



УДК 616.36-002-022.6-036.1-091.8-008.9-092.18

М. А. Шишкін

Патогістологічні та імуногістохімічні особливості прогресії хронічного вірусного гепатиту С*Запорізький державний медичний університет***Ключові слова:** вірусний гепатит С, хронічний, печінки зірчаста клітина, фібробласти, цироз печінки.

З метою доповнити й удосконалити морфогенетичні критерії прогресії хронічного вірусного гепатиту С обстежили 150 пацієнтів (140 із хронічним вірусним гепатитом С і 10 із транзиторними гепатозами без клініко-біохімічних і патогістологічних ознак ураження печінки). Здійснили патогістологічні, імуногістохімічні й комп'ютерно-морфометричні дослідження трепанобіопсій печінки хворих, а також проаналізували їхні клініко-біохімічні показники. Визначили основні складові важкого фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит С: збільшення числа перисинусоїдальних клітин Іто, поширена колагенізація стінок внутрішньочасточкових синусоїдів і розширення їхніх отворів, виражений фіброз у зонах імуноклітинних «ступінчастих некрозів» і в портальних трактах. Встановили, що експресія А-SMA клітинами Іто і фібробластами є раннім прогностичним маркером вірогідності розвитку фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит С із нормальним рівнем трансаміназ у крові або з помірною гіперферментемією, а розвитку важкого фіброзу печінки передують значне збільшення числа активованих клітин Іто в перисинусоїдальних просторах печінки.

Патогистологические и иммуногистохимические особенности прогрессии хронического вирусного гепатита С

М. А. Шишкин

С целью дополнить и усовершенствовать морфогенетические критерии прогрессии хронического вирусного гепатита С обследовали 150 пациентов (140 с хроническим вирусным гепатитом С и 10 с транзиторными гепатозами без клинико-биохимических и патогистологических признаков поражения печени). Выполнили патогистологические, иммуногистохимические и компьютерно-морфометрические исследования трепанобиопсий печени больных, а также проанализировали их клинико-биохимические показатели. Определены основные составляющие тяжелого фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С: увеличение числа перисинусоидальных клеток Ито, распространенная коллагенизация стенок внутридольковых синусоидов и расширение их пространства, выраженный фиброз в зонах иммуноклеточных «ступенчатых некрозов» и в портальных трактах. Установлено, что экспрессия А-SMA клетками Ито и фибробластами – ранний прогностический маркер вероятности развития фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С с нормальным уровнем трансаминаз в крови или с умеренной гиперферментемией, а развитию тяжелого фиброза печени предшествует значительный рост числа активированных клеток Ито в перисинусоидальных пространствах печени.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, хронический, печени звездчатая клетка, фибробласты, цирроз печени.*Запорожский медицинский журнал. – 2015. – №1 (88). – С. 91–94***Pathohistological and immunohistochemical features of chronic hepatitis C progression**

М. А. Shishkin

Aim. The paper contains results of a comprehensive pathohistological and immunohistochemical study of liver biopsies of patients with chronic hepatitis C in comparison with clinical and biochemical parameters. The given paper is dedicated to the improvement of the most significant microscopic criteria of chronic hepatitis C progression in patients with trephine biopsy of the liver.

Methods and results. According to the results of histochemical and histological studies such main components of a severe liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C have been identified: increase of the number of perisinusoidal Ito cells, common walls collagenization of intralobular sinusoids and expansion of their space, fibrosis in immune cell «step necrosis» areas and in the portal tracts.

Conclusion. It was found that expression of A-SMA by Ito cells and fibroblasts is early predictor of the probable liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C with normal levels of transaminases in the blood or moderate hyperenzymemia, while the development of severe liver fibrosis is preceded by a significant increase in the number of activated Ito cells in the perisinusoidal liver spaces.

Key words: Hepatitis C Virus, Chronic Liver Stellate Cells, Fibroblasts, Liver Cirrhosis.*Zaporozhye medical journal 2015; №1 (88): 91–94*

Хронічний вірусний гепатит С (ХВГС) відрізняється малосимптомним перебігом, пізньою діагностикою і терапією, а також безсимптомним розвитком цирозу і раку печінки з частими летальними наслідками [1]. Приблизно у 25% осіб працездатного віку, які інфіковані вірусом гепатиту С, визначають мінімальну клінічну симптоматику гепатиту, нормальний рівень трансаміназ у крові та відсутність гіпербілірубінемії. Водночас, за даними гістологічних досліджень печінки, у 10–30% хворих на ХВГС із нормальним рівнем амінотрансфераз виявляють ознаки помірного запалення і вираженого фіброзу печінки, а малосимптомний розвиток ХВГС більш ніж у 80% пацієнтів завершується цирозом печінки.

Постійно удосконалюється лікування хворих із вірусною інфекцією гепатиту С, нещодавно (2011 р.) з'явилися препарати боцепривір і теларпривір, які є прямими реплікантами вірусу гепатиту С [2].

Автори [5] оцінили актуальність застосування антигена ВГС-ядра для діагностики та моніторингу заражень у повсякденному житті. Дотепер більшість із серологічних досліджень здійснювали для визначення антитіл цього вірусу.

Програма діагностики визначення інфекції ВГС включає тестування на специфічні антитіла анти-ВГС методом ферментативного імуносорбційного аналізу і генетичного матеріалу вірусу в сироватці або плазмі. Однак у невеликій



частини пацієнтів, які заражені вірусом гепатиту С, анти-ВГС не виявляються, що становить серйозну діагностичну і, можливо, епідеміологічну проблему, бо вони можуть спричинювати поширення патогенів у популяції [4].

Є дослідження, що спрямовані на оцінювання діагностичної точності рівня аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази (АлАТ), гідроксипроліну, малонового діальдегіду, супероксидсмутази й загального антиоксидантного статусу у хворих на вірусний гепатит С для прогнозування фіброзу печінки у класифікаційній системі METAVIR [6].

Донині не уточнені основні мікроскопічні критерії прогресії хронічного гепатиту С: недостатньо досліджений внесок деструктивної активності імуніцитів та імунного кілінгу гепатоцитів у прогресію хронічного гепатиту, неналежно вивчені взаємовідносини між активованими зірчастими клітинами Купфера й активованими клітинами Іто, не конкретизовані структурні прояви активації клітин Іто та їхніх колагенсинтезуючих функцій при прогресії фіброзу печінки.

Мета роботи

Доповнити й удосконалити морфогенетичні критерії прогресії хронічного вірусного гепатиту С на підставі патогістологічних, імуногістохімічних і комп'ютерно-морфометричних досліджень трепанобіопсій печінки хворих і аналізу їхніх клініко-біохімічних даних для використання в патологоанатомічній діагностиці та прогнозуванні перебігу хвороби.

Пацієнти і методи дослідження

Обстежили 140 (41 жінка і 99 чоловіків) хворих на ХВГС, до групи умовного контролю ввійшли 10 (4 жінки й 6 чоловіків) пацієнтів із транзиторними гепатозами без клініко-біохімічних і патогістологічних ознак вірусного ураження печінки. Загальна кількість хворих – 150 осіб.

Діагностично-патоморфологічні маркери вірусного та імуніцитинного пошкодження, а також морфогенезу важкого фіброзу визначили у трепанобіопсіях печінки обстежених.

Голками Uni-Cut і BioCut 14-16G під контролем апарата УЗД Conbizon-320-5 Ultima-Pro-30 із використанням секторального і конвексного датчиків виконували черезшкірну трепанобіопсію печінки.

Для патоморфологічного й імуногістохімічного досліджень стовпчики трепанобіоптатів печінки фіксували в забуференому 10% формаліні та заливали в парафін. Досліджували серійні зрізи завтовшки 3 μ .

Для мікроскопічного дослідження парафінові зрізи трепанобіоптатів печінки фарбували гематоксиліном і еозином, а також трибарвним методом Масона і методом ван Гізона.

Ступінь активності і прогресії хронічного вірусного гепатиту в біоптатах печінки хворих оцінювали шляхом розрахунку ІГА за R.G. Knodell і співавт. [7]; виразність фіброзу печінки визначали у градації METAVIR і V. Desmet і співавт. [8] у серійних парафінових зрізах, що забарвлені за ван Гізонам і за Масоном.

Імуногістохімічне дослідження активованих зірчастих клітин Іто виконали в парафінових зрізах, використовуючи моноклональні антитіла до А-ізоформи гладком'язового актину (А-SMA) і систему візуалізації DAKO EnVision.

Імуногістохімічне дослідження клітин Купфера виконали в парафінових зрізах, використовуючи моноклональні антитіла до CD-68-антигену і систему візуалізації DAKO EnVision.

Активовані CD45R0+ Т-лімфоцити і CD8+ Т-кілери маркували в парафінових зрізах із використанням антитіл до CD45R0 і CD8 антигенів.

Методом прямої комп'ютерної морфометрії в мікроскопі Ахіорлан 2 із відеокамерою DXC-151A і пакетом програм KS 200 оцінювали площі лімфоцитарної інфільтрації та фіброзу портальних трактів у 4 групах хворих на ХВГС.

Кількісні результати опрацьовували методом варіаційного статистичного аналізу середніх величин на персональному комп'ютері «Sempron 2800», використовуючи програмний пакет STATISTICA 6.0 for Windows. Обчислювали середню арифметичну величину (M), середнє квадратичне відхилення (SD) і стандартну помилку середньої арифметичної (m). Вірогідність відмінностей порівнюваних величин визначали за допомогою критерію Стюдента (T). Достовірною мінімальною вірогідністю вважали $p < 0,05$. Виконали кореляційний аналіз із використанням коефіцієнта кореляції Пірсона (r) [9,10].

Результати та їх обговорення

Протягом мікроскопічного дослідження серійних гістологічних зрізів біоптатів печінки хворих на ХВГС виявили характерні патогномонічні мікроскопічні ознаки цієї патології: поліморфізм ядер гепатоцитів і пошкодження у вигляді «пісочних» ядер і ядер із вакуолями; жирова дистрофія гепатоцитів; внутрішньоклітинні холестази, вогнища імуніцитинного кілінгу гепатоцитів; тільця Каунсільмена і поодинокі гепатоцити з ознаками цитолізу; ланцюжки імуніцитів уловдж внутрішньочасточкових синусоїдів печінки, а також так звані імуніцитинні «ступінчасті некрози»; в окремих випадках виявляли так звані імуніцитинні «мостоподібні некрози» – імуніцитинні інфільтрати, які через часточку печінки поширювались від одного портального тракту до іншого.

У біоптатах печінки хворих на ХВГС із мінімальною активністю (ІГА 1–3 бали) ідентифікували у 24,2% пацієнтів, гепатит зі слабкою активністю (ІГА 4–8 балів) – у 40% хворих, гепатит із помірною активністю (ІГА 9–12 балів) – у 23,5% осіб, гепатит із вираженою активністю (ІГА 13–18 балів) визначили у 12,1% хворих. Середнє значення індексу гістологічної активності ХВГС в обстежених становило $9,34 \pm 0,1$ бала.

Результати патогістологічних досліджень показали, що однією з ознак зростання гістологічної активності хронічного вірусного гепатиту є наявність руйнування гепатоцитів шляхом апоптозу, цитокаріолізу і «балонного» цитолізу. У часточках печінки хворих на ХВГС із різним індексом гістологічної активності (ІГА) визначається різна кількість поодиноких тілець Каунсільмена, які є однією з прикінцевих фаз апоптозу гепатоцитів, а також гепатоцитів у стані «балонного» цитолізу (збільшення гепатоциту зі спустошеною цитоплазмою і перетворення в кулясту клітину з дрібним пікнотичним ядром без ядерця). Руйнування



гепатоцитів шляхом апоптозу і цитокаріолізу відбувається також у вогнищах імуноклітинного кілінгу, в яких гепатоцит оточується імункомпетентними клітинами, а також у межових зонах імуноклітинних «ступінчастих некрозів».

Як показало імуногістохімічне дослідження, осередки імуноклітинного кілінгу гепатоцитів у часточках печінки складають CD8+Т-лімфоцити, CD45RO+ лімфоцити і CD68+ макрофаги, у складі клітин «ступінчастих некрозів» переважають CD8+ Т-лімфоцити і CD45RO+ лімфоцити, на периферії «ступінчастих некрозів» виявляються CD68+ макрофаги. Імуногістохімічні дослідження засвідчили, що наявність CD8+ Т-лімфоцитів і CD68+ макрофагів в осередках імуноклітинного кілінгу в часточках печінки й у межових зонах імуноклітинних «ступінчастих некрозів» свідчить про вірус-індуковане імуноклітинне пошкодження печінки та одночасно показує участь цих клітин в елімінації гепатоцитів, що інфіковані гепатотропними вірусами. В імуноклітинних інфільтратах портальних трактів печінки хворих на ХВГС наявна велика кількість CD45RO+ лімфоцитів, а у вогнищах імуноклітинного кілінгу визначали поодинокі CD45RO+ лімфоцити.

Встановили, що однією з характерних ознак прогресії ХВГС є розвиток фіброзу печінки з її надмірною колагенізацією. Протягом гістологічного дослідження трепанобіоптатів печінки хворих на ХВГС виявили основні мікроскопічні ознаки розвитку фіброзу печінки: фіброз портальних трактів, фіброз центральних часточкових вен, а також колагенізацію стінок внутрішньочасточкових венозних синусоїдів печінки різного ступеня виразності.

Вивчаючи залежність між індексом гістологічної активності ХВГС, площею імуноклітинних інфільтратів і площею фіброзу портальних трактів, виявили позитивну кореляцію між ІГА і площею імуноклітинного інфільтрату портального тракту, коефіцієнт кореляції Пірсона $r = +0,83$ ($p < 0,05$).

Зіставляючи виразність морфологічних змін у печінці у хворих на ХВГС із нормальним рівнем АлАТ та у хворих із підвищеним її рівнем, виявили: середній показник ІГА у хворих із нормальним рівнем ферментів становив $7,450 \pm 0,105$ бала, а у хворих із гіперферментемією – $7,98 \pm 0,11$ бала. Вірогідних відмінностей між середніми показниками ІГА хронічного гепатиту у хворих цих підгруп не визначили (коефіцієнт кореляції Пірсона $r = +0,22$, $p < 0,05$). Аналізуючи ступінь виразності фіброзу печінки у хворих на ХВГС із нормальним і підвищеним рівнем АлАТ, також не виявили вірогідних відмінностей (коефіцієнт кореляції Пірсона $r = +0,33$, $p < 0,05$).

Вивчення морфогенезу фіброзу печінки при ХВГС показало, що основними структурними одиницями, з якими пов'язаний розвиток фіброзу, є венозні синусоїди часточки печінки, центральна часточкова вена і портальний тракт. Встановили, що метод ван Гізона, трибарвний метод Масона й імуногістохімічне дослідження колагену 4 типу дають змогу диференціювати в гістологічних препаратах печінки хворих із мінімальною і слабковираженою активністю ХВГС початкові етапи колагенізації стінок внутрішньочасточкових синусоїдів за відсутності значущого фіброзу в портальних трактах.

Протягом імуногістохімічного дослідження біоптатів печінки встановили, що у хворих на ХВГС із різним ступенем ІГА перисинусоїдальні А-SMA-позитивні клітини в часточках печінки за гістологічною будовою відповідали клітинам Іто; в основному вони локалізувались у зонах пошкоджених гепатоцитів і в зонах лімфоцитарних інфільтратів. Виявили позитивну кореляцію між ІГА ХВГС і площею, що зайнята активними клітинами Іто в часточці, коефіцієнт кореляції Пірсона $r = +0,65$ ($p < 0,05$).

У трепанобіоптатах печінки хворих на ХВГС різного ступеня ІГА в портальних трактах також визначили А-SMA-позитивні клітини, які мали типову структуру фібробластів.

Встановили, що прогностичними ознаками вірогідності розвитку значного фіброзу печінки у хворих на ХВГС є гіперплазія активованих А-SMA -позитивних клітин Іто в перисинусоїдальних просторах часточок печінки і сегментарна колагенізація стінок внутрішньочасточкових венозних синусоїдів, наявність А-SMA позитивних фібробластів в імуноклітинних «ступінчастих некрозах» і в портальних трактах, проникнення тонких фіброзних септ із портальних трактів у часточки печінки, збільшення числа портальних трактів із фіброзом різного ступеня виразності.

Протягом імуногістохімічної детекції активованих макрофагів Купфера виявили, що CD-68 активовані макрофаги (клітини Купфера) мали ознаки фагоцитозу: неправильну форму, збільшену внаслідок фагоцитованого матеріалу цитоплазму, овальне ядро і декілька тонких або трохи потовщених відростків. Активовані CD-68 -позитивні клітини Купфера в часточках печінки локалізувались поряд із пошкодженими гепатоцитами та по периферії лімфоцитарних інфільтратів, а також по периферії імуноклітинних «ступінчастих некрозів». Вивчаючи взаємовідносини між клітинами Купфера і клітинами Іто в часточках печінки у хворих із різним значенням ІГА, встановили позитивну кореляцію між площею, яку займають активовані клітини Купфера з ознаками фагоцитозу, й активними клітинами Іто в часточках печінки (коефіцієнт кореляції Пірсона $r = +0,76$, $p < 0,05$).

У результаті гістологічних, імуногістохімічних і комп'ютерно-морфометричних досліджень визначили, що найбільш значущими мікроскопічними ознаками прогресії хронічного вірусного гепатиту у трепанобіоптатах печінки є наявність «балонного» цитолізу гепатоцитів, значної кількості тілець Каунсільмена (гепатоцитів у стані апоптозу) і вогнищ імуноклітинного кілінгу гепатоцитів, збільшення кількості й протяжності імуноклітинних «ступінчастих некрозів», збільшення кількості CD-8+ Т-лімфоцитів і CD-68+ макрофагів у внутрішньочасточкових вогнищах імуноклітинного кілінгу і в межових зонах імуноклітинних «ступінчастих некрозів», збільшення числа активованих CD-68+ клітин Купфера з ознаками фагоцитозу в часточках печінки, колагенізація внутрішньочасточкових синусоїдів і центральних часточкових вен, яка посилюється, розширення площі лімфоцитарної інфільтрації й фіброзу портальних трактів.



Гістохімічні, імуногістохімічні й комп'ютерно-морфометричні дослідження визначили найбільш значущі прогностичні показники розвитку фіброзу печінки у хворих на ХВГС: гіперплазія активованих А-SMA позитивних клітин Іто в перисинусоїдальних просторах печінки і сегментарна колагенізація стінок внутрішньочасточкових венозних синусоїдів, наявність А-SMA -позитивних фібробластів в імуноклітинних «ступінчастих некрозах» і портальних трактах, проникнення тонких фіброзних септ із портальних трактів у часточки печінки, збільшення числа портальних трактів із фіброзом різного ступеня виразності. У результаті гістохімічних і гістологічних досліджень основними складовими важкого фіброзу печінки у хворих на ХВГС є збільшення числа перисинусоїдальних клітин Іто, поширена колагенізація стінок внутрішньочасточкових синусоїдів та розширення їхніх отворів, виражений фіброз у зонах імуноклітинних «ступінчастих некрозів» і в портальних трактах.

Висновки

У результаті зіставлення патогістологічних та імуногістохімічних змін у печінці з клініко-біохімічними показниками доведено, що хворим на вірусний гепатит С, навіть при мінімальних симптомах хвороби та незначних відхиленнях лабораторних показників гепато-біліарних функцій, показана пункційна трепанобіопсія печінки, результати якої найадекватніше показують ступінь виразності вірусіндукованих та імуноклітинних уражень печінки, ступінь активації колагенотворення і прогресії фіброзу печінки.

Під час прогнозування вірогідності розвитку значного фіброзу печінки у хворих на ХВГС слід враховувати збільшення числа активованих А-SMA позитивних клітин Іто в перисинусоїдальних просторах печінки, а також сегментарну колагенізацію стінок внутрішньочасточкових венозних синусоїдів, наявність А-SMA позитивних фібробластів в імуноклітинних «ступінчастих некрозах» і в портальних трактах, проникнення тонких фіброзних септ із портальних трактів у часточки печінки, збільшення кількості портальних трактів із фіброзом різного ступеня.

Список літератури

1. Chronic Hepatitis C Virus Advances in Treatment, Promise for the Future / Shiffman, Mitchell L. (Ed.). – N. Y. : Springer, 2012. – issue XVI. – 332 p.
2. Hepatology International (23rd Annual Conference of APASL March 12–15, 2014). – Brisbane. – 2014. – Vol. 8. – Issue 1. – P. 158.
3. Hepatitis C Virus Testing / M.E. Hassan, Ph.D. Azzazy, M. Karim, B. Sc. Abdel-Hady // Molecular Diagnostics Molecular and Translational Medicine. – 2014. – P. 57–80.
4. Seronegative Hepatitis C Virus Infection / J. Kaźmierczak, A. Pawełczyk, K. Caraballo Cortes, M. Radkowski // Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis. – 2014. – Vol. 62. – Issue 2. – pp. 145–151.
5. van Helden Hepatitis J. C diagnostics: clinical evaluation of the HCV-core antigen determination / J. van Helden // BMC Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 14. – P. 88.
6. Gabr S.A. Prediction of fibrosis in hepatitis C patients: assessment using hydroxyproline and oxidative stress biomarkers / S.A. Gabr, A.H. Alghadir // Virus Disease. – 2014. – Vol. 25. – Issue 1. – pp 91–100.
7. Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis / R.G. Knodell, K.G. Ishak, W.C. Black et al. // Hepatology. – 1981. – Vol. 1. – P. 431–435.
8. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C / The French METAVIR Cooperative Study Group // Hepatology. – 1994. – Vol. 20. – P. 15–20.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М. : Медиа-Сфера, 2002. – 312 с.
10. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 408 с.

References

1. Shiffman, Mitchell L. (Ed.) (2012). *Chronic Hepatitis C Virus Advances in Treatment, Promise for the Future*. N. Y. : Springer, XVI.
2. (2014). *Hepatology International*. Proceedings of the 23rd Annual Conference of APASL, (P. 158). Brisbane, 8 (1).
3. Hassan, M. E., Azzazy, Ph. D., Karim, M., & Abdel-Hady, B. Sc. (2014). Hepatitis C Virus Testing. *Molecular Diagnostics. Molecular and Translational Medicine*, 57–80.
4. Kaźmierczak, J., Pawełczyk, A., Caraballo Cortes, K., & Radkowski, M. (2014). Seronegative Hepatitis C Virus Infection. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 62(2), 145–151. doi: 10.1007/s00005-013-0257-7.
5. van Helden, J. (2014). Hepatitis C diagnostics: clinical evaluation of the HCV-core antigen determination. *BMC Infectious Diseases*, 14, 88. doi:10.1186/1471-2334-14-S2-P88.
6. Gabr, S. A., & Alghadir, A. H. (2014). Prediction of fibrosis in hepatitis C patients: assessment using hydroxyproline and oxidative stress biomarkers. *Virus Disease*, 25(1), 91–100. doi: 10.1007/s13337-013-0182-8.
7. Knodell, R. G., Ishak, K. G., Black, W. C., Chen, T. S., Craig, R., Kaplowitz, N., et al. (1981). Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*, 1, 431–435. doi: 10.1002/hep.1840010511.
8. (1994). Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 20, 15–20.
9. Rebrova, O. Yu. (2002). *Statisticheskij analiz medicinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA]*. Moscow: Media-Sfera. [in Russian].
10. Lapach, S. N., Chubenko, A. V., & Babich, P. N. (2001). *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniem Excel [Statistical methods in biomedical research using Excel]*. Kyiv :Morion. [in Ukrainian].

Відомості про автора:

Шишкін М.А., к. мед. н., доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет,

E-mail: masiles@mail.ru.

Сведения об авторе:

Шишкин М.А., к. мед. н., доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: masiles@mail.ru.

Information about author:

Shishkin M.A., MD, PhD, Associate Professor of Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: masiles@mail.ru.

Поступила в редакцию 17.12.2014 г.