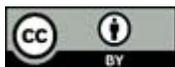


ПАЗАРИТОЛОГИЯ



Научная статья

УДК 619:576.89

<https://doi.org/10.23947/1682-5616-2023-22-38-45>

Развитие ооцитов иксодового клеща рода *Dermacentor*

Д. А. Проскурин , О. В. Дилекова  

Ставропольский государственный аграрный университет, Российская Федерация,
г. Ставрополь

 dilekova2009@yandex.ru

Аннотация

Введение. Иксодовые клещи имеют широкое распространение и являются переносчиками многих инфекционных и инвазионных заболеваний. К трансмиссивным клещевым заболеваниям относятся боррелиоз, вирусный энцефалит, анаплазмоз, эрлихиоз и бабезиоз, которые могут быть опасны как для человека, так и для животных. Кроме того, иксодовые клещи имеют высокую плодовитость. Самка данного эктопаразита способна отложить до 20 тысяч яиц одновременно. Поэтому целью данного исследования стало изучение процесса развития эктопаразитов, а именно динамика процесса созревания ооцитов иксодовых клещей рода *Dermacentor*.

Материалы и методы. Объектом исследования служили иксодовые клещи рода *Dermacentor*. Исследования проводились на базе кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, анатомии и патанатомии им. проф. С. Н. Никольского и на базе научно-диагностического и лечебного ветеринарного центра ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», а также на базе ветеринарных клиник ИП Заиченко «Ветеринарный центр им. Пирогова». Материалом для исследования послужила репродуктивная система самок. Самки подвергались проводке и заливке по стандартной гистологической технике, после чего делали срезы толщиной 5–7 мкм. Для рутинного исследования гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори. Микроскопическое исследование гистологических срезов самок клеща проводилось при помощи микроскопа Olympus BX53 (Япония) при увеличении $\times 4$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$.

Результаты исследования. Макроскопическое исследование самок иксодового клеща рода *Dermacentor* показало, что яичник представляет собой непарный орган подковообразной формы, на котором прикреплены ооциты. Отмечается, что ооциты развиваются асинхронно. Незрелые ооциты преобладали преимущественно в дистальной части яичника, тогда как зрелые — в проксимальной. Ооциты данного вида клещей подразделяется на пять основных стадий созревания и описываются на основе внешнего вида цитоплазмы, наличия зародышевого пузырька, наличия гранул желтка и формирования хориона, а также морфометрических данных. Процесс созревания ооцитов разных стадий нелинеен. При вителлогенезе отмечается активная достоверная динамика роста — при развитии от I до V стадии наблюдается увеличение в размерах в 55 раз.

Обсуждение и заключения. У самок клещей рода *Dermacentor* созревание ооцитов проходит в 5 стадий. Процесс созревания ооцитов разных стадий не имеет линейности, так как в яичнике происходят одновременно как митотические, так и мейотические процессы. При

этом, в развитии ооцитов отмечается активная достоверная динамика роста.

Ключевые слова: *Dermacentor*, иксодовые клещи, самки клеща, эктопаразиты, ооциты, яичник, вителлогенез, морфометрия, гистология, паразитология.

Благодарности. Выражаем признательность сотрудникам кафедры паразитологии, ВСЭ, анатомии и патанатомии им. проф. Никольского за поддержку исследования, а также благодарность ветеринарным клиникам ИП Заиченко «Ветеринарный центр им. Пирогова» в проведении исследования.

Для цитирования. Проскурин, Д. А. Развитие ооцитов иксодового клеща рода *Dermacentor* / Д. А. Проскурин, О. В. Дилекова // Ветеринарная патология. — 2023. — Т. 22, № 1. — С. 38–45. <https://doi.org/10.23947/1682-5616-2023-22-38-45>

Original article

Oocytes Development in Ixodid Tick of the Genus *Dermacentor*

Daniil A. Proskurin , Olga V. Dilekova  

Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russian Federation

 dilekova2009@yandex.ru

Abstract

Introduction. Ixodid ticks are the carriers of many infectious and parasitic diseases. Transmissible tick-borne diseases include borreliosis, viral encephalitis, anaplasmosis, ehrlichiosis and babesiosis, they can be dangerous for both humans and animals. Since the forest areas stopped being treated with pesticides, the reproduction of ixodid ticks became almost unregulated, and their population is constantly growing. In addition, ixodid ticks, the carriers of a number of dangerous anthroponosis, have high fecundity.

Therefore, the aim of the study was to investigate the process of ectoparasites development, specifically, the dynamics of the oocytes maturation process in ixodid ticks of the genus *Dermacentor*.

Materials and methods. The ixodid ticks of the genus *Dermacentor* were the object of the study. The study was conducted on the basis of the Chair “Parasitology and Veterinary-Sanitary Expertise, Anatomy and Pathoanatomy named after Prof. S. N. Nikolsky” and the Scientific-Diagnostic and Medical Veterinary Center of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Stavropol State Agrarian University”, as well as on the basis of veterinary clinics “Veterinary Center named after Pirogov” of the individual entrepreneur Zaichenko. The reproductive system of females served the material for the research. The females were treated and filled into paraffin according to the routine histological technique, afterwards the sections of 5-7 μm. thick were made. For routine examination, histological sections were stained with hematoxylin and eosin, as well as by Mallory staining method. Microscopic examination of the histological sections of female ticks was carried out using the Olympus BX53 microscope (Japan) at 4×, 20×, 40×, 100× magnification.

Results. The macroscopic examination of female ixodid ticks of the genus *Dermacentor* showed that ovary is an azygos, horseshoe-shaped organ to which oocytes are attached. It was observed that oocytes develop asynchronously. Immature oocytes predominated mostly in the distal part of the ovary, while mature — in the proximal. The oocytes of this species of tick are classified by five main stages of maturation and are described based on the cytoplasm external view, the presence of the germinal vesicle, the presence of yolk granules and the chorion formation, and the

morphometric data. The process of oocytes maturation at different stages is not linear. During vitellogenesis, the active and verified dynamics of growth is recorded - from I to V stage of oocytes development the increase of their size by 55 times is observed.

Discussion and conclusions. In female ticks of the genus *Dermacentor*, maturation of oocytes goes through 5 stages. The process of oocytes maturation at different stages is not linear, since both mitotic and meiotic processes occur simultaneously in the ovary. At the same time, in the oocytes development the active verified dynamics of growth is recorded.

Keywords: *Dermacentor*, ixodid ticks, female ticks, ectoparasites, oocytes, ovary, vitellogenesis, morphometry, histology, parasitology.

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the Chair “Parasitology and Veterinary-Sanitary Expertise, Anatomy and Pathoanatomy named after Prof. S. N. Nikolsky for support of the study, and to the veterinary clinics “Veterinary Center named after Pirogov” of the individual entrepreneur Zaichenko.

For citation. D. A. Proskurin, O. V. Dilekova. Oocytes Development in Ixodid Tick of the Genus *Dermacentor*. *Veterinary Pathology*, 2023, vol. 22, no. 1, pp. 38–45. <https://doi.org/10.23947/1682-5616-2023-22-38-45>

Введение. Высокий потенциал и интенсивность яйценоскости клещей являются основополагающими факторами широкого распространения иксодовых клещей. Самка данного эктопаразита способна отложить до 20 тысяч яиц одновременно [1]. Ответственным репродуктивным органом самок иксодовых клещей является одиночный трубчатый тяж или U-образный яичник, который увеличивается в размерах за счёт развития клеток яичника [2].

Впервые исследованиями половой системы иксодовых клещей занялся М. А. Roshdy в 1969 году [3]. Он описал яичник иксодового клеща как единый трубчатый орган, внутри которого асинхронно развиваются ооциты.

В последующем Balashov выявил, что ооциты I и II стадии развития находятся преимущественно в дистальной части яичника, тогда как более зрелые располагаются по большей части в срединной и проксимальной части органа. За счёт большого количества желтка, а также отложения хориона зрелые ооциты имеют более желтоватый цвет [4].

Согласно классификации по морфологи-

ческим и гистологическим признакам ооциты разделяют на 5 стадий развития [5, 6]. Однако L. P. Brinton and J. H. Oliver в 1971 г. установили, что ооциты I стадии представляют собой небольшие округлые или эллиптические клетки с явным ядрышком в центральной части цитоплазмы [7]. Ими было выявлено, что ооциты I порядка расположены в яичнике самки и сообщаются друг с другом при помощи клеточных мостов.

Ооциты II стадии представляют собой крупные клетки, в несколько раз превышающие размеры ооцитов I стадии. Ооциты II стадии характеризуются крупным ядрышком, тонким зародышевым мешком, окружающим ядрышко, широкой базофильной цитоплазмой со слабой зернистостью, а также тонкой мембраной [8].

В дополнение к данным исследованиям была описана особая клеточная структура — цветоножка, синтезирующая предшественник желтка, и участвующая в обмене веществ [9].

Размер ооцитов III стадии значительно увеличивается, по сравнению с предыдущей, а также наблюдается накопление мелких гранул желтка по всей цитоплазме и отложение хориона [6]. Ооциты IV порядка

представляют собой крупные клетки округлой формы с крупными желтковыми гранулами в цитоплазме, ядрышком и зародышевым пузырьком [10].

Ооциты V порядка являются наиболее крупными клетками, с наблюдающимися крупными желточными гранулами и не просматривающимся зародышевым пузырьком [1, 11]. На этой стадии развития цветоножка, которая выполняет трофическую функцию и участвует в процессе синтеза желтков, подвергается процессу дегенерации [12].

Согласно литературным данным, основные исследования были посвящены морфологии и внутренней анатомии, но при этом имеются лишь единичные сведения об изменении параметров ооцитов на разных стадиях их генерации.

Цель исследования — характеристика анатомо-гистологических особенностей строения и динамика морфометрических изменений женской репродуктивной системы иксодовых клещей рода *Dermacentor*.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, анатомии и патанатомии им. проф. С. Н. Никольского и на базе научно-диагностического и лечебного ветеринарного центра Ставропольского государственного аграрного университета, а также на базе ветеринарных клиник ИП Заиченко «Ветеринарный центр им. Пирогова».

В исследовании использовались иксодовые клещи, полученные путем экстракции пинцетом ротационным движением с собак во время приема ветеринарного специалиста. Визуально при помощи стереомикроскопа MST-131 PZO (Польша) эктопаразиты были идентифицированы как питававшиеся и полунпитававшиеся самки иксодового клеща рода *Dermacentor* по наличию мраморного окраса на спинном щитке, прямоугольного основания головы, короткому хоботку и щупикам, а также расщепленным коксам передней пары ног на небольшие парные шпоры. Для исследований были отобраны полунпитававшиеся самки ($n = 15$) и питававшиеся самки ($n =$

15). Каждая самка помещалась в отдельную стеклянную пробирку, закрытую ватным тампоном для обеспечения доступа кислорода, после чего пробирки помещались в холодильную камеру лабораторного холодильника Liebherr LCv 4010 MediLine (Германия) на трое суток при температуре 4–7 °C с целью замедления обмена веществ и создания температурного шока согласно предложенной методике [12].

По истечению 3-х суток клещи из пробирок вынимались и помещались в гомогенизированный парафин (Biovitrum, Россия) в горизонтальном положении брюшком вниз с целью утапливания тела и лапок. Затем при помощи лезвия бытовой бритвы удалялась верхняя крышка и кишечник, после чего производили оцифровку анатомического положения репродуктивных органов самки при помощи стереомикроскопа MST-131 PZO (Польша) и камеры Panasonic DMC-FS7 при увеличении $\times 16$ и $\times 25$.

Материалом для исследования послужила репродуктивная система самок, в частности, яичник с ооцитами разной степени генерации. Для этого самок помещали в 10 % раствор забуференного формалина на 3 суток в холодильник при температуре 4–7 °C. Проводку и заливку материала проводили по стандартной гистологической технике, после чего делали срезы толщиной 5–7 мкм. Для рутинного исследования гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори для выявления сложных гликопротеидов и протеогликанов, образующих хорион.

Микроскопическое исследование гистологических срезов самок клеща проводилось при помощи микроскопа Olympus BX53 (Япония) при увеличении $\times 4$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$ со встроенным фотоаппаратом SC50 (Micromed, Россия). Морфометрическое исследование проводилось при помощи программы ВидеоТест-Морфология 5,1 (Россия).

Результаты исследования. Макроскопическое исследование полунпитававшихся и питававшихся самок иксодового клеща рода *Dermacentor* показало, что яичник

представляет собой непарный орган, подковообразной формы, на котором прикреплены как незрелые ооциты, так и зрелые.

Отмечается, что ооциты развиваются асинхронно. Незрелые ооциты преобладали преимущественно в дистальной части яичника, тогда как зрелые — в проксимальной.

Было выявлено, что у полунапитавшихся самок зрелые ооциты были представлены в минимальном количестве или совсем отсутствовали. У напитавшихся самок количество зрелых ооцитов, находящихся на поверхности яичника, составляло подавляющее большинство по сравнению с незрелыми (рис. 1).

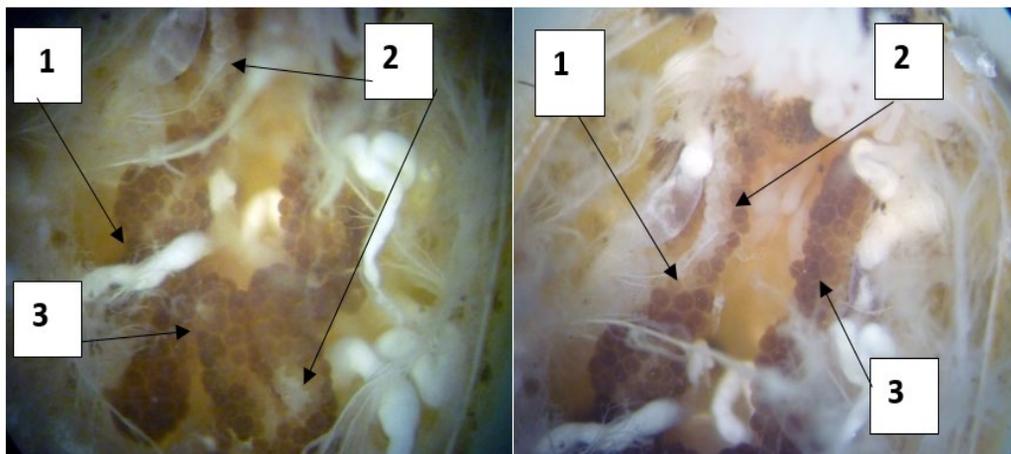


Рис. 1. Напитавшаяся самка клеща рода *Dermacentor* с удаленной верхней крышкой и кишечником: 1 — яичник; 2 — незрелые ооциты; 3 — зрелые ооциты. Увеличение $\times 25$

Согласно данным, полученным при проведении морфометрических исследований установлено, что ооциты, по мере развития, постепенно достоверно увеличиваются в размерах. Ооциты II в сравнении с ооцитами I увеличиваются в 5 раз, ооциты III — в 3,9 раз, ооциты IV — в 1,9 раз, ооциты V — в 1,4 раз. Таким образом, ооциты с I стадии развития до V стадии увеличиваются в 55 раз.

Анализ площади ядра клетки показал, что с каждой стадией отмечается также его достоверное увеличение. Ядро в ооцитах II стадии больше ядра ооцитов I стадии на 308,2 %, ядро ооцитов III больше ядра II на 247,8 %, ядро IV больше ядра III на 129,5 % (таблица 1).

Динамика развития ооцитов в яичнике голодной самки свидетельствует, что на I и II стадиях развития происходят преимуще-

ственно митотические процессы, клетки переходят в профазу первого деления, минуя период интеркинеза при размножении оогониев. Это говорит об эволюции эктопаразита. При микроскопическом изучении гистологических срезов самки клеща было выявлено, что присутствуют ооциты всех стадий развития. Ооциты I стадии развития представляют собой клетки округлой или эллипсоидной формы с гомогенной, базофильной плотной цитоплазмой. Ядра клеток крупные и занимают до 80 % от общей площади клетки (рис. 2).

Ооциты II стадии развития имеют в основном округлую форму. Ядро крупное, располагающееся по центру ооцита. Отмечается, что вокруг ядра расположена тонкая прозрачная перенуклеарная зона, которая является зародышевым мешком. По нашему мнению, данная структура обладает трофической и барьерной функцией.

Таблица 1

Морфометрические показатели ооцитов в разных стадиях развития

Морфометрические показатели, мкм ²	Ооциты I стадии развития (M ± m)	Ооциты II стадии развития (M ± m)	Ооциты III стадии развития (M ± m)	Ооциты IV стадии развития (M ± m)	Ооциты V стадии развития (M ± m)
Площадь клетки	9,833 ± 0,281	49,96 ± 2,203*	196,6 ± 6,061*	379 ± 6,018*	556,6 ± 6,763*
Площадь ядра	7,018 ± 0,227	21,63 ± 0,688*	53,61 ± 2,363*	68,78 ± 1,959*	–
ЯЦО	2,524 ± 0,138*	0,823 ± 0,054*	0,3556 ± 0,018*	1,208 ± 0,005*	–

Примечание: статистическая значимость различий (при $p \leq 0,05$) с более ранней стадией обозначена *

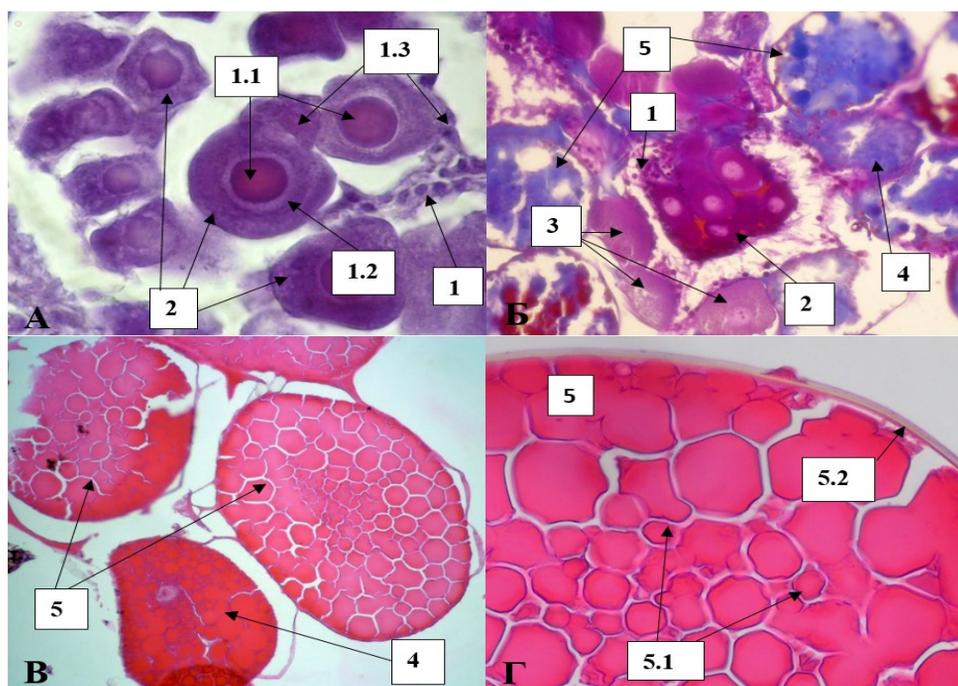


Рис. 2. Гистологические срезы полунапитавшейся самки иксодового клеща рода *Dermacentor*: 1 — яичник с ооцитами I стадии развития; 2 — ооциты II стадии развития; 1.1 — ядро; 1.2 — зародышевый пузырь; 1.3 — цветоножка; 3 — ооциты III стадии развития; 4 — ооциты IV стадии; 5 — ооциты V стадии; 5.1 — желточные включения; 5.2 — хорион. А, Г — увеличение $\times 1000$; Б, В — увеличение $\times 200$; А, В, Г — окраска гематоксилином и эозином, Б — окраска по Маллори

При проведении морфометрических исследований было установлено, что толщина зародышевого мешка составляет $1,085 \pm 0,062$ мкм. Ядро составляет 43,29 % от общей площади ооцита. Цитоплазма приобретает зернистый вид. Ооцит окружен тонкой плазматической мембраной (рис. 2).

При окраске по Маллори нами выявлено, что тонкая плазматическая мембрана имеет тёмно-синее окрашивание, что, по нашему мнению, связано с формированием данной структуры из белка коллагена.

В ооцитах III стадии развития зароды-

шевый мешок, приобретает вид тонкой оболочки, которая слабо визуализируется и составляет $2,006 \pm 0,478$ мкм ($p \leq 0,05$). Окраска по Маллори показала, что в ядре присутствуют многочисленные базофильные включения в виде зёрен. Особенностью в этот период развития ооцита является включение гранул желтка, а также откладывается хорион, образующий внешний покров клетки, толщиной $1,113 \pm 0,078$ мкм ($p \leq 0,05$).

В ооцитах IV стадии регистрируется тотальное заполнение цитоплазмы сформированными желточными гранулами, вследствие чего ядро и зародышевый мешок практически не визуализируется (рис. 2). Хорион, в сравнении с предыдущей стадией развития, утолщается и составляет $2,207 \pm 0,04677$ мкм ($p \leq 0,05$), а цветоножка подвергается процессу дегенерации.

Ооциты V стадии развития являются зрелыми и занимают основную площадь поверхности яичника. Желточные включения также тотально занимают всю площадь цитоплазмы и откладываются в виде крупных, плотно прилегающих округлых структур. Ядро и зародышевый пузырь не визуализируются. Хорион резко утолщается и разделяется на два чётко отграниченных слоя: экзо- и эндохорион. Толщина хориона у ооцитов V стадии развития составляет $3,511 \pm$

$0,096$ ($p \leq 0,05$). Цветоножка у ооцитов V стадии развития отсутствует, что связано с ее атрофией. (рис. 2).

Обсуждение и заключения. Таким образом, у самок клещей рода *Dermacentor* созревание ооцитов проходит в 5 стадий, что согласуется с классификацией, предложенной Ю. С. Балашовым [11] и Patrícia Rosa de Oliveira [13], которые описали все стадии развития ооцитов.

Процесс созревания ооцитов разных стадий нелинейный, в яичнике происходят одновременно как митотические, так и мейотические процессы. При этом в развитии ооцитов отмечается активная достоверная динамика роста — к V стадии развития ооцит увеличивается в размерах в 55 раз.

Микроскопически обнаруживаются проявления особых структур, таких как зародышевый мешок, появление мелких и крупных гранул в цитоплазме и ядре, а также особой структуры — цветоножки. Отмечается появление гранул желтка, которые, по достижении ооцитом стадии зрелости, тотально заполняют цитоплазму.

По нашему мнению, данные изменения в развитии ооцитов напрямую связаны с эволюционными процессами приспособления иксодовых клещей.

Список литературы

1. Leucine aminopeptidase, HILAP, from the ixodid tick *Haemaphysalis longicornis*, plays vital roles in the development of oocytes / Hatta Takeshi, Naotoshi Tsuji, Takeharu Miyoshi [et al.] // *Parasitology International*. — 2010. Vol. 59. No. 2 (June). — P. 286–289. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.03.001>
2. Sonenshine, D. E. *Biology of Ticks* / D. E. Sonenshine, R. M. Roe. — 2nd edition. — 2013. — Vol. 1. — P. 560.
3. Roshdy, M. A. Structure of female reproductive system of *Ixodes ricinus* (L.) and its bearing on the affinity of *Ixodes* to other ixodid genera / M. A. Roshdy // *J. Parasitol.* — 1969. — Vol. 55, No. 5. — P. 1078–1083. <https://doi.org/10.2307/3277179>
4. Balashov, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) – vectors of diseases of man and animals / Y. S. Balashov // *Misc. Pub. Ent. Soc. Am.* — 1972. — P. 161–376.
5. Balashov, Y. S. *An Atlas of Ixodid Tick Ultrastructure*. Entomological Society of America (Special Publication) / Y. S. Balashov; A. S. Raikhel, Hoogstraal, H. (Editors). — Maryland. — 1983. — P. 1–189.

6. Morphological characterization of the ovary and vitellogenesis dynamics in the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) / S. E. Denardi, G. H. Bechara, P. R. Oliveira [et al.] // *Vet. Parasitol.* — 2004. Vol. 125. — P. 379–395. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.07.015>

7. Brinton, L. P. Gross anatomical, histological, and cytological aspects of ovarian development in *Dermacentor andersoni* stiles (Acari: Ixodidae) / L. P. Brinton, J. H. Oliver // *The Journal of Parasitology.* — 1971. Vol. 57, No. 4. — P. 708–719.

8. Morphological, histological, and ultrastructural studies of the ovary of the cattle — tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) / K. C. Saito, G. Bechara, E. Nunes [et al.] // *Veterinary parasitology.* — 2005. — Vol. 129, No. 3-4 (May). — P. 299–311. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.020>

9. Oliveira, P. R. *Amblyomma triste* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) ovaries: an ultrastructural analysis / P. R. Oliveira, M. I. Camargo-Mathias, G. H. Berchara // *Experimental Parasitology.* — 2007. Vol. 116, No. 4. — P. 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2007.02.006>

10. Histopathological study of ovaries of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) exposed to different thymol concentrations / Renata da Silva Matos, Erik Daemon, Maria Izabel Camargo-Mathias [et al.] // *Parasitol Res.* — 2014. Vol. 113, No. 12. — P. 4555–4565. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-014-4145-9>

11. Балашов, Ю. С. Иксодовые клещи-паразиты и переносчики / Ю. С. Балашов. — Санкт-Петербург : Наука, 1998. — 287 с.

12. Gustavo Seron Sanches. Ovary and oocyte maturation of the tick *Amblyomma brasiliense* Aragaõ, 1908 (Acari: Ixodidae) / Gustavo Seron Sanches, Gervásio Henrique Bechara Maria Izabel Camargo-Mathias // *Micron.* — 2010. — Vol. 41, No. 1 (January). — P. 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2009.08.008>

13. [Patrícia Rosa de Oliveira](#). Vitellogenesis in the tick *Amblyomma triste* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae): Role for pedicel cells / Patrícia Rosa de Oliveira, Maria Izabel Camargo Mathias, Gervásio Henrique Bechara // *Veterinary Parasitology.* — 2007. — Vol. 143. No. 2 (January). — P. 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.013>

Поступила в редакцию 13.02.2022.

Поступила после рецензирования 20.02.2023.

Принята к публикации 27.02.2023.

Об авторах:

Проскурин Даниил Алиевич, аспирант Ставропольского государственного аграрного университета (РФ, Ставропольский край, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 1), [ScopusID](#), [ORCID](#), pro.kish@mail.ru

Дилекова Ольга Владимировна, доцент Ставропольского государственного аграрного университета (РФ, Ставропольский край, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 1), доктор биологических наук, [Researcher ID](#), [ScopusID](#), [ORCID](#), dilekova2009@yandex.ru

Заявленный вклад соавторов:

Д. А. Проскурин — формирование основной концепции, цели и задачи исследования, проведение исследования, расчётов, подготовка текста, формирование выводов. О. В. Дилекова — научное руководство, анализ результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.