

Диагностическое значение структур межклеточного матрикса при бронхиальной астме у детей

Т.Р. Стройкова¹, О.А. Башкина¹, Н.А. Геппе²

¹ФГАОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

Diagnostic significance of the extracellular matrix structures in bronchial asthma in children

T.R. Stroykova¹, O.A. Bashkina¹, N.A. Geppe²

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Межклеточный матрикс при бронхиальной астме задействован в процессах структурного изменения, которые имеют как обратимый, так и необратимый характер. Диагностическую значимость могут иметь маркеры дисфункции эндотелия, показатели структур внеклеточного матрикса.

Цель исследования. Изучение клинического значения маркеров коллагеногенеза и плазменного эндотелина-1 при бронхиальной астме у детей в зависимости от тяжести и длительности заболевания.

Материалы и методы. Обследованы 268 пациентов в возрасте от 2 лет 11 мес до 17 лет 11 мес с установленным диагнозом бронхиальная астма различной степени тяжести. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определены уровни в сыворотке крови следующих показателей: антител к коллагенам I и III типов, плазменного эндотелина.

Результаты. Определено статистически значимое повышение содержания фактора роста фибробластов, антител к коллагену I типа у детей с бронхиальной астмой тяжелой степени.

Заключение. Данные показатели служат диагностическим маркером бронхиальной астмой тяжелой степени.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, воспаление, межклеточный матрикс.

Для цитирования: Стройкова Т.Р., Башкина О.А., Геппе Н.А. Диагностическое значение структур межклеточного матрикса при бронхиальной астме у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2023; 68:(3): 41–45. DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-3-41-45

The intercellular matrix in bronchial asthma is involved in both reversible and irreversible processes of structural change. Markers of endothelial disorders, indicators of extracellular matrix structures may have diagnostic significance.

Purpose. To study the clinical significance of markers of collagen genesis and plasma endothelin-1 in bronchial asthma in children, depending on the severity and duration of the disease.

Material and methods. 268 patients aged from 2 years 11 months to 17 years 11 months with an established diagnosis of bronchial asthma with varying degrees of severity were examined. The ELISA method determined the serum levels of the following indicators: antibodies to type I and type III collagen, plasma endothelin.

Results. There was a significantly significant increase in fibroblast growth factor, type I collagen antibodies in children with severe bronchial asthma.

Conclusion. These indicators are a diagnostic marker for a severe bronchial asthma.

Key words: children, bronchial asthma, inflammation, intercellular matrix.

For citation: Stroykova T.R., Bashkina O.A., Geppe N.A. Diagnostic significance of the extracellular matrix structures in bronchial asthma in children. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2023; 68:(3): 41–45 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-3-41-45

Внеклеточный матрикс имеет фундаментальное значение для функциональных возможностей легких, так как служит для поддержания прочно-

сти ткани к растяжению, эластичности и барьерной функции. Кроме того, становится все более очевидным, что внеклеточный матрикс не только действует как каркас для резидентных клеток ткани, но также и непосредственно управляет важными процессами в клетках, включая морфогенез, передачу сигналов, миграцию, пролиферацию [1]. Соответственно аномальный внеклеточный матрикс, который часто наблюдается при хронических заболеваниях легких, не только служит патологическим проявлением на конечной стадии, которое ставит под угрозу функциональность тканей, но также, вероятно, определяет развитие и прогрессирование заболевания. Накопление коллагена в тканях дыхательных путей у пациентов с бронхиальной астмой — характерный патологический признак ремоделирования,

© Коллектив авторов, 2023

Адрес для корреспонденции: Стройкова Татьяна Равильевна — к.м.н., доц. кафедры факультетской педиатрии Астраханского государственного медицинского университета, ORCID: 0000-0002-9231-4407

e-mail: mega.astor@mail.ru

Башкина Ольга Александровна — д.м.н., проф., зав. кафедрой факультетской педиатрии Астраханского государственного медицинского университета, ORCID: 0000-0002-1672-675X

414000 Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

Геппе Наталья Анатольевна — д.м.н., проф., зав. кафедрой детских болезней Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), ORCID: 0000-0003-0547-3686

119435 Москва, ул. Большая Пироговская, д. 19, стр. 1

РОССИЙСКИЙ ВЕСТНИК ПЕРИНАТОЛОГИИ И ПЕДИАТРИИ, 2023; 68:(3)

ROSSIYSKIY VESTNIK PERINATOLOGII I PEDIATRII, 2023; 68:(3)

связанный с необратимыми обструктивными изменениями [2–9].

Прогрессирование различных хронических заболеваний легких, включая бронхиальную астму, связано с изменениями взаимодействия внеклеточного матрикса с клетками в легких. Коллаген III типа вместе с коллагеном I типа являются основными составляющими интерстициального матрикса. Коллаген III типа секретируется фибробластами и мезенхимальными клетками других типов, что делает его основным маркером при патологиях, связанных с воспалением и развитием фиброза. Происходящие при этом изменения в коллагеновых структурах влияют на пролиферацию фибробластов и их фенотип. Структурные изменения, которые приводят к ремоделированию дыхательных путей, включают изменения в эпителиальном барьере и внеклеточном матриксе, субэпителиальный фиброз, гиперплазию гладкой мускулатуры, бокаловидных и слизистых желез, ангиогенез [10–12]. Показано, что при бронхиальной астме изменяется эпителий дыхательных путей, активизируются резидентные мезенхимальные клетки [13–15].

Результаты многочисленных опубликованных исследований противоречивы. Ряд исследований у детей и взрослых показал наличие повышенной васкуляризации (ангиогенеза) бронхов, которая коррелировала с ограничением воздушного потока, гиперреактивностью бронхов и тяжестью заболевания. Кроме того, исследователями высказано предположение, что увеличение сосудистой сети бронхов может способствовать воспалению и ремоделированию дыхательных путей при бронхиальной астме за счет рекрутирования воспалительных клеток, аномального роста и пролиферации клеток. Остается неизученным вопрос о структурных изменениях сосудов легких. Недостаточно исследований в количественной оценке структуры и состава внеклеточного матрикса (эластина и коллагена) легких у пациентов с бронхиальной астмой.

Существуют единичные исследования по выявлению утолщения базальной мембраны при бронхиальной астме у детей, основанные на количественных измерениях толщины базальной мембраны при бронхиальной астме, в том числе тяжелого течения. Несмотря на максимальный объем базисной терапии, у пациентов выявлено увеличение толщины базального слоя по результатам гистологического исследования [16–20].

По данным разных исследователей, фибриллярный коллаген при бронхиальной астме не только увеличен, но и сильно дезорганизован и фрагментирован в дыхательных путях. Исследования *in vitro* продемонстрировали отсутствие фибриллярного коллагена-I, важного для устойчивости коллагеновых фибрилл [21]. Кроме того, имеются данные о том, что в базальной мембране крупных и мелких дыхательных путей у детей и взрослых с бронхиальной астмой наблюдается увеличение клеточных элементов межклеточного матрикса,

который, как было совсем недавно показано, в основном состоит из дезорганизованного фибриллярного коллагена. Показано, что во внеклеточном матриксе сосудистой сети дистальных бронхов происходит отложение дезорганизованного фибриллярного коллагена у детей и взрослых как при легкой, так и при тяжелой бронхиальной астме [22, 23].

В процессе изменения внеклеточного матрикса принимают участие факторы роста, один из них — фактор роста фибробластов (FGF — fibroblast growth factor). Идентифицировано более 20 структурно родственных вариантов семейства FGF. Они осуществляют ангиогенную активность путем взаимодействия с поверхностными рецепторами различных клеток эндотелия, оказывают непосредственное влияние на изменение морфологических и функциональных свойств дыхательных путей и межклеточного матрикса [24–27].

Цель исследования: изучение клинического значения маркеров коллагеногенеза и плазменного эндотелина-1 при бронхиальной астме у детей в зависимости от тяжести и длительности заболевания.

Характеристика детей и методы исследования

Обследованы 267 пациентов в возрасте от 3 до 17 лет включительно с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы. В исследование не включены пациенты с иной хронической неаллергической бронхолегочной патологией. В результате обследования диагноз бронхиальной астмы легкой степени тяжести установлен у 101 (52,06%) ребенка, среднетяжелой — у 141 (41,95%), тяжелой — у 26 (5,99%). Критерии включения в группу из 60 условно здоровых детей предусматривали отсутствие атопии в индивидуальном и семейном анамнезе, хронических соматических заболеваний и хронических инфекционных заболеваний ЛОР-органов.

Лабораторные методы исследования включали определение аутоантител к коллагенам I и III типов методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-системы фирмы «Имтек» (Москва) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Результаты регистрировали на вертикальном спектрофотометре типа «Мультискан» при длине волны 450 нм. Количественное определение аутоантител осуществляли с помощью калибровочной кривой, выстраиваемой на основе различных концентраций положительного контроля с учетом разведения исследуемых образцов. Тест-система предназначена для определения аутоантител к коллагенам I и III типов в плазме. Метод основан на иммунологической реакции между аутоантителами к коллагену и коллагеном, иммобилизованным на внутренней поверхности лунок пластикового планшета, с последующей детекцией образовавшегося комплекса с помощью пероксидазного конъюгата кроличьих антител к тотальным иммуноглобулинам человека, ферментативная актив-

ность которого определяется по изменению окраски субстратной смеси. Количество связавшейся пероксидазы пропорционально количеству аутоантител в образце. Положительный контроль представлен в исходной концентрации 0,1. Определение основного фактора роста фибробластов FGF осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа типа сэндвич. Микропланшет покрыт специфическими моноклональными антителами к FGF. При этом FGF, содержащийся в образцах, связывается с иммобилизованными антителами. В ходе реакции в лунки добавляют стандарты и образцы. После промывки все несвязавшиеся антитела удаляют и в лунки добавляют конъюгат моноклональных антител к FGF с ферментом. Диапазон измерения 3–640 пг/мл. Аналитическая чувствительность метода 3 пг/мл. Интенсивность развития окраски прямо пропорциональна концентрации FGF в образцах. Цветовую реакцию останавливают стоп-реагентом, и интенсивность окраски измеряют на планшетном фотометре. Определение плазменного эндотелина-1 проводили с помощью тест системы Biomedical ENDOTELIN (1–21) ЗАО «БиоХимМак» методом иммуноферментного анализа. Цветовую реакцию останавливали стоп-реагентом, интенсивность окраски измеряли на планшетном фотометре. Диапазон измерения 0,02–3 фмоль/л. Чувствительность 0,02 фмоль/л.

Для статистического анализа использованы следующие методы: для сравнения независимых выборок — критерий t Стьюдента; корреляционный анализ Пирсона применяли для определения силы линейной взаимосвязи между переменными.

Результаты и обсуждение

Нами определено, что концентрация фактора роста фибробластов в сыворотке крови у детей при легкой и среднетяжелой форме ниже, чем в контрольной группе (табл. 1). У детей с тяжелой формой

бронхиальной астмы показатель достоверно превышал показатели контрольной группы, что свидетельствует об изменениях структурных компонентов соединительной ткани с явлениями фибропластической активности. Таким образом, при легком и среднетяжелом течении заболевания не происходит активация фиброгенных факторов роста, тогда как при тяжелой форме заболевания наблюдается существенная активация данного фактора, стимулирующего синтез коллагена в фибробластах, что приводит к увеличению коллагеновых структур.

Функция эндотелия — одна из важнейших в патогенезе бронхиальной астмы. Эндотелий высвобождает ростовые факторы, медиаторы расширения сосудов, играет важную патогенетическую роль в процессе эозинофильного воспаления и формирования дальнейших структурных изменений — ремоделирования. В связи с этим нам представилось актуальным, используя метод корреляционного анализа, установить взаимосвязь показателей уровней плазменного эндотелина и фактора роста фибробластов при различной степени тяжести заболевания. Корреляционный анализ проводили между количественными переменными, без включения категориальной величины (степени тяжести заболевания) между двумя параметрами: уровнем плазменного эндотелина-1 и уровнем FGF. Нами установлена прямая корреляция средней силы (табл. 2), что свидетельствует об участии фактора роста фибробластов в нарушении функции эндотелия при бронхиальной астме, принимая во внимание, что рецепторы данного фактора располагаются на гладкомышечных элементах эндотелия. Полученные результаты подтверждают единую патогенетическую сущность данных параметров при бронхиальной астме.

По данным литературы, активация образования коллагенов I и III типов возможна при различных хронических воспалительных процессах. При этом

Таблица 1. Концентрация фактора роста фибробластов у детей при различной степени тяжести бронхиальной астмы
Table 1. Values of fibroblast growth factor in children in various asthma severity

Степень тяжести бронхиальной астмы	Концентрация фактора роста фибробластов, пкг/мл ($M \pm \sigma$)	p (критерий t Стьюдента)
Легкая, $n=101$ (1)	$4,3 \pm 0,8$	$p_{1-3}=0,05$
Среднетяжелая, $n=141$ (2)	$4,2 \pm 1,8$	$p_{2-3}=0,01$
Тяжелая, $n=26$ (3)	$6,7 \pm 3,5$	
Контрольная группа, $n=60$	$5,5 \pm 1,9$	$p=0,015$ (для всех групп)

Таблица 2. Корреляция концентраций плазменного эндотелина и FGF при различной тяжести бронхиальной астмы
Table 2. Correlation value of plasma endothelin and FGF in different severity of bronchial asthma

Исследуемые показатели	1. Легкая степень ($n=101$)	2. Средняя степень ($n=141$)	3. Тяжелая степень ($n=26$)
Плазменный эндотелин-1, фмоль/мл	$0,201 \pm 0,3$	$0,787 \pm 0,3$	$0,448 \pm 0,4$
Фактор роста фибробластов, пкг/мл	$4,3 \pm 0,8$	$4,2 \pm 1,8$	$6,7 \pm 3,5$
Коэффициент корреляции r	0,56	0,64	0,6

Примечание. $p \leq 0,05$ для всех групп сравнения.

Таблица 3. Содержание антител к коллагенам I и III типов при бронхиальной астме различной степени тяжести
Table 3. Value of type I and type III autoantibodies to collagen with varying severity of bronchial asthma

Показатель	Контрольная группа	Легкая (n=101)	Средняя (n=148)	Тяжелая (n=26)	p (критерий t Стьюдента)
Антитела к коллагену I типа, мкг/мл	0,175±0,03	0,114±0,04	0,156±0,03	0,284±0,08	$p_{1-3}=0,08$ $p_{1-2}=0,12$ $p_{2-3}=0,1$ $p_{1-k}=0,01$ $p_{2-k}=0,01$ $p_{3-k}=0,03$
Антитела к коллагену III типа, мкг/мл	0,091±0,01	0,07±0,03	0,160±0,04	0,094±0,02	$p_{1-3}=0,71$ $p_{1-2}=0,24$ $p_{2-3}=0,1$ $p_{3-k}=0,1$

синтез коллагена III типа увеличивается на ранних стадиях заболевания, а коллагена I типа — на поздних. Неограниченное коллагенообразование, появление коллагеновых волокон в паренхиме легких характерны для фибропластических процессов. Появление антител к коллагеновым структурам служит непосредственным отражением коллаген синтезирующей функции внеклеточного матрикса [28].

В ходе исследований мы установили, что содержание антител к коллагенам I и III типов при легкой и среднетяжелой бронхиальной астме является равнозначным и не превышает содержания в контрольной группе. Уровень антител к коллагену I типа у пациентов с тяжелой бронхиальной астмой достоверно повышен по сравнению с таковым при других вариантах тяжести заболевания и с контрольной

группой. Это свидетельствует об активности коллагеногенеза и морфологических изменениях во внеклеточном матриксе легких у этих больных (табл. 3).

Заключение

Таким образом, структуры межклеточного матрикса имеют диагностическое значение и отражают степень тяжести бронхиальной астмы. Достоверное повышение изученных показателей — антител к коллагену I типа и фактора роста фибробластов — свидетельствует об активации коллагенсинтезирующих функций фибробластов при тяжелой бронхиальной астме. Это приводит к структурным изменениям межклеточного матрикса бронхиальной стенки, а следовательно, определяет длительность и тяжесть персистирования симптомов у этих пациентов.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Бэй-Дженсен А., И Дж. М.Б. Дженовезе Ф., Зибур А.С., Нильсен М., Лиминг Д.Дж. Биохимия коллагенов, ламининов и эластина. Академик Пресс, 2016; 203–233. [Bej-Dzhensen A., I Dzh. M.B., Dzhenovze F., Zibur A.S., Nil'sen M., Liming D.Dzh. Biochemistry of collagens, laminins and elastin, Academic Press, 2016; 203–233. (in Russ.)]
2. Robert J., Dhiren F., Patel F. Zooming into the Matrix: Using Nonlinear Optical Microscopy to Visualize Collagen Remodeling in Asthmatic Airways Am J Respir Crit Care Med 2019; 200(4): 403–405. DOI: 10.1164/rccm.201904–0722ED
3. Burgess J., Mauad T., Tjin G., Karlsson J., Westergren-Thorsson G. The extracellular matrix—The under-recognized element in lung disease? J Pathol 2016; 240: 397–409. DOI: 10.1002/path.4808
4. Halfier W., Oertle P., Monnier C., Camenzind L., Reyes-Lua M., Hu H. et al. New concepts in basement membrane biology. FEBS 2015; 282: 4466–4479. DOI: 10.1111/febs.13495
5. Le B., Macdonald B., Kalluri R. Structure and Function of Basement Membranes. Exp Biol Med 2007; 232: 1121–1129. DOI: 10.3181/0703-MR-72
6. Faffe D., Zin W. Lung Parenchymal Mechanics in Health and Disease. Physiol Rev 2009; 89: 759–775. DOI: 10.1152/physrev.00019.2007
7. Booth A., Hadley R., Cornett A., Dreffs A., Matthes S., Tsui J. et al. Acellular Normal and Fibrotic Human Lung Matrices as a Culture System for In Vitro Investigation Am J Respir Crit Care Med 2012; 186: 866–876. DOI: 10.1164/rccm.201204–0754OC
8. Burgstaller G., Oehrle B., Gerckens M., White E.S., Schiller H.B., Eickelberg O. The instructive extracellular matrix of the lung: Basic composition and alterations in chronic lung disease Eur Respir J 2017; 50: 160–180. DOI: 10.1183/13993003.01805–2016
9. Gu B., Madison M., Corry D., Kheradmand F. Matrix remodeling in chronic lung diseases. Matrix Biol 2018; 73: 52–63. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.03.012
10. Emmanuel T. Special Issues Modeling Extracellular Matrix-Cell Interactions in Lung Repair and Chronic Disease. J Cells 2021; 8: 21–45. DOI: 10.3390/10082145
11. Hackett T., Vriesde N., Al-Fouadi M., Mostaco-Guidolin L., Maf-toun D., Hsieh A. et al. Cells 2022; 11(2): 185. DOI: 10.3390
12. Yick C., Ferreira D., Annoni R., von der Thusen J., Kunst P., Bel E. et al. Extracellular matrix in airway smooth muscle is associated with dynamics of airway function in asthma. Allergy 2012; 67: 552–559. DOI: 10.1111/j.1398–9995.2011.02773
13. James A., Maxwell P., Pearce-Pinto G., Elliot J., Carroll N. The Relationship of Reticular Basement Membrane Thickness to Airway Wall Remodeling in Asthma. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166: 1590–1595. DOI: 10.1164/rccm.2108069
14. Sagliani S., Molyneux C., Gong H., Rogers A., Malmstrom A., Pelkonen A. et al. Ultrastructure of the reticular basement membrane in adults, children and infants with asthma Eur Respir J 2006; 28(3): 505–512. DOI: 10.1183/09031936.06.00056405

15. Leila B., Mostaço-Guidolin L., Emmanuel T., Jari U., Hajimohammadi S., Fouadi M., Xian L. Defective Fibrillar Collagen Organization by Fibroblasts Contributes to Airway Remodeling in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2019; 200(4): 431–443. DOI: 10.1164/rccm.201810–1855OC
16. Elias J.A., Zhu Z., Chupp G., Homer R. Airway remodeling in asthma. *J. Clin. Invest* 1999; 104: 1001–1006. DOI: 10.1172/JCI8124
17. Zeiger R.S., Dawson C., Weiss S. Relationships between duration of asthma and asthma severity among children in the Childhood Asthma Management Program (CAMP). *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 376–386. DOI: 10.1016/s0091-6749(99)70460-4
18. McKay O., Hogg J. The contribution of airway structure to early childhood asthma. *Med J Aust* 2002; 177: S45–S47. DOI: 10.5694/j.1326-5377.2002.tb04852.x
19. Boulet L., La Violette M., Turcotte H., Cartier A., Dugas M., Malo J.-L., Boutet M. Bronchial subepithelial fibrosis correlates with airway responsiveness to methacholine. *Chest* 1997; 112: 45–52. DOI: 10.1378/112.1.45
20. Araujo B.B., Dolhnikoff M., da Silva L.F.F., Elliot J., Linden J.H.N., Ferreira D. et al. Extracellular matrix components and regulators in the airway smooth muscle in asthma. *Eur Respir J* 2008; 32: 61–69. DOI: 10.1183/09031936.00147807
21. Mostaço-Guidolin L.B., Yang C.X., Hackett T.L. Pulmonary vascular remodeling is an early feature of fatal and non-fatal asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol Biol* 2021; 65: 114–118. DOI: 10.1165/rcmb.2020–0339LE
22. Payne D., Rogers A., Adelroth E., Bandi V., Guntupalli K.K., Bush A., Jeffery P.K. Early thickening of the reticular basement membrane in children with difficult asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 78–82. DOI: 10.1164/rccm.200205–414OC
23. Mostaço-Guidolin L., Osei E., Ullah J., Hajimohammadi S., Fouadi M., Li X. et al. Defective Fibrillar Collagen Organization by Fibroblasts Contributes to Airway Remodeling in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2019; 200: 431–443. DOI: 10.1164/rccm.201810–1855OC
24. Стройкова Т.Р., Григанов В.И. Проблема хронического воспаления при бронхиальной астме у детей. *Астраханский медицинский журнал* 2011; 3: 52–55. [Stroikova T.R., Griganov V.I. The problem of chronic inflammation in bronchial asthma in children. *Astrakhanskii meditsinskii zhurnal* 2011; 3: 52–55. (in Russ.)]
25. Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Updated 2021. Available from: <https://ginasthma.org/gina-reports/> / Ссылка активна на 02.05.2023.
26. Palgan K., Bartuzi Z. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015; 28(3): 415–420. DOI: 10.1177/0394632015580907
27. Hoshino M., Nakamura Y., Sim J. Expression of growth factors and remodeling of the airway wall in bronchial asthma. *Thorax* 1998; 53(1): 21–27. DOI: 10.1136/thx.53.1.21
28. Целуйко С.С., Красавина Н.П. Иммуноцитохимическая характеристика типов коллагена соединительной ткани биоптатов бронхов больных с дисплазией органов дыхания. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания* 2010; 38: 36–42. [Tseluiko S.S., Krasavina N.P. Immunocytochemical characterization of connective tissue collagen types in bronchial biopsy specimens from patients with respiratory dysplasia. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya* 2010; 38: 36–42. (in Russ.)]

Поступила: 20.03.23

Received on: 2023.03.20

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.