

ЯК/STAT-СИГНАЛИНГ: НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ В ДИАГНОСТИКЕ ОЖИРЕНИЯ

Кулакова А.С.

ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия
Медицинский центр «Мой доктор», г. Брянск, Россия

Резюме. Проблема ожирения во всем мире не имеет тенденций к разрешению на протяжении последних десятилетий. Доказано, что ожирение является одним из важных патогенетических факторов метаболических нарушений в организме, приводит к развитию различной патологии. Несмотря на многочисленные исследования, результаты которых уточняют аспекты патогенеза ожирения и связанных с ним изменений в метаболизме, остается много вопросов. Целью настоящего исследования являлось изучение компонентов сигнальной системы JAK/STAT — белков STAT1, STAT3, SOCS1, SOCS3, а также уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови лиц, страдающих ожирением. Было обследовано 210 пациентов, распределенных на группы: I — лица с нормальной массой тела; II — пациенты с избыточной массой тела; III — пациенты с метаболически здоровым ожирением (МЗО), IV — пациенты с метаболически нездоровым ожирением (МНЗО). В работе был применен комплекс иммунологических и общеклинических методов исследования. По результатам исследования у пациентов, страдающих ожирением, выявлены достоверно значимые изменения значений компонентов JAK/STAT-сигнальной системы и уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови. У пациентов с ожирением обнаружено повышение уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови, а также статистически значимая корреляция IL-6 с показателями липидного профиля, белками STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3. Уровни STAT1 и STAT3 были снижены у лиц с ожирением в отличие от лиц с нормальной и избыточной массой тела. Также наблюдался дисбаланс протеинов SOCS1 и SOCS3 у лиц с различными фенотипами ожирения. Установлены достоверно значимые корреляционные связи сывороточных уровней IL-6, STAT1, STAT3, SOCS1 и SOCS3 с показателями липидного обмена у пациентов с МЗО и МНЗО. Результаты проведенных исследований согласуются с имеющимися данными литературы об изменении экспрессии белков STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3 у пациентов с ожирением, важном значении белков SOCS1, SOCS3 в осуществлении регуляции экспрессии STAT по принципу отрицательной обратной связи, участии цитокина IL-6 в активации сигнальной системы JAK/STAT и поддержании метавоспаления у лиц, страдающих ожирением. Таким образом, изучение показателей JAK/STAT-сигналинга может являться перспективным направлением в диагностике и поиске новых стратегий в борьбе с ожирением.

Ключевые слова: ожирение, JAK/STAT-сигнальная система, IL-6, STAT, SOCS, метаболизм

Адрес для переписки:

Кулакова Анастасия Сергеевна
Медицинский центр «Мой доктор»
241019, Россия, г. Брянск, ул. Красноармейская, 100.
Тел.: 8 (980) 310-12-33.
E-mail: Kulakovaas@mail.ru

Address for correspondence:

Anastasiia S. Kulakova
Medical Center "My Doctor"
100 Krasnoarmeyskaya St
Bryansk
241019 Russian Federation
Phone: +7 (980) 310-12-33.
E-mail: Kulakovaas@mail.ru

Образец цитирования:

А.С. Кулакова «ЯК/STAT-сигналинг: новые перспективы в диагностике ожирения» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 993-998.
doi: 10.46235/1028-7221-17089-JSS

© Кулакова А.С., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.S. Kulakova "JAK/STAT signaling: Novel perspectives in the obesity diagnostics", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 993-998.
doi: 10.46235/1028-7221-17089-JSS

© Kulakova A.S., 2025

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17089-JSS

JAK/STAT SIGNALING: NOVEL PROSPECTIVES IN THE OBESITY DIAGNOSTICS

Kulakova A.S.

I. Turgenev State University of Orel, Orel, Russian Federation
Medical Center "My Doctor", Bryansk, Russian Federation

Abstract. The problem of obesity seemed to be nonresolved over the past decades. Obesity has been proven to be an important pathogenetic factor of metabolic disorders in humans, leading to the development of various disorders. Many questions remain open, despite numerous studies, clarifying the aspects of obesity pathogenesis and associated changes in metabolism. The aim of this study was to consider the components of JAK / STAT signaling system: proteins STAT1, STAT3, SOCS1, SOCS3, as well as the level of cytokine IL-6 in blood serum of obese individuals. 210 patients were examined, being divided into groups: I – individuals with normal body weight; II – patients with overweight; III – patients with metabolically healthy obesity, IV – patients with metabolically unhealthy obesity. A set of immunological and general clinical research methods was used in the work. The study revealed significantly altered values of JAK/STAT signaling system components and IL-6 cytokine levels in blood serum of obese patients. Increased serum IL-6 levels were found in obese subjects as well as statistically significant correlation between IL-6 and lipid profile parameters, STAT1, STAT3, and SOCS1, SOCS3 proteins. The STAT1 and STAT3 levels were decreased in obese individuals in contrast to the persons with normal and overweight body weight. An imbalance of SOCS1 and SOCS3 proteins was also observed in individuals with different obesity phenotypes. Significant correlations were revealed between serum IL-6, STAT1, STAT3, SOCS1, and SOCS3 levels, as well as lipid metabolism parameters in patients with metabolic healthy and metabolic unhealthy obesity. The results of these studies are consistent with available literature data on changed expression of STAT1, STAT3 and SOCS1, SOCS3 proteins in obese patients, as well as importance of SOCS1, SOCS3 proteins in STAT expression levels by the negative feedback relations. One may also suggest participation of IL-6 cytokine in activation of JAK/STAT signaling system and maintenance of meta-inflammation in obese individuals. Thus, the study of JAK/STAT signaling indices may be a promising area in diagnostics and search for new strategies in obesity management.

Keywords: obesity, JAK/STAT signaling pathway, IL-6, STAT, SOCS, metabolism

Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» (номер государственного учета научно-исследовательской работы 123062000038-9) в рамках государственного задания № 075-00196-24-02 на 2024 год и на плановый период 2025 и 2026 годов от 01.04.2024 г., проект № FSGN-2024-0007 (1023110800218-7-3.2.4;3.1.3;2.6.1).

Введение

Проблема ожирения во всем мире не имеет тенденций к разрешению на протяжении последних десятилетий. Несмотря на многочисленные исследования, результаты которых уточняют аспекты патогенеза ожирения и связанных с ним изменений в метаболизме, остается много вопросов.

Доказано, что ожирение является одним из важных патогенетических факторов метаболических нарушений в организме, приводит к развитию различной патологии, в первую очередь сердечно-сосудистой системы, а также эндокринной, гепатобилиарной, участвует в развитии психических нарушений и некоторых видов рака, поэтому актуальность изучения данной проблемы трудно переоценить [3, 5, 6, 7].

В то же время известно, что не все пациенты, страдающие ожирением, метаболически нездоровы. Это обусловило выделение нескольких фенотипов, наиболее репрезентативными являются метаболически здоровое ожирение (МЗО), для которого характерно отсутствие или минимальное количество кардиометаболических нарушений, и метаболически нездоровое ожирение (МНЗО), при котором присутствуют кардиометаболические нарушения. Несмотря на большое

количество работ, посвященных фенотипам ожирения [1, 4, 12], на сегодняшний день нет единых критериев для идентификации лиц с МЗО, а также утвержденной классификации фенотипов.

Работами последних лет [7, 10] доказано, что в патогенезе ожирения важную роль играет метавоспаление — слабодифференцированное хроническое воспаление низкой степени с метаболической дисфункцией, которое наблюдается во всех тканях, участвующих в энергетическом гомеостазе и характеризуется рекрутированием иммунных воспалительных клеток, аномальной выработкой цитокинов и реагентов острой фазы.

В последние десятилетия активно изучается роль сигнальных систем в иммунопатогенезе различных состояний, в том числе при ожирении [2, 9]. Доказано, что сигнальная система JAK/STAT (Janus kinase/signal transduction, сигнальные преобразователи и активаторы сигнальных путей транскрипции) активно участвует в патогенезе заболеваний, связанных с воспалением, а также имеет решающее значение для поддержания процессов гомеостаза в организме. Многие цитокины, участвующие в патогенезе аутоиммунных и воспалительных заболеваний, используют JAK и STAT для трансдукции внутриклеточных сигналов [11].

Известно, что STAT1 играет важную роль при различных патологических процессах, связанных с инсулинорезистентностью, развитием хронического субклинического воспаления, преимущественно за счет перепрограммирования макрофагов в сторону фенотипа M1 и активации их цитотоксической и провоспалительной функции. Также STAT1 может как способствовать липолизу в зрелых адипоцитах, так и индуцировать пролиферацию преадипоцитов и адипогенез [12].

Наиболее изученным белком системы JAK/STAT является STAT3. Гипертрофированные при ожирении адипоциты активируют выработку различных гормонов и медиаторов, в первую очередь, лептина и IL-6, которые активируют STAT3 и инициируют его клеточный сигнальный путь. В периферических органах IL-6-индуцированный JAK-STAT3 влияет на функции инсулина [9].

Сигнальный путь JAK/STAT транскрипционно регулирует свой собственный супрессор. Супрессоры цитокиновых сигнальных молекул (SOCS) действуют как сигнал отрицательной обратной связи, ингибируя активацию JAK, STAT и фосфорилирование [11, 14].

Белая жировая ткань является основным органом для высвобождения IL-6 в кровообращение. Усиленная передача сигналов IL-6 при ожирении способствует повышению уровня белков SOCS1 и SOCS3 в трех основных чувствительных к инсулину периферических тканях: белой жировой тка-

ни, печени и мышцах. Сверхэкспрессия SOCS1 и SOCS3 приводит к развитию инсулинорезистентности. Также обнаружено, что SOCS1 подавляет активацию STAT1 и STAT3 и снижает экспрессию STAT1- и STAT3-зависимых генов [13].

Несмотря на активное изучение экспрессии протеинов STAT и SOCS в различных органах и тканях [4, 11, 12], практически нет работ по определению уровней этих важных компонентов сигнальной системы в сыворотке крови людей, страдающих избыточной массой тела и ожирением, что обусловило наш интерес к изучению данной темы.

Материалы и методы

В исследование было включено 210 пациентов в возрасте от 19 до 65 лет. Обследуемые разделены на 4 группы: I — лица с нормальной массой тела (ИМТ менее 25) (n = 45); II — пациенты с избыточной массой тела (ИМТ 25-29,9) (n = 77); III — пациенты с МЗО (ИМТ 30 и выше, не более одного кардиометаболического нарушения по результатам лабораторного, инструментального обследования и данным анамнеза) (n = 56); IV — пациенты с МНЗО (ИМТ 30 и выше, наличие двух и более показателей кардиометаболических нарушений по результатам обследования) (n = 32).

Каждый пациент подписал добровольное информированное согласие на участие в исследовании. В работе использовался комплекс общеклинических и иммунологических методов, включающий оценку антропометрических данных: рост, вес, ИМТ, ОТ/ОБ, общеклинических и биохимических показателей периферической крови. Клинические лабораторные исследования выполнялись на гематологических анализаторах SYSMEX (SYSMEX Corporation, Япония).

Иммунологические исследования проводились в лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой кардиоиммунологии ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева». В соответствии с задачами исследования у всех больных в сыворотке крови определяли уровень белков STAT1, STAT3, SOCS1, SOCS3, цитокина IL-6. Для определения в сыворотке крови методом ИФА концентрации белков STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3 применяли тест-систему производства Cusabio Biotech Co., Ltd (США). Для определения цитокина IL-6 использовался метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на фотометре STAT FAX 2100 с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест» (Россия). Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. В исследовании проводили анализ с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни,

так как распределение изучаемых показателей отличалось от нормального. Для сравнения концентрации белков в сыворотке крови пациентов с избыточной массой тела и ожирением с уровнем белков в сыворотке крови лиц с нормальной массой тела использовали медиану, первый и третий квартили — $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$. По методике Спирмена, с помощью коэффициента корреляции рангов, рассчитывали взаимосвязь между количественными признаками. Статистически значимыми считали различия между показателями при $p < 0,05$ (контрольная группа).

Критерии не включения в исследование: лица до 18 и старше 65 лет; наличие сопутствующих заболеваний в стадии обострения и/или декомпенсации, острых респираторных инфекций, беременности, сепсиса, наличие онкологических и инфекционных заболеваний, сахарного диабета, отказ от проводимого исследования.

Результаты и обсуждение

Исследования последних лет позволили расширить представление о роли IL-6 как ключевом медиаторе воспаления при адипогенезе, в основном через активацию JAK/STAT-сигнального каскада [11].

Вместе с тем требуют изучения особенности IL-6/STAT-транссигнализации в аспекте субклинического воспаления при различных фенотипах ожирения.

По результатам наших исследований, уровень IL-6 в сыворотке крови у пациентов с избыточной массой тела находился в пределах общепринятых референсных значений (0-7 пг/мл) и составил 4,30 (3,80-4,80) пг/мл, что, однако, в 1,2 раза выше, чем у лиц группы ЗД, $p = 0,022$. У пациентов с МЗО концентрация IL-6 составляла 6,15 (5,55-7,40) пг/мл, с МНЗО — 6,90 (6,60-7,83) пг/мл, $p < 0,001$, почти в 2 раза превышая значения, полученные у здоровых лиц 3,74 (3,54-3,94) пг/мл, что, по-видимому, подтверждает наличие низкоуровневого хронического воспаления у лиц, страдающих ожирением, и согласуется с данными литературы [9, 10].

У пациентов с метаболически здоровым и нездоровым ожирением наблюдалась статистически значимая корреляция IL-6 с показателями липидного профиля, а также с белками STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3.

Известно, что белки STAT необходимы для энергетического гомеостаза организма человека, а нарушение их регуляции способствует развитию ожирения и диабета [11, 12, 13], однако их сывороточный уровень у лиц с различными фенотипами ожирения малоизучен.

В результате проведенного нами исследования получены данные об уровнях сывороточ-

ного STAT1, который составил у пациентов с избыточной массой тела 0,55 (0,41-0,73) нг/мл, с МЗО 0,40 (0,3-0,55) нг/мл, с МНЗО 0,27 (0,21-0,36) нг/мл, это ниже, чем у здоровых лиц 0,63 (0,44-1,15) нг/мл, ($p < 0,001$), что может быть связано с чрезмерной востребованностью и расходом данного протеина для осуществления патофизиологических процессов при ожирении.

Как известно, в отличие от STAT1, оказывающего преимущественно воспалительное действие, STAT3 обладает двойственными эффектами (как про-, так и противовоспалительными) и приводит к поляризации как M1-, так и M2-макрофагов [12, 13].

Согласно проведенному нами анализу, уровень белка STAT3 у пациентов с избыточной массой тела 0,65 (0,35-0,77) нг/мл, $p > 0,05$, у лиц с МЗО 0,39 (0,21-0,64) нг/мл, $p = 0,015$, с МНЗО 0,27 (0,15-0,63) нг/мл, $p < 0,001$, что ниже, чем у здоровых лиц 0,59 (0,28-1,37) нг/мл.

Таким образом, уровни STAT1 и STAT3 были снижены у лиц с ожирением в отличие от лиц с нормальной и избыточной массой тела, что подтверждает их активное участие в дисметаболических процессах, происходящих при ожирении.

Корреляционный анализ показал наличие статистически значимой корреляции уровня белков STAT с показателями липидного спектра у лиц с МЗО и МНЗО, что может свидетельствовать об участии активированных STAT в регуляции липидного обмена [9].

Учитывая важную роль белков SOCS в сигнальной системе JAK/STAT в качестве регуляторов обратной связи, представляло интерес исследование их уровня в сыворотке крови в процессе нарастания массы тела у исследуемых групп.

В результате проведенных нами исследований установлено, что уровень белка SOCS1 у пациентов с избыточной массой тела составил 0,15 (0,09-1,02) нг/мл, с МЗО 0,35 (0,14-0,86) нг/мл, с МНЗО 0,16 (0,11-0,44) нг/мл, что выше, чем у здоровых лиц — 0,11 (0,08-1,51), $p > 0,05$. Более низкие значения SOCS1 у пациентов с МНЗО по сравнению с МЗО возможно объясняются расходом SOCS1 на подавление активации STAT1 и STAT3, что согласуется с данными литературы [9, 11, 12].

Известно, что SOCS3 ингибирует сигнальные пути, активируемые, как различными цитокинами (IL-6, IFN γ и др.), так и гуморальными медиаторами, что приводит к ингибированию активации STAT3, и делает SOCS3 важным фактором в контроле воспаления и поддержании гомеостаза [12].

Уровень SOCS3 в сыворотке крови у пациентов группы II — 1,25 (0,18-1,83) нг/мл, $p > 0,05$, группы III — 0,96 (0,33-2,94) нг/мл, $p > 0,05$, что

выше, чем у здоровых лиц 0,97 (0,55-1,25) нг/мл, $p < 0,001$. Однако у пациентов группы IV (0,55 (0,2-0,97) нг/мл) наблюдалось снижение уровня белка SOCS3 по сравнению с 3Д в 1,8 раза и в 1,8 раза по сравнению с лицами с МЗО, $p < 0,05$, что, вероятно, связано с ослаблением торможения сигнальных путей и может приводить к неконтролируемой активации продукции провоспалительных медиаторов, способствуя развитию и поддержанию хронического низкоуровневого воспаления, что согласуется с данными литературы [12].

У пациентов с ожирением наблюдалась заметная корреляционная связь между SOCS1, SOCS3 и показателями липидного профиля, что может свидетельствовать об участии белков SOCS1, SOCS3 в регуляции липидного обмена при ожирении. Заслуживает внимания отрицательная корреляция между сывороточным уровнем белков SOCS1, SOCS3 и STAT1, STAT3 у метаболически здоровых и нездоровых пациентов, что подтверждает наличие негативного регуляторного контроля протеинов STAT SOCS-белками.

Результаты проведенных исследований согласуются с имеющимися данными литературы об изменении экспрессии белков STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3 у пациентов с ожирением, важном значении белков SOCS1, SOCS3 в осуществлении регуляции экспрессии STAT по принципу отрицательной обратной связи, активном уча-

стии цитокина IL-6 в активации сигнальной системы JAK/STAT и поддержании низкоуровневого хронического воспаления у лиц, страдающих ожирением.

Выводы

У пациентов, страдающих ожирением, выявлены достоверно значимые изменения значений компонентов JAK/STAT-сигнальной системы и уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови. Развитие метаболически здорового и нездорового ожирения сопровождается нарушением продукции белков STAT и SOCS, уровень которых зависит от фенотипа ожирения. Установлены достоверно значимые корреляционные связи сывороточных уровней IL-6, STAT1, STAT3, SOCS1 и SOCS3 с показателями липидного обмена (уровнем холестерина, триглицеридов, ЛПНП, ЛПНОП, ЛПВП, коэффициентом атерогенности) у пациентов с МЗО и МНЗО.

Таким образом, патогенез ожирения представляет собой многогранный процесс, в котором задействованы различные иммунопатологические механизмы, включая основные сигнальные системы, где одну из ведущих ролей играет JAK/STAT-сигналинг, особенности функционирования компонентов которого требуют дальнейшего изучения и являются перспективным направлением в диагностике и поиске новых стратегий в борьбе с ожирением.

Список литературы / References

1. Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Поркшеян М.И. Метаболически здоровое ожирение, что мы о нем знаем? Медицинский вестник Юга России, 2017. Т. 8, № 3. С. 6-16. [Volkova N.I., Ganenko L.A., Porksheyen M.I. Metabolically healthy obesity, what do we know about it? *Meditinskiy vestnik Yuga Rossii = Medical Bulletin of the South of Russia*, 2017, Vol. 8, no. 3, pp. 6-16. (In Russ.)]
2. Кулакова А.С., Снимщикова И.А., Плотникова М.О. Особенности состояния STAT-сигнальной системы у пациентов с ожирением // Медицинский вестник Башкортостана, 2020. Т. 15, № 2. С. 22-25. [Kulakova A.S., Snimshchikova I.A., Plotnikova M.O. Features of the state of the STAT-signaling system in obese patients. *Meditinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Bulletin of Bashkortostan*, 2020, Vol. 15, no. 2, pp. 22-25. (In Russ.)]
3. Abiri B., Hosseinpanah F., Banihashem S., Madinehzad S., Valizadeh M. Mental health and quality of life in different obesity phenotypes: a systematic review. *Health Qual. Life Outcomes*, 2022, Vol. 20, no. 1, 63. doi: 10.1186/s12955-022-01974-2.
4. Grohmann M., Wiede F., Dodd G., Gurzov E.N., Ooi G.J., Butt T., Rasmiena A.A., Kaur S., Gulati T., Goh P.K., Treloar A.E., Archer S., Brown W.A., Muller M., Watt M.J., Ohara O., McLean C.A., Tiganis T. Obesity Drives STAT-1-Dependent NASH and STAT-3-Dependent HCC. *Cell*, 2018, Vol. 175, no. 5, pp. 1289-1306.e20.
5. Lopez-Jimenez F., Almahmeed W., Bays H., Cuevas A., Di Angelantonio E., le Roux C.W., Sattar N., Sun M.C., Wittert G., Pinto F.J., Wilding J.P.H. Obesity and cardiovascular disease: mechanistic insights and management strategies. A joint position paper by the World Heart Federation and World Obesity Federation. *Eur. J. Prev. Cardiol.*, 2022, Vol. 29, no. 17, pp. 2218-2237.
6. Richard A., Stephens J. The role of JAK-STAT signaling in adipose tissue function. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, Vol. 1842, no. 3, pp. 431-439.
7. Russo S., Kwiatkowski M., Govorukhina N., Bischoff R., Melgert B. Meta-Inflammation and Metabolic Reprogramming of Macrophages in Diabetes and Obesity: The Importance of Metabolites. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 746151. doi: 10.3389/fimmu.2021.746151.

8. Wunderlich C., Hövelmeyer N., Wunderlich F. Mechanisms of chronic JAK-STAT3-SOCS3 signaling in obesity. *JAKSTAT*, 2013, Vol. 2, no. 2, e23878. doi: 10.4161/jkst.23878.
9. Xu D., Yin C., Wang S., Xiao Y. JAK-STAT in lipid metabolism of adipocytes. *JAKSTAT*, 2013, Vol. 2, no. 4, e27203. doi: 10.4161/jkst.27203.
10. Yang M., Tian M., Zhang X., Xu J., Yang B., Yu J., Li F., Li Y., Li S., Li X. Role of the JAK2/STAT3 signaling pathway in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus with macrovascular complications. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, no. 57, pp. 96958-96969.

Автор:

Кулакова А.С. — научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой кардиоиммунологии ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел; врач-гастроэнтеролог, терапевт, диетолог, Медицинский центр «Мой доктор», г. Брянск, Россия

Author:

Kulakova A.S., Researcher, Laboratory of Molecular, Translational and Digital Cardioimmunology, I. Turgenev State University of Orel, Orel; Gastroenterologist, Therapist, Nutritionist, Medical Center "My Doctor", Bryansk, Russian Federation

Поступила 14.01.2025

Отправлена на доработку 30.01.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 14.01.2025

Revision received 30.01.2025

Accepted 22.06.2025