

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ COVID-19



Е. П. Ганчар, Л. В. Гутикова, А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко, М. Н. Курбат,
В. Ю. Смирнов

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Неожиданное появление и быстрое распространение по всему миру новой коронавирусной инфекции COVID-19 с большим количеством смертельных исходов показало значимость разработок способов прогнозирования тяжелого течения вирусных инфекций, создания диагностических тестов, профилактических вакцин и лекарственных препаратов, действующих на ключевые факторы течения и прогрессирования заболевания. Клинические исследования по изучению метаболических изменений у беременных с инфекцией COVID-19 практически отсутствуют.

Цель исследования. Изучить особенности метаболического профиля свободных аминокислот при беременности, осложненной COVID-19.

Материал и методы. Исследованы концентрации свободных аминокислот и их производных в плазме крови 86 женщин. Основная группа – 51 беременная с подтвержденным диагнозом COVID-19; контрольная группа – 35 соматически здоровых женщин с беременностью без осложнений. Анализ аминокислот и их производных был осуществлен с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты. При развитии инфекции COVID-19 преобладает катаболизм белков, что подтверждается повышением концентрации 28 аминокислот и их производных в плазме венозной крови. У беременных с новой коронавирусной инфекцией выявлено статистически значимое повышение концентрации цистеина, гомоцистеина, γ -глутамилцистеина, фосфосерина, цистеинсульфината, аспартата, гомоцистеата, глутамата, аспарагина, серина, треонина, 1-метилгистидина, глицина, цитруллина, аргинина, аланина, симметричного диметиларгинина, асимметричного диметиларгинина, β -аминомасляной кислоты, γ -аминомасляной кислоты, тирозина, валина, метионина, фенилаланина, лейцина, изолейцина, лизина, орнитина по сравнению с пациентами контрольной группы.

Выводы. Изучение особенностей метаболического профиля свободных аминокислот у беременных с новой коронавирусной инфекцией позволит выявить дополнительные биомаркеры тяжести заболевания, прогнозировать течение заболевания у пациенток в период гестации.

Ключевые слова: инфекция COVID-19, беременность, метаболизм, аминокислоты.

Для цитирования: Метаболический профиль свободных аминокислот при беременности, осложненной COVID-19 / Е. П. Ганчар, Л. В. Гутикова, А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко, М. Н. Курбат, В. Ю. Смирнов // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2023. Т. 21, № 2. С. 124-132. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2023-21-2-124-132>

Введение

7 января 2020 г. был зарегистрирован новый возбудитель заболевания, коронавирус, которому присвоили официальное название «SARS-CoV-2» (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), а вызываемое им заболевание получило наименование «COVID-19» (Corona Virus Disease 19) [1, 2]. Учитывая быстрый рост заражения по всему миру и высокий уровень летальности 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила о пандемии COVID-19 [3]. На 17.12.2022 г. в мире было зарегистрировано более 657 млн случаев заражения COVID-19 и 6,7 млн смертей по причине данного инфекционного заболевания [4]. В XXI в. уже произошли 2 эпидемии, вызванные новыми коронавирусами. Коронавирус SARS-CoV, впервые обнаруженный в 2002 г. в китайской провинции Гуандун, привел к эпидемии заболевания, названного «тяжелым острым респираторным синдромом» (Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS). Во время этой вспышки было подтверждено 8422 случая инфекции, из них 916 – со смертельным исходом (летальность – 10%). В 2012 г. в Саудовской Аравии впервые выявлен коронавирус MERS-CoV ближневосточного ре-

спираторного синдрома (Middle East Respiratory Syndrome, MERS). Всего в ходе эпидемии подтвержден 1401 случай инфекции MERS-CoV, из них 543 – со смертельным исходом (летальность – 39%) [5-7].

ПНК SARS-CoV-2 содержит 29 811 нуклеотидов, кодирующих 29 белков. В связи с развитием тяжелых клинических форм у многих пациентов предложен термин «вирусный сепсис» для обозначения критического иммунопатологического механизма при COVID-19 – цитокинового шторма – на основании значительно повышенных уровней цитокинов, хемокинов и других иммунологических агентов при тяжелых формах вирусной инфекции. Вирусный сепсис представляет собой опасную для жизни органную дисфункцию, вызванную нарушением регуляции реакции хозяина на инфекцию [8]. Инфекция SARS-CoV-2 приводит к перепрограммированию метаболических процессов клетки-хозяина (например, активация гликолиза, подавление окислительного фосфорилирования в митохондриях и др.), направленных на обеспечение энергией репликации вируса. Гликопротеин S-белок SARS-CoV-2, связываясь с мембранной Zn^{2+} -зависимой карбоксипептидазой ACE2, на

порядок повышает его протеолитическую активность, что используется для интернализации вируса [9]. В эндотелиальных клетках сосудов, инфицированных SARS-CoV-2, происходит нарушение функции митохондрий, которые модулируют клеточный ответ на инфекцию, растет выработка активных радикалов кислорода, активируется гликолиз. Белок вируса М ингибирует агрегацию белка митохондриальной противовирусной передачи сигналов (MAVS), что препятствует врожденному противовирусному ответу. Вирусные белки открытых рамок считывания (ORF1a и ORF1b) играют важную роль в изменении митохондриальной регуляции иммунного ответа [10].

Неожиданное появление и быстрое распространение по всему миру нового коронавируса SARS-CoV-2 с большим количеством смертельных исходов показало значимость разработок способов прогнозирования тяжелого течения вирусных инфекций, создания диагностических тестов, профилактических вакцин и лекарственных препаратов, действующих на ключевые факторы прогрессирования заболевания.

Цель исследования – изучить особенности метаболического профиля свободных аминокислот при беременности, осложненной COVID-19.

Материал и методы

Для достижения поставленной цели были обследованы 86 пациенток. Выделена 1-я группа (основная) – 51 беременная с подтвержденным диагнозом COVID-19; 2-я группа (контрольная) – 35 соматически здоровых женщин с беременностью без осложнений. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании. Данное исследование одобрено этическим комитетом УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр».

Критерии включения в исследование: возраст беременных от 18 до 45 лет, положительный результат ПЦР на РНК вируса SARS-CoV-2 при заборе крови, 4-5 день заболевания, одноплодная беременность на сроке от 22 до 40 недель.

Критерии исключения: отсутствие резус- и АВО-изоиммунизации, хромосомных аномалий, генетических мутаций и врожденных пороков развития у плода, наличие у матери тяжелой экстрагенитальной патологии, миомы матки больших размеров.

Диагноз COVID-19 у женщин был подтвержден с помощью ПЦР на вирус SARS-CoV-2, материал получен с помощью мазка из носоглотки и ротоглотки. Диагностика и степень тяжести COVID-19 оценивались в соответствии с рекомендациями (временными) об организации оказания медицинской помощи пациентам с инфекцией COVID-19 (приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.11.2021 г. № 1424).

Определение концентрации аминокислот, их производных и метаболитов проводили в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный медицинский университет» на хроматографической системе HPLC

Agilent 1200, содержащей 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Регистрация хроматограмм и их количественная обработка осуществлялись с помощью Agilent ChemStation B 03.01. Определение аминокислот проводили методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание общих аминокислот в плазме определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по модифицированному методу [11].

Определялись концентрации цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy), цистеинил-глицина (CysGly), γ -глутамилцистеина (γ GluCys), глутатиона (GSH), цистеиновой кислоты (CA), фосфосерина (PSer), цистеинсульфината (CSA), аспартата (Asp), гомоцистеата (HCA), глутамата (Glu), аспарагина (Asn), серина (Ser), α -аминоадипиновой кислоты (α AAA), глутамина (Gln), гистидина (His), треонина (Thr), 1-метилгистидина (1MHis), 3-метилгистидина (3MHis), глицина (Gly), фосфозаноламина (PEA), цитруллина (Citr), аргинина (Arg), ансерина (Ans), аланина (Ala), β -аланина (β Ala), карнозина (Car), таурина (Tau), асимметричного диметиларгинина (ADMA), симметричного диметиларгинина (SDMA), α -аминомасляной кислоты (α ABA), β -аминомасляной кислоты (β ABA), γ -аминомасляной кислоты (GABA), тирозина (Tyr), этаноламина (EA), валина (Val), метионина (Met), цистатинина (Ctn), триптофана (Trp), фенилаланина (Phe), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), лизина (Lys), орнитина (Orn).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета программ Statistica 10.0 (серийный номер AXAR207F394425FA-Q). Проверку нормальности распределения количественных данных осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае распределения признака, отличного от нормального, результаты представляли как Me (25%; 75%), где Me – медиана, а (25%, 75%) – 25-й и 75% процентиля. При сравнении двух независимых групп по количественному признаку, не подчиняющемуся нормальному распределению, использовали U-критерий Манна-Уитни. Для всех видов анализа статистически значимыми считали значения $p < 0,05$. Сравнение групп по качественным признакам проводилось с использованием доверительного интервала. При оценке долей доверительный интервал принят 95%.

Результаты и обсуждение

Пациентки, включенные в исследование, не имели значимых различий по возрасту, сроку беременности, соматической и гинекологической заболеваемости ($p > 0,05$). В основной группе 15 (29,4%) пациенток были с легкой формой клинического течения инфекции COVID-19, 33 (64,7%) – со среднетяжелой и 3 (5,9%) – с тяжелой формой заболевания.

Клинико-анамнестические данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Клинико-анамнестические данные беременных
Table 1. – Clinical and anamnestic data of pregnant women

Параметр	Основная группа, n=51	Контрольная группа, n=35	P - уровень
Возраст, годы*	31 [26-35]	29 [25-33]	>0,05
Срок беременности, дни *	234 [190-264]	259 [199-277]	>0,05
Первородящая, абс., % **	23 (45,1%; ДИ ₉₅ 32,27-58,62)	15 (42,86%; ДИ ₉₅ 27,99-59,15)	>0,05
Повторнородящая, абс., % **	28 (54,9%; ДИ ₉₅ 41,38-67,73)	20 (57,14%; ДИ ₉₅ 40,85-72,01)	>0,05
Сердечно-сосудистые заболевания, абс., % **	17 (33,33%; ДИ ₉₅ 21,97-47,03)	14 (40,0%; ДИ ₉₅ 25,55-56,43)	>0,05
Заболевания желудочно-кишечного тракта, абс., % **	5 (8,8%; ДИ ₉₅ 4,26-20,97)	4 (11,43%; ДИ ₉₅ 4,54-25,95)	>0,05
Заболевания почек, абс., % **	7 (13,73%; ДИ ₉₅ 6,81-25,73)	7 (20%; ДИ ₉₅ 10,04-35,89)	>0,05
Эндокринные заболевания, абс., % **	4 (7,84%; ДИ ₉₅ 3,09-18,5)	6 (17,14%; ДИ ₉₅ 8,1-32,68)	>0,05
Гинекологические заболевания, абс., % **	5 (9,8%; ДИ ₉₅ 4,26-20,97)	5 (14,29%; ДИ ₉₅ 6,26-29,38)	>0,05

Примечания – * - данные представлены в виде медианы, 25% и 75% перцентилей, тест Манна-Уитни;

** - данные представлены как абсолютные значения, %, доверительный интервал (ДИ₉₅)

Содержание аминокислот и их производных в плазме крови обследованных пациентов представлено в таблице 2.

Таблица 2. – Аминокислоты и их производные в сравниваемых группах, нмоль/мл
Table 2. – Amino acids and their derivatives in the compared groups, nmol/ml

Показатель	Основная группа, n=51	Контрольная группа, n=35	P - уровень
Метионин (Met)	57,014 [46,365-66,098]*	48,511 [44,395-54,202]	0,002
Цистатионин (Ctn)	12,105 [6,191-17,337]	11,48 [5,766-15,013]	0,819
Цистеин (Cys)	272,901 [242,257-296,923]*	214,279 [178,386-244,295]	0,000
Цистеиновая кислота (CA)	1,957 [1,543-2,321]	1,872 [1,628-2,023]	0,654
Цистеинсульфинат (CSA)	1,581 [1,227-1,883]*	0,984 [0,701-1,286]	0,000
Цистеинил-глицин (Cys-Gly)	21,912 [16,072-26,716]	24,679 [19,804-27,62]	0,165
γ-глутамилцистеин (γGluCys)	13,823 [11,836-15,35]*	10,949 [10,076-11,85]	0,000
Глутатион (GSH)	5,235 [3,974-6,262]	5,892 [4,7-6,652]	0,055
Таурин (Tau)	90,945 [62,306-116,008]	78,654 [58,23-90,749]	0,17
Гомоцистеин (Hcy)	10,271 [7,585-12,532]*	8,311 [6,706-9,81]	0,017
Гомоцистеат (HCA)	0,357 [0,289-0,41]*	0,266 [0,181-0,366]	0,002
Глутамат (Glu)	743,516 [576,065-851,683]*	286,65 [220,02-355,675]	0,000
Глутамин (Gln)	940,272 [828,827-1068,957]*	1032,217 [950,446-1100,709]	0,012
Аспарат (Asp)	290,248 [211,545-348,882]*	144,609 [110,307-165,23]	0,000
Аспарагин (Asn)	153,325 [130,992-175,033]*	134,36 [125,465-148,496]	0,015
Фосфосерин (PSer)	1,579 [1,198-1,866]*	0,953 [0,751-1,154]	0,000
Серин (Ser)	372,711 [328,829-408,018]*	261,908 [229,484-291,935]	0,000
Глицин (Gly)	136,736 [106,79-154,729]*	90,509 [76,327-98,235]	0,000
α-аминоадипиновая кислота (αAAA)	4,447 [3,628-5,308]	3,956 [3,328-4,512]	0,072
Гистидин (His)	80,443 [70,635-87,932]	80,488 [74,263-85,552]	0,895
Треонин (Thr)	641,401 [543,548-751,254]*	513,168 [438,173-581,579]	0,000
Фосфозаноламин (PEA)	0,288 [0,172-0,408]	0,25 [0,108-0,32]	0,279
Аргинин (Arg)	157,434 [124,099]-189,68]*	122,877 [108,882-134,58]	0,000
Орнитин (Orn)	147,331 [98,436-179,177]*	64,88 [55,678-74,891]	0,000
Цитруллин (Citr)	45,081 [35,807-53,901]*	35,384 [29,92-39,916]	0,000
Асимметричный диметиларгинин ADMA	1,237 [1,038-1,43]*	0,632 [0,504-0,723]	0,000
Симметричный диметиларгинин SDMA	0,907 [0,706-1,063]*	0,755 [0,652-0,851]	0,006
Аланин (Ala)	1189,141 [977,084-1434,141]*	1056,465 [954,038-1142,365]	0,04
Ансерин (Ans)	0,573 [0,361-0,751]*	0,757 [0,47-0,922]	0,029
Карнозин (Car)	0,336 [0,214-0,404]*	0,421 [0,305-0,549]	0,017
β-аланин (βAla)	2,583 [2,041-2,939]	1,673 [1,126-2,073]	0,812

продолжение таблицы 2

1-Метилгистидин (1MHis)	3,704 [3,002-4,337]*	2,945 [2,546-3,172]	0,000
3-Метилгистидин (3MHis)	3,787 [1,742-5,168]	3,313 [2,046-4,022]	0,476
α -аминомасляная кислота (α ABA)	50,337 [32,092-65,514]	42,465 [30,974-52,856]	0,173
β -аминомасляная кислота (β ABA)	2,077 [1,492-2,525]*	1,673 [1,126-2,073]	0,029
γ -аминомасляная кислота (GABA)	1,695 [1,277-2,033]*	0,845 [0,497-1,155]	0,000
Фенилаланин (Phe)	269,612 [228,773-311,321]*	172,914 [154,614-188,527]	0,001
Тирозин (Tyr)	127,232 [106,184-150,945]*	101,386 [89,761-111,131]	0,000
Этаноламин (EA)	10,94 [8,55-13,801]	9,892 [8,634-11,135]	0,37
Триптофан (Trp)	149,799 [118,888-182,576]*	165,185 [151,318-179,613]	0,035
Изолейцин (Ile)	205,489 [170,788-248,968]*	156,455 [135,056-173,878]	0,000
Лейцин (Leu)	354,125 [293,798-416,555]*	277,385 [241,038-301,739]	0,000
Валин (Val)	693,381 [598,964-772,402]*	569,08 [511,624-612,972]	0,000
Лизин (Lys)	712,405 [576,659-849,874]*	515,288 [435,798-595,851]	0,000

Примечания – данные представлены в виде медианы, 25% и 75% процентилля; * – статистически значимые различия (тест Манна-Уитни)

При анализе полученных данных выявлено, что концентрация 32 параметров в сравниваемых группах статистически значимо различается: концентрация цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy), гамма-глутамилцистеина (gGluCys), фосфосерина (PSer), цистеинсульфината (CSA), аспартата (Asp), гомоцистеата (HCA), глутамата (Glu), аспарагина (Asn), серина (Ser), глутамина (Gln), треонина (Thr), 1-метилгистидина (1MHis), глицина (Gly), цитруллина (Citr), аргинина (Arg), ансерина (Ans), аланина (Ala), карнозина (Car), асимметричного диметиларгинина (ADMA), симметричного диметиларгинина (SDMA), β -аминомасляной кислоты (β ABA), γ -аминомасляной кислоты (GABA), тирозина (Tyr), валина (Val), метионина (Met), триптофана (Trp), фенилаланина (Phe), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), лизина (Lys), орнитина (Orn) (табл. 2).

Метаболомный профиль у беременных при COVID-19 представляет большой интерес в связи с перспективностью выявления потенциальных диагностических маркеров и оценки метаболических процессов [12]. Первое, что бросается в глаза при анализе полученных результатов, это статистически достоверное повышение концентрации 28 аминокислот и снижение уровня только двух – триптофана и глутамина, и двух дипептидов – карнозина (β -аланил-гистидин) и его производного – ансерина (β -аланил-3-метилгистидин) по сравнению с контрольной группой беременных. Возможно, это следствие преобладания катаболизма белков при развитии инфекции COVID-19, а также подавление активности основного Na^+ -зависимого переносчика нейтральных аминокислот (SLC6A19) в эпителии кишечника, который присутствует в клеточной мембране в виде комплекса с белком ACE2 и при взаимодействии с вирусом SARS-CoV-2 погружается в клетку [13].

Учитывая, что аминокислоты и их производные – это важнейшие регулирующие факторы метаболических процессов в клетке, предшественники высокоактивных биологических субстанций (медиаторы, гормоны), одни из ос-

новных контролирующих биосинтез белка и функциональное состояние органов и систем, их можно рассматривать в числе диагностических и прогностических факторов заболевания, а также участников вирусной инвазии и иммунного ответа организма в качестве универсальных природных регуляторов и эндогенных модификаторов биологических реакций [14, 15]. Известно, что обмен аминокислот достаточно жестко контролируется с помощью биохимических и физиологических механизмов, гарантирующих относительно стабильный уровень (фонд) аминокислот в крови и тканях. Аминокислотный дисбаланс – один из характерных признаков большого числа заболеваний и токсических воздействий на организм человека, когда возрастает роль аминокислот как биорегуляторов, поэтому изменения их концентраций могут стать также индикаторами формирования патологических процессов [16, 17].

Нами установлено статистически значимое увеличение концентрации основных S-содержащих производных: метионина ($p=0,002$), цистеина ($p=0,000$), гомоцистеина ($p=0,017$), γ -глутамилцистеина ($p=0,000$), цистеинсульфината ($p=0,000$), гомоцистеата ($p=0,002$) в плазме крови пациентов с COVID-19 по сравнению с пациентами группы контроля. Гомоцистеин обладает прооксидантной активностью, нарушает нормальную продукцию NO эндотелиальными клетками, снижает экспрессию глутатион-пероксидазы в эндотелиальных клетках, что стимулирует перекисное окисление липидов. Гомоцистеин усиливает образование воспалительных цитокинов и факторов роста, непосредственно влияет на миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, агрегацию и адгезию тромбоцитов, понижает активность антитромбина-III и эндогенного гепарина, увеличивает активность тромбина. Гомоцистеин повышает активность V, XII факторов свертывания крови [17-19]. Эти данные чрезвычайно важны для понимания патогенеза тромбоза при инфекции COVID-19.

Статистически значимое увеличение концентрации серина и его предшественника фосфосерина при COVID-19 ($p=0,000$), во-первых, косвенно свидетельствует об активации процесса гликолиза (основной путь синтеза серина в организме [20]), тем более установлено, что в эпителии тонкого кишечника при COVID-19 происходит активация Na-зависимого переносчика глюкозы (SGLT) [21], во-вторых, гомоцистеин – ингибитор серин-дегидратазы – первого фермента на пути серина в реакции глюконеогенеза. В-третьих, может быть результатом проблем в синтезе пуринов (серин – основной донор одноуглеродных компонентов для тетрагидрофолатов). К аргументам в пользу последнего можно отнести также высокий уровень глицина у пациентов. И наконец, в-четвертых, серин – акцептор серы гомоцистеина при транссульфурировании [20].

Анализ данных показал повышение концентрации глутамата ($p=0,000$) и снижение концентрации глутаминна ($p=0,012$) у женщин основной группы по сравнению с контрольной. Глутамат – основной возбуждающий нейромедиатор в центральной нервной системе. Глутаматергическая система включает рецепторы и переносчики глутамата. Для прекращения возбуждающего действия глутамата необходима его эвакуация из синаптической щели, затем глутамат переносится в глиальные клетки, где «нейтрализуется», превращаясь в глутамин. Данная аминокислота активно изучается в патогенезе шизофрении, болезни Паркинсона, рассеянного склероза [18, 19]. Повышение концентрации глутамата в плазме у пациентов с новой коронавирусной инфекцией может усугублять стрессовое состояние во время острой фазы заболевания.

Выявлено повышение концентрации метионина в плазме крови у пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольной группой ($p=0,002$). Метионин – ключевая незаменимая аминокислота, донатор метильных групп и серы, строго контролируемый организмом показатель в силу своей токсичности [22]. Анализ данных выявил статистически значимое повышение концентрации аспарагина ($p=0,015$), незаменимой аминокислоты треонина ($p=0,000$) в плазме крови у женщин с инфекцией COVID-19 по сравнению с контрольной группой. Аспарагин участвует в работе иммунной системы и синтезе ДНК и РНК, повышение концентрации данной аминокислоты может быть причиной нарушения сна, повышенной возбудимости, раздражительности, головных болей у пациенток с новой коронавирусной инфекцией. Важная роль треонина в условиях инфекционного процесса заключается в иммунной защите – выработке антител [23].

В группе пациентов с COVID-19 инфекцией отмечен также повышенный уровень глицина ($p=0,000$), основного компонента коллагена и эластина (наиболее распространенных белков в организме), необходимого для синтеза многих субстратов и метаболитов, таких как пуриновые нуклеотиды, порфирины, глутатион и гем. Как ингибирующий нейротрансмиттер в централь-

ной нервной системе и как антиоксидант, глицин выполняет также противовоспалительную, иммуномодулирующую и цитопротекторную функции [14].

У пациенток с инфекцией COVID-19 выявлено статистически значимое повышение концентрации цитруллина ($p=0,000$), аргинина ($p=0,000$), аланина ($p=0,04$) при сравнении с контрольной группой. Аминокислота цитруллин – промежуточный продукт в цикле мочевины и биосинтетический предшественник аргинина, из которого синтезируется оксид азота (NO). Концентрация цитруллина в плазме крови служит биомаркером обезвреживания азотистых оснований и активности биосинтеза NO. Аргинин играет ключевую роль в синтезе мочевины, стимулирует репликацию рибонуклеиновой кислоты, оказывает влияние на иммунную систему, стимулируя Т-лимфоциты, является предшественником NO, вырабатываемого клетками эндотелия сосудов, макрофагами и нейтрофилами. Аланин участвует в процессе глюконеогенеза в печени, повышенное содержание аланина в крови ассоциировано с повышением артериального давления, уровня холестерина, индекса массы тела, аланинаминотрансферазы [14].

Выявлено статистически значимое повышение концентрации β -аминомасляной кислоты (β ABA) ($p=0,029$), γ -аминомасляной кислоты (GABA) ($p=0,000$). Гамма-аминомасляная кислота – основной тормозной нейромедиатор, конкурирующий с глутаматом. Обращает на себя внимание тот факт, что у беременных с инфекцией COVID-19 выявлено достоверное увеличение концентрации валина в основной группе ($p=0,000$). Повышение концентрации валина напрямую связано с его противовирусной активностью и иммуномодулирующим действием. Бесспорно влияние валина на усиление синтеза серотонина, что также способствует снижению уровня стресса у пациентов основной группы. Нами установлено статистически значимое увеличение концентрации фенилаланина в плазме крови у пациентов основной группы по сравнению с контрольной группой ($p=0,000$). Помимо очевидного участия данной аминокислоты в протекании анаболических процессов в организме, мы предполагаем ее нейромедиаторное значение. Повышение уровня фенилаланина посредством его конверсии в тирозин приводит к усилению выработки гормонов стресса (адреналина, норадреналина, дофамина), имеющей адаптивное значение при данной патологии. Кроме того, фенилаланин снижает интенсивность воспаления и действует как естественный анальгетик [14].

В проведенном нами исследовании установлено статистически значимое увеличение концентрации тирозина в плазме крови у пациентов основной группы по сравнению с пациентами группы контроля ($p=0,000$). Считаем, что данный факт – отражение нарушения механизмов нейрогуморально-гормональной регуляции с вовлечением в этот процесс предшественников биогенно активного серотонина вследствие

развития инфекционного процесса. Повышение концентраций тирозина носит адаптивный характер и смягчает последствия стресса [17].

В результате анализа данных выявлено статистически значимое повышение концентрации изолейцина ($p=0,000$), лейцина ($p=0,000$), лизина ($p=0,000$), орнитина ($p=0,000$) у пациенток с коронавирусной инфекцией по сравнению с контрольной группой. Изолейцин участвует в энергетическом обмене. Лейцин оказывает анаболическое действие, активизирует процессы биосинтеза аминокислот, их предшественников и метаболитов, является исходным веществом для синтеза белка и эндогенных биорегуляторов [23]. Лизин оказывает влияние на функции головного мозга, разные виды поведения, а также на механизмы иммунологической реактивности и стресс-резистентности организма, что важно в условиях коронавирусной инфекции. Орнитин оказывает гипоаммониемическое действие, утилизирует аммонийные группы в синтезе мочевины, снижает концентрацию аммиака в плазме крови, способствуя нормализации кислотно-щелочного состояния организма и выработке инсулина [14, 17].

Интересен факт выявления снижения концентрации триптофана у пациенток с инфекцией COVID-19 по сравнению с контрольной группой ($p=0,035$). Триптофан – незаменимая аминокислота, необходимая для синтеза белка, служит предшественником для биосинтеза коферментов и нейромодуляторов, таких как НАД/НАДФ(Н), кинуреновая кислота, мелатонин и серотонин. Играет роль в иммунном гомеостазе, поскольку его метаболиты участвуют в регуляции Т-лимфоцитов [24, 25]. Считается, что метаболизм триптофана, особенно его кинурениновый путь, играет важную роль при COVID-19. Лимитирующим фактором скорости ферментом служит индол-2,3-диоксигеназа (IDO1), активность которого играет важную роль в иммунорегуляции как негативный регулятор воспаления и иммунной реакции. Например, активная IDO1 способствует ограничению воспаления легких, а деляция IDO1 серьезно усугубляет воспалительную патологию легких у мышей, участвуя в регуляции иммунных реакций. IDO1 генерирует метаболиты триптофана и истощает его запасы [24]. Анализ данных показал статистически значимое

снижение концентрации карнозина ($p=0,017$) у пациенток основной группы. Данный дипептид выполняет антиоксидантную, иммуностимулирующую функцию, включая роль рН-буфера, источника гистидина, хелатора ионов тяжелых металлов, нейротрансмиттера [17].

Выводы

1. COVID-19 у беременных приводит к выраженному изменению метаболического профиля организма: преобладает катаболизм белков, что подтверждается повышением концентрации 28 аминокислот и их производных в плазме венозной крови.

2. Уровни свободных аминокислот и их производных в плазме венозной крови у беременных с инфекцией COVID-19 статистически значимо выше, чем у женщин контрольной группы: цистеина на 27% ($p=0,001$), гомоцистеина на 19% ($p=0,017$), γ -глутамилцистеина на 20,8% ($p=0,000$), фосфосерина на 39,6% ($p=0,000$), цистеинсульфината на 37,8% ($p=0,000$), аспартата на 50% ($p=0,000$), гомоцистеата на 25% ($p=0,002$), глутамата на 61% ($p=0,000$), аспарагина на 12,4% ($p=0,015$), серина на 29,7% ($p=0,000$), треонина на 20% ($p=0,000$), 1-метилогистидина на 20,5% ($p=0,000$), глицина на 33,8% ($p=0,000$), цитруллин на 21,5% ($p=0,000$), аргинина на 22% ($p=0,000$), аланина на 11% ($p=0,04$), симметричного диметиларгинина на 16,8% ($p=0,006$), асимметричного диметиларгинина на 50% ($p=0,000$), β -аминомасляной кислоты на 19,5% ($p=0,029$), γ -аминомасляной кислоты на 50% ($p=0,000$), тирозина на 20% ($p=0,000$), валина на 18% ($p=0,000$), метионина на 15% ($p=0,002$), фенилаланина на 36% ($p=0,000$), лейцина на 22% ($p=0,000$), изолейцина на 24% ($p=0,000$), лизина на 28% ($p=0,000$), орнитина на 56% ($p=0,000$). В плазме венозной крови у пациенток с инфекцией COVID-19 статистически значимо ниже концентрация глутамина – на 10% ($p=0,012$), ансерина на 24% ($p=0,029$), карнозина на 20% ($p=0,017$), триптофана на 10% ($p=0,035$).

3. Изучение особенностей метаболического профиля свободных аминокислот при беременности, осложненной новой коронавирусной инфекцией, позволит выявить дополнительные биомаркеры тяжести заболевания, прогнозировать течение заболевания у пациенток в период гестации.

Литература

1. Laboratory testing of human suspected cases of novel Coronavirus (nCoV) infection: interim guidance [Electronic resource] / World Health Organization. – Mode of access: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330374?locale-attribute=ru&>. – Date of access: 08.06.2022.
2. Coronavirus infections and immune responses / G. Li [et al.] // J Med Virol. – 2020. – Vol. 92, iss. 4. – P. 424-432. – doi: 10.1002/jmv.25685.
3. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation Report – 41 [Electronic resource] / World Health Organization. – Mode of access: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200301-sitrep-41-covid-19.pdf?sfvrsn=6768306d_2. – Date of access: 08.06.2022.
4. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at John Hopkins University [Electronic resource] // Johns Hopkins University & Medicine. – Mode of access: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. – Date of access: 08.06.2022.
5. Middle East respiratory syndrome Coronavirus (MERS-CoV) [Electronic resource] / World Health Organization. – Mode of access: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>. – Date of access: 08.06.2022.
6. Middle East respiratory syndrome: Global summary and assessment of risk – 16 November 2022 [Electronic resource] / World Health Organization. – Mode of access:

- <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MERS-RA-2022.1>. – Date of access: 08.06.2022.
7. Koh, D. Lessons from the past: perspectives on severe acute respiratory syndrome / D. Koh, J. Sng // *Asia Pac J Public Health*. – 2010. – Vol. 22, suppl. 3. – P. 132S-136S. – doi: 10.1177/1010539510373010.
 8. Epidemiology and Immune Pathogenesis of Viral Sepsis / G. L. Lin [et al.] // *Front Immunol*. – 2018. – Vol. 9. – Art. 2147. – doi: 10.3389/fimmu.2018.02147.
 9. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2 / Q. Wang [et al.] // *Cell*. – 2020. – Vol. 181, iss. 4. – P. 894-904. – doi: 10.1016/j.cell.2020.03.045.
 10. The coding capacity of SARS-CoV-2 / Y. Finkel [et al.] // *Nature*. – 2021. – Vol. 589, № 7840. – P. 125-130. – doi: 10.1038/s41586-020-2739-1.
 11. Наумов, А. В. Определение гомоцистеина методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией в микрообъемах биологических жидкостей / А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко // *Аналитика РБ - 2010* : сб. тезисов докл. Респ. науч. конф. по аналитич. химии с междунар. участием, Минск, 14-15 мая 2010 г. / ред.: В. В. Егоров, А. Л. Гулевич, В. А. Назаров. – Минск, 2010. – С. 138.
 12. Mussap, M. Could metabolomics drive the fate of COVID-19 pandemic? A narrative review on lights and shadows / M. Mussap, V. Fanos // *Clin Chem Lab Med*. – 2021. – Vol. 59, iss. 12. – P. 1891-1905. – doi: 10.1515/cclm-2021-0414.
 13. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 / R. Yan [et al.] // *Science*. – 2020. – Vol. 367, iss. 6485. – P. 1444-1448. – doi: 10.1126/science.abb2762.
 14. Аминокислоты и их производные в регуляции метаболизма / А. А. Кричевская [и др.]. – Ростов : Ростовский университет, 1983. – 110 с.
 15. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А. В. Наумов. – Минск : Профессиональные издания, 2013. – 312 с. – edn: RJPMQT.
 16. Клинические аспекты гипергомоцистеинемии : монография / В. А. Снежицкий [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2011. – 292 с. – edn: RZFMPP.
 17. Нефедов, Л. И. Механизмы регуляторных эффектов и стратегия использования аминокислот и их производных в качестве эффективных средств метаболической терапии и новых лекарственных препаратов / Л. И. Нефедов // *Теория и практика медицины* : науч.-практ. ежегод. / под ред. И. Б. Зеленкевича, Г. Г. Шанько. – Минск, 2000. – Вып. 2. – С. 86-88.
 18. Наумов, А. В. Роль процессов метилирования в этиологии и патогенезе шизофрении / А. В. Наумов, Ю. Е. Разводовский // *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. – 2009. – Т. 109, № 8. – С. 91-98. – edn: LBEYXB.
 19. Наумов, А. В. Роль процессов метилирования в этиологии и патогенезе болезни Альцгеймера / А. В. Наумов, Ю. Е. Разводовский // *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. – 2008. – Т. 108, № 5. – С. 99-104. – edn: ISJMDJ.
 20. Holecsek, M. Serine Metabolism in Health and Disease and as a Conditionally Essential Amino Acid / M. Holecsek // *Nutrients*. – 2022. – Vol. № 14, iss. 9. – Art. 1987. – doi: 10.3390/nu14091987.
 21. COVID-19 and metabolic disease: mechanism sand clinical management / C. Steenblock [et al.] // *Lancet Diabetes Endocrinol*. – 2021. – Vol. 9, iss. 11. – P. 786-798. – doi: 10.1016/S2213-8587(21)00244-8.
 22. Новгородская, Я. И. Сравнительный анализ пула серосодержащих аминокислот в плазме крови и печени крыс и гистологическая структура печени после ингибирования фолатного цикла на фоне длительного введения метионина / Я. И. Новгородская, Р. И. Кравчук, О. Б. Островская // *Вестник Гродненского Государственного Университета имени Янки Купалы. Серия 5. Экономика. Социология. Биология*. – 2020. – Т. 10, № 3. – С. 150-158. – edn: ZYBBEP.
 23. Еримбетов, К. Т. Физиологическое значение и метаболические функции лейцина, изолейцина и валина у животных (обзор) / К. Т. Еримбетов, О. В. Обвинцева, О. В. Софронова // *Проблемы биологии репродуктивных животных*. – 2021. – № 4. – С. 40-50. – doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbio.2021.4.40-50. – edn: SMEXVX.
 24. Systemic tryptophan homeostasis / S. Klaessens [et al.] // *Front Mol Biosci*. – 2022. – Vol. 9. – Art. 897929. – doi: 10.3389/fmolb.2022.897929.
 25. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status / T. Thomas [et al.] // *JCI Insight*. – 2020. – Vol. 5, iss. 14. – Art. e140327. – doi: 10.1172/jci.insight.140327.

References

1. World Health Organization. Laboratory testing of human suspected cases of novel Coronavirus (nCoV) infection [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330374?locale-attribute=ru&>
2. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, Pan P, Wang W, Hu D, Liu X, Zhang Q, Wu J. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020;92(4):424-432. doi: 10.1002/jmv.25685.
3. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation Report - 41 [Internet]. Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200301-sitrep-41-covid-19.pdf?sfvrsn=6768306d_2
4. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at John Hopkins University [Internet]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
5. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome Coronavirus (MERS-CoV) [Internet]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>
6. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome: global summary and assessment of risk – 16 November 2022 [Internet]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MERS-RA-2022.1>
7. Koh D, Sng J. Lessons from the past: perspectives on severe acute respiratory syndrome. *Asia Pac J Public Health*. 2010;22(Suppl 3):132S-136S. doi: 10.1177/1010539510373010.
8. Lin GL, McGinley JP, Drysdale SB, Pollard AJ. Epidemiology and Immune Pathogenesis of Viral Sepsis. *Front Immunol*. 2018;9:2147. doi: 10.3389/fimmu.2018.02147.
9. Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, Lu G, Qiao C, Hu Y, Yuen KY, Wang Q, Zhou H, Yan J, Qi J. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell*. 2020;181(4):894-904. doi: 10.1016/j.cell.2020.03.045.
10. Finkel Y, Mizrahi O, Nachshon A, Weingarten-Gabbay S, Morgenstern D, Yahalom-Ronen Y, Tamir H, Achdout H,

- Stein D, Israeli O, Beth-Din A, Melamed S, Weiss S, Israely T, Paran N, Schwartz M, Stern-Ginossar N. The coding capacity of SARS-CoV-2. *Nature*. 2021;589(7840):125-130. doi: 10.1038/s41586-020-2739-1.
11. Naumov AV, Doroshenko EM. Opredelenie gomocisteina metodom VJeZhH s predkolonochnoj derivatizaciej v mikroobjomah biologicheskoy zhidkosti. In: Egorov VV, Gulevich AL, Nazarov VA, editors. *Analitika RB – 2010*. Sbornik tezisov dokladov Respublikanskoj nauchnoj konferencii po analiticheskoy himii s mezhdunarodnym uchastiem; 2010 May 14-15, Minsk. Minsk: Belorusskij gosudarstvennyj universitet; 2010. p. 138. (Russian).
 12. Mussap M, Fanos V. Could metabolomics drive the fate of COVID-19 pandemic? A narrative review on lights and shadows. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(12):1891-1905. doi: 10.1515/cclm-2021-0414.
 13. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367(6485):1444-1448. doi: 10.1126/science.abb2762.
 14. Krichevskaja AA, Lukash AI, Shugalej VS, Bondarenko TI. Aminokisloty i ih proizvodnye v reguljacii metabolizma. Rostov: Rostovskij universitet; 1983. 110 p. (Russian).
 15. Naumov AV. Gomocistein. Mediko-biologicheskie problemy. Minsk: Professionalnye izdaniya; 2013. 312 p. edn: RJPMQT. (Russian).
 16. Snezhitskiy VA, Pyrochkin, AV, Spas, VV, Doroshenko EM, Egorova TYu, Mironchik EV, Naumov AV, Yackubtsevich RE, Zuhovitskaya YeV, Plotskiy AR, Yanushka TV, Volodko, YuS, Pitsko DV, Predko VA, Dzeshka MS. Klinicheskie aspekty gipergomocisteinonii. Grodno: GrGMU; 2011. 292 p. edn: RZFMPP. (Russian).
 17. Nefedov LI. Mehanizmy reguljatornyh jeffektov i strategija ispolzovanija aminokislot i ih proizvodnyh v kachestve jeffektivnyh sredstv metabolicheskoy terapii i novyh lekarstvennyh preparatov. In: Zelenkevich IB, Shanko GG, editors. *Teorija i praktika mediciny*. Minsk: BelCNMI; 2000. Iss. 2. p. 86-88. (Russian).
 18. Naumov AV, Razvodovskiy YuE. The role of methylation processes in etiology and pathogenesis of schizophrenia. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2009;109(8):91-98. edn: LBEXXB. (Russian).
 19. Naumov AV, Razvodovskiy YuE. Rol processov metilirovanija v jetiologii i patogeneze bolezni Alcejdamera. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2008;108(5):99-104. edn: ISJMDJ. (Russian).
 20. Holeček M. Serine Metabolism in Health and Disease and as a Conditionally Essential Amino Acid. *Nutrients*. 2022;14(9):1987. doi: 10.3390/nu14091987.
 21. Steenblock C, Schwarz PEH, Ludwig B, Linkermann A, Zimmet P, Kulebyakin K, Tkachuk VA, Markov AG, Lehnert H, de Angelis MH, Rietzsch H, Rodionov RN, Khunti K, Hopkins D, Birkenfeld AL, Boehm B, Holt RIG, Skyles JS, DeVries JH, Renard E, Eckel RH, Alberti KGMM, Geloneze B, Chan JC, Mbanya JC, Onyegbutulem HC, Ramachandran A, et al. COVID-19 and metabolic disease: mechanisms and clinical management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021;9(11):786-798. doi: 10.1016/S2213-8587(21)00244-8.
 22. Novogrodskaya YA, Kravchuk RI, Ostrovskaya OB. Comparative analysis of the pool of sulfur containing amino acids in blood plasma and in rat liver and histological structure of the liver after inhibit the folate cycle into the background prolonged administration methionine. *Vesnik of Yanka Kupala State University of Grodno. Series 5. Economics. Sociology. Biology*. 2020;10(3):150-158. edn: ZYBBEP. (Russian).
 23. Erimbetov KT, Obvintseva OV, Sofronova OV. Physiological significance and metabolic functions of leucine, isoleucine, and valine in animals: a review. *Problems of Productive Animal Biology*. 2021;(4):40-50. doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.4.40-50. edn: SMEXVX. (Russian).
 24. Klaessens S, Stroobant V, De Plaen E, Van den Eynde BJ. Systemic tryptophan homeostasis. *Front Mol Biosci*. 2022;9:897929. doi: 10.3389/fmolb.2022.897929.
 25. Thomas T, Stefanoni D, Reisz JA, Nemkov T, Bertolone L, Francis RO, Hudson KE, Zimring JC, Hansen KC, Hod EA, Spitalnik SL, D'Alessandro A. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status. *JCI Insight*. 2020;5(14):e140327. doi: 10.1172/jci.insight.140327.

FREE AMINO ACID METABOLIC PROFILE IN PREGNANCY COMPLICATED BY COVID-19

**E. P. Ganchar, L. V. Gutikova, A. V. Naumov, E. M. Doroshenko, M. N. Kurbat,
V. Yu. Smirnov**

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Background. The unexpected emergence and rapid spread around the world of a new coronavirus infection COVID-19, with a large number of deaths, has shown the importance of developing the methods for predicting a severe course of viral infections, creating diagnostic tests, preventive vaccines and drugs that act on key factors in the course and progression of the disease. Clinical studies examining metabolomic changes in pregnant women with COVID-19 infection are virtually non-existent.

Purpose of the study. To study the features of the metabolic profile of free amino acids during pregnancy complicated by COVID-19.

Material and methods. The concentrations of free amino acids and their derivatives in the blood plasma of 86 women were studied. The main group included 51 pregnant women with a confirmed diagnosis of COVID-19; the control group was composed of 35 somatically healthy women with uncomplicated pregnancies. The analysis of amino acids and their derivatives was carried out using high performance liquid chromatography.

Results. During the development of COVID-19 infection, protein catabolism predominates, as evidenced by an increase in the concentration of 28 amino acids and their derivatives in venous blood plasma. We revealed a statistically significant increase in the concentration of cysteine, homocysteine, γ -glutamylcysteine, phosphoserine, cysteine sulfinic acid, aspartate, homocysteate, glutamate, asparagine, serine, threonine, 1-methylhistidine, glycine, citrulline, arginine, alanine, symmetric dimethylarginine, asymmetric dimethylarginine, β -aminobutyric acid, γ -aminobutyric acid, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, leucine, isoleucine, lysine, ornithine in pregnant women with a new coronavirus infection as compared to the patients in the control group.

Conclusion. The study of the features of the metabolic profile of free amino acids in pregnant women with a new coronavirus infection will enable us to identify additional biomarkers of the severity of the disease and predict the course of the disease in patients during the gestation period.

Keywords: COVID-19 infection, pregnancy, metabolome, amino acids.

For citation: Ganchar EP, Gutikova LV, Naumov AV, Doroshenko EM, Kurbat MN, Smirnov VYu. Free amino acid metabolic profile in pregnancy complicated with COVID-19. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2023;21(2):124-132. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2023-21-2-124-132>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was conducted without sponsorship.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.
Compliance with the principles of ethics. The study was approved by the local ethical

Об авторах / About the authors

*Ганчар Елена Петровна / Ganchar Elena, e-mail: lena-ganchar@rambler.ru, ORCID: 0000-0002-6003-2739

Гутикова Людмила Витольдовна / Gutikova Ludmila, e-mail: klam4@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1894-0810

Курбат Михаил Николаевич / Kurbat Mikhail, e-mail: vvmisha@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8518-2450

Наумов Александр Васильевич / Naumov Alexander, e-mail: av_naumov@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5459-783X

Дорошенко Евгений Михайлович / Doroshenko Evgeniy, ORCID: 0000-0001-9939-8749

Смирнов Виталий Юрьевич / Smirnov Vitaly, e-mail: vit_sm@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9162-0613

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 29.12.2022

Принята к публикации / Accepted for publication: 21.03.2023