
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

EXPERIMENTAL MATERIALS

*Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. 2022. № 4 (20). С. 5—11.
ISSN 2409-4102 (print)*

Bulletin of Chelyabinsk State University. Education and Healthcare. 2022;(4(20):5-11. ISSN 2409-4102 (print)

Научная статья

УДК 571.27

doi: 10.24411/2409-4102-2022-10401

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА IL-6 У БОЛЬНЫХ COVID-19 РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Светлана Валерьевна Беляева¹, Дарья Сергеевна Сташкевич²,
Светлана Эдуардовна Баландина³, Дарья Эдуардовна Мякотина⁴

^{1,2,3,4} Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

¹ shshvetlana@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1184-3217>

² stashkevich_darya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

³ lana.balandina.97@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0129-7128>

⁴ darya.myakotina@csu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4071-2497>

Аннотация. Пандемия, связанная с коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома — 2 (SARS-CoV-2), вызвавшая вспышку коронавирусной болезни 2019 года (COVID-19), стала серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире. Известно, что генетические факторы хозяина ассоциированы с тяжестью течения COVID-19. Обнаружение различий между бессимптомными и тяжелообольными пациентами с COVID-19 способствует более широкому пониманию этого заболевания и может помочь в разработке новых методов лечения. Интерлейкин-6 (IL-6) представляет собой многофункциональный цитокин, секретируемый многими типами клеток, включая моноциты/макрофаги, дендритные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки, В- и Т-клетки, в ответ на воспалительные стимулы и вирусные инфекции. IL-6 играет ключевую роль в обострении воспалительной реакции при инфекции SARS-CoV-2. Повышенные концентрации IL-6 и других цитокинов в сыворотке крови являются признаками тяжелого течения COVID-19. Различные эффекты IL-6 связаны с концентрацией цитокина, определяемой полиморфизмами гена. В данном исследовании мы провели сравнение распределения аллелей и генотипов гена IL-6 у больных с разными формами тяжести течения туберкулеза COVID-19. Были использованы следующие методы: выделение образцов ДНК из цельной крови, проведение генотипирования исследуемых полиморфизмов генов с помощью полимеразно-цепной реакции и электрофорез в агарозном геле. Мы установили, что у больных с легкой формой понижена частота генотипа G/G, отвечающего за высокий уровень продукции цитокина, в сравнении с больными с более тяжелым течением. С группой больных с тяжелой формой различия находятся на уровне тенденции.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, интерлейкин-6 (IL-6), полиморфизмы гена, биомаркеры COVID-19

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы не получали гонорар за статью.

Для цитирования: Беляева С. В., Сташкевич Д. С., Баландина С. Э., Мякотина Д. Э. Полиморфизм гена IL-6 у больных COVID-19 русских Челябинской области // Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. 2022. № 4 (20). С. 5—11. doi: 10.24411/2409-4102-2022-10401.

Original article

IL-6 GENE POLYMORPHISM IN RUSSIANS PATIENTS WITH COVID-19 IN THE CHELYABINSK REGION

Svetlana V. Belyaeva¹, Darya S. Stashkevich², Svetlana E. Balandina³,
Darya E. Myakotina⁴

^{1,2,3,4} Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

© Беляева С. В., Сташкевич Д. С., Баландина С. Э., Мякотина Д. Э., 2022

¹ shshvetlana@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1184-3217>

² stashkevich_dary@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

³ lana.balandina.97@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0129-7128>

⁴ darya.myakotina@csu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4071-2497>

Abstract. The severe acute respiratory syndrome coronavirus — 2 (SARS-CoV-2) pandemic that caused the 2019 coronavirus disease (COVID-19) outbreak has become a major public health concern worldwide. Host genetic factors are known to be associated with the severity of COVID-19. Finding differences between asymptomatic and severely ill patients with COVID-19 contributes to a broader understanding of the disease and may help develop new treatments. Interleukin-6 (IL-6) is a multifunctional cytokine secreted by many cell types, including monocytes/macrophages, dendritic cells, fibroblasts, endothelial cells, B and T cells, in response to inflammatory stimuli and viral infections. IL-6 plays a key role in exacerbating the inflammatory response in SARS-CoV-2 infection. Elevated serum concentrations of IL-6 and other cytokines are signs of severe COVID-19. The various effects of IL-6 are related to cytokine concentration determined by gene polymorphisms. In this study, we compared the distribution of alleles and genotypes of the IL-6 gene in patients with different forms of severity of COVID-19 tuberculosis. The following methods were used: isolation of DNA samples from whole blood, genotyping of the studied gene polymorphisms using polymerase chain reaction, and agarose gel electrophoresis. We found that in patients with a mild form, the frequency of the G/G genotype, which is responsible for a high level of cytokine production, is lowered in comparison with patients with a more severe course. With a group of patients with a severe form, the differences are at the level of a trend.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, interleukin-6 (IL-6), gene polymorphisms, COVID-19 biomarkers

Funding. The study was not sponsored. The authors did not receive royalties for the article.

For citation: Belyaeva SV, Stashkevich DS, Balandina SE, Myakotina DE. IL-6 Gene Polymorphism in Russian Patients with COVID-19 in the Chelyabinsk Region. Bulletin of Chelyabinsk State University. Education and Health-care. 2022;(4(20):5-11. (In Russ.). doi: 10.24411/2409-4102-2022-10401.

Введение

Коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19) представляет собой инфекционное респираторное заболевание, вызванное коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома — 2 (SARS-CoV-2), быстро распространяющимся РНК-вирусом [1]. По данным ВОЗ вирус привел к более 400 млн подтвержденных случаев заражения и более 6 млн смертельных случаев [2]. В настоящее время ведется поиск потенциальных биомаркеров заболевания, которые повысят эффективность ранней диагностики, а также позволят разрабатывать методики лечения и предупреждения распространения COVID-19.

Патофизиологический процесс, лежащий в основе COVID-19, характеризуется усиленным иммунным ответом хозяина и повышенным уровнем циркулирующих провоспалительных цитокинов, включая IL-6 [3]. IL-6 представляет собой цитокин с плейотропными функциями, варьирующими от гемопоэза и регуляции метаболизма до воспаления, аутоиммунитета и реакций острой фазы [4]. IL-6 в значительной степени способствует нарушению регуляции иммунного ответа при COVID-19, в основном действуя в двух направлениях: с одной стороны, он может снижать цитолиз, нарушая выработку IFN γ , тем самым ослабляя противовирусную защиту; с другой сторо-

ны, он может ингибировать дифференцировку регуляторных Т-клеток, вызывать стимулирование ответа Th2, а также вызывать Th17-подобную поляризацию CD4⁺ Т-клеток, что приводит к неконтролируемому гипервоспалению [5]. IL-6 играет решающую роль в иммунопатогенезе COVID-19, что подтверждается данными многочисленных исследований, сообщающих о повышении концентрации этого цитокина в сыворотке, прежде всего, в тяжелых случаях [5].

Различные эффекты IL-6 связаны с концентрацией цитокина, определяемой полиморфизмами гена. Ген, кодирующий IL-6, расположен на хромосоме 7p21. В настоящее время широко исследуется полиморфизм в промоторной области гена IL-6 (–174)*C/G, который приводит к замене гуанина (G) на цитозин (C) в позиции –174. Согласно литературным данным, аллель G отвечает за более высокую продукцию IL-6, в то время как гомозиготность по аллелю C (генотип C/C) — за низкую [6]. Полиморфизмы гена IL-6, связанные с уровнями IL-6 в сыворотке, ассоциированы с неблагоприятными клиническими последствиями COVID-19, включая госпитализацию в отделение интенсивной терапии (ОИТ), острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и смерть [7]. Таким образом, изучение полиморфизмов гена IL-6 может дать представление о межиндивидуальных

вариациях риска заболевания и лежащего в его основе патогенеза.

Цель работы

Оценить особенности частоты встречаемости полиморфизма гена IL-6 у больных COVID-19 русских Челябинской области.

Материалы и методы

Исследуемую группу составили 124 больных COVID-19 русской национальности — пациенты противокоронавирусных больниц города Челябинска. В контрольной выборке — 218 потенциально здоровых донора ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови» русской популяции. Популяционная принадлежность определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям 8-го Международного симпозиума в 1980 г., Лос-Анджелес, США). Для сравнительного анализа между больными с разными формами COVID-19 мы разделили больных на 3 группы по тяжести течения заболевания. Больные в группах со средней и высокой степенью тяжести имели двустороннюю пневмонию (по данным компьютерной томографии подтверждена 1-2-я степень поражения легких). Больные с легкой формой имели антитела (без вакцинации), но не имели выраженных клинических признаков заболевания.

В качестве биологического материала для исследования использовалась венозная кровь, взятая в пробирки с 0,5 %-м раствором калиевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Выделение ДНК проводили с использованием реагентов PROTRANS DNA Box 500 согласно инструкции производителя (Protrans, Germany).

Для выявления SNP IL-6 (-174)*C/G выполняли аллель-специфическую полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с реактивами ООО НПФ «Литех» (г. Москва). Для амплификации использовали прибор «Терцик» НПФ «ДНК-Технология». Интерпретацию результатов проводили с помощью электрофоретической детекции в 3 %-м агарозном геле.

Статистическая обработка

Для расчета достоверности различий по частоте встречаемости аллельных вариантов, генотипов между группами русских здоровых и больных COVID-19 использовали программу PAST (v. 3.16; Hammer et al., 2001), в которой проводилась оценка критерия Пирсона χ^2 с помощью анализа четырехпольной таблицы. Вероятность возникновения признака в исследуемой группе в зависимости от носительства определенного аллельного варианта, генотипа оценивали критерием отношения шансов (OR) с расчетом 95 %-го доверительного интервала (ДИ). Оценка достоверности различий в распределении частот аллелей и генотипов и соответствие закону Харди-Вайнберга проводились с использованием онлайн-приложения SNPStats.

Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, незначимыми при $p > 0,10$, для промежуточных значений p ($0,05 < p \leq 0,10$) обсуждали тенденцию к различиям.

Результаты

На первом этапе нами был проведен анализ частоты встречаемости полиморфизма гена IL-6 (-174)*G/C в группе больных COVID-19 и здоровых русских Челябинской области (табл. 1). Достоверных различий между группами больных и контрольной не было обнаружено.

Таблица 1

Анализ распределения частот аллелей и генотипов гена IL-6 (-174)*G/C в группах больных COVID-19 и здоровых русских Челябинской области

IL-6 (-174)*G/C	Больные COVID-19 N = 124		Контрольная группа N = 218		χ^2	p-Value	OR	CI	
	N	%	N	%					
<i>Аллели</i>									
G	133	53,6	216	49,5	1,057	0,304	1,177	0,862	1,610
C	115	46,4	220	50,5	1,057	0,304	0,849	0,621	1,160
<i>Генотипы</i>									
G/G	38	30,6	54	24,7	1,387	0,239	1,342	0,822	2,191
G/C	57	45,9	108	49,5	0,404	0,525	0,866	0,557	1,348
C/C	29	23,3	56	25,6	0,224	0,636	0,883	0,527	1,478

На следующем этапе мы провели сравнительный анализ частоты встречаемости полиморфизма гена IL-6 (-174)*G/C среди больных COVID-19 и контрольной группы с учетом половой принадлежности.

При проведении сравнительного анализа распределения аллелей и генотипов гена IL-6 (-174)*G/C у женщин достоверные различия между группами больных и контрольной не были обнаружены. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Анализ распределения частот аллелей и генотипов гена IL-6 (-174)*G/C в группах больных COVID-19 и здоровых русских Челябинской области с учетом принадлежности к женскому полу

IL-6 (-174)*G/C	Больные COVID-19 N = 60		Контрольная группа N = 89		χ^2	p-Value	OR	CI	
	N	%	N	%					
<i>Аллели</i>									
G	64	53,3	87	48,8	0,570	0,451	1,195	0,752	1,901
C	56	46,6	91	51,1	0,570	0,451	0,836	0,526	1,330
<i>Генотипы</i>									
G/G	18	30	21	23,5	0,761	0,384	1,388	0,664	2,902
G/C	28	46,6	45	50,5	0,218	0,641	0,856	0,444	1,648
C/C	14	23,4	23	25,8	0,121	0,729	0,873	0,407	1,874

При проведении сравнительного анализа распределения аллелей и генотипов гена IL-6 (-174)*G/C у мужчин достоверные различия между группами больных и контрольной не были обнаружены. Результаты представлены в таблице 3.

На третьем этапе мы провели сравнение частоты встречаемости аллелей и генотипов IL-6 (-174)*G/C в трех группах больных с разными формами COVID-19: больных с тяжелой, средней и легкой клиническими формами заболевания (данные представлены в таблице 4).

Таблица 3

Анализ распределения частот аллелей и генотипов гена IL-6 (-174)*G/C в группах больных COVID-19 и здоровых русских Челябинской области с учетом принадлежности к мужскому полу

IL-6 (-174)*G/C	Больные COVID-19 N = 64		Контрольная группа N = 129		χ^2	p-Value	OR	CI	
	N	%	N	%					
<i>Аллели</i>									
G	69	53,9	129	50	0,522	0,469	1,169	0,764	1,788
C	59	46,1	129	50	0,522	0,469	0,855	0,559	1,307
<i>Генотипы</i>									
G/G	20	31,2	33	25,5	0,690	0,407	1,322	0,683	2,559
G/C	29	45,3	63	48,8	0,213	0,645	0,868	0,476	1,584
C/C	15	23,4	33	25,5	0,105	0,746	0,891	0,442	1,795

У больных с тяжелой и средней формами преобладает аллель IL-6 (-174)*G (56 % и 55 %), а у больных с легкой, наоборот, аллель IL-6 (-174)*C (54 %), который снижает продукцию IL-6. Анализ распределения частот аллелей IL-6 (-174)*G/C у больных с различными формами COVID-19 до-

стоверных различий не выявил. У больных с легкой формой понижена частота генотипа G/G в сравнении с больными с более тяжелым течением. С группой больных с тяжелой формой различия находятся на уровне тенденции ($\chi^2 = 2,902$; $P = 0,0517$, $OR = 0,350$, 95 % CI 0,101–1,206).

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма гена IL-6 (-174)*G/C в группах больных COVID-19 с различными клиническими формами заболевания

IL-6 (-174)*G/C	Тяжелая N = 44		Средняя N = 56		Легкая N = 24	
	N	%	N	%	N	%
<i>Аллели</i>						
G	49	55,6	62	55,4	22	45,8
C	39	44,4	50	44,6	26	54,2
<i>Генотипы</i>						
G/G	16	36,4	18	32,2	4	16,6
G/C	17	38,6	26	46,4	14	58,4
C/C	11	25	12	21,4	6	25

Обсуждение результатов

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что дисбаланс в продукции IL-6 может повлиять на три основных аспекта вирусной инфекции: во-первых, на элиминацию вируса, во-вторых, на устойчивость и распространение вируса и, наконец, на хроническую вирусную инфекцию [5]. Известно, что уровень продукции зависит в том числе от полиморфизмов гена IL-6.

На первом этапе нашего исследования был проведен анализ частоты встречаемости полиморфизма гена IL-6 (-174)*G/C в группе больных COVID-19 и здоровых русских Челябинской области. Оценив частоту встречаемости аллеля IL-6 (-174)*G, который ассоциирован с повышенной продукцией, в контрольной группе русских Челябинской области (49,5 %), мы установили, что она соответствует средневропейской [4]. Известно, что самая низкая частота встречаемости аллеля IL-6 (-174)*G — в финской популяции (19 %), а самая высокая — в японской и корейской популяциях (около 100 %) [4].

По данным литературы для женщин характерны более легкое течение и низкая смертность от заболевания COVID-19 по сравнению с мужчинами, что обусловлено генетическими, а также эндокринными факторами, влияющими на иммунный ответ. Поэтому мы провели сравнительный анализ частоты встречаемости полиморфизма гена IL-6 (-174)*G/C среди больных COVID-19 и контрольной группы с учетом половой принадлежности. При проведении сравнительного анализа распределения аллелей и генотипов гена IL-6 (-174)*G/C у женщин и мужчин достоверные различия между группами больных и контрольной не были обнаружены.

Исследования показывают, что во время вирусной инфекции IL-6 сверхэкспрессируется, и это

может оказывать потенциально неблагоприятное воздействие на иммунный ответ против SARS-CoV-2. У пациентов с COVID-19 повышенные концентрации IL-6 в сыворотке коррелируют со степенью тяжести по данным КТ [5]. Основываясь на этих исследованиях, мы провели сравнение частоты встречаемости аллелей и генотипов IL-6 (-174)*G/C в трех группах больных с разными формами COVID-19: тяжелой, средней и легкой клиническими формами заболевания. У больных с тяжелой и средней формами преобладает аллель IL-6 (-174)*G и генотип G/G, которые отвечают за повышенную продукцию цитокина, а у больных с легкой, наоборот, аллель IL-6 (-174)*C, который снижает продукцию IL-6. У больных с легкой формой понижена частота генотипа G/G в сравнении с больными с более тяжелым течением, с группой больных с тяжелой формой различия находятся на уровне тенденции. Известно, что генотип IL-6 (-174)*G/G обуславливает повышенный уровень экспрессии IL-6, что наблюдается, прежде всего, у пациентов с тяжелыми случаями, и связано с прогрессированием ОРДС и риском смерти [7].

Заключение

В данной работе представлены результаты по ассоциации генетического полиморфизма гена IL-6 (-174)*G/C с COVID-19 у русских Челябинской области. Поиск информативных биомаркеров COVID-19 в направлении полиморфизмов, которые отличаются по этнической и расовой принадлежности, перспективно со стороны создания вакцин, лекарств, предупреждающих развитие инфекции и полностью исключающих ее распространение. Необходимо продолжить исследование генных полиморфизмов цитокинов, продукты которых участвуют в иммунном ответе

на COVID-19, а также рассмотреть комбинации и межгенные взаимодействия, поскольку их совместное действие может иметь различные эффекты, что будет способствовать развитию новых взглядов на профилактические и терапевтические подходы к данному заболеванию.

Список источников

1. Muralidar S., Ambi S. V., Sekaran S., Krishnan U. M. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2 // *Biochimie*. 2020. Vol. 179. P. 85—100. doi: 10.1016/j.biochi.2020.09.018.
2. Gusev E., Sarapultsev A., Solomatina L. [et al]. SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19 // *International journal of molecular sciences*. 2022. Vol. 23. No. 3. doi: 10.3390/ijms23031716.
3. Paces J., Strizova Z., Smrz D., Cerny J. COVID-19 and the Immune System // *Physiological Research*. 2020. Vol. 69. No. 3. P. 379—388. doi: 10.33549/physiolres.934492.
4. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer // *International Immunology*. 2021. Vol. 33. No. 3. P. 127—148. doi: 10.1093/intimm/dxaa078.
5. Gubernatorova E. O., Gorshkova E. A., Polinova A. I. [et al]. IL-6: Relevance for immunopathology of SARS-CoV-2 // *Cytokine & growth factor reviews*. 2020. Vol. 53. P. 13—24. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.009.
6. Kerget F., Kerget B. Frequency of Interleukin-6 rs1800795 (-174G/C) and rs1800797 (-597G/A) Polymorphisms in COVID-19 Patients in Turkey Who Develop Macrophage Activation Syndrome // *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2021. Vol. 74. No. 6. P. 543—548. doi: 10.7883/yoken.JJID.2021.046.
7. Smieszek S. P., Przychodzen B. P., Polymeropoulos V. M. [et al]. Assessing the potential correlation of polymorphisms in the IL-6R with relative IL-6 elevation in severely ill COVID-19 patients // *Cytokine*. 2021. Vol. 148. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155662.

References

1. Muralidar S, Ambi SV, Sekaran S, Krishnan UM. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie*. 2020;179:85-100. doi: 10.1016/j.biochi.2020.09.018.
2. Gusev E, Sarapultsev A, Solomatina L et al. SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(3). doi: 10.3390/ijms23031716.
3. Paces J, Strizova Z, Smrz D, Cerny J. COVID-19 and the Immune System. *Physiological Research*. 2020;69(3):379-388. doi: 10.33549/physiolres.934492.
4. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *International Immunology*. 2021;33(3):127-148. doi: 10.1093/intimm/dxaa078.
5. Gubernatorova EO, Gorshkova EA, Polinov AI et al. IL-6: Relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. *Cytokine & growth factor reviews*. 2020;53:13-24. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.009.
6. Kerget F, Kerget B. Frequency of Interleukin-6 rs1800795 (-174G/C) and rs1800797 (-597G/A) Polymorphisms in COVID-19 Patients in Turkey Who Develop Macrophage Activation Syndrome. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2021;74(6):543-548. doi: 10.7883/yoken.JJID.2021.046.
7. Smieszek SP, Przychodzen BP, Polymeropoulos VM et al. Assessing the potential correlation of polymorphisms in the IL-6R with relative IL-6 elevation in severely ill COVID-19 patients. *Cytokine*. 2021;148. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155662.

Информация об авторах

С. В. Беляева — кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета.

Д. С. Сташкевич — кандидат биологических наук, декан биологического факультета.

С. Э. Баландина — аспирант, ассистент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета.

Д. Э. Мякотина — магистрант биологического факультета.

Information about the authors

Svetlana V. Belyaeva — Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Faculty of Biology.

Darya S. Stashkevich — Candidate of Biological Sciences, Dean of the Faculty of Biology.

Svetlana E. Balandina — graduate student, assistant of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Faculty of Biology.

Darya E. Myakotina — Master's Student of the Faculty of Biology.

Вклад авторов:

Мякотина Д. Э., Беляева С. В. — концепция и дизайн исследования;

Мякотина Д. Э., Беляева С. В., Сташкевич Д. С. — провели лабораторные исследования;

Мякотина Д. Э., Беляева С. В. — анализ и интерпретация;

Мякотина Д. Э., Беляева С. В., Баландина С. Э. — сбор данных и написание рукописи.

Authors' contribution:

Myakotin D. E., Belyaev S. V. — concept and design of the study;

Myakotina D. E., Belyaeva S. V., Stashkevich D. S. conducted laboratory research;

Myakotina D. E., Belyaeva S. V. — analysis and interpretation;

Myakotina D. E., Belyaeva S. V., Balandina S. E. — data collection and manuscript writing.

Статья поступила в редакцию 26.12.2022; принята к публикации 28.12.2022.

The article was submitted 26.12.2022; accepted for publication 28.12.2022.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.