

# Изучение противовирусной активности рекомбинантного человеческого интерферона лямбда 1 на культуре клеток конъюнктивы человека

Н.А. Кихтенко<sup>1</sup>, Т.Н. Ильичёва<sup>2</sup>, А.Г. Дурыманов<sup>2</sup>, А.Ж. Фурсова<sup>1</sup>, П.Г. Мадонов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет  
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1

## Резюме

Цель исследования – определить эффективность рекомбинантного человеческого интерферона лямбда 1 (ИФН-λ1) в отношении аденовируса человека 5 серотипа на культуре клеток конъюнктивы человека Chang conjunctiva clone 1-5c-4. **Материал и методы.** Дизайн исследования представлял собой три экспериментальные схемы, отражающие профилактический и два варианта лечебно-профилактического режима лечения (с постоянным присутствием вируса в культуральной среде и с удалением его после адсорбции). Противовирусную активность ИФН-λ1 определяли по количеству жизнеспособных клеток после воздействия вируса (МТТ-тест). **Результаты и их обсуждение.** Установлено, что ИФН-λ1 обладает противовирусной активностью в отношении аденовируса человека *in vitro* при введении по профилактической и лечебно-профилактической схеме и дозе инфицирования 1 и 10 ТЦИД<sub>50</sub> (50%-я тканевая цитопатическая инфекционная доза), но не 100 ТЦИД<sub>50</sub>. Противовирусный эффект применения ИФН-λ1 в лечебно-профилактическом режиме при дозе инфицирования 1 ТЦИД<sub>50</sub> был сопоставим с таковым у ИФН-α. При этом оба интерферона не оказывали токсического действия на культуру клеток даже в концентрации 84 и 58 мкг/мл соответственно. Противовирусная активность и отсутствие цитотоксического действия создают основу для дальнейшего изучения возможности создания лекарственного препарата на основе ИФН-λ1 с целью лечения вирусных заболеваний конъюнктивы глаза.

**Ключевые слова:** интерферон лямбда, аденовирус, конъюнктура человека.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90002/20.

**Автор для переписки:** Кихтенко Н.А., e-mail: dr.kikhtneko@gmail.com

**Для цитирования:** Кихтенко Н.А., Ильичёва Т.Н., Дурыманов А.Г., Фурсова А.Ж., Мадонов П.Г. Изучение противовирусной активности рекомбинантного человеческого интерферона лямбда 1 на культуре клеток конъюнктивы человека. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021; 41 (5): 31–36. doi: 10.18699/SSMJ20210504

## Investigation of the antiviral activity of the recombinant human interferon lambda 1 in human conjunctiva cell culture

N.A. Kikhtenko<sup>1</sup>, T.N. Ilyicheva<sup>2</sup>, A.G. Durymanov<sup>2</sup>, A.Zh. Fursova<sup>1</sup>, P.G. Madonov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

<sup>2</sup> Novosibirsk State University  
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 1

## Abstract

The aim of the study was to determine the efficacy of recombinant human interferon lambda 1 (IFN-λ1) against human adenovirus serotype 5 in a culture of human conjunctival cells Chang conjunctiva clone 1-5c-4. **Material and methods.** The study design consisted of three experimental schemes, reflecting a prophylactic and two options for a therapeutic and prophylactic treatment regimen (with the constant presence of the virus in the culture medium and with its removal after adsorption). The antiviral activity of IFN-λ1 was determined by the number of viable cells after exposure to the

virus (MTT test). **Results and discussion.** It has been established that IFN- $\lambda$ 1 has antiviral activity against human adenovirus *in vitro* under a prophylactic and therapeutic-prophylactic scheme of administration at an infection dose of 1 and 10 TCID<sub>50</sub> (50% tissue culture infectious dose), but not at an infection dose of 100 TCID<sub>50</sub>. The antiviral effect of the use of IFN- $\lambda$ 1 in a therapeutic and prophylactic regimen at an infection dose of 1 TCID<sub>50</sub> was comparable to that of IFN- $\alpha$ . At the same time, both interferons did not have a toxic effect on the cell culture even at a concentration of 84 and 58  $\mu$ g/ml, respectively. The antiviral activity and the absence of cytotoxic action provide the basis for further study of the possibility of development of based on IFN- $\lambda$ 1 drug for eye conjunctiva viral diseases treatment.

**Key words:** interferon lambda, adenovirus, human conjunctiva.

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

**Acknowledgments.** The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20-315-90002\20.

**Correspondence author:** Kikhtenko N.A., e-mail: dr.kikhtenko@gmail.com

**Citation:** Kikhtenko N.A., Ilyicheva T.N., Durymanov A.G., Fursova A.Zh., Madonov P.G. Investigation of the antiviral activity of the recombinant human interferon lambda 1 in human conjunctiva cell culture. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2021; 41 (5): 31–36. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210504

## Введение

В настоящее время известно о семи основных видах аденовирусов человека (HAdV) с более чем 90 различными субтипами, при этом постоянно продолжают обнаруживаться новые типы аденовирусов [1]. HAdV вызывают широкий спектр заболеваний, одними из самых распространенных являются респираторные инфекции. Человек, инфицированный HAdV, чрезвычайно заразен в течение инкубационного периода, который обычно составляет от 4 до 8 дней, но может длиться и 24 дня в зависимости от серотипа HAdV [2].

Поражение глазного яблока может быть как самостоятельным заболеванием, так и осложнением респираторной инфекции. Частота аденовирусных поражений среди пациентов с клиническим диагнозом инфекционного конъюнктивита может варьировать от 15 до 70 % [3, 4], при этом особенностью течения аденовирусного конъюнктивита является высокая частота поражения роговицы и развитие кератоконъюнктивита, что может приводить к необратимому снижению зрительных функций. HAdV обнаруживается в конъюнктиве больных через 10 дней после начала заболевания, при этом больше половины пациентов еще контагиозны, а некоторые остаются носителями вируса [5]. В случае острого геморрагического конъюнктивита аденовирусы серотипов 2, 3, 4, 5 и 19 также могут быть обнаружены в конъюнктиве через несколько месяцев после начала заболевания [6].

В настоящее время нет зарегистрированных и применяющихся в клинической практике этиотропных препаратов для лечения аденовирусной инфекции, в том числе при поражении глаза. В США разработана живая аттенуированная пероральная вакцина, которая используется только

для вакцинации военнослужащих [7]. Одной из стратегий терапии и профилактики вирусных заболеваний является применение лекарственных препаратов на основе рекомбинантных интерферонов (ИФН). В настоящее время активно изучается противовирусное действие ИФН III типа (ИФН- $\lambda$ ). Показано, что ИФН- $\lambda$  1 типа (ИФН- $\lambda$ 1) представляют собой «сторожевые молекулы» анатомических эпителиальных барьеров и проявляют активность сразу после контакта клеток с вирусом. В настоящее время установлено, что ИФН- $\lambda$ 1 могут успешно применяться для лечения вирусного гепатита, вирусного энцефалита, коронавирусной инфекции и др. [8, 9]. Выполнены исследования по применению ИФН- $\lambda$  для лечения герпес-вирусного кератита [10, 11], однако нам не встретилось публикаций о работах, посвященных возможности использования ИФН- $\lambda$ 1 при инфицировании HAdV эпителия передней поверхности глаза.

Цель настоящего исследования – изучение противовирусной активности рекомбинантного человеческого ИФН- $\lambda$ 1 в отношении аденовируса человека серотипа 5 *in vitro* на культуре клеток конъюнктивы человека Chang conjunctiva clone 1-5c-4.

## Материал и методы

В работе использовали HAdV серотипа 5 из коллекции ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора («Вектор»), размножение которого осуществляли в клетках линии HeLa (карцинома шейки матки человека) из коллекции культур клеток «Вектор». Для определения противовирусной активности использовали линии клеток нормальной конъюнктивы человека Chang conjunctiva clone 1-5c-4, полученные из

коллекции культур клеток «Вектор» и Коллекции перевиваемых соматических клеток позвоночных Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи (НИЦЭМ). Клетки выращивали в среде следующего состава: среда DMEM (Gibco, США) с 5 % фетальной бычьей сыворотки (Gibco) и антибиотиками (Anti-Anti, Gibco, США). Поддерживающая среда отличалась только количеством фетальной сыворотки (2 %). Для отмывания клеток использовали раствор Хенкса («Вектор»).

В качестве объекта исследования был использован рекомбинантный человеческий ИФН- $\lambda$ 1 (АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии») в концентрации 0,84 мг/мл, в качестве препарата сравнения – рекомбинантный человеческий ИФН- $\alpha$ 2b (АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии») в концентрации 0,58 мг/мл (препараты на его основе применяются в офтальмологической практике). Степень чистоты препаратов > 97 % (хроматограф жидкостный ActaPurifier100, GE Healthcare, США).

Противовирусную активность определяли по количеству жизнеспособных клеток после воздействия вируса и различных схем введения препарата в МТТ-тесте. Метод основан на способности живых клеток поглощать и накапливать суправитальный краситель нейтральный красный в лизосомах благодаря электростатическому притяжению. Повреждение лизосомальных мембран приводит к снижению накопления красителя, поэтому окрашивание происходит пропорционально количеству жизнеспособных клеток.

Дизайн исследования представлял собой три экспериментальные схемы, отражающие модель профилактического режима и два варианта лечебно-профилактического режима лечения. Первый этап был одинаков для всех схем: лунки 96-луночного планшета засевали культурой клеток с посевной дозой  $2 \times 10^4$  клеток на лунку. После формирования 80%-го монослоя в культуральную среду вносили разведения (1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560) тестируемых препаратов, используя по три лунки на каждое разведение. Клетки инкубировали 24 часа при 37 °C в атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub>. Затем культуральную среду удаляли и вносили HAdV серотипа 5 в дозах 1, 10 и 100 ТЦИД<sub>50</sub> (50%-я тканевая цитопатическая инфекционная доза) на лунку в объеме 100 мкл. Далее схемы различались.

**Схема 1.** Через 30 мин после заражения клеток в лунки вновь вносили исследуемый образец (разведения от 1:10 до 1:2560) в 100 мкл поддерживающей среды и инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> в течение 72 ч. В этом случае вирус после адсорбции не удаляли, клетки инку-

бировали в культуральной среде с исследуемым препаратом или препаратом сравнения.

**Схема 2.** Через 30 мин после заражения клетки отмывали раствором Хенкса, чтобы удалить вирус, после чего вновь вносили исследуемый образец (разведения от 1:10 до 1:2560) в 100 мкл поддерживающей среды и инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> в течение 72 ч. В этом случае вирус после адсорбции удаляли, клетки инкубировали в культуральной среде с исследуемым препаратом или препаратом сравнения.

**Схема 3.** Через 30 мин после заражения клетки отмывали раствором Хенкса, после чего вносили поддерживающую среду без исследуемых образцов и инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> в течение 72 ч. В этом случае вирус после адсорбции удаляли, клетки инкубировали в культуральной среде без препаратов.

Контроль вируса осуществляли путем проведения тех же манипуляций, но без добавления препаратов интерферонов. В качестве контроля среды использовали среду с незараженными вирусом клетками без добавления препаратов.

Через трое суток после заражения клетки окрашивали нейтральным красным и определяли оптическую плотность при длине волны 490 нм. Эффективную дозу противовирусной активности (ED<sub>50</sub>) рассчитывали как дозу препарата, в которой он ингибирует вирусную репродукцию на 50 %.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение ( $M$ ), ошибку среднего арифметического значения ( $m$ ), и представляли в виде  $M \pm m$ .

## Результаты и их обсуждение

ИФН- $\lambda$ 1 и ИФН- $\alpha$ 2b даже при минимальном разведении 1:10 (соответственно 84 и 58 мкг/мл) не оказывали токсического действия на клетки Chang conjunctiva clone 1-5c-4.

В таблице представлена противовирусная активность ИФН- $\lambda$ 1 и ИФН- $\alpha$ 2b при заражении клеток HAdV в дозе 1, 10 и 100 ТЦИД<sub>50</sub> на лунку. Схема 1 отражает лечебно-профилактический режим введения интерферонов при аденовирусной инфекции конъюнктивы глаза и представляет собой модельный эксперимент постоянного присутствия вируса и лекарственного препарата в клеточной культуре на протяжении 72 ч после инфицирования. Как видно из таблицы, при дозе заражения 1 ТЦИД<sub>50</sub> оба препарата обладают антивирусной активностью. В экспериментах по схеме 2 (моделирует лечебно-профилактический режим введения препаратов, когда не проникший в клетки вирус элиминирован, но воз-

**Таблица.** Антивирусная активность препаратов интерферонов в отношении HAdV на культуре клеток Chang conjunctiva clone 1-5c-4 при различных схемах эксперимента**Table.** Antiviral activity of interferon preparations against HAdV in the cell culture Chang conjunctiva clone 1-5c-4 under various experimental schemes

Схема	Доза вируса, ТЦИД <sub>50</sub>	Препарат, мкг/мл		Источник клеток
		ИФН-λ1	ИФН-2αb	
1	1	42,3 ± 2,9	7,3 ± 0,5	«Вектор»
		42,0 ± 9,3	7,3 ± 0,5	«НИЦЭМ»
	10	> 42	14,5 ± 3,9	«Вектор»
	100	> 42	25,0 ± 3,7	«Вектор»
2	1	3,3 ± 0,7	2,1 ± 0,4	«Вектор»
		3,2 ± 0,5	2,0 ± 0,2	«НИЦЭМ»
	10	22,0 ± 4,9	5,1 ± 1,1	«Вектор»
	100	> 42	29,0 ± 4,2	«Вектор»
3	1	3,0 ± 0,8	2,2 ± 0,6	«Вектор»
		3,0 ± 0,6	1,8 ± 0,4	«НИЦЭМ»
	10	23,0 ± 5,1	4,0 ± 0,6	«Вектор»
	100	> 42	29 ± 3,7	«Вектор»

действие интерферонов на клетки продолжается) и 3 (отражает профилактический режим введения препаратов) 24-часовая экспозиция клеток конъюнктивы препаратами интерферонов перед заражением вирусом в дозе 1 ТЦИД<sub>50</sub> также обеспечивала хорошую противовирусную защиту. С определенной долей допущения можно сказать, что при дозе заражения 1 ТЦИД<sub>50</sub> по схемам 2 и 3 ИФН-λ1 проявил антивирусную активность на уровне препарата ИФН-α2b. Кроме того, по схемам 2 и 3 для каждого препарата получены схожие результаты, из чего можно сделать вывод, что внесение в культуральную среду препаратов после адсорбции вируса, по-видимому, не влияет на уровень их противовирусного действия.

Тестирование антивирусной активности интерферонов при десятикратном увеличении дозы аденовируса (10 ТЦИД<sub>50</sub> на лунку) в эксперименте по схеме 1 показало, что выраженным противовирусным действием обладал только препарат сравнения ИФН-α2b. В то же время при проведении экспериментов по схемам 2 и 3 ИФН-λ1 оказывал противовирусное действие, хотя и в более высоких концентрациях, чем ИФН-α2b. При увеличении дозы аденовируса до 100 ТЦИД<sub>50</sub> на лунку противовирусную активность, практически одинаковую при всех трех схемах проведения эксперимента, демонстрировал только ИФН-α2b (см. таблицу).

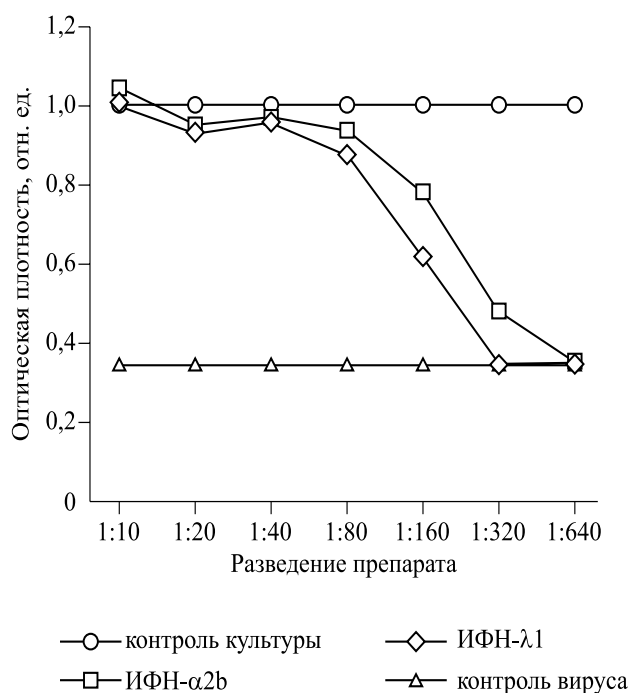
Поскольку выраженную противовирусную активность ИФН-λ1 проявлял лишь при инфицирующей дозе 1 ТЦИД<sub>50</sub> на лунку, тестирование на второй культуре клеток Chang conjunctiva clone 1-5c-4, полученной из коллекции НИЦЭМ, мы

провели только с этой дозой вируса (см. таблицу). Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что эффективная противовирусная доза препаратов ИФН-λ1 и ИФН-α2b достигает сходных значений при тестировании на клетках Chang conjunctiva clone 1-5c-4, полученных из разных коллекций культур.

### Заключение

В результате проведенных экспериментов показано, что для рекомбинантного человеческого ИФН-λ1 характерна выраженная противовирусная активность в клетках конъюнктивы человека при заражении HAdV серотипа 5 в дозе 1 ТЦИД<sub>50</sub> и 10 ТЦИД<sub>50</sub>, но при эскалации инфицирующей дозы в 10 раз (100 ТЦИД<sub>50</sub>) ИФН-λ1 не проявляет противовирусной активности, что согласуется с недавно опубликованными данными [12]. При инфицирующей дозе HAdV 1 и 10 ТЦИД<sub>50</sub> ИФН-λ1 способен реализовать свой эффект при профилактическом и лечебно-профилактическом режиме воздействия, в последнем случае при дозе 1 ТЦИД<sub>50</sub> эффективность ИФН-λ1 и ИФН-α сопоставима (рисунок).

Тот факт, что в лечебном режиме ИФН-λ1 оказывал противовирусное действие в более высоких концентрациях по сравнению с ИФН-α2b, был ожидаем, поскольку из ранних исследований известно о преимущественной противовирусной активности интерферонов альфа по сравнению с интерферонами лямбда. Их принципиальная разница проявляется в скорости реализации противовирусного эффекта, а также в количестве побочных эффектов, что особенно важно при дли-



**Рис.** Определение противовирусной активности препаратов интерферона при дозе вируса 1 ТЦИД<sub>50</sub>  
**Fig.** Antiviral activity of interferon drugs against HAdV in a dose of 1 TCID<sub>50</sub>

тельных курсах лечения [9, 13]. Таким образом, в проведенном исследовании установлена фактическая противовирусная активность ИФН-λ1 в отношении HAdV на клетках конъюнктивы человека при дозах заражения 1 и 10 ТЦИД<sub>50</sub> и отсутствие его цитотоксического действия на эту культуру даже при концентрации 84 мкг/мл. Это обстоятельство, в свою очередь, и объясняет интерес к разработке лекарственных препаратов на основе интерферонов лямбда, в том числе для офтальмологической практики.

## Список литературы / References

1. Hashimoto S., Gonzalez G., Harada S., Oosako H., Hanaoka N., Hinokuma R., Fujimoto T. Recombinant type Human mastadenovirus D85 associated with epidemic keratoconjunctivitis since 2015 in Japan. *J. Med. Virol.* 2018; 90 (5): 881–889. doi: 10.1002/jmv.25041
2. Crenshaw B.J., Jones L.B., Bell C.R., Kumar S., Matthews Q.L. Perspective on adenoviruses: epidemiology, pathogenicity, and gene therapy. *Biomedicines*. 2019; 7 (3): 61. doi: 10.3390/biomedicines7030061
3. Sambursky R., Tauber S., Schirra F., Kozich K., Davidson R., Cohen E.J. The RPS adeno detector for diagnosing adenoviral conjunctivitis. *Ophthalmol-*

*ogy*. 2006; 113 (10): 1758–1764. doi: 10.1016/j.ophtha.2006.06.029

4. Lee C.S., Lee A.Y., Akileswaran L., Stroman D., Najafi-Tagol K., Kleiboeker S., Chodosh J., Margaret A., Wald A., van Gelder R.N.; BAYnovation Study Group. Determinants of outcomes of adenoviral keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 2018; 125 (9): 1344–1353. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.02.016

5. Jonas R.A., Ung L., Rajaiya J., Chodosh J. Mystery eye: Human adenovirus and the enigma of epidemic keratoconjunctivitis. *Prog. Retin. Eye Res.* 2020; 76: 100826. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.100826

6. Труфанов С.В., Маложен С.А., Крахмалева Д.А., Пивин Е.А. Аденовирусный эпидемический кератоконъюнктивит. *Рос. мед. ж. Клини. офтальмол.* 2016; 16 (3): 144–150.

Trufanov S.V., Malozhen S.A., Krakhmaleva D.A., Pivin E.A. Adenoviral epidemic keratoconjunctivitis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal. Klinicheskaya oftal'mologiya = Medical Journal of the Russian. Clinical Ophthalmology*. 2016; 16 (3): 144–150. [In Russian].

7. Choudhry A., Mathena J., Albano J.D., Yacovone M., Collins L. Safety evaluation of adenovirus type 4 and type 7 vaccine live, oral in military recruits. *Vaccine*. 2016; 34: 4558–4564. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.07.033

8. Ye L., Schnepf D., Staeheli P. Interferon-λ orchestrates innate and adaptive mucosal immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2019; 19 (10): 614–625. doi: 10.1038/s41577-019-0182-z

9. Lazear H.M., Schoggins J.W., Diamond M.S. Shared and distinct functions of type I and type III interferons. *Immunity*. 2019; 50 (4): 907–923. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.025

10. Jaggi U., Bhela S., Rouse B.T. Role of interferon lambda (il-28a) in herpes stromal keratitis. *J. Immunol. Res. Ther.* 2018; 3 (1): 135–144.

11. Antony F., Pundkar C., Sandey M., Jaiswal A.K., Mishra A., Kumar A., Channappanavar R., Suryawanshi A. IFN-λ regulates neutrophil biology to suppress inflammation in herpes simplex virus-1-induced corneal immunopathology. *J. Immunol.* 2021; 206 (8): 1866–1877. doi: 10.4049/jimmunol.2000979

12. Plotnikova M., Lozhkov A., Romanovskaya-Romanko E., Baranovskaya I., Sergeeva M., Kaa K., Klotchenko S., Vasin A. IFN-λ1 displays various levels of antiviral activity *in vitro* in a select panel of RNA viruses. *Viruses*. 2021; 13 (8): 1602. doi: 10.3390/v13081602

13. Hermant P., Michiels T. Interferon-λ in the context of viral infections: production, response and therapeutic implications. *J. Innate Immun.* 2014; 6 (5): 563–574. doi: 10.1159/000360084

**Сведения об авторах:**

**Николай Андреевич Кихтенко**, ORCID: 0000-0003-1446-7229 e-mail: dr.kikhtenko@gmail.com  
**Татьяна Николаевна Ильичёва**, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0002-2354-7688, e-mail: t.ilicheva@g.nsu.ru  
**Александр Гаврилович Дурыманов**, ORCID: 0000-0001-5634-1785, e-mail: durymanov\_ag@mail.ru  
**Анжелла Жановна Фурсова**, д.м.н., ORCID: 0000-0001-6311-5452 e-mail: anzhellafursova@yandex.ru  
**Павел Геннадьевич Мадонов**, д.м.н., ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

**Information about the authors:**

**Nikolay A. Kikhtenko**, ORCID: 0000-0003-1446-7229 e-mail: dr.kikhtenko@gmail.com  
**Tatyana N. Ilyicheva**, doctor of biological science, professor, ORCID: 0000-0002-2354-7688,  
e-mail: t.ilicheva@g.nsu.ru  
**Alexander G. Durymanov**, ORCID: 0000-0001-5634-1785, e-mail: durymanov\_ag@mail.ru  
**Anzhella Zh. Fursova**, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6311-5452 e-mail: anzhellafursova@yandex.ru  
**Pavel G. Madonov**, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

*Поступила в редакцию 01.09.2021*  
*После доработки 15.09.2021*  
*Принята к публикации 15.09.2021*

*Received 01.09.2021*  
*Revision received 15.09.2021*  
*Accepted 15.09.2021*