

МікроРНК як прогностичний маркер тиреоїдної карциноми



А. Я. Пасько, В. Д. Скрипко

Івано-Франківський національний медичний університет

Рак щитоподібної залози (РЩЗ) є найпоширенішим ендокринним новоутворенням у світі, на який припадає близько 3,4 % від усіх випадків злоякісних пухлин [1]. Ця патологія становить серйозну проблему охорони здоров'я, оскільки її поширеність продовжує неухильно зростати в багатьох країнах, що частково пояснюється поліпшенням методів візуалізації та збільшенням кількості виявлених пухлин у щитоподібній залозі. У більшості регіонів світу протягом останніх десятиліть спостерігається зростання захворюваності на РЩЗ, тоді як смертність при цій патології, навпаки, знижується [2]. Такий парадокс пояснюється більш ранньою діагностикою і, відповідно, ефективнішим лікуванням на ранніх стадіях. Проте, незважаючи на сприятливий прогноз у більшості пацієнтів, РЩЗ у деяких випадках має агресивний перебіг і схильність до рецидивування.

Більшість злоякісних новоутворень щитоподібної залози належать до диференційованих форм (папілярна карцинома щитоподібної залози (ПКЩЗ) і фолікулярна карцинома щитоподібної залози (ФКЩЗ)). Сумарно на ці дві форми припадає понад 90 % від усіх випадків РЩЗ. Менш поширені недиференційована карцинома щитоподібної залози й анапластична карцинома, які трапляються в 5 та 1 % випадків відповідно, характеризуються швидким прогресуванням, резистентністю до лікування і вкрай низьким рівнем виживаності — 5 років та 6 міс відповідно [1]. Навіть при диференційованих формах захворювання не можна виключити

несприятливого перебігу: понад 10 % пацієнтів із такими формами РЩЗ помирають унаслідок прогресування захворювання, у понад 15 % виникають рецидиви пухлинного процесу [3, 4]. Ці дані свідчать про необхідність глибшого розуміння біологічних механізмів пухлинної трансформації та пошуку надійних прогностичних маркерів, які дали б змогу своєчасно ідентифікувати пацієнтів із підвищеним ризиком ускладнень і адаптувати терапевтичну тактику.

Одним із перспективних напрямів сучасних досліджень у діагностиці та прогнозуванні перебігу РЩЗ є вивчення мікроРНК — класу малих (довжиною близько 22 нуклеотидів) РНК, що не кодують. Ці молекули відіграють ключову роль у посттранскрипційній регуляції експресії генів, впливаючи на стабільність і трансляцію мРНК через взаємодію з їхніми специфічними послідовностями. Доведено, що мікроРНК беруть участь у розвитку та прогресуванні багатьох злоякісних пухлин, зокрема РЩЗ [5, 6]. Вони регулюють широкий спектр клітинних процесів (проліферацію, апоптоз, диференціацію, клітинний цикл та імунну відповідь), можуть діяти як онкогени або супресори пухлин залежно від реалізації спадкової інформації. МікроРНК залучені в складні регуляторні мережі, які визначають поведінку пухлинних клітин, їхній інвазивний потенціал та реакцію на лікування.

Попри значний прогрес у дослідженні мікроРНК як потенційних біомаркерів, профіль їхньої експресії

при різних клініко-патологічних варіантах РЩЗ вивчено недостатньо. Актуальним залишається питання щодо асоціації експресії окремих мікроРНК з агресивністю перебігу пухлини, схильністю до метастазування та рецидиву. Визначення таких молекул може мати важливе значення для індивідуалізації підходу до ведення пацієнтів, прогнозування результатів лікування та розробки нових терапевтичних мішеней. Подальше дослідження мікроРНК у РЩЗ є важливим кроком до створення точних, неінвазивних і надійних молекулярних інструментів для клінічної практики.

Мета роботи — ідентифікація потенційних мікроРНК-кандидатів, що можуть бути використані як прогностичні біомаркери перебігу раку щитоподібної залози.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Порівняння рівнів експресії досліджуваних мікроРНК у пухлинній тканині хворих на РЩЗ та нормальній тканині щитоподібної залози проведено за допомогою веб-порталу UALCAN (The University of Alabama at Birmingham CANcer data analysis Portal, <http://ualcan.path.uab.edu/index.html>). UALCAN є інтерактивною онлайн-платформою, що забезпечує доступ до даних з The Cancer Genome Atlas (TCGA) та інших публічних баз і дає змогу проводити кількісний та статистичний аналіз рівня експресії генів, мікроРНК, довгих РНК, що не кодують, а також оцінку рівня метилювання ДНК у промоторних ділянках при 33 типах злоякісних новоутворень, зокрема РЩЗ.

Проведено також стратифікований аналіз залежно від основних клініко-патологічних характеристик пацієнтів (вік, стадія пухлини, статус ураження лімфатичних вузлів та гістологічний тип) для виявлення можливих асоціацій між рівнем експресії мікроРНК і клінічним перебігом захворювання.

Крім того, за допомогою інструментів платформи проведено аналіз загальної виживаності пацієнтів залежно від показників експресії відповідних пухлинно-асоційованих мікроРНК, що дало змогу оцінити їхній прогностичний потенціал.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз літератури дав змогу ідентифікувати 6 мікроРНК, що потенційно можуть мати діагностичне та прогностичне значення при РЩЗ. З використанням бази даних UALCAN проведено порівняння рівнів експресії відібраних мікроРНК у нормальній

та малігнізованій тканині щитоподібної залози в системі *in silico*. Окрім того, оцінено зв'язок між рівнем експресії досліджуваних мікроРНК та клінічним статусом хворих на тиреоїдну карциному.

Установлено, що тканина тиреоїдної карциноми характеризується в 1,40 разу ($p < 0,0001$), 63,39 разу ($p < 0,0001$), 9,27 разу ($p < 0,0001$) та 7,67 разу ($p < 0,0001$) вищим рівнем експресії мікроРНК-15a-5p, мікроРНК-146b-5p, мікроРНК-221-5p і мікроРНК-222-3p порівняно зі зразками тканини умовно нормальної щитоподібної залози.

За даними біоінформативного аналізу показників мікроРНК-199b-5p виявлено, що рівень її експресії в тканині РЩЗ був у 3,29 разу ($p < 0,0001$) меншим порівняно зі зразками тканини нормальної щитоподібної залози. Схожу тенденцію відзначено для мікроРНК-484: у зразках пухлинної тканини хворих на РЩЗ рівень цієї мікроРНК був у 3,29 разу статистично значущо меншим порівняно із тканиною нормальної залози.

Проведено дослідження залежності рівня мікроРНК від клінічних характеристик хворих на РЩЗ. Виявлено, що в пацієнтів віком від 81 до 100 років рівень експресії мікроРНК-15a-5p був статистично значущо меншим, ніж у пацієнтів віком 21—40, 41—60 та 61—80 років відповідно в 1,16 разу ($p < 0,05$), 1,24 разу ($p < 0,005$) та 1,24 разу ($p < 0,001$), рівень експресії мікроРНК-146b-5p — відповідно в 1,43 разу ($p < 0,05$), 1,73 разу ($p < 0,05$) та 1,46 разу ($p < 0,05$). Зниження рівня мікроРНК-221-5p у 1,57 разу ($p < 0,05$) зафіксоване в тканині РЩЗ пацієнтів віком від 61 до 80 років порівняно із когортою хворих віком від 21 до 40 років. Залежності експресії мікроРНК-199b-5p, мікроРНК-222-3p та мікроРНК-484 від віку пацієнтів не виявлено.

Показано, що характерною ознакою тиреоїдної карциноми II стадії є статистично значущо менший рівень експресії мікроРНК-15a-5p порівняно із тканиною новоутворень III стадії пухлинного процесу.

Доведено, що тканина тиреоїдної карциноми IV стадії характеризується статистично значущим збільшенням експресії мікроРНК-146b-5p порівняно зі зразками пухлин II та III стадій у 6,94 разу ($p < 0,05$) і 1,37 разу ($p < 0,005$) відповідно.

Виявлено, що в тканині РЩЗ II стадії рівень експресії мікроРНК-199b-5p був меншим порівняно із тканиною новоутворень I, III та IV стадій відповідно в 1,38 разу ($p < 0,0001$), 2,27 разу ($p < 0,0001$) і 2,16 разу ($p < 0,0001$). Показники експресії мікроРНК-199b-5p у пухлинній тканині хворих

на I стадію пухлинного процесу були в 1,65 разу ($p < 0,005$) і 1,57 разу ($p < 0,05$) нижче, ніж у тканині РЩЗ III та IV стадій відповідно.

У злоякісних новоутвореннях щитоподібної залози II стадії виявлено зниження показників експресії досліджуваної мікроРНК у 1,72 разу ($p < 0,05$), 1,66 разу ($p < 0,05$) і 2,08 разу ($p < 0,005$) порівняно із тканиною тиреоїдної карциноми I, III та IV стадій відповідно.

Зростання рівня експресії мікроРНК-222-3р у 1,22 разу ($p < 0,05$) та 2,42 разу ($p < 0,005$) зафіксовано в тканині тиреоїдної карциноми IV стадії порівняно із новоутвореннями I та II стадій відповідно. Залежності експресії мікроРНК-484 від стадії РЩЗ не виявлено.

Доведено, що характерною ознакою новоутворень щитоподібної залози із метастатичним ураженням регіонарних лімфатичних вузлів є зростання рівня експресії мікроРНК-146b-5р у 2,29 разу порівняно із пухлинами категорії N₀.

Виявлено залежність рівня експресії мікроРНК-199b-5р від статусу ураження регіонарних лімфатичних вузлів у тканині РЩЗ. Показники експресії мікроРНК-199b-5р у тканині тиреоїдної карциноми категорії N1 були в 1,67 разу ($p < 0,0005$) вище порівняно з новоутвореннями без метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів.

Показано, що експресія мікроРНК-221-5р у пухлинній тканині пацієнтів із тиреоїдною карциномою категорії N1 в 1,46 разу ($p < 0,0001$) перевищувала таку в зразках новоутворень без метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів.

Пухлинна тканина пацієнтів із тиреоїдною карциномою категорії N1 характеризувалась збільшенням у 1,41 разу ($p < 0,0001$) рівня експресії мікроРНК-222-3р порівняно зі зразками тиреоїдної карциноми категорії N₀.

Показано, що наявність метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів при РЩЗ асоціюється зі зниженням експресії мікроРНК-484 у пухлинній тканині. Показники експресії цієї мікроРНК у тканині тиреоїдної карциноми категорії N₀ у 1,14 разу ($p < 0,05$) перевищували такі в новоутвореннях категорії N1.

Установлено статистично значуще зниження показників експресії мікроРНК-146b-5р у 29,50 разу ($p < 0,001$) та 34,06 разу ($p < 0,001$) у тканині фолікулярної тиреоїдної карциноми порівняно з аналогічними показниками ПКЩЗ і високодиференційованої тиреоїдної карциноми.

Аналіз зв'язку між рівнем експресії мікроРНК-199b-5р та гістологічним типом РЩЗ виявив

зниження експресії в 1,57 разу ($p < 0,0001$) та 4,08 разу ($p < 0,0001$) у тканині фолікулярної тиреоїдної карциноми порівняно з тканиною ПКЩЗ і високодиференційованої карциноми відповідно.

У тканині ФКЩЗ показники експресії мікроРНК-221-5р були меншими порівняно з тканиною ПКЩЗ та високодиференційованої тиреоїдної карциноми в 1,79 разу ($p < 0,0001$) та 1,92 разу ($p < 0,0005$) відповідно.

Найменші рівні експресії мікроРНК-222-3р відзначено в тканині ФКЩЗ, що в 1,68 разу ($p < 0,0001$) та 2,06 разу ($p < 0,0001$) нижче порівняно з показниками в тканині ПКЩЗ і високодиференційованої тиреоїдної карциноми.

Не виявлено залежності експресії мікроРНК-15a-5р і мікроРНК-484 від гістологічного типу РЩЗ.

На наступному етапі дослідження в системі *in silico* проаналізовано залежність рівня експресії ідентифікованої панелі із 6 мікроРНК від показників виживаності хворих на злоякісні новоутворення щитоподібної залози. Статистично значущої різниці між експресією мікроРНК-15a-5р, мікроРНК-221-5р, мікроРНК-222-3р та мікроРНК-484 і показниками виживаності хворих не виявлено. Доведено, що загальна 5-річна виживаність хворих на РЩЗ є статистично значущо меншою (на 35 %, $p < 0,0001$) за наявності високого рівня експресії мікроРНК-199b-5р у пухлинній тканині. Відзначено прямий зв'язок рівня експресії мікроРНК-146b-5р від показників загальної виживаності хворих на РЩЗ ($p = 0,096$).

Результати досліджень останніх років свідчать, що мікроРНК-146b-5р є онкогенною при ПКЩЗ. Так, встановлено, що ця мікроРНК прямо регулює експресію гена *SMAD4*, пригнічуючи TGF- β -сигналінг і стимулюючи проліферацію диспластичних клітин [7]. Підтверджено, що мікроРНК-146b-5р впливає на збільшення міграції та інвазії клітин ПКЩЗ. Також її експресія зростає при активації гена *BRAF*, що вказує на зв'язок із онкогенними шляхами [8].

Клінічні дослідження підтверджують асоціацію високої експресії мікроРНК-221-5р та мікроРНК-222-3р із рецидивом РЩЗ. Показано, що рівень цих мікроРНК у крові корелює з ризиком виникнення рецидиву, що вказує на їхній потенціал як циркулюючих прогностичних маркерів цієї онкопатології [9]. Системний огляд С. А. Silaghi та співавт. також доводить, що зростання рівня експресії зазначених мікроРНК асоціюється з підвищенням ризику рецидиву [10].

У наших дослідженнях виявлено знижений рівень мікроРНК-15a-5р у пухлинах, особливо високих

стадій. Хоча дані для РЩЗ менш численні, у літературі цю мікроРНК описують як супресор пухлинного росту, що регулює білок BCL2 та цикліни [11, 12]. Отже, зниження її експресії може сприяти проліферації та запобігати апоптозу.

Нами показано, що експресія мікроРНК-199b та мікроРНК-484 була статистично значущо меншою в пухлинній тканині РЩЗ. Хоча дані щодо ПКЩЗ менше підтверджувались, у дослідженнях інших новоутворень виявлено, що вони відіграють супресорну роль, впливають на інвазію та метастазування [13, 14]. Отримані нами дані узгоджуються з цією гіпотезою та відкривають можливості для подальшого дослідження.

ВИСНОВКИ

Розвиток та прогресування новоутворень щитоподібної залози асоціюються з підвищенням експресії мікроРНК-15a-5p, мікроРНК-146b-5p, мікроРНК-221-5p та мікроРНК-222-3p на тлі суттєвого зниження рівня мікроРНК-199b-5p та мікроРНК-484 у пухлинній тканині.

Виявлено зв'язок між показниками експресії досліджуваних мікроРНК у пухлинній тканині та віком хворих на РЩЗ (hsa-miR-146b-5p та 221-5p), стадією пухлинного процесу (hsa-miR-15a-5p, 146b-5p, 221-5p, 222-3p, 199b-5p), наявністю метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів (hsa-miR-146b-5p, 199b-5p, 221-5p, 222-3p, 484) та гістологічним типом новоутворень (hsa-miR-146b-5p, 199b-5p, 221-5p, 222-3p, 484).

Доведено, що високий рівень експресії пухлиноасоційованої hsa-miR-199b-5p пов'язаний із низькими показниками (на 35 %, $p < 0,0001$) загальної 5-річної виживаності хворих на РЩЗ.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження, збір та опрацювання матеріалу, написання тексту — А. Я. Пасько, В. Д. Скрипко; редагування — В. Д. Скрипко.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

- Prete A, Borges de Souza P, Censi S, Muzza M, Nucci N, Sponziello M. Update on Fundamental Mechanisms of Thyroid Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Mar 13;11:102. doi: 10.3389/fendo.2020.00102. PMID: 32231639; PMCID: PMC7082927.
- La Vecchia C, Malvezzi M, Bosetti G, Garavito W, Bertuccio P, Levi F, Negri E. Thyroid cancer mortality and incidence: a global overview. *Int J Cancer*. 2015 May 1;136(9):2187-95. doi: 10.1002/ijc.29251. Epub 2014 Oct 13. PMID: 25284703.
- Eustatia-Rutten CF, Corssmit EP, Biermasz NR, Pereira AM, Romijn JA, Smit JW. Survival and death causes in differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jan;91(1):313-9. doi: 10.1210/jc.2005-1322.
- Mazzaferri EL, Kloos RT. Clinical review 128: Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Apr;86(4):1447-63. doi: 10.1210/jcem.86.4.7407. PMID: 11297567.
- Santiago K, Chen Wongworawat Y, Khan S. Differential MicroRNA-Signatures in Thyroid Cancer Subtypes. *J Oncol*. 2020 Jun 3;2020:2052396. doi: 10.1155/2020/2052396. PMID: 32565797; PMCID: PMC7290866.
- Ramírez-Moya J, Santisteban P. miRNA-Directed Regulation of the Main Signaling Pathways in Thyroid Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Jul 2;10:430. doi: 10.3389/fendo.2019.00430. PMID: 31312183; PMCID: PMC6614345.
- Geraldo MV, Yamashita AS, Kimura ET. MicroRNA miR-146b-5p regulates signal transduction of TGF- β by repressing SMAD4 in thyroid cancer. *Oncogene*. 2012 Apr 12;31(15):1910-22. doi: 10.1038/onc.2011.381. Epub 2011 Aug 29. PMID: 21874046.
- Cao S, Yin Y, Hu H, Hong S, He W, Lv W, Liu R, Li Y, Yu S, Xiao H. CircGLIS3 inhibits thyroid cancer invasion and metastasis through miR-146b-3p/AIF1L axis. *Cell Oncol (Dordr)*. 2023 Dec;46(6):1777-1789. doi: 10.1007/s13402-023-00845-2. Epub 2023 Aug 23. PMID: 37610691.
- Lee JC, Zhao JT, Clifton-Bligh RJ, Gill A, Gundara JS, Ip JC, Glover A, Sywak MS, Delbridge LW, Robinson BG, Sidhu SB. MicroRNA-222 and microRNA-146b are tissue and circulating biomarkers of recurrent papillary thyroid cancer. *Cancer*. 2013 Dec 15;119(24):4358-65. doi: 10.1002/cncr.28254. Epub 2013 Oct 28. PMID: 24301304.
- Silaghi CA, Lozovanu V, Silaghi H, Georgescu RD, Pop C, Dobrea A, Georgescu CE. The Prognostic Value of MicroRNAs in Thyroid Cancers-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers (Basel)*. 2020 Sep 12;12(9):2608. doi: 10.3390/cancers12092608. PMID: 32932713; PMCID: PMC7563665.
- Klein S, Abraham M, Bulvik B, Dery E, Weiss ID, Barashi N, Abramovitch R, Wald H, Harel Y, Olam D, Weiss L, Beider K, Eizenberg O, Wald O, Galun E, Pereg Y, Peled A. CXCR4 Promotes Neuroblastoma Growth and Therapeutic Resistance through miR-15a/16-1-Mediated ERK and BCL2/Cyclin D1 Pathways. *Cancer Res*. 2018 Mar 15;78(6):1471-1483. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0454. Epub 2017 Dec 19. PMID: 29259008.
- Weissman R, Diamond EL, Haroche J, Durham BH, Cohen F, Buthorn J, Amoura Z, Emile JF, Mazar RD, Shomron N, Abdel-Wahab OI, Shpilberg O, Hershkovitz-Rokah O. MicroRNA-15a-5p acts as a tumor suppressor in histiocytosis by mediating CXCL10-ERK-LIN28a-let-7 axis. *Leukemia*. 2022 Apr;36(4):1139-1149. doi: 10.1038/s41375-021-01472-2. Epub 2021 Nov 16. PMID: 34785791; PMCID: PMC8979810.
- Bai S, Xiong X, Tang B, Ji T, Li X, Qu X, Li W. hsa-miR-199b-3p Prevents the Epithelial-Mesenchymal Transition and Dysfunction of the Renal Tubule by Regulating E-cadherin through Targeting KDM6A in Diabetic Nephropathy. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Jun 27;2021:8814163. doi: 10.1155/2021/8814163. PMID: 34257820; PMCID: PMC8257373.
- Li Y, Liu Y, Yao J, Li R, Fan X. Downregulation of miR-484 is associated with poor prognosis and tumor progression of gastric cancer. *Diagn Pathol*. 2020 Mar 20;15(1):25. doi: 10.1186/s13000-020-00946-8. PMID: 32192507; PMCID: PMC7082931.

РЕЗЮМЕ

Рак щитоподібної залози є найпоширенішим ендокринним злоякісним новоутворенням із тенденцією до зростання захворюваності в усьому світі. Попри сприятливий прогноз, у частини пацієнтів рак щитоподібної залози має агресивний перебіг і схильність до рецидиву, що вказує на необхідність пошуку прогностичних маркерів.

Мета роботи — ідентифікація панелі мікроРНК для прогнозування агресивності перебігу раку щитоподібної залози.

Матеріали та методи. Дослідження проведено з використанням публічно доступної бази даних UALCAN, яка містить дані експресії мікроРНК у пухлинній та нормальній тканині щитоподібної залози. Для кожної мікроРНК порівнювали рівень експресії в нормальних тканинах і пухлинах, а також у групах пацієнтів із різними клініко-патологічними характеристиками (вік, стадія пухлини, статус ураження лімфатичних вузлів та гістологічний тип).

Результати. Установлено, що підвищені показники експресії мікроРНК-15a-5p, мікроРНК-146b-5p, мікроРНК-221-5p і мікроРНК-222-3p, а також знижені рівні мікроРНК-199b-5p та мікроРНК-484 асоціюються із ризиком розвитку злоякісних новоутворень щитоподібної залози, а також пов'язані зі ступенем злоякісності пухлини. Доведено, що зниження рівня експресії мікроРНК-199b-5p у пухлинній тканині негативно корелює з показниками виживаності хворих на тиреоїдну карциному та асоціюється зі сприятливим перебігом пухлинного процесу.

Висновки. Ідентифіковано панель мікроРНК (15a-5p, 146b-5p, 199b-5p, 221-5p, 222-3p та 484), що мають діагностичний та прогностичний потенціал і можуть бути використані в клінічній практиці для диференційної діагностики злоякісного росту в щитоподібній залозі.

Ключові слова: мікроРНК, рак щитоподібної залози.

ABSTRACT

MicroRNA as prognostic markers of thyroid carcinoma

A. Y. Pasko, V. D. Skrypko

Ivano-Frankivsk National Medical University

Thyroid cancer is the most common malignant endocrine tumor, with a rising incidence worldwide. Despite a generally favorable prognosis, a subset of patients experiences aggressive disease progression and a tendency for recurrence, highlighting the need to identify prognostic markers.

The aim — to identify candidate miRNAs that could serve as prognostic indicators of aggressive TC behavior and treatment outcomes.

Materials and methods. The analysis was conducted using the UALCAN public database, which provides expression data of miRNAs in both normal and tumor thyroid tissues. Expression levels were compared between normal and malignant samples, as well as among patient subgroups stratified by clinicopathological characteristics, including age, tumor stage, histological type, and lymph node status.

Results. Elevated expression of miR-15a-5p, miR-146b-5p, miR-221-5p, and miR-222-3p, as well as reduced levels of miR-199b-5p and miR-484, were found to be significantly associated with the presence of malignancy and tumor aggressiveness. Notably, an inverse correlation was observed between miR-199b-5p expression and patient survival rates, indicating its potential role as a favorable prognostic marker in thyroid carcinoma.

Conclusions. A panel of microRNAs (15a-5p, 146b-5p, 199b-5p, 221-5p, 222-3p, and 484) has been identified, demonstrating diagnostic and prognostic potential and may be used in clinical practice for the differential diagnosis of malignant growth in the thyroid gland.

Keywords: microRNA, thyroid cancer.

Дата надходження до редакції 27.03.2025 р.

Дата рецензування 09.04.2025 р.

Дата підписання статті до друку 02.05.2025 р.