

Динамика значений фекального зонулина у недоношенных детей первых двух недель жизни

С.С. Хасанова¹, А.Т. Камилова²

¹Республиканский перинатальный центр, Ташкент, Узбекистан;

²Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр педиатрии Минздрава Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Dynamics of fecal zonulin values in premature children of the first two weeks of life

S.S. Khasanova¹, A.T. Kamilova²

¹Republican Perinatal Center, Tashkent, Uzbekistan;

²Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Pediatrics, Tashkent, Uzbekistan

Целостность и проницаемость кишечного барьера у недоношенных детей играет важную роль в возникновении нарушений пищеварения и такого грозного осложнения, как некротический энтероколит.

Цель работы. Определить динамику уровня фекального зонулина у недоношенных детей первых 2 нед жизни и установить взаимосвязь между его значениями и другими показателями, характеризующими статус глубоконедоношенных детей.

Материалы и методы. Обследованы 108 недоношенных детей с гестационным возрастом при рождении от 22 до 32 нед и 27 доношенных новорожденных, которые составили группу контроля. Определение фекального зонулина методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа проводили в динамике на 3, 7 и 14-й дни жизни.

Результаты. Показано, что у недоношенных детей отмечается многократное повышение уровней фекального зонулина в течение 14 дней жизни по сравнению с таковыми у здоровых доношенных детей. Уровни фекального зонулина на 7-й день жизни были достоверно выше у новорожденных в случае, у них на $10 \pm 4,7$ -е сутки жизни развился некротизирующий энтероколит.

Ключевые слова: дети, недоношенные, некротизирующий энтероколит, фекальный зонулин.

Для цитирования: Хасанова С.С., Камилова А.Т. Динамика значений фекального зонулина у недоношенных детей первых двух недель жизни. Рос вестн перинатол и педиатр 2019; 64:(2): 52–56. <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2019-64-2-52-56>

Integrity and permeability of the intestinal barrier in premature children plays an important role digestive disorders and such terrible complications as necrotizing enterocolitis.

Objective. To determine the dynamics of the level of fecal zonulin in premature babies during the first 2 weeks of life and establish the connection between its values and other indicators characterizing the status of extremely premature children.

Materials and methods. There were examined 2 groups of children: Group 1 consisted of 108 premature infants with gestational age of 22–32 weeks and Group 2 (control) included 27 full-term newborns. The level of fecal zonulin was determined by enzyme-linked immunosorbent analysis in dynamics on the 3rd, 7th and 14th days of life.

Results. The premature children have a multiple increase in fecal zonulin levels within 14 days of life compared to healthy full term children. Levels of fecal zonulin on the 7th day of life were significantly higher in children who developed necrotizing enterocolitis on the 10 ± 4.7 days of life.

Key words: children, premature children, necrotizing enterocolitis, fecal zonulin.

For citation: Khasanova S.S., Kamilova A.T. Dynamics of fecal zonulin values in premature children of the first two weeks of life. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2019; 64:(2): 52–56 (in Russ). <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2019-64-2-52-56>

Недоношенные дети представляют особую группу пациентов, для которых характерны признаки физиологической незрелости, что определяет особые условия выхаживания. Высокие потребности недоношенных детей обуславливают необходимость достаточного поступления питательных веществ после преждевременного рождения. Своевременно начатое и сбалансированное питание с достаточным поступле-

нием жиров и оптимальной калорийностью рациона позволяет облегчить течение адаптационного периода и в дальнейшем снизить риск развития ряда заболеваний, в том числе бронхолегочной дисплазии [1].

Известно, что недоношенные дети в раннем постнатальном онтогенезе характеризуются незрелостью многих функциональных систем, включая пищеварительную. Несовершенство моторно-эвакуаторной функции желудочно-кишечного тракта у них сочетается с недостаточной активностью ферментов, особенностями становления микробного пейзажа толстой кишки, что способствует развитию дисфункций пищеварения и затрудняет энтеральное вскармливание глубоконедоношенных детей [2]. Доказано, что у недоношенных детей даже при оптимальном способе энтерального вскармливания (грудное молоко с фортификатором, специализированные молочные

© С.С. Хасанова, А.Т. Камилова, 2019

Адрес для корреспонденции: Хасанова Саида Сабировна – к.м.н., зам. директора Республиканского перинатального центра, ORCID: 0000-0001-9201-1564

700140 Узбекистан, Ташкент, Юнус-Абадский район, ул. Боги-Шамол, д. 223а e-mail: seid68@mail.ru

Камилова Алтиной Турсуновна – д.м.н., проф., рук. отдела гастроэнтерологии и нутрициологии Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра педиатрии

100179 Узбекистан, Ташкент, ул. Чимбай 2, проезд Талант, д. 3

смеси) сохраняется высокий риск сочетанных дисфункций пищеварения – срыгиваний, задержки стула, кишечных колик, диспепсического стула, что требует направленной коррекции. Как правило, у маловесных новорожденных дисфункция желудочно-кишечного тракта обусловлена не только морфофункциональной незрелостью, но и сопутствующей патологией – прежде всего перинатальными поражениями центральной нервной системы (ЦНС), протекающими преимущественно с вегето-висцеральными нарушениями [3–5].

Таким образом, у недоношенных детей формируется «порочный круг»: расстройства моторной функции желудочно-кишечного тракта (застой кишечного содержимого или ускоренный транзит) создают условия для нарушения незрелого полостного и пристеночного пищеварения, при этом страдают процессы колонизации толстой кишки и усугубляется тяжесть микробного дисбаланса кишечника, что приводит к расстройствам всасывания. Неадекватное вскармливание усиливает нарушения моторики верхних и нижних отделов желудочно-кишечного тракта и усугубляет ферментную недостаточность [2]. Опасным последствием данного «порочного круга» является развитие некротического энтероколита, который, в частности, связывают с ростом патогенной флоры в просвете кишечника, повышением проницаемости его слизистой оболочки [6].

Некротизирующий энтероколит новорожденных – воспалительное заболевание кишечника, преимущественно у недоношенных детей, приводящее к некрозу и перфорации стенки кишки и развитию перитонита. До настоящего времени это одно из основных заболеваний желудочно-кишечного тракта у новорожденных, требующих своевременной диагностики и интенсивной терапии [7].

В 2000 г. А. Fasano и соавт. [8] открыли зонулин – белок, который модулирует целостность кишечной

стенки. Зонулин – это аналог токсина холерного вибриона (*Zonula occludens toxin*), участвует в функционировании плотных контактов между клетками эпителия слизистой оболочки кишечника. Зонулин связывается со своим рецептором на поверхности эпителия и усиливает каскад реакций, приводящих к расширению межклеточных контактов и росту проницаемости кишечника. Это позволяет различным веществам преодолевать клеточный барьер кишечника и стимулировать иммунный ответ [8–10].

Принимая во внимание роль целостности кишечного барьера в развитии состояний, связанных с расстройствами пищеварения различной степени тяжести, мы задались целью изучить динамику уровня фекального зонулина у недоношенных детей в возрасте до 14 дней и установить взаимосвязь между его значениями и другими показателями, характеризующими статус глубоконедоношенных детей.

Характеристика детей и методы исследования

Нами обследованы 108 (44 мальчика и 64 девочки; 40,7 и 59,3% соответственно) недоношенных и 27 доношенных новорожденных, которые составили группу контроля. Всем детям, помимо общепринятого обследования, включающего лабораторные анализы крови (в том числе подсчет лейкоцитарного индекса интоксикации, определение С-реактивного белка), мочи, кала, рентгенографию грудной клетки и брюшной полости, выполняли ультразвуковое исследование (УЗИ) печени, почек, головного мозга. Всем беременным женщинам при поступлении, помимо общепринятых лабораторных анализов, проводили УЗИ плода с доплерографией. Общая характеристика детей в группах дана в табл. 1. В основной группе 57,4% детей получали адаптированную молочную смесь, на грудном вскармливании

Таблица 1. Клиническая характеристика и особенности перинатального периода у обследованных новорожденных основной ($n=108$) и контрольной ($n=27$) групп

Table 1. Clinical characteristics and features of the perinatal period of the examined newborns in the main ($n=108$) and control ($n=27$) groups

Признак	Основная группа	Контроль
Гестационный возраст, нед	28,8±0,4 (22,4–31,5)*	38,6±0,6 (37,2–39,3)
Масса при рождении, г	1348,1±69,8 (803–2106)*	3262,5±188,7 (2800,0–3960)
Длина при рождении, см	35,5±0,6 (27–40)*	50,2±0,7 (47–53)
Гендерное соотношение: мальчики (М)/девочки (Д), абс.; %	44/64; 40,7%/59,3%	12/15; 44,4%/55,6%
Длительность безводного периода, ч	13,8±6,1 (0–192)*	5,1±3,9 (0–11)
Преэклампсия тяжелой степени у матери	30 (27,7%)*	1 (10%)
Нарушение маточно-плодово-плацентарного кровотока II и III степени	46 (42,5%)*	1 (3,7%)
Не получили антенатальную стероидную профилактику или она не была завершена	26 (24,0%)	–

Примечание. *Достоверность различий ($p<0,05$) при сравнении с показателями контрольной группы. Данные представлены в виде $M\pm m$ (размах колебаний), если не указано другое.

находились 18,5% новорожденных, остальные — на смешанном. У 86 (79,6%) недоношенных основным диагнозом в первые 3 дня жизни был синдром дыхательных расстройств, в остальных случаях установлен диагноз врожденной пневмонии или сепсиса. Сопутствующие патологические состояния — перинатальное поражение ЦНС (у 40,7%) и асфиксия (у 7,4%).

Исследования фекального зонулина проводили в динамике: на 3, 7 и 14-й дни жизни. Содержание зонулина в кале определяли с использованием реактивов фирмы Immunodiagnostik (Германия) методом энзимсвязанного иммуносорбентного анализа (ELISA). Согласно инструкции изготовителя медианная концентрация фекального зонулина 61 ± 46 нг/мл оценивалась как нормальная.

Для всех количественных признаков в сравниваемых группах производилась оценка средних арифметических (M), среднеквадратических (стандартных) ошибок среднего (m), доверительного коэффициента Стьюдента (t) при заданном уровне значимости (p). Различия во всех случаях считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Оценку результатов исследования осуществляли с использованием пакета программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft Inc., США) и Excel (Microsoft, США). Для оценки связи признаков применяли корреляционный анализ Пирсона.

Результаты

Уровни фекального зонулина были высокими во все дни его определения, причем наибольшими — на 7-й день и более низкими — на 14-й день определения (табл. 2). Для выявления причин повышенных уровней зонулина у недоношенных детей мы проанализировали их корреляции с клинико-лабораторными показате-

лями, характеризующими состояние ребенка и матери. Нами выявлена положительная корреляция средней силы между содержанием фекального зонулина на 3-й день жизни и фибриногена в крови матери ($r=0,33$). Уровни зонулина на 7-е сутки положительно коррелировали с амилореей ($r=0,30$) и увеличением количества лейкоцитов в кале ($r=0,30$). На 14-й день была выявлена положительная корреляция с нарушением маточно-плацентарного кровообращения ($r=0,29$) и протромбиновым индексом матери ($r=0,50$). Таким образом, повышенные уровни зонулина при рождении у недоношенных детей могут быть связаны с нарушением маточно-плацентарного кровообращения, расстройством переваривания и воспалительным процессом в кишечнике [11].

Для изучения связи между уровнем фекального зонулина и такого грозного осложнения, как некротизирующий энтероколит новорожденных, мы разделили всех пациентов на 2 группы. В 1-ю группу вошли 10 детей, у которых развился некротизирующий энтероколит на $10,2 \pm 4,5$ -й день жизни, во 2-ю группу — 81 ребенок без некротизирующего энтероколита.

Примечательно, что в 1-й группе мы наблюдали почти двукратное, достоверное увеличение уровня зонулина. Принимая во внимание, что некротизирующий энтероколит развился в среднем на 10-й день жизни, можно предположить, что уровень фекального зонулина на 7-й день жизни служит предиктором начала некротизирующего энтероколита новорожденных. На 14-й день наблюдалось существенное снижение уровня фекального зонулина (табл. 3).

В дальнейшем мы использовали кластерный метод анализа содержания фекального зонулина. Все численные значения содержания фекального

Таблица 2. Уровни фекального зонулина (нг/мл) у обследованных детей

Table 2. Values of fecal zonulin (ng/ml) in the examined children

Группа	На 3-й день		На 7-й день		На 14-й день	
	Число исследований	Уровень фекального зонулина, нг/мл, $M \pm m$ (размах колебаний)	Число исследований	Уровень фекального зонулина, нг/мл, $M \pm m$ (размах колебаний)	Число исследований	Уровень фекального зонулина, нг/мл, $M \pm m$ (размах колебаний)
Основная	40	$490,9 \pm 73,5$ (81,0–1400,0)*	32	$507,7 \pm 77,2$ (105,0–1190,0)*	36	$430,0 \pm 60,4$ (140,0–870,0)*
Контрольная	27	$28,5 \pm 3,6$ (12,5–55,0)	15	$64,1 \pm 5,1$ (10,7–76,2)	15	$89,8 \pm 5,8$ (13,8–81,2)

Примечание. *Достоверность различий ($p < 0,05$) при сравнении с показателями контрольной группы.

Таблица 3. Уровни фекального зонулина (нг/мл) у новорожденных с некротизирующим энтероколитом (1-я группа) и без такового (2-я группа)

Table 3. Zonulin values (ng/ml) in newborns with necrotizing enterocolitis (group 1) and without it (group 2)

Дни жизни	1-я группа ($n=10$)	2-я группа ($n=81$)	p
3-й	$339,5 \pm 78,9$	$373,7 \pm 65,8$	$>0,05$
7-й	$618,4 \pm 89,9$	$343,5 \pm 76,7$	$<0,05$
14-й	$213,3 \pm 45,9$	$376,9 \pm 66,5$	$<0,05$

зонулина в разные дни определения были разделены на кластеры. В кластер А вошли 52 пациента с уровнем фекального зонулина до 500 нг/мл, в кластер Б — 40 детей со значениями от 500 до 1000 нг/мл и в кластер В — 16 детей с самыми высоким уровнем фекального зонулина (более 1000 нг/мл).

При анализе показателей, характеризующих состояние ребенка и матери, выявлено, что во всех трех кластерах на 3-й день жизни такие характеристики, как скорость наращивания питания, время отхождения мекония, процент потери массы тела, фекальные показатели переваривания пищи и воспаления, не имели статистически значимых различий.

На 7-й день жизни по уровням фекального зонулина мы имели две группы: с уровнем фекального зонулина до 500 нг/мл ($n=20$) и от 500 до 1000 нг/мл ($n=12$). Обращало внимание, что в кластере детей с более высокими уровнями фекального зонулина был достоверно повышен маркер воспалительного процесса — С-реактивный белок (кластер А — $9,6 \pm 1,0$ нг/мл; кластер Б — $18,0 \pm 2,7$ нг/мл; $t=2,94$; $p<0,001$). Уровни гемоглобина, определяемые на 1–2-е сутки жизни у новорожденных в кластере Б, имели более низкие значения (соответственно $175,1 \pm 2,7$ и $152,5 \pm 4,2$ г/л; $t=2,31$; $p<0,001$).

На 14-й день жизни мы имели также два кластера: 24 ребенка с уровнем фекального зонулина до 500 нг/мл ($140–480$ нг/мл) и 12 детей с уровнем фекального зонулина от 500 до 870 нг/мл. В кластере А протромбиновый индекс матери составил $82,0 \pm 1,4\%$, в кластере Б — $96,0 \pm 1,9\%$ ($t=5,89$; $p<0,001$). Различия по другим анализируемым показателям были недостоверными. Анализ клинических и лабораторных данных 16 недоношенных, составивших кластер В, выявил лишь связь с маркерами воспалительного ответа (уровень С-реактивного белка).

Обсуждение

В доступной литературе мы не нашли исследований по изучению уровня фекального зонулина у недоношенных детей. По нашему мнению, заслуживает внимания исследование А. Веин и соавт. [12], которые исследовали образцы кишечника у 6 пациентов с некротизирующим энтероколитом новорожденных и сравнили их с 6 контрольными образцами, полученными от пациентов, подвергшихся операциям по другим причинам. Результаты показали, что проницаемость кишечной стенки не связана с гестационным возрастом или массой при рождении, но выше, чем у доношенных новорожденных, и повышена в первые дни жизни. Полученные нами данные по определению фекального зонулина в определенной степени подтверждают эти заключения, если рассматривать зонулин как показатель нарушения кишечной проницаемости. Однако многократное превышение его содержания у недоно-

шенных детей вызывает необходимость дальнейших исследований.

А. Tarko и соавт. [13] исследовали уровень зонулина в сыворотке крови у 81 новорожденного с сепсисом, некротизирующим энтероколитом, ротавирусной инфекцией и гастрошизисом, у недоношенных с низким гестационным возрастом и в контроле (здоровые новорожденные). Концентрация зонулина сравнивалась с уровнем С-реактивного белка, прокальцитонина, количеством лейкоцитов и тромбоцитов. Средние уровни зонулина в группах с ротавирусной инфекцией и гастрошизисом были заметно выше, чем контрольные показатели. Его концентрация в сыворотке у новорожденных с некротизирующим энтероколитом была в 2 раза выше, чем в контроле, но различия не достигли статистической значимости. Уровень зонулина не был взаимосвязан с уровнем прокальцитонина и С-реактивного белка. Наши данные показали положительную корреляцию между высокими уровнями фекального зонулина и С-реактивного белка в сыворотке крови на 7-й день жизни у недоношенных детей.

В. Saleem и соавт. [14] для проверки гипотезы, что вид питания и применение антибиотиков влияют на созревание кишечного барьера у недоношенных новорожденных, определяли биомаркеры кишечной проницаемости у младенцев первых 2 нед жизни, родившихся до 33 нед беременности. Авторы определили, что эксклюзивное кормление грудным молоком ассоциировалось с более быстрым созреванием функции кишечного барьера. В кластерном анализе 35 пациентов были обнаружены три варианта проницаемости кишечника и установлено влияние более продолжительного воздействия антибиотиков ($p=0,092$) и отсроченного начала кормления ≥ 4 дней ($p=0,064$) у младенцев с аномальными типами проницаемости кишечника. Тем не менее авторы отметили, что уровень зонулина в сыворотке крови не коррелировал с проницаемостью кишечника.

Таким образом, анализ динамики содержания фекального зонулина у недоношенных детей выявила многократное повышение его значений в течение 14 дней жизни по сравнению со здоровыми доношенными детьми. Уровни фекального зонулина на 7-й день жизни были достоверно выше у новорожденных, у которых на $10 \pm 4,7$ -е сутки жизни развился некротизирующий энтероколит. Выявлена прямая корреляция между уровнями фекального зонулина и показателями, характеризующими нарушение маточно-плацентарного кровообращения. Можно предположить, что состояние гипоксии, связанное с нарушением микроциркуляции и анемией матери, обуславливает повышение проницаемости кишечника недоношенного ребенка и способствует неблагоприятному течению созревания желудочно-кишечного тракта.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Брыксина Е.Ю., Брыксин В.С. Функциональная патология верхних отделов желудочно-кишечного тракта у недоношенных: патогенетические аспекты развития микроаспирации желудочного содержимого. Вестник РУДН, серия Медицина 2015; 3: 107–114. [Bryksina E.Yu., Bryksin V.S. Functional pathology of the upper gastrointestinal tract in prematurity: pathogenetic aspects of the development of microaspiration of gastric contents. Vestnik RUDN 2015; 3: 107–114. (in Russ)]
2. Беляева И.А., Бомбардинова Е.П., Тарзьян Э.О. Дисфункция пищеварения у недоношенных детей. Вопросы современной педиатрии 2012; 11(6): 75–79. [Belyaeva I.A., Bombardirova E.P., Tarzyan E.O. Digestive Dysfunction in Premature Babies. Voprosy sovremennoi pediatrii 2012; 11(6): 75–79. (in Russ)]
3. Диагностика и комплексная реабилитация перинатальной патологии новорожденных детей. Под ред. Г.В. Яцык. М.: Педиатр, 2012; 232. [Diagnosis and Complex Remedy of Perinatal Pathology in Newborns. G.V. Yatsyk (ed.). Moscow, Pediatr, 2012; 232. (in Russ)]
4. Беляева И.А., Яцык Г.В., Одинаева Н.Д., Тарзьян Э.О. Современные проблемы выхаживания недоношенных детей: вопросы питания. Вопросы современной педиатрии 2011; 10(1): 134–139. [Belyaeva I.A., Yatsyk G.V., Odinaeva N.D., Tarzyan E.O. Current problems of premature babies nursing: nutrition issues. Voprosy sovremennoi pediatrii 2011; 10(1): 134–139. (in Russ)]
5. Неонатология. Под ред. Г.В. Яцык, Г.А. Самсыгиной. М.: Династия, 2006; 464. [Neonatology. G.V. Yatsyk, G.A. Samsygina (eds). Moscow: Dinastiya, 2006; 464. (in Russ)]
6. Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей. Мат. XIII конгресса детских гастроэнтерологов России. Под ред. В.А. Таболина. М., 2010; 145. [Actual problems of abdominal pathology in children. Proc of the XIII Congress of Pediatric Gastroenterologists of Russia. V.A. Tabolin (ed.). Moscow, 2010; 145. (in Russ)]
7. Кучеров Ю.И., Жиркова Ю.В., Шишкина Т.Н., Михалев И.А., Арса А.В., Чеботова Л.И. Диагностика и лечение некротического энтероколита у недоношенных. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2014; 59(6): 18–24. [Kucherov Yu.I., Zhirkova Yu.V., Shishkina T.N., Mikhalev I.A., Arsa A.V., Chebotaeva L.I. Necrotizing enterocolitis in premature infants: Diagnosis and treatment. Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics) 2014; 59(6): 18–24. (in Russ)]
8. Fasano A., Not T., Wang W., Uzzau S., Berti I., Tommasini A., Goldblum S.E. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. Lancet 2000; 355(9214): 1518–1519. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02169-3
9. Drago S., El Asmar R., Di Pierro M., Grazia Clemente M., Tripathi A., Sapone A. et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. Scand J Gastroenterol 2006; 41(4): 408–419. DOI: 10.1080/00365520500235334
10. El Asmar R., Panigrahi P., Bamford P., Berti I., Not T., Coppa G.V., Catassi C., Fasano A. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. Gastroenterol 2002; 123(5): 1607–1615. DOI: 10.1053/gast.2002.36578
11. Мурашко А.В., Драпкина Ю.С., Королева Н.С. Течение беременности и свертывающая система крови. Архив акушерства и гинекологии 2016; 3(4): 181–187. [Murashko A.V., Drapkina Yu.S., Koroleva N.S. The course of pregnancy and the blood coagulation system. Arkhiv akusherstva i ginekologii 2016; 3(4): 181–187. (in Russ)] DOI: 10.18821/2313-8726-2016-3-4-181-187
12. Bein A., Eventov-Friedman S., Arbell D., Schwartz B. Intestinal tight junctions are severely altered in NEC preterm neonates. Pediatr Neonatol 2018; 59(5): 464–473. DOI: 10.1016/j.pedneo.2017.11.018
13. Tarko A., Suchojad A., Michalec M., Majcherczyk M., Brzozowska A., Maruniak-Chudek I. Zonulin: A Potential Marker of Intestine Injury in Newborns. Dis Markers 2017; 2017: 2413437. DOI: 10.1155/2017/2413437
14. Saleem B., Okogbule-Wonodi A.C., Fasano A., Magder L.S., Ravel J., Kapoor S., Viscardi R.M. Intestinal Barrier Maturation in Very Low Birthweight Infants: Relationship to Feeding and Antibiotic Exposure. J Pediatr 2017; 183: 31–36.e1. DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.01.013

Поступила: 22.01.19

Received on: 2019.01.22

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.