

Статья поступила в редакцию 21.01.2022 г.

Тришкин А.Г., Лесников А.И., Курганова Л.В., Луговой К.А., Бушмакин А.Д., Зуева Г.П., Шмелев А.А., Елгина С.И., Мозес В.Г., Рудаева Е.В., Мозес К.Б.

Кемеровский государственный университет,
Центр охраны здоровья семьи и репродукции «Красная Горка»,
Кузбасская клиническая больница им. С.В. Беляева,
Кемеровский государственный медицинский университет,
г. Кемерово, Россия

ФРАГМЕНТАЦИЯ ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ У ИНФЕРТИЛЬНЫХ МУЖЧИН КУЗБАССА

Стандартный способ диагностики мужского бесплодия подразумевает проведение спермограммы, которая не всегда дает полную картину мужской фертильности. Одним из дополнительных методов оценки эякулята является тест на фрагментацию ДНК сперматозоидов (SDF), определяющий целостность отцовского генома.

Цель исследования – изучение фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин и оценка потенциальных взаимосвязей между уровнем повреждения ДНК, клиническими параметрами и показателями спермограммы.

Результаты. Результаты проведенного исследования демонстрируют наличие достоверной статистической связи между фрагментацией ДНК сперматозоидов с прогрессивной подвижностью ($p < 0,049$), возрастом ($p < 0,040$) и индексом массы тела (ИМТ) ($p < 0,028$). Так же, %SDF значительно выше у пациентов с астенозооспермией ($p < 0,004$), чем у пациентов с нормой. Корреляционная связь с %SDF наблюдалась по показателям общей ($r = -0,265$) и прогрессивной ($r = -0,254$) подвижности, жизнеспособности ($r = -0,205$), а также по клиническим параметрам, возрасту ($r = 0,331$) и ИМТ ($r = 0,279$).

Выводы. В ходе исследования обнаружена связь фрагментации ДНК с подвижностью, жизнеспособностью сперматозоидов, возрастом пациентов и их ИМТ.

Ключевые слова: фрагментация ДНК; мужское бесплодие; показатели спермограммы; мужской фактор; анализ эякулята

Trishkin A.G., Lesnikov A.I., Kurganova L.V., Lugovoi K.A., Bushmakin A.D., Zueva G.P., Shmelev A.A., Elgina S.I., Moses V.G., Rudaeva E.V., Moses K.B.

Kemerovo State University,
Center for Family Health and Reproduction «Krasnaya Gorka»,
Kuzbass Clinical Hospital named after S.V. Belyaev,
Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

SPERM DNA FRAGMENTATION IN INFERTILE MEN OF KUZBASS

The standard method for diagnosing male infertility involves a spermogram, which does not always give a complete picture of male fertility. One additional method for assessing ejaculate is the sperm DNA fragmentation test (SDF), which determines the integrity of the paternal genome.

Objective – to study sperm DNA fragmentation in Kuzbass men and evaluate potential relationships between the level of DNA damage, clinical parameters, and spermogram parameters.

Results. The results of the study demonstrate a significant statistical relationship between DNA fragmentation of spermatozoa with progressive motility ($p < 0.049$), age ($p < 0.040$) and body mass index (BMI) ($p < 0.028$). Also, %SDF is significantly higher in asthenozoospermic patients ($p < 0.004$) than in normal patients. A correlation with %SDF was observed in terms of general ($r = -0.265$) and progressive ($r = -0.254$) mobility, viability ($r = -0.205$), as well as clinical parameters, age ($r = 0.331$) and BMI ($r = 0.279$).

Conclusions. The study found a relationship between DNA fragmentation and motility, viability of spermatozoa, age of patients and their BMI.

Key words: DNA fragmentation; male infertility; spermogram parameters; male factor; ejaculate analysis

Бесплодие – это заболевание, от которого страдают 10 % пар во всем мире, при этом мужской фактор является определяющим в 30-50 % случаев [1]. Основным методом диагностики наличия мужского фактора является спермограмма, однако она не всегда дает полное представление о мужской фертильности. Отсутствие нарушений в параметрах концентрации, подвижности и морфологии сперма-

тозоидов не гарантирует успешное зачатие, даже с применением вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Одним из качественных методов оценки эякулята является тест на фрагментацию ДНК сперматозоидов (SDF), определяющий целостность отцовского генома. Наблюдения показывают, что накопление одно- и двухцепочечных разрывов в нитях ДНК связано с нарушениями развития

Информация для цитирования:

10.24412/2686-7338-2022-1-36-40

Тришкин А.Г., Лесников А.И., Курганова Л.В., Луговой К.А., Бушмакин А.Д., Зуева Г.П., Шмелев А.А., Елгина С.И., Мозес В.Г., Рудаева Е.В., Мозес К.Б. Фрагментация днк сперматозоидов у инфертильных мужчин кузбасса //Мать и Дитя в Кузбассе. 2022. №1(88). С. 36-40.

эмбрионов после оплодотворения, а также повышенным риском выкидыша. Однако вопрос определения частоты на фрагментацию ДНК сперматозоидов в рутинную практику до сих пор является спорным, так как проводимые исследования показывают противоречивые результаты эффективности теста, как в естественном зачатии, так и после применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [2]. По всей вероятности, такие результаты обусловлены применением разных лабораторных методик для оценки теста на фрагментацию ДНК сперматозоидов, а также использованием разнородных выборок и разного дизайна проводимых исследований [3]. В то же время, многие исследователи считают, что тест на фрагментацию ДНК сперматозоидов все же обладает хорошим прогностическим потенциалом, позволяя обнаружить мужчин с нарушением целостности генома в сперматозоидах и, тем самым, в некоторых случаях избегать избыточной диагностики [4].

Все это определило цель нашего исследования – изучить частоту фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин, проходящих обследование и лечение в связи с бесплодием, и определить его взаимосвязь с другими показателями спермограммы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На базе Центра охраны здоровья семьи и репродукции (ЦОЗСР) «Красная горка» методом сплошной выборки проведено ретроспективное обследование 94 мужчин с диагнозом бесплодие. Критерием включения являлось согласие пациентов, отсутствие тяжелой соматической патологии в стадии декомпенсации.

Всем пациентам проводилось стандартное антропометрическое исследование с расчетом индекса массы тела (ИМТ). Исследование спермограммы проводилось в соответствии с руководящими принципами анализа эякулята Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ, 2010 г.) и включало в себя оценку вязкости, объема, концентрации, количества, подвижности, морфологии, лейкоцитов и жизнеспособности [5]. Исследование теста на фрагментацию ДНК сперматозоидов выполнялось методом TUNEL.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS STATISTICS 26 (trial-version). Оценка нормальности распределения проводилась с

помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнительный анализ групп по параметрам проводился с использованием критерия Манна-Уитни. Корреляционный анализ количественных показателей проводился с помощью критерия корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Возраст обследуемых находился в диапазоне от 26 до 54 лет (средний возраст $34,5 \pm 5,1$ лет). Средний показатель ИМТ составил $27,8 \pm 4,7$.

Распределение показателя %SDF (процент фрагментированных сперматозоидов) у исследуемых пациентов представлено на рисунке. Средний показатель %SDF в выборке составил $14,5 \pm 6,3$ %. У 45,7 % пациентов %SDF был более 15 % (со средним значением $19,5 \pm 5,3$ %).

В результате проведения сравнительного анализа показателей спермограммы и клинических параметров у пациентов с нормальным и повышенным уровнем %SDF [< 15 % ($n = 51$) и > 15 % ($n = 43$) соответственно] статистически значимые отличия наблюдались в группах по прогрессивной подвижности, возрасту и ИМТ (табл. 1).

Было проведено сравнение %SDF у пациентов с заключениями спермограммы «олигозооспермия/ нормальная концентрация», «астенозооспермия/ нормальная подвижность» и «тератозооспермия/ нормальная морфология», которое составило $17,7 \pm 7,2$ % и $13,2 \pm 5,7$ % соответственно ($p < 0,004$).

Результаты корреляционного анализа между уровнем %SDF и возрастом, ИМТ и параметрами спермограммы представлены в таблице 2.

Рисунок
Распределение показателя %SDF у исследуемых пациентов
Figure
Distribution of %SDF in Study Patients

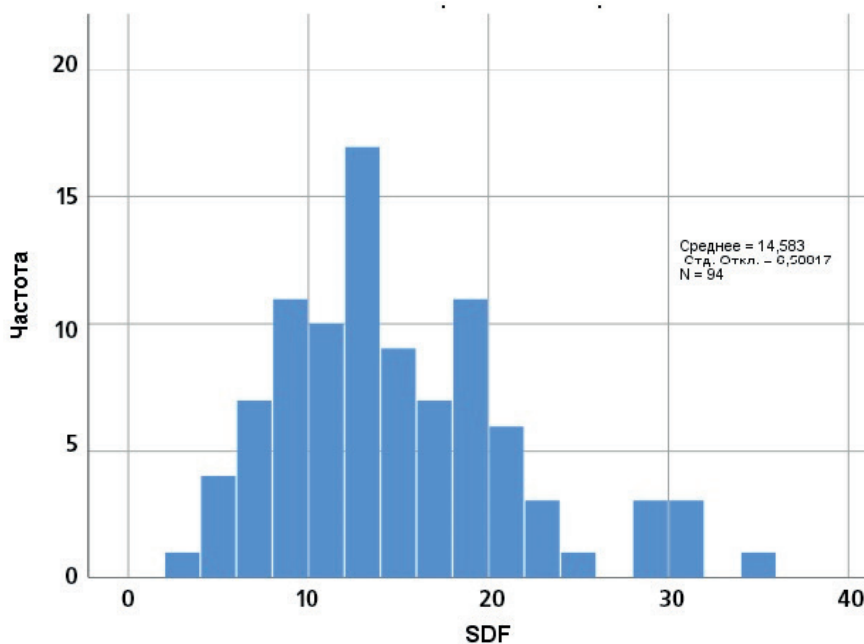


Таблица 1
Результаты сравнительного анализа показателей спермограммы и клинических параметров у пациентов с нормальным и повышенным уровнем %SDF

Table 1
The results of a comparative analysis of spermogram parameters and clinical parameters in patients with normal and elevated %SDF levels

Показатель	%SDF, средние значения параметров		p-критерий
	<15%, n = 51	>15%, n = 43	
Объем	3,3 ± 1,3	3,5 ± 1,6	0,515
Концентрация	73 ± 39,4	72,9 ± 40,4	0,802
Количество	217,5 ± 122,2	248 ± 192	0,845
Подвижность (общая)	69,3 ± 8,4	65,5 ± 11,9	0,102
Подвижность (прогрессивная А+В)	37,8 ± 11,1	32,6 ± 13,8	0,049
Морфология	5,6 ± 1,9	4,9 ± 1,9	0,180
Лейкоциты	0,3 ± 0,4	0,5 ± 0,9	0,669
Жизнеспособность	78,1 ± 6,1	76,9 ± 7,5	0,292
Возраст	33,3 ± 4,5	35,9 ± 5,6	0,040
ИМТ	26,6 ± 4,1	29,2 ± 5,1	0,028

Таблица 2
Корреляция показателя фрагментации ДНК с возрастом, ИМТ и параметрами спермограммы

Table 2
Correlation of DNA fragmentation index with age, BMI and spermogram parameters

Показатель	Коэффициент корреляции Пирсона (r)	p-критерий
Объем	0,036	0,734
Концентрация	-0,034	0,761
Количество	0,055	0,140
Подвижность (общая)	-0,265	0,011
Подвижность (прогрессивная А+В)	-0,254	0,015
Морфология	-0,106	0,384
Лейкоциты	0,132	0,239
Жизнеспособность	-0,205	0,049
Возраст	0,331	0,001
ИМТ	0,279	0,007

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что бесплодие у мужчин часто сопровождается высоким процентом фрагментации ДНК сперматозоидов. Этиология фрагментации ДНК у сперматозоидов многофакторная, и может быть вызвана как экзогенными, так и эндогенными причинами. На молекулярном уровне на этот показатель влияют абортивный апоптоз во время созревания сперматозоидов в придатке яичка, окислительный стресс из-за чрезмерного производства активных форм кислорода (АФК) и аномальная упаковка ДНК в процессе ремоделирования хроматина с заменой гистонов на протамины [4].

Хроматин сперматозоидов, ввиду необходимости особо сильной компактизации, устроен иначе, чем у соматических клеток. На ранней стадии развития сперматиды происходит процесс ремоделирования. Уплотнение ДНК требует замены гистонов классом богатых аргинином и цистеином белков, называемых протаминами. У млекопитающих замена ядерных белков происходит также при участии переходных (TnP). В некоторых случаях данные процессы происходят с нарушениями, которые могут быть об-

условлены дефектами на ранних этапах сперматогенеза, и, в частности, нехваткой вышеупомянутых протаминов и переходных белков вследствие нарушения экспрессии генов, кодирующих их структуру [6].

Окислительный стресс, возникающий в результате избыточного производства АФК, приводит к перекисному окислению полиненасыщенных жиров мембраны, изменяя ее функциональную структуру, и в отдельных случаях может достигать цитоплазмы и ядра сперматозоидов, особо уязвимых по отношению к окислительному воздействию. Апоптоз, в процессе сперматогенеза, выполняет функции механизма, обеспечивающего удаление дефектных половых клеток из семенных канальцев, чтобы они не продолжали процесс дифференциации в зрелые сперматозоиды. Однако этот механизм не всегда работает эффективно, и значительная часть клеток может достигнуть фазы протаминирования. Как следствие, в эякуляте могут появляться зрелые сперматозоиды с большим количеством разрывов в цепочках ДНК [7].

Нужно учитывать, что повышенный уровень фрагментации в сперматозоидах может быть резуль-

татом сочетания этих трех процессов. Можно предположить, что апоптоз возникает в том числе вследствие повреждения вызванного АФК. Точно так же, разрывы в ДНК, возникающие в результате нарушения протаминирования, могут быть обусловлены наличием апоптоза и, таким образом, усиливать ранее существовавшее повреждение.

Выявленная в результате исследования связь высокого процента фрагментации ДНК сперматозоидов с низкой подвижностью сперматозоидов, вероятнее всего, обусловлена процессом созревания сперматиды в ходе спермиогенеза [8]. То, что жгутик, за счет которого осуществляется движение сперматозоида, формируется после процесса конденсации хроматина и замены гистонов на протамины (в фазе Гольджи), косвенно указывает на взаимосвязь этих двух параметров. Исследование, проведенное на мышах, у которых была искусственно нарушена экспрессия генов, кодирующих структуру переходных ядерных белков (TP1, TP2), показало аномалии в процессе сперматогенеза и последующее ухудшение подвижности сперматозоидов и фертильности животных [9].

Более новое исследование на мышах, проведенное с помощью технологии CRISPR/CAS9, показало, что при нарушении экспрессии генов, кодирующих структуру протаминов, сперматозоиды грызунов имели ярко выраженные дефекты в строении мембраны и средней части жгутика, что также приводило к снижению подвижности и более вероятному бесплодию [10]. Выявленная связь между высокой частотой фрагментации ДНК сперматозоидов и низкой их жизнеспособностью, вероятнее всего, опосредована через процесс апоптоза и некроза, либо через активацию апоптотической эндонуклеазы [11].

На повреждение ДНК сперматозоидов также влияет процесс старения. По мере того, как мужчины становятся старше, функция яичек и метаболизм ухудшаются из-за возрастных морфологических изменений, таких как уменьшение количества клеток сперматогенеза, клеток Лейдига и Сертоли, а

также структурных изменений, включающих сужение семенных канальцев. Ранее полагалось, что в процессе старения усиливаются процессы abortивного апоптоза и нарушения конденсации хроматина. Однако последние исследования демонстрируют, что наиболее вероятным возрастным фактором, влияющим на фрагментацию ДНК, является повреждение митохондрий, которое индуцирует высвобождение большого количества активных форм кислорода из дыхательной цепи [12].

Выявленная связь между ИМТ и высоким процентом фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин является противоречивой, так как мета-анализ, проведенный в 2020 году, продемонстрировал невысокую клиническую ценность ИМТ в оценке целостности ДНК сперматозоидов [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования был обнаружен высокий процент фрагментации ДНК у мужчин с бесплодием, выявлена связь фрагментации ДНК с подвижностью сперматозоидов, их жизнеспособностью, возрастом и ИМТ пациентов. Несмотря на то, что полученные результаты в целом соответствуют общемировым данным, небольшой размер выборки, а также отсутствие оценки влияния экзогенных факторов (курение, алкоголь, токсические воздействия и т.д.) не позволяет однозначно утверждать, что клинические параметры и показатели спермограммы имеют прогностическое влияние на уровень фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин. Необходимы дальнейшие исследования на более крупных выборках с оценкой влияния большего числа параметров.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Agarwal A, Baskaran S, Parekh N, Cho CL, Henkel R, Vij S, et al. Male Infertility. *Lancet*. 2021; 97(10271): 319-333. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32667-2.
2. Majzoub A, Agarwal A, Esteves S. Insights on the predictive accuracy of the sperm DNA fragmentation tests on male infertility. *Transl Androl Urol*. 2017; 6(4): 644-646.
3. Zini A, Albert O, Robaire B. Assessing sperm chromatin and DNA damage: clinical importance and development of standards. *Andrology*. 2014; 2(3): 322-325.
4. Belloc S, Benkhalifa M, Cohen-Bacrie M, Dalleac A, Chahine H, Amar E, Zini A. Which isolated sperm abnormality is most related to sperm DNA damage in men presenting for infertility evaluation. *J Assist Reprod Genet*. 2014; 31(5): 527-532.
5. Cooper T G. WHO laboratory manual for the examinations and processing of human semen. Book WHO laboratory manual for the examinations and processing of human semen; Editor, 2010.
6. Fetishcheva LE, Zakharov IS, Ushakova GA, et al. Interstitial pregnancy – diagnostic difficulties. *Mother and Baby in Kuzbass*. 2017; 2(69): 55-58. Russian (Фетищева Л.Е., Захаров И.С., Ушакова Г.А., и др. Интерстициальная беременность – трудности диагностики //Мать и Дитя в Кузбассе. 2017. № 2(69). С. 55-58.)
7. Muratori M, Marchiani S, Tamburrino L, Baldi E. Sperm DNA Fragmentation: Mechanisms of Origin. *Adv Exp Med Biol*. 2019; 1116: 75-85.
8. Champroux A, Torres-Carreira J, Drevet JR, et al. Mammalian sperm nuclear organization: resiliencies and vulnerabilities. *Basic Clin Androl*. 2016; 26: 17.

9. Aitke JR, Koppers AJ. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian J Androl.* 2011; 36: 42.
10. Zhang Y, Unni E, Deng JM, et al. Abnormal spermatogenesis and reduced fertility in transition nuclear protein 1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci.* 2000; 97(9): 4683-4688.
11. Schneider S, Balbach M, Fietz D, et al. Re-visiting the Protamine-2 locus: deletion, but not haploinsufficiency, renders male mice infertile. *Sci Rep.* 2016; 6: 36764.
12. Samplaski M, Grober E, Lo K, et al. The relationship between sperm viability and DNA fragmentation rates. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015; 13: 42.
13. Petersen C, Mauri A, Vagnini L, et al. The effects of male age on sperm DNA damage: an evaluation of 2,178 semen samples. *JBRA Assist Reprod.* 2018; 22(4): 323-330.

КОРРЕСПОНДЕНЦИЮ АДРЕСОВАТЬ:

ТРИШКИН Алексей Геннадьевич,
650044г. Кемерово, ул. Суворова, д. За, ООО ЦОЗСР «Красная Горка».
Тел: 8 (3842) 24-03-55 E-mail: info@redclinic.ru

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ**INFORMATION ABOUT AUTHORS**

ТРИШКИН Алексей Геннадьевич, доктор мед. наук, зав. кафедрой новых репродуктивных технологий, ФГБОУ ВО КемГУ; акушер-гинеколог, репродуктолог, зав. отделением ВРТ, ООО ЦОЗСР «Красная Горка», г. Кемерово, Россия. E-mail: ale-trishkin@yandex.ru	TRISHKIN Alexey Gennadievich, doctor of medical sciences, head of the department of new reproductive technologies, Kemerovo State University; obstetrician-gynecologist, reproductologist, head of the ART department, Center for Family Health and Reproduction "Krasnaya Gorka", Kemerovo, Russia. E-mail: ale-trishkin@yandex.ru
ЛЕСНИКОВ Антон Игоревич, ассистент, кафедра новых репродуктивных технологий, ФГБОУ ВО КемГУ; биолог-эмбриолог, ООО ЦОЗСР «Красная Горка», г. Кемерово, Россия. E-mail: antonlesnikov@yandex.ru	LESNIKOV Anton Igorevich, assistant, department of new reproductive technologies, Kemerovo State University; biologist-embryologist, Center for Family Health and Reproduction "Krasnaya Gorka", Kemerovo, Russia. E-mail: antonlesnikov@yandex.ru
КУРГАНОВА Лилия Владиславовна, ассистент, кафедра новых репродуктивных технологий, ФГБОУ ВО КемГУ; биолог-эмбриолог, зав. эмбриологической лабораторией, ООО ЦОЗСР «Красная Горка», г. Кемерово, Россия. E-mail: lkurghanova@mail.ru	KURGANOVA Lilia Vladislavovna, assistant, department of new reproductive technologies, Kemerovo State University; biologist-embryologist, head of the embryological laboratory, Center for Family Health and Reproduction "Krasnaya Gorka", Kemerovo, Russia. E-mail: lkurghanova@mail.ru
ЛУГОВОЙ Константин Александрович, ассистент, кафедра новых репродуктивных технологий, ФГБОУ ВО КемГУ; врач уролог-андролог, заведующий отделением урологии, ООО ЦОЗСР «Красная Горка», г. Кемерово, Россия. E-mail: konlug@bk.ru	LUGOVOY Konstantin Alexandrovich, assistant, department of new reproductive technologies, Kemerovo State University; urologist-andrologist, head of the department of urology, Center for Family Health and Reproduction "Krasnaya Gorka", Kemerovo, Russia. E-mail: konlug@bk.ru
БУШМАКИН Алексей Дмитриевич, ассистент, кафедра новых репродуктивных технологий, ФГБОУ ВО КемГУ; врач уролог-андролог, ООО ЦОЗСР «Красная Горка», г. Кемерово, Россия. E-mail: snnchaos@gmail.com	BUSHMAKIN Alexey Dmitrievich, assistant, department of new reproductive technologies, Kemerovo State University; urologist-andrologist, Center for Family Health and Reproduction "Krasnaya Gorka", Kemerovo, Russia. E-mail: snnchaos@gmail.com
ЗУЕВА Галина Павловна, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры новых репродуктивных технологий, ФГБОУ ВО КемГУ; врач акушер гинеколог, репродуктолог, ООО ЦОЗСР «Красная Горка», г. Кемерово, Россия. E-mail: zuevagalya.doc@list.ru	ZUEVA Galina Pavlovna, candidate of medical sciences, docent, docent of the department of new reproductive technologies, Kemerovo State University; obstetrician gynecologist, reproductologist, Center for Family Health and Reproduction "Krasnaya Gorka", Kemerovo, Russia. E-mail: zuevagalya.doc@list.ru
ШМЕЛЕВ Алексей Андреевич, магистрант кафедры «Физиологии и генетики», ФГБОУ ВО КемГУ; биолог, ООО ЦОЗСР «Красная Горка». E-mail: shmeliov.lexa@yandex.ru	SHMELEV Alexey Andreevich, master's student of the department of physiology and genetics, Kemerovo State University; biologist, Center for Family Health and Reproduction "Krasnaya Gorka", Kemerovo, Russia. E-mail: shmeliov.lexa@yandex.ru
ЕЛГИНА Светлана Ивановна, доктор мед. наук, доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии им. Г.А. Ушаковой, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: elginas.i@mail.ru	YELGINA Svetlana Ivanovna, doctor of medical sciences, docent, professor of the department of obstetrics and gynecology named after G.A. Ushakova, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: elginas.i@mail.ru
МОЗЕС Вадим Гельевич, доктор мед. наук, доцент, зам. главного врача по научной деятельности, ГАУЗ ККБ им. С.В. Беляева, г. Кемерово, Россия. E-mail: vadimmoses@mail.ru	MOSES Vadim Gelevich, doctor of medical sciences, docent, deputy chief physician for scientific activity, Kuzbass Clinical Hospital named after S.V. Belyaev, Kemerovo, Russia. E-mail: vadimmoses@mail.ru
РУДАЕВА Елена Владимировна, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры акушерства и гинекологии им. Г.А. Ушаковой, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: rudaeva@mail.ru	RUDAEVA Elena Vladimirovna, candidate of medical sciences, docent, docent of the department of obstetrics and gynecology named after G.A. Ushakova, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: rudaeva@mail.ru
МОЗЕС Кира Борисовна, ассистент, кафедра поликлинической терапии и сестринского дела, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: kbsolo@mail.ru	MOSES Kira Borisovna, assistant, department of polyclinic therapy and nursing, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: kbsolo@mail.ru