

# ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЭРИТРОКАРИОЦИТОВ КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ ДИФфуЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМОЙ

Н.Н. Тупицын<sup>1</sup>, Чэн Цзяо<sup>1,2</sup>, П.А. Зейналова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

<sup>2</sup>ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет);  
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

**Контакты:** Николай Николаевич Тупицын nntca@yahoo.com

**Введение.** Ранее работами лаборатории иммунологии гемопоэза были установлены типичные изменения гемопоэза у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВКЛ). Среди них особое внимание было обращено на нарастание пропорции оксифильных нормобластов, поскольку этот признак имел прогностическое значение.

**Цель исследования** — установление возможности идентификации более зрелой пропорции эритрокариоцитов проточно-цитометрическим методом.

**Материалы и методы.** Исследование проведено у 60 больных ДВКЛ. Увеличение пропорции оксифильных эритробластов отмечено в 50 случаях (83,3 %). Проточно-цитометрические исследования костного мозга проведены у 30 больных ДВКЛ. Использовали моноклональные антитела к гликофору А, CD45, CD36, CD117, CD71, CD105, CD34, HLA-DR, а также ядерные красители SYTO 16, SYTO 41.

**Результаты.** Использование гликофорина А в сочетании с одним из ядерных красителей и CD45 является эффективным для идентификации пула эритрокариоцитов. Основную фракцию составляют зрелые CD71+ гликофорин А+ клетки, которые не имеют характеристик клеток-предшественников. Во фракции CD45-негативных клеточных элементов присутствуют клетки CD71-гликофорин А-, которые представлены предшественниками — CD34+ CD117+ HLA-DR+/- . На эритрокариоцитах со слабой экспрессией гликофорина А и выраженной экспрессией CD71 (коммитированных по эритроидной дифференцировке) в незначительном количестве присутствуют только антигены CD117 и HLA-DR, а CD34 полностью отсутствует. Наиболее информативным для характеристики более зрелой популяции эритрокариоцитов оказался подход, основанный на идентификации пула эритрокариоцитов по экспрессии CD36 с низкими характеристиками SSC (в этом случае гликофорин А, CD45 и ядерные красители можно не использовать, так как CD36 не взаимодействует с эритроцитами). После достижения пика экспрессии уровни CD36, CD71, CD105 снижаются. Именно эта фракция представляет собой наиболее зрелые эритрокариоциты. Корреляция процентного содержания этих клеток с выявляемыми морфологически оксифильными нормобластами близка к достоверной.

**Заключение.** Установлено, что наиболее зрелую фракцию эритрокариоцитов целесообразно проточно-цитометрически устанавливать на основании следующих характеристик: SSC<sup>low</sup> CD71<sup>low</sup> CD105<sup>low</sup> CD36<sup>+/low</sup>.

**Ключевые слова:** диффузная В-крупноклеточная лимфома, эритропоэз, проточная цитометрия

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-52-57

## IMMUNOPHENOTYPIC STUDY OF BONE MARROW ERYTHROKARYOCYTE DIFFERENTIATION IN PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

N.N. Tupitsyn<sup>1</sup>, Cheng Jiao<sup>1, 2</sup>, P.A. Zeynalova<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashyrskoe shosse, Moscow 115478, Russia;

<sup>2</sup>Sechenov University; 2 build., 8 Trubetskaya St., 119991 Moscow, Russia

**Introduction.** Previously we've shown that there are typical changes in haematopoiesis in diffuse large B-cell lymphoma patients (DLBCL). Attention was paid to the elevation of oxyphilic erythroblasts, as this sign was of prognostic significance. The aim of this work was to see if there is possible to identify bone marrow erythrocyte maturation stages using flow cytometry method.

**Materials and methods.** Study was done in 60 DLBCL patients. Elevation of oxyphilic erythroblast levels was noted in 50 patients (83,3 %). Flow cytometric study of bone marrow were done in 30 patients. We used monoclonal antibodies to Glycophorin A, CD45, CD36, CD117, CD71, CD105, CD34, HLA-DR, as well as nuclear staining for SYTO 16, SYTO 41.

**Results.** Use of Glycophorin A together with SYTO 16 or SYTO 41 is effective for identification of erythrocytes, main proportion of which is represented by CD71+ and Glycophorin A+ cells, which does not express any precursor markers. In CD45-negative cellular

elements there are as well CD71- glycophorin A- cells, which represents mainly precursors – CD34+ CD117+ HLA-DR+/- . Erythrocytes with low levels of glycophorin A expression and prominent expression of CD71 (committed to erythroid differentiation) show slight expression of CD117 and HLA-DR, but CD34 is completely absent. The informative method for characterization of most mature erythrocytes was the approach based on identification of erythrocytes according to CD36 expression on cells with low SSC (in that case usage of nuclear stain, CD45 and glycophorin A may be omitted as CD36 does not stain erythrocytes). After peak of CD36, CD71, CD105 expression levels of these antigens are declining. Namely that fraction represents most mature erythrocytes. Correlation of the percentages of that cells with oxyphilic normoblasts (identified morphologically) was near to significant value.

**Conclusion.** We proved that the most mature erythrocyte fraction may be identified by flow cytometry based on the following parameters –  $SSC^{low} CD71^{low} CD105^{low} CD36^{+/low}$ .

**Key words:** diffuse large B-cell lymphoma, erythropoiesis, flow cytometry

## Введение

Эритроидная дифференцировка происходит в костном мозге и включает 4 основных типа морфологически идентифицируемых клеток – пронормобласты, нормобласты базофильные, нормобласты полихроматофильные и нормобласты оксифильные. Преобладающим типом среди этих форм являются полихроматофилы, и типичная кривая эритрокариобластической дифференцировки выглядит следующим образом (рис. 1), а при патологических состояниях характер кривой может изменяться, как показано на схеме [1].

В ряде предшествующих работ нами было отмечено, что характер эритроблатограммы при раке, диффузной В-крупноклеточной и фолликулярной лимфомах имеет однотипные изменения. Они заключаются в возрастании процента клеток терминальной эритрокариоцитарной дифференцировки – оксифильных нормобластов, относительное содержание которых может превышать уровни полихроматофильных нормобластов, и кривая созревания этих клеток становится похожей на таковую при гемолитической анемии [2–6].

Учитывая тот факт, что морфологически определяются лишь основные дискретные стадии эритро-

поэза, а в действительности этот процесс носит непрерывный характер, мы предприняли попытку иммунофенотипической характеристики эритрокариоцитов костного мозга у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВКЛ). Выбор нозологической формы был не случаен, так как именно в этом случае нарастание уровней оксифильных нормобластов ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом [2].

Следует отметить, что к настоящему времени получен целый ряд моноклональных антител к эритрокариоцитам и сформированы панели для установления их степени зрелости ЕвроФлоу [7].

Анализ миелограмм, проведенный нами у 60 больных ДВКЛ, показал, что нарастание пропорции оксифильных нормобластов отмечается в 83,3 % случаев. Предложены иммунофенотипические подходы для идентификации эритрокариоцитов различной степени зрелости.

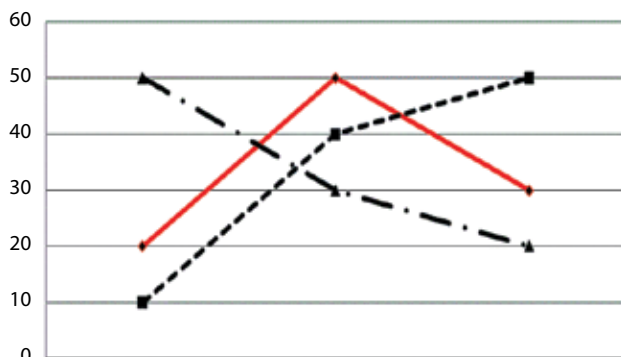
## Материалы и методы

Исследование проведено у 60 больных ДВКЛ. Диагноз заболевания был во всех случаях установлен в соответствии с классификацией опухолей кроветворной и лимфоидной тканей 2008 г. [8]. Установление стадии заболевания проводили согласно общепринятым критериям [9].

Изучение гемопоэза проводили на основании анализа миелограмм, использовали нормы, принятые в лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Проточно-цитометрические исследования проводили на проточном цитометре FACS CANTO II (Becton Dickinson, США). Применяли панель моноклональных антител, рекомендованную консорциумом ЕвроФлоу для диагностики вариантов острых эритробластных лейкозов с включением ряда дополнительных маркеров: гликофорин А, CD36, CD105, CD71, HLA-DR, CD33, CD117, CD123, CD45.

Анализ проточно-цитометрических данных проводили с использованием программы FCS express v. 3.



**Рис. 1.** Взаимоотношения между различными морфологически распознаваемыми клеточными типами в костном мозге в норме и при патологических состояниях. Кривая красного цвета – нормальная дифференцировка. Пунктирная линия – гемолитическая анемия, штрих-пунктир – железодефицитная анемия

## Результаты

При анализе 60 миелограмм больных ДВКЛ изменения эритроидной дифференцировки с увеличением пропорции оксифильных нормобластов отмечены в 50 (83,3 %) случаях.

С целью дальнейшей объективизации морфологической идентификации эритрокариоцитов мы предприняли попытку охарактеризовать стадии дифференцировки эритрокариоцитов в костном мозге больных ДВКЛ проточно-цитометрически.

С этой целью были проанализированы различные методы идентификации эритрокариоцитов.

Большинство эритрокариоцитов в костном мозге человека являются CD45-негативными, и лишь немногочисленные наиболее ранние формы слабо экспрессируют CD45.

Специфическим маркером клеток эритроидного ряда является гликофорин А, присутствующий на всех ядросодержащих эритроидных клетках костного мозга. Мы в первую очередь стремились охарактеризовать именно ядросодержащие эритроидные формы с тем, чтобы иметь возможность сопоставить полученные данные с результатами морфологического исследования костного мозга. С этой целью оценили возможность использования ядерных красителей SYTO 16 и SYTO 41.

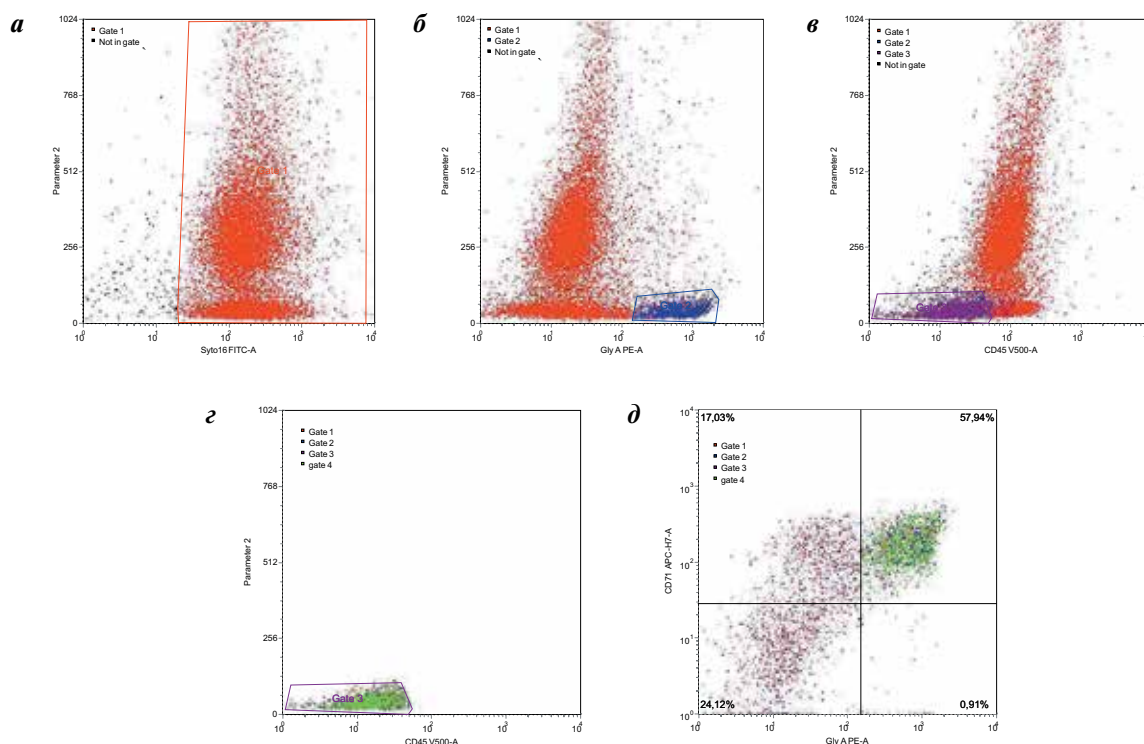
Весьма специфичный для клеток эритроидного ряда — трансферриновый рецептор (CD71), который появляется раньше гликофорина А на эритроидных предшественниках и утрачивается на ретикулоцитах и эритроцитах.

Ранние предшественники эритроидных клеток могут характеризоваться экспрессией CD34, CD117, HLA-DR.

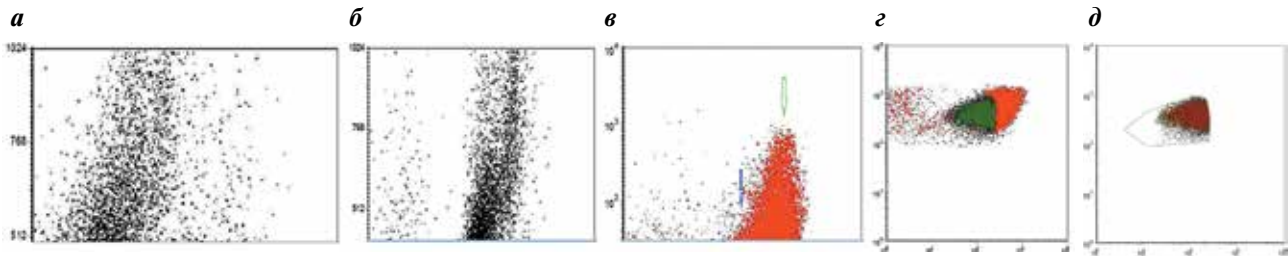
В последнее время распространенным подходом к характеристике эритрокариоцитов является использование CD36 (в отличие от гликофорина отсутствует на эритроцитах) и CD105.

Общелейкоцитарный антиген CD45 — обязательный маркер, включаемый во все пробы при характеристике эритропоэза. Это обусловлено тем, что на эритроидных предшественниках экспрессия антигена практически отсутствует, что является отличительной чертой от неэритроидных клеток с низкими характеристиками бокового светорассеяния (лимфоцитов и др.).

Для анализа популяции эритроидных предшественников использовали подход, проиллюстрированный на рис. 2: выделяли гейт SYTO16-позитивных клеток (рис. 2а), далее в пределах этих клеток выделяли гликофорин А-позитивные клетки (рис. 2б), далее выделяли CD45-негативные клеточные элементы (рис. 2в) и объединяли эти 3 гейта (рис. 2г).



**Рис. 2.** Идентификация эритрокариоцитов проточно-цитометрическим методом: а — выделение гейта ядросодержащих клеток на основании окрашивания нуклеотропным красителем SYTO 16; б — выделение гейта гликофорин-А-позитивных клеток; в — выделение гейта CD45-негативных клеток; г — клетки в итоговом гейте, соответствующие 3 объединенным гейтам — SYTO 16 + гликофорин А + CD45—; д — взаимосвязь между клетками, экспрессирующими трансферриновый рецептор CD71 и экспрессирующими гликофорин А, в CD45-негативном гейте



**Рис. 3.** Идентификация наиболее зрелых эритрокариоцитов в костном мозге больных ДБКЛ: а — выделение гейта CD36-позитивных клеток с низкими характеристиками SSC; б — CD36-позитивные клетки с низкими характеристиками SSC (все являются CD45-негативными); в — 2 популяции CD105- и CD71-позитивных клеток; г — CD105<sup>low</sup> и CD71<sup>low</sup> клетки, более слабо экспрессирующие CD36; д — итоговый гейт CD36<sup>low</sup> SSC<sup>low</sup> CD71<sup>low</sup> CD105<sup>low</sup> клеток, соответствующих наиболее дифференцированным эритрокариоцитам

В гейте CD45-негативных клеток у больных ДБКЛ взаимосвязь между антигенами CD71 и гликофорином А полностью соответствует таковой, описываемой в литературе для нормальной дифференцировки эритрокариоцитов (рис. 2д). Вместе с тем очевидно, что гейт можно распространить на клетки, слабо экспрессирующие гликофорин А.

Охарактеризовали иммунофенотипически клетки, попадающие в каждый из квадрантов (см. рис. 2д). В квадранте, соответствующем иммунофенотипу CD71-GlyA<sup>-</sup>, отмечается экспрессия маркеров ранних предшественников гемопоэза — CD34, CD117, HLA-DR. В квадранте CD71<sup>+</sup> GlyA<sup>слабо+</sup>, т. е. на коммитированных по эритроидной дифференровке клетках (CD71<sup>+</sup> GlyA<sup>+/—</sup>), в незначительном количестве присутствуют только антигены CD117 и HLA-DR, а CD34 полностью отсутствует. И наконец, в квадранте CD71<sup>+</sup> GlyA<sup>+</sup> (доминирующая популяция клеток) маркеры клеток-предшественников отсутствуют, что свойственно морфологически распознаваемым эритроидным клеткам.

Представленный подход позволяет суммарно охарактеризовать эритроидный росток костного мозга, но не позволяет дифференцировать клетки в пределах основной популяции CD71<sup>+</sup> гликофорин А<sup>+</sup>.

Интересные возможности открывает использование маркера CD36 для идентификации эритрокариоцитов. Преимущества этого маркера перед гликофорином А состоят в том, что CD36 не экспрессирован на эритроцитах и, таким образом, исключается необходимость использования ядерных красителей. На рис. 3а показана экспрессия CD36 на клетках с низким боковым светорассеянием (SSC). Все эти клетки являются CD45-негативными (рис. 3б). Сопоставление количества эритрокариоцитов, выявляемых на основании экспрессии в пределах популяции клеток SSC<sup>low</sup> CD36<sup>+</sup> клеток и CD36<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>клеток, выявило высокодостоверную корреляцию между ними —  $R = 0,993$ ;  $p = 0,000$ ;  $n = 16$ , т. е. наблюдается практически полное совпадение результатов. Это послужило доказательством того, что CD45 можно не использовать и ограничить-

ся маркером CD36 для идентификации эритрокариоцитов костного мозга.

Дальнейший анализ возможностей дифференциальной диагностики клеток проведен в пределах основной популяции эритрокариоцитов — CD71<sup>+</sup>CD36<sup>+</sup>. Использование маркеров CD105 и CD71 позволяет установить 2 популяции этих клеток — с более яркой экспрессией CD71 и CD105 и с более слабой экспрессией этих антигенов (рис. 3в). Более слабой экспрессии антигенов соответствует более зрелая популяция эритрокариоцитов, так как после достижения пика экспрессии CD71 и CD105 дальнейшая дифференцировка клеток сопровождается угасанием экспрессии этих антигенов.

Как видно на рис. 3г, выделение гейта клеток с более слабой экспрессией CD71 и CD105 и окрашивание этих клеток в пределах всего пула CD36-позитивных эритрокариоцитов свидетельствует о более слабой экспрессии CD36 на CD105<sup>low</sup>, CD71<sup>low</sup> клеточных элементах. Это тоже важный признак наиболее зрелой фракции эритрокариоцитов. Итоговый гейт при объединении всех 3 гейтов — CD36<sup>+</sup>, CD105<sup>low</sup> и CD71<sup>low</sup> — в пределах CD36<sup>+</sup> и CD36<sup>low</sup> представлен на рис. 3д. Согласно современным взглядам на дифференцировку эритрокариоцитов (рис. 4) именно клетки в этом гейте соответствуют наиболее зрелой фракции эритрокариоцитов, т. е., по-видимому, наиболее близки оксифильным нормобластам.

При проведении корреляционного анализа процентного содержания этих клеток с более зрелыми морфологически выделяемыми формами эритрокариоцитов у 15 больных ДБКЛ не отмечено абсолютно никакой связи с полихроматофильными нормобластами ( $R = 0,06$ ;  $p = 0,83$ ;  $n = 15$ ) и суммарным содержанием клеток эритроидного ряда ( $R = 0,367$ ;  $p = 0,178$ ;  $n = 15$ ). Имелась определенная взаимосвязь с оксифильными нормобластами ( $R = 0,43$ ,  $n = 15$ ), однако она не была достоверной ( $p = 0,11$ ).

Следует отметить, что полного совпадения данных проточной цитометрии с данными морфологического исследования практически никогда не наблюдается и с другими клеточными типами (лимфоциты,



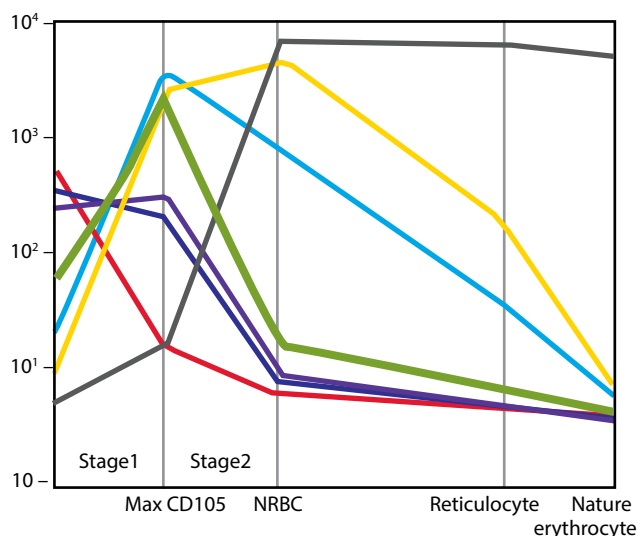


Рис. 4. Этапы дифференцировки эритрокариоцитов на основании изменения их антигенного состава (по McGrath K.E. et al. [10])

бласты, плазматические клетки и т. д.) — это разные методы. Тем не менее выделение наиболее зрелой фракции эритрокариоцитов на основании мембранного иммунофенотипа представляется серьезным дополнением к морфологии в оценке степени зрелости ядросодержащих эритроидных клеток костного мозга в норме и при патологии.

Таким образом, в работе мы использовали наряду с традиционными также самые современные подходы для идентификации эритрокариоцитов и установления степени их дифференцировки. Эти современные подходы впервые были предложены Европейским консорциумом Еврофлоу и опубликованы в журнале *Leukemia* в 2012 г. В основу положен принцип многоцветной проточной цитофлуориметрии, используемый для диагностики эритробластных лейкозов.

Мы оценили возможность использования гликофорина А наряду с ядерными красителями для выделения пула эритроидных клеток и его дальнейшей детализации (ядерные красители необходимы, так как гликофорин А экспрессирован помимо эритрокариоцитов также и на эритроцитах). Использован целый ряд наиболее информативных характеристик эритроидной дифференцировки: маркеры незрелых клеток — слабая экспрессия CD45, наличие на мем-

бране антигенов CD34, CD117, HLA-DR; наиболее типичные для эритрокариоцитов антигены гликофорина А, трансферриновый рецептор CD71, антигены CD105 и CD36.

Отработана методика идентификации эритрокариоцитов на основании гликофорина А, слабой экспрессии CD45, наряду с ядерными красителями SYTO16, SYTO 43. Установлены изменения экспрессии антигенов ранних этапов дифференцировки эритрокариоцитов в координатах гликофорин А/CD71.

Наиболее плодотворным оказался подход, основанный на использовании маркера CD36 для идентификации всего пула эритроидных предшественников среди клеток с низкими характеристиками светорассеяния SSC. Как оказалось, практически все эти клетки имели низкие уровни экспрессии CD45, так что использование данного маркера (CD45) можно было исключить. Снижение уровней экспрессии CD105 и CD71 в гейте клеток CD36<sup>+</sup> SSC<sup>low</sup> характеризует наиболее зрелую популяцию эритрокариоцитов. Интересно отметить, что уровни экспрессии CD36 на этих клетках также были более низкими. Таким образом, идентификация наиболее зрелой клеточной популяции эритрокариоцитов — CD36<sup>low</sup> SSC<sup>low</sup> CD71<sup>low</sup> CD105<sup>low</sup> — целесообразна для установления степени дифференцировки эритрокариоцитов. Именно эта фракция в большей степени коррелировала с морфологически распознаваемыми оксифильными нормобластами.

Проведенные исследования важны для более детального понимания процессов дифференцировки эритрокариоцитов у больных ДВКЛ, так как изменения созревания, заключающиеся в накоплении оксифильных нормобластов, находят отражение в клиническом течении и прогнозе пациентов.

### Заключение

В статье изучены различные методы идентификации пула эритрокариоцитов костного мозга и установлено, что для изучения субпопуляционного состава доминирующей фракции эритрокариоцитов (гликофорин А<sup>+</sup> CD71<sup>+</sup>) целесообразно использовать маркеры CD36, CD71, CD105 наряду с характеристиками бокового светорассеяния SSC.

## Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Владимирская Е.Б. Основы кроветворения. В кн.: Герiatricческая гематология. Под ред. Л.Д. Гриншпун, А.В. Пивник. М.: Медиум, 2011. С. 21–44. [Vladimirskaia E.B. Fundamentals of hematoipoiesis. In the book: Geriatric hematology. Ed. by L.D. Grinshpun, A.V. Pivnik. M.: Medium, 2011. Pp. 21–44. (In Russ.)].
2. Тупицын Н.Н., Зейналова П.А., Френкель М.А., Османов Е.А. Роль костного мозга в прогнозе диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2015;1:72–7. [Tupitsyn N.N., Zeynalova P.A., Frenkel M.A., Osmanov E.A. The role of the bone marrow in the prognosis of diffuse B-large cell lymphoma. Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii = Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry 2015;1:72–7. (In Russ.)].
3. Фалалеева Н.А., Моженкова А.В., Османов Е.А. и др. Особенности эритропоэза больных фолликулярной лимфомой. Вестник ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» 2016;3:34–7. [Falaleeva N.A., Mozhenkova A.V., Osmanov E.A. et al. Peculiarities of erythropoiesis in patients with follicular lymphoma. Vestnik FGBU “RONC im. N.N. Blokhin” = Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center 2016;3:34–7. (In Russ.)].
4. Зейналова П.А., Шолохова Е.Н., Френкель М.А. и др. Взаимосвязь иммунофенотипа диффузной В-крупноклеточной лимфомы с особенностями кроветворения у больных. Технологии живых систем 2015;1:63–8. [Zeynalova P.A., Sholokhova E.N., Frenkel M.A. et al. Interrelation of immunophenotype of diffuse B-large cell lymphoma with features of hematopoiesis in patients. Tekhnologii zhivyh sistem = Technologies of living systems 2015;1:63–8. (In Russ.)].
5. Тимонина Е.Г., Френкель М.А., Колбаская О.П., Подвязников С.О. Характеристика гемопоэза у больных плоскоклеточным раком головы и шеи. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2009;20 (3):75–81. [Timonina E.G., Frenkel M.A., Kolbatskaya O.P., Podvaznikov S.O. Characterization of hemopoiesis in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. Vestnik RONC im. N.N. Blokhin RAMN = Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center 2009;20(3):75–81. (In Russ.)].
6. Френкель М.А. Исследование костного мозга в онкологии. Иммунология гемопоэза 2014;12(1–2):18–41. [Frenkel M.A. Study of bone marrow in oncology. Immunologiya gemopoezha = Immunology of hemopoiesis 2014;12(1–2):18–41. (In Russ.)].
7. van Dongen J.J. M., Lhermitte L., Bottcher S. et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. Leukemia 2012;26:1908–75. PMID: 22552007. DOI: 10.1038/leu.2012.120.
8. Stein H., Warnke R.A., Chan W.C. et al. Diffuse large B-cell lymphoma not otherwise specified. In: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (Eds. S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris et al.). Lyon, France: IARC Press, 2008. Pp. 233–237.
9. Cheson B.D., Fisher R.I., Barrington S.F. et al. Recommendation for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: The Lugano Classification. J Clin Oncol 2014;32:3059–67. PMID: 25113753. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.8800.
10. McGrath K.E., Catherman S.C., Palis J. et al. Delineating stages of erythropoiesis using imaging flow cytometry. Methods 2017;112:68–74. PMID: 27582124. DOI: 10.1016/j.ymeth.2016.08.012.

## ORCID авторов/ORCID of authors

Н.Н. Тупицын/N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

Цзяо Чэн/Cheng Jiao: <https://orcid.org/0000-0002-9916-1992>

П.А. Зейналова/P.A. Zeynalova: <https://orcid.org/0000-0003-1564-424X>

**Конфликт интересов.** Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

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