

А.П. Колесник, А.И. Шевченко, В.А. Туманский, А.В. Евсеев, М.А. Шишкин

Прогностическая роль экспрессии рецепторов к эпидермальным факторам роста у больных с I–II стадией немелкоклеточного рака легкого

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, прогноз, рецептор эпидермального фактора роста, выживаемость.

Рак легкого является актуальной проблемой современной онкологии. Для улучшения результатов лечения необходимо усовершенствование современной классификации рака легкого с учетом молекулярной характеристики опухоли, что поможет индивидуализировать лечение пациентов. Целью работы было определение связи клинико-морфологических характеристик пациента с экспрессией рецепторов эпидермального фактора роста 1 и 2 типов (EGFR, Her2/neu), а также исследование влияния данных маркеров на выживаемость больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого. В исследовании приняли участие 177 больных немелкоклеточным раком легкого ранних стадий. Пациенты проходили лечение в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере с июня 2008 г. по июнь 2011 г. У всех больных выполнено иммуногистохимическое исследование удаленной опухоли с целью определения экспрессии Her2/neu, EGFR. Корреляцию между возрастом, полом, гистологической формой и дифференцировкой опухоли, критериями pT и pN, а также локализацией опухоли с уровнем экспрессии Her2/neu и EGFR не отметили. Определили выраженную обратную связь между уровнем экспрессии Her2/neu и EGFR. Независимыми прогностическими факторами являются гистологическая форма новообразования (HR=-2,02, p=0,04) и размер первичной опухоли (HR=2,8, p=0,004). Не отмечена прогностическая роль экспрессии Her2/neu и EGFR у пациентов с I–II стадией немелкоклеточного рака легкого, перенесших радикальное хирургическое вмешательство.

Прогностична роль експресії рецепторів до епідермального фактора росту у хворих на недрібноклітинний рак легені I–II стадії

О.П. Колесник, А.І. Шевченко, В.О. Туманський, А.В. Євсєєв, М.О. Шишкін

Рак легені є актуальною проблемою сучасної онкології. Для поліпшення результатів лікування необхідне удосконалення сучасної класифікації раку легені з урахуванням молекулярної характеристики пухлини, що допоможе індивідуалізувати лікування пацієнтів. Мета роботи полягала у встановленні зв'язку клініко-морфологічних характеристик пацієнта з експресією рецепторів епідермального фактора росту I і II типів (EGFR, Her2/neu), а також у дослідженні впливу цих маркерів на виживаність хворих на недрібноклітинний рак легені в ранніх стадіях. У дослідженні взяли участь 177 хворих на недрібноклітинний рак легені в ранніх стадіях. Пацієнти перебували на лікуванні в Запорізькому обласному онкологічному диспансері з червня 2008 р. по червень 2011 р. У всіх хворих виконали імуногістохімічне дослідження видаленої пухлини з метою визначення експресії Her2/neu, EGFR. Кореляцію між віком, статтю, гістологічною формою і диференціюванням пухлини, критеріями pT і pN, а також локалізацією пухлини з рівнем експресії Her2/neu і EGFR не встановлено. Визначений виражений зворотний зв'язок між рівнем експресії Her2/neu і EGFR. Незалежними прогностичними факторами є гістологічна форма новоутворення (HR=-2,02, p=0,04) і розмір первинної пухлини (HR=2,8, p=0,004). Прогностична роль експресії Her2/neu і EGFR у пацієнтів із I–II стадією НДКРЛ, які перенесли радикальне хірургічне втручання, не встановлена.

Ключові слова: недрібноклітинний рак легені, прогноз, рецептор епідермального фактору росту, виживаність.

Патологія. – 2013. – №2 (28). – С. 17–21

Prognostic role of epidermal growth factor receptor expression in patients with I–II stages of non small cell lung cancer

A.P. Kolesnik, A.I. Shevchenko, V.A. Tumansky, A.V. Evseev, M.A. Shishkin

Lung cancer is an actual problem of the present-day oncology. Upgrade of current lung cancer classification taking into account the molecular characterization of the tumor is necessary for the improvement of treatment results. It will help to individualize patient's treatment. Aim: This study was undertaken to investigate the connection of clinical and morphological patient's characteristics with the expression of epidermal growth factor receptors of 1 and 2 types (EGFR, Her-2-neu) and also to analyze the influence of these factors on patients survival with early stages (I-II) of non-small cell lung cancer (NSCLC). Materials and methods: 100 patients with early (I-II) stages of NSCLC, who received treatment in Zaporozhye regional clinical oncological dispensary from June 2008 to June 2011, took part in this research. Immunohistochemical investigation of removed tumor with the goal of HER-2-neu and EGFR expression definition was performed in all patients. Result and conclusion: No correlation between age, gender, histologic form, tumor differentiation, pT and pN criteria and also tumor localization with HER2/Neu and EGFR expression level was revealed. Definite feedback between HER2/Neu and EGFR expression is documented. Histologic form of the tumor (HR=-2,02, p=0,04) and primary tumor size (HR=2,8, p=0,004) are independent prognostic factors. There is no prognostic role of HER2/Neu and EGFR expression in patients with I-II stages of Non-small cell lung cancer who received radical surgical treatment.

Key words: prognosis, epidermal growth factor receptor, survival.

Pathologia. 2013; №2 (28): 17–21

Согласно данным Национального канцер-реестра, по уточненным сведениям, в Украине в 2010 г. диагностировали 17 422 новых случаев рака легкого и зарегистрировали 13 498 случаев смерти от данного злокачественного новообразования [2]. Таким образом, высокий уровень заболеваемости и низкая эффектив-

ность лечения обуславливают высокую актуальность усовершенствования подходов к диагностике и лечению рака легкого. Основным методом лечения рака легкого, который дает шанс на выздоровление, остается операция. Однако даже после оперативного лечения у части пациентов развивается прогрессирующее заболевание, что

говорит о биологической разнородности больных немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ) ранних стадий. Это требует углубленного подхода к классификации рака легкого, а также к индивидуализации лечения больных НМКРЛ ранних стадий. Одним из возможных путей решения проблемы индивидуализированного лечения может быть использование молекулярных маркеров для выделения прогностических групп. Один из потенциальных прогностических маркеров – группа рецепторов факторов роста [11]

Семейство рецепторов эпидермального фактора роста (ErbB1-(EGFR), ErbB2-(Her2/neu), ErbB3-(Her3), ErbB4-(Her4)) играет важную роль в росте и развитии опухоли. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) – трансмембранный белок (170 кДа), который состоит из внеклеточной площадки, гидрофобного трансмембранного домейна и терминала С (внутриклеточный участок с тирозинкиназной активностью). Связывание лиганда с EGFR на поверхности клетки приводит к его активации, что вызывает гомо- или гетеродимеризацию рецепторов и активирует пути передачи сигнала в ядро клетки. К внеклеточному участку способны присоединяться различные факторы роста (эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста-альфа, амфирегулин, бетацеллулин, гепаринсвязывающий протеин, эфирегулин). EGFR играет роль в клеточной пролиферации, адгезии (через регуляцию E-кадхерина), влияет на ангиогенез и способность опухоли к инвазии [4,5,7,9,11]. В изученной специализированной литературе обнаружены противоречивые данные о прогностической роли рецепторов эпидермальных факторов роста у больных с ранними стадиями рака легкого.

Цель работы

Определение связи клинико-морфологических характеристик пациента с экспрессией рецепторов эпидермального фактора роста 1 и 2 типов (EGFR, Her2/neu) и влияния данных маркеров на выживаемость больных с ранними стадиями НМКРЛ.

Пациенты и методы исследования

В исследовании приняли участие 177 больных НМКРЛ ранних (I–II) стадий. Пациенты проходили лечение в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере с июня 2008 по июнь 2011 г. Среди больных – 152 мужчины (85,9%) и 25 женщин (14,1%). Средний возраст – 60,4 года (95% ДИ, 59,2–61,6). Всем пациентам выполнено радикальное хирургическое вмешательство с последующим гистологическим исследованием материала.

У всех больных проведено иммуногистохимическое исследование удаленной опухоли с целью определения экспрессии Her2/neu, EGFR. Для иммуногистохимического (ИГХ) исследования препарат фиксировали в забуференном 10% формалине и заливали в парафин. На прецизионном ротационном микротоме HM 3600 (фирмы «MICROM Laborgerdte GmbH», Германия) изготавливали серийные срезы толщиной 3 мк, которые помещали на адгезивные предметные стекла «Super

Frost Plus» (фирмы «Menzel Glaser», Германия). После депарафинизации и регидратации срезов проводили высокотемпературную (рН=9,0) демаскировку антигенов путем нагревания на водяной бане в Трис-ЭДТА буфере и ингибирование эндогенной пероксидазы путем инкубации в течение 10 минут в 3% растворе перекиси водорода. После 30-минутной инкубации с первичными антителами их визуализировали с помощью системы детекции EnVision+ FLEX с хромогеном DAB+ (фирмы «ДАКО», США). После проявления результатов ИГХ-реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в бальзам. ИГХ-исследование проводили в парафиновых срезах опухоли легкого с использованием моноклональных антител Rb a-Hu EGFR, Clone SP9 против рецептора эпидермального фактора роста; поликлональных антител Rb a-Hu c-erbB-2 против рецептора человеческого эпидермального фактора роста 2 (Her2/neu) («Diagnostic BioSystems», США) и системы визуализации EnVision+ FLEX («ДАКО», США) в соответствии с фирменными рекомендациями по их использованию. Результаты ИГХ-реакции оценивали полуквантитетным методом с помощью микроскопа AxioPlan 2 (фирмы «Carl Zeiss», Германия). Мембранную экспрессию рецепторов эпидермального фактора роста EGFR и Her2/neu оценивали в плюсах: отсутствие экспрессии или менее 5% иммунопозитивных опухолевых клеток обозначали (-), 6–10% – (+), 10–50% – (++) , более 50% – (+++), однако всегда учитывали характер и особенности иммуноокрашивания клеток, например, т. н. неполное иммуноокрашивание при ИГХ-реакции с Her2/neu, когда клеточная мембрана окрашивается не полностью, а U- или L-образно.

Для оценки связи между экспрессией рецепторов эпидермального фактора роста EGFR и Her2/neu и другими критериями использовали критерий χ^2 с коррекцией Фишера и тест Спирмена. Выживаемость оценивали с использованием функции Каплан-Майера. Разницу в выживаемости отдельных групп оценивали с помощью log-rank критерия. Средний период наблюдения составил 24,9 месяца. Для контроля за выживаемостью пациентов использовали метод прямого контакта с пациентом, общение с районным онкологом, а также данные областного канцер-реестра. Для мультивариантного анализа использовали регрессионную модель Кокса. Уровень значимости определен как $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Отсутствие экспрессии Her2/neu отмечено у 114 пациентов (64,4%). Экспрессия (+) обнаружена у 30 больных, (++) и (+++) у 18 и 8 пациентов соответственно. У 7 пациентов экспрессию Her2/neu не определяли.

У 13 больных экспрессия EGFR не обнаружена. Экспрессия EGFR в 6–10% клеток (+) отмечена у 15 пациентов, 10–50% (++) – у 31 пациента, более 50% (+++) – у 85 больных. У 33 больных экспрессию EGFR не определяли.

В *таблице 1* представлены данные о связи клинико-морфологических характеристик обследованных больных с экспрессией Her2/neu.

Таблица 1

Связь клиничко-морфологических факторов с экспрессией Her2/neu

| Характеристика | Her2/neu | | p |
|--------------------------------|-----------------------|---------------------------------|------|
| | Отсутствие экспрессии | Наличие экспрессии (+, ++, +++) | |
| Возраст | | | |
| 39–60 | 63 | 28 | 0,52 |
| 61–90 | 51 | 28 | |
| Пол | | | |
| Мужчины | 99 | 47 | 0,60 |
| Женщины | 15 | 9 | |
| Гистология | | | |
| Неплоскоклеточный | 43 | 24 | 0,52 |
| Плоскоклеточный | 71 | 32 | |
| Дифференцировка опухоли | | | |
| G1 | 21 | 15 | 0,42 |
| G2-3 | 93 | 41 | |
| pT | | | |
| T1 | 14 | 6 | 0,77 |
| T2-3 | 100 | 50 | |
| pN | | | |
| N0 | 82 | 38 | 0,58 |
| N1 | 32 | 18 | |
| Локализация опухоли | | | |
| Периферический рак | 48 | 24 | 0,93 |
| Центральный рак | 66 | 32 | |
| Экспрессия EGFR | | | |
| Низкая экспрессия (0, +) | 20 | 8 | 0,59 |
| Высокая экспрессия (++, +++) | 76 | 39 | |

Корреляцию между возрастом, полом, гистологической формой и дифференцировкой опухоли, критериями pT и pN, локализацией опухоли, экспрессией EGFR с уровнем экспрессии Her2/neu не обнаружили.

Таблица 2

Связь клиничко-морфологических факторов с экспрессией EGFR

| Характеристика | EGFR | | p |
|--------------------------------|--------------------------|------------------------------|------|
| | Низкая экспрессия (0, +) | Высокая экспрессия (++, +++) | |
| Возраст | | | |
| 39–60 | 14 | 65 | 0,57 |
| 61–90 | 14 | 51 | |
| Пол | | | |
| Мужчины | 25 | 99 | 0,59 |
| Женщины | 3 | 17 | |
| Гистология | | | |
| Неплоскоклеточный | 9 | 46 | 0,46 |
| Плоскоклеточный | 19 | 70 | |
| Дифференцировка опухоли | | | |
| G1 | 3 | 26 | 0,10 |
| G2-3 | 25 | 90 | |
| pT | | | |
| T1 | 0 | 13 | 0,06 |
| T2-3 | 28 | 103 | |
| pN | | | |
| N0 | 19 | 85 | 0,57 |
| N1 | 9 | 31 | |
| Локализация опухоли | | | |
| Периферический рак | 13 | 48 | 0,63 |
| Центральный рак | 15 | 68 | |

В таблице 2 представлены сведения о корреляции экспрессии EGFR с клиничко-морфологическими факторами у больных НМКРЛ ранних стадий. Корреляция между возрастом, полом, гистологической формой и дифференцировкой опухоли, критериями pT и pN, локализацией опухоли с уровнем экспрессии EGFR не обнаружена.

Одним из основных критериев прогностической ценности маркера является его связь с выживаемостью. При анализе связи выживаемости пациентов с I–II стадией НМКРЛ с экспрессией Her2/neu не обнаружена разница в показателях выживаемости у пациентов с наличием экспрессии Her2/neu и ее отсутствием (log-rank=0,18), однако отмечена тенденция к улучшению показателей выживаемости у больных с отсутствием экспрессии Her2/neu (рис. 1).

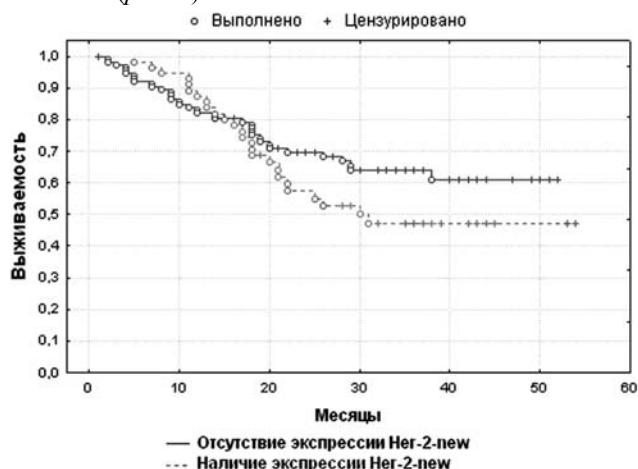


Рис. 1. Выживаемость больных НМКРЛ ранних стадий в зависимости от наличия или отсутствия экспрессии Her2/neu.

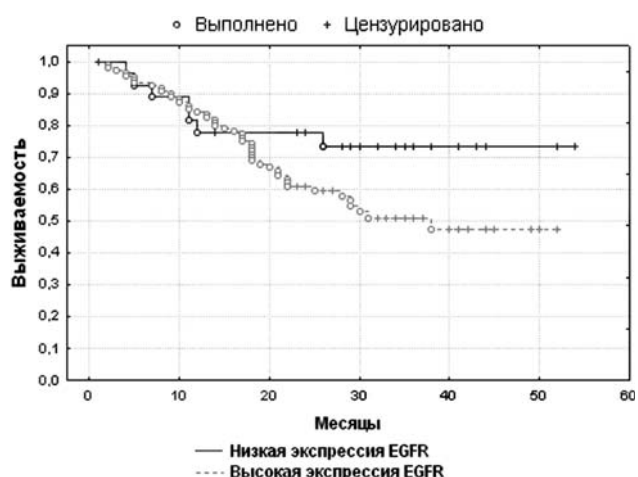


Рис. 2. Выживаемость больных с отсутствием и наличием экспрессии EGFR.

На рис. 2 представлены показатели выживаемости пациентов с низкой и высокой экспрессией EGFR. Как видно из представленного графика, обнаружена тенденция к улучшению выживаемости больных с низким уровнем экспрессии EGFR, однако отличие в показателях статистически недостоверно (log-rank=0,07).

Для оценки прогностической ценности различных клиничко-морфологических критериев проведен многофакторный регрессионный анализ.

**Прогностическое значение клинико-морфологических характеристик
больных НМКРЛ ранних стадий**

| Фактор | Категория | Относительный риск | Значение p |
|----------------|--|--------------------|------------|
| Возраст | от 42 до 77 лет | 0,78 | 0,43 |
| Пол | м vs ж | -1,05 | 0,29 |
| Гистология | Плоскоклеточный рак vs неплоскоклеточный рак | -2,44 | 0,01 |
| G | G1 vs G2 | -0,95 | 0,34 |
| T | T1 vs T2-3 | 0,17 | 0,86 |
| N | N0 vs N1 | 2,39 | 0,01 |
| Локализация | Центральный vs периферический | 1,46 | 0,14 |
| Размер опухоли | До 3 см vs более 3 см | 2,97 | 0,003 |
| HER2/New | Низкая экспрессия vs высокая экспрессия | 1,01 | 0,30 |
| EGFR | Низкая экспрессия vs высокая экспрессия | 1,88 | 0,06 |

Примечание: *vs – против.

Как видно из *таблицы 3*, независимыми прогностическими факторами являются гистологическая форма новообразования (HR=-2,44, p=0,01) размер первичной опухоли (HR=2,97, p=0,003), критерий N (HR=-2,39, p=0,01). Прогностическая ценность других факторов, в том числе экспрессии рецепторов факторов роста, клинически не значима, хотя отмечено пограничное прогностическое значение экспрессии EGFR.

По данным ряда авторов, гиперэкспрессию EGFR отмечают чаще, чем гиперэкспрессию Her2/neu, что нашло подтверждение и в нашем исследовании. Так, гиперэкспрессию Her2/neu отметили в 12% случаев, а повышенный уровень экспрессии EGFR – у 86% больных. Opp и соавт. (2005) указывают, что 67% пациентов имеют гиперэкспрессию EGFR, а 18% – гиперэкспрессию Her2/neu [10].

При определении экспрессии EGFR у больных с I стадией НМКРЛ в 52% случаев отмечено окрашивание препаратов [4,5]. По данным Cox и соавт. (2001), экспрессию EGFR определили в 55,1% случаев [3]. А.А. Суховерша (2008) в исследовании при участии больных с IIIA стадией НМКРЛ обнаружила гиперэкспрессию Her2/neu в 30,7±5,3% случаев [1]. Таким образом, гиперэкспрессию EGFR отмечают у 52–86% больных НМКРЛ, а Her2/neu – у 12–30,7%. Разница в количестве больных с экспрессией маркеров у различных авторов обусловлена, вероятно, различными характеристиками пациентов, включенных в исследование. В связи с этим в будущем необходимо конкретизировать: для какой группы больных характерен тот или иной уровень экспрессии рецепторов факторов роста.

По данным Hirsch и соавт. (2003), экспрессия EGFR не коррелировала с полом, возрастом, статусом курильщика, стадией, T и N критерием опухоли. Эти данные согласуются с полученными нами результатами. Однако, в отличие от других авторов, мы не обнаружили связь экспрессии EGFR с морфологической дифференцировкой опухоли. В специализированной литературе опубликованы сведения, что при высокой дифференцировке опухоли легкого экспрессия EGFR выше. Не обнаружили также взаимосвязь экспрессии EGFR с гистологической формой опухоли. Некоторые авторы отмечают, что экспрессия маркера выше у больных плоскоклеточным

раком легкого (23–46%) в сравнении с пациентами, у которых определена железистая опухоль (экспрессия EGFR – 24–89%) [7,9].

При анализе связи экспрессии Her2/neu с клинико-морфологическими характеристиками больных значимые корреляции не обнаружили, но ряд авторов указывают на наличие таких связей. Так, А.А. Суховерша отметила, что экспрессию Her2/neu чаще определяют у больных женщин (60,0±15,5%), чем у мужчин (26,2±5,4%) и у тех, кто никогда не курил, относительно показателя курильщиков (47,1±12,1% и 25,9±5,8% соответственно). Автор не отмечает взаимосвязь экспрессии маркера с гистотипом опухоли (p=0,93), ее дифференцировкой (p=0,87), T- и N-статусом (p>0,9) [1]. По данным Moldvay и соавт. (2000), экспрессию Her2/neu чаще отмечают у больных с плоскоклеточной формой злокачественного новообразования (30% случаев), а у пациентов с аденокарциномой данный показатель составил 19% [8].

Прогностическое значение экспрессии EGFR у больных раком легкого остается дискуссионным. Так, некоторые авторы не отмечают связь между уровнем экспрессии EGFR и выживаемостью больных НМКРЛ. Степень экспрессии EGFR (количество клеток и интенсивность окраски) не влияют на ответ опухоли на лечение ингибиторами тирозинкиназы [4,5,7]. По данным других исследователей, высокая экспрессия EGFR связана с плохим прогнозом у больных НМКРЛ, а также ассоциируется с химио- и радиорезистентностью [3,6,9,11]

Противоречивые данные получены и в отношении экспрессии Her2/neu. Так, Moldvay и соавт. (2000 г.) указывают, что экспрессия c-erb-b2 у больных НМКРЛ не является значимым прогностическим фактором, но А.А. Суховерша (2008) обнаружила, что наличие экспрессии Her2/neu в первичной опухоли больных НМКРЛ IIIA стадии значительно ухудшает прогноз (p=0,007) [1,8].

Выводы

По результатам исследований, проведенных в нашей клинике, и учитывая данные научной литературы, можно говорить о недостаточной изученности вопроса экспрессии рецепторов эпидермального фактора роста у больных раком легкого. Мы не обнаружили связь между клинико-морфологическими факторами и гиперэкспрессией EGFR и Her2/neu у больных НМКРЛ I–II стадии.

Список литературы

1. *Суховерша О.А.* Рак легень IIIa стадії: індивідуалізація лікування та прогнозу: автореф. дис. ... д-ра мед. н.: 14.01.07 «Онкологія» / О.А. Суховерша. – Донецьк, 2008. – 35 с.
2. Бюлетень Національного канцер-реєстру №13 «Рак в Україні, 2010–2011: захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби» / Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горюх Ю.Л. и др. – 2012. – №13. – С. 72
3. *Cox G.* A biological staging model for operable non-small cell lung cancer / Cox G., Jones J.L., Andi A., et al. // *Thorax*. – 2001. – Vol. 56. – P. 561–566.
4. *D'Amico T.A.* Molecular Biologic Staging of Lung Cancer / D'Amico T.A. // *Ann Thorac Surg*. – 2008. – Vol. 85. – P. 737–742.
5. *D'Amico T.A.* Molecular Biologic Substaging of Stage I Lung Cancer According to Gender and Histology / D'Amico T.A., Aloia T.A., Mary-Beth H. // *Ann Thorac Surg*. – 2000. – Vol. 69. – P. 882–886.
6. *D'Amico T.A.* A biologic risk model for stage I lung cancer: immunohistochemical analysis of 408 patients with the use of ten molecular markers / D'Amico T. A., Massey M., Herndon J. E., et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg*. – 1999. – Vol. 117. – P. 736–743.
7. *Hirsch F.R.* Epidermal Growth Factor Receptor in Non-Small-Cell Lung Carcinomas: Correlation Between Gene Copy Number and Protein Expression and Impact on Prognosis / Hirsch F.R., Varella-Garcia M., Bunn P.A., et al. // *J Clin Oncol*. – 2003. – Vol. 21, №20. – P. 3798–3807.
8. *Judith Moldvay.* Predictive Survival Markers in Patients with Surgically Resected Non-Small Cell Lung Carcinoma / Judith Moldvay, Philippe Scheid, Pascal Wild et al. // *Clin Cancer Res*. – 2000. – Vol. 6. – P. 1125–1134.
9. *Meert A-P.* The role of EGF-R expression on patient survival in lung cancer: a systematic review with meta-analysis / Meert A-P., Martin B., Delmotte P. et al. // *Eur Respir J*. – 2002. – Vol. 20. – P. 975–981.
10. *Onn A.* Tumor Cavitation in Stage I Non-Small Cell Lung Cancer: Epidermal Growth Factor Receptor Expression and Prediction of Poor Outcome / Onn A., Choe D.H., Herbst R.S. // *Tumor Cavitation in Lung Cancer Radiology* – October 2005
11. *Taillade L.* Immunohistochemical expression of biomarkers: a comparative study between diagnostic bronchial biopsies and surgical specimens of non-small-cell lung cancer / Taillade L., Penault-Llorca F., Boulet T. et al. // *Annals of Oncology*. – 2007. – Vol. 18. – P. 1043–1050.

Сведения об авторах:

Колесник А.П., к. мед. н., доцент каф. онкологии ЗГМУ.

Шевченко А.И., д. мед. н., профессор, зав. каф. онкологии ЗГМУ.

Туманский В.А., д. мед. н., профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ, директор Института клинической патологии человека.

Евсеев А.В., к. мед. н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

Шишкин М.А., к. мед. н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

Надійшла в редакцію 12.06.2013 р.