

UDC: 616-053.31/.32-07:611.814:577.17
DOI: 10.24061/2413-4260.XII.2.44.2022.5

КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ КОРЕЛЯТИ ФУНКЦІЇ ШИШКОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ У НЕМОВЛЯТ З НАДЗВИЧАЙНО МАЛОЮ МАСОЮ ТІЛА ПРИ НАРОДЖЕННІ

Т.М. Клименко, Г.А. Кузєнкова

Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України
(м. Харків, Україна)

Резюме

Вступ. В адаптації до постнатального життя і у компенсації найбільш поширеної перинатальної патології передчасно народжених немовлят вкрай важлива роль належить функціональній активності шишкоподібної залози.

Мета дослідження. Визначити рівень 6-сульфоксимелатоніну сечі на першу добу життя у передчасно народжених немовлят з надзвичайно малою масою тіла та провести патоморфологічне дослідження зразків епіфізів у дітей, що померли, з подальшим клініко-морфологічним зіставленням.

Матеріал і методи дослідження. У 46 передчасно народжених дітей з надзвичайно малою масою тіла визначали рівень метаболіту мелатоніну в сечі 6-сульфоксимелатоніну у першу добу життя. У 20 померлих дітей проводили макро- й мікроскопічне дослідження шишкоподібної залози з використанням імуногістохімічного метода.

Результати дослідження. Усі передчасно народжені немовлята з надзвичайно малою масою тіла при народженні мали перинатальну патологію, яка призвела до летальних випадків у 20 з них. Екскреція з сечею метаболіта мелатоніну - 6-сульфоксимелатоніну у передчасно народжених немовлят з надзвичайно малою масою тіла у першу добу життя, які мали летальні наслідки, достовірно зменшена порівняно з дітьми, які вижили, що свідчить на користь виснаження функціональної активності шишкоподібної залози та може слугувати маркером несприятливого перебігу неонатального періоду. Морфологічно в епіфізі мозку передчасно народжених немовлят з надзвичайно малою масою тіла відбувається посилення морфо-функціональної активності пінеальних клітин. Це підтверджується морфометричними даними та збільшенням експресії MelanA і S100 при імуногістохімічному дослідженні.

Макро- та мікроскопічні дані свідчать про те, що позаутробне існування за умов перинатальної патології обумовлює прискорення диференціювання і виснаження епіфізу з пошкодженням тканини залози, що призводить до зменшення синтезу мелатоніну та його опосередкованого метаболіту 6-сульфоксимелатоніну, який виділяється із сечею.

Висновки. Знижена екскреція 6-сульфоксимелатоніну із сечею у передчасно народжених немовлят з надзвичайно малою масою тіла в першу добу життя та морфологічні зміни в епіфізах дітей, що померли, свідчать про виснаження функціональної активності шишкоподібної залози при перинатальній патології.

Ключові слова: мелатонін; недоношеність; шишкоподібна залоза.

Резюме

У патогенезі найбільш поширеної патології передчасно народжених немовлят вкрай важлива роль належить нейроендокринній системі, від функціонального стану якої залежить адаптація до постнатального життя [1]. В останні роки все більше сфокусована увага дослідників на антиоксидантному та антизапальному ефектах гормону епіфізу – мелатоніну [2]. На сьогодні накопичено недостатньо даних про роль епіфізу в адаптації та компенсації перинатальної патології та мало уваги приділяється вивченню особливостей функції епіфізу в новонароджених з надзвичайно малою масою тіла при народженні (НММТ) [3, 4]. Для розробки нових методів діагностики, терапії та профілактики перинатальної патології необхідним є пошук біологічних закономірностей та знання щодо особливостей функції епіфізу головного мозку у передчасно народжених немовлят [5]. Чітка увага про особливості адаптації в організації та компенсації структурно-функціональних змін у недоношених новонароджених виявляються досить актуальними. Сприяння медикаментозної підтримки процесів компенсації при виходженні передчасно народжених немовлят на підставі особливостей епіфізарних функцій та морфологічних властивостей є одним з важливих шляхів зниження

неонатальної захворюваності та смертності [6].

Мета

Визначити рівень 6-сульфоксимелатоніну сечі на першу добу життя у передчасно народжених немовлят з НММТ та провести патоморфологічне дослідження зразків епіфізів у дітей, що померли, з подальшим клініко-морфологічним зіставленням.

Матеріал і методи дослідження

Під спостереженням перебувало 46 передчасно народжених немовлят з НММТ (маса тіла від 500 г до 999 г). Рівень функціональної активності шишкоподібної залози вивчали за допомогою кількісного визначення рівню 6-сульфоксимелатоніну (6 – SM) в сечі у першу добу життя методом імуноферментного аналізу з використанням тесту BÜHLMANN 6-Sulfatoxymelatonin ELISA (BÜHLMANN Diagnostics Corp, США).

Для оцінки структурно-функціональних змін шишкоподібної залози у 20 передчасно народжених немовлят, померлих в ранньому неонатальному періоді, проводили морфологічне та гістологічне дослідження патологоанатомічних зразків епіфізів на базі клінічної лабораторії кафедри патологічної анатомії ХМАПО (завідувачка - професор І.І. Яковцова). Для гістологічного дослідження

епіфізу використовували підготовлені фіксовані мікропрепарати залози, які фарбувалися гематоксиліном та еозином. Розраховували морфометричні показники (площа ядер, площа клітини, ядерно-цитоплазматичний індекс).

Для імуногістохімічного дослідження матеріал фіксували 10 % нейтральним формаліном протягом 24 годин, заливали парафін, готували зрізи товщиною 4 мкм, які наносили на високоадгезивне скло Super Frost і висушували при температурі 37°C протягом 18 годин. Демаскуюча термічна обробка була виконана методом кип'ятіння зрізів у цитратному буфері (рН 6,0). Для візуалізації первинних антитіл застосовували систему детекції UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific). Як хромоген використовувався DAB (діамінобензидин). Застосовували антитіла маркерів MelanA (Vitro, Spain) та S100 (Leica Biosystems Newcastle, UK).

Для статистичного аналізу використовували пакети програм «Exel for Windows», «Statistica 7.0. for Windows». Перевірка розподілу даних на відповідність

закону Гаусса виконувалася за допомогою критерію Shapiro-Wilk's. Визначали медіану (Me); мінімальне та максимальне значення (min – мінімум та max – максимум), 95% довірчий інтервал (ДІ). Для порівняння двох незалежних вибірок використовували непараметричний U-критерій Mann-Whitney (MW test). Для порівняння часток використовували критерій F Фішера. Отримані під час статистичного аналізу дані вважали достовірними при $p < 0,05$. Протокол дослідження погоджений Локальним етичним комітетом установи.

Результати дослідження та обговорення

Перебіг материнської вагітності та пологів немовлят з НММТ включали такі стани: передчасний розрив плодових оболонок - 18 (39,1 %), ризик переривання вагітності - 13 (28,2 %), урогенітальні інфекції - 7 (15,2 %), багатоплідна вагітність - 12 (26,0 %), прееклампсія - 6 (13,0 %), кесарів розтин - 28 (68,0 %), дистрес плода - 13 (28,2 %). Клінічні та демографічні дані передчасно народжених немовлят з НММТ представлено у табл.1.

Таблиця 1

Клінічна характеристика передчасно народжених немовлят з НММТ

Дані	n (%)	95 % ДІ
Хлопчики	16 (34,7)	21,3 – 50,2
Дівчатка	30 (65,2)	49,7 – 78,6
Гестаційний вік:		
≤ 25 тижнів	4 (8,6)	2,4 – 20,7
26 тижнів	4 (8,6)	2,4 – 20,7
27 тижнів	7 (15,2)	6,3 – 28,8
28 тижнів	25 (54,3)	39,0 – 69,1
29 тижнів	8 (17,3)	7,8 – 31,4
Респіраторний дистрес-синдром	46 (100)	92,2 – 100,0
Анемія недоношених	15 (32,6)	19,5 – 48,0
Гіпоксично-ішемічна енцефалопатія	26 (56,6)	41,1 – 71,0
Вроджена пневмонія	20 (43,4)	28,9 – 58,8
Внутрішньошлуночковий крововилив	22 (47,8)	32,8 – 63,0
Сенсорна втрата слуху	16 (34,7)	21,3 – 50,2
Неонатальний сепсис	14 (30,4)	17,7 – 45,7
тяжка асфіксія	26 (56,6)	41,1 – 71,0
Ретинопатія недоношених	20 (43,4)	28,9 – 58,8
Бронхолегенева дисплазія	7 (15,2)	6,3 – 28,8
Некротизуючий ентероколіт	10 (21,7)	10,9 – 36,3

Результати аналізу вмісту 6-SM в сечі в першу добу життя у передчасно народжених немовлят з НММТ продемонстрували достовірне зменшення його у таких, що мали летальні наслідки. У немовлят, які вижили, показниками 6-SM в сечі були: 180,6 (min 22,0; max 501,0), 95 % ДІ 180,66 – 352,14 пг/мл, а в немовлят, які померли: 65,5 (min 7,00; max 501,00), 95 % ДІ 22,07 – 106,42 пг/мл (MW test, $p=0,0006$).

При макроскопічному дослідженні у немовлят епіфіз мав переважно півмісячну та конусоподібну

форми. При мікроскопічному дослідженні залоз у всіх спостереженнях виявлялися виражені ознаки гострого розладу кровообігу у вигляді різкої дилатації та повнокровності капілярів з їх розривами та формуванням мікрогематом, як у товщі паренхіми, так і у субкапсулярних відділах (рис.1).

При світловій мікроскопії спостерігалися переважно темні пінеалоцити зі мізерною цитоплазмою у вигляді тонкого обідка, множинні незрілі пінеалоцити з маленьким темним ядром. Ядра темних пінеалоцитів мали темну каріоплазму із безструк-

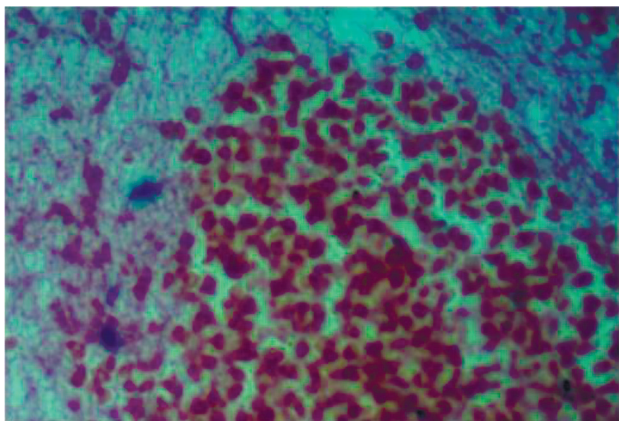


Рисунок 1. Мікрогематома у товщі епіфізарної паренхіми новонародженого з надзвичайно малою масою тіла. Забарвлення гематоксиліном еозином, x1000

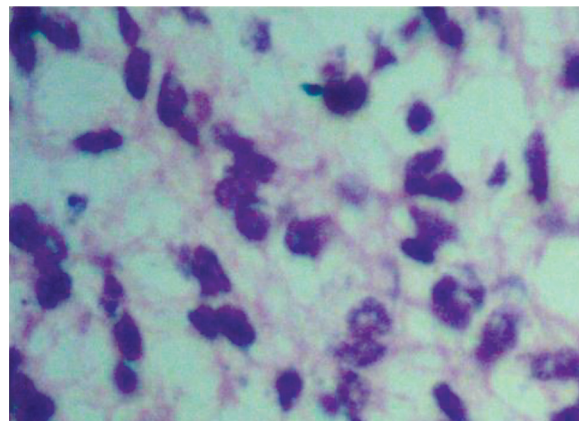


Рисунок 3. Ділянки вогнищевого та повного лізису пінеалоцитів в епіфізі новонародженого з надзвичайно малою масою тіла. Забарвлення гематоксиліном еозином, x1000

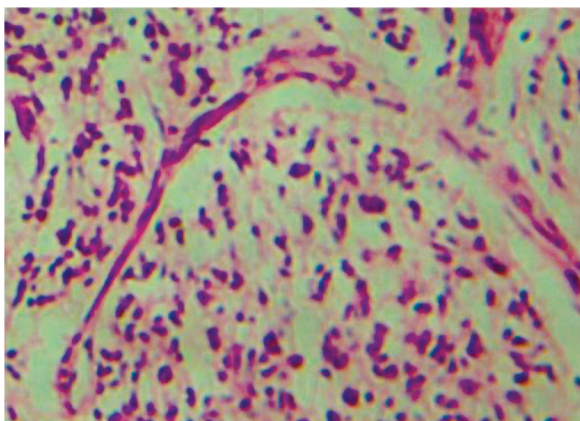


Рисунок 2. Світла зона під капсулою шишкоподібної залози новонародженого з надзвичайно малою масою тіла. Забарвлення гематоксиліном еозином, x400

турною масою конденсованого хроматину. Виявлялася невелика кількість світлих клітин з вакуолізованою цитоплазмою та округлим або кутастим ядром. Нами відзначено зниження площі активно функціонуючих світлих клітин (93,4 мкм²), причому площа ядра мала тенденцію до зниження (38,7 мкм²), а ядерно-цитоплазманий індекс склав 0.4. Світлі клітини спостерігалися не лише у центрі паренхіми залози, а й вогнищево по периферії, подекуди під капсулою, виявляється світла зона (рис. 2).

У деяких клітинах замість ядерців виявлялися тіні, рясна цитоплазма, у деяких клітинах виявляється порушення цілісності цитолемі та навіть її зникнення. Вогнищево у центрі часточок залози виявлялися скупчення рідини внаслідок лізису клітин (рис. 3).

Відомо, що перинатальна патологія, яка мала місце у передчасно народжених немовлят з НММТ, супроводжується окиснювальним стресом (ОС), що призводить до вільнорадикального ураження клітин, тканин та органів [7]. Шишкоподібна залоза продукує гормон мелатонін. Мелатонін (N-ацетил-5-метокситриптамін), більш відомий, як регулятор сну, виконує багато функцій, виявляючи величезну універсальність і різноманітність, оскільки має антиоксидантні, протизапальні, антиапоптотичні та інші властивості [8-10]. Основним метаболітом мелатоніну в сечі є 6-сульфатоксимелатонін (6-SM або aMT6s), який є надійним суро-

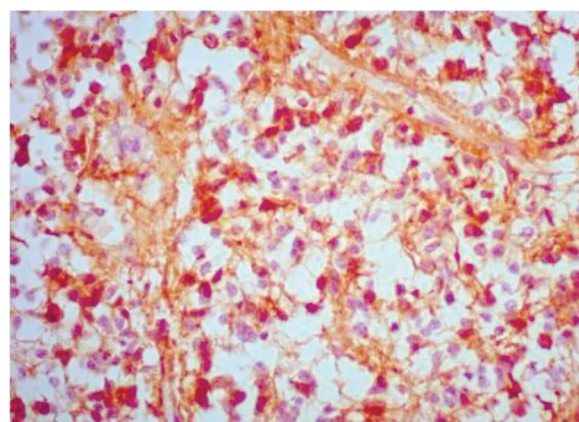


Рисунок 4. Помірна експресія MelanA у світлих пінеалоцитах залози дитини з надзвичайно малою масою тіла. Непрямий пероксидазний метод. Реакція з MelanA, x1000

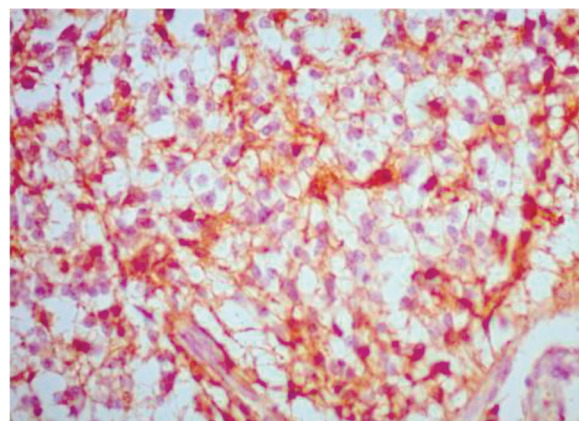


Рисунок 5. Помірна експресія S100 у світлих пінеалоцитах залози дитини з надзвичайно малою масою тіла. Непрямий пероксидазний метод. Реакція з S100, x1000

гатним біомаркером, що відображає концентрацію мелатоніну в крові [11].
Нашим дослідженням встановлено, що рівень 6-SM в сечі у передчасно народжених немовлят з НММТ на першу добу життя має свої відмінності залежно від перебігу неонатального періоду. Визначено його достовірне зменшення у немовлят,

які мали летальні наслідки. Згідно з літературними джерелами, багато перинатальних станів характеризуються ОС, а саме зменшенням захисної здатності антиоксидантів на тлі гіперпродукції вільних радикалів [12, 13]. Серед захворювань перинатального періоду, які супроводжуються ОС, визначені респіраторний дистрес-синдром, гіпоксично-ішемічна енцефалопатія, бронхолегенева дисплазія, некротизуючий ентероколіт, ретинопатія недоношених, внутрішньочерепні крововиливи, неонатальний сепсис та інші [14, 15].

Відомо, що незрілість та зменшені пристосовні механізми у передчасно народжених немовлят виснажуються починаючи ще внутрішньоутробно, під час народження та в постанатальний період життя завдяки таким стресовим факторам, як гіпоксія, гіпероксія, реперфузія та запалення [16]. Для більш глибокого розуміння цих процесів нами проведено клініко-морфологічне зіставлення функціональної та структурної особливості шишкоподібної залози головного мозку у передчасно народжених немовлят з НММТ.

У зв'язку із малими розмірами, особливостями розташування та безліччю функціонально-анатомічних зв'язків із проміжним мозком та ендокринними центрами, фізіологія шишкоподібної залози вивчена недостатньо як у дорослих так і у дітей. Тим більш, у передчасно народжених немовлят з НММТ. Завдяки застосуванню макроскопічного, гістологічного та гістохімічного методів ми дослідили деякі особливості структури та функції шишкоподібної залози у немовлят з НММТ.

Якщо брати до уваги, що немовлята, яких ми спостерігали, мали гестаційний вік від 25 до 29 тижнів, можна стверджувати, що в цей період внутрішньоутробного дозрівання шишкоподібна залоза вже функціонує. Функція її посилюється з подальшим виснаженням. Одержані дані щодо посилення морфо-функціональної активності пінеальних клітин у померлих немовлят підтверджують, що ця залоза відіграє надзвичайну роль у процесах позаутробної адаптації та виконує антиоксидативний захист. Одержані результати відкривають найважливіші перспективи подальших досліджень стосовно медикаментозної дотації передчасно народженим мелатоніну з першої доби життя з проведенням повномасштабних багаточисельних рандомізованих досліджень.

Висновки

Література

- Hillman NH, Kallapur SG, Jobe AH. Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life. *Clin Perinatol*. 2012;39(4):769-83. doi: 10.1016/j.clp.2012.09.009
- Chitimus DM, Popescu MR, Voiculescu SE, Panaitescu AM, Pavel B, Zagrean L, et al. Melatonin's impact on antioxidative and anti-inflammatory reprogramming in homeostasis and disease. *Biomolecules* [Internet]. 2020[cited 2022 Jun 13];10(9):1211. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7563541/pdf/biomolecules-10-01211.pdf> doi: 10.3390/biom1009121
- Wierrani F, Grin W, Hlawka B, Kroiss A, Grünberger W. Elevated serum melatonin levels during human late pregnancy and labour. *J Obstet Gynaecol*. 1997;17(5):449-51. doi: 10.1080/01443619750112411
- Клименко ТМ, Кварацхелія ТМ. Нейроендокринні та морфологічні особливості епіфізарних функцій у доношених та недоношених новонароджених у критичних станах. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. 2004;3:68.
- Tarocco A, Caroccia N, Morciano G, Wieckowski MR, Ancora G, Garani G, et al. Melatonin as a master regulator of cell death and inflammation: molecular mechanisms and clinical implications for newborn care. *Cell Death Dis* [Internet]. 2019[cited 2022 Jun 11];10(4):317. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6453953/pdf/41419_2019_Article_1556.pdf doi: 10.1038/s41419-019-1556-7
- Glass HC, Costarino AT, Stayer SA, Brett CM, Cladis F, Davis PJ. Outcomes for extremely premature infants. *Anesth Analg*. 2015;120(6):1337-51. doi: 10.1213/ANE.0000000000000705

1. Екскреція із сечею метаболіту мелатоніна 6-сульфоксимелатоніну у передчасно народжених немовлят з надзвичайно малою масою тіла у першу добу життя, які мали летальні наслідки, достовірно зменшена у порівнянні із дітьми, які вижили (у середньому 65,5 пг/мл та 180,6 пг/мл відповідно), що свідчить на користь виснаження функціональної активності шишкоподібної залози при перинатальній патології.

2. Морфологічно в епіфізі мозку передчасно народжених немовлят із надзвичайно малою масою тіла відбувається посилення морфо-функціональної активності пінеальних клітин, що підтверджується морфометричними даними (площа пінеалоцитів 93,4 мкм², площа ядер 38,7 мкм²) та збільшенням експресії MelanA S100 при імуногістохімічному дослідженні.

3. Хаотично розташовані пінеалоцити з вогнищами лізису по периферії, ділянками порушень кровообігу, маргінацією хроматину в ядрах і форсованим апоптозом розцінено як свідотцтво компенсації при перинатальній патології, що в свою чергу призводить до зменшення синтезу мелатоніну та його опосередкованого метаболіта 6 – сульфоксимелатоніна, який виділяється з сечею.

4. На підставі систематизації предикторів клінічного та імуногістохімічного компенсаторного впливу епіфізу мозку у передчасно народжених дітей з надзвичайно малою вагою тіла при народженні для діагностичного і прогностичного моніторингу при виходжуванні доцільним є використовувати рівень мелатоніну в сечі в ранньому неонатальному періоді.

Перспективи подальших досліджень

На підставі власних опублікованих та літературних даних, які підтверджують важливу роль епіфізу у нейроендокринній компенсації перинатальної патології, автори вважають за доцільне спрямувати майбутні наукові клінічні дослідження щодо використання мелатоніну у передчасно народжених немовлят із визначенням ефективної дози, її тривалості призначення під контролем функції шишкоподібної залози.

Конфлікт інтересів: автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування: самофінансування.

Автори висловлюють подяку професору Яковцовій І.І.

7. Belvisi E, Carloni S, Tei M, Alagna MG, Santacroce A, Riccitelli M, et al. Protective effects of melatonin on free radical-induced oxidative stress. *J Pediatr Biochem.* 2016;6(2):103-9. doi: 10.1055/s-0036-1593813.
8. Amaral FGD, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch Endocrinol Metab.* 2018;62(4):472-9. doi: 10.20945/2359-3997000000066
9. García-Navarro A, González-Puga C, Escames G, López LC, López A, López-Cantarero M, et al. Cellular mechanisms involved in the melatonin inhibition of HT-29 human colon cancer cell proliferation in culture. *J Pineal Res.* 2007;43(2):195-205. doi: 10.1111/j.1600-079X.2007.00463.x
10. Tan DX, Manchester LC, Esteban-Zubero E, Zhou Z, Reiter RJ. Melatonin as a potent and inducible endogenous antioxidant: synthesis and metabolism. *Molecules.* 2015;20:18886-906. doi: 10.3390/molecules201018886
11. Xu J, Huang L, Sun GP. Urinary 6-sulfatoxymelatonin level and breast cancer risk: systematic review and meta-analysis. *Sci Rep [Internet].* 2017[cited 2022 Jun 12];7(1):5353. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5509698/pdf/41598_2017_Article_5752.pdf doi: 10.1038/s41598-017-05752-9
12. Perez M, Robbins ME, Revhaug C, Saugstad OD. Oxygen radical disease in the newborn, revisited: Oxidative stress and disease in the newborn period. *Free Radic Biol Med [Internet].* 2019[cited 2022 Jun 12];142:61-72. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6791125/pdf/nihms-1054113.pdf> doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.035
13. Torres-Cuevas I, Parra-Llorca A, Sánchez-Illana A, Nuñez-Ramiro A, Kuligowski J, Cháfer-Pericás C, et al. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox Biol.* 2017;12:674-81. doi: 10.1016/j.redox.2017.03.011
14. Ahmad QM, Chishti AL, Waseem N. Role of melatonin in management of hypoxic ischaemic encephalopathy in newborns: A randomized control trial. *J Pak Med Assoc.* 2018;68(8):1233-7.
15. Saugstad OD. The oxygen radical disease in neonatology. *Indian J Pediatr.* 1989;56(5):585-93. doi: 10.1007/BF02722373
16. Matyas M, Zaharie G. Antioxidants at Newborns. In: Shalaby E, editor. *Antioxidants [Internet].* London: IntechOpen; 2019[cited 2022 Jun 15].

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CORRELATES OF PINEAL GLAND FUNCTION IN INFANTS WITH EXTREMELY LOW BODY WEIGHT

T. Klymenko, G. Kuzienkova

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education Ministry of Health of Ukraine
(Kharkiv, Ukraine)

Summary

Introduction. The functional activity of the pineal gland plays a dramatic important role in the adaptation to postnatal life and in the pathogenesis of the most common perinatal pathology of premature infants.

The aim of the study. To determine the morphofunctional features of the pineal gland in premature infants with extremely low body weight.

Material and methods. In 46 preterm infants with extremely low birth weight, the level of melatonin metabolite in urine 6-sulfoxymelatonin was determined at first day of life. The 20 dead infants underwent macro- and microscopic examination of the pineal gland using the immunohistochemical method.

Results. All preterm infants with extremely low birth weight had perinatal pathology, which led to death in 20 of them. Urinary excretion of the metabolite melatonin 6-sulfoximelatonin in preterm infants with extremely low birth weight in the first day of life, which had fatal consequences, significantly reduced compared with surviving children, indicating depletion of functional activity of the pineal gland and may be as a marker of adverse course of the neonatal period. Morphologically, in the pineal gland of premature infants with extremely low body weight there is an increase in morphofunctional activity of pineal cells. This is confirmed by morphometric data and increased expression of MelanA and S100 in immunohistochemical studies. Macro- and microscopic data suggest that extrauterine existence in distress conditions accelerates the differentiation of the pineal gland (depletion) and indicates the presence of damage to glandular tissue, which in turn reduces the synthesis of melatonin and its mediated metabolite 6 – sulfoxymelatonin in urine.

Conclusions. Decreased urinary excretion of 6-sulfoximelatonin in preterm infants with extremely low birth weight in the first day of life and morphological changes in the pineal gland of deceased children indicate depletion of functional activity of the pineal gland in conditions of perinatal pathology.

Key words: Melatonin; Prematurity; Pineal Gland.

Контактна інформація:

Клименко Тетяна Михайлівна – доктор медичних наук, професор, завідувача кафедри неонатології Харківської медичної академії післядипломної освіти (м. Харків, Україна)

e-mail: klimenko57.t@gmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6936-8557>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/H-3698-2017>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701325386>

Кузенкова Ганна Аркадіївна – здобувач PhD, Харківська медична академія післядипломної освіти (м. Харків, Україна)

e-mail: annakuzenkova15@gmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2955-730X>

© Т.М. Клименко, Г.А. Кузенкова, 2022

Contact Information:

Tetiana Klymenko – MD, Professor, Head of Neonatology Department of Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (Kharkov, Ukraine)

e-mail: klimenko57.t@gmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6936-8557>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/H-3698-2017>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701325386>

Ganna Kuzienkova – PhD postgraduate, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (Kharkiv, Ukraine)

e-mail: annakuzenkova15@gmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2955-730X>

© Т.М. Klymenko, G.A. Kuzenkova, 2022



Надійшло до редакції 10.03.2022 р.
Підписано до друку 16.05.2022 р.