

Содержание матриксных металлопротеиназ во внутриглазной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

В.В. Черных¹, В.И. Коненков², О.В. Ермакова¹, Н.Б. Орлов², А.Н. Трунов^{1,3}

¹ МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, Новосибирский филиал
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

² НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Резюме

Цель исследования – изучить содержание матриксных металлопротеиназ 2, 3, 9 во внутриглазной жидкости пациентов с развитой стадией первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ). **Материал и методы.** В исследование включены 47 пациентов с диагнозом развитой стадии ПОУГ. Диагноз установлен на основании офтальмологического обследования, включающего определение остроты зрения, бинокулярную офтальмоскопию, сферопериметрию, эхоофтальмографию, оптическую когерентную томографию, измерение внутриглазного давления. Критериями исключения являлись наличие острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, диабетической ретинопатии, неоваскулярной глаукомы, увеита, гемофтальма, аутоиммунных и опухолевых процессов любой локализации, а также острых и обострений хронических воспалительных заболеваний любых органов и систем. Из исследования исключались пациенты, которые принимали для нормализации внутриглазного давления препараты, содержащие аналоги простагландинов, способные активировать воспалительный процесс. Группу сравнения составили 26 человек с диагнозом «неосложненная катаракта». У всех пациентов проведено определение содержания матриксных металлопротеиназ (ММП) 2, 3, 9 во внутриглазной жидкости. **Результаты.** Установлено, что у больных с развитой стадией ПОУГ концентрация ММП-2, но не ММП-3 и ММП-9, во внутриглазной жидкости статистически значимо больше, чем у лиц с неосложненной катарактой. Это может указывать на значимость ММП-2 в развитии локального асептического воспалительного процесса, нарушении внеклеточного матрикса и «ремоделировании» тканевых структур органа зрения, приводящих к нарушению оттока внутриглазной жидкости, что является важным фактором патогенеза ПОУГ.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, матриксные металлопротеиназы, внутриглазная жидкость.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Автор для переписки: Трунов А.Н., e-mail: trunov1963@yandex.ru

Для цитирования: Черных В.В., Коненков В.И., Ермакова О.В., Орлов Н.Б., Трунов А.Н. Содержание матриксных металлопротеиназ во внутриглазной жидкости пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2020; 40 (5): 73–78. doi: 10.15372/SSMJ20200508

Content of matrix metalloproteinases in the intraocular fluid of patients with primary open-angle glaucoma

V.V. Chernykh¹, V.I. Konenkov², O.V. Ermakova¹, N.B. Orlov², A.N. Trunov^{1,3}

¹ The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk Branch
630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10

² Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2

³ Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

Abstract

Aim of the study was to investigate the content of matrix metalloproteinases 2, 3, 9, in the intraocular fluid of patients with a developed stage of primary open-angle glaucoma. **Material and methods.** The study included 47 patients with advanced stage of primary open-angle glaucoma. The diagnosis is based on ophthalmological examination, including visual acuity, binocular ophthalmoscopy, spheroperimetry, echoophthalmography, optical coherence tomography, intraocular pressure measurement. Exclusion criteria were acute and exacerbation of chronic inflammatory diseases of the organ of vision, diabetic retinopathy, neovascular glaucoma, uveitis, hemophthalmia, autoimmune and tumor processes of any localization, as well as acute and exacerbations of chronic inflammatory diseases of any organs and systems. Patients who took for normalization of intraocular pressure drugs containing analogues of prostaglandins, that could activate the inflammatory process, were excluded from the study. 26 patients with a diagnosis of uncomplicated cataract made up a comparison group. All patients underwent determination of matrix metalloproteinases (MMP) 2, 3, 9 in the intraocular fluid. **Results.** Concentration of MMP-2 but not MMP-3 or MMP-9 is statistically significantly higher in the intraocular fluid of patients with a developed stage of primary open-angle glaucoma compared to individuals with uncomplicated cataracts. This may indicate importance of MMP-2 in the development of a local aseptic inflammatory process, impaired extracellular matrix and «remodeling» of the tissue structures of the organ of vision, leading to disruption of the outflow of intraocular fluid, which is an important factor in the pathogenesis of primary open-angle glaucoma.

Key words: primary open-angle glaucoma, matrix metalloproteinases, intraocular fluid.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Trunov A.N., e-mail: trunov1963@yandex.ru

Citation: Chernykh V.V., Konenkov V.I., Ermakova O.V., Orlov N.B., Trunov A.N. Content of matrix metalloproteinases in the intraocular fluid of patients with primary open-angle glaucoma. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (5): 73–78. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200508

Введение

Анализ результатов научных публикаций, посвященных изучению механизмов развития первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ), позволяет сделать заключение, что многие аспекты ее патогенеза, особенно на молекулярно-клеточном уровне, остаются до конца не изученными, дискуссионными и требуют дальнейшего углубленного исследования. В последние годы появились работы, свидетельствующие о нали-

чии в механизмах развития глаукомы нарушений содержания и баланса различных классов провоспалительных цитокинов, факторов роста и других биологически активных молекул, а также рассматривается их возможная роль в развитии поврежденных трабекулы, процессов нейродегенерации и др. [1–7].

В связи с рассматриваемой рядом авторов ролью деструктивно-воспалительных процессов в механизмах развития ПОУГ, значимым представляется изучение роли в патогенезе заболевания

изменений содержания и баланса матриксных металлопротеиназ (ММП). Эти биологически активные молекулы, относящиеся к семейству цинк-зависимых протеолитических ферментов, принимают активное участие в развитии деструктивно-воспалительных процессов, дегенерации белков внеклеточного матрикса и компонентов соединительной ткани, ремоделировании тканевых структур [8–10], что представляется важным, учитывая наличие морфоструктурных повреждений в органе зрения, включая трабекулярный аппарат, и нарушение оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ), возникающие при ПОУГ.

Данные о нарушении содержания и баланса провоспалительных цитокинов в ВГЖ пациентов с ПОУГ, а также результаты научных исследований, свидетельствующие о способности ряда цитокинов влиять на регуляцию синтеза ММП [11–14], позволяют предположить достаточно вероятным изменение локального содержания ММП в органе зрения и их участие в развитии деструктивно-воспалительных процессов при ПОУГ.

Приводя данные, свидетельствующие о повышенном содержании металлопротеиназ в слезной, внутриглазной жидкостях и в тканевых структурах органа зрения при ПОУГ, авторы предполагают, что избыточный синтез ММП может происходить под влиянием цитокинов, в том числе за счет сигнальных путей, связанных с активностью трансформирующего фактора роста бета. В результате возникающего дисбаланса происходят нарушения в межклеточном матриксе с «ремоделированием» трабекулярной зоны, решетчатой пластинки склеры и других тканевых структур, что приводит к нарушению оттока ВГЖ и развитию глаукомы. Кроме того, исследователями рассматривается возможность участия металлопротеиназ в процессах апоптоза ганглиозных клеток сетчатки, глаукомной оптиконейропатии и др. [15–23]. Однако эти данные не всегда можно трактовать однозначно, необходимо проведение дальнейших исследований.

Цель настоящего исследования – изучить содержание матриксных металлопротеиназ ММП-2, 3 и 99 в ВГЖ пациентов с развитой стадией ПОУГ.

Материал и методы

Обследованы 47 пациентов с верифицированным диагнозом развитой стадии ПОУГ, который ставился на основании стандартного офтальмологического обследования, включающего определение остроты зрения, бинокулярную офтальмоскопию, сферопериметрию, эхоофтальмографию, оптическую когерентную томографию,

измерение внутриглазного давления. Количество мужчин составило 16 (34,0 %), женщин – 31 (66,0 %), средний возраст пациентов равнялся $64,3 \pm 5,9$ года. Группу сравнения составили 26 пациентов с диагнозом «неосложненная катаракта» (8 (30,8 %) мужчин, 18 (69,2 %) женщин, средний возраст $67,1 \pm 3,2$ года). Таким образом, по возрастному признаку и гендерному составу группы не различались.

Критериями исключения являлись острые и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, наличие диабетической ретинопатии, неоваскулярной глаукомы, увеита различной этиологии и локализации, гемофтальма, аутоиммунных и опухолевых процессов любой локализации. Из исследования исключались пациенты, которые принимали для нормализации внутриглазного давления препараты, содержащие аналоги простагландинов, способные активировать воспалительный процесс.

У всех пациентов на начальных этапах проведения операции забирали образцы ВГЖ (75–150 мкл), замораживали и хранили при -70 °С. Перед проведением исследования ВГЖ размораживали и удаляли осадок центрифугированием (4 °С, $10\,000$ об/мин, 10 мин). Концентрацию ММП-2, ММП-3, ММП-9 определяли с использованием набора Luminex Human Magnetic Assay (3-Plex) (R&D Systems, США) методом проточной флуориметрии на двухлучевом лазерном анализаторе Bio-Plex 200 (Bio-Rad, США).

В исследовании были использованы методы непараметрической статистики. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Данные представлены в виде медианы (Me), верхнего (Q3) и нижнего (Q1) квартилей (Me [Q1–Q3]). Статистически значимыми различиями считали при $p < 0,05$.

На проведение исследования получено согласие комитета по биомедицинской этике. Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а также требованиями Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ (ред. от 21.07.2014) «О персональных данных» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.09.2015). У всех пациентов получено информированное согласие на забор ВГЖ, проведение диагностических манипуляций и оперативного лечения, а также использование данных исследования в научных целях.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования получены данные, представленные в таблице. MMP-2 (желатиназа А) катализирует расщепление широкого спектра белков, включая желатин, коллаген IV, V, VII, X, XI типов, фибронектин, витронектин, тенасцин, казеин, ламинин, агрекан, энтактин, эластин, версикан и фибриноген. MMP-2 определялась в ВГЖ всех пациентов с развитой стадией ПОУГ и с неосложненной катарактой, ее содержание находилось в границах чувствительности метода определения. Концентрация MMP-2 в ВГЖ пациентов с развитой стадией ПОУГ была статистически значимо больше, чем у больных группы сравнения ($p = 0,001$). Полученные данные совпадают с представленными в научной литературе сведениями о нарастании концентрации MMP-2 как в слезной [16, 19], так и во внутриглазной жидкости [17].

MMP-3 выявлена в ВГЖ у шести (12,8 %) пациентов с развитой стадией ПОУГ и у одного (3,8 %) больного неосложненной катарактой, однако статистически значимых различий величин показателя между группами не установлено ($p = 0,08$). Несмотря на совпадение наших результатов, касающихся содержания MMP-2 в ВГЖ пациентов с ПОУГ, с данными, представленными A.D. Nga et al., мы не получили аналогичных результатов при определении концентрации MMP-3, которые в этой работе были статистически значимо выше при ПОУГ [17].

В исследовании L. Markiewicz et al. показана повышенная экспрессия MMP-9 в ВГЖ пациентов с ПОУГ [21], также как и в ряде публикаций, свидетельствующих о высоком содержании MMP-9 в слезной жидкости при данной патологии [16, 18, 19, 22], что интерпретируется авторами как маркер развития воспаления при ПОУГ. Нам не удалось подтвердить это заключение: MMP-9 в концентрации выше нижней границы чувствительности метода определения обнаружена у одного (2,1 %) пациента с развитой стадией ПОУГ и не определялась у больных неосложненной катарактой.

Заключение

Проведенное определение содержания MMP в ВГЖ пациентов с развитой стадией ПОУГ в сравнении с данными, полученными у лиц с неосложненной катарактой, позволили выявить статистически значимое увеличение концентрации MMP-2, но не MMP-3 и MMP-9. Указанное может свидетельствовать о значимости MMP-2 в развитии местного асептического воспалительного процесса, изменении внеклеточного матрикса и ремоделировании тканевых структур органа зрения, которые приводят к нарушению оттока ВГЖ, что имеет важное значение в патогенезе ПОУГ. Существующие разноречивые данные об изменении содержания различных классов MMP в ВГЖ пациентов с ПОУГ требуют дальнейшего изучения их роли в механизмах развития патологического процесса.

Список литературы / references

1. Chua J., Vania M., Cheung C.M., Ang M., Chee S.P., Yang H., Li J., Wong T.T. Expression profile of inflammatory cytokines in aqueous from glaucomatous eyes. *Mol. Vis.* 2012; 18: 431–438.
2. Khalef N., Labib H., Helmy H., El Hamid M.A., Moemen L., Fahmy I. Levels of cytokines in the aqueous humor of eyes with primary open angle glaucoma, pseudoexfoliation glaucoma and cataract. *Electron Physician.* 2017; 9 (2): 3833–3837. doi:10.19082/3833
3. Kokubun T., Tsuda S., Kunikata H., Yasuda M., Himori N., Kunimatsu-Sanuki S., Maruyama K., Nakazawa T. Characteristic profiles of inflammatory cytokines in the aqueous humor of glaucomatous eyes. *Ocul. Immunol. Inflamm.* 2018; 26 (8): 1177–1188. doi: 10.1080/09273948.2017.1327605
4. Черных В.В., Ермакова О.В., Орлов Н.Б., Обухова О.О., Горбенко О.М., Шваюк А.П., Еремина А.В., Трунов А.Н. Особенности содержания провоспалительных цитокинов в слезной и внутриглазной жидкостях при первичной открытоугольной глаукоме. *Сиб. науч. мед. журн.* 2018; 38 (5): 5–10. doi: 10.15372/SSMJ20180501
- Chernykh V.V., Ermakova O.V., Orlov N.B., Obukhova O.O., Gorbenko O.M., Shvayuk A.P., Eremin

Таблица. Содержание матриксных металлопротеиназ во внутриглазной жидкости пациентов с ПОУГ и неосложненной катарактой, Me [Q1–Q3]

Table. The content of matrix metalloproteinases in the intraocular fluid of patients with POAG and uncomplicated cataract, Me [Q1–Q3]

Содержание MMP, пг/мл	Пациенты с ПОУГ	Пациенты с неосложненной катарактой	<i>p</i>
MMP-2	1,87 [1,43; 2,31]	1,43 [1,09; 1,81]	0,001
MMP-3	0,06 [0,00; 0,09]	0,02 [0,00; 0,01]	0,08
MMP-9	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]	1

- na A.V., Trunov A.N. Features of the content of proinflammatory cytokines in lacrimal and intraocular fluid in patients with primary open-angle glaucoma. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2018; 38 (5): 5–10. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20180501
5. Pantaloni A., Obadă O., Constantinescu D., Feraru C., Chiselită D. Inflammatory model in patients with primary open angle glaucoma and diabetes. *Int. J. Ophthalmol.* 2019; 12 (5): 795–801. doi: 10.18240/ijo.2019.05.15
6. Черных В.В., Коненков В.И., Ермакова О.В., Орлов Н.Б., Обухова О.О., Еремина А.В., Трунов А.Н. Содержание цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. *Бюл. сиб. медицины*. 2019; 18 (1): 257–265. doi: 10.20538/1682-0363-2019-1-257-265
- Chernykh V.V., Konenkov V.I., Ermakova O.V., Orlov N.B., Obukhova O.O., Eremina A.V., Trunov A.N. Content of cytokines and growth factors in the intraocular fluid of patients with primary open-angle glaucoma. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (1): 257–265. [In Russian]. doi: 10.20538/1682-0363-2019-1-257-265
7. Berge T.J.C., Fazil Z., van den Born I., Wolfs R.C.W., Schreurs M.W.J., Dik W.A., Rothova A. Intraocular cytokine profile and autoimmune reactions in retinitis pigmentosa, age-related macular degeneration, glaucoma and cataract. *Acta Ophthalmol.* 2019; 97 (2): 185–192. doi: 10.1111/aos.13899
8. Cui N., Hu M., Khalil R.A. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2017; 147: 1–73. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005
9. Chen Q., Jin M., Yang F., Zhu J., Xiao Q., Zhang L. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. *Mediators Inflamm.* 2013; 2013: 928315. doi: 10.1155/2013/928315
10. Nissinen L., Kähäri V.M. Matrix metalloproteinases in inflammation. *Biochim. Biophys. Acta*. 2014; 1840 (8): 2571–2580. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.03.007
11. Roupakia E., Markopoulos G.S., Kolettas E. IL-12-mediated transcriptional regulation of matrix metalloproteinases. *Biosci. Rep.* 2018; 38 (3): BSR20171420. doi: 10.1042/BSR20171420
12. Singh S., Maniakis-Grivas G., Singh U.K., Asher R.M., Mauri F., Elkington P.T., Friedland J.S. Interleukin-17 regulates matrix metalloproteinase activity in human pulmonary tuberculosis. *J. Pathol.* 2018; 244 (3): 311–322. doi:10.1002/path.5013
13. Zhang J.F., Wang G.L., Zhou Z.J., Fang X.Q., Chen S., Fan S.W. Expression of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and interleukins in vertebral cartilage endplate. *Orthop. Surg.* 2018; 10 (4): 306–311. doi: 10.1111/os.12409
14. Wang T., He C. Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018; 44: 38–50. doi: 10.1016/j.cytofr.2018.10.002
15. de Groef L., van Hove I., Dekeyster E., Stalmans I., Moons L. MMPs in the trabecular meshwork: promising targets for future glaucoma therapies? *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013; 54 (12): 7756–7763. doi: 10.1167/iovs.13-13088
16. Соколов В.А., Лихванцева В.Г., Леванова О.Н., Никифоров А.А., Выгодин В.А. Экспрессия матричных металлопротеиназ в слезе и полиморфизм гена фактора комплемента h (CFH) у больных первичной открытоугольной глаукомой. *Мед. иммунол.* 2017; 19 (5): 547–556. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-547-556
- Sokolov V.A., Likhvantseva V.G., Levanova O.N., Nikiforov A.A., Vygodin V.A. Expression of matrix metalloproteinases in lacrimal fluid and gene polymorphism of complement factor h (CFH) in patients with primary open-angle glaucoma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology*. 2017; 19 (5): 547–556. [In Russian]. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-547-556
17. Nga A.D., Yap S.L., Samsudin A., Abdul-Rahman P.S., Hashim O.H., Mimiwati Z. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in the aqueous humour of patients with primary angle closure glaucoma – a quantitative study. *BMC Ophthalmol.* 2014; 14: 33. doi: 10.1186/1471-2415-14-33
18. Трунов А.Н., Бгатов Н.П., Еремина А.В., Дружинин И.Б., Пожидаева А.А., Трунова Л.А., Черных В.В. Новые подходы к оценке выраженности воспалительных нарушений в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы. *Аллергология и иммунология*. 2016; 17 (2): 107–111.
- Trunov A.N., Bgatova N.P., Eremina A.V., Druzhinin I.B., Pozhidaeva A.A., Trunova L.A., Chernykh V.V. New approaches to assessing the severity of inflammatory disorders in the pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Allergologiya i immunologiya = Allergy and Immunology*. 2016; 17 (2): 107–111. [In Russian].
19. Sahay P., Rao A., Padhy D., Sarangi S., Das G., Reddy M.M., Modak R. Functional activity of matrix metalloproteinases 2 and 9 in tears of patients with glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2017; 58 (6): 106–113. doi: 10.1167/iovs.17-21723
20. De Groef L., van Hove I., Dekeyster E., Stalmans I., Moons L. MMPs in the neuroretina and optic nerve: modulators of glaucoma pathogenesis and repair? *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014; 55 (3): 1953–1964. doi: 10.1167/iovs.13-13630
21. Markiewicz L., Pytel D., Mucha B., Szymank K., Szaflik J., Szaflik J.P., Majsterek I. Altered expression levels of MMP1, MMP9, MMP12, TIMP1, and IL-1β as a risk factor for the elevated IOP and optic nerve head damage in the primary open-angle glauco-

ma patients. *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 812503. doi: 10.1155/2015/812503

22. Zaleska-Żmijewska A., Strzemecka E., Wawrzyniak Z.M., Szaflik J.P. Extracellular MMP-9-based assessment of ocular surface inflammation in patients with primary open-angle glaucoma. *J. Ophthalmol.* 2019; 2019: 1240537. doi:10.1155/2019/1240537

23. Da Costa A.W.F., do Carmo Neto J.R., Braga Y.L.L., Silva B.A., Lamounier A.B., Silva B.O., Dos Reis M.A., de Oliveira F.A., Celes M.R.N., Machado J.R. Cardiac chagas disease: MMPs, TIMPs, galectins, and TGF- β as tissue remodelling players. *Dis. Markers.* 2019; 2019: 3632906. doi: 10.1155/2019/3632906

Сведения об авторах:

Валерий Вячеславович Черных, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-7623-3359, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Владимир Иосифович Коненков, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0001-7385-6270, e-mail: vikonenkov@gmail.com

Николай Борисович Орлов, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9063-4239, e-mail: nbo700@mail.ru

Ольга Викторовна Ермакова, ORCID:0000-0003-0427-1564, e-mail: oven_e@mail.ru

Александр Николаевич Трунов, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-7592-8984, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Information about the authors:

Valery V. Chernykh, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-7623-3359, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

Vladimir I. Konenkov, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0001-7385-6270, e-mail: vikonenkov@gmail.com

Nikolay B. Orlov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9063-4239, e-mail: nbo700@mail.ru

Olga V. Ermakova, ORCID:0000-0003-0427-1564, e-mail: oven_e@mail.ru

Aleksandr N. Trunov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-7592-8984, e-mail: trunov1963@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.06.2020

После доработки 22.07.2020

Принята к публикации 20.08.2020

Received 18.06.2020

Revision received 22.07.2020

Accepted 20.08.2020