

Уровень цитокинов у пациентов с рассеянным склерозом и хроническим нейроборрелиозом



Баранова Н.С.¹, Овсянникова Л.А.¹, Остапенко Я.С.¹, Спирин Н.Н.¹,

Баранов А.А.¹, Грись М.С.¹, Артюхов А.С.², Манякина Ю.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет

им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

¹Россия, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5; ²Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

В патогенезе рассеянного склероза (РС) и хронического нейроборрелиоза (ХНБ) важную роль играет дисбаланс выработки про- и противовоспалительных цитокинов.

Цель исследования — провести сравнительный анализ продукции цитокинов у больных РС и ХНБ для оценки дифференциально-диагностического потенциала мультиплексной оценки уровня основных цитокинов.

Материал и методы. В исследование было включено 57 пациентов. Группу больных РС с ремиттирующим течением составили 36 человек (12 мужчин и 24 женщины), медиана возраста — 38,5 [28,0; 48,50] года, длительность РС — 9,5 [3,5; 12,5] года. У 18 (50,0%) больных имела место клиническая реактивация персистирующей герпес-вирусной инфекции (ПГВИ). В группу больных ХНБ вошел 21 больной (4 мужчины и 17 женщин) в возрасте 59,0 [52,0; 67,0] года с длительностью заболевания 2,5 [1,0; 4,0] года. В качестве контроля обследовано 18 здоровых доноров. Концентрацию 15 цитокинов в сыворотке крови: интерлейкина 1β (ИЛ1β), ИЛ4, ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ22, ИЛ23, ИЛ25, ИЛ31, ИЛ33, интерферона γ (ИФНγ), фактора некроза опухоли α (ФНОα), растворимого CD40-лиганда (sCD40L) — определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP с использованием реагентов производства Bio-Rad (США).

Результаты. У больных РС, в сравнении с контролем, выявлено значимое повышение уровней ИЛ10 и ИЛ33 ($p < 0,001$) и снижение значений ИЛ1β, ИЛ17F, ИЛ22, ИЛ25 и ФНОα. У пациентов с ХНБ значения ИЛ6, ИЛ22, ФНОα и sCD40L были значимо ниже, чем у доноров ($p < 0,05$ и $p < 0,001$), а уровни ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ23, ИЛ31, ИЛ33 не отличались от контроля. Концентрация ИЛ1β, ИЛ4, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ25 и ИФНγ у больных ХНБ была ниже предела чувствительности измерения этих аналитов. У пациентов с РС концентрации ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ31, ИЛ33, ФНОα и sCD40L были значимо выше, чем при ХНБ. Напротив, при ХНБ уровень ИЛ23 был выше, чем при РС ($p < 0,01$). При РС значимо чаще, чем при ХНБ, встречались высокие значения ($M + 3\sigma$ в группе контроля) ИЛ33 (52,8 и 0,0% случаев; $p < 0,001$). При РС регистрировалась гиперпродукция ИЛ17А (2,8%), ИЛ17F (5,6%), ИЛ21 (5,6%) и ИЛ31 (13,8%). При ХНБ обнаружено изолированное повышение концентрации ИЛ31 у 4 (19,4%) пациентов. При РС с реактивацией ПГВИ и без таковой концентрации ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ31, ИЛ33, ФНОα и sCD40L были значимо выше, чем при ХНБ; наибольшие различия с ХНБ получены для группы больных РС с реактивацией ПГВИ. При ХНБ уровень ИЛ23 был значимо выше, чем при РС с наличием или отсутствием проявлений ПГВИ.

Заключение. У пациентов с РС и ХНБ отмечаются существенные различия в продукции про- и противовоспалительных цитокинов, обусловленные разными этиологическими факторами и особенностями иммунного ответа. Для РС, на фоне повышения концентрации ИЛ10, характерно одновременное увеличение в сыворотке крови уровней ИЛ6, ИЛ17А, ИЛ31, ИЛ33, ФНОα и sCD40L, а при ХНБ, при низкой концентрации ИЛ10 и большинства указанных выше провоспалительных цитокинов, — высокие значения ИЛ23 и изолированное повышение уровня ИЛ31. Выявленные различия могут найти практическое применение при проведении дифференциальной диагностики между этими заболеваниями.

Ключевые слова: рассеянный склероз; хронический нейроборрелиоз; цитокины; герпес.

Контакты: Наталья Сергеевна Баранова; baranova_ns@mail.ru

Для ссылки: Баранова НС, Овсянникова ЛА, Остапенко ЯС, Спирин НН, Баранов АА, Грись МС, Артюхов АС, Манякина ЮВ. Уровень цитокинов у пациентов с рассеянным склерозом и хроническим нейроборрелиозом. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2024;16(Прил. 2):57–64. DOI: 10.14412/2074-2711-2024-2S-57-64

Cytokine levels in patients with multiple sclerosis and chronic neuroborreliosis

Baranova N.S.¹, Ovsyannikova L.A.¹, Ostapenko Ya.S.¹, Spirin N.N.¹,

Baranov A.A.¹, Gris M.S.¹, Artyukhov A.S.², Manyakina Yu.V.¹

¹Yaroslavl State Medical University, Ministry of Health of Russia, Yaroslavl;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow

¹5, Revolutsionnaya St., Yaroslavl 150000, Russia; ²1, Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia

An imbalance in the production of pro- and anti-inflammatory cytokines plays an important role in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS) and chronic neuroborreliosis (CNB).

Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2024;16(Прил. 2):57–64

Objective: to perform a comparative analysis of cytokine production in patients with MS and CNB in order to evaluate the differential diagnostic potential of a multiplex assay of the concentration of the most important cytokines.

Material and methods. Fifty-seven patients participated in the study. The group of patients with relapsing-remitting MS consisted of 36 individuals (12 men and 24 women), median age — 38.5 [28.0; 48.50] years, MS duration — 9.5 [3.5; 12.5] years. Clinical reactivation of persistent herpesvirus infection (PHVI) was present in 18 (50%) patients. The group of patients with CNB comprised 21 patients (4 men and 17 women) aged 59.0 [52.0; 67.0] years with a disease duration of 2.5 [1.0; 4.0] years. 18 healthy donors were analyzed as controls. The concentrations of 15 cytokines in blood serum: interleukin 1 β (IL1 β), IL4, IL6, IL10, IL17A, IL17F, IL21, IL22, IL23, IL25, IL31, IL33, interferon γ (IFN γ), tumor necrosis factor α (TNF α), soluble CD40 ligand (sCD40L) were determined by xMAP multiplex technology using reagents produced by Bio-Rad (USA).

Results. A significant increase in the levels of IL10 and IL33 ($p < 0.001$) and a decrease in the levels of IL1 β , IL17F, IL22, IL25 and TNF α were found in patients with MS compared to controls. In patients with CNB, the levels of IL6, IL22, TNF α and sCD40L were significantly lower than in donors ($p < 0.05$ and $p < 0.001$), and the levels of IL10, IL17A, IL23, IL31, IL33 did not differ from the control. The concentrations of IL1 β , IL4, IL17F, IL21, IL25 and IFN γ in patients with CNB were below the detection limit for these analytes. In patients with MS, the concentrations of IL6, IL10, IL17A, IL31, IL33, TNF α and sCD40L were significantly higher than in CNB. In contrast, IL23 levels were higher in CNB than in MS ($p < 0.01$). High levels ($M + 3\sigma$ in the control group) of IL33 occurred significantly more frequently in MS than in CNB (52.8 and 0.0% of cases; $p < 0.001$). In MS, overproduction of IL17A (2.8%), IL17F (5.6%), IL21 (5.6%) and IL31 (13.8%) was found. In CNB, an isolated increase in IL31 concentration was found in 4 (19.4%) patients. In MS with and without PHVI reactivation, the concentrations of IL6, IL10, IL17A, IL31, IL33, TNF α and sCD40L were significantly higher than in CNB; the greatest differences to CNB were found in the group of MS patients with PHVI reactivation. In CNB, IL23 levels were significantly higher than in MS with or without manifestations of PHVI.

Conclusion. There are significant differences in the production of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients with MS and CNB, which are due to different etiological factors and characteristics of the immune response. In MS, against the background of an increase in IL10 levels, a concomitant increase in blood serum levels of IL6, IL17A, IL31, IL33, TNF α and sCD40L is characteristic, whereas in CNB, with a low concentration of IL10 and most of the above proinflammatory cytokines, high levels of IL23 and an isolated increase in IL31 levels are seen. The differences identified can have practical application in the differential diagnosis between these diseases.

Keywords: multiple sclerosis; chronic neuroborreliosis; cytokines; herpes.

Contact: Natalya Sergeevna Baranova; baranova_ns@mail.ru

For reference: Baranova NS, Ovsyannikova LA, Ostapenko YaS, Spirin NN, Baranov AA, Gris MS, Artyukhov AS, Manyakina YuV. Cytokine levels in patients with multiple sclerosis and chronic neuroborreliosis. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika* = *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2024;16(Suppl.2):57–64. DOI: 10.14412/2074-2711-2024-2S-57-64

Рассеянный склероз (РС) — хроническое демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы с аутоиммунно-воспалительными и нейродегенеративными механизмами развития [1]. Отдельные клинические проявления хронического нейроборрелиоза (ХНБ), в частности прогрессирующий энцефаломиелит, энцефалопатия, миелорадикулопатия, могут имитировать РС [2–6]. В качестве этиологических факторов развития РС рассматриваются вирус Эпштейна–Барр [7–9], вирус герпеса человека 6-го типа [10], а факторов развития обострений — вирус простого герпеса (ВПГ) 1-го и 2-го типа, вирус варицелла-зостер [11, 12].

В патогенезе нейроборрелиоза особую роль отводят феномену молекулярной мимикрии с накоплением клона Т-клеток, распознающих определенные антигенные детерминанты боррелии, перекрестно реагирующие с компонентами тканей организма человека [13]. При этом в развитии и прогрессировании обоих заболеваний важную роль играет дисбаланс выработки про- и противовоспалительных цитокинов [14–17].

В последние годы в качестве лабораторных биомаркеров наряду с рутинными клинико-лабораторными показателями все шире используются данные мультиплексного анализа, основанного на протеомных, транскриптомных и генетических технологиях с использованием ДНК- и белковых микрочипов [18]. Полагают, что их применение при болезни Лайма может ускорить разработку биомаркеров

ранней и диссеминированной стадий заболевания, органной патологии и эффективности лечения [19]. При этом имеются лишь отдельные работы, в которых применялась технология мультиплексного анализа для одновременного определения широкого спектра цитокинов у больных при РС и раннем нейроборрелиозе [17, 20] и проведен сравнительный анализ продукции цитокинов между каждым из данных заболеваний [20]. В России подобных исследований при РС и ХНБ не проводилось.

Цель исследования — проведение сравнительного анализа продукции цитокинов у больных РС и ХНБ для оценки дифференциально-диагностического потенциала мультиплексной оценки уровней основных цитокинов.

Материал и методы. В исследование было включено 57 пациентов (36 пациентов с РС и 21 пациент с ХНБ). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Ярославского государственного медицинского университета Минздрава России (протоколы №1 от 10.10.2013 и №63 от 14.09.2023). Все больные подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В группу больных РС вошли 36 человек (12 мужчин и 24 женщины) с достоверным диагнозом РС по критериям McDonald 2010 г. Медиана возраста пациентов на момент исследования составила 38,5 [28,0; 48,5] года, длительность заболевания — 9,5 [3,5; 12,5] года. У всех пациентов было ремиттирующее течение РС, 29 (80,6%) пациентов находились в стадии ремиссии, у 7 (19,4%) — имело место обостре-

ние заболевания. Терапию препаратами, изменяющими течение РС, получали 30 (83,3%) пациентов [16 – высокодозные интерфероны β (ИФН β) и 14 – глатирамера ацетат], не получали – 6 (16,7%). У 18 (50,0%) больных имела место реактивация персистирующей герпес-вирусной инфекции (ПГВИ).

Группу пациентов с ХНБ составил 21 больной (четыре мужчины и 17 женщин) в возрасте 59 [52; 67] лет с длительностью заболевания 2,5 [1,0; 4,0] года. Возраст пациентов данной группы был значимо больше ($p < 0,001$), а длительность болезни, напротив, значимо меньше ($p < 0,001$), чем при ремиттирующем РС. Диагноз ХНБ был поставлен на основании анамнестических, клинико-лабораторных данных и результатов специфической серологической диагностики, выявления методом иммуноферментного анализа специфических иммуноглобулинов (IgM и IgG) к антигенным структурам *B. burgdorferi* (тест-системы «Вектор Бест») и подтвержден методом иммуноблота. Все пациенты с ХНБ были обследованы после проведения курса антибактериальной терапии в эффективных дозах.

В качестве контроля обследовано 18 практически здоровых доноров, без хронических неврологических заболеваний и соматической патологии в стадии обострения. Всем проводился стандартный неврологический осмотр и тщательный сбор анамнеза с целью исключения заболеваний, способных повлиять на результаты обследования.

Концентрацию 15 цитокинов в сыворотке крови: интерлейкина 1 β (ИЛ1 β), ИЛ4, ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ22, ИЛ23, ИЛ25, ИЛ31, ИЛ33, ИФН γ , фактора некроза опухоли α (ФНО α), растворимого CD40-лиганда (sCD40L) – определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP на анализаторе Bio-Plex™ 200 System (Bio-Rad, США) с использованием реагентов производства Bio-Rad (США) в лаборатории НИИ трансляционной медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Закономерности продукции цитокинов в данной группе больных РС, в сравнении с контролем, были описаны нами ранее [21].

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использова-

ли критерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскела–Уоллиса (для независимых групп). Результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом [25-й; 75-й перцентили], среднего значения (M) и стандартного отклонения (σ). Для сравнения выборок по качественному признаку и при оценке долей встречаемости признака использовался точный критерий Фишера. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. У больных ХНБ уровни ИЛ6, ИЛ22, ФНО α и sCD40L были значимо ниже, чем у доноров ($p < 0,05$; $p < 0,01$ и $p < 0,001$), а уровни ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ23, ИЛ31, ИЛ33 не отличались от контроля (табл. 1). Концентрация ИЛ1 β , ИЛ4, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ25 и ИФН γ у больных ХНБ была ниже предела чувствительности измерения этих аналитов.

При сравнении значений цитокинов между группами больных РС и ХНБ выявлены следующие закономер-

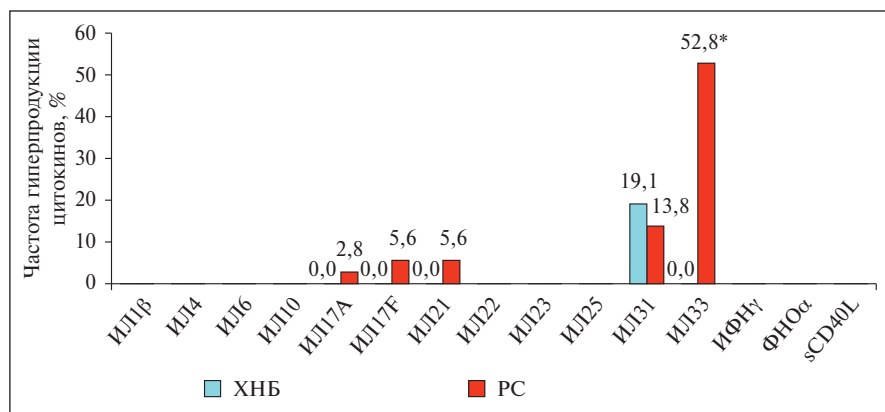
Таблица 1. Концентрация цитокинов в сыворотке крови больных РС, ХНБ и здоровых доноров, пг/мл, Me [25-й; 75-й перцентили]
Table 1. Concentration of cytokines in the blood serum of patients with MS, CNB and donors, pg/ml, Me [25th; 75th percentile]

Цитокин	контроль (n=18) 1	РС (n=36) 2	ХНБ (n=21) 3	p
ИЛ1 β	1,45 [0,16; 2,18]	0,04 [0,00; 0,08]	0,00 [0,00; 0,00]	$p_{1-2} < 0,001$
ИЛ4	0,01 [0; 73; 3,24]	4,43 [2,22; 10,95]	0,00 [0,00; 0,00]	н/з
ИЛ6	1,36 [0,27; 3,68]	0,59 [0,30; 1,07]	0,33 [0,10; 0,43]	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,01$
ИЛ10	0,01 [0,00; 0,01]	2,03 [0,90; 2,73]	0,01 [0,00; 0,24]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
ИЛ17А	0,58 [0,00; 1,74]	0,57 [0,28; 0,89]	0,11 [0,00; 0,17]	$p_{2-3} < 0,001$
ИЛ17F	6,76 [4,02; 10,6]	0,01 [0,00; 0,78]	0,00 [0,00; 0,00]	$p_{1-2} < 0,05$
ИЛ21	0,01 [0,00; 0,49]	0,01 [0,00; 0,01]	0,00 [0,00; 0,00]	н/з
ИЛ22	47,43 [38,42; 72,64]	0,01 [0,00; 0,32]	0,01 [0,00; 0,14]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$
ИЛ23	80,11 [0,00; 114,44]	2,94 [0,00; 8,81]	9,2 [6,87; 12,45]	$p_{2-3} < 0,01$
ИЛ25	13,73 [6,1; 28,99]	0,11 [0,00; 0,32]	0,00 [0,00; 0,00]	$p_{1-2} < 0,001$
ИЛ31	6,28 [2,87; 8,62]	6,33 [3,85; 10,37]	0,01 [0,00; 12,74]	$p_{2-3} < 0,05$
ИЛ33	0,52 [0,17; 0,78]	4,32 [1,40; 7,49]	0,01 [0,00; 0,74]	$p_{2-3} < 0,001$
ИФН γ	0,45 [0,00; 5,33]	0,49 [0,49; 1,36]	0,00 [0,00; 0,00]	н/з
ФНО α	17,38 [13,65; 31,61]	0,53 [0,45; 1,04]	0,20 [0,09; 0,37]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
sCD40L	110,81 [83,58; 122,55]	76,77 [36,82; 115,04]	7,03 [2,86; 43,86]	$p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$

Примечание. н/з – различия между группами статистически не значимы.

ности. У пациентов с РС концентрации ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ31, ИЛ33, ФНО α и sCD40L были значимо выше, чем при ХНБ ($p<0,05$; $p<0,01$ и $p<0,001$). При ХНБ, напротив, уровень ИЛ23 был значимо выше, чем при РС

($p<0,01$). Концентрации ИЛ22 не различались между группами. Сравнительный анализ концентраций ИЛ1 β , ИЛ4, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ25 и ИФН γ у больных РС и ХНБ не проводился.



Частота встречаемости гиперпродукции цитокинов у пациентов с РС и ХНБ, %.

*— $p<0,001$

Frequency (%) of cytokine hyperproduction in patients with MS and CNB, %.

*— $p<0,001$

Таблица 2. Концентрация цитокинов в сыворотке крови больных РС с наличием или отсутствием реактивации ПГВИ и ХНБ, пг/мл, Ме [25-й; 75-й перцентили]

Table 2. Concentration of cytokines in the blood serum of patients with MS with or without reactivation PHVI and HCN, pg/ml, Me [25th; 75th percentile]

Цитокины	РС с клиническими проявлениями ПГВИ (n=18)	РС без клинических проявлений ПГВИ (n=18)	ХНБ (n=21)
ИЛ1 β	0,05 [0,01; 0,08]	0,01 [0,00; 0,05]	0,00 [0,00; 0,00]
ИЛ4	4,88 [2,35; 0,05]	2,66 [1,75; 6,04]	0,00 [0,00; 0,00]
ИЛ6	0,78 [0,30; 1,55]**	0,44 [0,30; 0,74]*	0,33 [0,10; 0,43]
ИЛ10	2,73 [1,80; 2,73]***	1,50 [0,60; 2,26]***	0,01 [0,00; 0,24]
ИЛ17А	0,75 [0,42; 0,99]***	0,50 [0,14; 0,57]***	0,11 [0,00; 0,17]
ИЛ17 F	0,16 [0,00; 0,93]	0,01 [0,00; 0,01]	0,00 [0,00; 0,00]
ИЛ21	0,01 [0,00; 2,37]	0,01 [0,00; 0,01]	0,00 [0,00; 0,00]
ИЛ22	0,32 [0,00; 0,63]	0,01 [0,00; 0,32]	0,01 [0,00; 0,14]
ИЛ23	8,80 [0,00; 11,72]**	1,10 [0,00; 5,87]***	9,2 [6,87; 12,45]
ИЛ25	0,27 [0,11; 0,53]	0,11 [0,00; 0,21]	0,00 [0,00; 0,00]
ИЛ31	6,95 [5,09; 9,43]	6,33 [3,00; 13,78]	0,01 [0,00; 12,74]
ИЛ33	6,26 [3,63; 9,96]***	2,37 [1,12; 5,02]***	0,01 [0,00; 0,74]
ИФН γ	0,74 [0,49; 1,48]	0,49 [0,49; 0,99]	0,00 [0,00; 0,00]
ФНО α	0,56 [0,44; 1,06]***	0,52 [0,45; 0,74]***	0,20 [0,09; 0,37]
sCD40L	76,77 [34,36; 110,35]**	74,66 [39,5; 127,72]**	7,03 [2,86; 43,86]

Примечание. *— $p<0,05$, **— $p<0,01$, ***— $p<0,001$ по сравнению с группой ХНБ.

У больных РС, по сравнению с пациентами с ХНБ, значимо чаще встречались высокие значения ($M+3\sigma$ в группе контроля) ИЛ33 (соответственно в 52,8 и 0,0% случаев; $p<0,001$; см. рисунок). При РС также регистрировалась гиперпродукция ИЛ17А (2,8%), ИЛ17F (5,6%) и ИЛ21 (5,6%), всегда совместно с ИЛ33. Высокие значения ИЛ31 отмечены у 5 (13,8%) больных РС, в 4 (75%) случаях — вместе с ИЛ33. При ХНБ обнаружено только изолированное повышение концентрации ИЛ31 — у 4 (19,4%) пациентов. Уровень других цитокинов при РС и ХНБ не превышал верхнюю границу нормы ни в одном случае.

Проведен сравнительный анализ уровней исследуемых цитокинов (табл. 2).

В обеих группах пациентов РС, с реактивацией ПГВИ и без таковой, концентрации ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17А, ИЛ31, ИЛ33, ФНО α и sCD40L были значимо выше, чем при ХНБ ($p<0,05$; $p<0,01$ и $p<0,001$). При этом наибольшие различия с нейроборрелиозом были получены для группы больных с реактивацией ПГВИ.

Напротив, при ХНБ уровень ИЛ23 был значимо выше, чем при РС, и особенно значимо — в сравнении с пациентами без реактивации ПГВИ ($p<0,001$). Концентрация ИЛ22 не различалась между группами. Сравнительный анализ для ИЛ1 β , ИЛ4, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ25 и ИФН γ не проводился.

Обсуждение. В настоящей работе мы провели исследование методом мультиплексного анализа 15 цитокинов у больных РС и ХНБ. Закономерности продукции цитокинов данной группы у больных РС в сравнении с контролем были описаны нами ранее [21]. Так, у пациентов с РС, в сравнении с донорами, выявлено значимое увеличение концентрации ИЛ10, ИЛ33 и снижение — ИЛ1 β , ИЛ17F, ИЛ22, ИЛ25 и ФНО α .

При ХНБ, как и при РС, значения ИЛ22 и ФНО α были значимо ниже, чем у доноров. При нейроборрелиозе, в отличие от РС, выявлены также низкие концентрации ИЛ6 и sCD40L, а уровни ИЛ10, ИЛ17А

и ИЛ33 не отличались от контроля. По данным Т. Сегар и соавт. [22], низкие концентрации ИЛ10 в сыворотке крови обнаружены при клинически активном нейроборрелиозе. Кроме того, при ХНБ концентрация других цитокинов — ИЛ1 β , ИЛ4, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ25 и ИФН γ — была ниже предела чувствительности измерения. Низкие значения ИЛ6, ИФН γ и ФНО α в сыворотке крови у больных нейроборрелиозом до и через 3 мес после начала антибактериальной терапии отмечены в работе S.A. Hernandez и соавт. [23]. Эти результаты в определенной мере отличаются от данных, полученных другими исследователями, которые выявили у пациентов в острой стадии нейроборрелиоза, в сравнении с донорами, высокие концентрации ИЛ1 β , ИЛ4, ИЛ6, ИФН γ , ФНО α [22], а также ИЛ17A и ИЛ17F [16, 20].

Нами при сравнении продукции цитокинов между группами пациентов с РС и ХНБ выявлены определенные различия. Так, при РС концентрации ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17A, ИЛ31, ИЛ33, ФНО α и sCD40L были значимо выше, чем при ХНБ. Кроме того, у больных РС, по сравнению с ХНБ, значимо чаще встречались высокие значения ИЛ33. Одновременно с увеличением последнего, как правило, регистрировалась гиперпродукция ИЛ17A, ИЛ17F, ИЛ21 и ИЛ31. Однако у пациентов с ХНБ обнаружено только изолированное повышение ИЛ31. При РС повышение концентраций ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17A, ИЛ31, ИЛ33, ФНО α отмечают и другие исследователи [24–26]. В отличие от наших данных по хроническому нейроборрелиозу, в острую стадию Лайм-боррелиоза наблюдается повышение уровня и ИЛ33 [27, 28].

У наших больных ХНБ, в сравнении с пациентами с РС, уровень ИЛ23 был значимо выше. При нейроборрелиозе увеличение концентрации ИЛ23 в сыворотке крови также имело место в ряде исследований [23, 29]. Однако, по данным Е.А. Ескман и соавт. [20], ИЛ23 не выявлялся в сыворотке крови большинства пациентов с нейроборрелиозом.

Известно, что одним из триггерных факторов развития РС является герпес-вирусная инфекция. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что в обеих группах больных РС, с реактивацией ПГВИ и без нее, концентрации ИЛ6, ИЛ10, ИЛ17A, ИЛ31, ИЛ33, ФНО α и sCD40L были значимо выше, чем при ХНБ. При этом наибольшие различия с нейроборрелиозом были получены для группы пациентов именно с реактивацией ПГВИ. При ХНБ, напротив, уровень ИЛ23 был значимо выше, чем при РС, и особенно значимо — в сравнении с пациентами без реактивации ПГВИ. Ранее нами также была установлена связь между наличием реактивации ПГВИ у больных РС и повышением уровней ИЛ1 β , ИЛ23, ИЛ33, а также высокими значениями последнего в сыворотке крови [21].

Как при герпес-вирусной инфекции, так и при инфекции *B. burgdorferi*, в ответ на заражение развивается комплекс взаимосвязанных между собой реакций, включающих эффекторные компоненты врожденной и приобретенной иммунной защиты, направленные на ограничение нагрузки патогенов, минимизацию повреждения тканей и предотвращение последующего повторного заражения [30]. На ранней воспалительной стадии РС и нейроборрелиоза В- и Т-клетки играют важную роль [14, 30].

Продукция провоспалительных цитокинов дендритными клетками, макрофагами является неотъемлемой частью этого процесса, направленного на усиление врожденного и активацию приобретенного иммунного ответа [30]. Для предотвращения чрезмерного повреждения тканей и уменьшения выраженности воспалительных реакций при активации врожденного иммунного ответа на патоген вырабатываются противовоспалительные цитокины, среди которых одним из основных является ИЛ10 [30, 31]. Он, как правило, синтезируется в более поздние сроки инфекции.

Однако, несмотря на существующую иммунную защиту, вирусы и микроорганизмы в процессе эволюции разработали механизмы, обеспечивающие их адаптацию и выживание в организме, часть из них связаны с ИЛ10. Они заключаются в индукции синтеза ИЛ10 в более ранние сроки развития инфекции или кодировании синтеза его гомолога. Полагают, что любой из этих механизмов может преждевременно подавлять воспалительные/иммунные реакции, необходимые для эффективного устранения инфекции [30]. Данные кинетического анализа продукции ИЛ10 показали, что в ответ на *B. burgdorferi* он вырабатывается раньше, чем начинается синтез провоспалительных цитокинов, и коррелирует с преждевременным подавлением воспалительных реакций [32, 33]. Установлено, что *B. burgdorferi* или ее липопroteины могут индуцировать экспрессию супрессоров белков передачи сигналов цитокинов SOCS1, SOCS3 и таким образом также контролировать воспаление посредством механизмов, независимых от ИЛ10 [34]. Кроме того, *B. burgdorferi* стимулирует синтез гомологов ИЛ10 в организме хозяев-млекопитающих [30]. Продукция белка вирусного гомолога человеческого ИЛ10 крайне характерна для инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр, которой придается основная роль в этиологии РС [35].

ИЛ23 играет важную роль при боррелиозе и инфекции ВПГ при РС, что отмечено и нами. Он индуцирует пролиферацию Т-клеток памяти, стимулирует выработку ИЛ17 НК-клетками, способствует привлечению нейтрофилов в очаг воспаления и локальному синтезу провоспалительных цитокинов ИЛ1 β , ИЛ6 и ФНО α [36, 37].

На наш взгляд, превалирование продукции ИЛ33 при РС в основном обусловлено реактивацией ПГВИ в результате процессов некроза или некроптоза клеток [38, 39], характерных для инфекции ВПГ [40], которые, по-видимому, являются менее значимыми в патогенезе ХНБ.

Выявленные нами различия в продукции цитокинов при РС и ХНБ, вероятно, отражают характерные особенности иммунопатогенеза заболеваний и иммунный ответ на инфекционные агенты при каждом из них. При РС инфицирование вирусом Эпштейна–Барр ассоциируется с повышением ИЛ10, а реактивация ВПГ 1-го и 2-го типа или вируса ветряной оспы — с увеличением уровней ИЛ1 β , ИЛ23, ИЛ33.

Эти данные позволяют обсуждать существование субтипа заболевания, ассоциированного с вирусами и нарушением продукции ИФН типа I [14]. При ремиттирующем РС практически у половины пациентов в мононуклеарах периферической крови обнаружена повышенная экспрессия спектра генов, участвующих в иммунной защите, сигнатура которого была сопоставима с ответом на

вирусные инфекции [41]. Авторы полагают, что данная транскрипционная подпись отражает гетерогенность РС и определяет субпопуляцию пациентов, у которых активируется программа иммунной защиты, характерная для вирусной инвазии. Этим обусловлена связь между вирусами и РС.

При нейроборрелиозе обнаружены подавление синтеза ИФН γ [42] и иммуногенетическая основа восприимчивости к Лайм-боррелиозу [43]. Так, при проведении полногеномного скрининга при этом заболевании был выявлен значимый генетический вариант полиморфизмов гена *SCGB1D2* [43]. Обнаружено, что увеличение экспрессии генов *KCTD20* и *ETV7*, с последующим усилением пути mTOR, индуцированного *B. burgdorferi*, связано с повышенной восприимчивостью к этому заболеванию. Это обусловлено влиянием данных генов на продукцию определенных цитокинов и выработку антител против боррелий.

У пациентов с Лайм-боррелиозом протективный вариант связан с низким уровнем ИЛ10, повышенной концентрацией ИЛ6 и высоким уровнем антител к *B. burgdorferi*. При повышении концентрации ИЛ10, напротив, наблюдалось снижение уровня антител к *B. burgdorferi*, что может сопровождаться нарушением бактериального клиренса [43].

В целом, иммунный ответ на герпес-вирусную инфекцию при РС и *B. burgdorferi* при ХНБ включает в себя множество типов клеток, растворимых молекул и варьирует в зависимости от системы органов, пораженных каждым из патогенов. Применение новых технологий, основанных на транскриптомике отдельных клеток, протеомике и метаболомике, приведет к лучшему пониманию регуляции иммунного ответа при инфекциях [19], вызывающих хроническое поражение нервной системы, и ускорит разработку его биомаркеров на ранней, диссеминированной и хронической стадиях Лайм-боррелиоза.

Заключение. У больных РС и ХНБ отмечаются существенные различия в продукции про- и противовоспалительных цитокинов, обусловленные различными этиологическими факторами и особенностями иммунного ответа при этих заболеваниях. Для РС, на фоне повышения ИЛ10, характерно одновременное увеличение в сыворотке крови уровней ИЛ6, ИЛ17А, ИЛ31, ИЛ33, ФНО α и sCD40L, а при ХНБ, при низкой концентрации ИЛ10 и большинства указанных выше провоспалительных цитокинов, регистрируются высокие значения ИЛ23 и изолированное повышение содержания ИЛ31. Выявленные различия могут найти практическое применение при проведении дифференциальной диагностики между этими заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бойко АН, Гусев ЕИ. Современные алгоритмы диагностики и лечения рассеянного склероза, основанные на индивидуальной оценке состояния пациента. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2017;117(2-2):92-106. doi: 10.17116/jnevro20171172292-106 [Boyko AN, Gusev EI. Current algorithms of diagnosis and treatment of multiple sclerosis based on the individual assessment of the patient. *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2017;117(2-2):92-106. doi: 10.17116/jnevro20171172292-106 (In Russ.)].
2. Спирин НН, Баранова НС, Фадеева ОА и др. Дифференциальная диагностика поздних форм нейроборрелиоза с поражением центральной нервной системы. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2012;112(9-2):34-9. [Spirin NN, Baranova NS, Fadeeva OA, et al. Differential diagnosis of late-stage neuroborreliosis with affection of the central nervous system. *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2012;112(9-2):34-9 (In Russ.)].
3. Koedel U, Pfister HW. Lyme neuroborreliosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2017 Feb;30(1):101-7. doi: 10.1097/QCO.0000000000000332
4. Halperin JJ. A Neurologist's View of Lyme Disease and Other Tick-Borne Infections. *Semin Neurol*. 2019 Aug;39(4):440-7. doi: 10.1055/s-0039-1692143. Epub 2019 Sep 18.
5. Баранова НС, Спирин НН, Овсянникова ЛА и др. Поражение нервной системы при Лайм-боррелиозе. *Терапия*. 2021;(5):51-9. doi: 10.18565/therapy.2021.5.51-59 [Baranova NS, Spirin NN, Ovsyannikova LA, et al. Nervous system damage in Lyme borreliosis. *Terapiya = Therapy*. 2021;(5):51-9. doi: 10.18565/therapy.2021.5.51-59 (In Russ.)].
6. Чуприна ЛА, Пилипенко ЕБ, Вербенко ПС. Аспекты дифференциальной диагностики Лайм-боррелиозного энцефалита и рассеянного склероза. Описание клинического случая. *Таврический медико-биологический вестник*. 2022;25(4):55-61. doi: 10.29039/2070-8092-2022-25-4-55-61 [Chuprina LA, Pilipenko EB, Verbenko PS. Aspects of differential diagnosis of Lyme-borreliosis encephalitis and multiple sclerosis. Description of a clinical case. *Tavricheskiy mediko-biologicheskii vestnik*. 2022;25(4):55-61. doi: 10.29039/2070-8092-2022-25-4-55-61 (In Russ.)].
7. Попова ЕВ, Бойко АН, Хачанова НВ, Шаранова СН. Вирус Эпштейна–Барр в патогенезе рассеянного склероза (обзор). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2014;114(2-2):29-34. [Popova EV, Boyko AN, Khachanova NV, Sharanova SN. Epstein-Barr virus in the pathogenesis of multiple sclerosis (a review). *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2014;114(2-2):29-34 (In Russ.)].
8. Attfeld KE, Jensen LT, Kaufmann M, et al. The immunology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2022 Dec;22(12):734-50. doi: 10.1038/s41577-022-00718-z. Epub 2022 May 4.
9. Bjornevik K, Cortese M, Healy BC, et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*. 2022 Jan 21;375(6578):296-301. doi: 10.1126/science.abj8222. Epub 2022 Jan 13.
10. Engdahl E, Gustafsson R, Huang J, et al. Increased Serological Response Against Human Herpesvirus 6A Is Associated With Risk for Multiple Sclerosis. *Front Immunol*. 2019 Nov 26;10:2715. doi: 10.3389/fimmu.2019.02715
11. Pietropaolo V, Fioriti D, Mischitelli M, et al. Detection of human herpesviruses and polyomaviruses DNA in a group of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *New Microbiol*. 2005 Jul;28(3):199-203.
12. Sotelo J, Ordóñez G, Pineda B, Flores J. The participation of varicella zoster virus in relapses of multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2014 Apr;119:44-8. doi: 10.1016/j.clineuro.2013.12.020. Epub 2014 Jan 10.

13. Ramesh G, Didier PJ, England JD, et al. Inflammation in the pathogenesis of lyme neuroborreliosis. *Am J Pathol*. 2015 May;185(5):1344-60. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.01.024. Epub 2015 Apr 16.
14. Cheng X, Meng X, Chen R, et al. The molecular subtypes of autoimmune diseases. *Comput Struct Biotechnol J*. 2024 Mar 28;23:1348-63. doi: 10.1016/j.csbj.2024.03.026
15. Lee YE, Lee SH, Kim WU. Cytokines, Vascular Endothelial Growth Factors, and PlGF in Autoimmunity: Insights From Rheumatoid Arthritis to Multiple Sclerosis. *Immune Netw*. 2024 Feb 16;24(1):e10. doi: 10.4110/in.2024.24.e10
16. Ogrinc K, Hernandez SA, Korva M, et al. Unique Clinical, Immune, and Genetic Signature in Patients with Borrelial Meningoradiculoneuritis. *Emerg Infect Dis*. 2022 Apr;28(4):766-76. doi: 10.3201/eid2804.211831
17. Gyntheren RMM, Orbaek M, Mens H, et al. Exploration of the induced cytokine responses in European Lyme neuroborreliosis: A longitudinal cohort study. *Ticks Tick Borne Dis*. 2023 Jan;14(1):102057. doi: 10.1016/j.ttbdis.2022.102057. Epub 2022 Oct 21.
18. Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, et al. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. *Adv Sci (Weinh)*. 2021 Aug;8(15):e2004433. doi: 10.1002/adv.202004433. Epub 2021 Jun 10.
19. Badawi A. The Potential of Omics Technologies in Lyme Disease Biomarker Discovery and Early Detection. *Infect Dis Ther*. 2017 Mar;6(1):85-102. doi: 10.1007/s40121-016-0138-6. Epub 2016 Nov 29.
20. Eckman EA, Pacheco-Quinto J, Herdt AR, Halperin JJ. Neuroimmunomodulators in Neuroborreliosis and Lyme Encephalopathy. *Clin Infect Dis*. 2018 Jun 18;67(1):80-8. doi: 10.1093/cid/ciy019
21. Баранова НС, Грись МС, Баранов АА и др. Клиническое значение определения цитокинов у пациентов с рассеянным склерозом и взаимосвязь с герпетической инфекцией. *Вестник РГМУ*. 2023;(4):51-65. doi: 10.24075/brsmu.2023.032 [Baranova NS, Gris MS, Baranov AA, et al. Clinical significance of cytokine counting in patients with multiple sclerosis and its relationship with herpetic infection. *Vestnik RGMU = Bulletin of RSMU*. 2023;(4):51-65. doi: 10.24075/brsmu.2023.032 (In Russ.)].
22. Cerar T, Ogrinc K, Lotric-Furlan S, et al. Diagnostic value of cytokines and chemokines in lyme neuroborreliosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2013 Oct;20(10):1578-84. doi: 10.1128/CI.00353-13. Epub 2013 Aug 14.
23. Hernandez SA, Ogrinc K, Korva M, et al. Association of Persistent Symptoms after Lyme Neuroborreliosis and Increased Levels of Interferon- α in Blood. *Emerg Infect Dis*. 2023 Jun;29(6):1091-101. doi: 10.3201/eid2906.221685
24. Christophi GP, Gruber RC, Panos M, et al. Interleukin-33 upregulation in peripheral leukocytes and CNS of multiple sclerosis patients. *Clin Immunol*. 2012 Mar;142(3):308-19. doi: 10.1016/j.clim.2011.11.007. Epub 2011 Dec 2.
25. D'Ambrosio A, Pontecorvo S, Colasanti T, et al. Peripheral blood biomarkers in multiple sclerosis. *Autoimmun Rev*. 2015 Dec;14(12):1097-110. doi: 10.1016/j.autrev.2015.07.014. Epub 2015 Jul 28.
26. Melamud MM, Ermakov EA, Boiko AS, et al. Multiplex Analysis of Serum Cytokine Profiles in Systemic Lupus Erythematosus and Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 10;23(22):13829. doi: 10.3390/ijms232213829
27. Soloski MJ, Crowder LA, Lahey LJ, et al. Serum inflammatory mediators as markers of human Lyme disease activity. *PLoS One*. 2014 Apr 16;9(4):e93243. doi: 10.1371/journal.pone.0093243
28. Бондаренко АЛ, Карань ЛС, Любезнова ОН, Сапожникова ВВ. Комплексная характеристика клинико-лабораторных показателей, концентрации IL-17A, IL-23, IL-33, IL-35 и специфических антител у пациентов с эритемной формой иксодового клещевого боррелиоза. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2018;8(2):55-61. [Bondarenko AL, Karan LS, Lubeznova ON, Sapozhnikova VV. Complex characterization of clinical and laboratory parameters, IL-17A, IL-23, IL-33, IL-35 concentrations and specific antibodies in patients with erythematous form of ixodes tick-borreliosis. *RMJ. Medical Review*. 2018;8(2):55-61 (In Russ.)].
29. Strle K, Stupica D, Drouin EE, et al. Elevated levels of IL-23 in a subset of patients with post-lyme disease symptoms following erythema migrans. *Clin Infect Dis*. 2014 Feb;58(3):372-80. doi: 10.1093/cid/cit735. Epub 2013 Nov 11.
30. Bockenstedt LK, Wooten RM, Baumgarth N. Immune Response to Borrelia: Lessons from Lyme Disease Spirochetes. *Curr Issues Mol Biol*. 2021;42:145-90. doi: 10.21775/cimb.042.145. Epub 2020 Dec 8.
31. Rojas JM, Avia M, Martin V, Sevilla N. IL-10: A Multifunctional Cytokine in Viral Infections. *J Immunol Res*. 2017;2017:6104054. doi: 10.1155/2017/6104054. Epub 2017 Feb 20.
32. Lazarus JJ, Kay MA, McCarter AL, Wooten RM. Viable Borrelia burgdorferi enhances interleukin-10 production and suppresses activation of murine macrophages. *Infect Immun*. 2008 Mar;76(3):1153-62. doi: 10.1128/IAI.01404-07. Epub 2007 Dec 17.
33. Chung Y, Zhang N, Wooten RM. Borrelia burgdorferi elicited-IL-10 suppresses the production of inflammatory mediators, phagocytosis, and expression of co-stimulatory receptors by murine macrophages and/or dendritic cells. *PLoS One*. 2013 Dec 19;8(12):e84980. doi: 10.1371/journal.pone.0084980. Erratum in: *PLoS One*. 2014;9(1). doi: 10.1371/annotation/2ce59bc4-fc0-498f-86f0-376432428bf4. Erratum in: *PLoS One*. 2014;9(1). doi: 10.1371/annotation/680090aa-3e1b-4135-94d6-8082c09180d4
34. Dennis VA, Jefferson A, Singh SR, et al. Interleukin-10 anti-inflammatory response to Borrelia burgdorferi, the agent of Lyme disease: a possible role for suppressors of cytokine signaling 1 and 3. *Infect Immun*. 2006 Oct;74(10):5780-9. doi: 10.1128/IAI.00678-06
35. Schönrich G, Abdelaziz MO, Raftery MJ. Epstein-Barr virus, interleukin-10 and multiple sclerosis: A menage a trois. *Front Immunol*. 2022 Oct 7;13:1028972. doi: 10.3389/fimmu.2022.1028972
36. Watford WT, Moriguchi M, Morinobu A, O'Shea JJ. The biology of IL-12: coordinating innate and adaptive immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003 Oct;14(5):361-8. doi: 10.1016/s1359-6101(03)00043-1
37. Broberg EK, Setälä N, Erälinna JP, et al. Herpes simplex virus type 1 infection induces upregulation of interleukin-23 (p19) mRNA expression in trigeminal ganglia of BALB/c mice. *J Interferon Cytokine Res*. 2002 Jun;22(6):641-51. doi: 10.1089/10799900260100123
38. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev*. 2018 Jan;281(1):154-68. doi: 10.1111/imr.12619
39. Bertheloot D, Latz E, Franklin BS. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cell Mol Immunol*. 2021 May;18(5):1106-21. doi: 10.1038/s41423-020-00630-3. Epub 2021 Mar 30.
40. Verzosa AL, McGeever LA, Bhark SJ, et al. Herpes Simplex Virus 1 Infection of Neuronal and Non-Neuronal Cells Elicits Specific Innate Immune Responses and Immune Evasion Mechanisms. *Front Immunol*. 2021 May 31;12:644664. doi: 10.3389/fimmu.2021.644664
41. Van Baarsen LG, van der Pouw Kraan TC, Kragt JJ, et al. A subtype of multiple sclerosis defined by an activated immune defense program. *Genes Immun*. 2006 Sep;7(6):522-31. doi: 10.1038/sj.gene.6364324. Epub 2006 Jul 13.
42. Van de Schoor FR, Vrijmoeth HD, Brouwer MAE, et al. Borrelia burgdorferi Is a Poor Inducer of Gamma Interferon: Amplification Induced by Interleukin-12. *Infect Immun*. 2022 Mar 17;90(3):e0055821. doi: 10.1128/iai.00558-21. Epub 2022 Feb 7.
43. Vrijmoeth HD, Ursinus J, Botey-Bataller J, et al. Genome-wide analyses in Lyme borreliosis: identification of a genetic variant associated with disease susceptibility and its immunological implications. *BMC Infect Dis*. 2024 Mar 21;24(1):337. doi: 10.1186/s12879-024-09217-z

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
17.04.2024/10.06.2024/11.06.2024

Заявление о конфликте интересов / Conflict of Interest Statement

Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (Фонд содействия инновациям) в рамках программы «УМНИК: Участник молодежного научно-инновационного конкурса» (договоры № 3560ГУ1/2014 от 23.09.2014, № 8815ГУ2/2015 от 17.12.2015). Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The work was carried out with the financial support of the Federal State Budgetary Institution “Fund for Support of Small Innovative Enterprises in the Scientific and Technical Sphere” (Innovation Support Fund) within the framework of the program “UMNIK: Participants of the Scientific and Innovative Youth Competition” (contract No. 3560ГУ1/2014 dated 23.09.2014, № 8815ГУ2/2015 dated 17.12.2015). The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Баранова Н.С. <https://orcid.org/0000-0003-1745-5354>
Овсянникова Л.А. <https://orcid.org/0000-0001-7829-8335>
Остапенко Я.С. <https://orcid.org/0009-0005-0835-3286>
Спирин Н.Н. <https://orcid.org/0000-0001-9078-589X>
Баранов А.А. <https://orcid.org/0000-0001-7847-1679>
Гришь М.С. <https://orcid.org/0000-0002-6743-7368>
Артюхов А.С. <https://orcid.org/0000-0001-7180-1778>
Манякина Ю.В. <https://orcid.org/0009-0008-2729-5976>