

УВЕЛИЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИИ $\gamma\delta$ T-КЛЕТОК КРОВИ КАК РЕАКЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НА ПОРАЖЕНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА И КИШЕЧНИКА У ЛЮДЕЙ СТАРШИХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Стенина М.А., Громова Т.В., Греченко В.В., Ганковская Л.В.

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. $\gamma\delta$ T-клетки — это уникальные лимфоциты, занимающие промежуточное положение между клетками врожденного и адаптивного иммунитета. Еще на этапе дифференцировки в тимусе они приобретают статус эффекторов с цитотоксической активностью и становятся мощными продуцентами цитокинов. Образованному γ - и δ -цепями, распознающему антиген рецептору $\gamma\delta$ T-клеток отводят важную роль в активации этих клеток в тканях: он узнает инфицированные и опухолевые клетки по наличию в них молекул внутриклеточного стресса. $\gamma\delta$ T-клетки обнаруживают в крови и в слизистых оболочках. Сегодня внимание исследователей сосредоточено на двух субпопуляциях $\gamma\delta$ T-клеток: $\gamma\delta 1$ и $\gamma\delta 2$. Первая обильно представлена в слизистых оболочках, вторая образует основную массу (90%) циркулирующих $\gamma\delta$ T-клеток. Целью нашей работы стала оценка уровня циркулирующих $\gamma\delta$ T-клеток у пациентов старших возрастных групп при наличии у них патологического процесса в различных отделах слизистой оболочки пищеварительного тракта. Мы сформировали группы из числа пациентов Российского геронтологического научно-клинического центра в возрасте от 60 до 90 лет. В основную группу ($n = 28$) вошли пациенты с поражением слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки в виде эрозивно-язвенных очагов. Сопоставимую по возрасту группу сравнения ($n = 33$) составили пациенты, не предъявляющие жалоб со стороны пищеварительного тракта, не имеющие показаний к гастродуоденоскопии. В отдельную группу ($n = 35$) вошли пациенты с различной степенью дисбиоза толстой кишки. Количество $\gamma\delta$ T-клеток в крови определяли методом двухцветной проточной цитофлюорометрии с использованием моноклональных антител. Циркулирующая популяция $\gamma\delta$ T-клеток реагировала на эрозивно-язвенные очаги в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки увеличением своей численности.

Адрес для переписки:

Громова Татьяна Вячеславовна
ФГАОУ ВО «Российский национальный
исследовательский медицинский университет имени
Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ
117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1.
Тел.: 8 (916) 562-14-83.
E-mail: tvlevashova@gmail.com

Address for correspondence:

Tatyana V. Gromova
N. Pirogov Russian National Medical University
1 Ostrovityanov St
Moscow
117997 Russian Federation
Phone: +7 (916) 562-14-83.
E-mail: tvlevashova@gmail.com

Образец цитирования:

М.А. Стенина, Т.В. Громова, В.В. Греченко,
Л.В. Ганковская «Увеличение популяции $\gamma\delta$ T-клеток
крови как реакция иммунной системы на поражение
слизистой оболочки желудка и кишечника у людей
старших возрастных групп» // Медицинская
иммунология, 2024. Т. 26, № 6. С. 1315-1321.
doi: 10.15789/1563-0625-EOT-2889

© Стенина М.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.A. Stenina, T.V. Gromova, V.V. Grechenko,
L.V. Gankovskaya "Expansion of the $\gamma\delta$ T cell population in
peripheral blood: a response of immune system to the damage
of gastrointestinal mucous membranes in older age groups",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2024, Vol. 26, no. 6, pp. 1315-1321.
doi: 10.15789/1563-0625-EOT-2889

© Stenina M.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-EOT-2889

ности. Пагубным последствием дисбиоза толстой кишки считают снижение барьерной функции кишечника. Среди пациентов с тяжелым дисбиозом третьей степени доля лиц с высоким содержанием $\gamma\delta$ T-клеток была достоверно выше, чем среди пациентов с первой (легкой) степенью дисбиоза. Т. е. у пациентов старшей возрастной группы циркулирующая популяция $\gamma\delta$ T-клеток откликается увеличением своей численности на повреждение (тяжесть повреждения) слизистой оболочки разных отделов пищеварительного тракта. Неспецифичный характер реакции очевиден, тем не менее экспансия этой популяции в крови сигнализирует о том или ином патологическом процессе, требующим дальнейшей углубленной диагностики.

Ключевые слова: $\gamma\delta$ T-клетки, проточная цитофлуориметрия, пациенты старших возрастных групп, язвенная болезнь желудка, дисбиоз кишечника, слизистая желудочно-кишечного тракта

EXPANSION OF THE $\gamma\delta$ T CELL POPULATION IN PERIPHERAL BLOOD: A RESPONSE OF IMMUNE SYSTEM TO THE DAMAGE OF GASTROINTESTINAL MUCOUS MEMBRANES IN OLDER AGE GROUPS

Stenina M.A., Gromova T.V., Grechenko V.V., Gankovskaya L.V.

N. Pirogov Russian National Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. $\gamma\delta$ T cells are unique lymphocytes that take an intermediate position between the cells of innate and adaptive immunity. Even at the stage of differentiation in the thymus, they acquire the status of effectors with cytotoxic activity and become powerful cytokine producers. The antigen-recognizing receptor of $\gamma\delta$ T cells formed by γ and δ chains and is assigned an important role in activation of these cells in tissues: it recognizes infected and tumor cells by the presence of intracellular stress molecules. $\gamma\delta$ T cells are found in the blood and mucous membranes. Today, researchers' attention is focused on two subpopulations of $\gamma\delta$ T cells: $\gamma\delta$ 1 and $\gamma\delta$ 2. The first is abundantly represented in the mucous membranes, the second forms the bulk (90%) of circulating $\gamma\delta$ T cells. The aim of this study was to assess the level of circulating $\gamma\delta$ T cells in patients of older age groups with proven pathologies affecting mucous surfaces at various segments of the digestive tract. We have recruited older patients from the Russian Gerontological Research and Clinical Center aged 60 to 90 years. The main group (n = 28) included patients with lesions of the gastric mucosa and duodenum with erosive ulcerative foci. The age-matched comparison group (n = 33) consisted of patients without gastrointestinal manifestations and did not have indications for gastroduodenoscopy. A separate group (n = 35) included patients with varying degrees of colon dysbiosis. The number of $\gamma\delta$ T cells in the blood was determined by two-color flow cytometry using monoclonal antibodies. Presence of erosive and ulcerative foci in the mucous membranes of the stomach and duodenum was associated with increased numbers of circulating $\gamma\delta$ T cells population. An impaired function of intestinal barrier is considered a detrimental consequence of colon dysbiosis. Among patients with severe dysbiosis (3rd degree), the proportion of patients with a high content of $\gamma\delta$ T cells was significantly higher than among patients with the 1st (milder) degree of dysbiosis. Hence, the circulating population of $\gamma\delta$ T cells in the patients of the older age group responds by increased numbers to the damage (severity of damage) of the mucous membrane observed at different segments of digestive tract. The nonspecific nature of this response is obvious. Nevertheless, the expansion of this population in the circulating blood may be a sign of particular pathological process thus requiring further advanced diagnosis.

Keywords: $\gamma\delta$ T cells, flow cytometry, older patients, gastric ulcer, intestinal dysbiosis, gastrointestinal tract mucosa

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №23-15-00137, <https://rscf.ru/project/23-15-00137//>.

Введение

$\gamma\delta$ T-клетки получили свое название в связи с особенностями строения распознающего антигена рецептора (TCR). У этих клеток он представлен γ - и δ -цепями гетеродимера, связанного с CD3 комплексом ($\gamma\delta$ -TCR). Это контрастирует с $\alpha\beta$ -TCR традиционных T-клеток. На сегодняшний день сформирована точка зрения на $\gamma\delta$ T-клетки как мощные, созревшие еще на этапе дифференцировки в тимусе эффекторы. В литературе часто отмечают уникальность этой популяции лимфоцитов, фенотипически во многом схожей с клетками врожденного иммунитета. В частности, $\gamma\delta$ T-клетки могут быть активированы сигнализацией как с $\gamma\delta$ -TCR, так и с лектиноподобных NK-рецепторов С-типа (NKG2D) и паттерн-распознающих рецепторов. Но сегодня, при обсуждении проблемы об активации $\gamma\delta$ T-клеток вне тимуса, акцентируют внимание преимущественно на $\gamma\delta$ -TCR.

Существует концепция, согласно которой $\gamma\delta$ T-клетки осуществляют иммунный надзор в тканях, распознавая с помощью своего TCR стрессированные клетки-мишени [9]. В медицине термин внутриклеточный стресс применяют к таким состояниям, как инфекция и опухолевой рост, и полагают, что в клетках накапливаются молекулы внутриклеточного стресса. В их число сегодня включают промежуточные (побочные) продукты синтеза изопреноидов бактериями и опухолевыми клетками (фосфоантигены), метаболиты синтезируемого микробами витамина B2, гликолипиды опухоли и внутриклеточных патогенов и другие. Активированные таким образом $\gamma\delta$ T-клетки проявляют в тканях как цитотоксическую активность в отношении инфицированных и трансформированных клеток, так и эффекты, связанные с продуцируемыми ими цитокинами. Отсюда понятно, почему $\gamma\delta$ T-клетки представляют большой интерес как инструмент для адоптивной терапии опухолей и внутриклеточных инфекций.

$\gamma\delta$ T-клетки обнаруживают как в крови, так и в слизистых оболочках. При этом очевидно, что циркулирующая популяция этих клеток имеет преимущества как объект исследования при ре-

шении задач, связанных с иммунодиагностикой и иммунотерапией. Однако в контексте геронтологических проблем характеристика этой клеточной популяции в процессе старения явно не является полной.

Целью нашей работы стала оценка уровня $\gamma\delta$ T-клеток крови у пациентов старших возрастных групп при наличии у них патологического процесса в различных отделах слизистой оболочки пищеварительного тракта.

Материалы и методы

Объектом исследования служила периферическая кровь пациентов в возрасте от 60 до 90 лет, проходивших обследование и лечение в Российском геронтологическом научно-клиническом центре (РГНКЦ). От каждого пациента было получено информированное согласие на проведение лабораторных исследований, включая иммунологическое. 98 пациентов РГНКЦ вне фазы обострения хронических заболеваний мы распределили на две сопоставимые по возрасту группы. В первую (основную) группу вошли 28 пациентов, которым была показана гастродуоденоскопия. При эндоскопии у них обнаружили изменения слизистой оболочки желудка и начального отдела тонкой кишки, варьирующие от поверхностных эрозий до язвенно-некротических очагов. У 35 пациентов другой группы (группа сравнения), не предъявляющих жалоб со стороны пищеварительного тракта, показания к эндоскопии по мнению гастроэнтеролога отсутствовали.

В отдельную группу вошли 35 человек, у которых выявлен дисбиоз толстого кишечника. Оценку состояния микрофлоры кишечника проводили методом серийных разведений фекалий с последующим высевом на дифференциально-диагностические среды и определением степени дисбактериоза в соответствии с общепринятыми критериями [1].

Полученные от пациентов образцы крови из локтевой вены обрабатывали моноклональными антителами: анти-TCR- $\gamma\delta$, конъюгированными с фикоэритрином и анти-CD3, конъюгированные с фикоэритрин цианином-5 (Beckman Coulter, США). Лизис эритроцитов осуществляли с помощью лизирующего раствора (215 ч 0,8%-ного р-ра NH_4Cl + 1 ч 0,037%-ного р-ра EDTA-Na_4). На последнем этапе клетки фиксировали добав-

лением к отмытому осадку 100 мкл 1%-ного раствора формальдегида.

Анализ флуоресценции обработанных антигенами лейкоцитов проводили на лазерном цитофлюориметре FACScan (фирма Becton Dickinson, США). В Dot Plot по показателям FSC (малое угловое светорассеяние) и SSC (боковое светорассеяние) и одновременно по наличию CD45⁺ клеток (свечение по FL1) и CD14⁺ клеток (свечение по FL2) выделяли гейт лимфоцитов. Анализ субпопуляций проводили на основе следующих параметров: FSC, SSC, а также наличие флуоресценции в координатах FL1 (зеленое свечение), FL2 (оранжево-красное свечение) и FL3 (красное свечение).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2016 и STATISTICA 10.0. При первоначальном анализе данных мы установили, что в исследованных группах распределение пациентов по уровню $\gamma\delta$ T-клеток отличается от нормального. Поэтому сравнение групп мы проводили, используя непараметрические критерии статистики.

Результаты и обсуждение

Диаграмма, представленная на рисунке 1, позволяет сравнить содержание в крови $\gamma\delta$ T-клеток в двух одинаковых по возрастному составу группах обследованных. Пациенты основной группы отличались от пациентов группы сравнения эрозивно-язвенными дефектами слизистой оболочки желудка и начального отдела тонкой кишки. Эти дефекты обнаруживали при проведении гастродуоденоскопии. Пациенты группы сравнения, не предъявляющие жалоб со стороны пищеварительного тракта, не имели показаний для эндоскопии. Согласно критерию Манна–Уитни количество $\gamma\delta$ T-клеток в мкл крови у пожилых людей из основной группы достоверно выше, чем у пациентов из группы сравнения.

Наши данные об экспансии циркулирующей популяции $\gamma\delta$ T-клеток у пациентов старшей возрастной группы с эрозивно-язвенным поражением слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки хорошо согласуются с исследованиями, в которых продемонстрировали, что эта популяция $\gamma\delta$ T-клеток может реагировать отчетливым увеличением своей численности

на бактериальные [2, 3, 5, 6, 7] и паразитарные инфекции [10].

На следующем этапе нашей работы мы сопоставили уровни $\gamma\delta$ T-клеток крови с состоянием эпителиального барьера слизистой оболочки толстой кишки. Это состояние оценивали по степени дисбиоза. Дисбиозом называют изменение структуры громадного сообщества условно-патогенных и симбиотических микроорганизмов, населяющих эпителии слизистых оболочек. В геронтологии дисбиоз включен в список клеточных и молекулярных признаков/механизмов старения [8] наряду с нестабильностью генома, истощением теломер, эпигенетическими изменениями, нарушениям белкового гомеостаза (протеостаза), дефектом макроаутофагии, нарушением регуляции восприятия питательных веществ, митохондриальной дисфункцией, клеточным старением, истощением стволовых клеток, изменением межклеточной коммуникации, хроническим воспалением. Пагубным последствием дисбиоза, лучше всего продемонстрированным на примере толстой кишки, является нарушение эпителиального барьера слизистой оболочки [4].

Из 35 пациентов в возрасте 60 лет и старше мы сформировали три группы. Пациенты в этих группах различались по степени диагностированного у них дисбиоза: первая (легкая), вторая и третья (тяжелая). Возвращаясь к диаграмме, представленной на рисунке 1, мы обратили внимание на асимметрию распределения показателя количества циркулирующих $\gamma\delta$ T-клеток, особенно выраженную в основной группе. В этой группе присутствовали пациенты с очень высоким содержанием $\gamma\delta$ T-клеток. Поэтому, анализируя данные, касающиеся дисбиоза, мы определили долю лиц, у которых количество циркулирующих $\gamma\delta$ T-клеток превышало норму, а именно 70 клеток в мкл крови (рис. 2). Согласно точному критерию Фишера частота встречаемости пациентов с повышенным содержанием в крови $\gamma\delta$ T-клеток среди пациентов с третьей (тяжелой) степенью дисбиоза (89%) была достоверно выше, чем среди пациентов с первой (легкой) степенью (33%). Т. е. при локализации патологического процесса в слизистой оболочке толстой кишки популяция циркулирующих $\gamma\delta$ T-клеток реагирует на степень повреждения эпителиального барьера слизистой оболочки увеличением

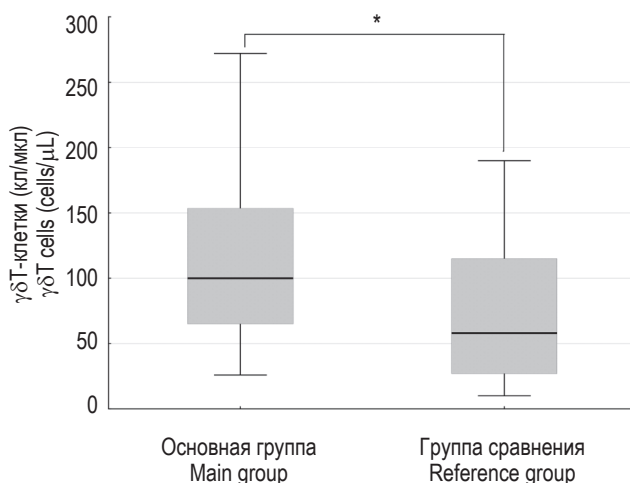


Рисунок 1. Содержание $\gamma\delta T$ -клеток в мкл крови пациентов старше 60 лет с эрозивно-язвенными дефектами слизистой оболочки желудка и начального отдела тонкой кишки (основная группа) и пациентов группы сравнения, не имеющих показаний к гастродуоденоскопии

Примечание. На диаграмме приведены медианные значения уровней циркулирующих $\gamma\delta T$ -клеток, максимальные и минимальные значения этого показателя, 25% и 75% процентиля. * – различия между группами статистически значимы, $p \leq 0,04$.

Figure 1. Content of $\gamma\delta T$ cells in one microliter of blood of patients older than 60 years with erosive and ulcerative defects of the gastric mucosa and the initial part of the small intestine (main group) and patients of the comparison group with no indications for gastroduodenoscopy

Note. The diagram shows the median values of circulating $\gamma\delta T$ cell levels, the maximum and minimum values of this indicator, 25% and 75% percentiles. *, differences between groups are statistically significant, $p \leq 0.04$.

своей численности. Эти данные перекликаются с данными, полученными при сальмонеллезе. Было показано, что экспансия популяции $\gamma\delta T$ -клеток зависела от распространенности патологического процесса и была выражена значительно в большей степени при генерализованном процессе с поражением почек, надпочечников, миокарда, чем при ограниченной кишечником форме инфекции [5].

Заключение

Популяцию $\gamma\delta T$ -клеток разделяют на субпопуляции. Одна из них ($\gamma\delta 1$) обильно пред-

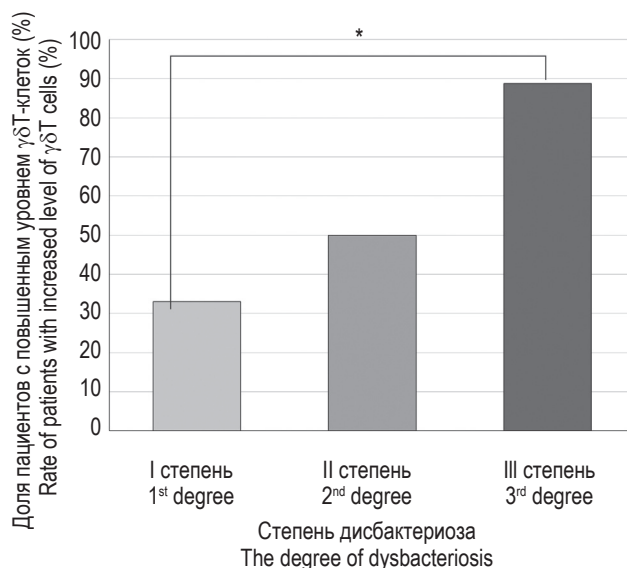


Рисунок 2. Доли лиц, у которых содержание циркулирующих $\gamma\delta T$ -клеток повышено (более 70 клеток/мкл) среди пациентов с дисбиозом толстой кишки первой, второй, третьей степени

Примечание. * – различия между группами статистически значимы, $p \leq 0,02$.

Figure 2. Proportion of individuals with an increased content of circulating $\gamma\delta T$ cells (more than 70 cells/mL) among patients with first, second, and third degree colon dysbiosis

Note. *, differences between groups are statistically significant, $p \leq 0.02$.

ставлена в слизистых оболочках. Другую ($\gamma\delta 2$) уже исследуют как возможный инструмент для адоптивной терапии опухолей. По некоторым данным она составляет 95% циркулирующих $\gamma\delta T$ -клеток [9]. Однако, несмотря на более чем 30-летнюю историю изучения $\gamma\delta T$ -клеток, вопрос о путях их миграции из крови освящен недостаточно. Основным итогом нашей работы можно считать утверждение, что циркулирующая популяция $\gamma\delta T$ -клеток у пациентов старшей возрастной группы откликается увеличением своей численности на повреждение слизистой оболочки разных отделов пищеварительного тракта. Неспецифичный характер реакции очевиден, тем не менее экспансия этой популяции в крови сигнализирует о наличии того или иного патологического процесса, требующего дальнейшей углубленной диагностики и диспансерного наблюдения за пациентами с высоким уровнем в крови $\gamma\delta T$ -клеток.

Список литературы / References

1. Алёшкин В.А., Селькова Е.П., Затевалов А.М., Миронов А.Ю., Волчецкий А.Л., Гудова Н.В. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника. Федеральные клинические рекомендации. Н. Новгород: Ремедиум Приволжье, 2016. 40 с. [Aleshkin V.A., Selkova E.P., Zatevalov A.M., Mironov A.Yu., Volchetsky A.L., Gudkova N.V. Determination of dysbiotic changes in the gastrointestinal tract by markers of intestinal contents. Federal clinical guidelines]. N. Novgorod: Remedium Privolzhye, 2016. 40 p.
2. Bertotto A., Gerli R., Spinozzi F., Muscat C., Scalise F., Castellucci G., Sposito M., Candio F., Vaccaro R. Lymphocytes bearing the gamma delta T cell receptor in acute Brucella melitensis infection. *Eur. J. Immunol.*, 1993, Vol. 23, no. 5, pp. 1173-1180.
3. Caldwell C.W., Everett E.D., McDonald G., Yesus Y.W., Roland W.E. Lymphocytosis of gamma/delta T cells in human ehrlichiosis. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1995, Vol. 10, no. 6, pp. 761-76.
4. DeJong E.N., Surette M.G., D.M.E Bowdish. The gut microbiota and unhealthy aging: disentangling cause from consequence. *Cell Host Microbe*, 2020, Vol. 28, no. 2, pp. 180-189.
5. Hara T., Mizuno Y., Takaki K., Takada H., Akeda H., Aoki T., Nagata M., Ueda K., Matsuzaki G., Yoshikai Y. Predominant activation and expansion of V gamma 9-bearing gamma delta T cells in vivo as well as in vitro in Salmonella infection. *J. Clin. Invest.*, 1992, Vol. 90, no. 1, pp. 204-210.
6. Ito M., Kojiro N., Ikeda T., Ito T., Funada J., Kokubu T. Increased proportions of peripheral blood gamma delta T cells in patients with pulmonary tuberculosis. *Chest*, 1992, Vol. 102, no. 1, pp. 195-197.
7. Jouen-Beades F., Paris E., Dieulois C., Lemeland J.F., Barre-Dezelus V., Marret S., Humbert G., Leroy J., Tron F. In vivo and in vitro activation and expansion of gammadelta T cells during Listeria monocytogenes infection in humans. *Infect. Immun*, 1997, Vol. 65, no. 10, pp. 4267-4272.
8. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 2023, Vol. 186, no. 2, pp. 243-278.
9. Saura-Esteller J., de Jong M., King L.A., Ensing E., Winograd B, de Gruijl T.D., Parren P.W.H.I., van der Vliet H.J. Gamma Delta T-Cell Based Cancer Immunotherapy: Past-Present-Future. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 915837. doi: 10.3389/fimmu.2022.915837.
10. Scalise F., Gerli R., Castellucci G., Spinozzi F., Fabietti G.M., Crupi S., Sensi L., Britta R., Vaccaro R., Bertotto A. Lymphocytes bearing the gamma delta T-cell receptor in acute toxoplasmosis. *Immunology*, 1992, Vol. 76, no. 4, pp. 668-670.

Авторы:

Стенина М.А. — д.м.н., профессор кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Громова Т.В. — к.б.н., доцент кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Stenina M.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine and Biology, N. Pirogov Russian National Medical University, Moscow, Russian Federation

Gromova T.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine and Biology, N. Pirogov Russian National Medical University, Moscow, Russian Federation

Греченко В.В. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Ганковская Л.В. — д.м.н., профессор кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Grechenko V.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine and Biology, N. Pirogov Russian National Medical University, Moscow, Russian Federation

Gankovskaya L.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine and Biology, N. Pirogov Russian National Medical University, Moscow, Russian Federation

Поступила 07.07.2023
Принята к печати 05.10.2023

Received 07.07.2023
Accepted 05.10.2023