

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.9

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13107>

ISSN – 2073-8137

## ПРЕСЕПСИН – НОВЫЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР В ДИАГНОСТИКЕ И КОНТРОЛЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ СЕПСИСА

В. Г. Кукес<sup>1,2</sup>, В. Ф. Маринин<sup>1</sup>, Ю. В. Олефир<sup>2</sup>, Е. В. Ших<sup>1</sup>, А. Б. Прокофьев<sup>1,2</sup>,  
Д. О. Грапов<sup>1</sup>, Д. А. Вердиева<sup>1</sup>, Н. А. Румянцев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия

<sup>2</sup> Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия

## PRESEPSIN – A NEW BIOLOGICAL MARKER FOR SEPSIS DIAGNOSING AND MONITORING THE EFFECT OF TREATMENT

Kukes V. G.<sup>1,2</sup>, Marinin V. F.<sup>1</sup>, Olefir Yu. V.<sup>2</sup>, Shih E. V.<sup>1</sup>, Prokofiev A. B.<sup>1,2</sup>,  
Grapov D. O.<sup>1</sup>, Verdieva D. A.<sup>1</sup>, Rumyantsev N. A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> I. M. Sechenov First Moscow Medical University, Russia

<sup>2</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia

В ретроспективный анализ был включен 31 пациент в возрасте от 23 до 78 лет с признаками ССВР из отделений терапии, пульмонологии и отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) с диагнозом внебольничной или госпитальной пневмонии тяжелого течения (с наличием ССВР). Оценивался уровень белка пресеписина в плазме крови при помощи иммунохемилюминесцентного анализатора «Pathfast» (Япония). Выявлено, что при госпитализации уровень ПСП был значительно выше у больных с ССВР, чем у здоровых лиц. У пациентов с установленным диагнозом сепсиса (в последующем подтвержденным гемокультурами) наблюдалась более высокая концентрация при госпитализации и во всех последующих временных точках исследования, что характеризует пресеписин как маркер сепсиса в трудных клинических ситуациях.

*Ключевые слова:* синдром системной воспалительной реакции, сепсис, пресеписин

A retrospective analysis included 31 patients aged 23 to 78 years with the signs of SIRS from the departments of therapy, pulmonology and the intensive care unit (ICU) with the diagnosis of severe community-acquired or hospital-acquired pneumonia. The plasma level of presepsin protein was assessed using the Pathfast immunochemiluminescence analyzer (Japan). It was revealed that at hospitalization, the level of PSP was significantly higher in patients with SIRS than in healthy individuals. Patients with the diagnosis of sepsis (later confirmed by hemoculture) showed a higher concentration during hospitalization and at all subsequent time points of the study, which characterizes presepsin as a marker of sepsis in difficult clinical settings.

*Keywords:* systemic inflammatory response syndrome, sepsis, presepsin

**Для цитирования:** Кукес В. Г., Маринин В. Ф., Олефир Ю. В., Ших Е. В., Прокофьев А. Б., Грапов Д. О., Вердиева Д. А., Румянцев Н. А. ПРЕСЕПСИН – НОВЫЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР В ДИАГНОСТИКЕ И КОНТРОЛЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ СЕПСИСА. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018;13(4):573-576. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13107>

**For citation:** Kukes V. G., Marinin V. F., Olefir Yu. V., Shih E. V., Prokofiev A. B., Grapov D. O., Verdieva D. A., Rumyantsev N. A. PRESEPSIN – A NEW BIOLOGICAL MARKER FOR SEPSIS DIAGNOSING AND MONITORING THE EFFECT OF TREATMENT. *Medical News of North Caucasus*. 2018;13(4):573-576. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13107> (In Russ.)

ИЛ – интерлейкин  
МСКТ ОГК – мультиспиральная компьютерная томография органов грудной клетки  
ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии  
ОФМВ – острофазовые маркеры воспаления

ПКТ – прокальцитонин  
ПСП – пресеписин  
СРБ – С-реактивный белок  
ССВР – синдром системной воспалительной реакции  
ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии  
ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа

**З**а последние десятилетия развитие медицинских технологий и фармакотерапии достигло очень высоких темпов, что в свою очередь привело не только к увеличению среднего возраста больных, но и к частым случаям полипрагмазии, бесконтрольному приему лекарственных

препаратов, в том числе и антибактериальных, и, как следствие, к увеличению распространенности случаев антибиотикорезистентности.

В связи с чем на рубеже XX–XXI веков медицинское сообщество столкнулось с проблемой ежегодного роста регистрации случаев сепсиса, тяжелых инфекций

и связанной с этим смертности. По разным данным, ежегодно в мире регистрируются около 18 миллионов случаев сепсиса, 30 % из которых заканчиваются летальным исходом [1]. Сепсис и септический шок диагностируются в 10 раз чаще, чем миокардиальная ишемия или тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) [2]. Ежегодные затраты на терапию больных с установленным диагнозом сепсиса, например, в США в среднем составляют 14 млрд долларов [3, 4, 5].

В связи с часто встречающейся клинической картиной сепсиса без выявленной инфекции в 1992 году на конференции Американской коллегии торакальных хирургов (American College of Chest Physicians) и общества специалистов интенсивной терапии (Society of Critical Care Medicine) в Чикаго было принято решение о введении термина «синдром системной воспалительной реакции» (Systemic Inflammatory Response Syndrome – ССВР/SIRS).

На сегодняшний день в Российской Федерации для диагностики жизнеугрожающих системных воспалительных реакций в клинической практике получили такие острофазовые маркеры, как С-реактивный белок (СРБ) и прокальцитонин (РСТ). Однако ни один из них не имеет 100 % специфичности и чувствительности при воспалительных реакциях инфекционной природы. Вышеуказанные маркеры могут резко, а также транзиторно повышаться не только при сепсисе и ССВР, но и при таких неинфекционных состояниях, как ожоги [6, 7, 8], травмы [9, 10, 11], хирургические вмешательства [6, 12] и даже тепловые удары [6, 12].

Ранняя диагностика и стратификация риска осложнений у больных с септическим синдромом между тем требуют изучения ранее выделенных и выявления новых биологических маркеров сепсиса. На сегодняшний день в качестве наиболее прогностически значимого биологического маркера для диагностики сепсиса обсуждается пресепсин (ПСП).

ПСП – циркулирующий белок, концентрация которого возрастает при развитии системных инфекций, сепсиса, септического шока. Активное изучение данного маркера продолжается, однако в РФ должного широкого распространения он пока не получил. По данным международных исследований, в том числе многоцентровых, доказано, что механизм повышения уровня пресепсина принципиально отличен от механизма повышения таких провоспалительных маркеров, как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-10, СРБ и других. В продукции ПСП участвуют иммунные механизмы, направленные на активацию фагоцитоза. Этим он отличается от традиционных маркеров сепсиса [13, 14, 15]. Кроме того, при индукции системных воспалений повышение пресепсина происходит быстрее, чем других маркеров сепсиса [14]. За счет короткого периода полужизни (около 0,5–1,0 часа) ПСП отражает не только более точно, но и «в реальном времени» эффективность антибактериальной терапии, а также возможный исход сепсиса.

Вышеописанные преимущества ПСП обозначили цель исследования – определить его значимость в диагностике и прогнозировании осложнений у больных с синдромом системной воспалительной реакции и с сепсисом.

**Материал и методы.** В ретроспективный анализ был включен 31 пациент в возрасте от 23 до 78 лет с признаками ССВР, находившийся на лечении в отделениях терапии, пульмонологии, реанимации и интенсивной терапии с диагнозом внебольничной или госпитальной пневмонии тяжелого течения (с наличием ССВР). Контрольную группу составили 33 здоровых добровольца.

Диагноз пневмонии устанавливали на основании жалоб больного, данных анамнеза, осмотра и бактериологического исследования мокроты с определением возбудителя, результатов рентгенографии и МСКТ ОГК. Тяжесть заболевания оценивали по шкале SMART-COP. Критериями включения пациентов в исследование являлись признаки ССВР/SIRS и сепсиса. Для диагностики данных состояний использовались рекомендации: Чикагской согласительной конференции анестезиологов и пульмонологов (1991), Американского общества пульмонологов (1992), Всероссийской конференции РАСХИ (Калуга, 2004). Диагноз ССВР устанавливался при наличии как минимум двух критериев из четырех: количества лейкоцитов в крови  $> 12000$  или  $< 4000$  в 1 мкл либо относительного количества незрелых форм более 10 % (палочкоядерные и юные нейтрофилы); частоты сердечных сокращений  $> 90$ /мин; частоты дыхания  $> 20$ /мин;  $PaCO_2 < 32$  мм рт. ст.; температуры тела  $> 38$  °С или  $< 36$  °С.

Критерии сепсиса включали клинические проявления системной воспалительной реакции и подтвержденное наличие инфекции с выделенным возбудителем.

Пациентам в отделении наряду с рутинными лабораторными методами исследования оценивали уровень пресепсина в плазме крови при помощи иммунохемилюминесцентного анализатора PATHFAST (LSI Medience Corporation, Япония). Значения ПСП у пациентов с ССВР оценивались путем анализа данных при поступлении и серийных измерений, которые проводились на 1-й, 3-й, 7-й и 14-й день. Референсные значения ПСП при дифференцировке септических состояний представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Пограничные значения исходных уровней ПСП [20]**

Уровень пресепсина (пг/мл)	Комментарий
$< 200$	Сепсис исключен
200–299	Системная инфекция маловероятна
300–499	Системная инфекция возможна
500–999	Умеренный риск развития системной инфекции. Повышенный риск неблагоприятного исхода
$> 1000$	Высокий риск развития системной инфекции (сепсиса/септического шока). Высокий риск 30-дневной смертности, сравнимый с риском по шкале APACHE $> 25$

Статистическую обработку данных осуществляли в программе SPSS 13.0. Результаты представлены как средние значения  $\pm$  стандартное отклонение. Средние значения непрерывных переменных сравнивали при помощи t-критерия Стьюдента для несвязанных выборок. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Выявлено, что при госпитализации уровень ПСП был значительно выше у больных с ССВР, чем у здоровых лиц ( $980,74 \pm 88,86$  по сравнению с  $127,49 \pm 10,4$  пг/л;  $p < 0,001$ ). У больных с сепсисом содержание ПСП ( $1703 \pm 219,5$  пг/мл) было выше, чем в случаях его отсутствия ( $769,9 \pm 42,3$  пг/мл;  $p < 0,05$ ). Как видно из данных таблицы 2, у пациентов с установленным диагнозом сепсиса (в последующем подтвержденного гемокультурами) наблюдалась более высокая концентрация пресепсина при госпитализации и во всех последующих временных точках исследования ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

**Динамический анализ уровня пресепсина (пг/мл) у пациентов с ССВР и сепсисом (M±m)**

Период	ССВР		P
	без сепсиса	с сепсисом	
1-е сутки	769,9±42,3	1703±219,5	<0,001
3-и сутки	523,8±36,2	1775,71±213	<0,001
7-е сутки	348,5±20,8	1408,57±165,7	<0,001
14-е сутки	214,2±15,3	645,5±116,31	<0,05

Наиболее высокий уровень пресепсина определялся в 1-й день у пациентов с пневмонией и на 3-й день у пациентов с сепсисом. Наблюдалась тенденция к снижению уровня ПСП на 3-й и 7-й дни в группах пациентов без сепсиса и с сепсисом соответственно.

У одного из пациентов уровень пресепсина на 7-й день болезни оставался высоким, с тенденцией к нарастанию, в связи с чем схема антибактериальной терапии была изменена. К 14-му дню госпитализации у данного больного была отмечена положительная клиническая динамика, подтверждаемая снижением уровня ПСП, что свидетельствовало об эффективности проводимой антибактериальной терапии.

Таким образом, показано, что концентрация пресепсина точно отображает степень воспалительной реакции и быстро изменяется в зависимости от эффективности лечения. Данные преимущества позволяют своевременно принимать правильные клинические

решения. В данном исследовании доказано, что уровень пресепсина коррелирует со степенью воспалительного процесса и является прогностически значимым маркером. В группе здоровых лиц ложноположительных результатов повышения уровня ПСП не отмечалось. Вышеописанные данные подтверждают результаты ранее выполненных исследований [16, 17], однако сравнительный анализ пресепсина и других маркеров воспаления, таких как прокальцитонин и СРБ, не проводился, так как, согласно данным зарубежной литературы, диагностическая значимость ПСП многократно превышает таковую у прокальцитонина и СРБ [18, 19, 20]. Вместе с тем требуется более подробное изучение нового маркера сепсиса и ССВР, проведение дополнительных исследований «комбинаций» воспалительных маркеров для их оценки, повышения диагностической и прогностической значимости.

**Заключение.** ПСП является перспективным биологическим маркером для диагностики ССВР и сепсиса, стратификации риска и прогнозирования тяжелых осложнений, а также имеет неоспоримую эффективность в мониторинге клинических ответов на терапевтические вмешательства. Данное исследование является доказательным, однако требуется дальнейшее изучение ПСП как биомаркера сепсиса в различных клинических условиях.

*Исследование частично выполнено с привлечением средств внутриуниверситетского гранта (Первый МГМУ им. И. М. Сеченова) № 0373100084815000486.*

**Литература/References**

- Slade E., Tamber P. S., Vincent J. L. The Surviving Sepsis Campaign: raising awareness to reduce mortality. *Crit. Care.* 2003;7(1):1-2.
- Moore L. J., Moore F. A., Todd S. R., Jones S. L., Turner K. L., Bass B. L. Sepsis in general surgery: the 2005–2007 national surgical quality improvement program perspective. *Arch. Surg.* 2010;145(7):695-700.
- Kumar G., Kumar N., Taneja A., Kaleekal T., Tarima S. [et al.]. Nationwide trends of severe sepsis in the 21st century (2000–2007). *Chest.* 2011;140(5):1223-1231. <https://doi.org/10.1378/chest.11-0352>
- Lagu T., Rothberg Michael B., Meng-Shiou Shieh, Pekow Penelope S., Steingrub Jay S., Lindenauer Peter K. Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007. *Crit. Care Med.* 2012;40(3):754-761.
- Namas R., Zamora R., Namas R., An G., Doyle J. [et al.]. Sepsis: something old, something new, and a systems view. *Crit. Care.* 2012;27(3):314.E1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jcirc.2011.05.025>
- Aouifi A., Piriou V., Blanc P., Bouvier H., Bastien O. [et al.]. Effect of cardiopulmonary bypass on serum procalcitonin and C-reactive protein concentrations. *British Journal of Anaesthesia.* 1999;83(4):602-607.
- Dehne M. G., Sablotzki A., Hoffmann A. Alterations of acute phase reaction and cytokine production in patients following severe burn injury. *Burns.* 2002;28(6):535-542.
- Sachse C., Machens H. G., Felmerer G. J. Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of severe infection after thermal injury. *Burn. Care Rehabil.* 1999;20(5):354-360.
- Benoist J. F., Mimoz O. Procalcitonin in severe trauma. *Ann. Biol. Clin. (Paris).* 1998;56(5):571-574.
- Meisner M., Adina H., Schmidt J. Correlation of Procalcitonin and C-reactive protein to inflammation, Complications, and outcome during the intensive care unit course of multiple-trauma patients. *Crit. Care.* 2006;10(1):R1. <https://doi.org/10.1186/cc3910>
- Mimoz O., Benoist J. F., Edouard A. R., Assicot M., Bohuon C., Samii K. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med.* 1998;24(2):185-188.
- Sponholz C., Sakr Y., Reinhart K., Brunkhorst F. Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature. *Crit. Care.* 2006;10(5):R145. <https://doi.org/10.1186/cc5067>
- Окамура И., Томэ Р. Пресепсин: новый биомаркер прогнозирования и диагностики сепсиса. *Лаборатория. Журнал для врачей.* 2014;1:9-10. [Okamura Y., Thomaе R. Presepsin: novyj biomarker dlja prognozirovaniya i diagnostiki sepsisa. *Laboratorija. Zhurnal dlja vrachej.* – *Lab. Journal for clinicians.* 2014;(1):9-10. (In Russ.)].
- Shirakawa K., Naitou K., Hirose J., Nakamura M., Takeuchi T., Hosaka Y., Furusako S. The new sepsis marker, sSD14-ST, induction mechanism in the rabbit sepsis models. *Critical. Care.* 2010;14(2):19. <https://doi.org/10.1186/cc9122>
- Yaegashi Y., Shirakawa K., Sato N., Suzuki Y., Kojika M. [et al.]. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis. *Infect. Chemother.* 2005;11(5):234-238.
- Romualdo L. G., Torrella P. E., González M. V., Sánchez R. J., Holgado A. H., Freire A. O., Acebes S. R., Otón M. D. Diagnostic accuracy of presepsin (soluble CD14 subtype) for prediction of bacteremia in patients with systemic inflammatory response syndrome in the emergency department. *Clin. Biochem.* 2014;47(7-8):505-508.
- Shozushima T., Takahashi G., Matsumoto N., Kojika M., Okamura Y., Endo S. J. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *Infect. Chemother.* 2011;17(6):764-769.
- Endo S., Suzuki Y., Takahashi G. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in a multicenter prospective study. *Infect. Chemother.* 2012;18(6):891-897. <https://doi.org/10.1007/s10156-012-0435-2>
- Assicot M., Gendrel D., Carsin H., Raymond J., Guilbaud J., Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet.* 1993;341(8844):515-518.
- Вельков В. В. Комплексная лабораторная диагностика системных инфекций и сепсиса: С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин. Москва: ЗАО «Диакон-лаб», 2015. [Vel'kov V. V. Kompleksnaja laboratornaja diagnostika sistemnyh infekcij i sepsisa: S-reaktivnyj belok, prokal'citonin, presepsin. Moscow: ZAO «Diakonlab», 2015. (In Russ.)].

**Сведения об авторах:**

Кукес Владимир Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней, академик РАН; тел.: 89037552318; e-mail: elmed@yandex.ru

Маринин Валерий Федорович, доктор медицинских наук, профессор; тел.: 89161791689; e-mail: marininv@mail.ru

Олефир Юрий Витальевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, генеральный директор; тел.: 84956254348; e-mail: Olefir@expmed.ru

Ших Евгения Валерьевна, доктор медицинских наук, профессор, член-кор. РАН, заведующая кафедрой; тел.: 84956091400; e-mail: chih@mail.ru

Прокофьев Алексей Борисович, доктор медицинских наук, профессор, директор центра; тел.: 89651216505; e-mail: Procofyev56@gmail.com

Грапов Дмитрий Олегович, аспирант; тел.: 89037337361; e-mail: Grapov-rd@inbox.ru

Вердиева Дуня Арзу кызы, аспирант; тел.: 89167892850; e-mail: Vetalina1253@gmail.com

Румянцев Николай Александрович, кандидат медицинских наук, ассистент; тел.: 89199999649; e-mail: n.roumyancev@gmail.com

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.74-007.17-018.2:616.12

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13108>

ISSN – 2073-8137

## МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ: ЗНАЧЕНИЕ В РЕМОДЕЛИРОВАНИИ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

М. Б. Джазаева<sup>1</sup>, Н. Н. Гладких<sup>1</sup>, В. А. Решетников<sup>2</sup>, А. В. Ягода<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия

## MATRIX METALLOPROTEINASES: ROLE IN CARDIAC REMODELING IN PATIENTS WITH CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

Djazaeva M. B.<sup>1</sup>, Gladkikh N. N.<sup>1</sup>, Reshetnikov V. A.<sup>2</sup>, Yagoda A. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Stavropol State Medical University, Russia

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenovskiy University), Russia

Для определения клинического и прогностического значения матриксных металлопротеиназ в ремоделировании сердца при ДСТ было обследовано 57 мужчин и 43 женщины, средний возраст 22,0±4,2 года. Методом ИФА определяли сывороточные концентрации MMP-1, MMP-9, TIMP-1 («Cloud-Clone Corp.», Китай). У пациентов с ДСТ выявлен дисбаланс MMP-1, MMP-9 с их ингибитором – TIMP-1. Значимое повышение MMP-1 зарегистрировано в случаях ПМК с миксоматозной дегенерацией и митральной регургитацией II степени. При повышенных значениях коэффициента MMP-1/TIMP-1 возрастает риск прогрессирования кардиального ремоделирования в перспективе трехлетнего наблюдения. Выявленные изменения в системе MMPs у пациентов с ДСТ могут быть использованы в качестве дополнительных критериев выраженности и определения вероятности прогрессирования ремоделирования соединительнотканых структур сердца.

*Ключевые слова:* дисплазия соединительной ткани, матриксные металлопротеиназы, ремоделирование сердца

57 men and 43 women, aged 22.0±4.2 years were examined to determine the clinical and prognostic value of matrix metalloproteinases in heart remodeling in CTD. Serum concentrations of MMP-1, MMP-9, TIMP-1 were determined by ELISA («Cloud-Clone Corp.», China). Imbalance of MMP-1, MMP-9 and their inhibitor – TIMP-1 was revealed in patients with CTD. Significant increase in MMP-1 level was registered in cases of MVP with myxomatous degeneration and mitral regurgitation of II degree. Risk of cardiac remodeling progression at three-year follow-up increases in cases of elevated of MMP-1/TIMP-1 coefficient. Identified changes in the MMPs system in patients with CTD may be used as additional criteria of severity and determination of probability of progression of heart connective tissue structures remodeling.

*Keywords:* matrix metalloproteinases, connective tissue dysplasia, cardiac remodeling

**Для цитирования:** Джазаева М. Б., Гладких Н. Н., Решетников В. А., Ягода А. В. МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ: ЗНАЧЕНИЕ В РЕМОДЕЛИРОВАНИИ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018;13(4):576-580. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13108>