

УДК 612.017.1:[616.98:578.834.1]

DOI:10.14427/jipai.2024.2.70

Роль полиморфных вариантов генов цитокинов в прогнозе исходов COVID-19

Н.И. Баранова¹, Л.А. Ащина¹, А.И. Болгова², О.Н. Лесина¹¹ Пензенский институт усовершенствования врачей, Пенза² Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи, Пенза

The role of cytokine gene polymorphic variants in predicting COVID-19 outcomes

N.I. Baranova¹, L.A. Aschina¹, A.I. Bolgova², O.N. Lesina¹¹ Penza Institute for Further Training of Physicians, Russia² Penza Regional Clinical Center for Specialized Medical Care, Russia

Аннотация

Пандемия COVID-19 показала, что исходы заболевания зависят от многих факторов и, прежде всего, генетических мутаций в иммунной системе. Особая роль в исходе COVID-19 отводится дефекту генов воспалительных цитокинов, избыток которых приводит к эндотелиальной дисфункции с повреждением жизненно важных органов, зачастую с летальным исходом.

Целью исследования явилось изучение полиморфизмов генов *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) у больных COVID-19 в зависимости от исхода заболевания.

Методы. Проведено обследование 142 пациентов с установленным диагнозом COVID-19, из которых у 122 пациентов заболевание завершилось выздоровлением (1 группа), а 20 пациентов умерли (2 группа). Полиморфизмы генов *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) генетическим методом были исследованы у больных COVID-19 в зависимости от исхода заболевания. **Результаты.** Анализ полиморфизма генов *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T), *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A) у больных COVID-19 не показал статистических различий у выздоровевших пациентов по сравнению с умершими пациентами. Статистически значимые различия были выявлены в гене *IL-10* (генотип -1082A/A). Было выявлено, что в группе умерших больных COVID-19 он регистрировался в 3,8 раз чаще по сравнению с выздоровевшими пациентами (p=0,001; OR=1,027).

Заключение. Среди изученных полиморфных вариантов генов *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) достоверно значимым маркером повышенного риска летального исхода COVID-19 явился генотип -A/A полиморфизма *IL-10*(G-1082A), который может быть использован в качестве возможного предиктора неблагоприятного исхода заболевания.

Ключевые слова

COVID-19, полиморфизмы генов цитокинов, прогноз исхода.

Summary

The COVID-19 pandemic has shown that the outcomes of the disease depend on many factors and, above all, genetic mutations in the immune system. A special role in the outcome of COVID-19 is attributed to a defect in the genes of inflammatory cytokines, the excess of which leads to endothelial dysfunction with damage to vital organs, often with lethal outcome.

The aim of the study was to investigate polymorphisms of *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) genes in COVID-19 patients depending on the outcome of the disease.

Methods. We examined 142 patients diagnosed with COVID-19, of whom 122 patients ended the disease with recovery (group 1) and 20 patients died (group 2). Polymorphisms of *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) genes by genetic method were investigated in COVID-19 patients depending on the outcome of the disease. **Results.** Analysis of *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) gene polymorphisms in COVID-19 patients showed no statistical differences in recovered patients compared to deceased patients. Statistically significant differences were found in *IL-10* gene (genotype -1082A/A). It was found to be recorded 3.8 times more frequently in the group of COVID-19 deceased patients compared to recovered patients (p=0.001; OR=1.027).

Conclusion. Among the studied polymorphic variants of *IL-1β* (T-31C), *TNF-α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) genotype -A/A polymorphism of *IL-10*(G-1082A) was a significant marker of increased risk of COVID-19 lethal outcome, which can be used as a possible predictor of unfavorable outcome of the disease.

Keywords

COVID-19, cytokine gene polymorphisms, outcome prediction.

Введение

Реакция иммунной системы человека на вирус SARS-CoV-2 отличается большим разнообразием клинических форм заболевания и проявляется от бессимптомных форм до летального исхода [1,2]. Тяжёлые осложнения с летальным исходом в подавляющем большинстве случаев регистрируются у пожилых пациентов COVID-19 с наличием сопутствующей патологии [3]. Кроме того, исследованиями учёных было показано, что непосредственное влияние на степень тяжести и неблагоприятный исход COVID-19 оказывает также генетический состав организма [4–6] и прежде всего факторы иммунной системы [7,8]. Большой интерес вызывают исследования по определению дефекта полиморфизма генов воспалительных цитокинов. Так, было доказано, что наиболее значимыми участниками развития «цитокинового шторма», который имеет огромное значение в развитии событий, приводящих к неблагоприятному исходу, являются цитокины – MCP-1, TNF- α , IP-10 и IL-4 IL-10, IL-1 β , IL-6, IL-4 [9,10]. Тем не менее, работ, посвящённых исследованию полиморфных вариантов генов значимых цитокинов, участвующих в развитии неблагоприятного исхода COVID-19, в настоящее время недостаточно. Следовательно, изучение полиморфных вариантов генов про- и противовоспалительных цитокинов откроет новые возможности для прогнозирования исхода COVID-19.

Целью исследования явилось изучение полиморфных вариантов генов *IL-1 β (T-31C)*, *TNF- α (G-308A)*, *IL-10 (G-1082A)*, *IL-17(G-197A)*, *IL-4 (C-589T)* у пациентов с COVID-19 в зависимости от исходов заболевания.

Материал и методы

Обследовали 142 пациента с COVID-19. Возраст больных колебался от 30 до 69 лет (50 ± 18). Больные находились на лечении в государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи». Диагноз был установлен на основании анамнеза, компьютерной томографии (КТ) лёгких, клинического и биохимического анализов крови, этиологической лабораторной диагностики. Окончательный диагноз устанавливался по данным КТ и положительным результатам мазка из носа и ротоглотки РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выделение нуклеиновых кислот осуществляли с помощью аппарата производства Thermo Fisher Scientific

(США). Амплификацию проводили наборами (Вектор-Бест, Россия). На термоциклере C1000 Touch (Bio-Rad, США) проводили детекцию и анализ результатов.

Согласно действующим на момент исследования рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 14 от 27.12.2021 г [11] в зависимости от исходов заболевания больные были разделены на 2 группы. 1-ю группу составили пациенты с выздоровлением ($n=122$) с COVID-19, от лёгкого до тяжёлого течения заболевания с поражением лёгких (КТ1-КТ3). 2-ую группу больных COVID-19 ($n=20$) составили умершие пациенты с тяжёлым и крайне тяжёлым течением заболевания, с объёмом поражения лёгких от высокого до значительного или субтотального (КТ3-КТ4).

Было проведено рандомизированное, проспективное клиническое исследование. Критерии включения: подтверждённый диагноз COVID-19, возраст пациентов от 30 до 69 лет (50 ± 18), информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: инфекции дыхательных путей, вызванные другими респираторными вирусами, беременные, пациенты с психическими и онкологическими заболеваниями. Генетические исследования были проведены в лаборатории Пензенского института усовершенствования врачей – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России. ДНК выделяли наборами («ДНК-технология», Россия). Методом ПЦР в режиме реального времени проводили изучение полиморфных вариантов генов интерлейкинов наборами «НПО Литех» (Россия) на амплификаторе DT-lite («ДНК-технология», Россия). Выявление вариантов генов *IL-1 β (T-31C)*, *TNF- α (G-308A)*, *IL-10 (G-1082A)*, *IL-17(G-197A)*, *IL-4 (C-589T)* методом ПЦР осуществляли согласно инструкции.

Полученные данные анализировались при помощи программы STATISTICA 12.0. Различия по качественному признаку в группах изучали при помощи критерия χ^2 , при необходимости применяли двусторонний критерий Фишера (P_F). Статистически значимыми считали различия в группах ($p < 0,05$). Выявление силы ассоциаций проводили при помощи показателя отношения шансов рисков odds ratio (OR) и 95% доверительного интервала.

Результаты и обсуждение

«Цитокиновый шторм» вызывает мощную гипервоспалительную реакцию у пациентов с COVID-19 с развитием дыхательной недостаточности, которая является причиной смерти в 70% случаев летальных исходов COVID-19 [12]. Доказано, что изменения полиморфизмов в провоспалительных генах врождённого иммунитета, а также возраст и пол находятся во взаимосвязи с вирусной нагрузкой SARS-CoV, что может являться повышенным риском тяжёлых исходов у больных [13]. В проведённом исследовании 386 пациентов по поиску SNP цитокинов были выявлены связи с развитием респираторно-синцитиального вируса, коронавируса и пневмонии. Отмечалось повышение уровня TNF- α , интерферона- γ , интерлейкина-6 (IL-6) у больных COVID-19 [14]. В другом метаанализе, включающем 1426 больных COVID-19, было показано, что доля неблагоприятных исходов ($p < 0,001$) и тяжесть заболевания ($p = 0,009$) положительно коррелировали с уровнем IL-6 у пациентов [15,16].

Изучение полиморфизма генов *IL-1 β* (T-31C), *TNF- α* (G-308A), *IL-10* (G-1082A), *IL-17*(G-197A), *IL-4* (C-589T) показало следующие результаты (таблица 1). Так, анализ полиморфизма (C-589T) гена *IL-4* в зависимости от исхода заболевания не показал достоверно значимых различий по

частоте встречаемости всех генотипов (табл. 1), что не позволяет использовать данные показатели для определения риска летального исхода COVID-19. В работе зарубежных авторов была выявлена ассоциация гена *IL-4* (*rs2070874*) с риском респираторных инфекций (OR=1,66, 95% CI 1,29-2,14) [17]. Кроме того, была выявлена ассоциация с *TT*-, *GT* генотипами у 94 пациентов, инфицированных SARS-CoV2, с повышенной вирусной нагрузкой: *IL-1A* и *TT*-генотипом *rs2288918* (OR=7,2, $p = 0,034$), *RelB*, *rs1946518* (T>G, OR=10,6, $p = 0,014$), *TC*-генотипом *rs1800587* (OR=10,2, $p = 0,031$).

При изучении полиморфизма -G-1082A гена *IL-10* у пациентов с COVID-19 в зависимости от исходов заболевания показало следующее распределение генотипов. Так, количество пациентов с генотипами -1082G/G и -1082G/A было сопоставимо в обеих группах без достоверных различий (табл. 1). Статистически значимые различия были выявлены в гене *IL-10* по генотипу -1082A/A. Было выявлено, что во 2 группе пациентов COVID-19 он встречался в 3,8 раз чаще по сравнению с пациентами 1 группы ($p = 0,001$; OR=1,027). Полученный результат можно констатировать в плане возможного участия гена *IL-10* - генотип - 1082A/A в неблагоприятном исходе COVID-19. Аналогичное исследование было про-

Таблица 1. Распределение полиморфных вариантов генов *IL-1 β* , *TNF- α* , *IL-4*, *IL-10*, *IL-17A* у больных COVID-19 (выздоровление) и пациентов COVID-19 (летальный исход)

Полиморфизмы	Генотип	Частота встречаемости				COVID-19 (выздоровление) и COVID-19 (летальный исход)	
		COVID-19 (выздоровление) (1 группа) (n=122)		COVID-19 (летальный исход) (2 группа) (n=20)		OR	Критерий различий при df=1, χ^2 (p)
		n	%	n	%		
<i>IL-4</i> (C-589T)	CC	74	60,6	13	65,0	1,248 (0,449-2,465)	0,061
	CT	40	32,8	6	30,0	0,487 (0,159-1,180)	0,195
	TT	48	6,6	1	5,0	1,667 (0,467-1,737)	0,306
<i>IL-10</i> (G-1082A)	GG	17	14,0	8	15,0	1,088 (0,388-2,039)	0,276
	GA	89	72,9	7	35,0	0,773 (0,273-1,285)	0,086
	AA	16	13,1	10	50,0	1,027 (0,374-1,830)	0,001*
<i>IL-17A</i> (G-197A)	GG	43	35,2	11	55,0	0,692 (0,176-1,362)	0,095
	GA	54	44,3	6	30,0	0,265 (0,172-0,755)	1,000
	AA	25	20,5	3	15,0	1,250 (0,863-2,532)	0,137
<i>IL-1β</i> (T-31C)	TT	52	42,6	7	35,0	1,564 (1,489-2,325)	0,946
	TC	57	46,7	10	50,0	0,887 (0,159-1,780)	0,198
	CC	13	10,7	3	15,0	1,532 (0,662-3,657)	0,115
<i>TNF-α</i> (G308A)	GG	95	77,9	19	95,0	1,789 (0,892-3,776)	1,075
	GA	19	15,6	1	5,0	0,561 (0,172-1,587)	0,148
	AA	8	6,5	0		0,652 (0,436-1,256)	0,071

Примечание: * – статистически значимое различие показателей в 1 и 2 группе больных ($p < 0,05$; p – критерий различий при df=1, χ^2).

ведено по встречаемости полиморфных вариантов гена *IL-10* -592 (C->A), по ассоциации данного интерлейкина у больных COVID-19 по сравнению с группой здоровых, в результате чего установлено, что полиморфизм гена *IL-10* (*rs1800872*) тесно связан с тяжестью COVID-19, а генотип CC выполняет защитную роль в предотвращении тяжёлого прогрессирования заболевания [18].

Изучение полиморфного варианта гена *IL-17(G-197A)* у больных COVID-19 в зависимости от исхода заболевания показало следующие результаты. В обеих группах преобладали пациенты с генотипом -197G/G (в 1 группе – у 35,2%, во 2 группе – у 55,0% больных). Кроме того, не было выявлено достоверной разницы по количеству больных COVID-19 с генотипом 197G/A гена *IL-17* и генотипом -197A/A гена *IL-17* при сравнении 1-ой и 2-ой групп. В публикациях [19] был проанализирован вариант *IL-17F H161R* между выжившими и невыжившими пациентами, и также не было найдено достоверных отличий в группах. В других исследованиях было показано, что ослабление выработки *IL-17* увеличивало выживаемость пациентов, а мутации в генах, которые способствовали повышению выработки *IL-17*, коррелировали со снижением выживаемости. Авторы полагают, что данный маркер может являться критерием тяжести заболевания и быть потенциальной мишенью терапии [20].

Исследование полиморфного варианта гена *IL-1β (T-31C)* в изучаемых группах достоверных различий не было выявлено. В исследованиях других авторов также не было выявлено ассоциации гена *IL-1β* с тяжестью течения COVID-19 [21].

В исследованиях зарубежных авторов высказывается мнение об ассоциации вариантов гена *TNF-α* с развитием инфекции SARS-CoV. Так, было показано, что вирус SARS-CoV-2 ингибирует факторы транскрипции NFκB и IRF вследствие подавления активации факторов,

связанных с рецептором TNF (TRAF), вызывает угнетение раннего ответа через провоспалительные цитокины IL-1, IL-6 и TNF-α и интерфероны I типа [22]. Тяжесть течения COVID-19 также была выявлена ассоциацией TNFA и ACE [23]. В проведённых нами исследованиях при изучении полиморфизма гена *TNF-α (G308A)* по всем генотипам в изучаемых группах больных COVID-19 в зависимости от исхода заболевания достоверных различий получено не было. В проведённом исследовании зарубежных авторов у 75 пациентов с интерстициальным фиброзом лёгких при развитии SARS-CoV-инфекции не было выявлено связи *TNFA* генотипов CT, TT локуса *c.-204* (OR=0,95) [24].

Таким образом, среди изученных полиморфизмов генов цитокинов – *IL-1β*, *TNF-α*, *IL-10*, *IL-17A*, *IL-4* у больных COVID-19, полиморфизм -1082A/A гена *IL-10* явился статистически значимым генотипом повышенного риска летального исхода COVID-19, который может стать возможным предиктором неблагоприятного исхода заболевания.

Выводы

1. Исследование полиморфизмов генов *IL-1β (T-31C)*, *TNF-α (G-308A)*, *IL-10 (G-1082A)*, *IL-17(G-197A)*, *IL-4 (C-589T)* в зависимости от исходов заболевания у пациентов с COVID-19 выявило преобладание полиморфизма -1082A/A гена *IL-10* в группе умерших пациентов, что может быть использовано в качестве предиктора неблагоприятного исхода заболевания.
2. Проведение исследований по выявлению дефектных полиморфизмов генов цитокинов, связанных с риском летального исхода COVID-19, позволит персонифицировать подход и разработать алгоритм ведения таких пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Ahmadian E, Khatibi SM, Soofiyani SR, et al. COVID-19 and kidney injury: pathophysiology and molecular mechanisms. *Rev Med Virol.* 2021 May;31(3):e2176. doi:10.1002/rmv.2176.
2. Sakurai A, Sasaki T, Kato S, et al. Natural history of asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *N Engl J Med.* 2020;383(3):885-886. doi:10.1056/NEJMc2013020.
3. Арутюнов Г.П., Тарловская Е.И., Козиолова Н.А., и др. Согласованная позиция экспертов Евразийской ассоциации терапевтов по вопросам тактики ведения пациентов с коморбидной патологией, инфицированных SARS-CoV-2. *Терапевтический архив.* 2020;92(9):108-124. doi:10.26442/00403660.2020.09.000703.
4. Кантемирова Б.И., Василькова В.В. Полиморфизм генов у больных новой коронавирусной инфекцией. *Инфекцион-*

ные болезни: новости, мнения, обучение. 2022;11(3):130-137. doi:10.33029/2305-3496-2022-11-3-130-137.

5. Zeberg H, Paabo S. The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neanderthals. *Nature.* 2020;587:610-612. doi:10.1038/s41586-020-2818-3.
6. Kaser A. Genetic risk of severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;383(16):1590-1591. doi:10.1056.
7. Глотов О.С., Чернов А.Н., Щербак С.Г., и др. Генетические факторы риска развития коронавирусной инфекции COVID-19. *Генетика.* 2021;57(8):871-886. doi:10.1134/S1022795421080056.
8. Щербак С.Г., Камилова Т.А., Голота А.С., и др. Факторы риска тяжёлого течения и летального исхода COVID-19.

Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2022;4(1):14-36. doi:10.36425/rehab104997.

9. Болдырева М.Н. Вирус SARS-CoV-2 и другие эпидемические коронавирусы: патогенетические и генетические факторы развития инфекций. Иммунология. 2020;4(3):197-205. doi:10.33029/0206-4952-2020-41-3-197-205.

10. Lu Q, Zhu Z, Tan C, et al. Changes of serum IL-10, IL-1 β , IL-6, MCP-1, TNF- α , IP-10 and IL-4 in COVID-19 patients. International Journal of Clinical Practice. 2021;75(9):e14462. doi:10.1111/ijcp.14462.

11. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 14 от 27.12.2021 г.

12. Анисенкова А.Ю., Вологжанин Д.А., Голота А.С., и др. Цитокиновый шторм при COVID-19 (Научный обзор). Профилактическая и клиническая медицина. 2021;1(78):89-95. doi:10.47843/2074-9120_2021_1_89.

13. Chen WJ, Yang JY, Lin JH, et al. Nasopharyngeal shedding of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus is associated with genetic polymorphisms. Clin. Infect. Dis. 2006;42(11):1561-1569. doi:10.1086/503843.

14. Patarčić I, Gelemanović A, Kirin M, et al. The role of host genetic factors in respiratory tract infectious diseases: systematic review, meta-analyses and field synopsis. Sci. Rep. 2015;(5):16119. doi:10.1038/srep16119.

15. Aziz M, Fatima R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: a meta-analysis. J. Med. Virol. 2020;92(11):2283-2285. doi:10.1002/jmv.25948.

16. Zhu J, Pang J, Ji P, et al. Elevated interleukin-6 is associated with severity of COVID-19: a meta-analysis. J. Med. Virol. 2021;93(1):35-37. doi:10.1002/jmv.26085.

17. Feldmann M, Maini RN, Woody JN, et al. Trials of anti-tumour necrosis factor therapy for COVID-19 are urgently needed. The Lancet. 2020;(95):1407-1409. doi:10.1016/S0140-6736(20)30858-8.

18. Rizvi S, Rizvi M, Raza ST, et al. Effect of single nucleotide polymorphisms in the interleukin-10 gene (rs1800896 and rs1800872) on the severity of COVID-19. Egypt J Med Hum Genet. 2022;23(1):145. doi:10.1186/s43042-022-00344-3.

19. El-Desoky MM, Tharwat S, Mostafa N, et al. Association of interleukin-17F polymorphisms and predictors of mortality with COVID-19 risk. International Clinical Practice. 2022;2022:4761631. doi: 10.1155/2022/4761631.

20. Pacha O, Sallman MA, Evans SE. COVID-19: a case for inhibiting IL-17? Nat Rev Immunol. 2020;20(6):345-346. doi:10.1038/s41577-020-0328-z.

21. Balzanelli MG, Distratis P, Lazzaro R, et al. Analysis of Gene Single Nucleotide Polymorphisms in COVID-19 Disease Highlighting the Susceptibility and the Severity towards the Infection Diagnostics (Basel). 2022;12(11):2824. doi:10.3390/diagnostics12112824.

22. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, et al. The Sinai Immunology Review Project, Immunology of COVID-19: current state of the science. Immunity. 2020;52(6):910-941. doi:10.1016/j.immuni.2020.05.002.

23. Gupta K, Kaur G, Pathak T, et al. Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity. Review Gene. 2022;30(844):146790. doi:10.1016/j.gene.2022.146790.

24. Wang S, Wei M, Han Y, et al. Roles of TNF-alpha gene polymorphisms in the occurrence and progress of SARS-Cov infection: a case-control study. BMC Infect. Dis. 2008;29(8):27. doi:10.1186/1471-2334-8-27.

Сведения об авторах

Баранова Надежда Ивановна – д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник Пензенского института усовершенствования врачей – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 440060, г. Пенза, Стасова, 8А. E-mail: baranova.nadezhda.2014@mail.ru. Ащина Людмила Андреевна Ащина – старший научный сотрудник Пензенского института усовершенствования врачей – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: pushino2008@yandex.ru.

Болгова Александра Игоревна – заведующий инфекционным отделением государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи». 440052, г. Пенза ул. Куйбышева/Красная, 33а/23. E-mail: albolgova@mail.ru.

Лесина Ольга Николаевна – заведующий кафедрой инфекционных болезней Пензенского института усовершенствования врачей – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: olesinasampe@mail.ru.

Поступила 02.04.2024.