

РОЛЬ CD20⁺ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Глебездина Н. С.¹

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН.

THE ROLE OF CD20⁺ T LYMPHOCYTES IN THE PATHOGENESIS OF MULTIPLE SCLEROSIS

Glebezdina N. S.^a

^a Perm Federal Research Center, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

Резюме

CD3⁺CD20⁺ Т-лимфоциты представляют собой популяцию клеток, которая наряду со стандартными Т-клеточными маркерами экспрессирует нетипичную мембранную молекулу CD20 (традиционный В-клеточный маркер). Эти клетки идентифицированы не так давно и в настоящий момент активно изучаются. В норме они составляют до 3–5% компартмента CD3⁺ Т-клеток в периферической крови человека, а также обнаружены в первичных и вторичных лимфоидных органах, в спинномозговой жидкости, тканях головного мозга и печени. У здоровых людей CD3⁺ CD20⁺ Т-клетки гетерогенны и содержат меньшую долю CD4⁺ клеток, но продуцируют более высокие уровни GM-CSF, IFN- γ , IL-17, TNF- α , IL-4, IL-10, молекул адгезии и хемокиновых рецепторов, чем CD3⁺ CD20⁻ Т-клетки, что указывает на высокоактивированный провоспалительный фенотип со свойствами, потенциально способствующими их патогенной инфильтрации в ЦНС. Недавними исследованиями установлено патогенное поведение CD3⁺CD20⁺ Т-клеток при широком спектре заболеваний, включая гематологические и негематологические CD20⁺ Т-клеточные злокачественные новообразования и ВИЧ, а также аутоиммунные патологии, в частности, рассеянный склероз - инвалидизирующее воспалительное нейродегенеративное заболевание, которое сопровождается поражением миелиновой оболочки нервных волокон. CD20-позитивные Т-клетки выявляются у больных рассеянным склерозом в периферической крови, спинномозговой жидкости (встречаются с частотой, сходной с частотой В-клеток, и демонстрируют корреляцию с тяжестью заболевания) и белом веществе головного мозга. Показано, что CD20-позитивные Т-лимфоциты в периферической крови пациентов с рассеянным склерозом продуцируют высокие уровни IFN- γ и IL-17A, которые являются двумя провоспалительными цитокинами, участвующими в патогенезе этого заболевания. Возможно, что CD20⁺ Т-клетки представляют собой отдельную субпопуляцию клеток Th17, так называемых Th1-поляризованных Th17, которые являются продуктом редифференцировки клеток Th17 в Th1 и сочетают фенотипические характеристики обеих популяций. И экспрессия CD20 может являться потенциальным маркером, определяющим целевую субпопуляцию таких патогенных Т-клеток, а также служить мишенью для терапии аутоиммунных заболеваний.

Ключевые слова: CD20⁺ Т-лимфоциты, Th1, Th17, Th1-поляризованные Th17, IFN- γ , IL-17A, аутоиммунные заболевания, рассеянный склероз.

Abstract

CD3⁺CD20⁺ T lymphocytes are a population of T cells that, along with standard T cell markers, express the atypical membrane molecule CD20 (a traditional B cell marker). These cells were identified not so long ago and are currently being actively studied. Normally, they constitute up to 3–5% of the CD3⁺ T cell compartment in human peripheral blood, and are also found in primary and secondary lymphoid organs, cerebrospinal fluid, brain tissue and liver. In healthy individuals, CD3⁺CD20⁺ T cells are heterogeneous and contain a lower proportion of CD4⁺ cells, but produce higher levels of GM-CSF, IFN- γ , IL-17, TNF- α , IL-4, IL-10, adhesion molecules and chemokine receptors than CD3⁺CD20⁻ T cells, indicating a highly activated proinflammatory phenotype with properties potentially promoting their pathogenic infiltration into the CNS. Recent studies have established the pathogenic behavior of CD3⁺CD20⁺ T cells in a wide range of diseases, including hematological and non-hematological CD20⁺ T cell malignancies and HIV, as well as autoimmune pathologies, in particular multiple sclerosis, a disabling inflammatory neurodegenerative disease that is accompanied by damage to the myelin sheath nerve fibers. CD20 positive T cells are detected in patients with multiple sclerosis in the peripheral blood, cerebrospinal fluid (occur at a frequency similar to that of B cells and show a correlation with disease severity) and white matter of the brain. CD20 positive T lymphocytes in the peripheral blood of patients with multiple sclerosis have been shown to produce high levels of IFN- γ and IL-17A, which are two proinflammatory cytokines involved in the pathogenesis of this disease. It is possible that CD20⁺ T cells represent a separate subpopulation of Th17 cells, the so-called Th1-polarized Th17, which are the product of redifferentiation of Th17 cells into Th1 and combine the phenotypic characteristics of both populations. And the expression of CD20 T cells may be a valuable marker that determines the target subpopulation of such pathogenic T cells, as well as serve as a target for therapy of autoimmune diseases.

Keywords: CD20⁺ T lymphocytes, Th1, Th17, Th1-polarized Th17, IFN- γ , IL-17A, autoimmune diseases, multiple sclerosis.

1 Введение

Рассеянный склероз (РС) – хроническое аутоиммунное заболевание нервной системы, при котором поражается миелиновая оболочка проводников головного и спинного мозга [12]. В развитие РС, наряду с В-клетками, вовлечены различные подтипы Т-клеток, в первую очередь – Т-хелперы 1 типа (Th1) и Т-хелперы 17 типа (Th17), продуцирующие IFN γ и IL-17 соответственно и опосредующие воспаление, повреждение нервов и возникновение иммунных инфильтратов в головном мозге [6, 7]. Уровень IL-17 в крови у пациентов с РС повышен и коррелирует с тяжестью заболевания [7]. Активно велись исследования по использованию моноклональных антител к IL-17A в лечении рецидивирующе-ремиттирующей формы РС [6]. Th17-опосредованное воспаление характеризуется рекрутированием нейтрофилов в ЦНС и гибелью нейронов [7]. Однако работы последних лет показывают, что патогенным потенциалом обладает не вся популяция Th17, а Th1-поляризованные Th17 – продукты редифференцировки клеток Th17 в Th1, появление которых обусловлено высокой пластичностью Th17-клеток [3, 7]. Благодаря такой трансформации Th1-поляризованные Th17 сочетают фенотипические характеристики обеих популяций [1, 3]. Эти клетки выявляют и у здоровых доноров, но интерес к данной популяции обусловлен, в первую очередь, присутствием (и существенным превалированием - до 60%) их в очагах воспаления при рассеянном склерозе, саркоидозе, ревматоидном артрите, воспалительном заболевании кишечника, причём доказан их вклад в развитие данных патологий [1, 11]. Роль этих клеток в патогенезе аутоиммунных заболеваний и их уникальные свойства пока изучены недостаточно. Потенциальным маркером таких популяций может служить CD20 на Т-лимфоцитах, поскольку не так давно обнаруженная популяция CD3⁺CD20⁺ Т-клеток также продуцирует высокие уровни IFN- γ и/или IL-17A [13], проявляя патогенное поведение, особенно при аутоиммунных заболеваниях, в частности при РС [8-10]. В связи с этим, *целью* настоящей работы было оценить роль субпопуляции CD20-позитивных Т-лимфоцитов при РС.

2 Материалы и методы

Поиск литературы о CD20⁺ Т-клетках, их взаимосвязи с аутоиммунными заболеваниями, в том числе с РС, проводился в базе данных PubMed с использованием соответствующих ключевых слов, без ограничения по языку и дате публикаций.

Результаты исследований и обсуждение результатов. CD3⁺CD20⁺ Т-клетки – популяция CD3⁺ Т-клеток, коэкспрессирующих маркер В-клеток CD20 [2, 9, 14]. Т-клеточное происхождение CD20-позитивных Т-клеток неоднократно было продемонстрировано с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени путем обнаружения мРНК, кодирующей CD20, в этой популяции клеток, но не в CD20⁻ Т-клетках [13, 14]. CD20-позитивные Т-лимфоциты характеризуются

отсутствием других типичных для В-клеток молекул, таких как CD19, CD40, IgD и IgM, но в то же время экспрессируют высокие уровни $\alpha\beta$ Т-клеточного рецептора, рецептора IL-7, CD28, CD27, CD49d, низкие уровни $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора, CCR7, CD38 и CD69 [4, 13-15]. Также они несут другие маркеры Т-клеток, такие как CD2, CD5, CD4 или CD8 [8, 9]. CD20⁺ Т-клетки человека могут быть как HLA-DR-положительными, так и отрицательными и могут экспрессировать либо CD45RA, либо CD45RO [8], что указывает на различную роль этих клеток. Однако преимущественно CD3⁺CD20⁺ Т-клетки обладают фенотипическими особенностями клеток памяти и могут секретировать большое количество цитотоксических гранул, таких как перфорин и гранзим, поскольку содержат больше CD8⁺ клеток (~60-70%), чем CD3⁺CD20⁻ Т-клетки [4].

У здоровых людей CD3⁺CD20⁺ Т-клетки составляют от 1 до 6% Т-клеточного компартмента в периферической крови и являются гетерогенными, поскольку содержат меньшую долю CD4⁺ клеток, но продуцируют более высокие уровни IFN- γ и/или IL-17A, чем CD3⁺CD20⁻ Т-клетки [8]. Данная субпопуляция может быть обнаружена в тимусе, костном мозге, вторичных лимфоидных органах, спинномозговой жидкости (СМЖ) даже при отсутствии воспаления, тканях головного мозга и печени [5, 13, 15].

Происхождение CD3⁺CD20⁺ Т-клеток у человека является спорным, и онтогенез этих клеток все еще устанавливается. Существуют следующие предположения по этому вопросу. Установлено, что экспрессия белка CD20 отсутствует на Т-клетках пуповинной крови человека, а появление CD3⁺CD20⁺ Т-клеток в крови на более поздних стадиях развития может быть обусловлено трогацитозом - быстрым межклеточным переносом фрагментов мембраны и связанных с ними внутри- и трансмембранных белков во время межклеточного контакта [4]. У мышей CD20⁺ Т-клетки появляются в селезенке только после 2-й недели жизни [9]. У людей Т-клетки, экспрессирующие CD20, обнаруживаются в тимусе младенцев младше 3 месяцев [13, 14]. В своих работах de Вууп с соавторами (2015), а также Ochs с соавторами (2022) показали увеличение экспрессии CD20 на Т-клетках при совместном культивировании линий Т- и В-клеток, причем для переноса CD20 в Т-клетки был необходим именно прямой контакт с В-клетками [4, 9]. *In vitro* Т-клетки могут приобретать CD20 от В-клеток в течение нескольких минут [4]. Однако неясно, почему Т-клетки селективны только в отношении CD20, а не каких-либо других поверхностных маркеров В-клеток [9]. В любом случае, вероятно, взаимодействие В-и Т-клеток приводит к презентации антигена, последующей активации Т-клеток и дифференцировке на субпопуляции клеток памяти и эффекторов [8].

Также существует мнение, что повышенная экспрессия CD20 на CD3⁺ Т-клетках может происходить из-за клональной экспансии самих CD3⁺CD20⁺ Т-клеток, в том числе при неопластических CD20⁺ Т-

клеточных злокачественных новообразованиях, которые представляют собой неопластическую трансформацию нормальной субпопуляции CD20⁺ Т-клеток, а не aberrantную экспрессию антигена [2, 9]. Показано, что при культивировании очищенных Т-клеток с митогеном и IL-2, доля CD20⁺ Т-клеток значительно увеличивалась. После стимуляции CD3⁺CD20⁺ Т-клетки продуцируют высокие уровни цитокинов (IL-17, IFN- γ и TNF- α), которые способствуют патогенезу аутоиммунных заболеваний [2].

Предполагается, что CD20 функционирует как часть комплекса, который формирует или контролирует поступление кальция в клетки. Приток внеклеточного Ca²⁺ в Т-клетки обеспечивает запуск кальций-зависимых процессов, таких как активация клеток, пролиферация, апоптоз и NFAT/NF κ B-индуцированная продукция цитокинов – IFN γ и TNF α . Именно этот иммунологический профиль CD20⁺ Т-клеток (увеличение притока Ca²⁺, повышенная восприимчивость к апоптозу за счет более высокой экспрессии CD95 (Fas/APO-1), увеличение продукции IFN γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, CCL2, TGF- β и TNF α по сравнению с CD20⁻ Т-клетками) определяет центральную роль CD20⁺ Т-клеток в воспалении тканей [4, 13-15]. О чем и свидетельствуют многие исследования, выявившие патогенное поведение CD3⁺CD20⁺ Т-клеток при широком спектре заболеваний, включая гематологические и негематологические злокачественные новообразования и ВИЧ, а также аутоиммунные патологии [2, 4, 8, 15].

Особенно отчетливый провоспалительный фенотип с патогенными свойствами CD20⁺ Т-клеток проявляется у пациентов с рассеянным склерозом [10]. Исследования выявляют наличие этих клеток в периферической крови (особенно у пациентов с первично-прогрессирующим РС и ремиттирующим РС), СМЖ (встречаются с частотой, сходной с частотой В-клеток) и белом веществе головного мозга больных РС [14]. CD20⁺ Т-клетки демонстрируют большую миграцию в СМЖ, чем CD20⁻ Т-клетки, где их количество коррелирует с тяжестью заболевания [5]. В периферической крови больных РС отмечается повышенное процентное содержание как CD4⁺, так и CD8⁺CD20⁺ Т-клеток (примерно 5–15%), продуцирующих высокие уровни IFN- γ и IL-17, проявляя сходную цитокиновую характеристику с лимфоцитами Th1/Th17, и способствующих тем самым невропатологии, по сравнению со здоровыми донорами [13, 14]. Также значительно более высокая доля CD20⁺ Т-клеток в периферической крови демонстрировала экспрессию хемокиновых рецепторов и молекул адгезии, таких как CCR2, CCR6, CXCR3, CXCR6, CCR5 [5]. Разнообразие цитокинов указывает на большой воспалительный и иммуномодулирующий функционал этих клеток [8].

CD8⁺CD20⁺ Т-клетки отличаются от CD4⁺CD20⁺ Т-клеток более высокой долей пролиферирующих клеток, меньшим процентом клеток, склонных к апоптозу, большей долей клеток, продуцирующих IFN γ , а также разницей в экспрессии хемокиновых рецепторов [14]. CD4⁺CD20⁺ же Т-клетки

демонстрируют большую продукцию IL-17 [10]. Однако функциональные различия между этими двумя популяциями клеток детально не исследованы. Кроме того, неясно, программируются ли IL-17-секретирующие CD20⁺ Т-клетки классическим фактором транскрипции Th17-клеток – RORC [10]. Лишь около четверти Т-клеток, секретирующих IL-17, экспрессируют CD20, что делает их субпопуляцией, которая, вероятно, перекрывается с классическими клетками Th17. Каким образом эти CD20⁺ IL-17⁺ клетки фенотипически и функционально отличаются от CD20⁺ IL-17⁻ секретирующих Т-клеток, неясно, и пока нет опубликованных исследований, способных ответить на этот вопрос. Возможно, CD3⁺CD20⁺ Т-клетки представляют собой продукт трансформации популяции Th17. Речь может идти о Th1-поляризованных Th17 – результате редифференцировки клеток Th17 в Th1, появление которых обусловлено высокой пластичностью и гетерогенностью Th17-клеток [1, 3]. Th1-поляризованные Th17 сочетают фенотипические характеристики обеих популяций, обладают высоким провоспалительным потенциалом, а также уникальной способностью преодолевать гистогематические барьеры [1, 3]. Допустимо предположить, что маркером таких популяций и может служить CD20 на Т-лимфоцитах, поскольку CD3⁺CD20⁺ Т-клетки также продуцируют высокие уровни IFN-γ и/или IL-17A [13]. Тем более что CD20 является мишенью для истощения не только CD20-положительных В-лимфоцитов, но и CD20⁺Т-клеток [5, 10].

Таким образом, CD20⁺ Т-клетки представляют собой небольшую высокоактивированную субпопуляцию со значительно усиленной продукцией цитокинов даже в состоянии покоя, демонстрируют богатое разнообразие хемокиновых рецепторов, помогающих CD20⁺ Т-клеткам достигать органы-мишени, и играют значительную роль в провоспалительных процессах [5]. Дальнейшая характеристика поверхностных и функциональных маркеров субпопуляции CD3⁺CD20⁺ Т-клеток может быть полезной для разработки новых терапевтических стратегий, главным образом для пациентов с прогрессирующим рассеянным склерозом, а также для оценки патофизиологических эффектов высокоэффективной анти-CD20-терапии.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 124020500027-7.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Наталья Сергеевна Глебездина – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук;
телефон: 8(342) 280-84-31;
факс: 8(342) 280-92-11;
e-mail: glebezdina_n@mail.ru

Natalia Sergeevna Glebezdina – candidate of biology, junior researcher of laboratory of immunoregulation, Perm Federal Research Center, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences;
telephone: 8(342) 280-84-31;
fax: 8(342) 280-92-11;
e-mail: glebezdina_n@mail.ru

Блок 2. Метаданные статьи

РОЛЬ CD20⁺ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

THE ROLE OF CD20⁺ T LYMPHOCYTES IN THE PATHOGENESIS OF MULTIPLE SCLEROSIS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

CD20⁺ Т-КЛЕТКИ ПРИ РС
CD20⁺ T CELLS IN MS

Ключевые слова: CD20⁺ Т-лимфоциты, Th1, Th17, Th1-поляризованные Th17, IFN-γ, IL-17A, аутоиммунные заболевания, рассеянный склероз.

Keywords: CD20⁺ T lymphocytes, Th1, Th17, Th1-polarized Th17, IFN-γ, IL-17A, autoimmune diseases, multiple sclerosis.

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 4,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 0.

28.03.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки и	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Куклина Е.М., Глебездина Н.С. Маркеры Th1-поляризованных клеток Th17 (обзор литературы) // Acta biomedica scientifica. – 2023. – Т. 8, № 3. – С. 55-62.	Kuklina E.M., Glebezdina N.S. Markers of Th1 polarized Th17 cells (literature review). Acta biomedica scientifica, 2023, Vol. 8, no. 3, pp. 55-62.	https://doi.org/10.29413/ABS.2023-8.3.5
2	Chen Q., Yuan S., Sun H., Peng L. CD3(+)CD20(+) T cells and their roles in human diseases. Hum. Immunol., 2019, Vol. 80, no. 3, pp. 191-194.	-	https://doi.org/10.1016/j.humimm.2019.01.001
3	Cosmi L., Liotta F., Maggi E., Romagnani S., Annunziato F. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. Allergy, 2011, Vol. 66, no. 8, pp. 989-998.	-	https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02576.x
4	de Bruyn M., Wiersma V.R., Wouters M.C.A., Samplonius D.F., Klip H.G., Helfrich W., Nijman H.W., Eggleton P., Bremer E. CD20 ⁺ T cells have a predominantly Tc1 effector memory phenotype and are expanded in the ascites of patients with ovarian	-	https://doi.org/10.1080/2162402X.2014.999536

	cancer. Oncoimmunology, 2015, Vol. 4, no. 4, e999536.		
5	Gingele S., Skripuletz T., Jacobs R. Role of CD20 ⁺ T cells in multiple sclerosis: implications for treatment with ocrelizumab. Neural. Regen. Res., 2020, Vol. 15, no. 4, pp. 663-664.	-	https://doi.org/10.4103/1673-5374.266913
6	Havrdova E., Belova A., Goloborodko A., Tisserant A., Wright A., Wallstroem E., Garren H., Maguire R.P., Johns D.R. Activity of secukinumab, an anti-IL-17A antibody, on brain lesions in RRMS: results from a randomized, proof-of-concept study. J. Neurol., 2016, Vol. 263, no. 7, pp. 1287-1295.	-	https://doi.org/10.1007/s00415-016-8128-x
7	Jadidi-Niaragh F., Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis. Scand. J. Immunol., 2011, Vol. 74, no. 1, pp. 1-13.	-	https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02536.x
8	Lee A.Y.S. CD20 ⁺ T cells: an emerging T cell subset in human pathology. Inflamm. Res. 2022, Vol. 71, no. 10-11, pp. 1181-1189.	-	https://doi.org/10.1007/s00011-022-01622-x
9	Ochs J., Nissimov N., Torke S., Freier M., Grondey K., Koch J., Klein M., Feldmann L., Gudd C., Bopp T., Häusser-Kinzel S., Weber M.S. Proinflammatory	-	https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abi4632

	CD20 ⁺ T cells contribute to CNS-directed autoimmunity. <i>Sci. Transl. Med.</i> , 2022, Vol. 14, no. 638, eabi4632.		
10	Quendt C., Ochs J., Häusser-Kinzel S., Häusler D., Weber M.S. Proinflammatory CD20(+) T cells are differentially affected by multiple sclerosis therapeutics. <i>Ann. Neurol.</i> 2021, Vol. 90, no. 5, pp. 834-839.	-	https://doi.org/10.1002/ana.26216
11	Ramstein J., Broos C.E., Simpson L.J., Ansel K.M., Sun S.A., Ho M.E., Woodruff P.G., Bhakta N.R., Christian L., Nguyen C.P., Antalek B.J., Benn B.S., Hendriks R.W., van den Blink B., Kool M., Koth L.L. IFN- γ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells. <i>Am. J. Respir. Crit. Care Med.</i> , 2016, Vol. 193, no. 11, pp. 1281-1291.	-	https://doi.org/10.1164/rccm.201507-1499OC
12	Reich D.S., Lucchinetti C.F., Calabresi P.A. Multiple Sclerosis. <i>N. Engl. J. Med.</i> , 2018, Vol. 378, no. 2, pp. 169-180.	-	https://doi.org/10.1056/NEJMra1401483 .
13	Schuh E., Berer K., Mulazzani M., Feil K., Meinl I., Lahm H., Krane M., Lange R., Pfannes K., Subklewe M., Gürkov R., Bradl M., Hohlfeld R., Kümpfel T., Meinl E., Krumbholz M. Features of	-	https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600089

	human CD3 ⁺ CD20 ⁺ T cells. J. Immunol., 2016, Vol. 197, no. 4, pp. 1111-1117.		
14	von Essen M.R., Ammitzboll C., Hansen R.H., Petersen E.R.S., McWilliam O., Marquart H.V., Damm P., Sellebjerg F. Proinflammatory CD20 ⁺ T cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. Brain, 2019, Vol. 142, no. 1, pp.120-132.	-	https://doi.org/10.1093/brain/awy301
15	Wilk E., Witte T., Marquardt N., Horvath T., Kalippke K., Scholz K., Wilke N., Schmidt R.E., Jacobs R. Depletion of functionally active CD20 ⁺ T cells by rituximab treatment. Arthritis Rheum., 2009, Vol. 60, no. 12, pp. 3563-3571.	-	https://doi.org/10.1002/art.24998