



ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА УВЕЛИЧИВАЕТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ РЕМИССИИ И СНИЖАЕТ РИСК РАЗВИТИЯ РЕЦИДИВА ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

Лазебник Л.Б.¹, Князев О.В.¹, Парфенов А.И.¹, Ручкина И.Н.¹, Rogozina В.А.¹, Коноплянников А.Г.²

¹Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии, Москва

²Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

Князев Олег Владимирович
111123, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86
Тел.: 8 (495) 304 3078
E-mail: oleg7@bk.ru

РЕЗЮМЕ

Первые результаты трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга больным язвенным колитом демонстрируют улучшение клинического течения заболевания: увеличение продолжительности ремиссии у больных с хроническим рецидивирующим и непрерывно рецидивирующим течением язвенного колита, снижение риска развития рецидива, уменьшение частоты госпитализаций больных по сравнению с терапией только препаратами 5-аминосалициловой кислоты и глюкокортикостероидами.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки; хроническое рецидивирующее, непрерывно рецидивирующее течение; язвенный колит.

SUMMARY

The first results of allogeneic mesenchymal stem cells from the bone marrow transplantation to patients with ulcerative colitis demonstrated improved clinical course. We found an increasing in the duration of remission in patients with chronic recurrent and continuous recurrent course of ulcerative colitis. Also it was noted reducing the risk of relapse, and reducing the frequency of hospital admissions compared with medication therapy with only 5 aminosalicic acid and glucocorticosteroid.

Keywords: mesenchymal stem cells, chronic relapsing, constantly recurring course, ulcerative colitis.

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК), в связи с постоянным ростом заболеваемости являются одной из наиболее серьезных проблем современной гастроэнтерологии [1]. ЯК наиболее широко распространен в развитых странах, в частности в Европе и Северной Америке. В этих регионах частота возникновения ЯК (первичная заболеваемость) колеблется от 4 до 20 случаев на 100000 человек, составляя при этом в среднем 8–10 случаев в год. Распространенность ЯК составляет от 30 до 240 случаев, БК — от 10 до 150

случаев на 100000 населения. Ежегодный прирост заболеваемости для ЯК составляет 5–20 случаев, для БК — 5–10 случаев на 100000 населения. По материалам Международных конгрессов по изучению ВЗК, в последующие десятилетия прогнозируется рост заболеваемости ЯК в странах Азии и Восточной Европы [2]. Наибольшее число случаев ЯК приходится на возраст 20–40 лет. Это наиболее трудоспособный возраст, что делает заболевание социально значимым.

Клиника язвенного колита зависит от формы и наличия осложнений. Острая форма язвенного

колита нередко сопровождается развитием тяжелых осложнений — массивного кровотечения, перфорации толстой кишки, токсической дилатации кишки. Смерть больного может наступить в первые дни заболевания (молниеносная форма) или в ближайшие месяцы. Острая форма заболевания встречается нечасто, но летальность при ней достигает 20%. В половине всех случаев имеется хроническая рецидивирующая форма язвенного колита, характеризующаяся сменой периодов обострения (не чаще 1 раза в 6–8 месяцев) и ремиссий; причем периоды ремиссий могут достигать нескольких лет. Иногда язвенный колит, начавшись остро или исподволь, без ремиссий, медленно, постепенно, но неуклонно прогрессирует. Это хроническая непрерывная форма (затянувшееся обострение более 6 месяцев при условии адекватного лечения) язвенного колита, встречающаяся в 35–40% случаев болезни. Деструкция стенки толстой кишки приводит к развитию осложнений, в том числе к кровотечению (5–6% случаев), перфорации (3–4%), токсической дилатации кишки (2–6% числа всех больных неспецифическим язвенным колитом и 10–20% от числа больных с острым течением заболевания), а также стенозу. ЯК ассоциируется с повышенным риском развития рака толстой кишки. Считается, что у больных ЯК он в 7–8 раз встречается чаще, чем в общей популяции, где частота колоректального рака колеблется в разных странах в пределах от 0,5 до 3%. Рак возникает в 5–10% числа всех больных, а после 10–20 лет от начала болезни — в 40% случаев [3; 4]. К моменту установления у больных диагноза ЯК приблизительно в 20% случаев выявляется тотальный колит, в 30–40% — левостороннее поражение и в 40–50% — проктит или проктосигмоидит.

Лечебная тактика при язвенном колите направлена на наиболее быстрое купирование атаки, предупреждение рецидива заболевания и прогрессирования процесса. Она определяется локализацией патологического процесса в толстой кишке, его протяженностью, тяжестью атаки, наличием местных и /или системных осложнений.

Среди большого количества лекарственных средств, предложенных в разное время для лечения ВЗК, к научно обоснованным относятся 5-аминосалициловая кислота (5-АСК), глюкокортикостероиды (ГКС), иммунодепрессанты и антицитокиновые агенты (селективные иммунодепрессанты). Прогресс в изучении молекулярных мишеней воспаления при ВЗК способствовал серьезному успеху антицитокиновой или биологической терапии. Несмотря на широкий спектр противовоспалительных и иммуносупрессивных влияний, стероидные гормоны часто не дают позитивных результатов, а длительный прием препаратов приводит к развитию ряда серьезных осложнений, таких как остеопороз, катаракта/глаукома, синдром Кушинга, диабет. При отсутствии ответа на лечение гормонами назначают препараты резерва — иммуносупрессоры

(азатиоприн, метотрексат). Применение иммуносупрессоров не решает полностью проблему лечения рефрактерных форм ЯК. Частота достижения клинического эффекта и выхода в ремиссию как для азатиоприна, так и для метотрексата колеблется в интервале 40–70%. Кроме того, применение иммуносупрессоров в определенной мере ограничено широким спектром побочных эффектов, свойственных цитостатикам (тошнота, рвота, диарея, лейкопения, агранулоцитоз, тромбоцитопения, анемия, гепатотоксическое действие и др.). Побочные эффекты развиваются с частотой 6–20%. Действие азатиоприна и метотрексата развивается медленно, улучшение может быть заметно не ранее чем через 3–4 недели, для получения максимального эффекта азатиоприна необходимо 3–4 месяца (для метотрексата несколько меньше), из-за чего иммуносупрессоры не могут применяться в острых ситуациях; они используются для лечения хронических вялотекущих активных форм ЯК. Таким образом, лечение иммуносупрессорами ограничено побочными эффектами, медленно развивающимся действием и недостаточной эффективностью. К недостаткам биологической терапии селективными иммунодепрессантами надо отнести не только возможность серьезных побочных эффектов, но и высокую стоимость, поэтому постоянно происходит поиск новых методов терапии ВЗК.

Не до конца остается решенным вопрос о характере и длительности противорецидивного лечения при язвенном колите. Существует точка зрения, что его следует проводить пожизненно. Однако, учитывая высокую стоимость препаратов и риск возникновения побочных эффектов при их длительном применении, в ведущих гастроэнтерологических центрах страны (ЦНИИ гастроэнтерологии, ГНЦ колопроктологии) придерживаются иной тактики лечения больных язвенным колитом. После купирования атаки язвенного колита рекомендуется поддерживающая доза аминосалицилатов (3,0 г сульфасалазина или 2,0 г месалазина в сутки) на срок 6 месяцев. Если за этот период не отмечено клинических признаков обострения заболевания, а при контрольном эндоскопическом исследовании через 6 месяцев констатируется ремиссия, противорецидивное лечение можно отменить. Если же во время курса противорецидивной терапии состояние больного было нестабильным, иногда требуется увеличить дозу аминосалицилатов для устранения симптомов обострения; если же при контрольной эндоскопии выявляются признаки активного воспаления, противорецидивное лечение необходимо продлить еще на 6 месяцев. Больные с хроническим непрерывным течением язвенного колита нуждаются в длительном непрерывном лечении, как правило, высокими дозами аминосалицилатов. Однако эта терапия не является в полном смысле слова противорецидивной, это, скорее, сдерживающее противовоспалительное лечение. У этой категории больных также широко используются цитостатики

(азатиоприн или 6-меркаптопурин) и интермиттирующие схемы приема кортикостероидов.

Неэффективность консервативной терапии в итоге приводит к необходимости хирургического лечения. По данным ГНЦ колопроктологии, оперативные вмешательства при язвенном колите необходимы каждому 5 – 10-му пациенту. Хирургический метод может быть радикальным, но для этого следует полностью удалить толстую кишку как субстрат возможного рецидива заболевания. Показаниями к операции в настоящее время являются неэффективность консервативной терапии, кишечное кровотечение, токсическая дилатация ободочной кишки, перфорация толстой кишки и возникновение на фоне язвенного колита колоректального рака.

Благодаря внедрению в медицинскую практику достижений фундаментальных исследований в области молекулярной и клеточной биологии стало возможным разрабатывать новые способы лечения с использованием костномозговых мезенхимальных стволовых клеток, которые получили общее название «регенеративная медицина».

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) были открыты выдающимся отечественным исследователем А. Я. Фриденштейном [5] более 40 лет назад и в настоящее время стали наиболее перспективным агентом для использования в клеточной терапии. Это связано с относительной простотой культивирования этой популяции стволовых клеток и с широтой возможных их дифференцировок. Данный тип стволовых клеток способен дифференцироваться в клетки самых разных типов тканей взрослого организма, в том числе в жировую ткань, мышечную, клетки сосудистого эпителия. Доказано их системное иммуномодулирующее действие. МСК костного мозга человека являются гипоиimmunогенными, не подвергаются аллогенному отторжению. Эти клетки обладают иммуномодулирующим и противовоспалительным эффектом, мигрируя в область воспаления по хемотаксическому градиенту, выделяют вещества, ингибирующие продукцию провоспалительных интерлейкинов (ИЛ), подавляют пролиферацию Т-клеток. МСК являются наиболее характерными представителями стволовых клеток с высокой степенью пластичности. Эти особенности обеспечивают перспективность их успешного клинического использования с целью усиления репаративного, противовоспалительного и иммуномодулирующего процессов.

В мире накоплен большой опыт по применению стволовых клеток у больных с воспалительными заболеваниями кишечника. В 90-е годы начаты исследования эффективности аутологичной трансплантации МСК у больных с болезнью Крона и язвенным колитом (США). 1993 год — первое сообщение об аллогенной трансплантации костного мозга больному с болезнью Крона, которая была выполнена по поводу лимфомы (США). 1997 – 1999 гг. — из 11 больных ВЗК (7 больных с болезнью Крона и 4 с язвенным колитом), которым была проведена

аллогенная трансплантация СК, вышли в ремиссию 10 (Германия). 2003 год — сообщение об эффективности аутологичной трансплантации МСК у 2 больных с болезнью Крона после высокодозной терапии циклофосфаном (США). 2005 год — аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у больных с рефрактерной болезнью Крона (США); в том же году получены положительные результаты местной клеточной терапии у 5 пациентов с наличием фистул и свищей при болезни Крона (Испания). 2008 год — трансплантация МСК рассматривается как потенциально новое стратегическое направление в терапии ВЗК. В 2009 году осуществлена трансплантация МСК через брыжеечную артерию при болезни Крона (Великобритания) [6; 7].

Таким образом, наряду с биологическими препаратами, которые уже прочно вошли в клиническую практику или проходят клинические испытания, клеточная терапия рассматривается как перспективный метод терапии ВЗК и на него возлагаются большие надежды в лечении болезни Крона и язвенного колита.

В настоящее время до конца не определены механизмы действия аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и необходимое количество клеточного материала, однако выбран наиболее адекватный способ введения и методы оценки клинической эффективности клеточной терапии. Положительные предварительные результаты проводимых в различных странах клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют об актуальности, перспективности и достаточной безопасности метода трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения больных с воспалительными заболеваниями кишечника.

Цель работы — сравнить продолжительность ремиссии у больных с хроническим рецидивирующим и непрерывно рецидивирующим течением язвенного колита при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и при проведении стандартной терапии препаратами 5-аминосалициловой кислоты (АСК), глюкокортикостероидами (ГКС) и цитостатиками; **оценить** риск развития рецидива язвенного колита у больных, получавших стандартную терапию препаратами 5-АСК и ГКС, и у больных, которым осуществлена трансплантация мезенхимальных стволовых клеток.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С февраля 2008 года по сентябрь 2009-го наблюдали две группы больных язвенным колитом, получавших терапию препаратами 5-АСК, ГКС и азатиоприном. Больным 1-й группы (39 человек) осуществляли системную трансплантацию аллогенных МСК, выращенных в культуре; при этом дозу преднизолона

снижали до 20 мг/сут, азатиоприн отменяли за 2–3 дня до предполагаемой трансплантации. 2-я группа (30 человек) получала стандартную терапию препаратами 5-АСК 3–4 г/сут, ГКС 1,5–2 мг/кг массы тела в сутки и азатиоприн 100–150 мг/сут. С хроническим рецидивирующим течением язвенного колита в 1-й группе было 26 больных, во 2-й — 19; с хроническим непрерывно рецидивирующим течением — 10 и 8 больных соответственно. В каждой группе было по три пациента, у которых ЯК выявлен впервые. Эффективность терапии оценивалась по клинической и эндоскопической шкале Мейо через 2, 6 и 12 месяцев. Культуру МСК выращивали из костного мозга здорового донора того же пола [8]. Для осуществления системной трансплантации больному однократно в /в вводили (150–200) x 10⁸ клеток в течение 40–60 минут.

При определении рисков по методике «заболеваемость» учитывались новые случаи исходов (рецидивов), возникших за время наблюдения в обеих группах больных [9]. К наиболее распространенным показателям оценки риска относятся относительный риск, или соотношение рисков (Risk Ratio — RR); соотношение шансов (Odds Ratio — OR); соотношение оценок (Rate Ratio); снижение абсолютного риска (Absolute risk reduction). На основе показателя «снижение абсолютного риска» вычисляется другой часто применяемый показатель — число пациентов, которых необходимо пролечить (дословный перевод с английского Number needed to treat (NNT)). NNT показывает, сколько пациентов необходимо пролечить, чтобы избежать одного неблагоприятного исхода, и рассчитывается как величина, обратная абсолютному снижению риска число пациентов, нуждающихся в лечении (Number needed treat) [10–13]. Соотношение шансов — это отношение шанса наступления исхода в группе применения данной

медицинской технологии (трансплантация МСК), к шансу наступления исхода в контрольной группе. Для удобства перед определением показателей относительного риска и соотношения шансов составляют таблицу сопряженности, в которой отражаются все возможные исходы исследования по изучению данной медицинской технологии (табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У 31 больного ЯК из 1-й (основной) группы за 12 месяцев наблюдения индекс клинической активности Мейо составил $1,8 \pm 0,3$ балла; во 2-й группе (группе сравнения) — $2,9 \pm 0,35$. Индекс эндоскопической активности через 2 месяца достоверно снизился в обеих группах до $1,16 \pm 0,09$ и $1,43 \pm 0,15$ балла соответственно, через 6 месяцев он составил соответственно $0,7 \pm 0,15$ и $2,4 \pm 0,2$; через 12 месяцев у больных 2-й группы он повысился до $2,6 \pm 0,4$ балла, в 1-й группе составил $0,76 \pm 0,2$.

В 1-й группе через 2 месяца наблюдения клиничко-эндоскопическая ремиссия сохранялась у 21 больного (53,8%), клиническое улучшение, которое сопровождалось уменьшением частоты стула и кровопотери, отсутствием болей в животе, нормализацией самочувствия, наблюдалось у 13 больных (33,4%), ранний рецидив отмечался у 5 больных (12,8%) при снижении дозы ГКС и отмене азатиоприна. Через 6 месяцев наблюдения у всех больных, у которых была достигнута клиничко-эндоскопическая ремиссия, рецидивов отмечено не было; рецидив произошел у 3 больных (7,7%) из группы, вышедшей только в клиническую ремиссию. Таким образом, в группе МСК за период наблюдения ремиссия сохранялась у 31 больного (79,5%), малоэффективной терапия оказалась

Таблица 1

ТАБЛИЦА СОПРЯЖЕННОСТИ	
RR (OR) = 1	Риск наступления исхода в исследуемой и контрольной группах равнозначный
RR (OR) < 1	Риск наступления исхода в исследуемой группе ниже, чем в контрольной группе
RR (OR) > 1	Риск наступления исхода в исследуемой группе выше, чем в контрольной группе

Таблица 2

ТАБЛИЦА СОПРЯЖЕННОСТИ В ИССЛЕДОВАНИИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА (МСК) У БОЛЬНЫХ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ			
Состояние	Группа		Итого
	I, основная группа	II, группа сравнения	
Рецидив	8	16	24
Отсутствие рецидива	31	14	45
Итого	39	30	69

у 20,5%. Из группы больных с рецидивом ЯК 3 больных (7,7%) была переведены на терапию инфликсимабом (ИНФ), повторная трансплантация МСК была проведена 5 больным (12,8%). Следует отметить, что рецидив произошел у всех больных с длительностью заболевания более трех лет.

Характер течения язвенного колита в группе больных, получавших препараты 5-АСК и ГКС, выглядел следующим образом. Через 2 месяца наблюдения ранний рецидив произошел у 3 больных (10,0%), клинико-эндоскопическая ремиссия сохранялась у 15 (50,0%), клиническое улучшение течение заболевания — у 12 (40,0%). Через 6 месяцев среди 27 больных, у которых отмечалось улучшение, ремиссия сохранялась у 8 (29,6%), рецидив произошел у 9 больных (33,3%). Через 12 месяцев среди 30 больных стойкий ответ на терапию сохранился у 10 (33,3%). В группе больных с рецидивом язвенного колита 7 переведены на терапию ИНФ (23,3%), 5 (16,7%) проведена трансплантация МСК, высокие дозы ГКС стали получать 8 больных (26,7%). В табл. 2 показана частота рецидивов в группах больных за 12 месяцев наблюдения.

После проведенной оценки рисков на основе данных исследования получены следующие результаты. Риск развития рецидива ЯК за период наблюдения (12 месяцев) у больных, получивших МСК (1-я группа), составил 0,2051, у больных, получавших только препараты АСК, ГКСГ и цитостатики (2-я группа), — 0,5333. Таким образом,

относительный риск (RR) составил 0,3846 (табл. 3). При расчете отношения шансов (OR) риск развития рецидива в 1-й группе составил 0,2582, во 2-й — 1,1428, а отношение шансов — 0,2258 (табл. 4). Следовательно, абсолютный риск развития рецидива (ARR) ЯК после системной трансплантации МСК был ниже, чем при проведении терапии препаратами 5-АСК, ГКС и цитостатиками (RR и OR меньше 1).

Трансплантация МСК также снижает частоту госпитализаций: процент госпитализированных больных за 12 месяцев наблюдения составил 20,5% в 1-й группе и 66,7% во 2-й группе ($p < 0,05$). На основании показателя «снижение абсолютно риска» был рассчитан показатель Number needed to treat (NNT). Оказалось, чтобы избежать одного случая раннего рецидива язвенного колита, необходимо провести трансплантацию аллогенных мезенхимальных стволовых клеток 3 больным язвенным колитом (табл. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Терапия язвенного колита с применением трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток более эффективна, чем терапия только препаратами 5-АСК и ГКС. За 12 месяцев наблюдения у 31 больного (79,5%) с хроническим рецидивирующим

Таблица 3

РАСЧЕТ ОТНОСИТЕЛЬНОГО РИСКА (RISK RATIO)			
Риск развития рецидива в основной группе	$Risk_I =$	8/39	0,2051
Риск развития рецидива в группе сравнения	$Risk_{II} =$	16/30	0,5333
Относительный риск	$Risk\ Ratio\ (RR) =$	0,2051/0,5333	0,3846

Таблица 4

РАСЧЕТ ОТНОШЕНИЯ ШАНСОВ (ODDS RATIO)			
Риск развития рецидива в основной группе	$Odds_I =$	8/31	0,2581
Риск развития рецидива в группе сравнения	$Odds_{II} =$	16/14	1,1428
Отношение шансов	$Odds\ Ratio\ (OR) =$	0,2581/1,1428	0,2258

Таблица 5

РАСЧЕТ АБСОЛЮТНОГО СНИЖЕНИЯ РИСКА (ABSOLUTE RISK REDUCTION (ARR)) И ЧИСЛА ПАЦИЕНТОВ, КОТОРЫХ НЕОБХОДИМО ПРОЛЕЧИТЬ (NUMBER NEEDED TO TREAT (NTT))			
Абсолютное снижение риска	$Absolute\ risk\ Reduction\ (ARR) =$	0,5333 – 0,2051	0,3282%
Число пациентов, которых надо пролечить	$Number\ needed\ to\ treat\ (NTT) =$	1/0,3282	= 3 человека

и непрерывно рецидивирующим течением заболевания отмечалось безрецидивное течение язвенного колита. Неэффективной трансплантация аллогенных мезенхимальных стволовых клеток была у 8 больных (20,5%). Во 2-й группе больных язвенным колитом эти показатели составили 33,3 и 66,7% соответственно.

Трансплантация аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга увеличивает

продолжительность ремиссии у больных с хроническим рецидивирующим и непрерывно рецидивирующим течением язвенного колита.

Системная трансплантация аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга снижает риск развития рецидива у больных язвенным колитом.

Системная трансплантация аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга уменьшает частоту госпитализаций больных язвенным колитом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Парфенов А. И. Основные направления и перспективы лечения воспалительных заболеваний кишечника (передовая). Тер. арх. — 2007. — Т. 8. — С. 5–8.
2. Кушнир И. Э. Вопросы клинической картины и основные методы диагностики воспалительных заболеваний кишечника. — Киев, 2005.
3. Никитина Н. В., Белоусова Е. А. Язвенный колит и рак толстой кишки: формирование групп риска, скрининг и профилактика // Фарматека. ВЗК. — 2005. — № 14.
4. Gross V., Wiedenmann B. Prevention of colon carcinoma in ulcerative colitis // Falk-symposia 134. — Berlin, 2004.
5. Friedenstein A. J., Petrakova K. V., Kurolesova A. L. et al. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissue // Transplantacion. — 1968. — Vol. 6, № 2. — P. 230–247.
6. Duijvestein M., G. R. van den Brink, D. W. Hommes/Stem cells as potential novel therapeutic strategy for inflammatory bowel disease // J. Crohn's and Colitis. — 2008. — Vol. 2, Issue 2. — P. 99–106.
7. Dinesen L., Wang A., Vianello F. P. et al. Mesenchymal stem cells administered via novel selective mesenteric artery cannulation for the treatment of severe refractory Crohn's disease // J. Crohn's and Colitis. — 2009. — Vol. 3/1. — P. 51–52.
8. Цыб А. Ф., Коноплянников А. Г., Колесникова А. И. и др. Получение и использование в медицине клеточных культур из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека // Вестн. РАМН. — 2004. — Т. 59, № 9. — С. 71–76.
9. Roe B., Doll H. Prevalence of urinary incontinence and relationship with health status // Crown copyright, J. 01 Clin Nursing. — 2004. — Vol. 9, № 2. — P. 178–187.
10. Краткий словарь терминов // Международный журнал медицинской практики. — Медиа Сфера. — 2005. — № 1.
11. Chap T. Le. Introductory Biostatistics. — New Jersey: John W & Sons, 2003. — 549 с.
12. Harvey Motulsky. Intuitive Biostatistics. — USA: Oxford Univer Press, 1995–408 p.
13. Introduction to biostatistics: Textbook. — Vienna School 01 Clin. Research. — 2009.