

Фенотипические особенности клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки

Е.Л. Строкова¹, Н.Ю. Пахомова¹, А.И. Шевченко², А.А. Корыткин¹, В.В. Кожевников¹, А.М. Зайдман¹

¹ Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии имени Я.Л. Цивьяна Минздрава России 630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

Резюме

Воронкообразная деформация грудной клетки – тяжелое заболевание с неустановленной этиологией и патогенезом. Патологические изменения, происходящие в хрящевой ткани ребер, являются одним из ведущих механизмов развития искривления грудной клетки. Анализ фенотипических особенностей клеток, выделенных из места локализации патологического процесса, позволит создать более полную картину формирования деформации. Цель исследования – идентифицировать фенотип клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки. **Материал и методы.** Клетки реберного хряща детей с воронкообразной деформацией грудной клетки культивировали до 2–3-го пассажа, затем идентифицировали гистохимическими и иммуногистохимическими методами. **Результаты и их обсуждение.** Выявлены клетки двух разных фенотипов. Первый тип – хондробласты овальной и полигональной формы, экспрессирующие маркер хондрогенной дифференцировки. Второй тип – клетки нейрального фенотипа с экспрессией ранних нейральных маркеров Musashi1 и PAX6 и нейроспецифичного белка III β-тубулина, а также субстанции Ниссля. **Заключение.** Анализ фенотипических особенностей клеток реберного хряща при воронкообразном искривлении грудной клетки позволил расширить представление о возможном этиологическом факторе формирования деформации.

Ключевые слова: воронкообразная деформация грудной клетки, культура клеток.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Строкова Е.Л., e-mail: estroкова-1985-10-14@mail.ru

Для цитирования: Строкова Е.Л., Пахомова Н.Ю., Шевченко А.И., Корыткин А.А., Кожевников В.В., Зайдман А.М. Фенотипические особенности клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2023;43(6):203–209. doi: 10.18699/SSMJ20230625

Phenotypic features of rib cartilage cells in funnel-shaped chest deformity

E.L. Strokova¹, N.Yu. Pakhomova¹, A.I. Shevchenko², A.A. Korytkin¹, V.V. Kozhevnikov¹, A.M. Zaidman¹

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.L. Tsivyan of Minzdrav of Russia 630091, Novosibirsk, Frunze st., 17

² Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS 630090, Novosibirsk, Akademika Lavrentieva ave., 10

Abstract

Funnel-shaped deformity of the chest is a serious disease with an unknown etiology and pathogenesis. Pathological changes occurring in the cartilaginous tissue of the ribs are one of the leading mechanisms for the development of chest curvature. Analysis of the phenotypic features of cells isolated from the site of localization of the pathological process will create a more complete picture of the deformation development. Aim of the study was to identify the phenotype of rib cartilage cells in funnel-shaped deformation of the thorax. **Material and methods.** Rib cartilage cells of children with funnel-shaped chest deformity were cultured up to the 2–3rd passage, then were identified by histochemical and

immunohistochemical methods. **Results and discussion.** The study revealed cells of two different phenotypes. The first type is oval and polygonal chondroblasts expressing a marker of chondrogenic differentiation. The second type is the cells of the neural phenotype with the expression of early neural markers Musashi1 and PAX6 and the neurospecific protein III β -tubulin, as well as the substance Nissl. **Conclusions.** The analysis of the phenotypic features of rib cartilage cells with funnel-shaped curvature of the chest allowed us to expand the idea of a possible etiological factor in the deformation development.

Key words: funnel-shaped chest deformity, cell culture.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Strokova E.L., e-mail: estrokova-1985-10-14@mail.ru

Citation: Strokova E.L., Pakhomova N.Yu., Shevchenko A.I., Korytkin A.A., Kozhevnikov V.V., Zaidman A.M. Phenotypic features of rib cartilage cells in funnel-shaped chest deformity. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):203–209. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230625

Введение

Воронкообразная деформация грудной клетки (ВДГК, *pectus excavatum*, впалая грудь, чашковидная грудь, грудь сапожника) – одна из наиболее распространенных врожденных деформаций передней грудной стенки, представляющая собой различное по глубине и форме западение грудинно-реберного комплекса внутрь грудной клетки. В патологический процесс вовлекаются грудина и хрящевые отделы ребер [1]. Искривление грудной клетки является тяжелым заболеванием, приводящим к развитию кардиореспираторных нарушений и ухудшению функционального состояния всего организма [2]. Патология сопровождается грубыми косметическими дефектами, оказывающими значительное влияние на качество жизни пациента и нередко являющимися причиной значительного стресса [3–5].

ВДГК составляет 90 % от общего числа всех врожденных патологий грудной клетки. Частота встречаемости аномалии составляет 1–8 случаев на 1000 новорожденных, т.е. от 0,6 до 2,3 % населения. Заболевание у мальчиков диагностируется в 3–4 раза чаще, чем у девочек. Искривление грудной клетки начинает проявляться в период новорожденности. В процессе роста ребенка степень деформации увеличивается [2, 3]. Остановить прогрессирование заболевания не представляется возможным. В настоящее время не существует способов его консервативного лечения, единственным методом является хирургическое исправление дефекта [5].

Этиология развития ВДГК в настоящее время неизвестна. Ретроспективные исследования указывают на генетическую причину, лежащую в основе формирования искривления [1]. В качестве этиологического фактора развития дефекта грудной клетки рассмотрен чрезмерный рост реберного хряща и самих ребер. Представленные в современной научной литературе результаты исследований в данной области противоречивы и зависят от используемого метода и анализиру-

емого компонента [6, 7]. Остается также открытым вопрос о том, какие нарушения являются первичными, а какие представляют собой следствие деформации грудной стенки. Таким образом, отсутствует консенсус относительно точного механизма вдавления грудины внутрь грудной клетки. Большинство исследователей сходятся во мнении, что первичный дефект, приводящий к деформации передней стенки грудной клетки, связан со структурой и функцией реберного гиалинового хряща [5]. Изменения хрящевой ткани ребер являются морфологическим субстратом западения грудины [8].

Анализ литературных данных по изучению структурно-функциональных особенностей реберного хряща показал, что при ВДГК происходят изменения хрящевой ткани на уровне клеток и матрикса [3]. Однако представленные в литературе результаты исследований не позволяют сформировать полную картину течения патологического процесса. Структурные нарушения реберного хряща изучены недостаточно, а полученные данные неоднозначны и зачастую противоречивы [3]. Существуют сведения об отсутствии различий в структуре реберного хряща по сравнению с нормой [9, 10]. При ВДГК не наблюдалось признаков гипо- или гиперплазии хрящевой ткани и участков некроза, не обнаружено различий в строении и расположении хондроцитов, структуре протеогликанов и коллагена II типа. Детектировано лишь неравномерное распределение коллагена II типа в глубокой зоне. Однако представлены и прямо противоположные данные. В одной работе [11] показано наличие некрозов, дегенерации матрикса и увеличение количества клеток. Другое гистологическое исследование реберного хряща также установило выраженные дистрофические и дегенеративные изменения [12]. Изучение лакун и каналов реберного хряща выявило тенденцию к преобладанию пустых лакун, уменьшение количества хрящевых лакун и частоты гиперлакунарных зон на фоне увеличения гиполакунарных зон [13].

Таким образом, несмотря на всесторонние обследования пациентов с ВДГК, по-прежнему не ясны этиология и патогенез рассматриваемого заболевания. В современной научной литературе представлены противоречивые данные о структурных особенностях реберного хряща, отсутствуют работы по культивированию клеток хрящевой части ребер пациентов с данной патологией. В то же время исследователи сходятся во мнении, что патологические изменения, происходящие в реберном хряще, являются одним из ведущих механизмов развития дефекта грудной клетки [3, 14]. Анализ фенотипических особенностей клеток, выделенных из места локализации патологического процесса, позволит создать более полную картину формирования деформации.

Цель исследования – идентифицировать фенотип клеток реберного хряща при ВДГК.

Материал и методы

Образцы ткани хрящевой части 6-го ребра получены в клинике детской ортопедии Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии от пяти детей с ВДГК II–III степени. Пациентам (3 мальчика, 2 девочки) в возрасте 12–16 лет была выполнена малоинвазивная торакопластика по Нассу. Ключевым критерием включения пациента в исследование явился основной диагноз ребенка – впалая грудь (по МКБ-10: Q67.6 – впалая грудь или врожденная воронкообразная грудь). Разрешение на проведение исследования получено на заседании Локального этического комитета Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии (выписка 023/21 из протокола № 009/21 от 06.12.2021).

Гиалиновый хрящ 6-го ребра отмывали в фосфатно-солевом буфере (PBS), измельчали до размеров 1–2 мм² и помещали в раствор 1,5%-й коллагеназы, инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–20 ч. Полученную суспензию клеток пропускали через нейлоновый фильтр и осаждали клетки центрифугированием в течение 10 мин при 2000 об/мин. Определяли общее количество клеток с помощью автоматического счетчика Countess 3 FL (Thermo Fisher Scientific, США).

Выделенные клетки культивировали в среде DMEM F12 с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки, стрептомицина и пенициллина (×250) в условиях CO₂-инкубатора при 37 °С в пластиковых флаконах (25 см²) до 2–3 пассажей. Прижизненную съемку клеток выполняли на инвертированном микроскопе (AmScope, США) ×40–900 с цифровой камерой. Для проведения гистохимического исследования на дно чашки Петри (d 60 см) укладывали покровные стекла, после формирования монослоя клетки на стекле

фиксируют в 4%-м растворе формалина, окрашивали гематоксилином и эозином и по Нисслю. Фотосъемку выполняли на микроскопе Olympus CX 43 (Olympus Corporation, Япония) с помощью цифровой камеры Olympus UC90. Для иммуногистохимического исследования клетки культивировали на 48-луночных планшетах и фиксировали в 4%-м растворе формалина в течение 10 мин, затем отмывали от формалина PBS и помещали в 4%-й раствор тритона X100. Через 15 мин вновь промывали в растворе PBS в течение 30 мин и проводили гибридизацию раствором бычьего сывороточного альбумина во влажной камере в течение 30 мин. Клетки инкубировали с антителами к III β-тубулину TUJ1 (Covance (США), мышинные моноклональные, разведение 1:1000), к PAX6 (Abcam (Великобритания), мышинные моноклональные, разведение 1:50), к Musashi1 (Abcam, кроличьи поликлональные, разведение 1:200) и к коллагену II типа (Abcam, мышинные моноклональные, разведение 1:100) при температуре 4 °С в течение ночи. Первую локализацию антител визуализировали с использованием соответствующих вторичных антител IgG кролика или мыши, конъюгированных с флуоресцентными красителями Alexa 488 или Alexa 568 (Life Technologies, США). Ядра окрашивали DAPI (Vector Laboratories, США). Съемку окрашенных слайдов производили с помощью микроскопа Nikon Ti-E (Nikon, Япония), используя программное обеспечение NIS-Elements.

Результаты и их обсуждение

В норме реберный хрящ представлен гиалиновым хрящом, образующим передние концы ребер, структуру которого составляет преобладающий по объему межклеточный матрикс и хондроциты разной степени дифференцировки [3]. Клетки, выделенные из хрящевой части 6-го ребра при ВДГК, на 7–10 день культивирования формировали монослой (рис. 1, а). Основную часть монослоя составили клетки округлой, овальной и полигональной формы, образующие между собой связи. Крупные ядра с 1–2 ядрышками и диспергированным хроматином располагались в центре клетки или ближе к цитоплазматической мембране. Прижизненная съемка и гистохимическое исследование (окрашивание гематоксилином и эозином) позволили идентифицировать клетки подобного фенотипа как хондробласты и хондроциты (см. рис. 1, а). Иммуногистохимическим методом выявлена их положительная реакция на антитела к коллагену II типа как одному из основных маркеров хрящевой ткани [15]. Коллаген II типа расположен в цитоплазме клеток и наиболее

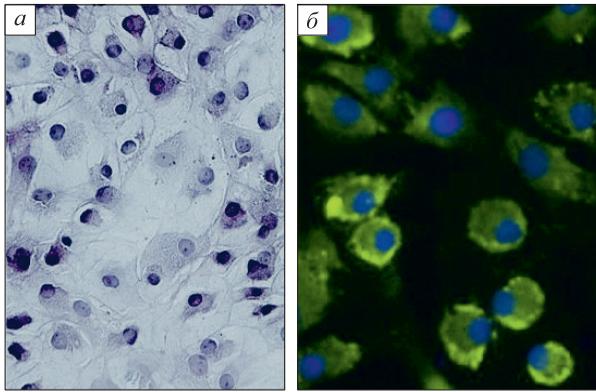


Рис. 1. Культура клеток, выделенных из реберного хряща при ВДГК, 2-й пассаж культивирования: а – окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$, б – иммуногистохимическая реакция с антителами к коллагену II типа (зеленый цвет), ядра клеток визуализированы DAPI (синий цвет), $\times 100$

Fig. 1. Culture of cells isolated from rib cartilage during funnel-shaped deformation of the chest, 2nd passage of cultivation: a – hematoxylin and eosin staining, $\times 40$, б – immunohistochemical reaction with antibodies to type II collagen (green), cell nuclei are visualized by DAPI (blue), $\times 100$

интенсивно экспрессировался ближе к цитоплазматической мембране (рис. 1, б).

Среди выделенных из хрящевой части ребер и фенотипически отождествленных как относящиеся к хондрогенному ряду выявлены крупные клетки с одним длинным или многочисленными короткими разветвленными цитоплазматическими отростками (рис. 2, а). Клетки данного типа на дне культуральной посуды в большинстве случаев располагались на некотором отдалении от хондробластов и не формировали контактов с последними. Количество клеток подобного фенотипа увеличивалось с возрастанием пассажа, на первом пассаже отмечались единичные клетки, на 2–3-м пассаже их число повышалось (рис. 2, б). В центре клеток униполярной, биполярной и мультиполярной формы располагалось крупное круглое ядро с 1–2 ядрышками. Клетки звездчатой формы с большим количеством отростков с клетками подобной формы на 3-м пассаже формировали множественные контакты на уровне как отростков, так и тел клеток. Таким образом, межклеточные контакты и фенотип кле-

ток свидетельствовали об их нейральном генезе. Для определения природы данных клеток проведено гистохимическое исследование по Нисслю, позволяющее выявить глыбки хроматофильной субстанции в теле и дендритах нервных клеток [16]. Окрашивание показало, что в цитоплазме и отростках клеток нейрального фенотипа локализовалась субстанция Ниссля (рис. 2, в). В окружающих клетках, идентифицированных как хондробласты, позитивного окрашивания по Нисслю не наблюдалось.

Нейральная природа клеток с одним длинным отростком и многочисленными короткими была исследована иммуногистохимическим методом на предмет наличия соответствующих маркеров. Musashi1 (MSI1) – РНК-связывающий белок, кодируемый геном *MSI1* и преимущественно экспрессирующийся в нервной системе, служит в качестве маркера недифференцированных нейральных клеток-предшественников, в том числе нейральных стволовых клеток [17]. Выделенные из реберного хряща и культивируемые до 2-го пассажа нейроноподобные клетки и их от-

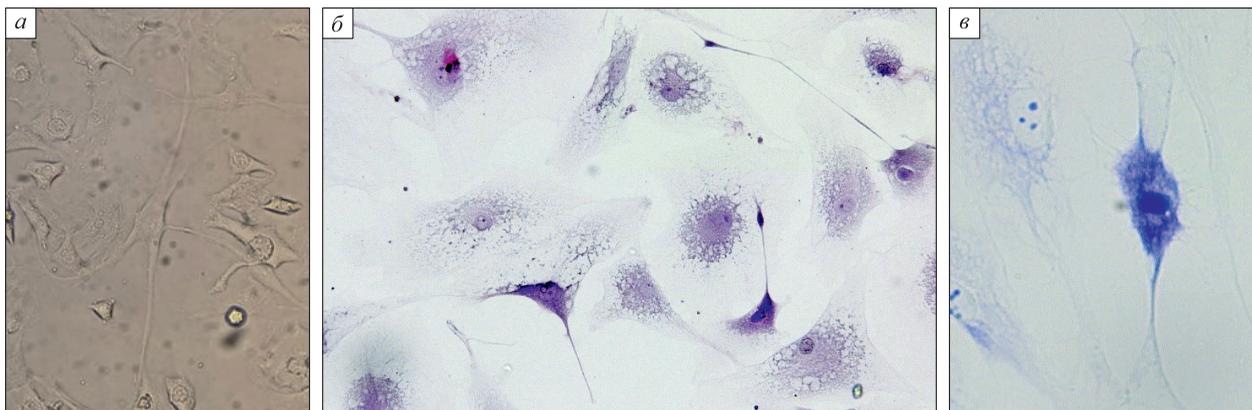


Рис. 2. Культура клеток, выделенных из реберного хряща при ВДГК, 2-й пассаж культивирования: а – прижизненная съемка, $\times 100$; б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$; в – окраска по Нисслю, $\times 60$

Fig. 2. Culture of cells isolated from rib cartilage during funnel-shaped deformation of the chest, 2nd passage of cultivation: a – lifetime survey, $\times 100$; б – hematoxylin and eosin staining, $\times 60$; в – Nissl staining, $\times 60$

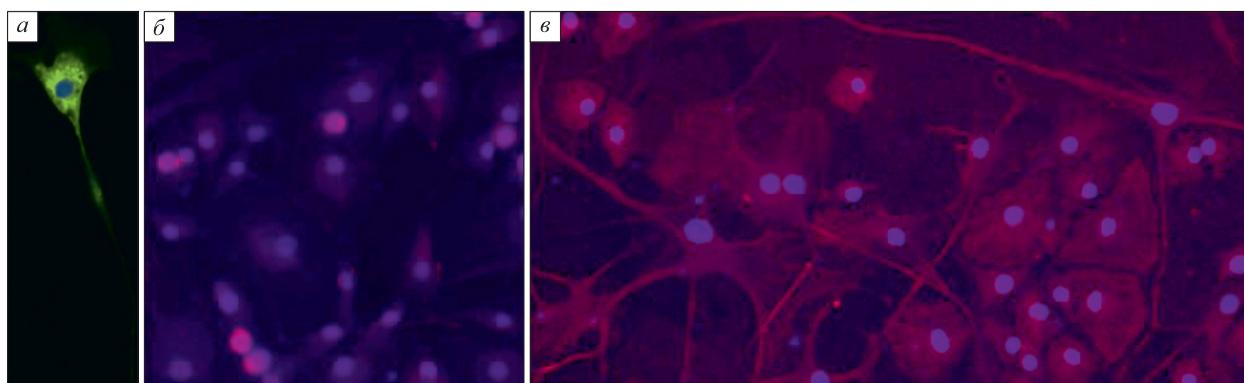


Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция с антителами к *Musashi1* (а, зеленый цвет), *PAX6* (б, красный цвет) и к III β -тубулину (в, красный цвет) в ядрах и цитоплазме клеток реберного хряща при ВДГК; ядра клеток визуализированы DAPI (синий); а, б – 2-й пассаж культивирования, $\times 100$, в – 3-й пассаж культивирования, $\times 60$

Fig. 3. Immunohistochemical reaction with antibodies to *Musashi1* (a, green), *PAX6* (б, red) and III β -tubulin (в, red) in the nuclei and cytoplasm of rib cartilage cells in funnel-shaped deformation of the chest; cell nuclei are visualized by DAPI (blue); а, б – 2nd cultivation passage, $\times 100$, в – 3rd cultivation passage, $\times 60$

ростки позитивно окрашивались на *Musashi1* (рис. 3, а). В ядрах клеток данного фенотипа также экспрессировался другой ранний нейральный маркер – *PAX6* (рис. 3, б). Транскрипционный фактор *PAX6* играет ключевую роль в стимулировании эмбрионального нейрогенеза, регулируя когорты генов, которые способствуют самообновлению нейральных стволовых клеток и генезу базальных клеток-предшественников. *PAX6* интенсивно экспрессируется в этих клетках на начальной стадии развития центральной нервной системы и в постнатальном периоде [18]. В окружающих нейральных клетках хондробластах экспрессии *PAX6* не детектировано (см. рис. 3, б).

Иммуногистохимическая реакция выявила позитивное окрашивание цитоплазмы клеток звездчатой формы и их отростков на поздний нейральный маркер III β -тубулин (рис. 3, в). III β -тубулин (TUBB3) – специфичный для нервной ткани белок тубулин с множеством изоформ, является установленным маркером пролиферативных и терминально дифференцированных нейронов. Одним из основных факторов, определяющих экспрессию TUBB3, является то, что он находится в клетках, которые либо дифференцируются в нейроны, либо уже стали ими. Известно, что TUBB3 локализуется совместно с маркерами нервного гребня до перехода последнего от эпителия к мезенхиме и поддерживается в ранних и поздних мигрирующих клетках нервного гребня [19].

Таким образом, культивирование клеток, выделенных из хрящевой ткани ребер при ВДГК, выявило клетки двух разных фенотипов. Первый тип, клетки овальной, округлой или полигональ-

ной формы, формирующие монослой, идентифицированы как хондробласты. Их хондрогенная природа подтверждается позитивным окрашиванием на антитела к коллагену II типа на фоне отсутствия положительной реакции на нейральные маркеры и окрашивание по Нисслю. Второй тип, клетки униполярной и биполярной формы с 1–2 длинными отростками, а также мультиполярные клетки, характеризовались принадлежностью к нейральному фенотипу. Об их нейральной природе свидетельствует экспрессия ранних нейральных маркеров *Musashi1* и *PAX6* и нейроспецифичного белка III β -тубулина, а также субстанции Ниссля. Принадлежность к тому или иному фенотипу подтверждается иммуногистохимическим окрашиванием, согласующимся с гистохимическими данными по идентификации клеток.

Фактические результаты культивирования клеток указывают на наличие клеток нейрального фенотипа в хрящевой части ребер у детей с ВДГК. Следовательно, возникает вопрос: как в гиалиновом хряще ребер могут быть локализованы клетки нейрального фенотипа? Для ответа на этот вопрос представляется возможным сравнение исследуемой патологии грудной клетки с другим сложным заболеванием – идиопатическим сколиозом. Показано, что при сколиотической болезни происходит ectopic локализация клеток нейрального генеза в пластинках роста тел позвонков, реализующаяся в формировании деформации позвоночника [20, 21]. Поскольку позвоночник и ребра в эмбриогенезе развиваются из склеротома, образующегося из нижней внутренней части первичного сегмента (сомита), можно высказать предположение об общей при-

роде рассматриваемых патологий. Вероятно, при ВДГК, также, как и при идиопатическом сколиозе, нарушение миграции клеток нервного гребня приводит к их частичному депонированию в сомите. Локализация в зачатках ребер клеток нервного гребня, генетически не детерминированных к хондрогенной дифференцировке, в постнатальном периоде вызывает локальное нарушение роста, реализующееся в развитие деформации. Предложенная гипотеза согласуется с представленными в современной научной литературе данными о структурно-функциональных особенностях реберного хряща: наличие дегенеративных и дистрофических изменений, уменьшение количества хрящевых лакун и тенденция к преобладанию пустых лакун [12, 13].

Заключение

ВДГК – тяжелое заболевание с неустановленной этиологией и патогенезом. В научной литературе представлены неоднозначные и противоречивые результаты о структурных особенностях реберного хряща при данной патологии. В настоящее время отсутствует комплексный подход, учитывающий взаимосвязь структурно-функциональных изменений хрящевой части ребер с формированием деформации. Между тем патологические процессы, происходящие в реберном хряще, являются одним из ведущих механизмов развития дефекта грудной клетки. В проведенном исследовании представлены первые результаты культивирования клеток реберного хряща у пациентов с впалой грудью. В хрящевой ткани ребер на фоне клеток хондрогенной дифференцировки выявлены клетки нейрального фенотипа. В цитоплазме униполярных, биполярных и мультиполярных клеток визуализировалась субстанция Ниссля. О нейральной природе исследуемых клеток свидетельствовала экспрессия нейральных маркеров Musashi1, PAX6 и III β -тубулина. Предложенная гипотеза о роли клеток нервного гребня в формировании патологии грудной клетки является предварительной, исследования продолжаются.

Список литературы / References

1. Kloth K., Klohs S., Bhullar J., Boettcher M., Hempel M., Trah J., Reinshagen K. The epidemiology behind pectus excavatum: clinical study and review of the literature. *Eur. J. Pediatr. Surg.* 2022;32(4):316–320. doi: 10.1055/s-0041-1729898
2. Kurkov A., Guller A., Fayzullin A., Fayzulina N., Plyakin V., Kotova S., Timashev P., Frolova A., Kurtak N., Paukov V., Shekhter A. Amianthoid transformation of costal cartilage matrix in children with pectus excavatum and pectus carinatum. *PLoS*

One. 2021;16(1):e0245159. doi: 10.1371/journal.pone.0245159

3. Курков А.В., Шехтер А.Б., Пауков В.С. Структурные и функциональные изменения реберных хрящей при воронковидной и килевидной деформации грудной клетки у детей. *Арх. патол.* 2017;79(5):57–62. doi: 10.17116/patol201779557-62

Kurkov A.V., Shekhter A.B., Paukov V.S. Costal cartilage structural and functional changes in children with a funnel or keeled chest: A literature review. *Архив патологии = Archive of Pathology.* 2017;79(5):57–62. [In Russian]. doi: 10.17116/patol201779557-62

4. Bhatnagar V., Sharma N., Dhua A., Jana M. Surgical correction of pectus excavatum using a rib graft strut following excision of costal cartilages. *J. Indian Assoc. Pediatr. Surg.* 2019;24(4):252–256. doi: 10.4103/jiaps.JIAPS_68_18

5. David V.L. Current concepts in the etiology and pathogenesis of pectus excavatum in humans-A systematic review. *J. Clin. Med.* 2022;11(5):1241. doi: 10.3390/jcm11051241

6. Park C.H., Kim T.H., Haam S.J., Lee S. Asymmetric pectus excavatum is associated with overgrowth of ribs Rather than cartilage. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015;63(5):427–432. doi: 10.1055/s-0034-1395394

7. David V.L., Cerbu S., Haragus H., Popoiu M.C., Stanculescu C.M., Cozma G., Burlacu O., Boia E.S. Costal cartilages do not overgrow in patients with pectus excavatum. *Med. Princ. Pract.* 2016;25(6):533–538. doi: 10.1159/000449133

8. Бардахчян Э.А., Чепурной Г.И., Шамик В.Б. Особенности ультраструктурных изменений реберного хряща детей при различных деформациях грудной клетки. *Арх. патол.* 2002;64(5):40–45.

Bardakhchyan E.A., Chepurnoy G.I., Shamik V.B. Features of ultrastructural changes in the rib cartilage of children with various deformities of the chest. *Архив патологии = Archive of Pathology.* 2002;64(5):40–45. [In Russian].

9. Feng J., Hu T., Liu W., Zhang S., Tang Y., Chen R., Jiang X., Wei F. The biomechanical, morphologic, and histochemical properties of the costal cartilages in children with pectus excavatum. *J. Pediatr. Surg.* 2001;36(12):1770–1776. doi: 10.1053/jpsu.2001.28820

10. Tocchioni F., Ghionzoli M., Calosi L., Guasti D., Romagnoli P., Messineo A. Rib cartilage characterization in patients affected by pectus excavatum. *Anat. Rec. (Hoboken).* 2013;296(12):1813–1820. doi: 10.1002/ar.22824

11. Fokin A.A., Steuerwald N.M., Ahrens W.A., Allen K.E. Anatomical, histologic, and genetic characteristics of congenital chest wall deformities. *Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2009;21(1):44–57. doi: 10.1053/j.semtcvs.2009.03.001

12. Рузикулов У.Ш., Нурмухамедов Х.К. Морфологические особенности в тканях грудинно-

реберного комплекса у детей при воронкообразной деформации грудной клетки. *Травматология және ортопедия*. 2020;(3):24–30. doi: 10.52889/1684-9280-2020-3-53-24-30

Ruzikulov U.Sh., Nurmukhamedov Kh.K. Morphological features in the tissues of the sternal-rib complex in children with funnel chest deformation. *Travmatologiya zhane ortopediya = Traumatology and Orthopaedics*. 2020;(3):24–30. [In Russian]. doi: 10.52889/1684-9280-2020-3-53-24-30

13. Курков А.В., Пауков В.С., Файзуллин А.Л., Шехтер А.Б. Изменения реберного хряща при воронковидной и килевидной деформации грудной клетки у детей. *Арх. патол.* 2018;80(5):8–15. doi: 10.17116/patol2018800518

Kurkov A.V., Paukov V.S., Fayzullin A.L., Shekhter A.B. Costal cartilage changes in children with pectus excavatum and pectus carinatum. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology*. 2018;80(5):8–15. [In Russian]. doi: 10.17116/patol2018800518

14. Cobben J.M., Oostra R.J., van Dijk F.S. Pectus excavatum and carinatum. *Eur. J. Med. Genet.* 2014;57(8):414–417. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.04.017

15. Luo Y., Sinkeviciute D., He Y., Karsdal M., Henriksen Y., Mobasheri A., Önerfjord P., Bay-Jensen A. The minor collagens in articular cartilage. *Protein Cell*. 2017;8(8):560–572. doi: 10.1007/s13238-017-0377-7

16. Carriel V., Campos A., Alaminos M., Raimondo S., Geuna S. Staining methods for normal and regenerative myelin in the nervous system. *Methods Mol. Biol.* 2017;1560:207–218. doi: 10.1007/978-1-4939-6788-9_15

17. Tomita Y., Matsumura K., Wakamatsu Y., Matsuzaki Y., Shibuya I., Kawaguchi H., Ieda M., Kanakubo S., Shimazaki T., Ogawa S., Osumi N., Okano H., Fukuda K. Cardiac neural crest cells contribute to the dormant multipotent stem cell in the mammalian heart. *J. Cell. Biol.* 2005;170(7):1135–1146. doi: 10.1083/jcb.200504061

18. Osumi N., Shinohara H., Numayama-Tsuruta K., Maekawa M. Concise review: Pax6 transcription factor contributes to both embryonic and adult neurogenesis as a multifunctional regulator. *Stem. Cells*. 2008;26(7):1663–1672. doi: 10.1634/stemcells.2007-0884

19. Chacon J., Rogers C.D. Early expression of Tubulin Beta-III in avian cranial neural crest cells. *Gene Expr. Patterns*. 2019;34:119067. doi: 10.1016/j.gep.2019.119067

20. Zaydman A.M., Stroková E.L., Kiseleva E.V., Suldina L.A., Strunov A.A., Shevchenko A.I., Laktionov P.P., Subbotin V.M. A new look at etiological factors of idiopathic scoliosis: neural crest cells. *Int. J. Med. Sci.* 2018;15(5):436–446. doi:10.7150/ijms.22894

21. Zaydman A.M., Stroková E.L., Pahomova N.Y., Gusev A.F., Mikhaylovskiy M.V., Shevchenko A.I., Zaidman M.N., Shilo A.R., Subbotin V.M. Etiopathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis: review of the literature and new epigenetic hypothesis on altered neural crest cells migration in early embryogenesis as the key event. *Med. Hypotheses*. 2021;151:110585. doi: 10.1016/j.mehy.2021.110585

Сведения об авторах:

Строкова Елена Леонидовна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-5789-6982, e-mail: estroková-1985-10-14@mail.ru

Пахомова Наталья Юрьевна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9575-4096, e-mail: ssi-proekt@mail.ru

Шевченко Александр Игоревич, к.б.н., ORCID: 0000-0001-6535-1627, e-mail: epigene@bionet.nsc.ru

Корыткин Андрей Александрович, к.м.н., ORCID: 0000-0001-9231-5891, e-mail: andrey.korytkin@gmail.com

Кожевников Вадим Витальевич, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2556-3347, e-mail: vadim-barnaul@bk.ru

Зайдман Алла Михайловна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-6613-1615, e-mail: zaydmanam@gmail.com

Information about the authors:

Elena L. Stroková, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-5789-6982, e-mail: estroková-1985-10-14@mail.ru

Natalya Yu. Pakhomova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9575-4096, e-mail: ssi-proekt@mail.ru

Alexander I. Shevchenko, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-6535-1627, e-mail: epigene@bionet.nsc.ru

Andrey A. Korytkin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-9231-5891, e-mail: andrey.korytkin@gmail.com

Vadim V. Kozhevnikov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2556-3347, e-mail: vadim-barnaul@bk.ru

Alla M. Zaidman, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-6613-1615, e-mail: zaydmanam@gmail.com

Поступила в редакцию 08.06.2023

После доработки 22.08.2023

Принята к публикации 25.09.2023

Received 08.06.2023

Revision received 22.08.2023

Accepted 25.09.2023