

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ АМИНОКИСЛОТ И ПОЛИАМИНОВ КРОВИ ПРИ АССОЦИИРОВАННЫХ С ПЛАЦЕНТОЙ ОСЛОЖНЕНИЯХ БЕРЕМЕННОСТИ

А. П. Гасанбекова¹, Н. А. Франкевич^{1✉}, В. В. Чаговец¹, Е. Л. Дербенцева¹, А. В. Новоселова¹, Т. Э. Карапетян¹, Г. Э. Мамедова², В. Е. Франкевич^{1,3}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

² Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

³ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Особенности метаболизма полиаминов и аминокислот играют ключевую роль в клеточных процессах, а поиск их роли в качестве прогностических и диагностических (оценка тяжести состояния плода) маркеров в акушерстве может способствовать улучшению перинатальных исходов при синдроме задержки роста плода (ЗРП), как изолированном, так и сочетанном с ранней преэклампсией (ПЭ). Целью исследования было определить особенности уровней полиаминов и аминокислот, сопряженных с плацента-ассоциированными осложнениями беременности. С помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием были определены уровни полиаминов и аминокислот в крови 156 беременных женщин, разделенных на группы: с ЗРП — 48 беременных, с ранней ПЭ — 56 беременных, в контрольной группе — 52 соматически здоровых женщины с беременностью без осложнений. В результате удалось выделить значимые отличия данных метаболитов, в зависимости от акушерского осложнения (ПЭ или ЗРП) и установить их корреляционную зависимость с рядом клинических данных. Обнаружена сильная обратная корреляционная связь с нарастанием декомпенсации состояния плода при ЗРП и числом койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным для групп ПЭ и ЗРП и уровнем полиамина 1,7-диаминогептан ($r = -0,78$, $CI = -0,92 - -0,37$, $p = 0,002$; $r = -0,76$, $CI = -0,95 - 0,23$, $p = 0,003$) и аминокислотой пролин и нарастанием декомпенсации состояния плода при ЗРП ($r = -0,56$, $CI = -0,86 - -0,034$, $p = 0,03$). Учитывая многообразие и сложность метаболических путей, ответственных за адаптацию в условиях гипоксического поражения, на основании полученных результатов, можно предположить, что регуляция аминокислот и полиаминов является координированной. Пути метаболизма низкомолекулярных антиоксидантов — пролина и полиаминов ассоциированы с клиническими исходами беременности при ЗРП и ранней ПЭ.

Ключевые слова: задержка внутриутробного развития, ограничение роста плода, преэклампсия, метаболомика, новорожденный, масс-спектрометрия, биомаркеры, полиамины, аминокислоты

Финансирование: исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 22-15-00232 «Новые неинвазивные диагностические подходы для оптимизации акушерской тактики, прогнозирования перинатальных исходов и профилактики нарушений постнатального роста при синдроме задержки роста плода».

Вклад авторов: А. П. Гасанбекова — сбор и подготовка биологических сред, написание статьи; Н. А. Франкевич — анализ клинических данных, систематический анализ, написание статьи; В. В. Чаговец — проведение метаболомного анализа методом масс-спектрометрии, статистический анализ полученных данных, редактирование статьи; Е. Л. Долгополова — анализ клинических данных, статистическая обработка данных; А. В. Новоселова — проведение метаболомного анализа методом масс-спектрометрии, обработка масс-спектрометрических данных; Т. Э. Карапетян — анализ клинических данных, редактирование рукописи; Г. Э. Мамедова — сбор и подготовка биологических сред; В. Е. Франкевич — подготовка и контроль, редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом НЦАГиП имени В. И. Кулакова (протокол № 11 от 11 ноября 2021 г.), проведено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации, Международной конференции по гармонизации (ICF), Стандартами надлежащей клинической практики (GCP), ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»; все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Наталья Анатольевна Франкевич
ул. Академика Опарина, д. 4, г. Москва, 117997, Россия; natasha-lomova@yandex.ru

Статья получена: 21.06.2024 **Статья принята к печати:** 24.07.2024 **Опубликована онлайн:** 15.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.031

ASSESSMENT OF BLOOD AMINO ACID AND POLYAMINE LEVELS IN PLACENTA-ASSOCIATED PREGNANCY COMPLICATIONS

Gasanbekova AP¹, Frankevich NA^{1✉}, Chagovets VV¹, Dolgoplova EL¹, Novoselova AV¹, Karapetyan TE¹, Mamedova GE², Frankevich VE^{1,3}

¹ Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

² Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

³ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

The features of polyamine and amino acid metabolism play a key role in the cellular processes, and the search for their role as prognostic and diagnostic (assessment of fetal condition severity) markers in obstetrics can contribute to improvement of perinatal outcomes in fetal growth restriction (FGR) syndrome, both isolated and combined with early onset preeclampsia (PE). The study was aimed to determine the features of polyamine and amino acid levels associated with placenta-associated pregnancy complications. Liquid chromatography coupled with mass spectrometry was used to determine blood levels of polyamines and amino acids in 156 pregnant women divided into the following groups: with FGR — 48 pregnant women, with early onset PE — 56 pregnant women, control group — 52 somatically healthy women having no pregnancy complications. As a result, we managed to distinguish significant differences in these metabolites, depending on the obstetric complication (PE or FGR), and to determine correlations of those with a number of clinical data. We revealed a strong negative correlation between the increasing fetal condition decompensation in FGR and the length of the newborn's hospital stay for the PE and FGR groups, as well as between the levels of 1,7-diaminoheptane polyamine ($r = -0,78$, $CI = -0,92 - -0,37$, $p = 0,002$; $r = -0,76$, $CI = -0,95 - 0,23$, $p = 0,003$) and proline amino acid and the increasing fetal condition decompensation in FGR ($r = -0,56$, $CI = -0,86 - -0,034$, $p = 0,03$). Considering the diversity and complexity of metabolic pathways responsible for adaptation in the context of hypoxic damage, the results obtained suggest that regulation of amino acids and polyamines is coordinated. Metabolic pathways of low molecular weight antioxidants, proline and polyamines, are associated with clinical pregnancy outcomes in FGR and early-onset PE.

Keywords: intrauterine growth restriction, fetal growth restriction, preeclampsia, metabolomics, newborn, mass spectrometry, biomarkers, polyamines, aminoacids

Funding: the study was supported by the RSF grant No. 22-15-00232 "New Noninvasive Diagnostic Approaches for Optimization of Obstetric Tactics, Prediction of Perinatal Outcomes, and Prevention of Abnormal Postnatal Growth in Fetal Growth Restriction Syndrome".

Author contribution: Gasanbekova AP — collection and preparation of biological media, manuscript writing; Frankevich NA — clinical data analysis, systematic analysis, manuscript writing; Chagovets VV — metabolomics analysis by mass spectrometry, statistical analysis of the data acquired, manuscript editing; Dolgoplova EL — clinical data analysis, statistical data processing; Novoselova AV — metabolomics analysis by mass spectrometry, mass spectrometry data processing; Karapetyan TE — clinical data analysis, manuscript editing; Mamedova GE — collection and preparation of biological media; Frankevich VE — preparation and control, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (protocol No. 11 dated 11 November 2021), the study met the requirements of the Declaration of Helsinki, International Conference on Harmonization (ICF), Good Clinical Practice (GCP), and Federal Law "On the Basics of Protecting Citizens' Health in the Russian Federation"; the informed consent was submitted by all patients.

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia A. Frankevich
Akademika Oparina, 4, Moscow, 117997, Russia; natasha-lomova@yandex.ru

Received: 21.06.2024 **Accepted:** 24.07.2024 **Published online:** 15.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.031

Полиамины представляют собой полимерные молекулы, содержащие несколько аминогрупп. Они участвуют в широком спектре биохимических процессов, таких как формирование мембранного потенциала, стабилизация ДНК и РНК, активация ферментов и транспорт ионов, а также участвуют в регуляции генной экспрессии, синтезе белков, оказывают антиоксидантное действие, влияют на иммунную систему организма [1–2].

Поскольку полиамины образуются из аминокислот [3], их можно считать неотъемлемой частью метаболизма аминокислот и клеточной регуляции [4]. Уровни полиаминов могут регулироваться путем изменения биодоступности и концентрации аминокислот, необходимых для их синтеза [5]. Для того чтобы полиамины могли выполнять свои функции в различных клетках и тканях, они должны проникать через клеточные мембраны. Этот процесс включает в себя транспортные системы, в которых аминокислоты обеспечивают их перенос через мембраны. Следовательно, связь между биосинтезом полиаминов, но и их влияние на клеточные процессы, включая регуляцию белков и взаимодействие с клеточными мембранами. Это комплексная область исследования, которая имеет большое значение для понимания физиологии и биохимии клеток.

Медицинское применение полиаминов все еще находится в стадии развития, но уже существует несколько направлений, в которых эти молекулы могут быть использованы в качестве биомаркеров для диагностики различных заболеваний: рака [6, 7], нейродегенеративных нарушений [8], инфекционных болезней и аутоиммунных расстройств [9].

В акушерстве полиамины связаны с различными аспектами беременности и родов [10], включая процессы клеточного роста и дифференцировки при развитии органов и систем плода [11–13]. Связь между аминокислотами и полиаминами имеет важное клиническое значение. Такая незаменимая аминокислота, как аргинин является предшественником полиаминов. Аргинин преобразуется в полиамин спермидин и спермин через серию биохимических реакций. Кадаверин тоже может синтезироваться из аргинина и участвовать в регуляции ряда клеточных процессов. Низкие уровни аргинина, лизина и аспарагиновой кислоты могут играть важную роль в процессах, приводящих к задержке роста плода (ЗРП). Аргинин, лизин и аспарагиновая кислота не только участвуют в синтезе белков, но и имеют важное значение для многих биохимических путей и функций организма [14]. Аргинин является предшественником оксида азота (NO) (NO), который играет важную роль в регуляции сосудистой функции. NO расширяет сосуды и улучшает кровоток, а это ключевой фактор для обеспечения нормального роста и развития плода. Низкие уровни аргинина могут снизить производство NO и ухудшить сосудистую реакцию, что ограничит поступление питательных веществ к плоду [15]. Недостаток лизина может привести к снижению синтеза отдельных белков и повлиять на рост плода. Кроме того, лизин участвует в метаболизме жира и углеводов, и низкие уровни этой аминокислоты могут нарушить энергетическое обеспечение плода. Аспарагиновая кислота может влиять на метаболические пути других аминокислот, в том числе связанные с ростом и развитием плода.

Аминокислоты играют роль в регуляции артериального давления и функции сосудов. Исследования показывают, что изменения в аминокислотном профиле матери могут

быть связаны с развитием преэклампсии (ПЭ). Например, высокие уровни глутаминовой и аспарагиновой кислот ассоциированы с риском развития преэклампсии [16].

Определение уровней аминокислот и полиаминов в организме матери и плода может предоставить ценную информацию о риске развития ЗРП и ПЭ. Исследования продолжаются, и более глубокое понимание связи между аминокислотами, полиаминами и этими акушерскими состояниями может привести к разработке более эффективных методов диагностики и мониторинга беременностей, а также к улучшению стратегий лечения и профилактики.

Целью исследования было определить особенности уровней полиаминов и аминокислот, сопряженных с плацента-ассоциированными осложнениями беременности, в частности, при ЗРП (как изолированном, так и сочетанном с ранней ПЭ), а также выявить клинико-лабораторные параллели при ЗРП и ПЭ по данным корреляционного анализа связи уровня значимых полиаминов и аминокислот и таких клинических показателей, как тяжесть течения ЗРП и ПЭ, число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным, рожденным от матерей групп ПЭ и ЗРП.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 156 беременных, которые поступили и были родоразрешены в ФБГУ «НМИЦ АГП имени В. И. Кулакова» Минздрава России: группы ПЭ и ЗРП составили 56 и 48 пациенток с подтвержденными соответствующими диагнозами; в контрольную группу вошли 52 соматически здоровые женщины с беременностью без осложнений. Критерии включения в исследование: возраст беременных 18–35 лет, наличие одноплодной беременности на сроке 24–40 недель, ранняя преэклампсия и задержка роста плода. Критерии исключения: наличие резус- и АВ0-изоиммунизации, хромосомные аномалии, генетические мутации и врожденные пороки развития у плода, наличие у матери тяжелой экстрагенитальной патологии, хронических заболеваний почек, миомы матки больших размеров, острых инфекционных заболеваний. Для анализа была собрана венозная кровь.

Метод анализа полиаминов

Оптимизированная процедура приготовления образцов крови для анализа содержания полиаминов включает следующие этапы: к 400 мкл плазмы крови добавить 1200 мкл метанола, перемешивать 5 мин, центрифугировать 10 мин при 13 000 g (центрифуга Eppendorf MiniSpin, Германия), отобрать 1000 мкл надосадочной жидкости, высушить в токе азота при температуре 50 °С, добавить 600 мкл раствора дансилхлорида с концентрацией 10 мг/мл в ацетонитрил/карбонатном буферном растворе с pH = 9,7 (50/50 об./об.), перемешивать 1 мин, центрифугировать 1 мин при 13 000 g, инкубировать при 60 °С в течение 90 мин, центрифугировать 1 мин при 13 000 g, добавить 1000 мкл этилацетата, перемешивать 10 мин, центрифугировать 10 мин при 13 000 g, отобрать 1000 мкл верхнего слоя, добавить 1000 мкл этилацетата, перемешивать 10 мин, центрифугировать 10 мин при скорости 13 000 g; отобрать 1000 мкл верхнего слоя и объединить с предыдущим отбором, высушить в токе азота при температуре 50 °С, добавить 200 мкл ацетонитрила, перемешивать 5 мин, центрифугировать 10 мин при 13 000 g; перенести 170 мкл для дальнейшего анализа.

Анализ полиаминов и аминокислот проводили с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ЖХ-МС) на системе, состоящей из тройного квадрульного масс-спектрометрического детектора ABSciex QTrap 5500 (ABSciex; Канада), оснащенного источником электрораспылительной ионизации, и жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity (Agilent; США). Для разделения образца использовали колонку Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (50 × 3 мм, 1,8 мкм; Agilent, США). Для анализа органических кислот вводили 20 мкл образца и использовали в качестве элюента А 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде; элюента В — 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Скорость потока 650 мкл/мин с поддерживаемой температурой колонки 30 °С. Состав подвижной фазы в ходе анализа изменялся следующим образом: 0–0,3 мин — 20% элюента В, до 5,3 мин объемная доля элюента В повышалась до 95%, сохраняла значение до 8,3 мин и за 0,1 мин возвращалась к значению 20%. Настройки масс-спектрометра были следующими: давление периферийного газа — 1,4 бар, давление газа-распылителя — 3,4 бар, температура источника — 500 °С, напряжение на капилляре — 4500 В.

В данной работе проводили анализ следующих девяти полиаминов: путресцин, этилендиамин, 1,3-диаминопропан, кадаверин, 1,7-диаминогептан, кадаверин, N-ацетилпутресцин, N1-ацетилспермин, спермидин; и 43 аминокислот: 1-метилгистидин, 3-аминоизобутират, 3-метилгистидин, аргининосукцинат, бета-аланин, креатинин, 5-гидроксилизин, гомоцистин, этаноламин, гамма-аминобутират, 2-аминоадипиновая кислота, 2-аминомасляная кислота, аланин, ансерин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, карнозин, цитруллин, цистатионин, цистин, глутаминовая кислота, глутамин, глицин, гистидин, гомоцитруллин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, норвалин, орнитин, фенилаланин, пролин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин, O-фосфорилэтанолламин, саркозин, таурин, транс-4-гидроксипролин.

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью скриптов, написанных на языке R.

Статистический анализ проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Для описания количественных данных использовали медианы (Me) и квартили Q_1 и Q_3 в формате Me (Q_1 ; Q_3), а также средние значения (M) и среднеквадратическое отклонение (SD) в формате $M \pm SD$. Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05. Если значение p было меньше 0,001, то его указывали в формате $p < 0,001$.

Поиск клинко-лабораторных параллелей при ЗРП и ПЭ проводили с помощью корреляционного теста Спирмена для уровней полиаминов, аминокислот и клинических показателей. Статистически значимой признавали связь с $p < 0,05$.

Для оценки возможности классификации пациентов по группам на основании исследуемых параметров были разработаны модели логистической регрессии. Из всех разработанных моделей выбирали четыре с наибольшей величиной площади под ROC-кривой (AUC). Качество разработанных моделей определяли путем построения ROC-кривой, определения площади под ROC-кривой, а также расчета чувствительности и специфичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование дизайна «случай–контроль» беременных пациенток включали по мере обращения после постановки им диагноза ЗРП или ПЭ. На момент включения в исследование и сбора крови пациентки группы ПЭ имели умеренную тяжесть со стабильными показателями артериального давления, незначительную протеинурию при нормальных показателях суточного диуреза, отсутствие нарушений со стороны плода по данным доплерометрии (фето-плацентарный кровоток и дистресс плода); пациентки группы ЗРП (3-й процентиль и менее по данным фетометрии) не имели доплерометрических признаков дистресса плода. У всех пациенток не было регулярной родовой деятельности или угрозы преждевременных родов. На момент родоразрешения, которое в среднем происходило через три недели после забора крови, треть пациенток имели диагноз тяжелая преэклампсия и у более половины от всех были выявлены критические нарушения плодово-плацентарного кровотока, что и послужило показанием к проведению экстренного оперативного родоразрешения путем операции кесарева сечения. У пациенток контрольной группы забор крови проводили в сроки беременности, сопоставимые со сроками у пациенток с ПЭ и ЗРП. В последующем течение их беременности и родоразрешение были отслежены и не отягощены.

Учитывая, что старший репродуктивный возраст и ожирение могли стать серьезными конфаундерными факторами при оценке уровней аминокислот и полиаминов в крови, группы составляли таким образом, чтобы возраст и вес пациенток с ПЭ были сопоставимы с группой контроля. Индекс массы тела (ИМТ) беременных женщин из группы ЗРП был значимо ниже, чем у женщин групп «норма» и «преэклампсия» ($p = 0,005$ и $p = 0,003$ соответственно).

Результаты анализа клинических параметров исследуемых групп представлены в табл. 1.

Из-за необходимости ускоренного родоразрешения по акушерским показаниям, в связи с нарастанием тяжести ПЭ и прогрессирующей внутриутробной гипоксии плода при ЗРП, срок родоразрешения для данных групп статистически значимо отличался от контрольной группы ($p < 0,001$). Для случаев ПЭ и ЗРП средний вес новорожденных составил 2132,0 г и 1969,7 г.

Следует отметить, что оценка новорожденного по шкале Апгар в группе с ПЭ была значимо ниже на первой минуте жизни ($p < 0,001$), тогда как на пятой минуте балл по шкале Апгар значимо отличался во всех группах, что, вероятно, связано с нарушением адаптации в раннем неонатальном периоде у новорожденных из групп ПЭ и ЗРП, длительно пребывающих в условиях хронической гипоксии.

Из-за важной роли аминокислот в синтезе полиаминов и их функции в клеточном метаболизме на первом этапе лабораторного анализа данных был проведен анализ уровня аминокислот среди пациенток исследуемых групп.

Анализ данных позволил выявить снижение в случаях ПЭ и ЗРП по сравнению с контрольной группой уровня ряда аминокислот: при ЗРП значимо снижались аргинин ($p = 0,0136$), орнитин ($p = 0,045$), пролин ($p = 0,0044$), при ПЭ — аспарагиновая кислота ($p = 0,0422$) (рис. 1). Низкие уровни (отн. ед.) при ЗРП аргинина — 0,0163 (0,0139, 0,0182) и лизина 0,0524 (0,0492, 0,056) могут играть важную роль при синдроме ЗРП.

Таблица 1. Клиническая характеристика исследуемых групп

Параметр	Описательная статистика параметра			Статистическая значимость различий параметров при попарном сравнении групп (<i>p</i> -value)		
	ПЭ (<i>n</i> = 56)	ЗРП (<i>n</i> = 48)	Норма (<i>n</i> = 52)	ПЭ – Норма	ЗРП – Норма	ПЭ – ЗРП
Возраст	32 ± 5	32 ± 3	31 ± 4	0,654	0,212	0,146
ИМТ (до беременности)	27 ± 5	20 ± 5	25 ± 3	0,745	0,005	0,003
Срок родоразрешения	35 ± 3	37 ± 2	40 ± 1	< 0,001	< 0,001	0,435
Рост при рождении	45,8 ± 4,5	45,1 ± 2,1	52,1 ± 2,2	0,001	< 0,001	0,378
Вес при рождении	2132 ± 846,6	1969,7 ± 501,0	3403,7 ± 395,7	< 0,001	< 0,001	0,401
Апгар 1	7 (7; 8)	8 (8; 8)	8 (8; 8)	< 0,001	0,357	0,06
Апгар 5	8 (8; 9)	9 (8; 9)	9 (9; 9)	0,02	0,033	0,031

Далее был получен уровень полиаминов в сыворотке крови пациенток исследуемых групп. Для группы пациенток с ПЭ выявлены значимые отличия от контрольной группы для путресцина ($p = 0,0423$) и спермидина ($p = 0,022$), для группы ЗРП — кадаверина ($p = 0,0282$). При сравнении данных для групп ПЭ и ЗРП значимые отличия выявлены для двух полиаминов: путресцин ($p = 0,0039$) и 1,7-диаминогептан ($p = 0,0091$) (рис. 2).

В организме человека путресцин образуется из L-орнитина при участии фермента орнитиндекарбоксилазы (ОДК). Спермидин синтезируется из путресцина с участием двух ферментов: спермидинсинтазы и сперминсинтазы. Данные ферменты самые короткоживущие в организме человека (время полураспада 5–10 мин), что указывает на их прямую роль в биосинтезе белка. Косвенно оценить активность этих ферментов можно исходя из отношения уровня спермидина к путресцину (активность

спермидинсинтазы) и отношения спермина к спермидину (активность сперминсинтазы) (рис. 3).

Отношение спермидина к путресцину в группе «норма» (–0,33 (–0,43; 0,05)), в группе пациенток с ПЭ (–0,21 (–0,29; 0,25)) и в группе пациенток с ЗРП (–0,34 (–0,44; –0,13)); а отношения спермина к спермидину в данных группах составили: 0,07 (–0,38; 0,57); –0,48 (–0,64; –0,08); –0,33 (–0,65; 0,52) соответственно.

Полиамины активно вовлечены в клеточные механизмы неспецифических стресс-реакций (полиаминный стресс-ответ). При травмирующем воздействии на организм, например при ишемии/гипоксии нервной ткани, в мозге активируется ОДК с последующим увеличением содержания полиаминов и запуском активации генов раннего ответа (*c-myc*, *c-fos* и др.) [17].

С учетом биологической значимости полученных результатов особый интерес представлял поиск клиничко-

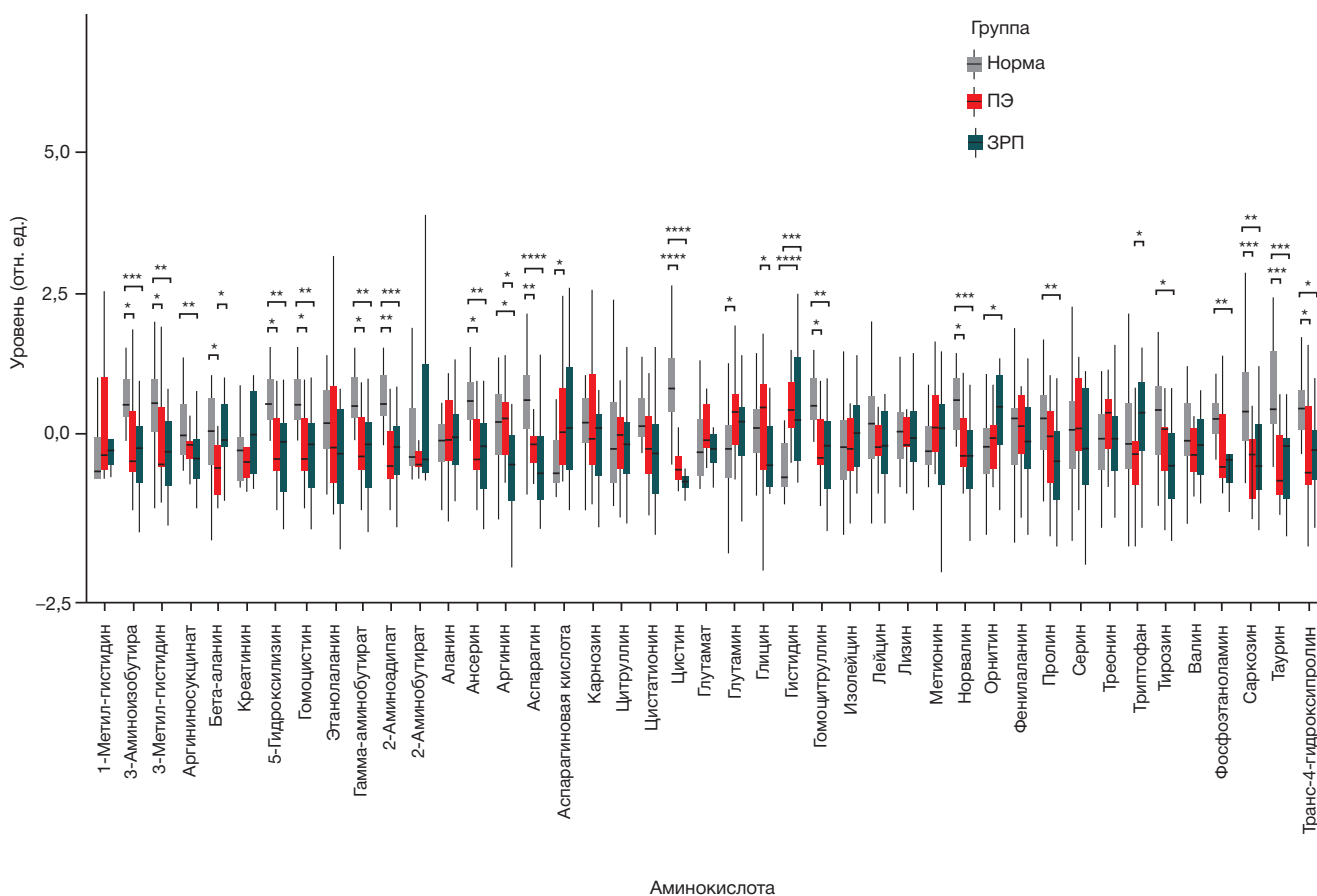


Рис. 1. Сравнение аминокислотного профиля плазмы крови пациенток групп «норма», «ПЭ» и «ЗРП». Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния

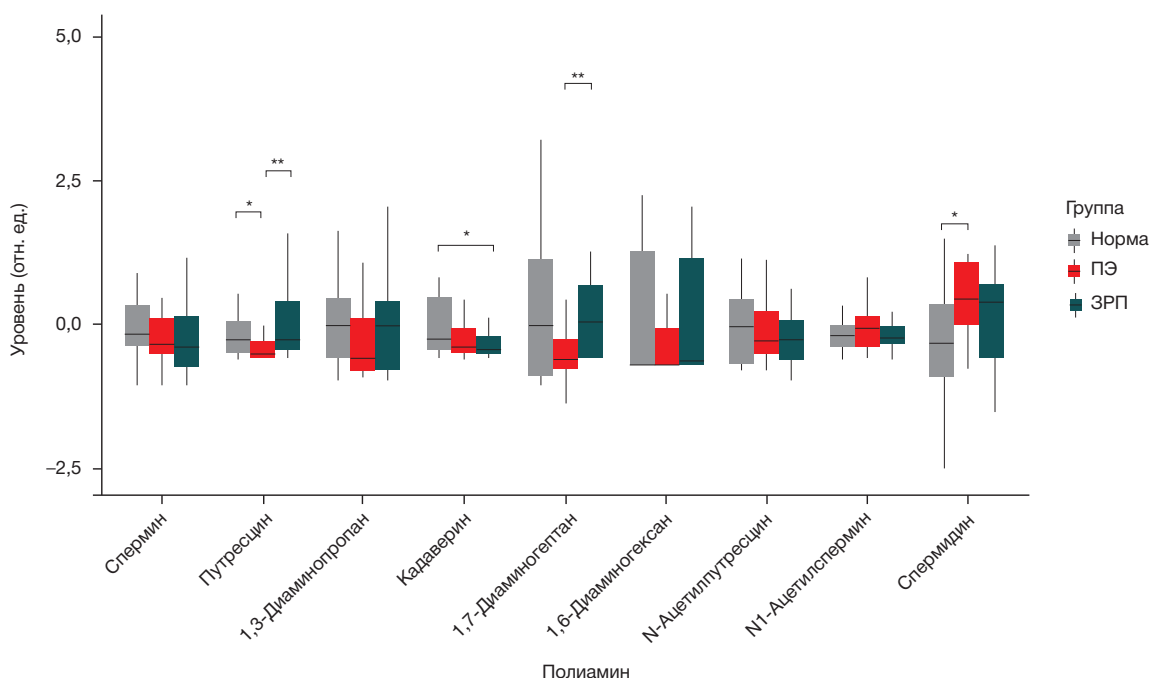


Рис. 2. Сравнение профиля полиаминов плазмы крови пациенток групп «норма», «ПЭ» и «ЗРП». Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния

лабораторных параллелей при ЗРП и ПЭ. Для этого был выполнен корреляционный анализ связи уровня значимых полиаминов и аминокислот и таких клинических показателей, как тяжесть течения ЗРП и ПЭ, число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденными, рожденными от матерей групп ПЭ и ЗРП (табл. 2).

В табл. 2 представлены статистически значимые связи между клиническими параметрами и уровнями аминокислот плазмы крови. Для уровня транс-4-гидроксипролина плазмы была зафиксирована статистически значимая обратная связь с декомпенсацией состояния плода при ЗРП, а также статистически значимая прямая связь с весом ребенка при рождении. Аналогично, уровень пролина статистически значимо прямо пропорционален весу ребенка и обратно — декомпенсации состояния

плода при ЗРП. Была также зафиксирована прямая связь уровня глутамина с тяжестью преэклампсии, обратная связь с уровнем аспарагиновой кислоты и числом койко-дней в стационаре.

Аналогичный анализ провели для полиаминов (табл. 2). При ЗРП обнаружена корреляционная связь с тяжестью течения данного осложнения и уровнями 1,7-диаминогептана и кадаверина. Уровень путресцина коррелировал с тяжестью ПЭ. Число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным, для групп ПЭ и ЗРП коррелировало с уровнем 1,7-диаминогептана.

Интерес представляют выявленные связи с пролином и 1,7-диаминогептаном. Эти метаболиты имеют среднюю и сильную корреляцию с клиническими данными, характеризующими акушерские исходы: вес ребенка при

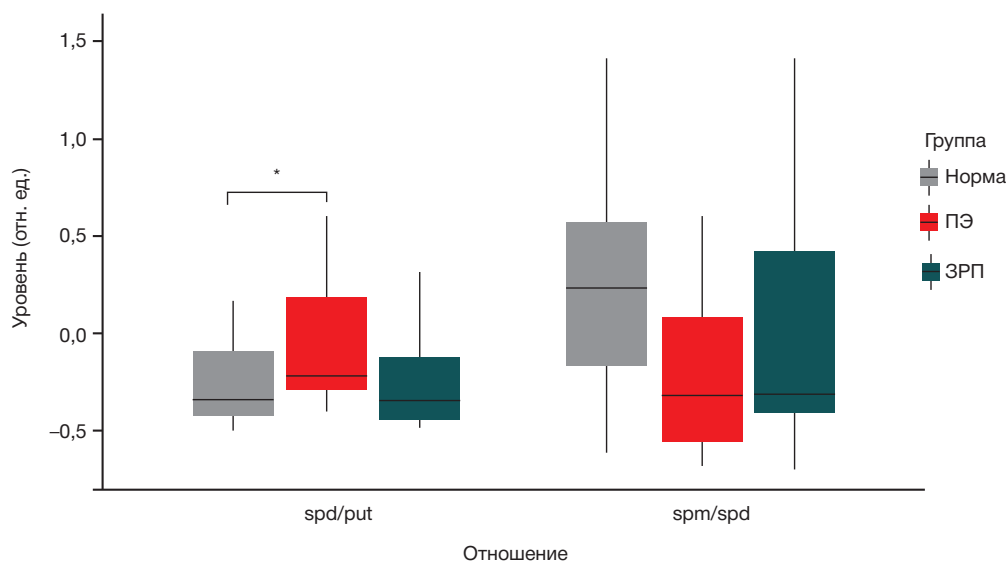


Рис. 3. Сравнение физиологически значимых отношений уровней полиаминов плазмы крови. Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния; spd/put — отношение спермидина к путресцину, активность спермидинсинтазы; spm/spd — отношение спермина к спермидину, активность сперминсинтазы

Таблица 2. Статистически значимые связи между клиническими параметрами и уровнем аминокислот и полиаминов, коэффициент корреляции, его доверительный интервал и значимость p

Параметр		R	ДИ R	p
Аминокислоты				
Декомпенсация состояния плода при ЗРП	Пролин	-0,56	-0,86 до -0,034	0,03
	Транс-4-гидроксипролин	-0,39	-0,59 до -0,066	0,01
Вес при рождении	Пролин	0,67	0,041 до 0,87	0,02
	Транс-4-гидроксипролин	0,36	0,14 до 0,54	0,002
ПЭ, тяжесть	Глутамин	0,38	0,058 до 0,48	0,01
Число койко-дней, проведенных в стационаре	Аспарагиновая кислота	-0,36	-0,5 до -0,088	0,007
Полиамины				
Декомпенсация состояния плода при ЗРП	1,7-Диаминогептан	-0,78	-0,92 до -0,37	0,002
	Кадаверин	-0,25	-0,46 до 0,013	0,04
ПЭ, тяжесть	Путресцин	-0,32	-0,52 до 0,083	0,009
Число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным	1,7-Диаминогептан	-0,76	-0,95 до 0,23	0,003

рождении и число койко-дней в стационаре, соответственно, что позволяет рассматривать их в качестве прогностических маркеров динамической оценки нарастания тяжести ЗРП и ранней ПЭ.

С целью первичной оценки прогностических и диагностических (оценка тяжести состояния плода) возможностей описанных метаболитов для выявления тяжести течения ПЭ и ЗРП и оптимизации акушерской тактики ведения данной когорты беременных построены математические модели. Высокой чувствительностью и специфичностью обладали четыре модели, включающие проанализированные в ходе работы полиамины (рис. 4).

В модели логистической регрессии в качестве независимой переменной выступали уровни полиаминов в плазме крови, в качестве зависимой переменной — принадлежность образца к группе ПЭ или ЗРП. Площадь

под операционной кривой для модели составила 0,865, чувствительность и специфичность — 0,95 и 0,76 соответственно. Пороговые значения для разработанных моделей были равны 0,45, 0,3, 0,24 и 0,26.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Аминокислоты являются основными строительными блоками белков, которые играют важную роль в росте и развитии плода. Аргинин, лизин и аспарагиновая кислота не только участвуют в синтезе белков, но и имеют важное значение для многих биохимических путей и функций организма. Пролин выполняет важную функцию в составе основного белка соединительной ткани — коллагена. Известно его влияние на развитие плаценты и плода за счет усиления плацентарного транспорта питательных веществ,

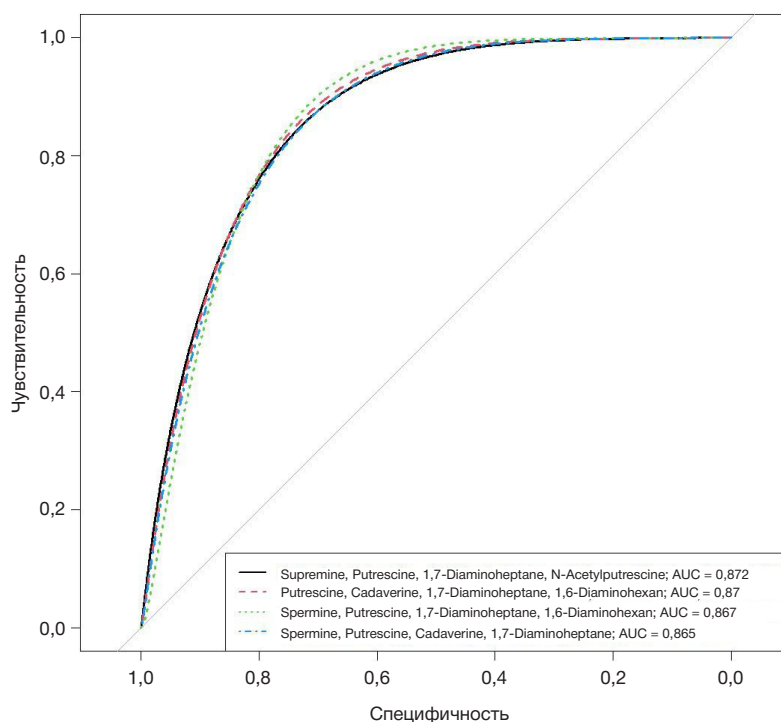


Рис. 4. ROC-кривые моделей логистической регрессии, в которой в качестве независимой переменной выступали уровни полиаминов в плазме крови, в качестве зависимой переменной — принадлежность образца к группе с ПЭ или ЗРП. На вставке указаны аминокислоты, уровни которых взяты в качестве независимой переменной, а также площадь под операционной кривой для соответствующей модели логистической регрессии

ангиогенеза и синтеза белка [18]. Снижение уровня пролина в крови беременных с ЗРП и ранней ПЭ, имеющее прямую корреляционную связь с весом новорожденного, указывает на его возможную роль в патогенезе данных осложненных беременностей. Коллаген является важным тканевым компонентом плацентарного комплекса и нарушение его структуры на этапах биосинтеза, секреции или сборки, вызванное снижением уровня пролина, вероятно может быть одним из существующих патологических механизмов реализации плацентарной недостаточности. Есть сообщение о снижении концентрации цервикального гидроксипролина у небеременных женщин с истмико-цервикальной недостаточностью в анамнезе [19].

Кроме аминокислот, входящих в состав белков, в организме имеется постоянный резерв свободных аминокислот, содержащихся в тканях и различных биологических жидкостях, которые находятся в динамическом равновесии. В течение беременности свободные аминокислоты могут служить индукторами синтеза стероидных гормонов, участвовать в процессе биосинтеза гликопротеинов, порфиринов, нейромедиаторов, полиаминов и оксида азота.

Метаболизм ряда аминокислот ведет к синтезу регуляторных полиаминов. Полиамины так же присутствуют в различных биологических жидкостях: крови, моче, ликворе и др. В крови содержание свободных полиаминов ниже, чем в тканях или в моче. Однако определение полиаминов именно в крови беременных в качестве маркера тяжести таких осложнений, как ПЭ и ЗРП, представляет интерес для практической медицины.

Изучение уровня свободных аминокислот и полиаминов может быть важным для понимания молекулярных процессов во время беременности [20].

Полученные нами данные демонстрируют значимую связь изменения уровня полиаминов в крови и плацента-ассоциированных осложнений беременности. Для таких полиаминов, как спермидин, путресцин, кадаверин и 1,7-диаминогептан, наблюдалось значимое изменение уровня в группах, представленных беременными с плацента-ассоциированными осложнениями. При ЗРП концентрация 1,7-диаминогептана была статистически значимо повышена, на фоне снижения при ПЭ. Особый интерес вызывает то, что данное наблюдение среди пациенток с ЗРП было описано нами ранее в публикации, посвященной диагностическому потенциалу полиаминов мочи [21]. Результаты наших исследований перекликаются с работой китайских ученых, которые рассматривали влияние N1-гуанил-1,7-диаминогептана (GС7), мощного ингибитора дезоксигипузинсинтазы, на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз эндотелиальных клеток [22]. Участие диаминогептанов в экспрессии белков клеточной пролиферации и апоптозе эндотелиальных клеток, указывает на возможность потенциального использования данного биомаркера для диагностики плацента-ассоциированных осложнений беременности и прогнозирования их тяжести. Повышение концентрации 1,7-диаминогептана в крови при ЗРП может косвенно указывать на дозозависимое ингибирование клеточной пролиферации, быть биомаркером ЗРП и изменяться в зависимости от нарастания тяжести состояния плода.

Учитывая многообразие и сложность метаболических путей, ответственных за адаптацию в условиях гипоксического поражения, следует ожидать, что их регуляция является координированной. Для изучения такого типа регуляции особый интерес могут представлять пути метаболизма низкомолекулярных антиоксидантов — пролина и полиаминов.

В норме гомеостаз пролина и полиаминов поддерживается сбалансированной системой их биосинтеза и деградации. Чаще всего общим предшественником в их биосинтезе является глутамат, который служит более отдаленным предшественником, превращающимся сначала в орнитин или аргинин. Образовавшиеся аминокислоты являются прямыми субстратами двух ферментов (орнитиндекарбоксилазы или аргининдекарбоксилазы), катализирующих биосинтез путресцина — предшественника более длинных полиаминов (спермидина и спермина). Несмотря на установленную связь путей синтеза пролина и полиаминов, вопрос о возможности координированной регуляции метаболизма этих низкомолекулярных соединений, особенно в стрессорных условиях, остается дискуссионным.

Интерес представлял анализ профиля свободных аминокислот крови при плацента-ассоциированных осложнениях беременности. По некоторым данным, уровни L-аргинина, L-пролина и L-орнитина могут отображать перинатальное поражение центральной нервной системы у новорожденных с внутриутробной задержкой роста [23]. Значимые корреляционные связи для ряда клинических параметров (декомпенсация состояния плода при ЗРП, тяжесть ПЭ, вес при рождении, число койко-дней в стационаре и отделении патологии новорожденных) и таких аминокислот, как пролин и транс-4-гидроксипролин, глутамин и аспарагиновая кислота, указывает на задействованность данных метаболитов в процессах синтеза белка, поддержании структуры рибосом и образования коллагена при ЗРП, как изолированной форме, так и сочетанной с ранней ПЭ.

Принимая во внимание, что данные были собраны на начальных клинических проявлениях акушерских синдромов, возможный потенциал полиаминов для определения прогноза течения ПЭ и ЗРП и сроков родоразрешения невероятно высок. Большой интерес представляет разработка методов диагностики и мониторинга уровня полиаминов у беременных женщин. Такие методы могут служить инструментами для прогнозирования риска акушерских синдромов и открывают окно возможностей для дальнейшего их применения после проведения углубленной валидации и динамического контроля в зависимости от течения ЗРП и ранней ПЭ во времени.

ВЫВОДЫ

Изучение роли полиаминов и их связи с уровнем свободных аминокислот в крови способствует разработке методов диагностики и предикции акушерских синдромов, что является важной областью исследований, которая может привести к появлению новых подходов в обследовании и лечении беременных женщин, а также улучшить заботу о здоровье матери и ребенка в период беременности.

Литература

- Xuan M, et al. Polyamines: their significance for maintaining health and contributing to diseases. *Cell Communication and Signaling*. 2023; 21 (1): 348.
- Bae D-H, et al. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Igarashi K, Kashiwagi K. The functional role of polyamines in eukaryotic cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019; 107: 104–15.
- Zahedi K, Barone S, Soleimani M. Polyamines and Their Metabolism: From the Maintenance of Physiological Homeostasis to the Mediation of Disease. *Medical Sciences*. 2022; 10 (3): 38.
- Abdulhussein AA, Wallace H.M. Polyamines and membrane transporters. *Amino Acids*. 2014; 46 (3): 655–60.
- Damiani E, Wallace HM. Polyamines and Cancer. 2018; 1694: 469–88.
- Holbert CE, Cullen MT, Casero RA Jr, Stewart TM. Polyamines in cancer: integrating organismal metabolism and antitumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 2022; 22 (8): 467–80.
- Vrijzen S, Houdou M, Cascalho A, Eggemont J, Vangheluwe P. Polyamines in Parkinson's Disease: Balancing Between Neurotoxicity and Neuroprotection. *Annu Rev Biochem*. 2023; 92: 435–64.
- Proietti E, Rossini S, Grohmann U, Mondanelli G. Polyamines and Kynurenines at the Intersection of Immune Modulation. *Trends Immunol*. 2020; 41 (11): 1037–50.
- Lefèvre PLC, Palin M-F, Murphy BD. Polyamines on the Reproductive Landscape. *Endocr Rev*. 2011; 32 (5): 694–712.
- Aihara S, Torisu K, Uchida Y, Imazu N, Nakano T, Kitazono T. Spermidine from arginine metabolism activates Nrf2 and inhibits kidney fibrosis. *Commun Biol*. 2023; 6 (1): 676.
- Bae DH, Lane DJR, Jansson PJ, Richardson DR. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Zou D, Zhao Z, Li L, Min Y, Zhang D, Ji A, Jiang C, Wei X, Wu X. A comprehensive review of spermidine: Safety, health effects, absorption and metabolism, food materials evaluation, physical and chemical processing, and bioprocessing. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022; 21 (3): 2820–42.
- Cao Y, Liu S, Liu K, Abbasi IHR, Cai C, Yao J. Molecular mechanisms relating to amino acid regulation of protein synthesis. *Nutr Res Rev*. 2019; 32 (2): 183–91.
- Wu G, Meininger CJ, McNeal CJ, Bazer FW, Rhoads JM. Role of L-Arginine in Nitric Oxide Synthesis and Health in Humans. *Adv Exp Med Biol*. 2021; 1332: 167–87.
- Prameswari N, Irwinda R, Wibowo N, Saroyo YB. Maternal Amino Acid Status in Severe Preeclampsia: A Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 2022; 14 (5): 1019.
- Березов Т. Т., Маклецова Марина Геннадьевна, Федорова Т. Н. Полиамины: их роль в норме и при патологии центральной нервной системы. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2012; 2: 38–48.
- Wu G, Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA, Kim SW, Knabe DA, Li P, et al. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*. 2011; 40 (4): 1053–63.
- Petersen LK, Uldbjerg N. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996; 67 (1): 41–5.
- Rider JE, Hacker A, Mackintosh CA, Pegg AE, Woster PM, Casero RA Jr. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*. 2007; 33 (2): 231–40.
- Гасанбекова А. П., Франкевич Н. А., Чаговец В. В., Токарева А. О., Качиковски Ю. Н., Новоселова А. В., Карапетян Т. Э. Роль полиаминов в неинвазивной диагностике плаценто-ассоциированных осложнений беременности. *Акушерство и гинекология*. 2024; 2: 52–61.
- Lee Y, Kim HK, Park HE, Park MH, Joe YA. Effect of N1-guanyl-1,7-diaminoheptane, an inhibitor of deoxyhypusine synthase, on endothelial cell growth, differentiation and apoptosis. *Mol Cell Biochem*. 2002; 237 (1–2): 69–76.
- Крукиер И. И., Авруцкая В. В., Нарезная Е. В., Левкович М. А., Кравченко Л. В., Никашина А. А., Рожков А. В., Галусяк А. В. Роль продукции аминокислот в формировании церебральных поражений у новорожденных, родившихся у матерей с плацентарной недостаточностью и внутриутробной задержкой роста плода. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2022; 22 (4): 19.

References

- Xuan M, et al. Polyamines: their significance for maintaining health and contributing to diseases. *Cell Communication and Signaling*. 2023; 21 (1): 348.
- Bae D-H, et al. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Igarashi K, Kashiwagi K. The functional role of polyamines in eukaryotic cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019; 107: 104–15.
- Zahedi K, Barone S, Soleimani M. Polyamines and Their Metabolism: From the Maintenance of Physiological Homeostasis to the Mediation of Disease. *Medical Sciences*. 2022; 10 (3): 38.
- Abdulhussein AA, Wallace H.M. Polyamines and membrane transporters. *Amino Acids*. 2014; 46 (3): 655–60.
- Damiani E, Wallace HM. Polyamines and Cancer. 2018; 1694: 469–88.
- Holbert CE, Cullen MT, Casero RA Jr, Stewart TM. Polyamines in cancer: integrating organismal metabolism and antitumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 2022; 22 (8): 467–80.
- Vrijzen S, Houdou M, Cascalho A, Eggemont J, Vangheluwe P. Polyamines in Parkinson's Disease: Balancing Between Neurotoxicity and Neuroprotection. *Annu Rev Biochem*. 2023; 92: 435–64.
- Proietti E, Rossini S, Grohmann U, Mondanelli G. Polyamines and Kynurenines at the Intersection of Immune Modulation. *Trends Immunol*. 2020; 41 (11): 1037–50.
- Lefèvre PLC, Palin M-F, Murphy BD. Polyamines on the Reproductive Landscape. *Endocr Rev*. 2011; 32 (5): 694–712.
- Aihara S, Torisu K, Uchida Y, Imazu N, Nakano T, Kitazono T. Spermidine from arginine metabolism activates Nrf2 and inhibits kidney fibrosis. *Commun Biol*. 2023; 6 (1): 676.
- Bae DH, Lane DJR, Jansson PJ, Richardson DR. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Zou D, Zhao Z, Li L, Min Y, Zhang D, Ji A, Jiang C, Wei X, Wu X. A comprehensive review of spermidine: Safety, health effects, absorption and metabolism, food materials evaluation, physical and chemical processing, and bioprocessing. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022; 21 (3): 2820–42.
- Cao Y, Liu S, Liu K, Abbasi IHR, Cai C, Yao J. Molecular mechanisms relating to amino acid regulation of protein synthesis. *Nutr Res Rev*. 2019; 32 (2): 183–91.
- Wu G, Meininger CJ, McNeal CJ, Bazer FW, Rhoads JM. Role of L-Arginine in Nitric Oxide Synthesis and Health in Humans. *Adv Exp Med Biol*. 2021; 1332: 167–87.
- Prameswari N, Irwinda R, Wibowo N, Saroyo YB. Maternal Amino Acid Status in Severe Preeclampsia: A Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 2022; 14 (5): 1019.
- Berezov TT, Maklecova MG, Fedorova TN. Poliaminy: ih rol' v norme i pri patologii central'noj nervnoj sistemy. *Annaly klinicheskoy i jeksperimental'noj nevrologii*. 2012; 2: 38–48. Russian.
- Wu G, Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA, Kim SW, Knabe DA, Li P, et al. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*. 2011; 40 (4): 1053–63.
- Petersen LK, Uldbjerg N. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996; 67 (1): 41–5.
- Rider JE, Hacker A, Mackintosh CA, Pegg AE, Woster PM,

- Casero RA Jr. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*. 2007; 33 (2): 231–40.
21. Gasanbekova AP, Frankevich NA, Chagovec VV, Tokareva AO, Kachikovski YuN, Novoselova AV, Karapetyan TYe. Rol' poliaminov v neinvazivnoj diagnostike placenta-associirovannyh oslozhnenij beremennosti. *Akusherstvo i ginekologija*. 2024; 2: 52–61. Russian.
22. Lee Y, Kim HK, Park HE, Park MH, Joe YA. Effect of N1-guanyl-1,7-diaminoheptane, an inhibitor of deoxyhypusine synthase, on endothelial cell growth, differentiation and apoptosis. *Mol Cell Biochem*. 2002; 237 (1–2): 69–76.
23. Krukier II, Avruckaja VV, Narezhnaja EV, Levkovich MA, Kravchenko LV, Nikashina AA, Rozhkov AV, Galusyak AV. Rol' produkcii aminokislot v formirovanii cerebral'nyh porazhenij u novorozhdennyh, rodivshihjsja u materej s placentarnoj nedostatochnost'ju i vnutriutrobnoj zaderzhkoj rosta ploda. *Rossijskij vestnik akushera-ginekologa*. 2022; 22 (4): 19. Russian.