

**РОЛЬ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО КАТИОННОГО ПРОТЕИНА В ФОРМИРОВАНИЕ  
ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ТИПА ВОСПАЛЕНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ  
АСТМЕ И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

Е.М. КОСТИНА, Е.Ю. ТРУШИНА

*Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Стасова, д. 8А, г. Пенза, 400060, Россия, e-mail: giuv@sura.ru*

**Аннотация.** В последние годы дискутируется вопрос о выделении критериев для определения эозинофильного типа воспаления респираторного тракта. Поскольку при эозинофильном типе воспаления, необходимо назначение ингаляционных глюкокортикостероидов, особенно, это актуально у больных с хронической обструктивной болезнью легких. В настоящее время критерием эозинофильного воспаления являются эозинофилы крови, но этот показатель лабилен. *Целью исследования* было изучить роль эозинофильного катионного протеина в формировании эозинофильного типа воспаления у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких. *Материалы и методы исследования.* Пациенты были распределены на три группы: 1 группа ( $n=49$ ) больные с неаллергической бронхиальной астмой, 2 группа ( $n=50$ ) больные с хронической обструктивной болезнью легких, 3 группа сравнения ( $n=47$ ) больные с аллергической бронхиальной астмой и 4 группа ( $n=17$ ) – контрольная. *Результаты и их обсуждение.* У больных неаллергической бронхиальной астмой и аллергической бронхиальной астмой отмечалось повышенное содержание эозинофилов, как в мокроте, так и в крови, высокий уровень эозинофильного катионного белка, при чем значительно выше данные показатели были у больных аллергической бронхиальной астмой ( $p<0,05$ ). Однако, у 10% ( $n=5$ ) больных хронической обструктивной болезнью легких количество эозинофилов в мокроте было повышено и у 16% ( $n=8$ ) больных хронической обструктивной болезнью легких был высокий уровень эозинофилов в крови. По результатам ROC-анализа определено пороговое значение эозинофильного катионного протеина – 19,92 нг/мл для верификации эозинофильного воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких. *Заключение.* Таким образом, эозинофильный катионный протеин играет значительную роль в патогенезе эозинофильного типа воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

**Ключевые слова:** эозинофильный катионный протеин, эозинофильное воспаление дыхательных путей, хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма.

**THE ROLE OF EOSINOPHIL CATIONIC PROTEIN IN THE FORMATION OF EOSINOPHILIC  
INFLAMMATION TYPE IN RESPIRATORY TRACT IN BRONCHIAL ASTHMA AND CHRONIC  
OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**

E.M. KOSTINA, E.Yu. TRUSHINA

*The Penza Institute for Further Training of Physicians - Branch Campus of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Stasova Str., 8A, Penza, 440060, Russia, e-mail: giuv@sura.ru*

**Abstract.** In recent years, the question of selection of identifying criteria for determining the eosinophilic inflammation type of the respiratory tract is being discussed. Since eosinophilic inflammation type requires the prescription of inhaled glucocorticosteroids, especially, it is important in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Currently, blood eosinophils are the criterion for eosinophilic inflammation, but this indicator is labile. The study objective was to explore the role of eosinophil cationic protein (ECP) in the formation of eosinophilic inflammation type in patients with bronchial asthma (BA) and COPD. The patients were divided into three groups: group 1 ( $n=49$ ) consisted of patients with non-allergic BA (NABA), group 2 ( $n=50$ ) included patients with COPD, group 3 ( $n=47$ ) contained patients with allergic BA (ABA) and 4 group ( $n=17$ ) was control one. In patients with NABA and ABA, increased eosinophils levels were registered both in sputum and in blood, a high ECP level were also registered in these patients, and that significantly higher ECP level were in patients with ABA ( $p<0.05$ ). However, in 10% ( $n = 5$ ) of patients with COPD, the eosinophils level in the sputum was increased and in 16% ( $n=8$ ) of patients with COPD, there was a high level of eosinophils in the

blood. According to the ROC-analysis results, the threshold ECP value for verification of eosinophilic airways inflammation in patients with BA and COPD was determined as 19.92 ng / ml. Thus, ECP plays a significant role in the pathogenesis of eosinophilic airways inflammation type in patients with BA and COPD has been determined.

**Keywords:** eosinophil cationic protein, eosinophilic airways inflammation, chronic obstructive pulmonary disease, bronchial asthma.

**Введение.** В последние годы активно предпринимаются попытки по выделению критериев эозинофильного воспаления дыхательных путей у больных с бронхообструктивными заболеваниями. Классическим примером эозинофильного воспаления является аллергическая *бронхиальная астма* (БА). Обсуждается вопрос наличия эозинофильного типа воспаления у больных ХОБЛ. Определение типа воспаления дыхательных путей имеет важное значение для оптимизации проводимого лечения и в первую очередь обоснованного назначения *ингаляционных глюкокортикостероидов* (ИГКС).

По данным литературы, некоторые больные ХОБЛ имеют положительный клинический ответ на проведение противовоспалительной терапии стероидами [9]. Хотя при ХОБЛ основными клеточными элементами являются нейтрофилы, однако у некоторых пациентов в дыхательных путях отмечается повышенное содержание эозинофилов. Эозинофилы являются многофункциональными клетками крови, участвующими в патогенезе не только аллергических заболеваний, в первую очередь БА [2], но и ХОБЛ [4].

В эозинофилах находятся четыре основных катионных белка: *основной белок* (MBP, *major basic protein*), *эозинофильный катионный белок* (ECP, *eosinophilic cationic protein*), *эозинофильная пероксидаза* (EPO, *eosinophil peroxidase*) и *эозинофильный нейротоксин* (EDN, *eosinophilic neurotoxin*) [3], которые обладают провоспалительной и цитотоксической активностью, приводящей к ремоделированию дыхательных путей.

ECP обладает различной биологической активностью, включая антибактериальную, противовирусную, противопаразитарную и нейротоксическую функции, и способствует регуляции активности фибробластов [3]. ECP является основным маркером аллергического воспаления респираторного тракта, отражает степень эозинофильной активации и способствует персистенции воспаления и обструкции дыхательных путей [6].

ECP активно изучался при БА [8, 10], работы по изучению роли ECP при ХОБЛ малочисленны [5]. Авторы отмечают, что повышенное содержание эозинофилов и активация ECP в сыворотке крови происходит во время обострения ХОБЛ [4, 11]. В тоже время не было выявлено корреляции между повышенным уровнем ECP и эозинофилов в мокроте при ХОБЛ ( $r=0,22$ ;  $p>0,05$ ), в отличие больных с БА ( $r=0,86$ ;  $p<0,05$ ) [7].

По данным литературы рассматривается участие эозинофилов и ECP в развитии хронического ремоделирования легочной ткани [1].

В практической деятельности для определения типа воспаления исследуется количество эозинофилов в крови, но это не всегда бывает достаточно. Мы предлагаем применять дополнительные маркеры для определения эозинофильного типа воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ. На наш взгляд изучение роли ECP и возможности применения его, как диагностического маркера эозинофильного воспаления респираторного тракта у больных БА и ХОБЛ имеет большое значение.

**Цель исследования** – изучить роль эозинофильного катионного протеина в формировании эозинофильного воспаления у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

**Материалы и методы исследования.** Обследование проведено 146 пациентам с диагнозами ХОБЛ и БА, вне обострения. Комплексное клиничко-лабораторное обследование, которое включало исследование эозинофилов крови, как в процентном отношении (%), так и в абсолютном содержании ( $10^9/л$ ), эозинофилов в мокроте в процентном отношении (%), а также инструментальное обследование выполнено в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи больным с ХОБЛ и БА на базе ГБУЗ Клиническая больница №4, г. Пензы. Исследование являлось простым, открытым, клиническим, сравнительным, проспективным, рандомизированным, контролируемым.

Больные были разделены на 3 группы. 1 группу (49 человек) – составили больные с *неаллергической формой БА* (НАБА), 2 группу сравнения (47 человек) – больные с *аллергической формой БА* (АБА), как пример эозинофильного воспаления и 3 группу (50 человек) – больные с ХОБЛ. Контрольную группу составили 17 человек практически здоровых лиц сопоставимые по полу и возрасту с изучаемыми группами.

Критерии включения были: больные с АБА и НАБА среднетяжелого и тяжелого течения, вне обострения, больные с ХОБЛ среднетяжелого и тяжелого течения, вне обострения, возраст больных от 40 до 65 лет, информированное согласие пациентов на участие в исследовании. Критерии исключения включали: тяжелые декомпенсированные сопутствующие заболевания, легкая и крайне тяжелая степень тяжести БА и ХОБЛ, постоянный прием пероральных глюкокортикостероидов, беременность и период лактации, нежелание участвовать в исследовании. Исследование одобрено Локально-этическим комитетом от 19.11.2014 г. (протокол № 108).

Исследование уровня *ECP* в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа при помощи тест-системы «*Human Eosinophil Cationic Protein Elisa Kit*» (*Aviscera Bioscience*, США). Данный этап работы выполнен в *Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России* (заведующая ЦНИЛ – д.м.н., профессор Баранова Н.И.). Полученные оптические плотности измеряли на иммуноферментном анализаторе «*Stat Fax*» 3200. Концентрацию выражали в нг/мл.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью пакета прикладных программ «*Statistica 6*». При сравнении групп между собой использовали критерий Манна-Уитни. Показатели представлены в виде медианы (*Me*) и квартилей (*P25%*; *P75%*). Проведен *ROC*-анализ для определения порогового значения. Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Мы изучили клеточный состав мокроты, крови и получили следующие результаты (табл.).

При цитологическом исследовании мокроты выявлено достоверное повышенное содержание эозинофилов у больных НАБА и АБА, по сравнению с больными ХОБЛ и контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Причем у больных АБА уровень эозинофилов в мокроте был в 10 раз выше по сравнению с больными НАБА ( $p < 0,05$ ). Достоверных различий по уровню эозинофилов в мокроте у больных ХОБЛ в сравнение с группой контроля обнаружено не было ( $p > 0,05$ ). Однако, выявлено, что у 10% ( $n=5$ ) больных ХОБЛ количество эозинофилов было повышено. Этот факт предполагает эозинофильное воспаление дыхательных путей у больных ХОБЛ.

Таблица

**Биомаркеры эозинофильного типа воспаления дыхательных путей у больных хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой**

Показатель	Больные АБА ( $n=49$ ) <i>Me</i> [ <i>P25%</i> ; <i>P75%</i> ]	Больные ХОБЛ ( $n=50$ ) <i>Me</i> [ <i>P25%</i> ; <i>P75%</i> ]	Больные АБА ( $n=47$ ) <i>Me</i> [ <i>P25%</i> ; <i>P75%</i> ]	Контрольная группа ( $n=17$ ) <i>Me</i> [ <i>P25%</i> ; <i>P75%</i> ]
Эозинофилы мокроты (%)	1,03*** [1,00-4,00]	1,00#," [0,00-2,00]	10,00* [7,00-13,00]	0,00 [0,00-1,00]
Эозинофилы крови (%)	1,50*** [1,00-2,00]	1,00#," [0,00-1,06]	3,00* [1,00-4,00]	0,50 [0,00-1,00]
Эозинофилы крови ( $10^9/л$ )	0,16*** [0,05-0,21]	0,05#," [0,01-0,17]	0,20* [0,12-0,33]	0,01 [0,01-0,06]
<i>ECP</i> (нг/мл)	13,75** [9,96-21,90]	10,41#," [9,06-18,98]	21,30* [20,20-22,60]	9,25 [8,46-22,10]

Примечание: \* – статистически значимое различие показателей между группами больных АБА и НАБА и ХОБЛ и контрольной группой (*Mann-Whitney test*,  $p < 0,05$ ); \*\* – статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА и АБА (*Mann-Whitney test*,  $p < 0,05$ ); # – статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и НАБА (*Mann-Whitney test*,  $p < 0,05$ ); " – статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и АБА (*Mann-Whitney test*,  $p < 0,05$ )

При изучении клеточного состава крови количество эозинофилов, как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях были статистически повышены у больных НАБА и АБА в сравнение с больными ХОБЛ и здоровыми лицами ( $p < 0,05$ ). Статистически значимых различий по уровню эозинофилов, как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях у больных ХОБЛ в сравнение с группой контроля выявлено не было ( $p > 0,05$ ). У 20,4% ( $n=10$ ) больных НАБА обнаружен высокий уровень эозинофилов в крови. У некоторых больных ХОБЛ ( $n=8$ , 16%) выявлен повышенный уровень эозинофилов в крови.

При исследовании *ECP* выявлен высокий уровень у больных, как АБА, так и НАБА, причем у больных АБА он был значительно выше по сравнению с больными НАБА и здоровыми донорами ( $p < 0,05$ ). В тоже время у 18,3% ( $n=9$ ) больных НАБА уровень *ECP* был повышен. При изучении *ECP* у больных ХОБЛ не было выявлено достоверно значимых различий в сравнение с контрольной группой ( $p > 0,05$ ), но при этом у 12% ( $n=6$ ) больных ХОБЛ отмечался повышенный уровень *ECP*.

Таким образом, мы определили, что для больных с БА характерно высокое содержание эозинофилов в мокроте и крови, и высокий уровень *ECP*. Однако у больных НАБА уровень изучаемых показателей был значительно ниже, чем у больных АБА. У больных ХОБЛ выявлено достоверные различия по изучаемым показателям в сравнение с АБА. Также у некоторых больных ХОБЛ были повышены показате-

тели эозинофилов в мокроте и крови, и *ECP* в крови, что говорит об эозинофильном воспалении в респираторном тракте при ХОБЛ.

В настоящее время нет единых критериев для выделения эозинофильного типа воспаления дыхательных путей. В основном авторы рассматривают маркерами эозинофильного воспаления – эозинофилы в крови, но этот показатель не стабилен и чаще зависит от многих факторов. Также эозинофильный тип воспаления не имеет специфических признаков по нозологии. Тип воспаления может отличаться интенсивностью процесса, а качественная характеристика эозинофильного типа воспаления схожа у больных, как с БА, так и с ХОБЛ. Поэтому мы объединили наших больных в группу А – это эозинофильный тип воспаления дыхательных путей и в группу Б – неэозинофильный тип. Деление больных на группы происходило на основании количества эозинофилов в крови, в соответствии с международными и отечественными рекомендациями.

В группу А ( $n=65$ , 44,5%) вошли больные с АБА ( $n=47$ ), НАБА ( $n=10$ ) и ХОБЛ ( $n=8$ ), у которых был повышенный уровень эозинофилов в крови, группу Б ( $n=81$ , 55,4%) составили НАБА ( $n=39$ ) и ХОБЛ ( $n=42$ ).

Мы исследовали уровень *ECP* в крови у больных в группах А и Б. В группе А значение *ECP* было 22,00 нг/мл, что статистически значительно выше в сравнении с группой Б – 9,96 нг/мл и контрольной – 9,25 нг/мл ( $p<0,05$ ). Исходя из полученных результатов исследования, мы видим, что *ECP* преобладал в группе больных с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей, поэтому *ECP* можно рассматривать в качестве маркера эозинофильного типа воспаления дыхательных путей.

Также мы провели *ROC*-анализ, который позволил выявить пороговое значение *ECP* для определения эозинофильного типа воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ. На рис. изображена *ROC*-кривая для параметра *ECP* у больных БА и ХОБЛ. Как видно из рис., полученная *ROC*-кривая не проходит через верхний левый угол, но достаточно сильно приближается к нему, что позволяет построить качественный классификатор по величине показателя *ECP* с высокой чувствительностью (90,0%) и специфичностью (89,7%).

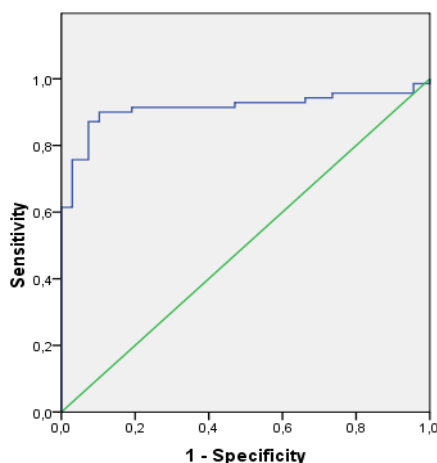


Рис. *ROC*-кривая для параметра эозинофильного катионного протеина у больных БА и ХОБЛ

На основании *ROC*-анализа в качестве порогового значения был выбран уровень показателя *ECP*, равный 19,92 нг/мл с большим уровнем специфичности. Таким образом, для больных, имеющих значения параметра *ECP* выше 19,92 нг/мл характерен эозинофильный тип воспаления дыхательных путей.

**Заключение.** Подводя итог проведенному исследованию, можно сделать вывод, что *ECP* играет значительную роль в патогенезе эозинофильного воспаления респираторного тракта. В результате анализа изучаемых показателей, выделены критерии эозинофильного типа воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ, это – повышенное количество эозинофилов в мокроте, повышенное количество эозинофилов в крови и уровень *ECP* в крови выше 19,92 нг/мл.

#### Литература

1. Amin K., Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein-a clue to the function of the eosinophil granulocyte // *Respir. Res.* 2011. № 12. P. 10.
2. Carr T.F., Berdnikovs S., Simon H.U., Bochner B.S., Rosenwasser L.J. Eosinophilic bioactivities in severe asthma // *World Allergy Organ. J.* 2016. № 9. P. 21.
3. de Oliveira P.C., de Lima P.O., Oliveira D.T., Pereira M.C. Eosinophil cationic protein: Overview of biological and genetic features // *DNA Cell. Biol.* 2012. № 31. P. 1442–1446.

4. Fujimoto K., Yasuo M., Urushibata K., Hanaoka M., Koizumi T., Kubo K. Airway inflammation during stable and acutely exacerbated chronic obstructive pulmonary disease // *Eur. Respir. J.* 2005 № 25(4). P. 640–646.
5. Gorska K., Paplinska-Goryca M., Nejman-Gryz P., Goryca K., Krenke R. Eosinophilic and Neutrophilic Airway Inflammation in the Phenotyping of Mild-to-Moderate Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *COPD.* 2017. № 14(2). P. 181–189.
6. Guo C.L., Sun X.M., Wang X.W., Guo Q. Serum Eosinophil Cationic Protein Is a Useful Marker for Assessing the Efficacy of Inhaled Corticosteroid Therapy in Children with Bronchial Asthma // *Tohoku. J. Exp. Med.* 2017. №242(4). P. 263–271.
7. Louis R.E., Cataldo D., Buckley M.G., Sele J., Henket M., Lau L.C., Bartsch P., Walls A.F., Djukanovic R. Evidence of mast-cell activation in a subset of patients with eosinophilic chronic obstructive pulmonary disease // *Eur. Respir. J.* 2002. № 20(2). P. 325–331.
8. Meyer N., Nuss S.J., Rothe T., Siebenhüner A., Akdis C.A., Menz G. Differential serum protein markers and the clinical severity of asthma // *Send to J. Asthma Allergy.* 2014. № 7. P. 67–75.
9. Szafranski W., Cukier A., Ramirez A. Efficacy and safety of budesonide/formoterol in the management of chronic obstructive pulmonary disease // *Eur. Respir. J.* 2003. Vol. 21. P. 74–81.
10. Tekcan A., Guven S., Kuscu D., Yazar A., Pala E. PO-1012 evaluation of asthma biomarkers and pulmonary function tests in children with asthma // *Arch. Dis. Child.* 2014. № 99(2).
11. Yang Q.F., Lu T.T., Shu C.M., Feng L.F., Chang H.T., Ji Q.Y. Eosinophilic biomarkers for detection of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease with or without pulmonary embolism // *Exp. Ther. Med.* 2017. №14(4). P. 3198–3206

### References

1. Amin K, Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein--a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respir Res.* 2011;12:10.
2. Carr TF, Berdnikovs S, Simon HU, Bochner BS, Rosenwasser LJ Eosinophilic bioactivities in severe asthma. *World Allergy Organ. J.* 2016;9:21.
3. de Oliveira PC, de Lima PO, Oliveira DT, Pereira MC. Eosinophil cationic protein: Overview of biological and genetic features. *DNA Cell Biol.* 2012;31:1442-6.
4. Fujimoto K, Yasuo M, Urushibata K, Hanaoka M, Koizumi T, Kubo K. Airway inflammation during stable and acutely exacerbated chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2005;25(4):640-6.
5. Gorska K, Paplinska-Goryca M, Nejman-Gryz P, Goryca K, Krenke R. Eosinophilic and Neutrophilic Airway Inflammation in the Phenotyping of Mild-to-Moderate Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *COPD.* 2017;14(2):181-9.
6. Guo CL, Sun XM, Wang XW, Guo Q. Serum Eosinophil Cationic Protein Is a Useful Marker for Assessing the Efficacy of Inhaled Corticosteroid Therapy in Children with Bronchial Asthma. *Tohoku J Exp Med.* 2017;242(4):263-71.
7. Louis RE, Cataldo D, Buckley MG, Sele J, Henket M, Lau LC, Bartsch P, Walls AF, Djukanovic R. Evidence of mast-cell activation in a subset of patients with eosinophilic chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2002;20(2):325-31.
8. Meyer N, Nuss SJ, Rothe T, Siebenhüner A, Akdis CA, Menz G. Differential serum protein markers and the clinical severity of asthma. *Send to J Asthma Allergy.* 2014;7:67-75.
9. Szafranski W, Cukier A, Ramirez A. Efficacy and safety of budesonide/formoterol in the management of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2003;21:74-81
10. Tekcan A, Guven S, Kuscu D, Yazar A, Pala E. PO-1012 evaluation of asthma biomarkers and pulmonary function tests in children with asthma. *Arch Dis Child.* 2014;99(2).
11. Yang QF, Lu TT, Shu CM, Feng LF, Chang HT, Ji QY Eosinophilic biomarkers for detection of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease with or without pulmonary embolism. *Exp Ther Med.* 2017;14(4):3198-206.

### Библиографическая ссылка:

Костина Е.М., Трушина Е.Ю. Роль эозинофильного катионного протеина в формировании эозинофильного типа воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* 2019. №6. Публикация 1-5. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-6/1-5.pdf> (дата обращения: 11.11.2019). DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16518.\*

### Bibliographic reference:

Kostina EM, Trushina EYu. Rol' jeozinofil'nogo kationnogo proteina v formirovanie jeozinofil'nogo tipa vospaleniya dyhatel'nyh putej pri bronhial'noj astme i hronicheskoj obstruktivnoj bolezni legkih [The role of eosinophil cationic protein in the formation of eosinophilic inflammation type in respiratory tract in bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease]. *Journal of New Medical Technologies, e-edition.* 2019 [cited 2019 Nov 11];6 [about 5 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-6/1-5.pdf>. DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16518.

\* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-6/e2019-6.pdf>