

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.2-018.7:616.211/24]-07-053.2

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-69-79>

Поступила в редакцию 03.04.2020

Received 03.04.2020

А. Н. Асташонок<sup>1</sup>, Н. Н. Полещук<sup>1</sup>, Л. В. Рубаник<sup>1</sup>,  
В. И. Бобровнический<sup>2</sup>, А. В. Петрученя<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>3-я городская детская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Минская центральная районная больница, Минский р-н, Республика Беларусь

## ПАТОМОРФОЗ МЕРЦАТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВЕРХНИХ И НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ: УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ И НАНОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

**Аннотация.** Охарактеризован цитоморфологический профиль соскобного эпителия носовой полости и в ряде случаев (26,19 %) биоптатов трахен и бронхов у детей с острыми и хроническими заболеваниями дыхательной системы. Констатировано перераспределение реснитчатых эпителиоцитов носовой полости в пользу слизь-секретирующих (бокаловидных) клеток (группа острых респираторных инфекций – соотношение 2,3:1; группа хронических заболеваний легких (ХЗЛ) – 1:2,4 при нормальных значениях данных показателей 5:1. У 28 (64,29 %) пациентов выявлена метаплазия слизистой на фоне локальной лейкоцитарной инфильтрации. С использованием атомно-силовой микроскопии описан патоморфоз цитоплазматической мембраны реснитчатых эпителиоцитов, характеризующийся изменением параметров текстурированности ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_{sk}$ ,  $R_{max}$ ,  $R_{sk}$ ) и средней волнистости ( $W_a$ ) их поверхности в группе ХЗЛ ( $R_a$  –  $34,94 \pm 7,8$  нм;  $R_q$  –  $41,26 \pm 7,5$ ;  $R_{max}$  –  $225,55 \pm 44,43$ ;  $R_{sk}$  – 1,2;  $W_a$  –  $43,23 \pm 12,4$  нм) по сравнению с контролем ( $R_a$  –  $7,22 \pm 1,94$  нм;  $R_q$  –  $11,43 \pm 1,83$ ;  $R_{max}$  –  $111,83 \pm 29,26$ ;  $R_{sk}$  – 0,33;  $W_a$  –  $83,81 \pm 29,55$  нм). Выявлены отклонения в микрогеометрии фактора формы ресничек, связанные с формированием аномально длинных цилий (10–12 мкм), уменьшением (0,095–0,15 мкм) и/или утолщением (0,3–0,4 мкм) их диаметра, а также пространственная дезориентация по типу «штопороподобного перекручивания». На основании электронномикроскопического анализа у двух пациентов идентифицирована патология наружных динейновых ручек, что позволило установить наличие наследственно обусловленной аномалии аксонемы ресничек.

**Ключевые слова:** атомно-силовая микроскопия, патоморфоз мерцательного эпителия, цилиарная дискинезия, ультраструктурный анализ

**Для цитирования:** Патоморфоз мерцательного эпителия респираторного тракта у детей с заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей: ультраструктурный и наноскопический анализ / А. Н. Асташонок [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 69–79. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-69-79>

Andrei N. Astashonok<sup>1</sup>, Nikolay N. Poleshchuk<sup>1</sup>, Lyudmila V. Rubanik<sup>1</sup>,  
Vladimir I. Bobrovnichiy<sup>2</sup>, Anastasiya V. Petruchenya<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>3th City Children's Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Minsk Central Regional Hospital, Minsk region, Republic of Belarus

## CILIATED COLUMNAR EPITHELIUM PATHOMORPHOSIS IN CHILDREN WITH UPPER AND LOWER RESPIRATORY INFECTIONS: ULTRASTRUCTURAL AND NANOSCOPIC ANALYSIS

**Abstract.** The cytomorphological profile of nasal epithelium in children with acute and chronic respiratory disorders was characterized. The redistribution of nasal ciliary epithelial cells in favor of the mucus-secreting (goblet) cells was observed (group with acute respiratory infection – ratio 2.3:1; group with chronic lung disease – 1:2.4) with normal values of these indicators 5:1 (control group). The mucosal metaplasia, against a background of local leukocyte infiltration, was detected among 28 patients (64.29 %). Using atomic force microscopy, the pathomorphosis of the cytoplasmic membrane ciliated epithelium was described, which characterized by the changes in roughness parameters ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_{sk}$ ,  $R_{max}$ ,  $R_{sk}$ ) and waviness ( $W_a$ ) in group with chronic lung disease ( $R_a$  –  $34.94 \pm 7.8$  nm,  $R_q$  –  $41.26 \pm 7.5$ ,  $R_{max}$  –  $225.55 \pm 44.43$ ,  $R_{sk}$  – 1.2,  $W_a$  –  $43.23 \pm 12.4$  nm) compared with control group ( $R_a$  –  $7.22 \pm 1.94$  nm,  $R_q$  –  $11.43 \pm 1.83$ ,  $R_{max}$  –  $111.83 \pm 29.26$ ,  $R_{sk}$  – 0.33,  $W_a$  –  $83.81 \pm 29.55$  nm). Several deviations in microgeometry of the cilia form factor were revealed, which associated with formation of abnormally long cilia (10–12  $\mu$ m), decreasing (0.095–0.15  $\mu$ m) and/or a thickening (0.3–0.4  $\mu$ m) of their diameter, as well as spatial disorientation like the “corkscrew twisting”. Based on the electron microscopic analysis, anomalies in external dynein arms of the cilia axoneme were revealed, which made it possible to confirmed in two patients the hereditary respiratory pathology.

**Keywords:** atomic force microscopy, ciliary epithelium pathomorphosis, ciliary dyskinesia, ultrastructural analysis

**For citation:** Astashonok A. N., Poleshchuk N. N., Rubanik L. V., Bobrovnichiy V. I., Petruchenya A. V. Ciliated columnar epithelium pathomorphosis in children with upper and lower respiratory infections: ultrastructural and nanoscopic analysis. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 69–79 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-69-79>

**Введение.** Мерцательный (цилиарный) эпителий представляет собой одно- или многорядный пласт столбчатых и кубовидных клеток, имеющих на апикальной поверхности волосковидные отростки (реснички), способные к биению [1]. Цилиарный эпителий (ЦЭ) слизистых респираторного тракта является наиболее важным защитным барьером, препятствующим попаданию в макроорганизм таких внешних факторов, как вирусные и бактериальные агенты, аллергены, токсические вещества, пыль и другие инородные частицы [1]. В зависимости от анатомического расположения различают 4 ключевых цитотипа ЦЭ: 1 – реснитчатые эпителиоциты (РЭ); 2 – не реснитчатые эпителиоциты; 3 – бокаловидные клетки (БК); 4 – вставочные (базальные) клетки [1].

РЭ – наиболее многочисленный высокодифференцированный тип клеток, которые в норме составляют от 50 до 80 % всех элементов ЦЭ [1, 2]. Они имеют полигональную форму, центральное ядро и расширенную апикальную часть, на которой располагается пучок из 200–300 ресничек, которые волнообразно колеблются с постоянной частотой 8–20 Гц [1, 2]. БК составляют второй по значимости цитотип ЦЭ с характерной морфологией в виде «кубка». На их поверхности хорошо заметны микроворсинки, округлое ядро, смещенное на нижнюю часть сомы, а также небольшое отверстие («стома»), из которого гранулы муцина и другие вещества (например, гликопротеины) секретируются посредством экзоцитоза во внеклеточное пространство [3]. Находясь во внеклеточной среде, муцин, смешиваясь с водой, превращается в слизь, которая вместе с продуктами метаболизма, корпускулярными частицами и др. удаляется из клетки ритмическими движениями ресничек эпителиоцитов [3]. В норме соотношение РЭ к БК не превышает 4:1 или 5:1 [4, 5]. В межклеточном пространстве при нормальных условиях также обнаруживаются единичные лейкоциты в виде лимфоидных клеток и нейтрофилов.

Патомеханизмы, лежащие в основе воспалительных заболеваний дыхательных путей, связаны главным образом с нарушениями структуры и функции ресничек, а также мукоцилиарного транспорта, что приводит к недостаточному функционированию барьерной, иммунологической и очистительной функций респираторного тракта [6]. Это обуславливает оседание чужеродных частиц или патогенных микроорганизмов на слизистых оболочках, блокирование их выведения вместе со слизью и, как следствие, к изменению количественного соотношения РЭ и БК, а также к гиперплазии или метаплазии клеток ЦЭ.

Факторы, которые влияют на патогенез респираторных заболеваний, многообразны. Среди них существенное значение имеют, с одной стороны, врожденные (наследственные) аномалии, а с другой – нарушения гуморального (Т- и В-клеточный ответ) и/или клеточных звеньев (фагоциты, макрофаги) иммунитета, возникающих в антенатальном или неонатальном периоде [7]. Следует учитывать тот факт, что наследственный компонент рассматривается как один наиболее важнейших звеньев, влияющих на частую склонность к респираторным заболеваниям и развитию осложнений.

Большое внимание уделяется роли эпителия в патогенезе заболеваний дыхательной системы. Следует отметить, что функциональные и морфологические изменения ЦЭ возникают гораздо раньше клинических проявлений. Эти нарушения можно более точно выявлять с использованием методов высокоразрешающей микроскопии, таких как электронная (ЭМ) и атомно-силовая микроскопия (АСМ). ЭМ позволяет не только детализировать тонкие дефекты в организации реснитчатого аппарата клеток, но и оценивать морфофункциональное состояние других клеточных элементов при различных патологиях респираторного тракта [8]. При первичной цилиарной дискинезии (ПЦД) наиболее часто встречаются дефекты наружных динеиновых ручек (НДР) (26–59 %) и комбинированные изменения (6–39 %), связанные одновременно с аномалиями НДР и внутренних динеиновых ручек (ВДР), транслокацией центральной пары микротрубочек, нарушением радиальных спиц аксономы [9]. АСМ является мощным инструментом для наблюдения структурно-функциональных свойств поверхности (топография, шероховатость, жесткость и упругость цитоплазматической мембраны), картографирования пространственного распределения и физико-химических свойств отдельных молекул, картирования молекулярной организации клеточных

мембран или отдельных белковых доменов в ее составе [10]. Тем не менее, в доступной литературе нет сведений о сочетанном применении АСМ и ЭМ для анализа структурно-функциональных изменений клеток ЦЭ при заболеваниях респираторного тракта.

Цель работы – охарактеризовать цитоморфологический состав слизистой носовой полости и в ряде случаев биоптатов трахеи и бронхов, а также выявить нано- и ультраструктурные маркеры патоморфоза реснитчатых эпителиоцитов у детей с острыми и хроническими заболеваниями дыхательной системы.

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 50 детей в возрасте от 4 до 17 лет, госпитализированных в УЗ «3-я городская детская клиническая больница» г. Минска: 24 ребенка с острым и рецидивирующим бронхитом, пневмонией (I группа); 7 детей с бронхиальной астмой (II группа); 11 лиц с хроническими заболеваниями легких (ХЗЛ) – муковисцидозом, ПЦД), бронхоэктатической болезнью (III группа); 8 детей с подозрением на инородное тело в бронхах без признаков респираторной инфекции (контрольная группа). В работе использовали общепринятые методы, включающие сбор анамнестических данных, клинко-инструментальный (рентгенограмма органов грудной клетки), общелабораторный и микробиологический анализ. Исследование одобрено локальным этическим комитетом УЗ «3-я ГДКБ г. Минска». Для участия в исследовании детей получено добровольное информированное согласие их родителей.

*Взятие мазков из носовой полости для цитологического анализа.* Взятие соскобного материала осуществляли без предварительного очищения пациентом верхних дыхательных путей. Процедура включала следующие этапы: 1) запрокидывание головы пациента под углом 90°; 2) введение в полость носа стерильной цитологической щетки (зонда «Юнона») на расстоянии 1,5–2 см; 3) мягкое прокручивание цитощетки носового хода (не менее 3 раз по часовой стрелке); 4) нанесение и равномерное распределение биоматериала путем прокатывания по обезжиренному предметному и/или покровному стеклу; 5) высушивание препарата в течение 5–10 мин с последующей его фиксацией 96 %-ным этиловым спиртом в течение 5 мин. Высушенные мазки-отпечатки окрашивали по методу Романовского–Гимза. На цитограммах определяли весь клеточный состав слизистой, который оценивали следующим образом: норма, воспаление, атрофические изменения и аллергические процессы.

*Методика взятия биоптатов из трахеи и/или бронхов.* В работе использовали аппарат для гибкой бронхоскопии KarlStorz–Endoskope с рабочим каналом 2,0 мм. Процедуру взятия материала осуществляли в стерильных условиях операционного зала. Пациента, лежащего на спине, обезболивали с помощью общей анестезии. Затем бронхоскоп вводили через нижний носовой ход в нижнюю носовую раковину, далее – в гортань до трахеи и/или главного бронха. Для взятия биопсийного материала использовали щипцы размером 1,2–1,8 мм, которые подносили перпендикулярно к месту взятия, открывали бранш, упирали в слизистую трахеи или бронха, закрывали бранш, затем извлекали щипцы с фрагментом биологического материала для исследования. Взятие биообразцов из трахеи и/или бронхов, а также дальнейший их анализ с использованием АСМ и ЭМ проводили только у пациентов III группы.

*Атомно-силовая микроскопия.* В работе использовали контактные кантилеверы CSC38/AIBS (константа жесткости – 0,03–0,09 Н/м, резонансная частота – 6–32 кГц) и тейпинговые микрозонды NSC15/AI BS (константа жесткости – 3–48 Н/м, резонансная частота – 60–330 кГц). Топографические изображения клеточных элементов ЦЭ получали на микроскопе Nanoscope IIIa MultiMode (Bruker, США), оборудованном J-сканером. Всего проанализировано 803 изображения реснитчатого эпителия, из которых 594 микрофотографии соответствовали эпителию носовой полости (группы I–III), а 209 снимков – слизистой трахеи (группа III). Обработку фотографий, а также оценку базовых параметров текстурированности (шероховатости) ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_{sk}$ ,  $R_{max}$ ), средней волнистости ( $W_a$ ), микропрофилей сечения (топологии) образца проводили с использованием программ Gwyddion 2.53, WSxM 5.0 Develop 9.1.

Дополнительно по результатам АСМ оценивали показатель дистрофического изменения РЭ по 4-кrestной шкале (х – норма; хх – частичная дистрофия с вовлечением ядра или цитоплазмы; ххх – значительная дистрофия, охватывающая и ядро, и цитоплазму; хххх – полное разрушение клеточных структур).

*Электронная микроскопия.* Для ультраструктурного анализа полученные биоптаты трахеи и бронхов обрабатывали согласно протоколу [11]. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме Ultracut E (Reichert Jung, Австрия) и исследовали на микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония) при увеличении 6000–200 000. Из приготовленных 26 блоков, залитых в специальные смолы, было получено 660 ультратонких срезов. С использованием цифровой фотокамеры микроскопа и программы ITEM 5.0 (Olympus, Германия) проанализировано 1118 электронных микрофотографий клеток ЦЭ, включая поперечные срезы ресничек эпителиоцитов.

*Статистическая обработка результатов.* Статистический анализ проводили в программе Statistica 7.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Результаты представлены как медиана (Me) и интерквартильный размах в виде 25 и 75 перцентилей: Me (25 %; 75 %) либо M (среднее)  $\pm$  SD (стандартное отклонение). Для статистического анализа различия считали статистически достоверными при достигнутом уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** *Цитологический анализ.* Данный метод использовали для оценки ключевых показателей (соотношения РЭ и БК, наличия маркеров воспалительного ответа – лейкоцитов) и анализа структурно-функционального состояния клеточного пласта слизистой.

Цитологический профиль носовой полости в контрольной группе был представлен многочисленными РЭ на фоне единичных БК и лейкоцитов (0–1), что свидетельствовало об отсутствии воспалительных реакций и патологических изменений. Плоский эпителий регистрировали в виде единичных клеточных элементов в минимальном количестве (0–2 в полях зрения). Других цитотипов не выявлено.

Совершенно иная картина отмечалась у детей групп I–III, у которых показатели цитограммы зависели от симптоматики и течения респираторного заболевания, наличия сопутствующей патологии (табл. 1).

Таблица 1. Количественные значения назоцитограммы детей групп I–III в сравнении с контролем

Table 1. Quantitative values of the nasocytograms in children (groups I–III) in comparison with control

Клеточный состав слизистой носа	Группа I (n = 24)	Группа II (n = 7)	Группа III (n = 11)	Контроль (n = 8)
РЭ, Me (25 %; 75 %)	33 [22; 38,5]	13,7 [10; 17]	12 [8; 18]	65,5 [57,5; 71,5]
БК, Me (25 %; 75 %)	14 [10; 15]	5,7 [3; 8]	29 [21; 32]	12 [10,5; 12]
Соотношение РЭ к БК	2,3:1	2,7:1	1:2,4	5,4:1
Не реснитчатые клетки, Me (25 %; 75 %)	9 [8; 13,5]	7,7 [5; 8]	9 [8; 13]	4,5 [2,5; 6,5]
Плоский (метаплазированный) эпителий, Me (25 %; 75 %)	2 [1; 5]	2,7 [1; 4]	4 [3; 8]	0 [0; 1]
Лейкоциты, Me (25 %; 75 %)	2 [0; 2,5]	6 [4; 10]	4 [2; 6]	0 [0; 1]
Эритроциты, абс. число	0–4	0	0	0

Примечание. РЭ – реснитчатые эпителиоциты, БК – бокаловидные клетки.

Показано, что у детей группы I наблюдалось увеличение количества БК на фоне умеренного содержания РЭ. Эти значения статистически отличались от показателей контрольной группы, что свидетельствовало о снижении эффективности слизисто-реснитчатого транспорта. У 2 (8,3 %) детей этой группы в мазках дополнительно выявлялись эритроциты (0–4 в полях зрения). Их наличие можно объяснить повышенной проницаемостью сосудистой стенки слизистой носовой полости, которая, как правило, имеет место при интоксикациях различного генеза, включая бактериально-вирусные инфекции. В группе II общий клеточный состав был заметно обеднен, несмотря на преобладание в мазках РЭ. У всех пациентов этой группы отмечалась пенетрация клеток воспалительного ряда в эпителиальный пласт. При этом количество лейкоцитов варьировалось (от 2 до 20 в полях зрения). Это подтверждало присоединение аллергического компонента при сопутствующей респираторной инфекции. В группе III клеточный состав слизистой был заметно смещен в сторону БК, что свидетельствовало о значительном перераспределении мерцательного эпителия в пользу слизь-секретирующих клеток и о нарушении дренажной функции слизистой.



У пациентов всех групп среди всего пула клеточных элементов отмечалось различное количество (10–15 %) «оголенных» (т. е. не имеющих ресничек) эпителиоцитов. Известно, что единичные не реснитчатые клетки составляют нормальный цитотип ЦЭ, но повышение их количества указывает на нарушение выведения назального секрета [2, 5]. Примечательно, что утратившие реснички эпителиоидные клетки способны к трансдифференцировке в БК. Увеличение числа последних, как правило, ухудшает работу мукоцилиарного клиренса и является патогномоничным признаком, отражающим состояние слизистой при респираторной патологии.

Метаплазированный (плоский) эпителий в виде клеток-чешуек выявлен у 28 (64,29 %) пациентов из всех анализируемых групп. Однако в группе III количество плоских эпителиоцитов значительно превалировало (от 7 до 20 клеток в полях зрения). Образование этих клеток связывают с повторными рецидивами инфекций респираторного тракта, а также с возможной репродукцией в эпителии слизистой вирусных или бактериальных агентов [12]. Известно, что подобные клеточные элементы в дальнейшем стратифицируются и отделяются от общего пласта, что является маркером нарушения регенерационных процессов эпителия воздухоносных путей [12]. Данный феномен служит дополнительным фактором, наличие которого ухудшает аэродинамическую и дренажную функции верхних отделов респираторного тракта.

*АСМ-анализ патоморфоза поверхности цитоплазматической мембраны эпителиоцитов верхних и нижних дыхательных путей.* Данный метод использовали для установления возможных причин метаплазии клеток ЦЭ, идентификации маркеров воспалительного ответа, а также для выявления нарушений РЭ на наноуровне.

Анализ количественных показателей топографии поверхности РЭ носовой полости у пациентов показал увеличение значений шероховатости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_{max}$ ) поверхности РЭ только в группах II ( $R_a - 21,34 \pm 7,15$  нм;  $R_q - 26,34 \pm 7,86$ ;  $R_{max} - 124,69 \pm 42,37$  нм) и III ( $R_a - 34,94 \pm 7,8$  нм;  $R_q - 41,26 \pm 7,5$ ;  $R_{max} - 225,55 \pm 44,43$  нм) по сравнению с контролем ( $R_a - 7,22 \pm 1,94$  нм;  $R_q - 11,43 \pm 1,83$ ;  $R_{max} - 111,83 \pm 29,26$  нм). Кроме того, выявлены колебания в параметрах  $R_{sk}$  (коэффициент асимметрии) в группах II и III. Более значительные разбежки в значениях  $R_{sk}$  установлены в группе III, которые превысили этот показатель у лиц контрольной группы в 3,6 раза (1,2 против 0,33). В группе II данный параметр составил 0,71. Отмеченные вариации указывали на значительную скошенность микропрофилей рельефа влево или вправо. Это свидетельствует о неоднородности поверхности РЭ в группе III и может указывать на грубые нарушения их функции. В отношении другого показателя ( $W_a$ ) констатируется его снижение только в группе III ( $43,23 \pm 12,4$  нм) при контрольных значениях  $83,81 \pm 29,55$  нм. Выявленные нарушения являлись результатом отклонения микрогеометрии поверхности РЭ. Данный показатель может быть еще одним дополнительным количественным критерием, отражающим снижение функциональной активности эпителиоидных клеток. Таким образом, по количественным значениям текстурированности и волнистости поверхности эпителиоцитов носовой полости установлено два класса дистрофического изменения клеток ЦЭ: II класс дистрофии (группа II), III класс дистрофии (группа III).

Изучение общей топографии поверхности ЦЭ позволило выявить и идентифицировать специфические клетки воспалительного ряда. Среди них в группе II обнаружены эозинофилы с характерной бугристой поверхностью и единичными глобулами в центральной части цитоплазмы и нейтрофильные гранулоциты с выраженной неоднородным рельефом и гранулярным матриксом (группы I и III).

После анализа общей цитоархитектоники клеток на следующем этапе представлялось актуальным провести углубленное изучение реснитчатого аппарата эпителиоцитов из различных отделов респираторного тракта. В результате выявлен ряд наноструктурных нарушений (табл. 2).

Наноструктурная патология реснитчатого аппарата эпителиоцитов идентифицирована у 10 (23,80 %) детей I и III групп. При этом ни у одного из пациентов группы II (бронхиальная астма) не выявлено каких-либо отклонений в их структуре. Чаще всего регистрировали нарушения, связанные с укорочением ресничек и их одновременным утолщением либо с нормальным сохранением диаметра (7 наблюдений). Эти признаки, как правило, превалировали у детей, в анамнезе которых отмечались рецидивирующий бронхит или пневмония.

Следует отметить, что одновременное наличие нескольких типов наноструктурных нарушений ресничек не выявлено ни в одной из анализируемых групп. Согласно данным ряда авторов,

Таблица 2. Патоморфоз ресничек эпителиоцитов из носовой полости и трахей у детей групп I–III  
Table 2. Cilia pathomorphosis in the nasal and tracheal epithelial cells from groups I–III

Нарушения реснитчатого аппарата	Группы I, II (n = 31)	Группа III (n = 11)	
	Назальный эпителий	Назальный эпителий	Трахеальный эпителий
Отсутствие щеточной каймы на апикальной поверхности эпителиоцитов (реснички в виде бугорков или гребневидных выростов)	1 (3,22 %)	–	–
Короткие (2–4 мкм) реснички нормальной толщины (~0,2 мкм)	3 (9,67 %)	–	–
Короткие (2–4 мкм) утолщенные реснички (3–4 мкм) в виде «рогов»	4 (3,22 %)	–	–
Удлиненные (10–12 мкм) реснички переменной толщины (0,2–3 мкм)	–	–	1 (9,09 %)
Удлиненные (10–12 мкм) скученные реснички с варьирующей толщиной (0,095–0,15 мкм)	–	1 (9,09 %)	1 (9,09 %)
Сильно ветвящиеся («лохматые») реснички с булавовидными расширениями на концах	–	1 (9,09 %)	1 (9,09 %)

редукция, укорочение или удлинение ресничек, цилиоцитотрофия (т. е. разрежение цилиарного аппарата эпителиоцитов с реорганизацией клеточного ядра и внутрицитоплазматических структур) обусловлены такими неблагоприятными факторами, как вирусные агенты, аллергены, биопленочные микроорганизмы и т. д. [13–15]. Таким образом, изменения архитектуры ресничек (чрезмерно плотная или удлиненная, короткая, «лохматость» цилиарного аппарата) могут рассматриваться как патологический феномен, приводящий к очистительной дисфункции мерцательного эпителия респираторного тракта.

Совершенно иной уникальный тип наноструктурных нарушений установлен у 2 детей группы III. У них реснички располагались хаотично и отмечалось нарушение центра их ветвления,

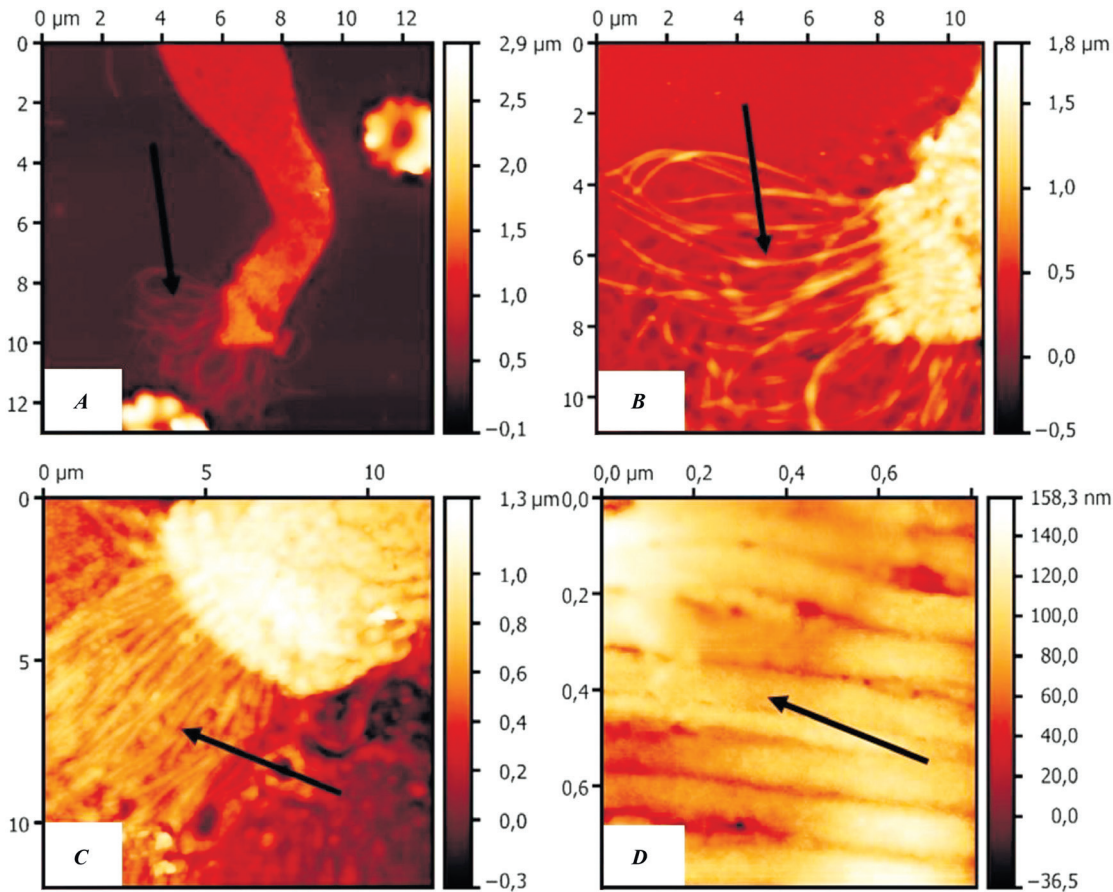


Рис. 1. АСМ-фотографии аномальной организации ресничек у 2 пациентов группы III (A, B) сравнении с контролем (C, D)  
Fig. 1. AFM photographs of the abnormal organization of cilia in 2 patients of group III (A, B) in comparison with control (C, D)

в результате чего они приобретали вид «штопороподобного перекручивания» или «спирализованных стержней». Диаметр таких ресничек не соответствовал показателям нормы ( $\sim 0,2$  мкм), а варьировался в широком диапазоне – от 0,095 до 0,15 мкм (рис. 1).

Подобный тип нарушений в виде «неопрятных» или «скупенных» цилий идентифицирован также в слизистой трахеи. Это свидетельствовало о специфических изменениях реснитчатого аппарата. Выявленные нарушения могут быть обусловлены отсутствием или недоразвитием внутренних структурно-функциональных элементов аксонемы – центральной или периферической пары микротрубочек, НДР, ВДР, радиальных спиц и т. д. В отдельных сообщениях указывается, что аномальная длина ресничек может быть одним из морфологических маркеров наследственной аномалии респираторного тракта – ПЦД [16]. Таким образом, обнаруженные нами изменения у некоторых детей с ХЗЛ являются результатом дисбаланса ключевых структур цилиарного аппарата, что отражает патологию на субклеточном уровне.

*Электронная микроскопия биоптатов трахеи и бронхов.* Данный метод использовали для оценки внутриклеточных ультраструктурных маркеров патоморфоза РЭ, а также для установления дефектов цилиарного аппарата.

Анализ общего клеточного пласта показал, что у большинства пациентов III группы РЭ сохраняли регулярность своего расположения, но наблюдались незначительные изменения колебательного аппарата ресничек. Отмечались лишь снижение объемной плотности цилий, формирование дополнительных цитоплазматических выростов (микроворсинок) на апикальной поверхности, слияние аксоном отдельных цилий, наличие пустых осевых нитей, а также деформированных ресничек в виде загнутых крючков или с булавовидными вздутиями на концах. В двух случаях выявлены нарушения тонкой внутренней организации ресничек (рис. 2).

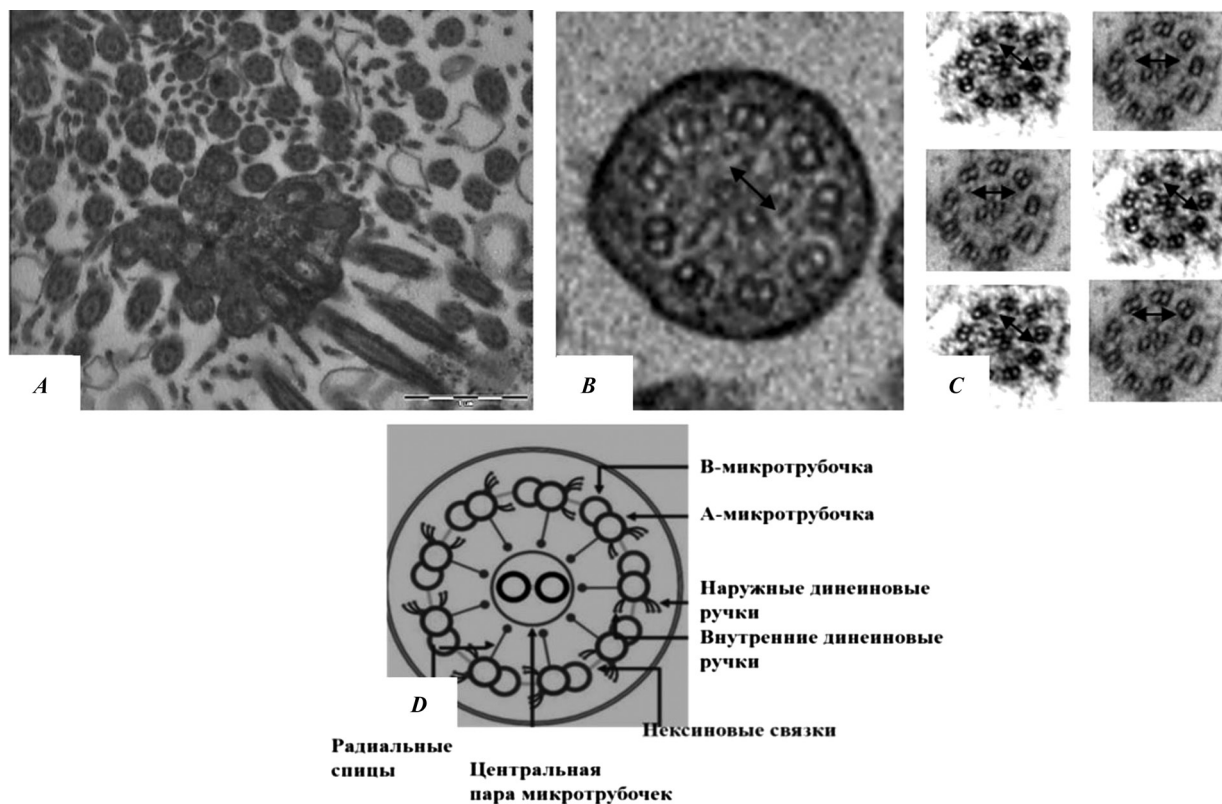


Рис. 2. Ультраструктурные дефекты цилий, выявленные у пациентов группы III: А – часть ультратонкого среза ресничек эпителиального пласта трахеи ( $\times 18\,000$ ); В, С – поперечный срез ресничек бронхов (В) и трахеи (С); D – общая схема тонкой организации реснитчатого аппарата мерцательного эпителия дыхательной системы

Fig. 2. Ultrastructural cilia defects, observed in patients (group III): A – the part of an ultrathin section of the cilia from the tracheal epithelial layer ( $\times 18\,000$ ); B, C – the cross section of the cilia from the bronchi (B) and trachea (C); D – the general scheme of the fine organization of ciliary apparatus in respiratory system

Установлено, что на поперечных срезах ресничек (как в трахео-, так и в бронхобиоптатах) выявлялись тотальные дефекты НДР. При этом центральные и периферические пары микротрубочек оставались неизменными и сохраняли нормальную структурную формулу  $9 + 2$ . Второй отличительной особенностью являлось смещение (поворот) центральной пары микротрубочек относительно оси аксонемы. Для координированной работы ресничек все структурные элементы должны работать модально, а центральная пара микротрубочек должна быть ориентирована параллельно оси [17]. Это обеспечивает генетически детерминированный синхронный механизм биения ресничек. Выявленное на серийных ультратонких срезах изменение расположения центрального дуплета микротрубочек свидетельствует о нарушении центрального угла ориентации [18]. Предполагается, что цилиарная дезориентация (ЦД) является результатом систематических и неоднократных воздействий полиэтиологических неблагоприятных факторов (вирусов, бактерий, аллергенов и т. д.) [18]. ЦД рассматривается как особый информативный маркер при постановке ПЦД в случае отсутствия характерных ультраструктурных изменений ресничек. Дезориентация центральных микротрубочек может быть одним из важных показателей и патогномоничных признаков, указывающих на развитие такого ХЗЛ, как бронхоэктатическая болезнь [19].

В настоящее время известно около 40 генов, связанных с наследственной аномалией респираторного тракта (ПЦД). Мутации большинства генов цилиарной дисфункции устанавливают данную патологию в 70 % случаев [19,20]. Приблизительно 10–30 % пациентов с ПЦД имеют нормальную ультраструктуру ресничек [21]. Наиболее распространенными дефектами ресничек являются отсутствие НДР и ВДР, а также комбинированные нарушения [9, 21]. В анализируемых случаях наблюдались ультраструктурные изменения только со стороны наружных цепей динеина. Известно 13 генов, связанных с данными дефектами (табл. 3) [21].

Таблица 3. Гены, ассоциированные с дефектами наружных динеиновых ручек при первичной цилиарной дискинезии  
Table 3. Genes, associated with defects in outer dynein arms in primary ciliary dyskinesia

Название гена	Локализация (хромосома)	Ультраструктурный дефект ресничек
<i>DNAH5</i>	5	Отсутствие НДР или их укорочение
<i>DNAI1</i>	9	—»—
<i>DNAI2</i>	17	—»—
<i>DNAL1</i>	14	—»—
<i>NME8</i>	7	—»—
<i>DNAH8</i>	6	Не определен
<i>DNAH11</i>	7	Нормальное строение
<i>TTC25</i>	17	Отсутствие НДР или их укорочение
<i>CCDC114</i>	19	—»—
<i>ARMC4</i>	10	—»—
<i>CCDC151</i>	19	—»—
<i>CCDC103</i>	17	Полное отсутствие НДР
<i>DNAH1</i>	3	Не определен

Как показали проведенные исследования, НДР на ультратонких срезах отсутствовали или были значительно укорочены. Учитывая изложенное выше, был сделан вывод, что эти элементы аксонемы малофункциональны и не способны обеспечивать нормальную подвижность ресничек. ВДР случайно визуализировались на срезах. При этом не было отмечено одновременной дезориентации или транслокации периферических дуплетов микротрубочек. Данные факты не позволили сделать вывод о наличии специфических ультраструктурных дефектов ресничек в анализируемых случаях.

Таким образом, по результатам ЭМ выявлены дезориентация и ультраструктурные дефекты реснитчатого аппарата, что позволило установить в двух случаях редкую наследственно обусловленную патологию в системе аксонемы мерцательного эпителия.



## Выводы

1. Цитологический анализ в сочетании с АСМ и ЭМ позволил оценить патоморфоз соскобно-го эпителия носовой полости и биоптатов трахеи и бронхов у детей с заболеваниями верхних и/или нижних дыхательных путей и дисбаланс основных показателей цитоархитектоники. Установлено снижение числа РЭ носовой полости и увеличение количества БК (соотношение 2,3:1 в группе острых респираторных инфекций; 2,7:1 – в группе бронхиальной астмы; 1:2,4 – в группе ХЗЛ). Нормальные значения данных показателей составили 5:1. У 7 (16,7 %) пациентов выявлена пенетрация клеток воспалительного ряда в эпителиальный пласт. В ряде случаев (64,29 %) установлено наличие атрофических изменений слизистой в виде метапластического эпителия.

2. В группе II (бронхиальная астма) с помощью наноскопического анализа выявлен дисбаланс в параметрах текстурированности ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_{sk}$ ,  $R_{max}$ ) поверхности РЭ:  $R_a - 21,34 \pm 7,15$  нм;  $R_q - 26,34 \pm 7,86$ ;  $R_{sk} - 0,71$ ;  $R_{max} - 124,69 \pm 42,37$  нм. В группе III (ХЗЛ) наряду со значительно измененными количественными показателями микрорельефа ( $R_a - 34,94 \pm 7,8$  нм;  $R_q - 41,26 \pm 7,5$ ;  $R_{sk} - 1,2$ ;  $R_{max} - 225,55 \pm 44,43$  нм) выявлены изменения параметра средней волнистости ( $W_a$ ), которая составила  $43,23 \pm 12,4$  нм. В контрольной группе анализируемые показатели соответствовали следующим значениям:  $R_a - 7,22 \pm 1,94$  нм;  $R_q - 11,43 \pm 1,83$ ;  $R_{sk} - 0,33$ ;  $R_{max} - 111,83 \pm 29,26$ ;  $W_a - 83,81 \pm 29,55$  нм. По параметрам микрогеометрии охарактеризованы структурные перестройки, свидетельствующие о различной степени выраженности патоморфоза поверхности РЭ. Количественные значения топографии эпителиоцитов указывают на преобладание двух разнонаправленных процессов, обуславливающих различную степень и глубину патологии ЦЭ: II класс дистрофии (группа II), III класс дистрофии (группа III).

3. Основными структурными нарушениями архитектоники цилиарного аппарата эпителиоцитов являются изменения фактора формы ресничек на фоне формирования аномально длинных цилий (10–12 мкм), уменьшения (0,095–0,15 мкм) и/или утолщения (0,3–0,4 мкм) их диаметра, а также пространственной дезориентации по типу «штопороподобного перекручивания». Сочетание ЭМ с АСМ позволило выявить у двух пациентов уникальные нарушения внутренних ультраструктур реснитчатого аппарата, связанные с дефектами НДР, что дало возможность констатировать редкую наследственно обусловленную аномалию аксонемы ресничек.

4. Использование сочетания АСМ и ЭМ дает более информативную, точную и углубленную оценку патоморфозу клеток ЦЭ. Полученные данные являются актуальными при разработке и выборе тактики оптимальной этиопатогенетической терапии. Данный подход позволяет достаточно эффективно выявлять некоторые формы врожденной патологии и оценивать степень повреждений на субклеточном уровне.

5. Полученные сведения о нарушениях в поверхностном и микротрубчато-двигательном аппарате ресничек как при приобретенной, так и при наследственно детерминированной респираторной патологии важны не только для оценки патогенеза заболевания, но и при выборе средств и препаратов, способствующих восстановлению внешних структур ресничек в одних случаях и динеиново-микротрубчатого комплекса – в других.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список использованных источников

1. Nasal cytology: methodology with application to clinical practice and research / E. Heffler [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2018. – Vol. 48, N 9. – P. 1092–1106. <https://doi.org/10.1111/cea.13207>
2. Nasal cytology with deep learning techniques / G. Dimauro [et al.] // Int. J. Med. Inform. – 2019. – Vol. 122. – P. 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2018.11.010>
3. Bustamante-Marin, X. M. Cilia and mucociliary clearance / X. M. Bustamante-Marin, L. E. Ostrowski // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. – 2017. – Vol. 9, N 4. – P. a028241. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028241>
4. Белякова, Р. А. Риноцитогрaммa как метод диагностики аллергического ринита / Р. А. Белякова // Молод. ученый. – 2017. – № 12. – С. 120–123.
5. NASAL cytology: practical aspects and clinical relevance / M. Gelardi [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2016. – Vol. 46, N 6. – P. 785–792. <https://doi.org/10.1111/cea.12730>
6. Лаберко, Е. Л. Современные представления о регуляции мукоцилиарного клиренса / Е. Л. Лаберко, М. Р. Богомильский // Вестн. Рос. гос. мед. ун-та. – 2015. – № 1. – С. 60–64.

7. Таточенко, В. К. Болезни органов дыхания у детей / В. К. Таточенко. – М. : Педиатрия, 2012. – 482 с.
8. Afzelius, B. A. Cilia-related diseases / B. A. Afzelius // *J. Pathol.* – 2004. – Vol. 204, N 4. – P. 470–477. <https://doi.org/10.1002/path.1652>
9. Shapiro, A. J. Value of transmission electron microscopy for primary ciliary dyskinesia diagnosis in the era of molecular medicine: genetic defects with normal and non-diagnostic ciliary ultrastructure / A. J. Shapiro, M. W. Leigh // *Ultrastruct. Pathol.* – 2017. – Vol. 41, N 6. – P. 373–385. <https://doi.org/10.1080/01913123.2017.1362088>
10. Атомно-силовая микроскопия: конструирование биочипов для детекции и изучения поверхностной структуры инфекционных агентов на нанометровом уровне / А. Н. Асташонко [и др.] // *Мед. новости.* – 2018. – № 2. – С. 69–74.
11. Миронов, А. А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине / А. А. Миронов, Я. Ю. Комиссарчик, В. А. Миронов. – СПб. : Наука, 1994. – 400 с.
12. Scherzad, A. Current understanding of nasal epithelial cell mis-differentiation / A. Scherzad, R. Hagen, S. J. Hackenberg // *Inflamm. Res.* – 2019. – Vol. 12. – P. 309–317. <https://doi.org/10.2147/jir.s180853>
13. Ciliocytophthoria: cytomorphologic modifications in viral infections of the nasal mucosa / M. Gelardi [et al.] // *J. Cytol. Histol.* – 2016. – Vol. 7, N 2. – P. 1–3. <https://doi.org/10.4172/2157-7099.1000s5:005>
14. Gudis, D. Acquired cilia dysfunction in chronic rhinosinusitis / D. Gudis, K.-Q. Zhao, N. A. Cohen // *Am. J. Rhinol. Allergy.* – 2012. – Vol. 26, N 1. – P. 1–6. <https://doi.org/10.2500/ajra.2012.26.3716>
15. Toskala, E. Scanning electron microscopy findings of human respiratory cilia in chronic sinusitis and in recurrent respiratory infections / E. Toskala, J. Nuutinen, M. Rautanen // *J. Laryngol. Otol.* – 1995. – Vol. 109, N 6. – P. 509–514. <https://doi.org/10.1017/s0022215100130580>
16. Abnormal length of cilia – a cause of primary ciliary dyskinesia – a case report / B. Niggemann [et al.] // *Eur. J. Pediatr.* – 1992. – Vol. 151, N 1. – P. 73–75. <https://doi.org/10.1007/bf02073899>
17. Ciliary disorientation alone as a cause of primary ciliary dyskinesia syndrome / C. F. Rayner [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1996. – Vol. 153, N 3. – P. 1123–1129. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.153.3.8630555>
18. Ciliary central microtubular orientation is of no clinical significance in bronchiectasis / K. W. Tsang [et al.] // *Respir. Med.* – 2005. – Vol. 99, N 3. – P. 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2004.08.005>
19. Первичная цилиарная дискинезия у детей / А. А. Баранов [и др.] // *Педиатр. фармакол.* – 2018. – Т. 15, № 1. – С. 20–31.
20. Богорад, А. Е. Первичная цилиарная дискинезия: современные подходы к диагностике и терапии / А. Е. Богорад, С. Е. Дьякова, Ю. Л. Мизерницкий // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.* – 2019. – № 5. – С. 123–133.
21. Primary ciliary dyskinesia (PCD): a genetic disorder of motile cilia / M. W. Leigh [et al.] // *Transl. Sci. Rare Dis.* – 2019. – Vol. 4, N 1–2. – P. 51–75. <https://doi.org/10.3233/trd-190036>

## References

1. Heffler E., Landi M., Caruso C., Fichera S., Gani F., Guida G. [et al.]. Nasal cytology: methodology with application to clinical practice and research. *Clinical & Experimental Allergy*, 2018, vol. 48, no. 9, pp. 1092–1106. <https://doi.org/10.1111/cea.13207>
2. Dimauro G., Ciprandi G., Deperte F., Girardi F., Ladisa E., Latrofa S., Gelardi M. Nasal cytology with deep learning techniques. *International Journal of Medical Informatics*, 2019, vol. 122, pp. 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2018.11.010>
3. Bustamante-Marin X. M., Ostrowski L. E. Cilia and mucociliary clearance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2017, vol. 9, no. 4, p. a028241. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028241>
4. Belyakova R. A. Rhinocytogram as a method for the diagnosis of allergic rhinitis. *Molodoi uchenyi* [Young scientist], 2017, no. 12, pp. 120–123 (in Russian).
5. Gelardi M., Iannuzzi L., Quaranta N., Landi M., Passalacqua G. NASAL cytology: practical aspects and clinical relevance. *Clinical and Experimental Allergy*, 2016, vol. 46, no. 6, pp. 785–792. <https://doi.org/10.1111/cea.12730>
6. Laberko E. L., Bogomil'skii M. R. Modern views on the regulation of mucociliary clearance. *Vestnik Rossiiskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Bulletin of the Russian State Medical University], 2015, no. 1, pp. 60–64 (in Russian).
7. Tatchenko V. K. *Respiratory disorders in children*. Moscow, Pediatriya Publ., 2012. 482 p. (in Russian).
8. Afzelius B. A. Cilia-related diseases. *Journal of Pathology*, 2004, vol. 204, no. 4, pp. 470–477. <https://doi.org/10.1002/path.1652>
9. Shapiro A. J., Leigh M. W. Value of transmission electron microscopy for primary ciliary dyskinesia diagnosis in the era of molecular medicine: Genetic defects with normal and non-diagnostic ciliary ultrastructure. *Ultrastructural Pathology*, 2017, vol. 41, no. 6, pp. 373–385. <https://doi.org/10.1080/01913123.2017.1362088>
10. Astashonok A. N., Poleshchuk N. N., Rubanik L. V., Zhavnerko G. K. Atomic-force microscopy: construction of biochips for detection and study at nanometer level the surface structure of the infectious agents. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2018, no. 2, pp. 69–74 (in Russian).
11. Mironov A. A., Komissarchik Ya. Yu., Mironov V. A. *Electron microscopy methods in biology and medicine*. St. Petersburg, Nauka Publ., 1994. 400 p. (in Russian).
12. Scherzad A., Hagen R., Hackenberg S. Current understanding of nasal epithelial cell mis-differentiation. *Journal of Inflammation Research*, 2019, vol. 12, pp. 309–317. <https://doi.org/10.2147/jir.s180853>
13. Gelardi M., Iannuzzi L., Seccia V., Quaranta N. Ciliocytophthoria: cytomorphologic modifications in viral infections of the nasal mucosa. *Journal of Cytology and Histology*, 2016, vol. 7, no. 2, pp. 1–3. <https://doi.org/10.4172/2157-7099.1000s5:005>

14. Gudis D., Zhao K.-Q., Cohen N. A. Acquired cilia dysfunction in chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology and Allergy*, 2012, vol. 26, no. 1, pp. 1–6. <https://doi.org/10.2500/ajra.2012.26.3716>
15. Toskala E., Nuutinen J., Rautanen M. Scanning electron microscopy findings of human respiratory cilia in chronic sinusitis and in recurrent respiratory infections. *Journal of Laryngology and Otology*, 1995, vol. 109, no. 6, pp. 509–514. <https://doi.org/10.1017/s0022215100130580>
16. Niggemann B., Müller A., Nolte A., Schnoy N., Wahn U. Abnormal length of cilia – a cause of primary ciliary dyskinesia – a case report. *European Journal of Pediatrics*, 1992, vol. 151, no. 1, pp. 73–75. <https://doi.org/10.1007/bf02073899>
17. Rayner C. F., Rutman A., Dewar A., Greenstone M. A., Wilson R. Ciliary disorientation alone as a cause of primary ciliary dyskinesia syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1996, vol. 153, no. 3, pp. 1123–1129. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.153.3.8630555>
18. Tsang K. W., Tipoe G. L., Mak J. C., Sun J., Wong M., Leung R. [et al.]. Ciliary central microtubular orientation is of no clinical significance in bronchiectasis. *Respiratory Medicine*, 2005, vol. 99, no. 3, pp. 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2004.08.005>
19. Baranov A. A., Namazova-Baranova L. S., Vishneva E. A., Selimzyanova L. R., Bakradze M. D., Tsygina E. N., Lazareva A. V., Katosova L. K., Gorinova Yu. V., Kustova O. V. Primary ciliary dyskinesia in children. *Pediatricheskaya farmakologiya* [Pediatric pharmacology], 2018, vol. 15, no. 1, pp. 20–31 (in Russian).
20. Bogorad A. E., D'yakova S. E., Mizernitskii Yu. L. Primary ciliary dyskinesia: modern approaches for diagnosis and therapy. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian bulletin of perinatology and pediatrics], 2019, no. 5, pp. 123–133 (in Russian).
21. Leigh M. W., Horani A., Kinghorn B., O'Connor M. G., Zariwala M. A., Knowles M. R. Primary ciliary dyskinesia (PCD): a genetic disorder of motile cilia. *Translational Science of Rare Diseases*, 2019, vol. 4, no. 1–2, pp. 51–75. <https://doi.org/10.3233/trd-190036>

### Информация об авторах

*Асташонко Андрей Николаевич* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [micro.87@mail.ru](mailto:micro.87@mail.ru)

*Полещук Николай Николаевич* – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [pnn@belriem.by](mailto:pnn@belriem.by)

*Рубаник Людмила Владимировна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [rubaniklv@tut.by](mailto:rubaniklv@tut.by)

*Бобровнический Владимир Иванович* – канд. мед. наук, доцент. 3-я городская детская клиническая больница (ул. Лейтенанта Кижеватова, 60/1, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [vbobrovnichii@mail.ru](mailto:vbobrovnichii@mail.ru)

*Петрученя Анастасия Викторовна* – врач-педиатр. Минская центральная районная больница (ул. Фрунзенская, 1, 223053, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: [bukazoed@gmail.com](mailto:bukazoed@gmail.com)

### Information about the authors

*Andrei N. Astashonok* – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [micro.87@mail.ru](mailto:micro.87@mail.ru)

*Nikolay N. Poleshchuk* – D. Sc. (Med.), Professor, Chief Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [pnn@belriem.by](mailto:pnn@belriem.by)

*Lyudmila V. Rubanik* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [rubaniklv@tut.by](mailto:rubaniklv@tut.by)

*Vladimir I. Bobrovnichiy* – Ph. D. (Med.), Associate Professor. 3th City Children's Clinical Hospital (60/1, Lieutenant Kizhevato Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [vbobrovnichii@mail.ru](mailto:vbobrovnichii@mail.ru)

*Anastasiya V. Petruchenya* – Paediatrician. Minsk Central District Clinical (1, Frunzenskaya Str., 223053, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: [bukazoed@gmail.com](mailto:bukazoed@gmail.com)