

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2023.5.61>

Обнаружение ДНК Torque teno вируса в слезной жидкости у пациентов с катарактой и сопутствующей офтальмопатологией

А.А. Марченко, В.М. Семенов, С.К. Егоров, Т.И. Дмитраченко, И.А. Лятос

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2023. – Том 22, №5. – С. 61-66.

The detection of Torque teno virus DNA in the lacrimal fluid of patients with cataract and concomitant ophthalmopathy

A.A. Marchenko, V.M. Semenov, S.K. Egorov, T.I. Dmitrachenko, I.A. Lyatos

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2023;22(5):61-66.

Резюме.

Торк тено вирус (Torque teno вирус, ТТ-вирус, ТТВ) часто обнаруживается в различных тканях организма и широко распространен в популяции. В настоящее время, на основании свидетельств пожизненной персистенции ТТВ и разнообразного взаимодействия с организмом человека, включая клетки иммунной системы, изучается роль данного вируса в составе человеческого вирома. Накапливаются данные, демонстрирующие нахождение ТТВ в тканях глаза у пациентов с различной глазной патологией, что указывает на связь между ТТ-вирусом и заболеваниями глаз. Ввиду этого определение частоты персистенции ТТВ в тканях и жидкостях глаза представляет интерес.

Цель исследования – определение частоты встречаемости Torque teno virus в слезной жидкости у пациентов с катарактой. В исследование было включено 60 пациентов (33 мужчины и 27 женщин), у которых забирались образцы стимулированной слезной жидкости из конъюнктивальной полости. Обнаружение ДНК ТТВ осуществлялось при помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

ДНК ТТВ была обнаружена в 23 из 60 образцов (38,5%) слезной жидкости.

Частое обнаружение ТТВ в слезной жидкости подтверждает его роль в составе вирома глаза и формирует гипотезу о том, что слеза может являться путем передачи ТТ-инфекции. Также это может свидетельствовать о том, что присутствие ТТВ в водянистой влаге и стекловидном теле может быть фактором риска развития различных заболеваний глаз. Полученные результаты рожают интерес к дальнейшему проведению исследований в данном направлении.

Ключевые слова: ТТВ, катаракта, слезная жидкость, полимеразная цепная реакция, виром.

Abstract.

Torque teno virus (TT-virus, TTV) is often found in various tissues of the human body. This virus is widely spread in the population. The role of this virus in the human virome is currently being studied, due to the evidence of lifelong persistence of TTV and a variety of interactions with the human body, including immune cells. Various studies demonstrate the presence of TTV in the eye tissues of patients with different ocular pathologies, which indicates an association between TT virus and eye diseases. Therefore, the determination of the frequency of TTV persistence in the tissues and fluids of the eye is of interest.

The aim of the study was to determine the frequency of Torque teno virus occurrence in the lacrimal fluid in patients with cataract. The study included 60 patients (33 men and 27 women). The samples of stimulated tear fluid were taken from the conjunctival cavity. The detection of TTV DNA was carried out using real-time polymerase chain reaction.

TTV DNA was detected in 23 out of 60 (38.5%) tear fluid samples. The frequent detection of TTV in the tear fluid confirms its role in the ocular virome and formulates the hypothesis that the tear may be a route of transmission of TT infection. It may also indicate that the presence of TTV in the aqueous humor and vitreous body may be a risk factor for the development of various eye diseases. These results give rise to interest in further research in this direction.

Keywords: TTV, cataract, lacrimal fluid, polymerase chain reaction, virome.

Введение

Torque teno virus был впервые обнаружен и описан в Японии в 1997 году у мужчины с острым гепатитом неизвестной этиологии после гемотрансфузии. TTV относится к роду *Circoviridae*, семейству *Anelloviridae* и представляет собой безоболочечный одноцепочечный вирус размером от 30 до 50 нм с кольцевидной ДНК с отрицательной полярностью. Геном TTV обладает широким разнообразием нуклеотидной последовательности. Основываясь на этом, выделяют 5 генотипов (G1–G5) и более 30 субтипов TTV [1].

Открытие TTV и его подтипов и последующее частое их обнаружение в организме человека породило большой интерес в медицинской литературе. Широкое распространение, стойкая пожизненная персистенция TTV, взаимодействие с различными типами клеток макроорганизма при отсутствии прямых доказательств причинной роли данного вируса в патологии могут служить свидетельством комменсальных отношений вируса с инфицированным хозяином, при этом предполагается, что сам вирус является частью человеческого виroma – вирусного сообщества, которое колонизирует ткани и клетки организма человека. TTV реплицируется в моонуклеарах, клетках печени, костного мозга и периферической крови, а также в Т-лимфоцитах. За исключением тромбоцитов и эритроцитов, ТТ вирус обнаруживается практически во всех тканях, клетках и биологических жидкостях организма [2]. Опубликованы данные об обнаружении вируса в поте, слюнной жидкости, желчи, кале, моче, сперме, назальном и вагинальном секретах, спинномозговой жидкости у различных групп пациентов [3].

Как правило, человек заражается TTV непарентеральным путем, это определяет частую встречаемость анелловирусов у здорового населения старшего возраста. Наличие высокого титра ДНК TTV в кале, слюнной жидкости и желчи у обследованных лиц с ТТ-виремией показывает возможность инфицирования через желудочно-кишечный тракт. Кроме того, получены экспериментальные доказательства фекально-орального пути передачи вируса в исследованиях на животных [1]. Поскольку вирус демонстрирует высокую гепатотропность, парентеральный путь также является частым способом передачи TTV. Инфицирование возможно при инъекциях, гемодиализе, гемотрансфузии, трансплантациях. На-

личие в крови и ее продуктах TTV способствует высокой распространенности данной инфекции [3]. Обнаружение ДНК TTV в вагинальном секрете, семенной жидкости подтверждает возможность полового пути передачи TTV. Среди людей, находящихся в группе риска половой передачи вируса, показатели распространенности ТТ вируса не отличаются от общей популяции, в связи с чем предполагается, что половой путь передачи играет незначительную роль в распространении TTV [4]. Кроме вышеперечисленных, возможен вертикальный путь передачи ТТ вируса от беременной матери ребенку. Наконец, описана возможность постнатального пути передачи инфекции. Так, 99% детей, рожденных от инфицированных матерей, у которых была определена ДНК TTV в грудном молоке, также оказались инфицированы в последующем [1].

TTV часто обнаруживают у пациентов с различными вирусными гепатитами, гепатитами без явного вирусного агента, а также среди здорового населения [1]. Накапливается все больше доказательств, что анелловирусы участвуют в иммунном балансе и способствуют взаимодействию иммунных факторов, которые, в свою очередь, влияют на репликацию TTV [5]. Кроме того, опубликованы сообщения об ассоциации ТТ вируса с рядом системных заболеваний, в том числе рассеянным склерозом, ревматическими заболеваниями, системной красной волчанкой, онкологией и бронхиальной астмой [2].

Для диагностирования ТТ-инфекции можно использовать соскобы слизистой носоглотки, биоптаты лимфоузлов, селезенки, печени, поджелудочной железы, легких, щитовидной железы и костного мозга. С целью обнаружения в научной и клинической практике наибольшее внимание заслуживает метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющий обнаруживать генетический материал вируса в различных клинических образцах [1]. Легкодоступной для исследования биологической средой, максимально приближенной к глазной поверхности, является слезная жидкость. Слеза участвует в метаболических процессах глазного яблока, орбиты [7]. Кроме того, имеется множество примеров исследования слезы с целью обнаружения различных возбудителей. В опубликованных ранее данных описано успешное обнаружение различных возбудителей в слезе [8, 9].

Недавние исследования демонстрируют наличие резидентного виroma конъюнктивы, который

наравне с нормальным микробиомом конъюнктивы может участвовать в развитии воспалительных и дегенеративных заболеваний глаз [5]. Также появляются данные, свидетельствующие о наличии анелловирусов во внутриглазной жидкости, слезе и стекловидном теле у пациентов с различными глазными заболеваниями, что указывает на новую связь между этими вирусами и заболеваниями глаз [3, 5, 6]. Ввиду этого поиск возможной взаимосвязи между обнаружением TTV в слезной жидкости и разнообразной офтальмопатологией представляет собой научный интерес.

Целью данной работы явилось определить частоту встречаемости TTV в слезной жидкости у пациентов с катарактой и различной сопутствующей глазной патологией.

Материал и методы

В исследование было включено 60 пациентов – 33 мужчины и 27 женщин, у которых из конъюнктивальной полости забирались образцы стимулированной слезной жидкости. У всех пациентов была диагностирована катаракта. Перед включением в исследование все участники давали информированное согласие на участие.

Забор слезной жидкости проводился при помощи одноразовой аспирационной микроканюли по Симко, присоединенной к шприцу объемом 2,0 мл, которая погружалась в нижний свод конъюнктивального мешка глаза для дополнительной стимуляции слезоотделения рефлекторного характера [10]. После сбора достаточного количества слезной жидкости (0,1-0,2 мл) она помещалась в эппендорфы, замораживалась и хранилась при температуре -70°C .

Клиническая часть работы выполнялась на базе учреждения здравоохранения «Витебская областная клиническая больница». Лабораторная часть работы выполнялась на базе молекулярно-генетической лаборатории кафедры инфекционных болезней с курсом ФПК и ПК учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет».

Выделение нуклеиновых кислот из биологических образцов проводилось колоночным методом. Реакция амплификации для обнаружения ДНК TTV в образцах слезной жидкости проводилась разработанным нами способом. Амплификацию проводили на платформе Real-Time PCR Detection System CFX96, Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories, Inc) со следующим профилем отжи-

га: 50°C в течение 2 минут для инкубации, 95°C в течение 10 минут и затем 40 циклов 95°C в течение 15 секунд, 60°C в течение 1 минуты. Для контроля протекания реакции амплификации и этапа выделения ДНК использовались контрольные образцы положительного, внутреннего и отрицательного контролей.

Получение и обработка данных выполнялись в соответствии с рекомендациями производителя оборудования и тест-систем для обнаружения ДНК TTV с использованием программного пакета Bio-Rad CFX Maestro.

Статистическая обработка результатов исследования была выполнена при использовании пакета прикладных программ Excel (Microsoft), STATISTICA 10.0 (StatSoft). В анализе применялись методы дескриптивной, непараметрической статистики.

Результаты

Результаты ПЦР представлены на рисунке.

ДНК TTV была обнаружена в 23 из 60 образцов (38,5%) слезной жидкости. Средний возраст пациентов составил 69,7 года. Тридцать восемь пациентов (96,7%) имели сопутствующие системные заболевания. Наиболее частым системным заболеванием была артериальная гипертензия у 41 пациента (68,3%).

Что касается сопутствующей глазной патологии, у 10 (16,7%) из 60 пациентов присутствовал диагноз «глаукома», слезная жидкость 3 (30%) из них оказалась положительной на TTV. Синдром сухого глаза встречался у 10 (16,7%) пациентов, 4 (40%) из которых были положительны на ТТ-вирус. Диабетическая ретинопатия встречалась у 2 (3,3%) пациентов, у 1 (50%) из которых был выявлен TTV. Макулярная дегенерация имела у 3 (5%) пациентов, у 2 (66,7%) из которых была обнаружена ДНК TTV. Неосложненная катаракта встречалась у 35 (58,3%) пациентов у 13 (37,4%) из них результат слезной жидкости был положительный на ТТ-вирус. Данные приведены в таблице.

При анализе сопутствующих катаракте глазных заболеваний можно отметить, что наиболее часто вирус ТТ выявлялся у пациентов с глаукомой, а также диагнозом: синдром сухого глаза.

Обсуждение

В процессе изучения TTV произошла существенная эволюция мнения о значении вируса в

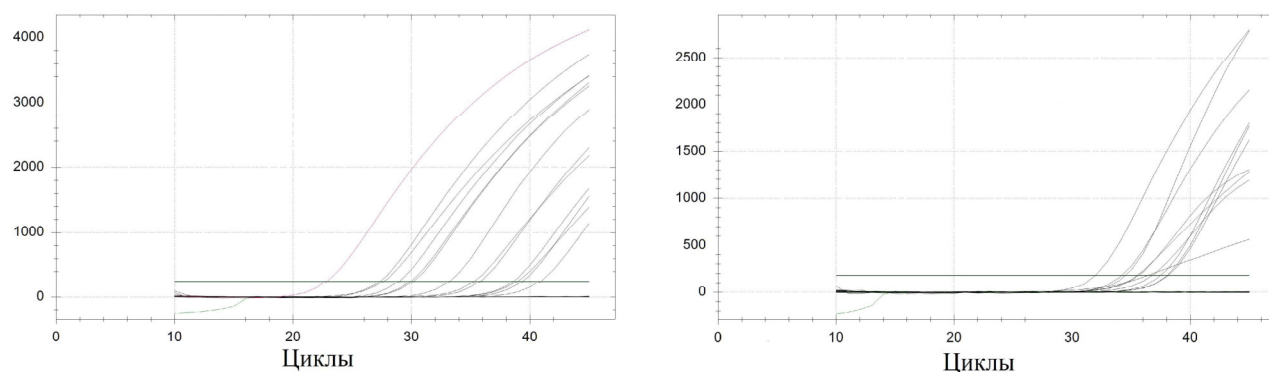


Рисунок – График амплификации в ходе ПЦР

Таблица – Частота встречаемости ТТ-вируса в слезной жидкости у пациентов с катарактой и сопутствующей глазной патологией

Сопутствующая глазная патология	Количество пациентов у которых встречался данный диагноз (N=60)	% встречаемости данной нозологии среди общего числа пациентов (N=60)	ДНК ТТВ (+) (N=23)	% положительного результата на обнаружение ТТВ среди данной патологии
Открытоугольная глаукома	10	16,7	3	30
Синдром сухого глаза	10	16,7	4	40
Диабетическая ретинопатия	2	3,3	1	50
Возрастная макулодистрофия	3	5	2	66,7
Неосложненная катаракта	35	58,3	13	37,4

развитии патологических процессов у человека. Представления о преимущественной гепатотропности вируса сменились данными, которые демонстрируют бессимптомную персистенцию ТТ-вируса в различных жидкостях и тканях тела человека как части человеческого виroma. Кроме этого, в последнее время исследователи предлагают определять уровень ДНК ТТВ в крови пациентов для использования его как эндогенного маркера иммунного статуса организма [1].

С момента открытия ТТВ было проведено множество исследований, направленных на выявление его эпидемиологических, клинических и патогенных свойств. Возможная связь вируса с различными клиническими состояниями может помочь понять его патогенез. Текущее исследование показало наличие ДНК ТТВ в слезной жидкости пациентов с катарактой в 38,5% случаев. Такая частота встречаемости может рассматриваться как повод для включения его в состав нормального виroma конъюнктивы [11], что подтверждается и в других исследованиях. Например, в исследовании Sinan Emre ДНК ТТВ была обнаружена в 66,6% случаев в слезной жидкости у пациентов с катарактой [3].

Характеристика нормального микробиома и виroma глазной поверхности, особенно бульбарной и пальпебральной конъюнктивы, важна для понимания этиологии глазных инфекций (например, язвы роговицы, кератиты, увеиты и послеоперационный эндофтальмит) и дегенеративных заболеваний глазной поверхности (синдром сухого глаза, сосочковый конъюнктивит, блефарит) [11, 12].

Недавние исследования также предполагают роль глазного и внеглазного микробиома при глаукоме, увеите, а также заболеваниях сетчатки, включая возрастную макулодистрофию и диабетическую ретинопатию [12]. Роль, если таковая имеется, нормального микробиома и виroma глаза в этих заболеваниях еще не изучена, но представляет интерес.

Кроме исследования слезной жидкости, приводились результаты исследования на наличие ДНК ТТ-вируса в водянистой влаге и стекловидном теле. Так, в ранее упомянутом исследовании Sinan Emre ДНК ТТВ был обнаружен в 12,5% случаев в водянистой влаге у пациентов с возрастной катарактой [3]. Обнаружение анелловиральной ДНК в 68,9% случаев в стекловидном

теле у пациентов с эндофтальмитом было продемонстрировано в исследовании Poornam Naik [5]. Среди пациентов с инфекционным увеитом в Непале при исследовании стекловидного тела вирус был обнаружен в 5 из 29 (17%) случаев, с инфекционным эндофтальмитом в 10 из 21 (47%) случая и у детей с острым гиперреактивным увеитом ДНК ТТV была выявлена в 91% (29 из 32) случаев [6]. Поскольку анелловирусные инфекции вызывают хроническую вирусемию плазмы у большинства инфицированных лиц, выявление ТТ-вируса в образцах стекловидного тела и внутриглазной жидкости может быть результатом пассивного проникновения ТТV из крови в полость стекловидного тела из-за нарушения гематоэнцефалического барьера и, возможно, участвовать таким образом в развитии глазной патологии [6].

Заключение

Частое обнаружение ТТV в слезной жидкости подтверждает его роль в составе виroma глаза и формирует гипотезу о том, что слеза может быть путем передачи ТТ-инфекции. Также это может свидетельствовать о том, что присутствие ТТV в слезе, водянистой влаге и стекловидном теле может быть одной из причин развития различных заболеваний глаз. Полученные результаты рожают интерес к будущим исследованиям в данном направлении, в частности, попытка количественного обнаружения ДНК ТТV в слезной жидкости и анализ влияния уровня вирусной нагрузки на клинические исходы офтальмологической патологии.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Установить уровни ДНК ТТV, отражающие напряженность клеточного иммунного ответа при бактериемии, обусловленной Klebsiella Pneumoniae, Acinetobacter Baumannii, Pseudomonas aeruginosa», № госрегистрации 20220336.

The research was carried out within the frames of the State Research Program (GPN) "To detect the levels of TTV DNA, reflecting the intensity of cellular immune response in bacteremia caused by Klebsiella Pneumoniae, Acinetobacter Baumannii, Pseudomonas aeruginosa", State Registration No. 20220336.

Литература

1. Современные представления о роли torquetenovirus (TTV) при заболеваниях печени / И. В. Маев [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020. Т. 30, № 4. С. 7–22.
2. Torquetenovirus: the human virome from bench to bedside / D. Focosi [et. al.] // Clin. Microbiol. Infect. 2016 Jul. Vol. 22, N 7. P. 589–593.
3. Transfusion-transmitted virus DNA in serum, tear and aqueous humour of patients undergoing cataract operation / S. Emre [et al.] // Clin. Exp. Ophthalmol. 2007 Nov. Vol. 35, N 8. P. 759–762.
4. TT virus: a study of molecular epidemiology and transmission of genotypes 1, 2 and 3 / P. Gallian [et al.] // J. Clin. Virol. 2000 Jun. Vol. 17, N 1. P. 43–49.
5. Naik, P. Detection of Torque Teno Virus (TTV) and TTV-Like Minivirus in patients with presumed infectious endophthalmitis in India / P. Naik, V. P. Dave, J. Joseph // PloS One. 2020 Jan. Vol. 15, N 1. Art. e0227121.
6. High Prevalence of Anelloviruses in Vitreous Fluid of Children With Seasonal Hyperacute Panuveitis / S. L. Smits [et al.] // J. Infect. Dis. 2012 Jun. Vol. 205, N 12. P. 1877–1884.
7. Мошетева, Л. К. Современное представление о слезной жидкости, значение её в диагностике / Л. К. Мошетева, О. А. Волков // Клини. офтальмология. 2004. Т. 5, № 4. С. 138.
8. Establishment of multiplex solidphase strip PCR test for detection of 24 ocular infectious disease pathogens / S. Nakano [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2017 Mar. Vol. 58, N 3. P. 1553–1559.
9. Comparative Analysis of Polymerase Chain Reaction Assay for Herpes Simplex Virus 1 Detection in Tear / S. Y. Lee [et al.] // Korean J. Ophthalmol. 2013 Oct. Vol. 27, N 5. P. 316–321.
10. Tear fluid collection methods: Review of current techniques / J. Pieczyński [et. al.] // Eur. J. Ophthalmol. 2021 Sep. Vol. 31, N 5. P. 2245–2251.
11. Elevated levels of Merkel cell polyoma virus in the anophthalmic conjunctiva / N. Siegal [et al.] // Scientific Rep. 2021. Vol. 11. Art. 15366.
12. Ozkan, J. The Ocular Microbiome: Molecular characterization of a unique and low microbial environment / J. Ozkan, M. D. Willcox // Curr. Eye Res. 2019 Jul. Vol. 44, N 7. P. 685–694.

Поступила 18.07.2023 г.

Принята в печать 17.10.2023 г.

References

1. Maev IV, Karlovich TI, Burmistrov AI, Chekmazov IA, Andreev DN, Reshetnyak VI. Current understanding of the role of torquetenovirus (TTV) in liver disease. Ros Zhurn Gastroenterologii Gepatologii Koloproktologii. 2020;30(4):7-22. (In Russ.)

2. Focosi D, Antonelli G, Pistello M, Maggi F. Torquetenovirus: the human virome from bench to bedside. Clin Microbiol Infect. 2016 Jul;22(7):589-93. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.007
3. Emre S, Otlu B, Cankaya C, Doganay S, Durmaz R. Transfusion-transmitted virus DNA in serum, tear and aqueous humour of patients undergoing cataract operation. Clin Exp Ophthalmol. 2007 Nov;35(8):759-62. doi: 10.1111/j.1442-

- 9071.2007.01575.x
4. Gallian P, Biagini P, Zhong S, Touinssi M, Yeo W, Cantaloube JF, et al. TT virus: a study of molecular epidemiology and transmission of genotypes 1, 2 and 3. *J Clin Virol.* 2000 Jun;17(1):43-9. doi: 10.1016/s1386-6532(00)00066-4
 5. Naik P, Dave VP, Joseph J. Detection of Torque Teno Virus (TTV) and TTV-Like Minivirusin patients with presumed infectious endophthalmitis in India. *PLoS One.* 2020 Jan;15(1):e0227121. doi: 10.1371/journal.pone.0227121
 6. Smits SL, Manandhar A, van Loenen FB, van Leeuwen M, Baarsma GS, Dorrestijn N, et al. High Prevalence of Anelloviruses in Vitreous Fluid of Children With Seasonal Hyperacute Panuveitis. *J Infect Dis.* 2012 Jun;205(12):1877-84. doi: 10.1093/infdis/jis284
 7. Moshetova LK, Volkov OA. Current understanding of lacrimal fluid, its importance in diagnosis. *Klin Oftal'mologiya.* 2004;5(4):138. (In Russ.)
 8. Nakano S, Sugita S, Tomaru Y, Hono A, Nakamuro T, Kubota T, et al. Establishment of multiplex solidphase strip PCR test for detection of 24 ocular infectious disease pathogens. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017 Mar;58(3):1553-9. doi: 10.1167/iops.16-20556
 9. Lee SY, Kim MJ, Kim MK, Wee WR. Comparative Analysis of Polymerase Chain Reaction Assay for Herpes Simplex Virus 1 Detection in Tear. *Korean J Ophthalmol.* 2013 Oct;27(5):316-21. doi: 10.3341/kjo.2013.27.5.316
 10. Pieczyński J, Szulc U, Harazna J, Szulc A, Kiewisz J. Tear fluid collection methods: Review of current techniques. *Eur J Ophthalmol.* 2021 Sep;31(5):2245-51. doi: 10.1177/1120672121998922
 11. Siegal N, Gutowski M, Akileswaran L, Beauchamp NJ, Ding LC, Chambers CB, et al. Elevated levels of Merkel cell polyoma virus in the anophthalmic conjunctiva. *Scientific Rep.* 2021;11:15366.
 12. Ozkan J, Willcox MD. The Ocular Microbiome: Molecular characterization of a unique and low microbial environment. *Curr Eye Res.* 2019 Jul;44(7):685-94. doi: 10.1080/02713683.2019.1570526

Submitted 18.07.2023

Accepted 17.10.2023

Сведения об авторах:

А.А. Марченко – ассистент кафедры офтальмологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

e-mail: arina.oladko@gmail.com – Марченко Арина Анатольевна;

В.М. Семенов – д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Егоров Сергей Константинович – к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Т.И. Дмитраченко – д.м.н., профессор, декан факультета повышения квалификации и переподготовки кадров, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

И.А. Лятос – к.м.н., доцент, начальник кафедры военной подготовки и экстремальной медицины, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

A.A. Marchenko – lecturer of the Chair of Ophthalmology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, e-mail: arina.oladko@gmail.com – Arina A. Marchenko;

V.M. Semenov – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Infectious Diseases with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

S.K. Egorov – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Infectious Diseases with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

T.I. Dmitrachenko – Doctor of Medical Sciences, professor, dean of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

I.A. Lyatos – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Military Training & Emergency Medicine, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.