

Роль фактора трилистника 3 в оценке влияния базисной терапии на состояние почек у пациентов с анкилозирующим спондилитом

Л. В. Пленкина, ORCID: 0000-0001-8199-5721, lidia.plenkina@gmail.com

О. В. Симонова, ORCID: 0000-0002-6021-0486, simonova043@mail.ru

С. В. Попова, ORCID: 0000-0002-7413-3821, svetlana-wal@mail.ru

ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России; 610098, Россия, Киров, ул. К. Маркса, 112

Резюме. Целью данного исследования была оценка влияния различных видов терапии на состояние почечного тубулоинтерстиция у пациентов с анкилозирующим спондилитом путем измерения уровня мочевой экскреции фактора трилистника 3 (TFF-3). Исследовались образцы мочи 50 пациентов (мужчины/женщины – 37/13) в возрасте 18 лет и старше с достоверным диагнозом «анкилозирующий спондилит» и отсутствием коморбидной патологии. Медиана возраста составила 39 [34; 56] лет, концентрации креатинина – 69 [60; 80] мкмоль/л, скорости клубочковой фильтрации – 105 [83; 119] мл/мин/1,73 м², альбуминурии – 4,8 [2,6; 7,2] мг/г. 52% пациентов получали нестероидные противовоспалительные препараты, 12% – базисные противовоспалительные препараты, 36% – генно-инженерные биологические препараты. Уровень TFF-3 измеряли с помощью иммуноферментного анализа. Полученные значения приводились к креатинину, измеренному в тех же порциях мочи. Расчет скорости клубочковой фильтрации осуществлялся по формуле CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). Результаты сравнивались с сопоставимой по полу и возрасту группой контроля. Уровень TFF-3 у пациентов с анкилозирующим спондилитом был достоверно выше, чем в группе контроля, медианы составили 52,9 [15,9; 105,7] и 23,3 [1,9; 62,9] нг/ммоль соответственно ($p = 0,02$). Выраженность экскреции TFF-3 на фоне лечения исключительно нестероидными противовоспалительными препаратами достоверно отличалась от базисных противовоспалительных и генно-инженерных биологических препаратов, а также контроля: медианы составили 88,8 [30,5; 127,4], 8,4 [1,6; 16,1], 33,1 [20,6; 87,1], 23,3 [1,9; 62,9] нг/ммоль соответственно ($p = 0,04$). Уровень TFF-3 не коррелировал со скоростью клубочковой фильтрации и альбуминурией. Риск развития почечного повреждения на фоне терапии нестероидными противовоспалительными препаратами выше, чем при использовании базисных противовоспалительных и генно-инженерных биологических препаратов. Определение мочевой экскреции TFF-3 может увеличить потенциал традиционных способов верификации тубулоинтерстициального повреждения.

Ключевые слова: анкилозирующий спондилит, тубулоинтерстициальный нефрит, хроническая болезнь почек, фактор трилистника 3, нестероидные противовоспалительные препараты, базисные противовоспалительные препараты, генно-инженерные биологические препараты.

Для цитирования: Пленкина Л. В., Симонова О. В., Попова С. В. Роль фактора трилистника 3 в оценке влияния базисной терапии на состояние почек у пациентов с анкилозирующим спондилитом // Лечебный Врач. 2022; 1 (25): 35-38. DOI: 10.51793/OS.2022.25.1.006

The role of trefoil factor-3 in assessing the influence of different types of therapy on kidney condition in patients with ankylosing spondylitis

Lidiya V. Plenkina, ORCID: 0000-0001-8199-5721, lidia.plenkina@gmail.com

Olga V. Simonova, ORCID: 0000-0002-6021-0486, simonova043@mail.ru

Svetlana V. Popova, ORCID: 0000-0002-7413-3821, svetlana-wal@mail.ru

Kirov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 112 K. Marx Str., Kirov, 610027, Russia

Abstract. The aim was to evaluate the effect of different types of therapy on kidney tubulointerstitial tissue in patients with ankylosing spondylitis by measuring the urinary excretion level of trefoil factor 3 (TFF-3). Urine samples of 50 patients (male/female = 37/13) aged 18 years and older with a confirmed diagnosis of ankylosing spondylitis and no comorbid pathology were investigated. The median age was 39 [34; 56] years, serum creatinine was 69 [60; 80] mmol/l, glomerular filtration rate was 105 [83; 119] ml/min/1,73 m², albuminuria was 4,8 [2,6; 7,2] mg/g. 52% of patients received non-steroidal antiinflammatory drugs, 12% – disease-modifying anti-rheumatic drug, 36% – biologic medication. The TFF-3 level was measured using enzyme immunoassay. Obtained results were normalised to urinary creatinine concentration. The glomerular filtration rate was calculated using the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) equation. The results were compared to a gender and age matched controls. The level of TFF-3 in patients with AS was higher than in the control group, the medians were 52,9 [15,9; 105,7] and 23,3 [1,9; 62,9] ng/mmol respectively ($p = 0,02$). The TFF-3 excretion during non-steroidal antiinflammatory drugs therapy reliably differed from disease-modifying anti-rheumatic drug, biologic

medication and controls: the medians were 88,8 [30,5; 127,4], 8,4 [1,6; 16,1], 33,1 [20,6; 87,1], 23,3 [1,9; 62,9] ng/mmol, respectively ($p = 0,01$). TFF-3 levels did not correlate with glomerular filtration rate and albuminuria. The risk of tubulointerstitial damage with non-steroidal antiinflammatory drug therapy is higher compared with disease-modifying anti-rheumatic drug and biologic medication. Determining the TFF-3 urinary excretion level may improve diagnosis of renal tubulointerstitial alteration.

Keywords: ankylosing spondylitis, tubulointerstitial nephritis, chronic kidney disease, trefoil factor-3, non-steroidal antiinflammatory drugs, disease-modifying anti-rheumatic drug, biologic medication.

For citation: Plenkina L. V., Simonova O. V., Popova S. V. The role of trefoil factor-3 in assessing the influence of different types of therapy on renal condition in patients with ankylosing spondylitis // Lechaschi Vrach. 2022; 1 (25): 35-38. DOI: 10.51793/OS.2022.25.1.006

Анкилозирующий спондилит (АС) – хроническое, прогрессирующее воспалительное заболевание преимущественно илеосакральных сочленений и позвоночника, которое у ряда больных может протекать одновременно с поражением энзезисов и периферических суставов [1]. В настоящее время в лечении данного заболевания используются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), базисные противовоспалительные препараты (БПВП) и генно-инженерные биологические препараты (ГИБП). К препаратам первой линии относят НПВП [1]. Данный класс препаратов, как известно, обладает доказанным нефротоксическим действием. Этот побочный эффект может привести к развитию тубулоинтерстициального нефрита (ТИН) с последующим формированием хронической недостаточности (ХН), которая значимо влияет на продолжительность и качество жизни пациентов. При своевременной отмене препарата возможна частичная или полная обратимость НПВП-нефропатии [2]. Поэтому выявление ранних признаков нефротоксичности НПВП является крайне важной задачей для любого клинициста.

Так как нефробиопсия является инвазивным методом, в настоящее время диагностика ТИН, как правило, осуществляется на основании анамнеза и лабораторных показателей при наличии стойкого мочевого синдрома (эритроцитурии/абактериальной лейкоцитурии/протеинурии не более 3 г/сутки), появлении микроальбуминурии/β2-микроглобулинурии, снижении снижении скорости клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/минуту [3]. Диагностическая ценность описанных маркеров весьма ограничена, так как они не являются специфичными для данного вида нефропатии, а β2-микроглобулин не стабилен при комнатной температуре и pH мочи < 6 [4].

Таким образом, существует потребность в новых биомаркерах, лишенных описанных недостатков, которые могли бы идентифицировать лиц с повышенным риском развития клинически развернутого токсического поражения почек. Одним из таких маркеров может быть фактор трилистника 3 (TFF-3), который экспрессируется в клетках проксимального, дистального канальцев и собирательного протока в ответ на их повреждение [5].

Целью данной работы было оценить состояние почечного тубулоинтерстиция у пациентов с АС на фоне различных видов терапии, используя определение мочевой экскреции TFF-3.

Материалы и методы исследования

Исследовались образцы мочи 50 пациентов (мужчины/женщины – 37/13) не моложе 18 лет с достоверным диагнозом АС, установленным по модифицированным Нью-Йоркским критериям 1984 г. и Критериям оценки Международного общества спондилоартрита (The

Assessment of SpondyloArthritis international Society, ASAS, 2009) для аксиального спондилита, и отсутствием коморбидной патологии. Медиана возраста пациентов составила 39 [34; 56] лет, длительности суставного синдрома – 10 [7; 18] лет. HLA B27-позитивными были 64% пациентов. Большинство больных АС имели развернутую стадию заболевания. Активность оценивалась по индексу активности больного АС в ванне (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, BASDAI) и показателю активности АС – С-реактивному белку (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score – C-reactive protein ASDASCRP). В качестве терапии использовались НПВП, сульфасалазин как представитель БПВП и ГИБП. Общая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Группа контроля состояла из 36 практически здоровых добровольцев, сопоставимых с основной группой по полу и возрасту ($p > 0,05$). Все участники исследования подписывали добровольное информированное согласие.

У всех были выполнены лабораторные тесты (клинический анализ крови и мочи, уровень креатинина, мочевины,

Таблица 1
Общая характеристика пациентов с АС [таблица составлена авторами] / General characteristics of patients with ankylosing spondylitis [table compiled by the authors]

Параметр	Значение
Мужчины/женщины, п	37/13
Средний возраст, годы, Me [25%; 75%]	39 [34; 56]
Длительность суставного синдрома, годы, Me [25%; 75%]	10 [7; 18]
Стадия, п (%)	
ранняя	5 (10)
развернутая	26 (52)
поздняя	19 (38)
Форма, п (%)	
Аксиальная форма	27 (54)
АС с периферическими артритами	23 (46)
Активность, баллы, Me [25%; 75%]	
BASDAI	2,8 [1,9; 5,0]
ASDAS (CRP)	2,5 [1,6; 3,1]
Функциональный класс, п (%)	
1	3 (6)
2	9 (18)
3	33 (66)
4	5 (10)
HLA B27 +/–, п	32/18
Терапия, п (%)	
НПВП	26 (52)
БПВП	6 (12)
ГИБ	18 (36)

АСТ, АЛТ, билирубин, СРБ сыворотки крови, СОЭ, HLA-B27, альбумин, креатинин мочи), УЗИ почек и мочевого пузыря, органов брюшной полости. По показаниям пациентам выполнялись экскреторная урография, гистологическое исследование слизистой оболочки желудка или прямой кишки на амилоид, в одном случае была выполнена нефробиопсия. СКФ рассчитывалась по формуле CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration – Сотрудничество в области эпидемиологии хронических заболеваний почек).

ХБП констатировалась на основании выявления любых клинических маркеров повреждения почек на протяжении не менее 3 месяцев, маркеров необратимых структурных изменений органа, снижения СКФ < 60 мл/мин/1,73 м² в течение трех и более месяцев, вне зависимости от наличия других признаков повреждения почек [6]. TFF-3 определялся в разовой порции мочи. Микропробы мочи хранились при температуре минус 25 °C до проведения исследования. Уровень маркера измеряли с помощью иммуноферментного анализа, используя наборы ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) для человеческого TFF-3 (CloudClone Corp., USA). Полученные значения приводились к мочевой экскреции креатинина, измеренного в тех же порциях мочи по методу Поппера, основанному на реакции Яффе.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Statistica 10. Соответствие нормальности распределения признаков проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Поскольку распределение основной части параметров было отличным от нормального, для описания количественных переменных использованы методы непараметрической статистики с выражением данных в виде медианы и интерквартильного интервала (Me [25-й и 75-й процентили]). Для межгруппового сравнения количественных признаков двух независимых выборок применяли непараметрический U-критерий Манна – Уитни, для сравнения трех и более групп – критерий Краскела – Уоллиса. Для сравнения независимых совокупностей по качественным признакам использовался критерий χ^2 . Взаимосвязь количественных признаков изучали с помощью рангового корреляционного анализа Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным < 0,05 [7].

Результаты

Медиана уровня креатинина в исследуемой группе составила 69 [60; 80] мкмоль/л, СКФ – 105 [83; 119] мл/мин/1,73 м², альбуминурии – 4,8 [2,6; 7,2] мг/г креатинина. Стойкий мочевой синдром был выявлен у 15 пациентов (30%):

в виде изолированной протеинурии – у 1 пациента, изолированной эритроцитурии – у 10 пациентов, сочетания протеинурии и эритроцитурии – у 4 пациентов. ХБП была констатирована у 17 человек (34%). Уровень TFF-3 у пациентов с АС был достоверно выше, чем в группе контроля, медианы составили 52,9 [15,9; 105,67] и 23,3 [1,9; 62,9] нг/ммоль креатинина соответственно ($p = 0,02$). Лабораторные показатели пациентов на фоне различных видов терапии представлены в табл. 2.

Диапазон значений TFF-3 у пациентов с АС был от 0,0 до 414,8 нг/ммоль креатинина, в группе контроля – от 0,0 до 78,6 нг/ммоль креатинина. Выявлена корреляция маркера с активностью заболевания по BASDAI ($rs = 0,32, p < 0,05$) и ASDAS ($rs = 0,33, p < 0,05$). Уровень TFF-3 не зависел от пола, возраста, длительности АС, не коррелировал с СКФ и альбуминурией ($p > 0,05$). Также не было выявлено статистически значимого отличия значений TFF-3 между пациентами с ХБП и без ХБП. Мочевой синдром в виде эритроцитурии/протеинурии не ассоциировался с тем или иным видом терапии.

Обсуждение

НПВП – группа препаратов, значение которой в ревматологии трудно переоценить. В частности, при АС они не только купируют болевой синдром и уменьшают воспаление, но и замедляют прогрессирование заболевания [8]. К сожалению, данные препараты не лишены побочных эффектов, одним из которых является нефротоксичность. Она реализуется через блокаду синтеза почечных простагландинов, регулирующих почечную гемодинамику и влияющих на перитубулярный кровоток, препятствуя вазоконстрикторному эффекту норадреналина и ангиотензина II [9]. Результатом является развитие хронического абактериального недеструктивного воспаления почечной стромы и канальцевого аппарата [10]. В ответ на повреждение происходит активация целого ряда процессов, направленных на регенерацию. Одним из факторов, участвующих в восстановлении канальцевого эпителия, является TFF-3. Его защитная функция реализуется за счет многочисленных механизмов, включая реституцию, антиапоптотические эффекты, модуляцию дифференцировки, иммунного ответа и воспалительных процессов [11-14]. В проведенных ранее исследованиях уровень TFF-3 был намного выше у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и гипертонической болезнью по сравнению с контролем [15], его уровень также изменялся в ходе острого почечного повреждения токсического генеза [16].

Наше исследование показало, что уровень мочевой экскреции TFF-3 на фоне терапии НПВП был достоверно выше по

Таблица 2

Лабораторные показатели пациентов на фоне различных видов терапии, Me [25-й и 75-й процентили] [таблица составлена авторами] / Laboratory indicators of patients on the background of various types of therapy, Me [25th and 75th percentiles] [table compiled by the authors]

Показатель	НПВП, n = 26	БПВП, n = 6	ГИБП, n = 18	Контроль, n = 36	p
Креатинин, мкмоль/л	73 [65; 90]	62 [57; 76]	62 [56; 76]	67 [61; 71]	$p = 0,02$
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	91 [78; 118]	108 [94; 127]	112 [95; 121]	114 [101; 123]	$p = 0,09$
МАУ, мг/г	4,3 [2,5; 7,2]	5,9 [0,5; 12,2]	4,5 [2,9; 6,7]	2,5 [1,7; 3,9]	$p = 0,09$
TFF-3, пг/мл	846,9 [454,7; 1412,0]	116,6 [38,2; 180,6]	295,2 [217,4; 854,5]	164,8 [27,0; 613,7]	$p = 0,03$
TFF-3, нг/ммоль креатинина	88,8 [30,5; 127,4]	8,4 [1,6; 16,1]	33,1 [20,6; 87,1]	23,3 [1,9; 62,9]	$p = 0,04$

сравнению с другими видами терапии и контролем. Причем значения выше рассчитанных референтных наблюдались в 40% случаев. Это может свидетельствовать о том, что у данной категории пациентов активированы процессы регенерации тубулоинтерстиция на фоне повреждения, индуцированного НПВП. У наших пациентов повышенный уровень TFF-3 не ассоциировался ни с эритроцитурией, ни с протеинурией, в связи с чем можно предположить отсутствие у них достоверной связи мочевого синдрома с ТИН. В свою очередь имеющиеся изменения в анализах мочи вероятнее всего являются проявлением IgA-нефропатии или начальных стадий амилоидоза. Более низкие значения маркера у пациентов на фоне терапии сульфасалазином по сравнению с контролем требуют уточнения в связи с малочисленностью этой группы.

Выводы

Полученные нами данные позволяют предположить, что повреждение тубулоинтерстиция, даже при отсутствии признаков ХБП, наблюдается примерно у трети пациентов с АС. Причем риск развития этого повреждения на фоне терапии НПВП более высок по сравнению с лечением сульфасалазином и ГИБП. Таким образом, определение уровня мочевой экскреции TFF-3 может увеличить потенциал традиционных способов верификации почечного повреждения и тем самым представлять определенный интерес для диагностики ранних стадий нефропатий, связанных с поражением тубулоинтерстициального компартмента. ■

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

CONFLICT OF INTERESTS. Not declared.

Литература/References

1. Ревматология. Российские клинические рекомендации / Под ред. акад. РАМН Е. Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. [Rheumatology. Russian clinical guidelines. / Pod red. akad. RAMN Ye. L. Nasonova M.: GEOTAR-Media, 2019. (In Russ.)]
2. Нефрология. Руководство для врачей / Под ред. И. Е. Тареевой. М.: Медицина, 2000. С. 68-72. [Nephrology. A guide for doctors. / Pod red. I. Ye. Tareyevoy. M.: Medicina, 2000. P. 68-72 (In Russ.)]
3. Нефрология. Клинические рекомендации / Под ред. Е. М. Шилова, А. В. Смирнова, Н. Л. Козловской. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. С 490-501. [Nephrology. Clinical guidelines. / Pod red. Ye. M. Shilova, A. V. Smirnova, N. L. Kozlovskoy. M.: GEOTAR-Media, 2019. P. 490-501 (In Russ.)]
4. Gobe G. C., Coombes J. S., Fassett R. G., Endre Z. H. Biomarkers of drug-induced acute kidney injury in the adult // Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. 2015; 11 (11): 1683-1694. DOI: 10.1517/17425255.2015.1083011.
5. Rinnert M., Hinz M., Buhz P. et al. Synthesis and localization of trefoil factor family (TFF) peptides in the human urinary tract and TFF2 excretion into the urine // Cell Tissue Res. 2010; 339 (3): 639-647. DOI: 10.1007/s00441-009-0913-8.
6. Смирнов А. В., Шилов Е. М., Добронравов В. А., Каюков И. Г., Бобкова И. Н., Швецов М. Ю., Цыгин А. Н., Шутов А. М. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению // Нефрология. 2012; 16 (1): 89-115. [Smirnov A. V., Shilov E. M., Dobronravov V. A., Kayukov I. G., Bobkova I. N., Shvetsov M. Yu., Cygin A. N., Shutov A. M. National guidelines. Chronic kidney disease: basic principles of screening, diagnosis, prevention

and treatment approaches // Nefrologiya. 2012; 16 (1): 89-115. (In Russ.)] DOI: 10.24884/1561-6274-2012-16-1-89-115.

7. Халафян А. А. Современные статистические методы медицинских исследований. М.: ЛКИ, 2008. [Modern statistical methods of medical research. Khalafyan A. A. M.: LKI, 2008. (In Russ.)]
8. Wanders A., Heijde D. V., Landewé R., Béhier J. M., Calin A., Olivier I., Zeidler H., Dougados M. Nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: a randomized clinical trial // Arthritis Rheum. 2005; 52 (6): 1756-1765. DOI: 10.1002/art.21054.
9. Чельцов В. В. НПВС-нефропатии // Клиническая нефрология. 2011; 5: 17-23. [Cheltsov V. V. NSAIDs associated nephropathy // Klinicheskaya nefrologiya. 2011; 5: 17-23. (In Russ.)]
10. Шишкин А. Н. Аналгетическая нефропатия: скрытая угроза // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. 2003; 2: 28-31. [Shishkin A. N. Analgesic Nephropathy: The Hidden Threat // Novye Sankt-Peterburgskie vrachebnye vedomosti. 2003; 2: 28-31. (In Russ.)]
11. Hoffmann W. Trefoil factor family (TFF) peptides and chemokine receptors: a promising relationship // J Med Chem. 2009; 52: 6505-6510. DOI: 10.1021/jm9008136.
12. Hoffmann W. TFF (trefoil factor family) peptides. In: Kastin A. J., editor. Handbook of Biologically Active Peptides. San Diego: Elsevier; 2006: 1147-1154. DOI: 10.1007/s00018-005-5481-9.
13. Hoffmann W. Trefoil factors TFF (trefoil factor family) peptide-triggered signals promoting mucosal restitution // Cell Mol Life Sci. 2005; 62 (24): 2932-2938. DOI: 10.1007/s00018-005-5481-9.
14. Bonventre J. V. Dedifferentiation and proliferation of surviving epithelial cells in acute renal failure // J Am Soc Nephrol. 2003; 14 (1): 55-61. DOI: 10.1097/01.asn.0000067652.51441.21.
15. Astor B. C., Köttgen A., Hwang S. J., Bhavsar N., Fox C. S., Coresh J. Trefoil factor 3 predicts incident chronic kidney disease: a case-control study nested within the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study // Am J Nephrol. 2011; 34 (4): 291-297. DOI: 10.1159/00030699.
16. Huang J. X., Blaskovich M. A., Cooper M. A. Cell- and biomarker-based assays for predicting nephrotoxicity // Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. 2014; 10 (12): 1621-1635. DOI: 10.1517/17425255.2014.967681.

Сведения об авторах:

Пленкина Лидия Владимировна, аспирант по направлению «Клиническая медицина» ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России; 610098, Россия, Киров, ул. К. Маркса, 112; lidia.plenkina@gmail.com

Симонова Ольга Викторовна, д.м.н., заведующая кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России; 610098, Россия, Киров, ул. К. Маркса, 112; simonova043@mail.ru

Попова Светлана Валентиновна, ассистент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России; 610098, Россия, Киров, ул. К. Маркса, 112; svetlana-wal@mail.ru

Information about the authors:

Lidiya V. Plenkina, PhD student in the direction of «Clinical Medicine» at the Kirov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 112 K. Marx Str., Kirov, 610027, Russia; lidia.plenkina@gmail.com

Olga V. Simonova, Dr. of Sci. (Med.), Head at Department of Hospital Therapy at the Kirov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 112 K. Marx Str., Kirov, 610027, Russia; simonova043@mail.ru

Svetlana V. Popova, Assistant at the Department of Microbiology at the Kirov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 112 K. Marx Str., Kirov, 610027, Russia; svetlana-wal@mail.ru