

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОТОПА ЭЯКУЛЯТА И ЦЕРВИКАЛЬНОГО КАНАЛА МЕТОДОМ ПЦР-РВ С ТЕСТАМИ «АНДРОФЛОР» И «ФЕМОФЛОР» В СУПРУЖЕСКИХ ПАРАХ

Д. Г. Почерников¹✉, И. С. Галкина², Н. Т. Постовойтенко¹, А. М. Герасимов¹

¹ Ивановская государственная медицинская академия, Иваново

² Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения, Москва

Многие инфекции, передающиеся половым путем, вызываются бактериями. Роль ряда микроорганизмов в этиологии урогенитальных инфекций хорошо известна, однако далеко не всех. Во врачебном сообществе также принято считать, что микробиота урогенитального тракта у половых партнеров одинакова, в связи с чем им следует назначать одинаковое лечение. В данной статье сообщается о результатах исследования биотопа эякулята и цервикального канала в 50 супружеских парах, живших без барьерной контрацепции и приема антибактериальных препаратов не менее чем 3 месяца до участия в исследовании. Все пары обратились к врачу по поводу первичного или вторичного бесплодия, привычного невынашивания беременности или предгравидарной подготовки. Средний возраст мужчин составил $34,8 \pm 7,8$ лет, женщин — $30,4 \pm 6,2$ лет. Эякулят и отделяемое цервикального канала исследовали методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) с использованием тестов «Андрофлор» (у мужчин) и «Фемофлор» (у женщин). В биотопе цервикального канала достоверно чаще, чем в биотопе эякулята, встречались *Lactobacillus spp.* ($p < 0,005$), *Eubacterium spp.* ($p = 0,002$), *Gardnerella vaginalis* ($p = 0,002$), *Megasphaera spp./Velionella spp./Dialister spp.* ($p = 0,004$). *Ureaplasma spp.* в 3 раза чаще встречалась у женщин, а *Mycoplasma hominis* — в 4 раза чаще у мужчин, но различия статистически недостоверны. В 4 (8 %) супружеских парах у обоих партнеров была абсолютно нормальная микрофлора эякулята и цервикального канала; в 23 (46 %) парах были выявлены совпадения между биотопами по одному и более микроорганизмам; также в 23 парах биотопы полностью не совпадали. Полученные данные указывают на необходимость обследовать обоих партнеров в паре для выбора эффективного лечения каждого из них. Метод ПЦР-РВ с тестами «Андрофлор» и «Фемофлор», являясь качественным и количественным, позволяет получить врачу все данные, необходимые для планирования терапии.

Ключевые слова: эякулят, цервикальный канал, урогенитальный тракт, супружеская пара, биотоп, микробиоценоз, микробиота, полимеразная цепная реакция, ПЦР-РВ, «Андрофлор», «Фемофлор»

✉ Для корреспонденции: Почерников Денис Геннадьевич
ул. Арсения, д. 53, кв. 44, г. Иваново, 153012; urologkmn@mail.ru

Статья получена: 08.04.2017 Статья принята к печати: 20.04.2017

A COMPARATIVE ANALYSIS OF SEMINAL AND VAGINAL MICROBIOTA OF MARRIED COUPLES BY REAL-TIME PCR WITH ANDROFLOR AND FEMOFLOR REAGENT KITS

Pochernikov DG¹✉, Galkina IS², Postovoytenko NT¹, Gerasimov AM¹

¹ Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia

² Federal Research Institute for Health Organization and Informatics, Moscow, Russia

Many sexually transmitted diseases are caused by bacteria. While we fairly well understand the role of some microorganisms in the development of genitourinary tract infections, there is still a vast majority of those whose contribution is unclear. It is believed that sexual partners share their genitourinary microbiota, meaning that treatment regimens should be the same for both of them. This article reports results of the study of seminal and cervical microbial communities conducted in 50 married couples who did not use barrier birth control and did not take any antibiotics at least 3 months before the study. All couples presented with complaints of primary or secondary infertility, recurrent miscarriages or sought preconceptional counseling. The mean age of male and female participants was 34.8 ± 7.8 and 30.4 ± 6.2 years, respectively. Samples of the seminal fluid and vaginal secretions were studied by real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) with Androflor and Femoflor reagent kits. The following bacteria were more frequent in the vaginal microbiota than in the seminal fluid: *Lactobacillus spp.* ($p < 0.005$), *Eubacterium spp.* ($p = 0.002$), *Gardnerella vaginalis* ($p = 0.002$), *Megasphaera spp./Velionella spp./Dialister spp.* ($p = 0.004$). *Ureaplasma spp.* was 3 times more frequent in women, *Mycoplasma hominis* was 4 times more frequent in men; however, this difference was not significant. In 4 (8 %) couples both partners had normal microbiota; 23 (46 %) couples shared at least one microbiota resident. Also, microbial communities were totally different in 23 couples. The obtained data indicate that both sexual partners should be examined to decide on the most effective treatment for each of them. Qualitative and quantitative real-time PCR assays Androflor and Femoflor provide comprehensive data essential for adequate treatment planning.

Keywords: seminal fluid, cervical canal, genitourinary tract, married couple, microbiota, microbial community, polymerase chain reaction, real-time PCR, Androflor, Femoflor

✉ Correspondence should be addressed: Denis Pochernikov
ul. Arseniya, d. 53, kv. 44, Ivanovo, Russia, 153012; urologkmn@mail.ru

Received: 08.04.2017 Accepted: 20.04.2017

На сегодняшний день известно более 30 бактериальных инфекций, которые могут передаваться при половых контактах [1, 2]. Установлено, что такие микроорганизмы, как *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*, участвуют в развитии воспаления в мочеполовом тракте у мужчин и женщин, но до сих пор остается спорным вопрос о патогенности *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma spp.*, поэтому урогенитальные микоплазмы активно изучаются во всем мире [1–9].

Мета-анализ 4 712 научных статей, опубликованных в 1960–2013 гг., убедительно доказывает, что инфекционный процесс в урогенитальном тракте матери влияет на развитие осложнений беременности, таких как преждевременные роды, перинатальная заболеваемость и детская заболеваемость в раннем и отдаленном периоде [4]. Инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), ухудшают качественные и количественные показатели спермограммы у мужчин, вызывают образование антиспермальных антител к сперматозоидам и являются одной из основных причин уретропростатита и бесплодия [1–3, 5–8, 10]. В одном из исследований по изучению микроорганизмов, встречающихся в амниотической жидкости у женщин с преждевременными родами, более чем в 50 % случаев была выявлена *Ureaplasma spp.*, но не в монокультуре, а, как правило, в ассоциации с условно-патогенными микроорганизмами: *Fusobacterium*, *Mycoplasma*, *Sneathia*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Leptotrichia*, *Peptostreptococcus*, *Gardnerella*, *Citrobacter*, *Lactobacillus spp.*, *Escherichia*, *Haemophilus* [9].

Распространенный в лабораторной практике метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) является качественным исследованием и позволяет быстро и достоверно определить возбудителей ИППП, но не позволяет идентифицировать сопутствующие условно-патогенные микроорганизмы. Однако современные клинические рекомендации указывают на важность определения не только вида возбудителя, но и его титра, в особенности это касается таких возбудителей, как *Ureaplasma spp.* и *M. hominis* [10–15]. По данным Европейской ассоциации урологов (European Association of Urology), диагностически значимый титр для *Ureaplasma urealyticum* — более 10^3 КОЕ/мл, это значение показателя влияет на выбор тактики ведения пациента [5]. Согласно отечественным клиническим рекомендациям при выявлении *Ureaplasma spp.* и/или *M. hominis* в количестве менее 10^4 КОЕ/мл и при отсутствии клинических и/или лабораторных признаков воспалительного процесса в мочеполовой системе лечение не проводится [11, 14, 15]. Современным критериям диагностики ИППП соответствует метод полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) с использованием тестов «Андрофлор» у мужчин и «Фемофлор» у женщин, который является одновременно качественным и количественным.

Во врачебном сообществе и в обществе в целом сформировалось мнение о том, что в урогенитальных трактах половых партнеров присутствуют одинаковые микроорганизмы. Зачастую гинеколог или уролог после обнаружения инфекционного агента в мочеполовом тракте одного из супругов, в эякуляте или цервикальном канале, назначает лечение одновременно обоим партнерам, предполагая однообразие микроорганизмов в их половых трактах. В результате один из супругов остается необследованным и необоснованно получает такие же лекарственные препараты, что были назначены его половому партнеру. У нас

есть опыт обследования 117 семейных пар, живших без контрацепции, которым был выполнен бактериологический анализ эякулята и отделяемого цервикального канала, и в 84 % случаев бактериологические посевы не совпадали по видовому составу микроорганизмов [16]. В доступной нам литературе примеров сравнительного анализа биоценозов урогенитальных трактов супругов методом ПЦР-РВ найти не удалось.

Целью данного исследования являлся сравнительный анализ биотопа эякулята и отделяемого цервикального канала в супружеских парах методом ПЦР-РВ с использованием тестов «Андрофлор» и «Фемофлор».

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено инициативное проспективное исследование 50 супружеских пар, обратившихся в клинику Ивановской государственной медицинской академии в период с октября 2016 г. по март 2017 г. по поводу первичного или вторичного бесплодия, привычного невынашивания беременности или предгравидарной подготовки. Все пары жили без использования барьерной контрацепции и приема антибактериальных препаратов как минимум три месяца перед забором материала. Средний возраст мужчин составил $34,8 \pm 7,8$ лет, женщин — $30,4 \pm 6,2$ лет.

Перед сбором эякулята мужчина полностью опорожнял мочевой пузырь, тщательно мыл руки с мылом, проходил туалет наружных половых органов с мылом и водой, после чего головка полового члена и крайняя плоть высушивалась стерильной салфеткой. Эякулят получали путем мастурбации, помещали в стерильный контейнер и доставляли в лабораторию в течение часа с момента забора. У женщин перед взятием материала из цервикального канала ватным тампоном удалялась слизь, затем шейка матки обрабатывалась стерильным физиологическим раствором. В цервикальный канал вводился зонд на глубину 0,5–1,5 см, при извлечении зонда исключалось его касание стенок влагалища. Обязательным условием перед осуществлением забора эякулята и соскоба эпителиальных клеток цервикального канала было воздержание супругов от половой жизни как минимум трое суток.

Все образцы биоматериала анализировали методом ПЦР-РВ с использованием наборов реагентов «Андрофлор» («НПО ДНК-Технология», Россия) и «Фемофлор» («НПО ДНК-Технология») и детектирующего амплификатора «ДТ-96» («НПО ДНК-Технология»).

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 и Statistica 10.0 (StatSoft, США). Достоверность полученных данных анализировали с помощью критерия Фишера, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По результатам обследования с тестом «Андрофлор» у 16 (32 %) мужчин микроорганизмов в эякуляте обнаружено не было, у 7 (14 %) — в эякуляте присутствовала нормальная микрофлора, представленная условно-патогенными бактериями *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Corynebacterium spp.*, у 27 (54 %) — был выявлен дисбиоз спермы. По результатам обследования с тестом «Фемофлор» у 11 (22 %) женщин в отделяемом цервикального канала было выявлено присутствие только *Lactobacillus spp.*, что соответствует критерию нормальной

микрофлоры цервикального канала, у 25 (50 %) — наблюдался дисбиоз отделяемого, у 14 (28 %) — была выявлена нормофлора, представленная *Lactobacillus spp.* > 80 %, факультативно-анаэробными и облигатно-анаэробными микроорганизмами при отсутствии внутриклеточных патогенов.

Видовой состав микроорганизмов в эякуляте и отделяемом цервикального канала, определенный с помощью тестов «Андрофлор» и «Фемофлор», представлен на рис. 1 и рис. 2 соответственно. У женщин во всех наблюдениях, кроме двух, была выявлена *Lactobacillus spp.*, у мужчин чаще всего встречалась *Corynebacterium spp.* (38 % наб-

людений), которая является представителем нормальной флоры эякулята. В цервикальном канале по сравнению со спермой достоверно чаще встречались *Lactobacillus spp.* ($p < 0,005$), *Eubacterium spp.* ($p = 0,002$), *Gardnerella vaginalis* ($p = 0,002$), *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.* ($p = 0,004$). Для данных о встречаемости других микроорганизмов статистически достоверных различий не выявили, но при этом *Ureaplasma spp.* встречалась у женщин в цервикальном канале в 3 раза чаще, чем в эякуляте (в 22 и 7 случаях соответственно), а *Mycoplasma hominis* — в 4 раза чаще у мужчин, чем у женщин (в 4 и 1 случае соответственно). У одной женщины и одного мужчины

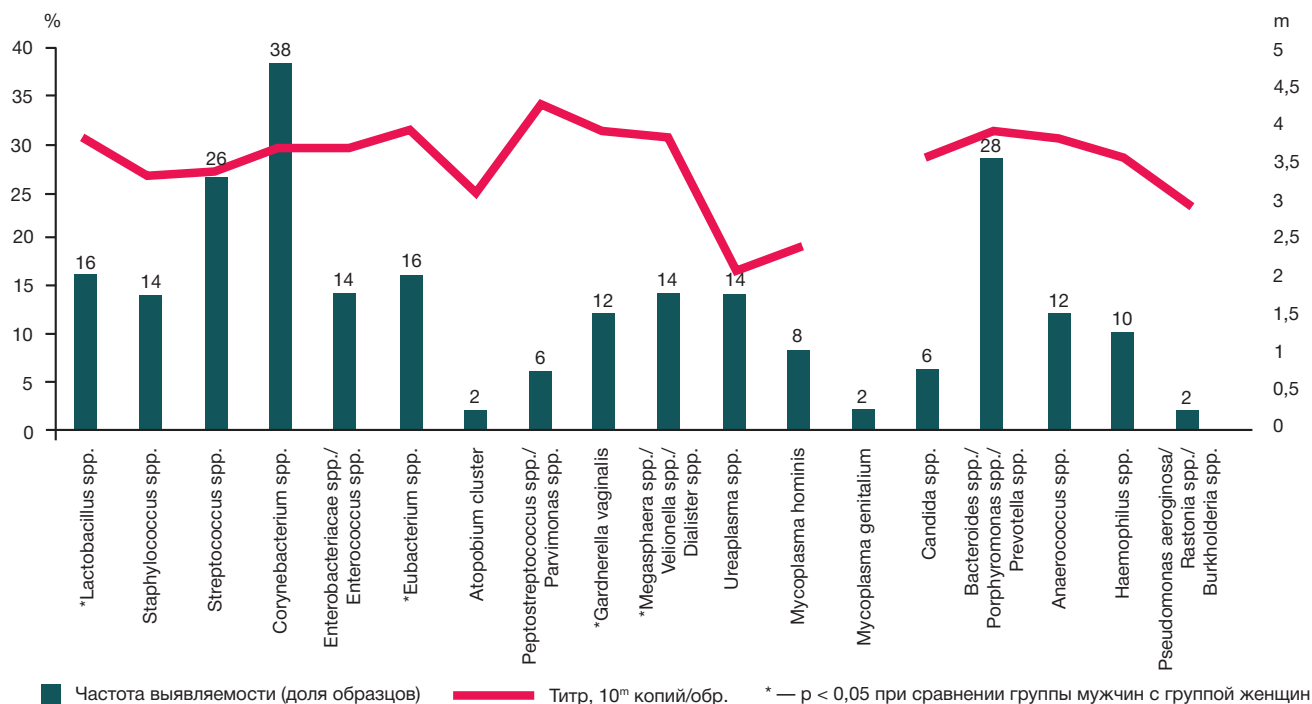


Рис. 1. Частота выявляемости (%) и средний титр (копий/обр.) микроорганизмов в эякуляте по результатам ПЦР-РВ с тестом «Андрофлор»

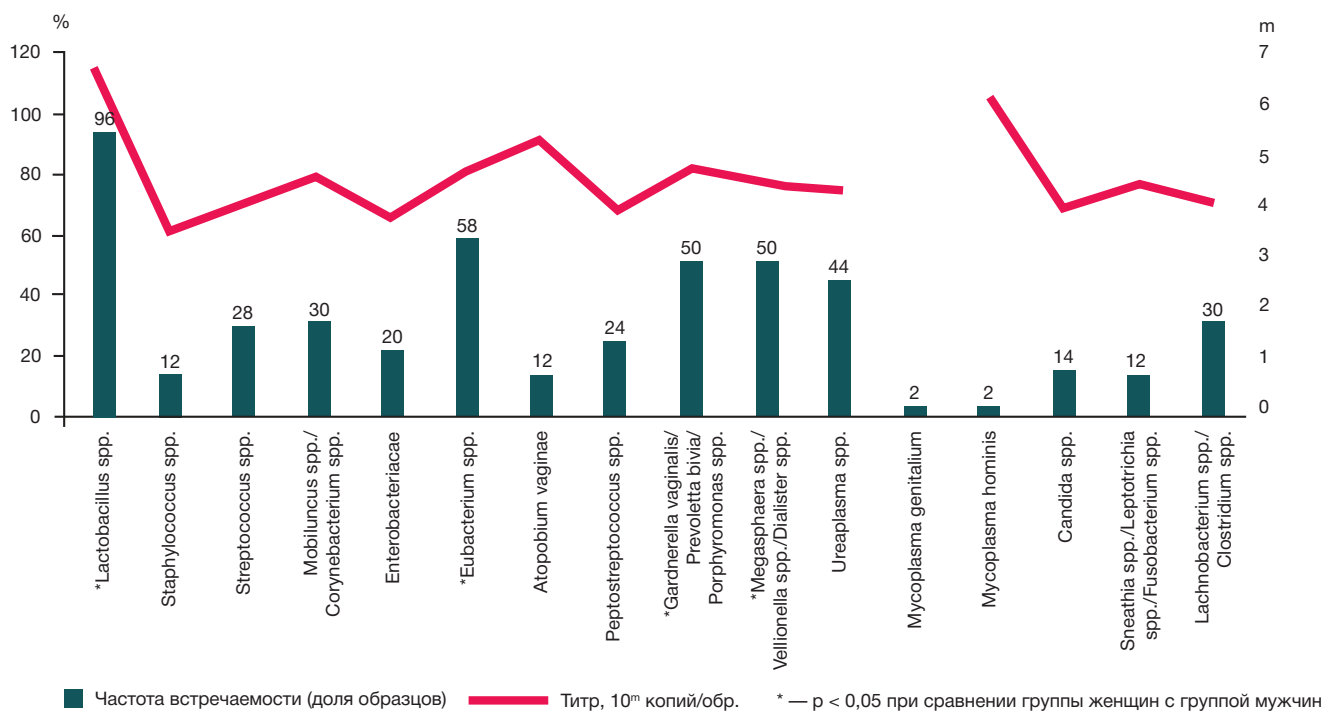


Рис. 2. Частота выявляемости (%) и средний титр (копий/обр.) микроорганизмов в цервикальном канале по результатам ПЦР-РВ с тестом «Фемофлор»

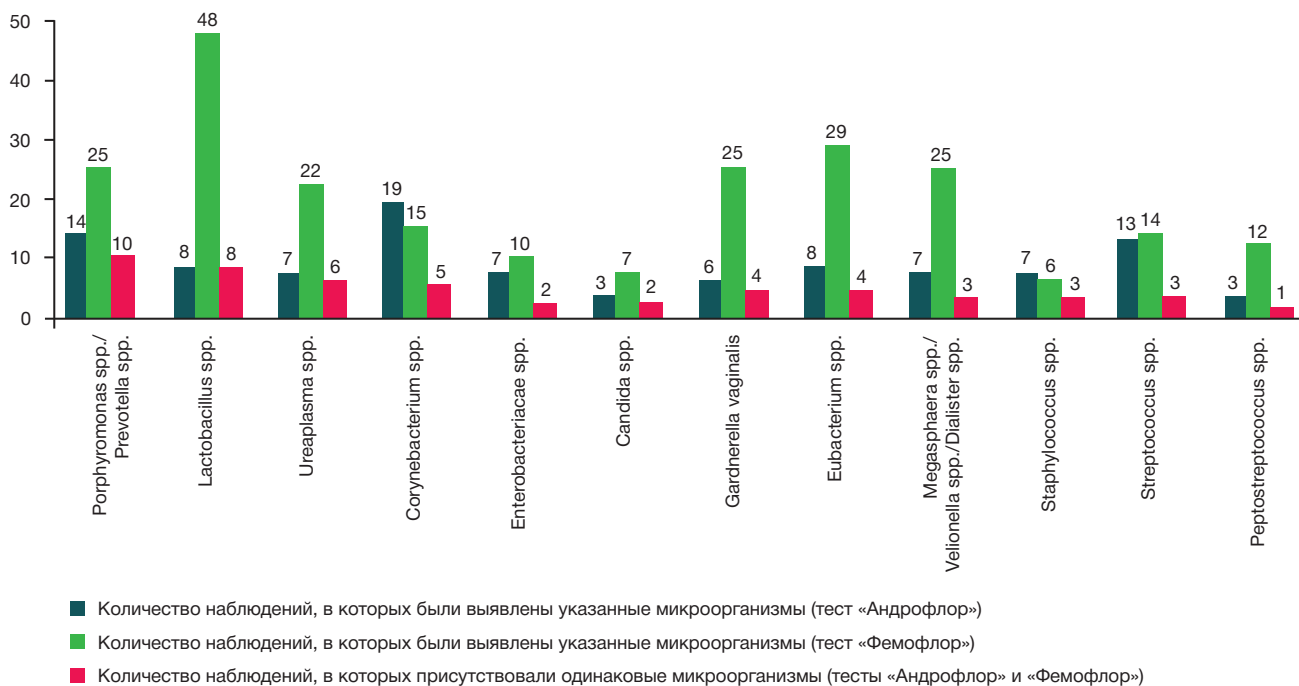


Рис. 3. Случаи совпадения биотопов эякулята и цервикального канала по видовому составу микроорганизмов

была выявлена *Mycoplasma genitalium*, при этом у их половых партнеров этот микроорганизм в пробах не присутствовал. Также наблюдали небольшое число случаев совпадения по видовому составу микроорганизмов у партнеров при высокой встречаемости одних и тех же микроорганизмов в одном из биотопов (рис. 3).

Оценивая в целом схожесть микробиоценозов эякулята и цервикального канала половых партнеров (рис. 4), необходимо отметить, что в 4 (8 %) супружеских парах у обоих партнеров была абсолютно нормальная микрофлора эякулята и цервикального канала; в 23 (46 %) парах были выявлены совпадения по одному и более микроорганизмам; и также в 23 парах биотопы эякулята и цервикального канала полностью не совпадали.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ПЦР-РВ с тестами «Андрофлор» и «Фемофлор» дает возможность лечащему врачу в полной мере оценить микробиоту обоих партнеров в супружеской паре для эффективной диагностики нарушений их биоценозов (исследование эякулята и отделяемого цервикального канала). Одним из важных преимуществ теста «Андрофлор», на наш взгляд, является идентификация *Ureaplasma urealyticum* отдельно от биовара *Ureaplasma parvum*. Исследование показало присутствие в биотопе как эякулята, так и цервикального канала большого числа разных видов микроорганизмов, хотя в тестировании приняли участие относительно здоровые семейные пары, не предъявлявшие иных жалоб, кроме бесплодия. При сравнительном анализе результатов мужчин и женщин в половине пар биотопы партнеров не совпали, что подтверждает тезис об уникальности биоценозов супругов. В связи с этим врачам необходимо обратить внимание на необоснованность назначения одинаковой лекарственной терапии половым партнерам в отсутствие данных о видовом составе микробиоты и титре отдельных микроорганизмов для каждого из супругов.

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование демонстрирует необходимость обследовать обоих половых партнеров в паре для эффективной диагностики дисбиоза урогенитального тракта. Для решения этой задачи хорошо подходит метод полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» с использованием наборов реагентов «Андрофлор» (для мужчин) и «Фемофлор» (для женщин). Это качественное и количественное исследование, которое позволяет определять в том числе титр микроорганизмов. Ориентируясь на данные, которые можно получить при исследовании рекомендуемым методом, врач сможет назначать этиотропную лекарственную терапию индивидуально каждому супругу.



Рис. 4. Структура наблюдений (n = 50) в зависимости от степени совпадения биотопов эякулята и цервикального канала в супружеских парах

Литература

- Хрянин А. А., Решетников О. В. Роль микоплазменной инфекции (*M. hominis* и *U. urealyticum*) в воспалительных заболеваниях мочеполовой системы — дискуссия продолжается. Урология. 2017; (2): 55–9.
- Прилепская В. Н., редактор. Инфекции, передающиеся половым путем. Клинические лекции. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014. 160 с.
- Хрянин А. А., Решетников О. В. Микоплазменная инфекция. М.: ООО «Медиа Пресс»; 2011. 60 с.
- Chan GL, Lee AC, Baqui AH, Tan J, Black RE. Risk of early-onset neonatal infection with maternal infection or colonization: a global systematic review and meta-analysis. PLoS Med. 2013 Aug; 10 (8): e1001502.
- Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, Kopa Z, Krausz C, Tournaye H. EAU Guidelines on Male Infertility [файл из интернета]. The European Association of Urology; c2016 [дата обращения: 10 апреля 2017 г.]: 46 с. Доступно по: <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-Male-Infertility-2016-2.pdf>
- Божедомов В. А. Хронический простатит: новая парадигма лечения. Урология. 2016; (3 Прилож.): 78–90.
- Xia XY, An LM, Li WW, Li K, Shao Y, Shang XJ, et al. [Ureaplasma urealyticum infection affects sperm plasma membrane integrity in infertile men]. Zhonghua Nan Ke Xue. 2011 Dec; 17 (12): 1069–72. Chinese.
- Salmeri M, Valenti D, La Vignera S, Bellanca S, Morello A, Toscano MA, et al. Prevalence of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infection in unselected infertile men. J Chemother. 2012 Apr; 24 (2): 81–6.
- DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. Semin Fetal Neonatal Med. 2012 Feb; 17 (1): 2–11.
- Щеплев П. А., редактор. Андрология. Клинические рекомендации. 2-е изд., доп. и перераб. М.: Медпрактика-М; 2012. 156 с.
- Яковлев С. В., Рафальский В. В., Сидоренко С. В., Спичак Т. В. Стратегия и тактика рационального применения antimicrobных средств в амбулаторной практике: Евразийские клинические рекомендации. М.: Пре100 Принт; 2016. 144 с.
- Кубанова А. А. Клинические рекомендации по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями. М.: Деловой Экспресс; 2012. 112 с.
- Рахматулина М. Р., Соколовский Е. В., Малова И. О., Серов В. Н., Аполихина И. А., Мелкумян А. Г. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных хламидийной инфекцией. Акуш. и гин. 2016; (4 Прилож.): 57–63.
- Рахматулина М. Р., Соколовский Е. В., Малова И. О., Серов В. Н., Аполихина И. А., Мелкумян А. Г. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных урогенитальными заболеваниями, вызванными Mycoplasma genitalium. Акуш. и гин. 2016; (4 Прилож.): 64–9.
- Перепанова Т. С., Козлов Р. С., Руднов В. А., Синякова Л. А. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. Федеральные клинические рекомендации. М.: 2015. 72 с.
- Постовойтенко Н. Т., Почерников Д. Г., Герасимов А. М. Сравнительная оценка микробиоценоза цервикального канала и эякулята в супружеских парах с идиопатическим бесплодием. В сб.: Материалы межрегиональной научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека»; 11–15 апреля 2016 г.; Иваново, Россия. Т. 1. Иваново: ИвГМА; 2016. с. 138–9.

References

- Khryanin AA, Reshetnikov OV. [The role of Mycoplasma infection (*M. hominis* and *U. urealyticum*) in inflammatory diseases of the genitourinary system — the debate continues]. Urologiia. 2017; (2): 55–9. Russian.
- Prilepskaya VN, editor. Infektsii, peredayushchiesya polovym putem. Klinicheskie lektsii. Moscow: GEOTAR-Media; 2014. 160 p. Russian.
- Khryanin AA, Reshetnikov OV. [Mycoplasma infection]. Moscow: LLC “Media Press”; 2011. 60 p. Russian.
- Chan GL, Lee AC, Baqui AH, Tan J, Black RE. Risk of early-onset neonatal infection with maternal infection or colonization: a global systematic review and meta-analysis. PLoS Med. 2013 Aug; 10 (8): e1001502.
- Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, Kopa Z, Krausz C, Tournaye H. EAU Guidelines on Male Infertility [file on the Internet]. The European Association of Urology; c2016 [cited 2017 Apr 10]: 46 p. Available from: <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-Male-Infertility-2016-2.pdf>
- Bozhedomov VA. [Chronic prostatitis: a new paradigm of treatment]. Urologia. 2016 Aug; (3 Suppl): 78–90. Russian.
- Xia XY, An LM, Li WW, Li K, Shao Y, Shang XJ, et al. [Ureaplasma urealyticum infection affects sperm plasma membrane integrity in infertile men]. Zhonghua Nan Ke Xue. 2011 Dec; 17 (12): 1069–72. Chinese.
- Salmeri M, Valenti D, La Vignera S, Bellanca S, Morello A, Toscano MA, et al. Prevalence of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infection in unselected infertile men. J Chemother. 2012 Apr; 24 (2): 81–6.
- DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. Semin Fetal Neonatal Med. 2012 Feb; 17 (1): 2–11.
- Shcheplev PA, editor. Andrologiya. Klinicheskie rekomendatsii. 2nd ed. Moscow: Medpraktika-M; 2012. 156 p. Russian.
- Yakovlev SV, Rafal'skii VV, Sidorenko SV, Spichak TV. Strategiya i taktika ratsional'nogo primeneniya antimikrobnykh sredstv v ambulatornoi praktike: Evrazijskie klinicheskie rekomendatsii. Moscow: Pre100 Print; 2016. 144 p. Russian.
- Kubanova AA. Klinicheskie rekomendatsii po vedeniyu bol'nykh infektsiyami, peredavaemymi polovym putem, i urogenital'nymi infektsiyami. Moscow: Delovoi Ekspres; 2012. 112 p. Russian.
- Rakhmatulina MR, Sokolovskii EV, Malova IO, Serov VN, Apolikhina IA, Melkumyan AG. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po vedeniyu bol'nykh khlamidiinoi infektsiei. Akusherstvo i ginekologiya. 2016; (4 Suppl): 57–63. Russian.
- Rakhmatulina MR, Sokolovskii EV, Malova IO, Serov VN, Apolikhina IA, Melkumyan AG. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po vedeniyu bol'nykh urogenital'nymi zabolovaniyami, vyzvannymi Mycoplasma genitalium. Akusherstvo i ginekologiya. 2016; (4 Suppl): 64–9. Russian.
- Perepanova TS, Kozlov RS, Rudnov VA, Sinyakova LA. Antimikrobnaya terapiya i profilaktika infektsii pochek, mochevyyvodyashchikh putei i muzhskikh polovykh organov. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii. Moscow: 2015. 72 p. Russian.
- Postovoitenko NT, Pochernikov DG, Gerasimov AM. Sravnitel'naya otsenka mikrobiotsenoza tservikal'nogo kanala i eyakulyata v supruzheskikh parakh s idiopatcheskim besplodiem. In: Materialy mezhregional'noi nauchnoi konferentsii studentov i molodykh uchenykh s mezhdunarodnym uchastiem “Mediko-biologicheskie, klinicheskie i sotsial'nye voprosy zdorov'ya i patologii cheloveka”; 2016 Apr 11–15; Ivanovo, Russia. Vol. 1. Ivanovo: Ivanovo State Medical Academy; 2016. p. 138–9. Russian.