

Полиморфизмы rs231775 и rs5742909 гена CTLA-4 и их ассоциативные связи с хронической HBV-инфекцией у детей

Ф. И. ИНОЯТОВА, Г. З. ИНОГАМОВА, Ф. Г. АБДУЛЛАЕВА, Н. К. ВАЛИЕВА,
Н. А. ИКРАМОВА, Х. М. КАДЫРХОДЖАЕВА, А. Х. АХМЕДОВА

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр педиатрии
МЗ Руз, Ташкент, Узбекистан

Исследование генетического полиморфизма rs231775 (+49A > G) и rs5742909 (+318C > T) гена CTLA-4 у 100 больных детей с хронической HBV-инфекцией выявило ассоциации только с носительством полиморфного варианта +49A/G. При этом, носительство G-аллеля в гомозиготной мутантной +49GG-позиции предполагало развитие выраженных форм с прогрессирующим течением и высокой вероятности исхода заболевания в цирроз печени.

Установленные гендерные различия — свойственная мальчикам высокая экспрессия минорного G-аллеля гена CTLA-4, особенно в гомозиготной мутантной вариации +49GG — доказывает феномен высокой частоты поражения мальчиков гепатотропной вирусной инфекцией.

Следовательно, носительство мутантной вариации +49GG можно рассматривать в числе HOST-факторов по прогнозированию неблагоприятных исходов хронической HBV-инфекции у детей.

Ключевые слова: хроническая HBV-инфекция, ген CTLA-4, полиморфизмы rs231775 (+49A > G) и rs5742909 (+318C > T), клиника, дети

Polymorphisms rs231775 and rs5742909 CTLA-4 gene and their associative relations with chronic HBV infection in children

F. I. Inoyatova, G. Z. Inogamova, F. G. Abdullaeva, N. K. Valieva, N. A. Ikramova, H. M. Kadyrhodzhaeva, A. Kh. Akhmedova

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

The study of the genetic polymorphism rs231775 (+ 49A > G) and rs5742909 (+ 318C > T) of the CTLA-4 gene in 100 children with chronic HBV infection revealed associations only with the carriage of the + 49A/G polymorphic variant. Moreover, the carriage of the G allele in the homozygous mutant + 49GG position suggested the development of pronounced forms with a progressive course and a high probability of the outcome of the disease in cirrhosis.

The established gender differences — the boys' high expression of the minor G-allele of the CTLA-4 gene, especially in the homozygous mutant variation + 49GG — proves the phenomenon of a high incidence of hepatotropic viral infection in boys.

Therefore, the carriage of mutant variation + 49GG can be considered among the HOST factors for predicting adverse outcomes of chronic HBV infection in children.

Keywords: chronic HBV infection, CTLA-4 gene, rs231775 polymorphisms (+ 49A > G) and rs5742909 (+ 318C > T), clinic, children

Для цитирования: Ф. И. Иноятова, Г. З. Иногамова, Ф. Г. Абдуллаева, Н. К. Валиева, Н. А. Икрамова, Х. М. Кадырходжаева, А. Х. Ахмедова. Полиморфизмы rs231775 и rs5742909 гена CTLA-4 и их ассоциативные связи с хронической HBV-инфекцией у детей. Детские инфекции. 2020; 19(3):15-18. doi.org/10.22627/2072-8107-2020-19-3-15-18

For citation: F.I. Inoyatova, G.Z. Inogamova, F.G. Abdullaeva, N.K. Valieva, N.A. Ikramova, H.M. Kadyrhodzhaeva, A. Kh. Akhmedova. Polymorphisms rs231775 and rs5742909 of the CTLA-4 gene and their associative relationships with chronic HBV infection in children. Detskie Infektsii=Children's Infections. 2020; 19(3):15-18. doi.org/10.22627/2072-8107-2020-19-3-15-18

Контактная информация: Иноятова Флора Ильясовна (Flora Inoyatova), д.м.н., профессор, руководитель научного отдела гепатологии Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра педиатрии, Ташкент, Узбекистан; MD, Head of the Department of Hepatology, Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Pediatrics, Tashkent, Uzbekistan; hepar.child@yandex.ru; orcid.org/0000-0003-2712-2780

Важной проблемой в гепатологии является изучение тяжелых прогрессирующих форм хронической HBV-вирусной патологии печени у детей, которые отличаются сложностью патогенеза, тяжестью осложнений и недостаточной эффективностью противовирусного лечения. По своей сути, именно такие формы заболевания являются реальными «поставщиками» таких грозных, но уже самостоятельных заболеваний, как цирроз печени (30–70%) и гепатоцеллюлярная карцинома (5–30%), приводящих к ранней инвалидизации и высокой детской смертности [1–6]. Решение многих вопросов данной проблемы возможно на стыке с молекулярной медициной, занимающейся изучением механизмов развития, предрасположенности к прогрессированию, предупреждения и лечения болезней. Прогрессирование заболевания связано преимущественно не только с вирусологическими факторами, но и с особенностями макроорганизма — кодируемым генетическим фондом. При этом, патологические процессы, в том числе фиброгенез, регулируются определенными специфическими генами, полиморфизм которых обуславливает особенности развития и темпы прогрессирования заболеваний. В их числе рассматривается ген CTLA-4 — триггер таких патоло-

гических процессов, как апоптоз, пролиферация и дифференциация, опосредованных через каскад иммунопатологических реакций [2, 5, 7]. По своей сути, CTLA-4 является ингибирующим рецептором, который ограничивает Т-клеточную активацию. Его генные модификации (–318C/T, 49G/A, 7-30A/T и др.) ассоциированы с разной степенью CTLA-4-опосредованного влияния на Т-клеточную активацию и ответом на интерферонотерапию [8–10], а также с повышенным риском хронизации инфекции [11–13]. Паллиативность вопроса обусловлена недостаточностью исследовательских работ в отношении влияния полиморфных маркеров генетических детерминант CTLA-4 на течение хронической HBV-инфекции, отсутствием информативно-диагностических и прогностических критериев прогрессирования у детей. Данные факты подчеркивают актуальность изучения многих аспектов данной проблемы, для решения таких важных понятий, как увеличение продолжительности и улучшение качества жизни больных детей.

Цель исследования: установить значимость CTLA4-генных полиморфизмов rs231775 (+49A > G) и rs5742909 (+318C > T) в течении хронической HBV-инфекции у детей.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 100 больных детей с хронической HBV-инфекцией, в возрасте 4–18 лет, мальчиков 64%, девочек 36%. Из них с минимальной активностью процесса — 12%, умеренной — 36% и выраженной — 52% детей. Длительность заболевания составила $7,5 \pm 0,2$ лет, из которых большинство (66%) детей были с длительными сроками хронической HBV-инфекции (свыше 6 лет). Диагноз устанавливался на основании общепринятых клинико-биохимических и инструментальных обследований. Вирусологическая верификация проводилась методами ИФА (HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HCVAb, HDVAb) с использованием наборов фирмы «HUMAN» (Германия) на аппарате «MULTISCANFC» и ПЦР RealTime (HBV-DNA) с гибридационно-флуоресцентной детекцией на амплификаторе «BIO-RADiQ5» (USA) с использованием наборов «Ампли-Сенс[®]HBV-FL» (Россия). Генотипирование проводилось методом PCR-RFLP анализа rs231775 (+49A > G) и rs5742909 (+318C > T) полиморфизмов гена CTLA-4. Праймеры рестриктазы для определения полиморфизма A49G и C318T генов CTLA-4 выбраны с помощью онлайн-программ NCBIPrimersTool и Nebcutter. ПЦР амплификация проводилась с использованием набора PCRCore (Изоген, Россия). Вес рестрицированных продуктов: AA — здоровый генотип — 162 bp/21bp; AG — гетерозиготный генотип — 162 bp/91bp/71bp; GG — мутантный генотип — 91bp/71bp; CC — здоровый генотип — 226bp/21bp; CT — гетерозиготный генотип — 226bp/130bp/96bp /21bp и TT — мутантный генотип — 130 bp/96 bp/21bp. Контрольная группа — 30 практически здоровых детей.

Результаты и их обсуждение

Генотипирование полиморфизма rs5742909 (+318C > T) гена CTLA-4 у больных детей и практически здоровых показало отсутствие ассоциативных взаимосвязей, т.е. все больные дети и здоровые доноры были носителями здорового гомозиготного генотипа +318CC (табл. 1). В отличие, исследование полиморфизма rs231775 (+49A > G) позволило выявить наличие ассоциативных связей с геном CTLA-4 у больных детей с частотой генотипов: гомозиготного AA в 34% случаях, гетерозиготного AG — 46% и мутантного GG в 20% случаях. При этом, статистическая значимость к здоровым донорам была получена в гомозиготных вариантах носительства (AA и GG, $p < 0,05$). В целом, для здоровых доноров был характерен гомозиготный +49AA-генотип (66,6%, $p < 0,05-0,01$ к генотипам +49AG и +49GG).

Внутригрупповой анализ частот аллелей гена CTLA-4 в исследуемых группах выявил ассоциативную связь G-аллеля с хронической HBV-инфекцией (табл. 2), где его частота достоверно превышала показатель здоровых детей (63,3% против 45%, $p < 0,02$) и, носительства A-аллеля среди здоровых детей ($p < 0,001$). Это свидетельствовало о более высокой G-экспрессии гена CTLA-4 в условиях HBV-инфекции и указывало на избыточное вовлечение в патологических процесс активированных Т-клеток. Если учесть, что преобладающим иммунным ответом является активация Т-лимфоцитов, которые отвечают за высвобождение цитокинов и скоординированный лизис инфицированных клеток [14], то можно предположить о последствиях неправильной индукции и регуляции Т-клеток со стороны CTLA-4, формирующих в целом течение заболевания.

Анализ распределения генотипов CTLA-4 в зависимости от активности хронической HBV-инфекции показал, что у детей с минимальной активностью заболевания выявлялись только гомозиготный (здоровый) +49AA (50%) и гетерозиготный +49AG (50%) генотипы ($p < 0,001$ к мутантному +49GG генотипу (рис. 1). Для детей с умеренной активностью был свойственен гетерозиготный +49AG-генотип (55,6%, $p < 0,01$ к генотипу GG), на втором месте находился +49AA-генотип (33,3%) и на последнем — +49GG-генотип (11,1%). При выраженной активности подавляющее большинство (80,7%) больных детей были носителями гомозиготного мутантного +49GG-генотипа ($p < 0,001$), что ассоциировалось с более высокой базовой воспалительной активностью хронической HBV-инфекции данного генотипа и в частности, G-аллеля. Объяснением данному феномену, по видимому, является то, что G-аллель в условиях мутации связана с уменьшением контроля Т-клеточной активации за счет изменения avidности связывания молекулы CTLA-4 с корцептором антиген-презентирующих клеток B7.2 (CD86), таким образом, способствуя формированию интенсивной воспалительной реакции организма, аутоиммунных процессов, усиления фибротических и апоптических феноменов в тканях [3, 10].

Согласно законам эпигенетической теории о гендерных различиях в риске развития заболеваний, предопределенных генетикой, в основе которых могут лежат различные нарушения механизмов геномного импринтинга, изменения в молекулах нуклеиновых кислот и др., приводящих к фенотипическим мутациям с последствием формирования течения заболевания, нами проанализировано распределение генотипов и аллелей гена CTLA-4 в зависимости от пола больных детей. Так, раскладка генотипов согласно половым различиям

Таблица 1. Частота генотипов CTLA-4 у детей, больных ХГВ и здоровых, %
Table 1. Frequency of CTLA-4 genotypes in children with CHB and healthy children, %

Объект	Полиморфизм гена/Gene polymorphism CTLA-4					
	A49G (rs231775)			C318T (rs5742909)		
	AA	AG	GG	CC	CT	TT
Дети с HBV-инфекцией/Children with HBV infection, n = 100	34,0 ± 6,6*	46,0 ± 7,0 ^c	20,0 ± 5,6*	100	—	—
Здоровые дети/Healthy children, n = 30	66,6 ± 8,6 ^a	30,0 ± 8,3 ^c	3,3 ± 3,2 ^b	100	—	—

* — достоверность различий к группе детей здоровых/Significance of differences; ^a — между генотипами AA/AG, ^b — AA/GG, ^c — AG/GG ($p < 0,05-0,01$)

Таблица 2. Частота аллелей гена CTLA-4 у обследованных детей
Table 2. Frequency of CTLA-4 gene alleles in the examined children

Аллель/Allele	Дети с хронической HBV-инфекцией/Children with chronic HBV infection, $n = 196$		Здоровые дети/Healthy children $n = 60$		P_{1-2}
	абс.	%	абс.	%	
CTLA-4 49A	72	36,7 ± 3,4	33	55,0 ± 6,4	< 0,02
CTLA-4 49G	124	63,3 ± 3,4*	27	45,0 ± 6,4	< 0,02

Достоверность различий: P — между исследуемыми группами: * — между аллелями А и G ($p < 0,001$); n — общее количество аллелей/Significance of differences: P — between the studied groups: * — between alleles A and G ($p < 0.001$); n — total number of alleles

Таблица 3. Частота генотипов полиморфизма 49A/G гена CTLA-4 в зависимости от пола больных детей, %
Table 3. Frequency of genotypes of 49A/G polymorphism of the CTLA-4 gene depending on the sex of sick children, %

Больные дети с хронической HBV-инфекцией/Children with chronic HBV infection					
Мальчики/Boys, $n = 64$			Девочки/Girls, $n = 36$		
Genotype CTLA-4 49 A/G					
AA	AG	GG	AA	AG	GG
3,1 ± 2,1*	34,3 ± 5,9***	62,5 ± 6,0**	44,4 ± 8,2	38,9 ± 8,1	16,7 ± 6,2

Достоверность различий между генотипами/Significance of differences between genotypes: * — AA и AG; ** — AA и GG; *** — AG и GG ($p < 0,001$)

ям показала (табл. 3), что у мальчиков достоверно превалировало носительство гомозиготного мутантного +49GG-генотипа (62,5%, $p < 0,05-0,001$ к генотипам +49AA — 3,1% и +49AG — 34,3%), тогда как у девочек практически с одинаковой частотой выявлялись генотипы +49AA (44,4%) и +49AG (38,9%). Гендерные различия характеризовались взаимосвязями у мальчиков с G-аллелем (72% против 27,9% A-аллеля, $p < 0,001$), особенно в гомозиготном варианте носительства, что отчасти может доказывать феномен высокой частоты поражения мальчиков гепатотропной вирусной инфекцией, т.к. именно G-аллель является основным регулятором Т-клеточной активации иммунитета. В отличие, у девочек превалировало носительство A-аллеля (60% против 40% G-аллеля, $p < 0,02$), который в гомозиготном варианте представляет собой здоровый генотип и не является доминантным в механизмах рецепторного аппарата регуляторных Т-лимфоцитов.

Предположение о соотношении G-аллеля, особенно в GG-гомозиготной мутантной позиции, с развитием тяжелых форм заболевания подтверждалось изучением специфики клинического течения хронической HBV-инфекции в зависимости от носительства генотипов +49A/G CTLA-4. Так, в числе носителей +49GG-генотипа преобладали больные дети с прогрессирующим течением и выраженной активностью заболевания (90% и 100% соответственно, $p < 0,05-0,01$ к другим группам). У детей с носительством гетерозиготного +49AG-генотипа прогрессирование хронической HBV-инфекции регистрировалось только в половине случаев (52,2%) с частотой выраженных форм в 69,5% случаев. И наименьшая характерность в прогрессировании была выявлена среди детей с +49AA-генотипом — 17,6% с отсутствием регистрации выраженной активности заболевания ($p < 0,001$).

При этом, если в структуре клинической картины хронической HBV-инфекции у детей с мутантным +49GG-генотипом превалировали все исследуемые синдромы и находи-

лись в диапазоне 80—100% ($p < 0,001$ к другим группам), то в группе детей с +49AG-генотипом отдельно выделялись такие синдромы, как астеновегетативный (76%), геморрагический (60,9%) и гепатоспленомегалия (78,3%, $p < 0,01$ к группе детей с +49AA-генотипом). Полученные данные биохимического исследования также предопределялись полиморфизмом гена CTLA-4 и свидетельствовали о более глубоких нарушениях функционального состояния печени у детей с мутантным +49GG-генотипом ($p < 0,05-0,001$). При этом, ведущими биохимическими явились все (100%) синдромы с акцентом длительной гиперферментемии у 70,0% больных с +49GG-генотипом. В случаях носительства гетерозиготного +49AG-генотипа, течение характеризовалось умеренной выраженностью биохимических сдвигов, среди которых можно выделить такие, как синдромы цитолиза (82,6%), холестаза (69,9%) и мезенхимально-воспалительный (86,9%). Менее

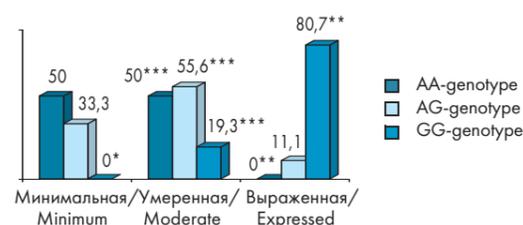


Рисунок 1. Частота генотипов полиморфизма +49AG гена CTLA-4 в зависимости от степени активности хронической HBV-инфекции у детей, %

Достоверность различий между генотипами: * — AA/AG; ** — AA/GG; *** — AG/GG ($p < 0,05-0,001$)

Figure 1. Frequency of genotypes of +49AG polymorphism of the CTLA-4 gene depending on the degree of activity of chronic HBV infection in children, %

Significance of differences between genotypes: * — AA/AG; ** — AA/GG; *** — AG/GG ($p < 0.05-0.001$)

выраженные нарушения обменных процессов были свойственны для детей с носительством гомозиготного +49AA-генотипа.

Заключение

Таким образом, генетический полиморфизм rs231775 (+49A > G) и rs5742909 (+318C > T) гена CTLA-4 у больных детей с хронической HBV-инфекцией ассоциируется только с носительством полиморфного варианта +49A/G, что проявляется высокой экспрессией CTLA-4 по отношению к здоровым донорам и свидетельствует об избыточном вовлечении иммунной системы в патологический процесс в условиях HBV-инфицирования. При этом, носительство G-аллеля в гомозиготной мутантной +49GG-позиции предполагает развитие выраженных форм с прогрессирующим течением и высокой вероятности исхода заболевания в цирроз печени. Для детей с гетерозиготным +49AG-генотипом течение заболевания характеризуется умеренной активностью с преобладанием таких синдромов, как астеновегетативный, геморрагический и гепатоспленомегалии. Наиболее торпидное течение заболевания типично для детей с носительством +49AA-генотипа. Установленные гендерные различия — свойственная мальчикам высокая экспрессия минорного G-аллеля гена CTLA-4, особенно в гомозиготной мутантной вариации +49GG — доказывает феномен высокой частоты поражения мальчиков гепатотропной вирусной инфекцией, т.к. именно G-аллель является основным регулятором Т-клеточной активации иммунитета.

Существующая разница в частотах полиморфизмов +49A/G гена CTLA-4 и подверженность к формированию особенностей течения хронической HBV-инфекции, обосновывает факт, что данный ген является частично действующим механизмом в развитии и прогрессировании патологического процесса в условиях HBV-персистенции. Следовательно, носительство мутантной вариации +49GG можно рассматривать в числе HOST-факторов по прогнозированию неблагоприятных исходов хронической HBV-инфекции у детей, что позволяет на этапе первичной диагностики своевременно формировать группы риска и соответственно проводить профилактические меры.

Литература/References:

1. Гончарова И.А., Белобородова Е.В., Фрейдin М.Б. и др. Генетические факторы подверженности к хронизации вирусного гепатита и фиброзу в печени. Молекулярная биология. 2008. 42(2):238—241. [Goncharova I.A., Beloborodova E.V., Freidin M.B. et al. Genetic factors of susceptibility to chronic viral hepatitis and liver fibrosis. *Molekulyarnaya Biologiya=Molecular Biology*. 2008. 42(2): 238—241. (In Russ.)]
2. Романов А.О., Беляева Т.В., Эсауленко Е.В. Значение факторов врожденного иммунитета в развитии цирроза печени у больных хронической HCV-инфекцией. Инфекционные болезни. 2010. 11: 548—553. [Romanov A.O., Belyaeva T.V., Esaulenko E.V. The importance of innate immunity factors in the development of liver cirrhosis in patients with chronic HCV infection. *Infektsionnyye Bolezni=Infectious Diseases*. 2010. 11:548—553. (In Russ.)]
3. Учайкин В.Ф., Чередниченко Т.В., Смирнов А.В. Инфекционная гепатология. Москва: GEOTAR-Медиа, 2012: 640. [Uchaikin V.F., Cherednichenko T.V., Smirnov A.V. *Infectious hepatology*. Moscow: GEOTAR-Media, 2012: 640. (In Russ.)]

4. Bertolotti A., Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Gut* 2012; 61:1754—1764.
5. Buchbinder E.I., Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol*. 2016; 39(1):98—106.
6. Chan S.L., Wong V.W., Qin S., Chan H.L. Infection and cancer: the case of hepatitis B. *J Clin Oncol*. 2016; 34:83—90.
7. Yang H., Yeh S., Chen P., et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2008; 100:1134—43.
8. Chaouali M., Carvalho A., Tezeghdenti A., et al. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene polymorphisms and susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis in the Tunisian population. *Genes & Diseases*. 2018; 5:256—262.
9. Enciso-Vargas M., Ruiz-Madrigal B., Hernández-Nazara Z., et al. Single Nucleotide Polymorphisms of Cytotoxic T-lymphocyte Antigen 4 (CTLA-4) and Susceptibility to Chronic Viral Hepatitis B and C Infections. *Journal of Renal and Hepatic Disorders*, 2018; 2(1): 10—17.
10. Kouki T., Gardine C.A., Yanagawa T., Degroot L.J. Relation of three polymorphisms of the CTLA-4 gene in patients with Graves' disease. *J. Endocrinol. Invest*. 2002. 25(3):208—213.
11. Jarnicki AG, Lysaght J, Todryk S, et al. Suppression of antitumor immunity by IL-10 and TGF-beta-producing T cells infiltrating the growing tumor: influence of tumor environment on the induction of CD4+ and CD8+ regulatory T cells. *J Immunol*. 2006; 177(2): 896—904.
12. EASL Clinical Practice Guidelines. Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017; 67:370—398.
13. Wang K, Zhu Q, Lu Y, et al. CTLA-4 +49 G/A Polymorphism Confers Autoimmune Disease Risk: An Updated Meta-Analysis. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2017; 21(4):222—7. doi: 10.1089/gtmb.2016.0335.
14. Chen M., Chang Y., Tang F., et al. Influence of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 polymorphisms on the outcomes of hepatitis B virus infection. *Molecular Medicine Reports*. 2014; 9: 645—652.

Информация о соавторах:

Иноятова Гульноза Захиджановна (G.Z. Inogamova, PhD), к.м.н., старший научный сотрудник отдела гепатологии РСНПМЦ Педиатрии МЗ РУз; igz.science@yandex.ru; orcid.org/0000-0003-2191-8921

Абдуллаева Феруза Гафуровна (F.G. Abdullayeva, PhD), к.м.н., младший научный сотрудник отдела гепатологии РСНПМЦ Педиатрии МЗ РУз; fabdullaeva@yandex.com; orcid.org/0000-0003-0194-1083

Валиева Наргиза Кабилджановна (N.K. Valieva, PhD), к.м.н., младший научный сотрудник отдела гепатологии РСНПМЦ Педиатрии МЗ РУз; nargizvalieva.yandex.ru; orcid.org/0000-0001-7214-8133

Икрамова Нодира Анваровна (N.A. Ikramova), младший научный сотрудник отдела гепатологии РСНПМЦ Педиатрии МЗ РУз; nodira-ikramova@yandex.com; orcid.org/0000-0003-3636-0529

Кадырходжаева Хилола Маруфовна (Kh.M. Kadyrhodzhaeva), младший научный сотрудник отдела гепатологии РСНПМЦ Педиатрии МЗ РУз; khilolakhadirdzhaeva@mail.ru; orcid.org/0000-0001-6732-0250

Ахмедова Акида Хотамовна (A.Kh. Akhmedova, PhD), к.м.н., старший научный сотрудник отдела гепатологии РСНПМЦ Педиатрии МЗ РУз; akida_63@mail.ru; orcid.org/0000-0002-0052-0247

Статья поступила 29.05.2020

Конфликт интересов: Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.
Conflict of interest: The authors confirmed the absence conflict of interest, financial support, which should be reported.