та продуктів їх розпаду. GSTP1 каталізує реакцію глутатіону з різноманітними аліфатичними, ароматичними, епоксидними і гетероциклічними радикалами екзогенних шкідливих речовин. Ген, що кодує GSTP1 розташований на 11 хромосомі. Поліморфізм гену GSTP1 по одному нуклеотиду у 105 ко доні 5 екзону є результатом заміщення нуклеотиду аденіну (A) на гуанін (G), що призводить до заміни в пептидному ланцюгу молекули ферменту амінокислоти ізолейцину на валін (Ile→Val). [3] Мутантний тип алелі, валін, асоціюється з вищою активністю ферменту у порівнянні з диким типом алелі, ізолейцином. Окрім участі у детоксикації ксенобіотиків, GSTP1 також задіяний у регулюванні клітинної проліферації та апоптозу. [4] Дикий генотип (PeЯie) частіше виявляють у пацієнтів з III-IV стадіями захворювання і у пацієнтів з агресивними формами лімфоми Ходжкіна та пов'язують з високим ризиком розвитку рецидивів та швидкою прогресією захворювання. [5]

За прототип нами обрано спосіб визначення поліморфного варіанту гену глутатіон-S-трансферази P1 у зразках крові хворих на рак яеч-

(19) **UA** (11) **57452** (13) **U**

ника (Полиморфізм генів глутатіон-S-трансферази і результати хіміотерапії рака яєчника/ А.А. Моисеев, А.В. Хрунин, Е.М. Павлюшина, Н.А. Пирогова, В.А. Горбунова, С.А. Лимборская //Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. - 2008. - Т. 19. - № 1. - с. 59-64), де досліджують поліморфізм гену глутатіон-S-трансферази Р1 у хворих на рак яєчника з метою оцінки його прогностичної значимості за допомогою методу визначення поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Проведення аналізу включає такі етапи: виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) з біологічного матеріалу, ампліфікація поліморфного району методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням специфічних праймерів, розщеплення продуктів ампліфікації за допомогою відповідних ендонуклеаз рестрикції, детекція продуктів реакції методом гелелектрофорезу.

Позитивним в прототипі є те, що метод визначення поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів є надійним та легко відтворюваним методом дослідження поліморфізму генів.

Недоліком прототипу є те, що метод визначення поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів є тривалим, багатоетапним та трудомістким процесом.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб визначення молекулярно-генетичного маркера прогнозування перебігу захворювання у хворих на лімфому Ходжкіна шляхом визначення поліморфного варіанту гену GSTP1 за допомогою методу ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу, що дасть можливість прогнозувати перебіг лімфоми Ходжкіна і проводити оптимізацію програм терапії хворих вже на перших етапах лікування.

Поставлена задача вирішується наступним чином:

У хворого забирають 5 мл периферичної крові. Збір крові проводять натщесерце із ліктьової вени одноразовою голкою (діаметр 0.8-1.1 мм) в одноразовий шприц об'ємом 5 мл чи спеціалізовану вакуумну систему типу "Venojekt" (з ЕДТА), "Vacuett®" (кришки бузкового кольору – 6 % ЕДТА). При заборі в шприц кров з нього обережно (без утворення піни) переносять в одноразову пластикову пробірку з антикоагулянтом (6 % розчин ЕДТА в співвідношенні 1:20 чи 3.8 % розчину цитрату Na в співвідношенні 1:9). Пробірку накривають кришкою та перевертають декілька разів (для перемішування крові з антикоагулянтом). Для отримання плазми пробірку із зразками периферичної крові центрифугують протягом 5 хвилин при 1500 об/хв. Для визначення поліморфного варіанту гену GSTP1 використовують геномну ДНК, отриману з плазми периферичної крові хворих. Усі маніпуляції проводять з дотриманням правил асептики.

ДНК з периферичної крові виділяють за допомогою колонок "QIAamp DNA BLOOD Mini Kit" фірми "QIAGEN" (США), згідно рекомендації фірми-виробника. Для роботи з ДНК використовують тільки одноразові стерильні пластикові матеріали, які мають спеціальні маркування "Rnase-free", "Dnase-free". Використаний пластиковий посуд (пробірки, накінечники) повинен знезаражуватися в спеціальному контейнері, який містить дезінфікуючий розчин або 1Н розчин соляної кислоти.

Хід методики виділення ДНК:

- В одноразові пластикові пробірки об'ємом 1.5 мл вносять по 20 мкл протеїнази К.

- Пробірки відповідно підписують і вносять по 200 мкл плазми крові.

- Додають 200 мкл буферу AL. Інтенсивно перемішують на вортексі протягом 15 секунд.

- Інкубують пробірки в термостаті при температурі 56 °С 10 хвилин, періодично перемішуючи на вортексі.

- Центрифугують 5 секунд на мікроцентрифузі (5000 об/хв), щоб забрати краплі з кришок пробірок.

- Додають 200 мкл 96 %-го розчину етанолу. Перемішують на вортексі протягом 15 секунд, центрифугують 5 секунд при 5000 об/хв.

- Всю суміш переносять з 1,5 мл пробірки в 2 мл пробірку з фільтром (колонку). Суміш в колонку вносять, не зачіпаючи країв пробірки.

- Центрифугують при 9000 об/хв. протягом 1 хвилини. Змінюють піддон на новий.

- Додають 500 мкл розчину AW-1. Центрифугують 1 хвилину при 9000 об/хв. Змінюють піддон.

- Додають 500 мкл розчину AW-2. Центрифугують 3 хвилини при 13 000 об/хв. Змінюють піддон на новий.

- Центрифугують ще 1 хвилину при 13 000 об/хв для повної елюції розчину з мембрани. Змінюють піддон на 1,5 мл пробірку.

- Додають 200 мкл розчину АЕ. Інкубують 1 хвилину при кімнатній температурі.

- Центрифугують 1 хвилину при 9000 об/хв.

Обережно виймають колонку. Закривають пробірку

- У 200 мл елюенту міститься необхідна кількість ДНК.

Зразок ДНК можна рази ж використовувати для постановки реакції або ж зберігати впродовж 7 днів при температурі 2-8 °С, впродовж 1 року при температурі мінус 20 °С та довготривало при температурі мінус 70 °С.

Концентрацію отриманої ДНК вимірюють методом спектрофотометрії на спектрофотометрі Nanodrop 1000, фірми «Thermo Scientific», США.

Для дослідження поліморфізму гену GSTP1 проводять реакцію ампліфікації з використанням праймерів та TaqMan-зондів MGB-типу фірми «Applied Biosystems», США:

Праймери/зонди	Послідовність олігонуклеотидів (5'-3')
Прямий праймер	5'CCTGGTGGACATGGTGAATG 3'
Зворотний праймер	3'TGGTGCAGATGCTCACATAGTTG 5'
Зонд 1 (дикий алель - Ile)	VIC-TGCAAATACATCTCC- MGB
Зонд 2 (мутантний алель - Val)	6-FAM-CTGCAAATACGTCTCC-MGB

ТaqMap-зонд або деградуєний зонд - це олігонуклеотид довжиною 20-30 основ, що містить репортерний флюоресцентний барвник на 5' кінці та барвник-гасник на 3' кінці. Під час реакції ПЛР в присутності цільової послідовності зонд специфічно відпалюється між ділянками відпалу прямого і зворотного праймерів. Коли зонд знаходиться в інтактному стані розташування репортерного барвника поруч із барвником-гасником призводить до супресії флюоресценції репортера. В процесі реакції 5'-3' ендонуклеаза активність Таq ДНК-полімерази розщеплює зонд в проміжній ділянці між репортером і гасником тільки в тому випадку, коли зонд гібридизований з цільовою послідовністю. Результатом цього є підвищення флюоресценції по мірі здійснення реакції. У ТаqMap-зондів MGB-типу до 3' кінця поруч з барвником-гасником приєднана MGB-група (Minor Groove Binders). MGB - це невеликі хрестоподібні молекули, що добре розміщуються всередині малої борозенки двохспіральної ДНК. При гібридизації ТаqMap-зондів, MGB стабілізує процес відпалу шляхом згортання в малій борозенці ДНК-дуплекса, що сформований зондом і цільовою послідовністю. ТаqMap-зонди MGB типу мають ряд переваг. Покращені спектральні якості дають більшу точність і збіжність результатів незалежних тестів, а вища специфічність гібридизації підвищує можливості диференційного аналізу цільових послідовностей.

ПЛР суміш готують безпосередньо перед використанням. Суміш об'ємом 25 мкл містить: 10-100 нг геномної ДНК, 0,9 мМ прямого праймеру А, 0,9 мМ зворотного праймеру, 0,2 мМ зонду ІІе, 0,2 мМ зонду Val, 12,5 мкл 2X ТаqManUniversal Master Mix ("Applied Biosystems", США).

Реакцію ампліфікації проводять на приладі ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу (7500 Real-Time PCR Systems фірми "Applied Biosystems", США) і використовують такий температурний режим: початок ампліфікації при 95 °С - 10 хвилин, накопичення ампліфікаційного продукту на протязі 50 циклів, 95 °С - 41 секунда, 60 °С - 42 секунди і 72 °С - 52 секунди.

Після закінчення реакції ампліфікації проводять облік одержаних результатів в режимі реального часу згідно рекомендацій фірми-виробника приладу.

Переконаливими прикладами ефективності запропонованого способу є представлені аналізи двох хворих.

І. Хвора П.О.В. 1986 р. н. Історія хвороби № 2883. Перебувала у відділенні онкогематології з діагнозом лімфома Ходжкіна, IVsB ст. з ураженням шийно-надключичних, медіастінальних, внутрішньо грудних, за очеревинних, пахово-здухвинних л/в, селезінки, лівої легені. Вогнища деструкції Th12, L1, L3. ПГЗ шийного л/в справа № 33383-89/09 від 21.10.09. Лімфома Ходжкіна, варіант нодулярного склерозу. ПГЗ трепанобіоптату здухвинної кістки № 34230/09 від 04.11.2009. Кістковий мозок без ознак пухлинного росту.

Після проведення 4 курсів ПХТ (1 за схемою ABVD та 3 курси за схемою BEACOPP-esc.) було досягнуто часткової ремісії. Проведено рестадіювання - регресія пухлини 85,6 %, проте виявлено нове вогнище в печінці (10 мм в діаметрі). Після 5 курсу ПХТ (4-го за схемою BEACOPP-esc) виявляються 2 нові вогнища по 5,5 мм в лівій легені та одиничне вогнище 8 мм в корені правої легені. Проведено ще 2 курси ПХТ за схемою BEACOPP-esc. Досягнуто повної ремісії. 8-ий курс ПХТ не проводився у зв'язку з тривалою цитопенією.

Для визначення поліморфного варіанту гену GSTP1 використовували геномну ДНК, отриману з плазми периферичної крові хворої до початку лікування.

ДНК з периферичної крові виділяли за допомогою колонок "QIAamp DNA BLOOD Mini Kit" фірми "QIAGEN" (США), згідно рекомендації фірми-виробника. Для роботи з ДНК використовували тільки одноразові стерильні пластикові матеріали, які мають спеціальні маркування "Rnase-free", "Dnase-free". Використаний пластиковий посуд (пробірки, накінечники) знезаражували в спеціальному контейнері, який містив дезінфікуючий розчин або 1Н розчин соляної кислоти. В одноразову пластикову пробірку об'ємом 1,5 мл вносили 20 мкл протеїнази К. Пробірку відповідно підписували і вносили 200 мкл плазми крові. Додавали 200 мкл буферу AL. Інтенсивно перемішували на вортексі протягом 15 секунд. Інкубували пробірку в термостаті при температурі 56 °С 10 хвилин, періодично перемішуючи на вортексі. Центрифугували 5 секунд на мікроцентрифузі (5000 об/хв), щоб забрати краплі з кришки пробірки. Додавали 200 мкл 96 %-го розчину етанолу. Перемішували на вортексі протягом 15 секунд, центрифугували 5 секунд при 5000 об/хв. Всю суміш переносили з 1,5 мл пробірки в 2 мл пробірку з фільтром (колонку). Суміш в колонку вносили, не зачіпаючи країв пробірки. Центрифугували при 9000 об/хв. 1 хвилину. Змінювали піддон на новий. Додавали 500 мкл розчину AW-1. Центрифугували 1 хвилину при 9000 об/хв. Змінювали піддон. Додавали 500 мкл розчину AW-2. Центрифугували 3 хвилини при 13 000 об/хв. Змінювали піддон на новий. Центрифугували ще 1 хвилину при 13 000 об./хв. для повної елюції розчину з мембрани. Змінювали піддон на 1,5 мл пробірку. Додавали 200 мкл розчину AE. Інкубували 1 хвилину при кімнатній температурі. Центрифугували 1 хвилину при 9000 об/хв. Обережно виймали колонку і закривали пробірку. У 200 мкл елюенту містилася необхідна кількість ДНК. Концентрацію отриманої ДНК вимірювали методом спектрофотометрії на спектрофотометрі Nanodrop 1000, фірми «Thermo Scientific», США.

Для дослідження поліморфізму гену GSTP1 проводили реакцію ампліфікації з використанням праймерів та зондів фірми «Applied Biosystems», США:

Праймери/зонди	Послідовність олігонуклеотидів (5'-3')
Прямий праймер	5'CCTGGTGGACATGGTGAATG 3'
Зворотний праймер	3'TGGTGCAGATGCTCACATAGTTG 5'
Зонд 1 (дикий алель - Ile)	VIC-TGCAAATACATCTCC-MGB
Зонд 2 (мутантний алель - Val)	6-FAM-CTGCAAATACGTCTCC-MGB

ПЛР суміш готували безпосередньо перед використанням. Суміш об'ємом 25 мкл містила: 10-100 нг геномної ДНК, 0,9 мМ прямого праймеру А, 0,9 мМ зворотного праймеру, 0,2 мМ зонду Ile, 0,2 мМ зонду Val, 12,5 мкл 2X TaqManUniversal Master Mix ("Applied Biosystems", США).

Реакцію ампліфікації проводили на приладі ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу (7500 Real-Time PCR Systems фірми "Applied Biosystems", США) і використовували такий температурний режим: початок ампліфікації при 95 °С - 10 хвилин, накопичення ампліфікаційного продукту на протязі 50 циклів, 95 °С - 41 секунда, 60 °С - 42 секунди і 72 °С - 52 секунди.

Після закінчення реакції ампліфікації проводили облік одержаних результатів в режимі реального часу згідно рекомендацій фірми-виробника приладу.

В результаті досліджень було визначено, що хвора є гомозиготним носієм алелі дикого типу гену GSTP1 - генотип Ile/Ile, який пов'язують із швидкою прогресією захворювання, високим ризиком розвитку ранніх рецидивів.

ІІ. Хворий Ф.Д.М. 1979 р. н. Історія хвороби № 9831. Перебував у відділенні онкогематології з діагнозом лімфома Ходжкіна, ІІІВ ст. з ураженням шийних, пахових, заочеревинних, пахово-здухвинних л/в, л/в середостіння, кл. гр. І. ПГЗ надключичного л/в зліва № 30933/08 від 17.11.08. Лімфома Ходжкіна, варіант нодулярного склерозу. ПГЗ трепанобіоптату клубової кістки № 32042/08 від 24.11.2008. Кісткова тканина балкової будови, зкупчення клітин кісткового мозку.

Проведено 6 курсів ПХТ за схемою BEACOPP-esc. Після 6 курсів за даними комп'ютерної томографії спостерігали повну відповідь. Лімфовузли не визначалися. Повна відповідь була підтверджена за допомогою позитронної емісійної томографії. Було також проведено променеву терапію на область середостіння.

Через 2 місяці після закінчення лікування у хворого спостерігали прогресування захворювання. За даними комп'ютерної томографії виявлялися збільшені лімфовузли: на шії в середній третині лімфовузол 6 мм, в пахових областях - 8 мм, в середостінні превакулярно 15х17 мм, пар аортальні зліва до 7мм, паратрахеальний конгломерат 18х12 мм, в корені правої легені 11 мм.

Для визначення поліморфного варіанту гену GSTP1 використовували геномну ДНК, отриману з плазми периферичної крові хворого до початку лікування.

ДНК з периферичної крові виділяли за допомогою колонок "QIAamp DNA BLOOD Mini Kit" фірми "QIAGEN" (США), згідно рекомендації фірми-виробника. Для роботи з ДНК використовували тільки одноразові стерильні пластикові матеріали, які мають спеціальні маркування "Rnase-free", "Dnase-free". Використаний пластиковий посуд (пробірки, накінечники) знезаражували в спеціальному контейнері, який містив дезінфікуючий розчин або 1 Н розчин соляної кислоти. В одноразову пластикову пробірку об'ємом 1,5 мл вносили 20 мкл протеїнази К. Пробірку відповідно підписували і вносили 200 мкл плазми крові. Додавали 200 мкл буферу AL. Інтенсивно перемішували на вортексі протягом 15 секунд. Інкубували пробірку в термостаті при температурі 56 °С 10 хвилин, періодично перемішуючи на вортексі. Центрифугували 5 секунд на мікроцентрифузі (5000 об/хв), щоб забрати краплі з кришки пробірки. Додавали 200 мкл 96 %-го розчину етанолу. Перемішували на вортексі протягом 15 секунд, центрифугували 5 секунд при 5000 об/хв. Всю суміш переносили з 1,5 мл пробірки в 2 мл пробірку з фільтром (колонку). Суміш в колонку вносили, не зачіпаючи країв пробірки. Центрифугували при 9000 об/хв. 1 хвилину. Змінювали піддон на новий. Додавали 500 мкл розчину AW-1. Центрифугували 1 хвилину при 9000 об/хв. Змінювали піддон. Додавали 500 мкл розчину AW-2. Центрифугували 3 хвилини при 13 000 об/хв. Змінювали піддон на новий. Центрифугували ще 1 хвилину при 13 000 об/хв для повної елюції розчину з мембрани. Змінювали піддон на 1,5 мл пробірку. Додавали 200 мкл розчину АЕ. Інкубували 1 хвилину при кімнатній температурі. Центрифугували 1 хвилину при 9000 об/хв. Обережно виймали колонку і закривали пробірку. У 200 мкл елюенту містилася необхідна кількість ДНК. Концентрацію отриманої ДНК вимірювали методом спектрофотометрії на спектрофотометрі Nanodrop 1000, фірми «Thermo Scientific», США.

Для дослідження поліморфізму гену GSTP1 проводили реакцію ампліфікації з використанням праймерів та зондів фірми «Applied Biosystems», США:

Праймери/зонди	Послідовність олігонуклеотидів (5'-3')
Прямий праймер	5'CCTGGTGGACATGGTGAATG 3'
Зворотний праймер	3'TGGTGCAGATGCTCACATAGTTG 5'
Зонд 1 (дикий алель - Ile)	VIC-TGCAAATACATCTCC-MGB
Зонд 2 (мутантний алель - Val)	6-FAM-CTGCAAATACGTCTCC-MGB

ПЛР суміш готували безпосередньо перед використанням. Суміш об'ємом 25 мкл містила: 10-100 нг геномної ДНК, 0,9 мМ прямого праймеру А,

0,9 мМ зворотного праймеру, 0,2 мМ зонду Ile, 0,2 мМ зонду Val, 12,5 мкл 2X TaqManUniversal Master Mix ("Applied Biosystems", США).

Реакцію ампліфікації проводили на приладі ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу (7500 Real-Time PCR Systems фірми "Applied Biosystems", США) і використовували такий температурний режим: початок ампліфікації при 95 °C - 10 хвилин, накопичення ампліфікаційного продукту на протязі 50 циклів, 95 °C - 41 секунда, 60 °C - 42 секунди і 72 °C - 52 секунди.

Після закінчення реакції ампліфікації проводили облік одержаних результатів в режимі реального часу згідно рекомендацій фірми-виробника приладу.

В результаті досліджень було визначено, що хворий є гомозиготним носієм алелі дикого типу гену GSTP1 - генотип Pe/le, який пов'язують з високим ризиком розвитку рецидивів та швидкою прогресією захворювання.

Таким чином, поліморфний варіант гену GSTP1 - є додатковим критерієм, що дозволяє виявити пацієнтів з найбільш несприятливим прогнозом, які потребують інтенсифікації терапії та забезпечує можливість оптимізації програм лікування.

Джерела інформації:

1. Современные алгоритмы лечения больных лимфомой Ходжкина на ранних стадиях /И.А. Крячок, А.В. Мартынич, И.Б. Титоренко, Е.М. Алексик, О.И. Новосад, Е.В. Кущевой, Т.В. Кадникова //Український медичний часопис. - 2009. - № 4 (72). - С. 92-95.

2. Крячок І.А. Прогностичні фактори перебігу лімфоми Ходжкіна: сьогодення та майбутнє /І.А. Крячок, І.Б. Титоренко, О.І. Новосад, А.В. Мартинчик // Український медичний часопис. - 2009. - № 6 (74). - С.88-91.

3. Polymorphisms of glutathione-S-transferase Mu 1, glutathione-S-transferase theta 1 and glutathione-S-transferase Pi 1 genes in Hodgkin's lymphoma susceptibility and progression /G.J. Lourenc,o; I.A. Neri; V. C.S. Sforni; R. Kameo; I. Lorand-Metze; C.S.P. Lima //Leukemia & Lymphoma. - 2009. - №50(6). - P. 1005-1009.

4. Glutathione S-transferase PI genotype and prognosis in Hodgkin's lymphoma /S. Hohaus, A.Di Ruscio, A. Di Febo, G. Massini, F. D'Alo', F. Guidi, et al. //Clinical Cancer Research. - 2005. - №11. - P. 2175-2179.

5. Association between glutathione S-transferase genotypes and Hodgkin's lymphoma risk and prognosis /S. Hohaus, G. Massini, F. D'Alo', F. Guidi, R. Putzulu, A. Scardocci, et al. //Clinical Cancer Research. - 2003. - № 9. - P. 3435-3440.

6. Полиморфизм генів глутатион-Б-трансфераз и результати хіміотерапії рака яєчників /А.А. Мойсєєв, А.В. Хрунин, Е.М. Павлюшина, Н.А. Пирогова, В.А. Горбунова, С.А. Лимборская //Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. - 2008. - Т. 19. - № 1. - С. 59-64. (прототип)