

DEVIERI ALE CONȚINUTULUI
AMINOACIZILOR NEUROMEDIATORI
LA PACIENȚII CU HEPATOPATII CRONICE

Elena BEREZOVSCAIA¹, Iulianna LUPAȘCO¹,
Vlada-Tatiana DUMBRAVA^{1,2},
Parascovia ȚURCANU^{1,3}, Galina POSTOLATI^{1,3}

¹Laboratorul de Gastroenterologie, IP USMF Nicolae Testemițanu;

²Disciplina de Gastroenterologie, IP USMF Nicolae Testemițanu

³Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie

[https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4\(97\).20](https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4(97).20)

Rezumat

Introducere. Unii aminoacizi sunt neurotransmițători. Aceștia includ glicina (Gly), acidul gamma-aminobutiric (GABA), glutamatul (Glu) și aspartatul (Asp). Ficatul este un organ important pentru metabolismul aminoacizilor. **Materiale și metode.** Au fost examinați 24 de pacienți cu hepatopatii cronice: 12 pacienți cu infecție cronică de HBV (lotul I) și 12 pacienți cu steatoză hepatică (lotul II), lotul de control (LC) a fost format din 12 indivizi practic sănătoși. Determinarea cantitativă a Asp, Glu, Gly și GABA în serul sanguin a fost efectuată prin metoda cromatografiei lichidiene. **Rezultate.** La majoritatea pacienților cu hepatopatii cronice, nivelurile de Gly și Asp au fost în norma regională, în timp ce nivelurile de GABA au fost mai ridicate și cele de Glu au fost sub valorile de referință. La pacienții din lotul I, nivelul Gly a fost de 18,76±1,45, GABA - 0,83±0,06, Asp - 5,56±0,97 și Glu - 6,34±0,70 mcM/dL. La pacienții din lotul II, nivelul Gly a fost de 22,37±0,91, GABA - 0,77±0,03, Asp - 5,16±0,74 și Glu - 7,87±1,47 mcM/dL. În LC, nivelul Gly a fost 22,93±2,21, GABA - 0,55±0,06, Asp - 2,69±0,45 și Glu - 12,46±1,92 mcM/dL. **Concluzii.** În hepatopatii cronice există o încălcare a metabolismului aminoacizilor neurotransmițători. În serul sanguin al pacienților s-a observat o scădere a glicinei și a glutamatului, cu o creștere a GABA și a aspartatului. Aceste modificări au fost mai pronunțate la persoanele cu infecție virală cronică de tip B.

Cuvinte-cheie: aminoacizi, neurotransmițători, glicină, acid gamma-aminobutiric, glutamat, aspartat

Summary

Deviations in the content of neurotransmitters amino acids in patients with chronic hepatopathies

Introduction. Some amino acids are neurotransmitters. These include glycine (Gly), gamma-aminobutyric acid (GABA), glutamate (Glu), and aspartate (Asp). The liver is an important organ for the metabolism of amino acids. **Materials and methods.** It was examined 24 patients with chronic hepatopathy: 12 patients with chronic HBV infection (group I) and 12 patients with hepatic steatosis (group II), the control group (CG) consisted of 12 practically healthy individuals. Quantitative determination of Asp, Glu, Gly and GABA in blood serum was carried out using liquid chromatography. **Results.** In most patients with chronic hepatopathy Gly and Asp levels were within the regional norms, GABA levels were higher, and Glu levels were below the reference values. In I-st group of patients the level of Gly was 18.76±1.45, GABA - 0.83±0.06, Asp - 5.56±0.97, and Glu - 6.34±0.70 mcM/dL. In II-nd group: the level of Gly was 22.37±0.91, GABA - 0.77±0.03, Asp - 5.16±0.74, and Glu - 7.87±1.47 mcM/dL. In CG: the level of Gly was 22.93±2.21, GABA - 0.55±0.06, Asp - 2.69±0.45, and Glu - 12.46±1.92 mcM/dL. **Conclusion.** A

violation of neurotransmitter amino acids metabolism is found in chronic hepatopathy. A decrease in glycine and glutamate was observed in patients' blood serum, with an increase in GABA and aspartate. These disorders are most profound in individuals with chronic viral infection B.

Keywords: amino acids, neurotransmitters, glycine, gamma-aminobutyric acid, glutamate; aspartate

Резюме

Изменения содержания нейромедиаторных аминокислот у больных хроническими гепатопатиями

Введение. Некоторые аминокислоты являются нейромедиаторами. К ним относятся глицин (Gly), гамма-аминомасляная кистота (GABA), глутамат (Glu) и аспартат (Asp). Печень является важным органом для метаболизма аминокислот. **Материалы и методы.** Были обследованы 24 пациента с хроническими гепатопатиями: 12 - с хронической HBV инфекцией (группа I) и 12 - с диагнозом стеатоза печени (группа II), группу контроля (ГК) составили 12 практически здоровых лиц. Количественное определение содержания Asp, Glu, Gly и GABA в сыворотке крови проводилось с помощью жидкостной хроматографии. **Результаты.** У большинства пациентов с хроническими гепатопатиями уровни Gly и Asp находились в пределах региональной нормы, уровень GABA был повышен, а уровень Glu был ниже референсных значений. У пациентов I группы уровень Gly составил 18,76±1,45, GABA - 0,83±0,06, уровень Asp - 5,56±0,97, а Glu - 6,34±0,70 mcM/dL. У пациентов II группы уровень Gly составил 22,37±0,91, GABA - 0,77±0,03, уровень Asp - 5,16±0,74, а Glu - 7,87±1,47 mcM/dL. В ГК уровень Gly составил 22,93±2,21, GABA - 0,55±0,06, уровень Asp - 2,69±0,45, а Glu - 12,46±1,92 mcM/dL. **Заключение.** При хронических гепатопатиях наблюдается нарушение метаболизма нейромедиаторных аминокислот. В сыворотке крови пациентов наблюдается снижение уровней глицина и глутамата, при одновременном повышении уровней GABA и аспартата. Эти изменения наиболее выражены у лиц с хронической вирусной инфекцией B.

Ключевые слова: аминокислоты, нейромедиаторы, глицин, гамма-аминомасляная кислота, глутамат, аспартат.

Introducere

Aminoacizii (AA) sunt substanțe organice care conțin grupe funcționale amină și acid carboxilic. Ficatul joacă un rol crucial în sinteza, degradarea și detoxifierea proteinelor, precum și în metabolismul

aminoacizilor. În ficat, se găsesc atât aminoacizii neesențiali, precum alanina, aspartatul, glutamatul, glicina și serina, dar și aminoacizii esențiali, precum histidina și treonina [4]. Din punct de vedere funcțional, AA sunt unitatea de bază a sintezei proteinelor în metabolismul celular; sunt o sursă pentru sinteza substanțelor biologice active - proteine, peptide, o serie de lipide, hormoni, vitamine și amine. De asemenea, ei servesc ca metaboliți intermediari care afectează biosinteza glutatationului, nucleotidelor, glucozaminei și poliaminelor, precum și proliferarea celulară și carbonul circulant al acizilor tricarboxilici [10]. Un rol special este atribuit AA în activitatea sistemului nervos central. O serie de AA și derivații lor acționează ca neurotransmițători și neuromodulatori. Numeroși cercetători atribuie proprietăți ale neurotransmițătorilor glicinei, acizilor gamma-aminobutiric, glutamic, aspartic și altora [19] (pp. 26-27). [15] (p. 355).

Pe baza efectului aminoacizilor neurotransmițători asupra neuronilor, aceștia pot fi împărțiți în două categorii: excitatori sau inhibitori. Acizii excitatori - glutamic și aspartic depolarizează membrana postsinaptică, în timp ce AA inhibitori: gamma-aminobutiric, glicina - au un efect hiperpolarizant [15] (p. 355-356).

Aminoacizii reglează toate procesele nervoase majore: excitația și inhibiția, vigilența și somnul, agresivitatea și anxietatea, plasticitatea sinaptică, emoțiile, comportamentul, memoria și capacitatea de învățare. Astfel, dezechilibrul conținutului de aminoacizi în organism este una dintre cauzele unor procese patologice, manifestate prin disfuncții ale sistemului nervos central (SNC), sfere adaptative, emoționale și cognitive, contribuind la dezvoltarea unui număr de boli nervoase și tulburări mentale sau sindroame.

Aminoacizi neuromediatorii-inhibitori

Glicina (Gly) este cel mai important și simplu aminoacid neesențial din corpul uman. Aceasta face parte din grupul de AA proteinogeni, fiind prezentă în compoziția proteinelor și participă la formarea multor compuși fiziologic activi. Glicina joacă un rol important în metabolismul azotului și acționează ca un aminoacid neuroactiv [19] (p. 74). Potrivit cercetătorilor W. He și G. Wu (2020), *Gly* și *GABA* sunt principalii neurotransmițători inhibitori din SNC [6], îndeplinind, totodată, funcții antioxidante și antiinflamatorii în țesuturile nervoase [10]. O parte din *Gly* este furnizată organismului prin alimente, iar disponibilitatea și absorbția glicinei alimentare sunt reglementate de microbiotă și metabolismul intestinal [1]. *Gly* endogenă este sintetizată din substanțe precum colina, serina, hidroxiprolina, treonina etc. prin metabolismul interorganic, care implică în primul rând ficatul și rinichii [19] (p. 74).

Acidul γ -aminobutiric (GABA) este un aminoacid neproteinogen, neesențial, reprezentând cel mai important neurotransmițător inhibitor al SNC uman. *GABA* este sintetizat din glutamat, iar principala cale de biosinteză a acestuia implică convertirea glutaminei și alfa-cetoglutaratului [9]. De asemenea, a fost descrisă calea ornitinei aminotransferazei: conversia L-ornitinei în L-glutamat, urmată de sinteza *GABA* [5]. Ciclul glutamină-glutamat-*GABA* reprezintă un flux prin care precursorii *GABA* sunt transferați de la astrocite la neuroni, iar intensitatea acestui flux depinde de rata de utilizare a glucozei în neuroni [7].

Aminoacizi neuromediatorii-excitatori

Acidul glutamic sau glutamatul (Glu) este un aminoacid proteinogen neesențial care este prezent atât în proteine, cât și în formă liberă. *Glu* joacă un rol important în metabolismul azotului, participă la transferul grupărilor amino și leagă amoniacul toxic [19] (pp. 75-76). În plus, acesta joacă un rol central în metabolismul AA din ficat [2] și reprezintă un nod metabolic important care conectează metabolismul glucozei și AA cu transmiterea sinaptică [6]. Ca și acidul γ -aminobutiric (*GABA*), *Glu* este un neurotransmițător cheie în SNC, inclusiv în nivelul general de excitație din creier, ceea ce îl face deosebit de important pentru menținerea homeostaziei fiziologice [9].

Acidul aspartic sau aspartatul (Asp) este un aminoacid neesențial și face parte din grupul de AA proteinogeni, fiind o componentă importantă a proteinelor. De asemenea, joacă un rol esențial în metabolismul azotului și participă la formarea ureei [19] (p. 71). Formarea precursorilor *Asp* are loc predominant în ficat. *Asp* se formează la transaminarea *Glu* de către aspartat transaminaza [12]. În SNC, *Glu* și *Asp* sunt principalii neurotransmițători excitatori [6].

Scopul acestui studiu a fost de a investiga conținutul de aminoacizi neurotransmițători la pacienții cu hepatopatie cronică. **Materiale și metode.** În acest studiu, au fost incluși 24 de pacienți cu hepatopatie cronică, dintre care 12 pacienți prezentau infecție cronică cu VHB (lotul I) și 12 pacienți aveau steatoză hepatică (lotul II). Cel de-al treilea grup, numit lotul de control (LC), a fost format din 12 indivizi practic sănătoși, fără afecțiuni hepatice. În loturile de studiu și de control, a fost determinat conținutul de *Asp*, *Glu*, *Gly* și *GABA* din serul sanguin. Determinarea cantitativă a conținutului de aminoacizi a fost efectuată folosind cromatografia lichidă cu schimb ionic. Rezultatele au fost prezentate în formatul $M \pm m$ mcM/dL, unde *M* este media aritmetică, iar *m* reprezintă eroarea standard a mediei. Datele obținute au fost analizate cu ajutorul pachetului de „Statistica Descriptivă” al programului de completare „Analiza datelor” Excel 2016. Pentru a determina nivelul de semnificație statistică a diferențelor (*p*), a fost

utilizat testul statistic Mann-Whitney neparametric pentru două eșantioane neînrudite.

Rezultate

În cadrul studiului nostru, la majoritatea pacienților cu hepatopatie cronică, nivelul *Gly* s-a încadrat în norma regională, care este de 12,0-28,2 mcM/dL [19] (pp. 130-131). Cu toate acestea, nivelul *Gly* a fost semnificativ mai mic la pacienții cu infecție cronică cu VHB $18,76 \pm 1,45$ mcM/dL comparativ cu pacienții cu steatoză hepatică, unde această cifră a fost de $22,37 \pm 0,91$ mcM/dL ($p < 0,05$), și la indivizi practic sănătoși - $22,93 \pm 2,21$ mcM/dL ($p < 0,05$). Nu a existat nicio semnificație statistică între lotul II și lotul de control ($p > 0,05$).

Nivelurile medii de *GABA* au fost peste norma regională, care este de 0,09-0,53 mcM/dL [19] (pp. 130-131). În plus, la pacienții din loturile I și II, nivelul *GABA* a fost mai mare în comparație cu LC. Cele mai mari valori medii au fost observate la pacienții cu infecție cronică cu VHB, înregistrându-se valoarea de $0,83 \pm 0,06$ mcM/dL, iar la pacienți cu steatoză hepatică, valoarea a fost ușor mai mică, respectiv $0,77 \pm 0,03$ mcM/dL, iar în LC, această cifră a fost de $0,55 \pm 0,06$ mcM/dL. Semnificația statistică a diferențelor dintre loturile I și de control a fost mai mare de 99% ($p < 0,01$), iar între lotul II și LC - 95% ($p < 0,05$).

Nivelul *Glu* a fost sub norma regională, care este 13,8-26,3 mcM/dL [19] (pp. 130-131). În plus, nivelurile serice de *Glu* la pacienții cu hepatopatie au fost semnificativ mai mici decât LC, și au fost $6,34 \pm 0,70$ mcM/dL - în lotul I și $7,87 \pm 1,47$ mcM/dL - în lotul II față de $12,46 \pm 1,92$ mcM/dL în LC. Semnificația statistică a diferențelor dintre loturile I și cele de control a fost mai mare de 99% ($p < 0,01$), iar între lotul II și cel de control a fost mai mare de 95% ($p < 0,05$). Nu a existat nicio semnificație statistică dintre loturile I și II ($p > 0,05$).

La majoritatea pacienților cu hepatopatie cronică, nivelul *Asp* s-a încadrat în norma regională, care este de 2,5-5,9 mcM/dL [19] (pp. 130-131). Cu toate acestea, nivelurile de *Asp* în serul sanguin sunt semnificativ mai mari la pacienții cu patologie hepatică: $5,56 \pm 0,97$ mcM/dL - în lotul I și $5,16 \pm 0,74$ mcM/dL - în lotul II față de $2,69 \pm 0,45$ mcM/dL. Semnificația statistică a diferențelor dintre loturile I, II și lotul de control a fost mai mare de 99% ($p < 0,01$; $p < 0,01$), însă nu s-au identificat diferențe semnificative statistice dintre loturile I și II ($p > 0,05$).

Discuții

Scăderea semnificativă a glicinei în grupul de persoane infectate cu infecția VHB este confirmată de rezultatele publicate, care indică o reprogramare a căilor metabolice la pacienții cu CHB, care duc la căi anormale ale metabolismului *Gly* [17]. Unele studii publicate anterior nu au observat o scădere semnifi-

cativă statistică a *Gly* la pacienții cu steatoză hepatică [1], în timp ce altele au observat o dereglare a *Gly* și a altor aminoacizi asociată cu prezența steatozei hepatice [8], ceea ce este confirmat și de rezultatele studiului nostru. Totuși, trebuie remarcat faptul că Xianghui Li și colab. (2018) indică faptul că nivelurile de *Gly* sunt mai scăzute la pacienții cu sindrom metabolic decât la persoanele sănătoase și subliniază că relația dintre nivelurile de *Gly* și sindromul metabolic este mai pronunțată la persoanele în vârstă [13]. Cu toate acestea, nu trebuie să uităm că ficatul este un organ esențial pentru homeostazia aminoacizilor, iar un dezechilibru al oricărui aminoacid poate fi rezultatul deteriorării funcției hepatice. Simone Leonetti cu coautori (2020) au remarcat dereglarea căilor de metabolism *Gly* la pacienții cu NAFLD și au sugerat că scăderea nivelurilor de *Gly* are loc ca urmare a consumului crescut ca răspuns la stresul oxidativ [11].

În literatura modernă, nu există un consens cu privire la modificările nivelului acidului γ -aminobutiric în patologia ficatului. Astfel, P. Ferenci și coautorii (1983) au indicat că nivelurile de *GABA* au fost în limitele normale la majoritatea pacienților cu hepatită cronică compensată și au crescut odată cu severitatea patologiei hepatice cronice. Unii autori au observat chiar o scădere a nivelului de *GABA* în patologia hepatică [14]. În același timp, A. Kimyeong Kim cu coautorii (2023) au remarcat o relație dintre nivelul *GABA* și progresia bolilor metabolice, precum și o legătură între nivelul de *GABA* și intensitatea leziunii hepatocitelor ca urmare a stresului oxidativ în NAFLD [9].

Diverse studii au arătat că *Asp* joacă un rol important în procesele fiziologice ale ficatului [10, 16]. *Asp* este esențial pentru sinteza purinei, pirimidinei, asparaginei și argininei și este implicat în sinteza inozitolului și beta-alaninei [16]. S-a raportat că introducerea suplimentară de *Asp* în alimentație are capacitatea de a suprima ateroscleroza și poate împiedica dezvoltarea steatozei și fibrozei hepatice, contribuind la atenuarea deteriorării ficatului prin suprimarea expresiei mediatorilor proinflamatori [10, 18].

Scăderea nivelului de *Glu*, obținută în cadrul studiului nostru poate fi asociată cu o scădere a principalului său precursor, glutamina. A. Canbay și J.-P. Sowa (2019) au sugerat că în patologia hepatică cronică, inclusiv steatoza hepatică, rezervele de *Glu* sunt epuizate [3]. În plus, scăderea nivelului de *Glu* poate reflecta și un aport alimentar insuficient de glutamină și glutamat, aspecte care nu au fost evaluate în studiul nostru.

Concluzii

Astfel, se poate concluziona că în hepatopatia cronică există o încălcare a metabolismului aminoacizilor neurotransmițători. În serul sanguin al

pacienților investigați, s-a observat, pe de o parte, o diminuare a neurotransmițătorului inhibitor glicină și a neurotransmițătorului excitator glutamat și, pe de altă parte, o creștere a neurotransmițătorului inhibitor GABA și a neurotransmițătorului excitator aspartat. Aceste tulburări sunt mai pronunțate în cazul persoanelor afectate de infecția virală cronică de tip B. În pofida interesului considerabil al oamenilor de știință pentru această problemă, mecanismele fiziopatologice ale acestor modificări rămân insuficient de elucidate și necesită studii ulterioare.

Declarația de conflict de interese. Autorii declară lipsa conflictului de interese.

Declarația de finanțare. Lucrarea este publicată în cadrul Proiectului 20.80009.8007.37 „Bolile cronice hepatice și pancreatice: aspecte nutriționale și chirurgicale”.

Bibliografie

- Alves A. et al. Glycine Metabolism and Its Alterations in Obesity and Metabolic Diseases. În: *Nutrients*. 2019, vol. 11, p. 1356. doi: 10.3390/nu11061356.
- Brosnan M. E. and Brosnan J. T. Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepatocytes. În: *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009, vol. 3 (90), pp. 857S-861S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462Z.
- Canbay A. and Sowa J. P. I-Ornithine I-Aspartate (LOLA) as a Novel Approach for Therapy of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. În: *Drugs*. 2019, vol. 79, (Suppl 1), pp. S39–S44. doi: 10.1007/s40265-018-1020-5.
- Dejong C. H. C. et al. Aromatic amino acid metabolism during liver failure. În: *The Journal of nutrition*. 2007, vol. 6, Suppl 1 (137), pp. 1579s-1585s.
- Ginguay A. et al. Ornithine Aminotransferase, an Important Glutamate-Metabolizing Enzyme at the Crossroads of Multiple Metabolic Pathways. În: *Biology*. 2017, vol. 6, p. 18. doi: 10.3390/biology6010018.
- He W. and Wu G. Metabolism of amino acids in the brain and their roles in regulating food intake. În: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2020, vol. 1265, pp. 167–185. doi: 10.1007/978-3-030-45328-2_10.
- Hertz L. and Rothman D. L. Glucose, Lactate, β -Hydroxybutyrate, Acetate, GABA, and Succinate as Substrates for Synthesis of Glutamate and GABA in the Glutamine–Glutamate/GABA Cycle. În: *Advances in Neurobiology*. 2016, vol. 13, pp. 9–42. doi: 10.1007/978-3-319-45096-4_2
- Jin R. et al. Amino acid metabolism is altered in adolescents with NAFLD - an untargeted, high resolution metabolomics study. În: *The Journal of pediatrics*. 2016, vol. 172, p. 14. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.01.026
- Kim K. and Yoon H. Gamma-Aminobutyric Acid Signaling in Damage Response, Metabolism, and Disease. În: *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, vol. 24, p. 4584. doi: 10.3390/ijms24054584 .
- Lee D.-Y. and Kim E.-H. Therapeutic Effects of Amino Acids in Liver Diseases: Current Studies and Future Perspectives. În: *Journal of Cancer Prevention*. 2019, vol. 2 (24), pp. 72–78. Doi: 10.15430/JCP.2019.24.2.72
- Leonetti S. et al. Glutamate–Serine–Glycine Index: A Novel Potential Biomarker in Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. În: *Children*. 2020, vol. 7, pp. 270. doi: 10.3390/children7120270.
- Levitt D. G. and Levitt M. D. A model of blood-ammonia homeostasis based on a quantitative analysis of nitrogen metabolism in the multiple organs involved in the production, catabolism, and excretion of ammonia in humans. În: *Clinical and Experimental Gastroenterology*. 2018, vol. 11, pp. 193–215. doi: 10.2147/CEG.S160921.
- Li X. et al. Association of serum glycine levels with metabolic syndrome in an elderly Chinese population. În: *Nutrition & Metabolism*. 2018, vol. 1, Dec 17;15:89. doi: 10.1186/s12986-018-0325-4.
- Morley K. C. et al. Brain GABA levels are reduced in alcoholic liver disease: A proton magnetic resonance spectroscopy study. În: *Addiction Biology*. 2020, vol. 1 (25), p. e12702. doi: 10.1111/adb.12702.
- Reinis S. and Goldman J. M. Amino Acids as Neurotransmitters. Chapter of *The Chemistry of Behavior. A Molecular Approach to Neuronal Plasticity*. New York, NY: Plenum Press, New York NY, 1982, pp. 355–380. doi: 10.1007/978-1-4613-3590-0_20.
- Wu G. Functional amino acids in nutrition and health. În: *Amino Acids*. 2013. № 3 (45). C. 407–411. doi: 10.1007/s00726-013-1500-6.
- Yang L. et al. Covariation Analysis of Serum and Urinary Metabolites Suggests Aberrant Glycine and Fatty Acid Metabolism in Chronic Hepatitis B. În: *PLOS ONE*. 2016. № 5 (11). C. e0156166. doi: 10.1371/journal.pone.0156166.
- Yanni A. E. et al. Oral supplementation with L-aspartate and L-glutamate inhibits atherogenesis and fatty liver disease in cholesterol-fed rabbit. În: *Amino Acids*. 2010. № 5 (38). C. 1323–1331. doi: 10.1007/s00726-009-0340-x.
- Гараева С., Редкозубова Г., Постолати Г. Аминокислоты в живом организме/С. Гараева, Г. Редкозубова, Г. Постолати, Тирогр. АŞ-е изд., Chişinău: Академия наук Молдовы, Институт Физиологии и Санокреатологии, 2009. 552 с.

Autor corespondent:

Elena Berezovskaia, cercetător științific,
Laboratorul de Gastroenterologie,
IP USMF Nicolae Testemițanu
tel. 078489980;
e-mail: elenaberezovskaia69@gmail.com