

© УСЫЧЕНКО Е.Н., УСЫЧЕНКО Е.М., БАЖОРА Ю.И., 2016

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С И В

УСЫЧЕНКО Е.Н., БАЖОРА Ю.И., УСЫЧЕНКО Е.М.

Одесский национальный медицинский университет, г.Одесса, Украина

Вестник ВГМУ. – 2016. – Том 15, №3. – С. 47-52.

GENETIC PROFILES OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C AND B

USYCHENKO E.N., BAZHORA Y.I., USYCHENKO E.M.

Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Vestnik VGMU. 2016;15(3):47-52.

Резюме.

Цель – провести сравнительный анализ частоты встречаемости полиморфизмов генов IL-4(C589T), IL-10(G1082A), TNF α (G308A) у пациентов с хроническим гепатитом В (ХГВ) и с хроническим гепатитом С (ХГС), проживающих в Одесском регионе, для повышения качества диагностики на основе полученных генетических критериев.

Материал и методы. Полиморфизм генов цитокинов изучался при помощи амплификации соответствующих участков генома методом ПЦР. Структура использованных праймеров и параметры температурных циклов использованы из международной геномной базы данных.

Результаты. В этнически однородных группах жителей Одесского региона между пациентами с хроническим гепатитом В и с хроническим гепатитом С выявлены различия по частотам аллелей гена TNF α (G308A) ($p<0,05$). При сравнительном анализе аллельного полиморфизма IL-4(C589T) и IL-10(G1082A) между группами пациентов с ХГС и ХГВ не обнаружено статистически значимого различия.

Заключение. Существенные различия в полиморфизме генов TNF α (G308A) у пациентов с ХГС и ХГВ указывают на возможность индивидуализации генетического профиля при различных гепатитах. Отсутствие существенной разницы частоты генотипов IL-4(C589T) и IL-10(G1082A) может служить подтверждением важной роли этих цитокинов в иммунологическом сегменте генетического профиля пациентов.

Ключевые слова: хронический гепатит В, хронический гепатит С, полиморфизм генов цитокинов.

Abstract.

Objectives. To conduct a comparative analysis of the frequency of polymorphisms of IL-4 (C589T), IL-10 (G1082A), TNF α (G308A) in patients with chronic hepatitis B (CHB) and chronic hepatitis C (CHC), residing in Odessa region for the improvement of the diagnosis quality on the basis of the obtained genetic criteria.

Material and methods. Cytokine gene polymorphism was studied using amplification of the corresponding regions of the genome by PCR method. The structure of the primers used and the parameters of temperature cycles were employed from the international genomic data base.

Results. The differences in allele frequencies of TNF α gene (G308A) ($p<0,05$) were revealed in ethnically homogeneous groups of the inhabitants of Odessa region among patients with chronic hepatitis B and chronic hepatitis C. The comparative analysis of allelic polymorphism of IL-4 (C589T) and IL-10 (G1082A) in patients with CHC and CHB didn't show any statistically significant difference between them.

Conclusions. Significant differences in gene polymorphism of TNF α (G308A) in patients with CHC and CHB indicate the possibility of genetic profile individualization in different hepatites. Thus, the absence of significant difference in the frequency of genotypes of IL-4 (C589T) and IL-10 (G1082A) can serve as a confirmation of the important role of these cytokines in the immunological genetic profile segment of patients.

Key words: chronic hepatitis B, chronic hepatitis C, gene polymorphism of cytokines.

Вирусные гепатиты С и В продолжают оставаться важнейшей медико-социальной проблемой как во всем мире, так и в Украине. Это связано с высокой заболеваемостью, особенно среди лиц молодого возраста, тяжестью осложнений и степенью хронизации. Именно вирусы гепатитов С и В являются наиболее частыми причинами гепатоцеллюлярной карциномы [1, 2].

По данным разных авторов, в мире регистрируется 250-400 миллионов человек, хронически инфицированных вирусом гепатита В. Актуальность проблемы связана также с возможными последствиями хронических вирусных гепатитов.

В настоящее время доказано, что хроническая HCV-инфекция приводит к прогрессирующему воспалению печени, в 20-30% наблюдается прогрессирование цирроза печени с последующей декомпенсацией или формированием гепатоцеллюлярной карциномы [3, 4].

Установлено, что у пациентов с гепатитом В в 70-90% случаев развитие гепатоцеллюлярной карциномы возможно на стадиях до развития цирроза печени [5]. Показано, что у пациентов с коинфекцией (гепатит В + С) отмечается значительный рост риска развития гепатоцеллюлярной карциномы [6].

Современная стратегия лечения основана на генотипе и вирусологическом ответе в процессе лечения. При этом устойчивый вирусологический ответ наблюдается в 42-79% у пациентов с генотипом 1 и в 76-95% с генотипом 2 и 3 [4, 7, 8]. Однако возможность назначения противовирусных препаратов ограничена различными противопоказаниями, значительными побочными эффектами (анемия, тромбоцитопения, депрессия), а также высокой стоимостью.

Гетерогенность ответа на противовирусную терапию у пациентов с ХГС вызывает необходимость поиска прогностических факторов ответа на лечение [9, 10].

В последние годы проведен ряд исследований по изучению генетических факторов, определяющих характер взаимодействия возбудителя и макроорганизма, оказывающих влияние на процессы хронизации HCV – инфекции и скорость фиброгенеза. Учитывая, что цитокины являются важнейшими участниками иммунопатогенеза вирусных гепатитов, исследование функциональной значимости

полиморфизма в промоторном регионе является актуальным вопросом.

Известно, что вирус гепатита С характеризуется выраженным генетическим полиморфизмом. Установлено, что при HCV – инфекции вирус представлен набором близкородственных генетических вариантов (квазиварианты). Генетический полиморфизм вируса гепатита С в сочетании с однонуклеотидным полиморфизмом генов, очевидно, влияет не только на особенности течения, исходы ХГС и ХГВ, но и на различную скорость формирования фиброза печени [5, 8, 11, 12].

Изучение иммуногенетических факторов, определяющих подверженность к хронизации процесса при вирусном гепатите В, представляет особую важность, так как именно механизмы иммунологического реагирования определяют течение и исход заболевания.

Как отмечает В.Т. Ивашкин, хроническое повреждение гепатоцитов вирусом гепатита В является потенциально предопухольным процессом как результатом нарушения баланса между регенерацией гепатоцитов и воспалением [6].

Следует подчеркнуть, что вирус гепатита В занимает первое место среди этиологических факторов, вызывающих гепатоцеллюлярную карциному. Кроме того, имеются данные о том, что развитие гепатокарциномы у пациентов с ХГВ возможно даже на стадии хронического гепатита, до формирования цирроза печени [9].

Однако в настоящее время начальные стадии и механизмы формирования гепатоцеллюлярной карциномы, в результате которых DNA HBV способствуют прогрессированию опухоли, изучены недостаточно.

Выявлен целый ряд групп человеческих генов, для которых показана взаимосвязь между их полиморфизмом и вариантами течения ХГС. Установлена зависимость прогрессирования ХГС от аллельных вариантов генов цитокинов IL-1 β , IL-10, IL-6, TNF α , TNF β [10, 13, 14, 15].

Выбор генов – кандидатов для проведения иммуногенетических исследований определяется знаниями молекулярных механизмов заболевания, структуры гена, функции белкового продукта, получаемого в результате его транскрипции, а также его ролью в патогенезе хронических вирусных гепатитов.

Опубликованные в настоящее время результаты иммуногенетических исследований в большинстве случаев включают исследование одного или нескольких полиморфизмов в отдельности, а не комбинированный анализ связи генотипа как совокупности ряда аллелей полиморфизмов и исхода хронических гепатитов С и В.

Вероятно, именно сочетание нескольких дефектов иммунитета в связи с наличием полиморфизма одновременно в нескольких генах оказывает влияние на течение хронической вирусной инфекции.

Исследования частот генотипов и аллелей генов цитокинов у пациентов с ХГВ немногочисленны. Кроме того, не установлено, являются ли полиморфные варианты некоторых генов цитокинов общими для ХГС и ХГВ.

Цель исследования – провести сравнительный анализ частоты встречаемости полиморфизмов генов IL-4(C589T), IL-10(G1082A), TNF α (G308A) у пациентов с хроническим гепатитом В и хроническим гепатитом С, проживающих в Одесском регионе, для повышения качества диагностики на основе полученных генетических критериев.

Материал и методы

Обследован 41 пациент с ХГВ и 100 пациент с ХГС в возрасте от 18 до 62 лет, при этом средний возраст составил $40 \pm 1,05$ лет. Все обследованные пациенты находились на диспансерном наблюдении в гепатологическом центре Одесской городской клинической инфекционной больницы. Пациенты являются жителями Одесского региона, в группах исследования мужчин было 75 человек (53%), а женщин 66 (47%). Давность заболевания составила не более 10 лет.

Для подтверждения диагноза ХГВ и ХГС были исследованы: биохимические показатели (повышение активности АсАТ и АлАТ, концентрация билирубина и преобладание его прямой фракции), серологические марке-

ры (определение HBsAg, HBeAg, aHBe, HBV DNA, а также HCV-IgM, качественное и количественное определение и иРНК HCV методом ПЦР, генотипирование вируса).

Молекулярно-генетические исследования включали определение полиморфных вариантов генов IL-4(C589T), IL-10(G1082A), TNF α (G308A). Выделение ДНК проводилось при помощи набора «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь» (НПФ «Литех», РФ). Полиморфизм изучался при помощи амплификации соответствующих участков генома методом ПЦР. Структура использованных праймеров и параметры температурных циклов, описанные в литературе и геномной базе данных. Исследования проводились на базе Немецкого диагностического центра им. Св. Павла (г. Одесса) (табл. 1).

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли с помощью критерия χ^2 Пирсона. Частоты аллелей и генотипов в группах сравнивали с применением критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность при числе степеней свободы равном 1. Частота аллелей рассчитана в соответствии с законом Харди-Вайнберга.

Результаты и обсуждение

Учитывая, что иммунные механизмы играют значительную роль в патогенезе хронического вирусного гепатита, регуляция которых определяется балансом цитокинов, представляется важным оценить частоту встречаемости аллельных вариантов генов цитокинов среди здоровых лиц и пациентов с ХГ в этнически однородной группе Одесского региона. Различные механизмы действия вирусов гепатита С и В, а также особенности противовирусного ответа организма человека позволяют предположить различные варианты определенных полиморфизмов.

Распределение вариантов аллельных полиморфизмов генов цитокинов IL-4(C589T), IL-10(G1082A), TNF α (G308A) представлено в таблице 2.

Таблица 1 – Характеристики исследованных полиморфизмов

Ген	Полиморфизм	Название праймера	Нуклеотидная последовательность
IL-4	C589T	rs2243250	5'-TAAACTTGGGAGAACATGGT-3'
IL-10	G1082A	rs1800896	5'-CCT ATC CCT ACT TCC CCT-3'
TNF α	G308A	rs1800620	5'-AGG CAA TAG GTT TTG AGG GC-3'

Таблица 2 – Распределение частот генотипов у пациентов с ХГС и здоровых лиц

Генотип /аллель	Больные ХГВ (n=41)	Частота (%)	Больные ХГС (n=100)	Частота (%)	χ^2	Уровень значимости
IL-4 (C589T)						
CC	25	61	66	66	0,58	p>0,05
TC	16	39	30	30	1,1	p>0,05
TT	-	-	4	4		
IL-10 (1082G/A)						
GG	13	32	19	19	2,7	p>0,05
GA	25	60	53	53	0,7	p>0,05
AA	3	8	28	28	7,3	p<0,05
TNF α (G308A)						
GG	35	85	19	19	54,2	p<0,05
GA	6	15	77	77	47,6	p<0,05
AA	-	-	4	4		

При изучении встречаемости аллельных полиморфизмов IL-10 (G1082A), IL-4 (C589T) и TNF α (G308A) выявлены определенные различия в исследуемых группах пациентов с ХГС и ХГВ.

При изучении полиморфного участка IL-4 (C589T) выявлено преобладание гомозиготного варианта CC (норма) как в группе пациентов с гепатитом В, так и в группе пациентов с гепатитом С, что составило 61% и 66% соответственно. Практически в равной степени выявлен гетерозиготный вариант генотипа TC: 39% у пациентов с ХГВ и 30% у пациентов с ХГС. Однако в исследуемой группе пациентов с хроническим гепатитом В гомозиготный вариант TT (мутация) выявлен не был, а частота его выявления в группе пациентов с ХГС была невысокой – 4%. Статистически достоверная разница показателей не выявлена.

Частота аллели С составила в группе пациентов с ХГС 0,81, а в группе пациентов с ХГВ – 0,50. Частота аллели Т составила 0,19 и 0,50 соответственно.

При изучении полиморфного участка IL-10 (1082G/A) выявлено некоторое преобладание гомозиготного варианта GG (норма) в группе пациентов с гепатитом В (32%) в сравнении с группой пациентов с гепатитом С (19%). Практически в равной степени выявлен гетерозиготный вариант генотипа GA: 60% у пациентов с ХГВ и 53% у пациентов с ХГС. В исследуемой группе пациентов с хроническим гепатитом С гомозиготный вариант AA (мутация) выявлялся значительно чаще (28%), чем в

группе пациентов с ХГВ (8%). Статистически достоверная разница показателей не выявлена.

Частота аллели G составила в группе пациентов с ХГС 0,46, а в группе пациентов с ХГВ – 0,51. Частота аллели А составила 0,54 и 0,49 соответственно.

Наиболее выраженные отличия в исследуемых группах обнаружены при изучении аллельного полиморфизма TNF α (G308A). У пациентов с ХГВ преобладал гомозиготный вариант GG (норма) – 85%, а у пациентов с ХГС этот генотип обнаружен только у 19% пациентов. Гетерозиготный вариант GA преобладал у пациентов с ХГС (77%), у пациентов с ХГВ он наблюдался только у 15% пациентов. У небольшого количества пациентов с ХГС (4%) встречался гомозиготный вариант AA (мутация), который не был обнаружен у пациентов с ХГВ. Разница указанных показателей статистически достоверна.

Частота аллели G составила в группе пациентов с ХГС 0,58 а в группе пациентов с ХГВ – 0,93. Частота аллели А составила 0,42 и 0,07 соответственно.

Заключение

1. Не обнаружено статистически достоверной разницы при анализе аллельного полиморфизма IL-4(C589T) у пациентов с ХГС и с ХГВ, что может служить подтверждением важности именно этой составляющей генетического профиля пациентов.

2. Обнаружены некоторые различия в исследуемых группах пациентов при изучении аллельного полиморфизма IL-10(G1082A), однако разница статистически недостоверна.

3. Выявленные различия по частотам аллелей гена TNF α (G308A) в этнически однородной группе жителей Одесского региона между пациентами с хроническим гепатитом В и с хроническим гепатитом С указывают на возможность индивидуализации генетического профиля при различных гепатитах.

Литература

1. Кучерявый, Ю. А. Хронический гепатит, цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома – звенья одной цепи / Ю. А. Кучерявый, Н. Ю. Стукова, М. Л. Ахтаева // *Клин. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии.* – 2012. – № 5. – С. 3–11.
2. Бакулин, И. Г. Лечение больных с циррозом печени HBV-этиологии: успехи, нерешенные вопросы / И. Г. Бакулин, Т. Ю. Хайменова, И. О. Сидорова // *Терапевт. арх.* – 2013. – Т. 85, № 12. – С. 114–118.
3. Hepatitis B and C virus infection among 1.2 million persons with access to care: factors associated with testing and infection prevalence / P. R. Spradling [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2012 Oct. – Vol. 55, N 8. – P. 1047–1055.
4. Федорченко, С. В. Хроническая HCV-инфекция / С. В. Федорченко. – Киев : Медицина, 2010. – 272 с.
5. Полиморфизм генов-модификаторов иммунного ответа при заболеваниях печени различной этиологии / И. А. Гончарова [и др.] // *Мед. генетика.* – 2010. – № 12. – С. 20–24.
6. Ивашкин, В. Т. Иммунная система и повреждения печени при хроническом гепатитах В и С / В. Т. Ивашкин // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2009. – Т. 19, № 6. – С. 4–10.
7. Изменчивость генома HCV у больных вирусным гепатитом С в острую и хроническую фазы инфекции / Н. Д. Ющук [и др.] // *Терапевт. арх.* – 2009. – № 4. – С. 47–55.
8. Анализ влияния генетических факторов вируса гепатита С и полиморфизма генов инфицированных людей на развитие фиброза печени / Л. И. Николаева [и др.] // *Эпидемиология и инфекц. болезни.* – 2012. – № 5. – С. 7–13.
9. Павлов, Ч. С. Как оценить и уменьшить риск фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с хронической инфекцией вирусами гепатитов В и С / Ч. С. Павлов, В. Т. Ивашкин // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2007. – Т. 17, № 5. – С. 16–23.
10. Иммуногенетические предикторы быстрого вирусологического ответа на противовирусную терапию больных хроническим гепатитом С / Н. Д. Ющук [и др.] // *Терапевт. арх.* – 2012. – Т. 84, № 11. – С. 11–17.
11. Genome-wide association study identifies variants associated with progression of liver fibrosis from HCV infection / E. Patin [et al.] // *Gastroenterology.* – 2012 Nov. – Vol. 143, N 5. – P. 1244–1252.
12. Wynn, T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / T. A. Wynn // *J. Pathol.* – 2008 Jan. – Vol. 214, N 2. – P. 199–210.
13. Tumor necrosis factor-alpha promoter gene polymorphism affects the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B / Danbi Lee [et al.] // *J. Hepatol.* – 2010 Apr. – Vol. 52. – P. S223–S224.
14. Analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and hepatitis C susceptibility in Pakistan / M. S. Afzal [et al.] // *J. Infect. Dev. Ctries.* – 2011 Jul. – Vol. 5, N 6. – P. 473–479.
15. Мороз, Л. В. Іміногенетичний профіль у хворих на хронічний гепатит С / Л. В. Мороз, І. В. Яцик // *Гепатологія.* – 2011. – № 2. – С. 28–33.

Поступила 16.03.2016 г.

Принята в печать 16.06.2016 г.

References

1. Kucheryavyu YuA, Stukova NYu, Akhtaeva ML. Khronicheskii gepatit, tsirroz pecheni i gepatotselliuliarnaia kartsinoma – zven'ia odnoi tsepi [Chronic hepatitis, cirrhosis and a hepatocellular carcinoma – links of one chain]. *Klin Perspektivy Gastroenterologii Gepatologii.* 2012;(5):3-11.
2. Bakulin IG, Khaymenova TYu, Sidorova IO. Lechenie bol'nykh s tsirrozom pecheni HBV-etiologii: uspekhi, nereshennyye voprosy [Treatment of patients with HBV etiology cirrhosis: progress, unresolved questions]. *Tерапевт Арх.* 2013;85(12):114-8.
3. Spradling PR, Rupp L, Moorman AC, Lu M, Teshale EH, Gordon SC et al. Hepatitis B and C virus infection among 1.2 million persons with access to care: factors associated with testing and infection prevalence. *Clin Infect Dis.* 2012 Oct;55(8):1047-55.
4. Fedorchenko SV. Khronicheskaiia HCV-infektsiia [Chronic HCV infection]. Kiev, Ukraine: Meditsina; 2010. 272 p.
5. Goncharova IA, Kh Gamal Abd El-Aziz Nasr, Beloborodova EV, Ozhegova DS, Stepanov VA, Puzyrev VP. Polimorfizm genov-modifikatorov immunnogo otveta pri zabolevaniiah pecheni razlichnoi etiologii [A polymorphism of genes modifiers of an immune response at diseases of a liver of various etiology]. *Med Genetika.* 2010;(1):20-4.
6. Ivashkin VT. Immunnaia sistema i povrezhdeniia pecheni pri khronicheskim gepatitakh V i S [Immune system and injuries of a liver at chronic hepatitises B and C]. *Ros Zhurn Gastroenterologii Gepatologii Koloproktologii.* 2009;19(6):4-10.
7. Yushchuk ND, Malyshev NA, Yashina TL, Klimova EA, Gadzhikulieva MM, Ilina EN i dr. Izmenchivost' genoma HCV u bol'nykh virusnym gepatitom S v

- ostruiu i khronicheskuiu fazy infektsii [Variability of a genome of HCV at patients with a viral hepatitis With in]. *Terapevt Arkh.* 2009;(4):47-5.
8. Nikolaeva LI, Kolotvin AV, Samokhodskaya LM, Sapronov GV, Makashova VV, Samokhvalov EI i dr. Analiz vliianiia geneticheskikh faktorov virusa gepatita S i polimorfizma genov infitsirovannykh liudei na razvitie fibroza pecheni [The analysis of influence of genetic factors of a virus of hepatitis C and a polymorphism of genes of the infected people on development of a fibrosis of a liver]. *Epidemiologiia i Infektsionnye Bolezni.* 2012;(5):7-13.
 9. Pavlov ChS, Ivashkin VT. Kak otsenit' i umen'shit' risk fibroza, tsirroza i gepatotselliuliarnoi kartsinomy u patsientov s khronicheskoi infektsiei virusami gepatitov V i S [How to estimate and reduce risk of a fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma at patients with a chronic infection viruses of hepatitis B and C]. *Ros Zhurn Gastroenterologii i Hepatologii Koloproktologii.* 2007;17(5):16-23.
 10. Yushchuk ND, Znoyko OO, Balmasova IP, Fedoseeva NV, Shmeleva EV, Dudina KR i dr. Immunogeneticheskie prediktory bystrogo virusologicheskogo otveta na protivovirusnuu terapiu bol'nykh khronicheskim gepatitom S [Immunogenetic predictors of the prompt virologic reply to antiviral therapy of patients with chronic hepatitis C]. *Terapevt Arkh.* 2012;84(11):11-7.
 11. Patin E, Kutalik Z, Guernon J, Bibert S, Nalpas B, Jouanguy E et al. Genome-wide association study identifies variants associated with progression of liver fibrosis from HCV infection. *Gastroenterology.* 2012 Nov;143(5):1244-52.
 12. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol.* 2008 Jan;214(2):199-210.
 13. Danbi Lee Y-H, Chung JA, Kim SE, Kim J-K, Choi D-J, Yoo Y-J et al. Tumor necrosis factor-alpha promoter gene polymorphism affects the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2010 Apr;52:S223-S4.
 14. Afzal MS, Tahir S, Salman A, Baig TA, Shafi T, Zaidi NU et al. Analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and hepatitis C susceptibility in Pakistan. *J Infect Dev Ctries.* 2011 Jul;5(6):473-9.
 15. Moroz LV, Yatsik IV. Iminogenetichnii profil' u khvorikh na khronichnii gepatit S [Immunogenetic profile at patients with chronic hepatitis C]. *Gepatologiia.* 2011;(2):28-33.

Submitted 16.03.2016

Accepted 16.06.2016

Сведения об авторах:

Усыченко Е.Н. – к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней Одесского национального медицинского университета, Украина;

Бажора Ю.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии, генетики и медицинской биологии Одесского национального медицинского университета, Украина;

Усыченко Е.М. – к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней Одесского национального медицинского университета, Украина.

Information about authors:

Usychenko E.N. - Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Infectious Diseases of Odessa National Medical University, Ukraine;

Bazhora Y.I. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Clinical Immunology, Genetics & Medical Biology of Odessa National Medical University, Ukraine;

Usychenko E.M. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Infectious Diseases of Odessa National Medical University, Ukraine.

Адрес для корреспонденции: Украина, 65062, г.Одесса, ул. Фонтанская дорога, д. 67А, кв. 160. E-mail: usychenko2006@mail.ru – Усыченко Екатерина Николаевна.

Correspondence address: Ukraine, 65062, Odessa, 67A Fontanskaya doroga str.,160. E-mail: usychenko2006@mail.ru – Usychenko E.N.