

Влияние курения на керамидный профиль жировой ткани пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Белик Е. В.¹, Дылева Ю. А.¹, Учасова Е. Г.¹, Поддубняк А. О.¹, Сотников А. В.¹, Горбатовская Е. Е.^{1,2}, Долматова С. Е.², Груздева О. В.^{1,2}

Цель. Изучить особенности керамидного профиля подкожной, эпикардиальной, периваскулярной жировой ткани (ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ, соответственно) у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) в зависимости от курения.

Материал и методы. Спектр керамидов (Cer) в ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ пациентов с ССЗ (30 пациентов с ишемической болезнью сердца и 30 пациентов с дегенеративными неревматическими приобретенными пороками сердца) определен с использованием хромато-масс-спектрометрического комплекса высокого разрешения (жидкостной хроматограф серии Agilent 1200 ("Agilent Technologies", Германия) с масс-спектрометрическим детектором "maXis impact" (Bruker, Германия)). Биоптаты ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ получены во время оперативного вмешательства. Статистический анализ результатов проводили в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software).

Результаты. Обнаружены ассоциации уровней Cer в висцеральной жировой ткани и курения, проявляющиеся увеличением концентрации Cer d18:1/16:0, 18:0, 24:1, 22:0. В ПЖТ курящих пациентов выявлено повышенное содержание Cer d18:1/14:0, 17:0.

Заключение. Керамидный профиль локальных жировых депо различался у курящих и некурящих пациентов с ССЗ. Полученные результаты свидетельствуют о модуляции синтеза Cer при курении и накоплении Cer преимущественно в жировой ткани эпикардиальной и периваскулярной локализации при ССЗ. Принимая во внимание широкий спектр метаболических эффектов, использование Cer в качестве биомаркеров и мишеней персонализированной терапии является перспективным для выявления лиц высокого риска и улучшения лечебно-диагностических стратегий при ССЗ.

Ключевые слова: керамиды, липидомика, жировая ткань, факторы риска, курение, ишемическая болезнь сердца.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20007 "Керамидный профиль локальных жировых депо сердца: клинико-патогенетическое значение и терапевтический потенциал" (<https://rscf.ru/project/22-15-20007>) и средств Министерства науки и высшего образования Кузбасса.

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово; ²ФГБОУ ВО КеМГМУ Минздрава России, Кемерово, Россия.

Белик Е. В.* — к.м.н., н.с. лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины, ORCID: 0000-0003-3996-3325, Дылева Ю. А. —

к.м.н., с.н.с. лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины, ORCID: 0000-0002-6890-3287, Учасова Е. Г. — к.м.н., с.н.с. лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины, ORCID: 0000-0003-4321-8977, Поддубняк А. О. — лаборант-исследователь лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины, ORCID: 0000-0001-7388-356X, Сотников А. В. — сердечно-сосудистый хирург, зав. кардиохирургическим отделением, ORCID: 0000-0002-1828-5652, Горбатовская Е. Е. — м.н.с. лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины; ассистент кафедры медицинской биохимии, ORCID: 0000-0002-0500-2449, Долматова С. Е. — старший лаборант кафедры медицинской биохимии, ORCID: нет, Груздева О. В. — д.м.н., доцент, профессор РАН, зав. лабораторией исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины; зав. кафедрой медицинской биохимии, ORCID: 0000-0002-7780-829X.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
sionina.ev@mail.ru

АД — артериальное давление, ВЭЖХ-МС — высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией, ЖТ — жировая ткань, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ОХС — общий холестерин, ПВЖТ — периваскулярная жировая ткань, ПЖТ — подкожная жировая ткань, ППС — приобретенные пороки сердца, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ФВ — фракция выброса, ФК — функциональный класс, ФР — факторы риска, ХС-ЛНП — холестерин липопротеинов низкой плотности, ЭЖТ — эпикардиальная жировая ткань, Cer — керамиды.

Рукопись получена 13.06.2024

Рецензия получена 09.09.2024

Принята к публикации 13.09.2024



Для цитирования: Белик Е. В., Дылева Ю. А., Учасова Е. Г., Поддубняк А. О., Сотников А. В., Горбатовская Е. Е., Долматова С. Е., Груздева О. В. Влияние курения на керамидный профиль жировой ткани пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Российский кардиологический журнал*. 2024;29(11):5998. doi: 10.15829/1560-4071-2024-5998. EDN NGKRT

Effect of smoking on the ceramide profile of adipose tissue in patients with cardiovascular diseases

Belik E. V.¹, Dyleva Yu. A.¹, Uchasova E. G.¹, Poddubnyak A. O.¹, Sotnikov A. V.¹, Gorbatsovskaya E. E.^{1,2}, Dolmatova S. E.², Gruzdeva O. V.^{1,2}

Aim. To describe ceramide profile of subcutaneous, epicardial, perivascular adipose tissue (SAT, EAT, PVAT, respectively) in patients with cardiovascular diseases (CVD) depending on smoking.

Material and methods. Ceramide (CER) profile in the SAT, EAT, PVAT of patients with CVD (30 patients with coronary artery disease and 30 patients with degenerative non-rheumatic acquired heart defects) was determined using a high-resolution chromatography mass spectrometry (Agilent 1200 series (Agilent Technologies, Germany)) with a maXis impact mass spectrometer (Bruker, Germany)). Biopsies of SAT, EAT, PVAT were obtained during surgery. Statistical analysis was performed in GraphPad Prism 8 (GraphPad Software).

Results. Associations of CER levels in visceral adipose tissue and smoking were found, manifested by an increase in the concentration of CER d18:1/16:0, 18:0, 24:1, 22:0. In the SAT of smoking patients, an increased content of Cer d18:1/14:0, 17:0 was found.

Conclusion. The ceramide profile of local fat depots differed in smoking and non-smoking patients with CVD. The obtained results indicate the modulation of CER synthesis during smoking and the accumulation of CER mainly in the EAT and PVAT in CVD. Taking into account the wide range of metabolic effects, the use of CER as biomarkers and targets for personalized therapy is promising for identifying high-risk individuals and improving therapeutic and diagnostic strategies for CVD.

Keywords: ceramides, lipidomics, adipose tissue, risk factors, smoking, coronary artery disease.

Relationships and Activities. The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation № 22-15-20007 "Ceramide profile of heart local fat depots: clinical and pathogenetic significance and therapeutic potential" (<https://rscf.ru/project/22-15-20007/>) and funds from the Ministry of Science and Higher Education of Kuzbass.

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo;
²Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia.

Belik E. V.* ORCID: 0000-0003-3996-3325, Dyleva Yu. A. ORCID: 0000-0002-6890-3287, Uchasova E. G. ORCID: 0000-0003-4321-8977, Poddubnyak A. O.

ORCID: 0000-0001-7388-356X, Sotnikov A. V. ORCID: 0000-0002-1828-5652, Gorbатовskaya E. E. ORCID: 0000-0002-0500-2449, Dolmatova S. E. ORCID: none, Gruzdeva O. V. ORCID: 0000-0002-7780-829X.

*Corresponding author:
sionina.ev@mail.ru

Received: 13.06.2024 **Revision Received:** 09.09.2024 **Accepted:** 13.09.2024

For citation: Belik E. V., Dyleva Yu. A., Uchasova E. G., Poddubnyak A. O., Sotnikov A. V., Gorbатовskaya E. E., Dolmatova S. E., Gruzdeva O. V. Effect of smoking on the ceramide profile of adipose tissue in patients with cardiovascular diseases. *Russian Journal of Cardiology*. 2024;29(11):5998. doi: 10.15829/1560-4071-2024-5998. EDN NGKRKT

Ключевые моменты

- Получены новые данные о взаимосвязи церамидного профиля локальных жировых депо и такого важного фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний, как курение.
- Обнаружены ассоциации уровней церамидов (Cer) в жировой ткани сердечной локализации (эпикардальной и периваскулярной) и курения, проявляющиеся увеличением концентрации Cer d18:1/16:0, 18:0, 24:1, 22:0. В подкожной жировой ткани курящих пациентов выявлено повышенное содержание Cer d18:1/14:0, 17:0.

Key messages

- New data were obtained on the relationship between the ceramide profile of local fat depots and such an important risk factor for cardiovascular diseases as smoking.
- Associations were found between ceramide (Cer) levels in cardiac adipose tissue (epicardial and perivascular) and smoking, manifested by an increase in the concentration of Cer d18:1/16:0, 18:0, 24:1, 22:0. In the subcutaneous adipose tissue of smoking patients, an increased content of Cer d18:1/14:0, 17:0 was found.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной заболеваемости и смертности во всем мире. Предполагается, что это может быть обусловлено недостаточной реализацией стратегий профилактики и плохим контролем факторов риска (ФР) атеросклеротических ССЗ. В настоящее время с целью первичной и вторичной профилактики ССЗ ведется активный поиск новых биомаркеров во взаимосвязи с традиционными ФР. Среди основных кардиоваскулярных ФР особое внимание уделяется курению, которое увеличивает смертность от всех причин и играет решающую роль в развитии атеросклеротических ССЗ [1].

Показано, что курящие пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) подвергаются коронарной реваскуляризации в более молодом возрасте и имеют высокую смертность по сравнению с некурящими. Кроме того, отказ от курения значительно снижает артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений уже через 24 ч, а в течение года риск повторных сердечно-сосудистых событий и смертности от всех причин уменьшается вдвое. Более того, отказ от курения в раннем возрасте (40 лет) приводит к снижению риска смертности на 90% [2].

Механизмы отрицательного влияния курения на сердечно-сосудистую систему активно изучаются. Курение вызывает окислительные процессы, отрицательно влияет на функцию тромбоцитов, фибринолиз, воспаление и вазомоторную функцию; все эти проатеросклеротические эффекты удваивают 10-летний риск фатальных исходов у курильщиков по сравнению с некурящими [2]. Кроме того, курение модифицирует липидный обмен, что ускоряет развитие атеросклероза [3]. Особый интерес вызывает влияние курения на церамиды (Cer), которые способны модулировать сигнальные пути, участвующие в регуляции метаболизма глюкозы, синтеза триацилглицеридов, в развитии апоптоза, фиброза и атеросклероза. Повышенные плазменные уровни Cer ассоциированы с атеросклеротическими и сопутствующими заболеваниями, включая ожирение, резистентность к инсулину и сахарный диабет [4]. Но до сих пор не определено, происходит ли модуляция Cer в ответ на типовые патологические процессы, такие как оксидативный стресс, эндотелиальная дисфункция, гипоксия, воспаление, или же Cer активно участвуют в развитии заболеваний, вызывая дисфункциональные изменения в органах и тканях [5, 6].

Несмотря на хорошо известную взаимосвязь курения с ССЗ, а также ССЗ и липидами, влияние курения на Сег изучено недостаточно, в основном в экспериментальных исследованиях [7]. Уникальной особенностью Сег является их дифференцированное распределение и накопление в тканях, в отличие от других липидов. Однако данные о содержании Сег в жировой ткани (ЖТ) сердца и сосудов, расположенных в непосредственной близости от очага поражения, и их взаимосвязи с курением практически отсутствуют [8]. В то время как модуляция уровней Сег и их потенциальное использование в качестве биомаркеров имеет важное значение для диагностики и персонализированной терапии при ССЗ.

Цель: изучить особенности керамидного профиля подкожной, эпикардальной, периваскулярной ЖТ (ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ, соответственно) у пациентов с ССЗ в зависимости от курения.

Материал и методы

Спектр Сег локальных жировых депо определен у 60 пациентов с ССЗ (30 с ИБС и 30 с приобретенными пороками сердца (ППС)), имеющих показания для проведения прямой реваскуляризации миокарда методом коронарного шунтирования или операции на клапанах сердца (стеноз/недостаточность аортального и митрального клапанов). Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом организации. Обследованные пациенты подписали добровольное информированное согласие и соответствовали критериям включения и исключения, согласно ГОСТ Р 52379-2005 ("Надлежащая клиническая практика") и принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Этические принципы медицинских исследований с участием человека) с учетом изменений, принятых в 2013г, а также "Правил клинической практики в Российской Федерации", утвержденным Приказом Минздрава России № 266 от 19.06.2003. Критериями исключения были: отказ от проведения исследования, возраст пациентов старше 75 лет, наличие клинически значимой сопутствующей патологии.

Во время оперативного вмешательства на сердце были получены образцы ПЖТ (подкожная клетчатка нижнего угла средостенной раны), ЭЖТ (правые отделы сердца — правое предсердие и правый желудочек) и ПВЖТ (область правой коронарной артерии) массой 3-5 г, которые подвергались криогенной заморозке жидким азотом и хранению при температуре -150° С.

Приготовление образцов локальных жировых депо пациентов. Образцы ЖТ соответствующей массы гомогенизировали, вносили 700 мкл смеси, состоящей из хлороформа и метанола в соотношении 2:1 по объёму, помещали в ультразвуковую ванну на 10 мин. После чего вливали очищенную воду (440 мкл), перемешивали 5 мин на Multi-vortex V-32, центрифугировали 10 мин

при 16000 об./мин. К 200 мкл нижнего органического слоя добавляли 500 мкл смеси хлороформ-метанол, перемешивали 5 мин на Multi-vortex V-32, центрифугировали 10 мин при 16000 об./мин. 400 мкл нижнего органического слоя подвергали упариванию досуха в токе азота при комнатной температуре 15 мин при помощи концентратора Organomation MULTIVAP. Полученный сухой остаток растворяли в 1000 мкл смеси изопропилового спирта и ацетонитрила 1:1 по объёму, перемешивали 5 мин на Multi-vortex V-32, центрифугировали 10 мин при 16000 об./мин. Для приготовления образца контроля качества в вials со вставкой переносили 200 мкл супернатанта и пулировали 10 мкл каждого образца. Результаты были нормированы на степень разбавления образцов и массу навески.

Определение керамидного профиля в образцах локальных жировых депо пациентов. Для определения керамидного профиля в образцах ЖТ пациентов использовали систему высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием ионов-прекурсоров фрагмента с m/z 264 в диапазоне отношения масса/заряд от 500 до 700 (ВЭЖХ-МС). Предварительно проводили жидкостно-жидкостную экстракцию с помощью хлороформа, метанола и воды. Система ВЭЖХ-МС/МС состояла из тандемного тройного квадрупольного масс-спектрометрического детектора Sciex QTRAP 5500 (ab Sciex, США) и жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, США). Применяли колонку ZORBAX Eclipse XDB-C18, 2,1×100 мм, 1,8 мкм (Agilent Technologies, США) с предколонкой Security Guard (Phenomenex, США). Данные обрабатывали в программе MultiQuant. Оценка керамидного профиля проведена на базе ЦКП "Клиническая масс-спектрометрия" ФГБУ "НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова" Минздрава России.

Статистический анализ. Статистическая обработка полученных результатов была проведена с использованием пакета прикладных программ "STATISTICA 12" и "GraphPad Prism 8" (GraphPad Software). Результаты представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей. Определение межгрупповых различий проводили при помощи непараметрических критериев. Для сравнения 3 независимых групп использовали критерий Краскела-Уоллиса с последующим попарным сравнением при помощи U-критерия Манна-Уитни. Для сравнения 2 независимых групп применяли U-критерий Манна-Уитни. Категориальные переменные, выраженные в %, сравнивали при помощи критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ на всех этапах статистического анализа.

Результаты

Анализ клинико-anamnestической характеристики пациентов с ССЗ показал, что пациенты обследо-

Таблица 1
Клинико-anamнестическая характеристика
обследованных пациентов с ССЗ

Параметр	Группа ИБС, n=30	Группа ППС, n=30	p
Мужчины, n (%)	20 (66,7)	19 (63,3)	0,063
Возраст, лет, Ме (Q25;Q75)	65,5 (48,6;69,7)	60,4 (44,5;65,6)	0,082
ИМТ, кг/м ² , Ме (Q25;Q75)	26,3 (22,3;30,3)	27,1 (23,5;31,4)	0,067
Курение, n (%)	17 (56,7)	8 (26,7)	0,002
Артериальная гипертензия, n (%)	19 (63,3)	10 (33,3)	0,001
Дислипидемия, n (%)	15 (50,0)	5 (16,7)	0,003
ИБС в анамнезе, n (%)	22 (73,3)	13 (43,3)	0,031
ИМ в анамнезе, n (%)	23 (76,7)	0	
ОНМК, n (%)	5 (16,7)	0	
Атеросклероз других бассейнов, n (%)	7 (23,3)	0	
Нет стенокардии, n (%)	1 (3,3)	30 (100)	0,003
Стенокардия I ФК, n (%)	0	0	
Стенокардия II ФК, n (%)	13 (43,3)	0	
Стенокардия III ФК, n (%)	16 (53,3)	0	
Стенокардия IV ФК, n (%)	0	0	
ХСН I ФК, n (%)	14 (46,7)	9 (30,0)	0,062
ХСН II ФК, n (%)	5 (16,7)	25 (83,3)	0,003
ХСН III ФК, n (%)	0	0	
ХСН IV ФК, n (%)	0	0	
Атеросклероз 1 КА, n (%)	5 (16,7)	0	
Атеросклероз 2 КА, n (%)	2 (6,7)	0	
Атеросклероз 3 и более КА, n (%)	23 (76,7)	0	
Фракция выброса, %, Ме (Q25;Q75)	53,5 (46,2;58,7)	51,1 (42,3;55,3)	0,048
Липидограмма			
ОХС, ммоль/л, Ме (Q25;Q75)	5,90 (4,13;8,52)	4,01 (3,56;5,75)	0,005
ХС-ЛВП, ммоль/л, Ме (Q25;Q75)	0,76 (0,50;0,93)	1,09 (0,95;1,18)	0,027
ХС-ЛНП, ммоль/л, Ме (Q25;Q75)	4,32 (3,45;5,66)	3,11 (1,99;3,42)	0,032
ХС-ЛОНП, ммоль/л, Ме (Q25;Q75)	0,60 (0,45;1,33)	0,61 (0,31;1,28)	0,137
Триглицериды, ммоль/л, Ме (Q25;Q75)	2,46 (1,93;2,95)	1,92 (1,56;2,33)	0,083
Индекс атерогенности, Ме (Q25;Q75)	4,61 (2,85;5,68)	2,41 (1,97;2,83)	0,015
Терапия на госпитальном этапе			
Аспирин, n (%)	26 (86,6)	0	
Клопидогрел, n (%)	4 (13,3)	0	
Варфарин, n (%)	0	26 (86,7)	
β-блокаторы, n (%)	28 (93,3)	27 (90,0)	0,085
иАПФ, n (%)	25 (83,3)	24 (80,0)	0,317
Статины, n (%)	30 (100)	24 (80,0)	0,095
Блокаторы Са-каналов, n (%)	22 (73,3)	20 (66,7)	0,065
Нитраты, n (%)	2 (6,7)	3 (10,0)	0,231
Диуретики, n (%)	25 (83,3)	24 (80)	0,086

Сокращения: иАПФ — ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ИМТ — индекс массы тела, КА — коронарная артерия, ОНМК — острое нарушения мозгового кровообращения, ППС — приобретенные пороки сердца, ФК — функциональный класс, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ХС-ЛВП — холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛНП — холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛОНП — холестерин липопротеинов очень низкой плотности.

ванных групп были сопоставимы по возрасту и полу. Анализируемые группы преимущественно состояли из мужчин (табл. 1). Средний возраст пациентов с ИБС составил 65,5 (48,6;69,7) лет, в группе с ППС — 60,4 (44,5;65,6) лет. Пациенты обеих групп имели избыточную массу тела, о чем свидетельствуют значения индекса массы тела в пределах от 25 до 29,9. В анамнезе были зарегистрированы такие модифицируемые ФР, как курение, определяемое как курение по крайней мере 1 сигареты в день в прошлом году; артериальная гипертензия (систолическое АД >140 мм рт.ст., диастолическое АД >90 мм рт.ст.); дислипидемия, установленная на основании ранее зафиксированного в течение как минимум 1 года повышения общего холестерина (ОХС) в сыворотке крови >200 мг/дл, триацилглицериды >200 мг/дл или холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) >150 мг/дл или применения гиполипидемических средств. Так, лица с атеросклеротическим поражением коронарных артерий в среднем 2 раза чаще курили и страдали артериальной гипертензией по сравнению с пациентами с пороками сердца. Нарушения липидного обмена в группе ИБС встречались в 3 раза чаще и характеризовались более высоким содержанием ОХС, ХС-ЛНП и индекса атерогенности в сравнении с группой ППС, при этом уровень холестерина липопротеинов высокой плотности напротив был в 1,4 раза ниже (табл. 1). Инфаркт миокарда, острые нарушения мозгового кровообращения в анамнезе и мультифокальный атеросклероз встречались только в группе с коронарогенной патологией. Пациенты данной группы страдали стенокардией II и III функционального класса (ФК), хронической сердечной недостаточностью, преимущественно I ФК, в то время как пациенты с ППС в большей степени страдали хронической сердечной недостаточностью II ФК. Систолическая функция левого желудочка была оценена по фракции выброса (ФВ) левого желудочка по Тейхольцу. В группе ИБС ФВ соответствовала сохраненной и составила 53,5 (46,2;58,7)%, среди лиц с ППС ФВ была несколько снижена — 51,1 (42,3;55,3)%.

На госпитальном этапе все пациенты получали стандартную медикаментозную терапию согласно рекомендациям Минздрава России (2020) и Европейского общества кардиологов (2020) (табл. 1).

При изучении церамидного спектра ПЖТ, ЭЖТ и ПВЖТ пациентов с ССЗ выявлены следующие виды Cer: насыщенные Cer d18:1/14:0, Cer d18:1/16:0, Cer d18:1/18:0, Cer d18:1/20:0, Cer d18:1/22:0, Cer d18:1/23:0, Cer d18:1/24:0, Cer d18:1/26:0, ненасыщенный Cer d18:1/24:1 и полиненасыщенные Cer d18:1/22:2, Cer d18:1/22:4, Cer d18:1/22:5. Основанием обнаруженных Cer был C18-сфингозин (d18:1), что совпадает с данными литературы [9].

При оценке концентрации Cer в ЖТ пациентов с ССЗ в зависимости от курения получено, что

Таблица 2

Оценка концентрации Cer в экстрактах липидов тканей локальных жировых депо пациентов с ССЗ в зависимости от курения, нг/мл

Церамиды	Некурящие пациенты, n=40			Курящие пациенты, n=20			P _m
	ПЖТ	ЭЖТ	ПВЖТ	ПЖТ	ЭЖТ	ПВЖТ	
	1	2	3	4	5	6	
Cer d18: 1/14:0, нг/мл	1,66 (0,94;1,95) p _k =0,005 p _{m1,2} =0,0013	2,33 (1,89;2,79)	2,17 (1,53;2,54)	2,04 (1,82;2,32) p _k =0,003 p _{m4,5} =0,012	2,84 (2,05;3,16)	2,39 (1,66;3,55)	p _{1,4} =0,000015
Cer d18: 1/16:0, нг/мл	40,47 (24,65;55,37) p _k =0,025 p _{m1,3} =0,0018	50,53 (39,49;72,80)	59,84 (55,44;77,18)	45,71 (43,51;56,09) p _k =0,033 p _{m4,6} =0,035	85,51 (70,72;91,46)	96,01 (59,85;166,84)	p _{2,5} =0,001 p _{3,6} =0,003
Cer d18: 1/17:0, нг/мл	2,18 (1,95;2,48) p _k ≥0,05	2,29 (1,96;2,61)	2,25 (2,01;2,93)	2,62 (2,49;3,2) p _k ≥0,05	2,85 (2,30;3,26)	2,46 (1,96;3,28)	p _{1,4} =0,0011
Cer d18: 1/17:2, нг/мл	3,43 (1,89;5,87) p _k =0,0031 p _{m1,2} =0,02	7,89 (5,42;8,39)	6,81 (6,24;7,63)	3,41 (2,92;4,77) p _k =0,0006 p _{m4,5} =0,015 p _{m4,6} =0,011	10,56 (9,47;13,98)	12,85 (9,14;16,31)	p _{2,5} =0,0001 p _{3,6} =0,006
Cer d18: 1/18:0, нг/мл	8,88 (4,94;16,63) p _k =0,011 p _{m1,2} =0,004 p _{m1,3} =0,001	19,18 (14,92;25,60)	20,17 (17,46;23,63)	9,39 (8,57;11,88) p _k =0,006 p _{m4,5} =0,0031 p _{m4,6} =0,002	28,32 (24,02;35,91)	34,95 (26,95;45,21)	p _{2,5} =0,0002 p _{3,6} =0,0011
Cer d18: 1/20:0, нг/мл	11,28 (5,52;19,58) p _k ≥0,05	19,49 (12,78;25,49)	17,15 (13,36;21,65)	8,59 (8,42;10,75) p _k =0,005 p _{m4,5} =0,007 p _{m4,6} =0,0011	25,77 (20,27;28,70)	22,00 (15,42;32,58)	p≥0,05
Cer d18: 1/22:0, нг/мл	114,75 (93,80;141,91) p _k =0,008 p _{m1,2} =0,003	73,98 (54,94;112,80)	91,11 (50,22;147,92)	121,27 (80,63;148,05) p _k ≥0,05	112,73 (90,57;174,90)	126,22 (105,22;178,93)	p _{2,5} =0,006 p _{3,6} =0,003
Cer d18: 1/22:2, нг/мл	13,90 (6,23;15,43) p _k ≥0,05	10,33 (7,16;13,37)	12,14 (5,79;15,46)	9,28 (8,71;10,49) p _k =0,003 p _{m4,6} =0,017	12,44 (10,84;14,80)	15,70 (11,22;19,98)	p _{1,4} =0,03
Cer d18: 1/22:4, нг/мл	3,51 (2,47;3,97) p _k ≥0,05	3,17 (2,93;5,28)	4,62 (3,25;5,05)	3,17 (2,93;5,28) p _k ≥0,05	3,79 (3,53;4,61)	4,03 (3,34;5,11)	p≥0,05
Cer d18: 1/22:5, нг/мл	5,50 (3,7;7,66) p _k ≥0,05	5,35 (4,00;6,64)	6,27 (4,81;10,25)	5,90 (4,51;6,92) p _k =0,0042 p _{m4,6} =0,021	7,74 (6,95;12,61)	9,98 (7,62;12,99)	p _{2,5} =0,00014
Cer d18: 1/23:0, нг/мл	26,97 (9,63;27,18) p _k ≥0,05	19,25 (14,11;21,02)	21,57 (11,13;31,75)	17,25 (12,12;21,32) p _k =0,0027 p _{m4,6} =0,033	21,73 (17,86;25,97)	28,83 (20,11;37,30)	p _{1,4} =0,004 p _{3,6} =0,03
Cer d18: 1/24:0, нг/мл	66,12 (52,87;98,49) p _k ≥0,05	78,04 (57,20;117,05)	90,02 (73,59;113,54)	59,42 (56,75;62,66) p _k =0,0013 p _{m4,6} =0,002	82,37 (71,99;96,51)	93,69 (83,09;127,69)	p≥0,05
Cer d18: 1/24:1, нг/мл	114,33 (88,41;131,69) p _k =0,0022 p _{m1,3} =0,0005	125,35 (95,75;142,92)	145,38 (126,38;231,37)	136,91 (107,83;144,13) p _k =0,003 p _{m4,5} =0,031 p _{m4,6} =0,023	193,94 (140,21;275,54)	231,83 (171,33;295,36)	p _{2,5} =0,0003 p _{3,6} =0,0011
Cer d18:1/26:0, нг/мл	0,92 (0,67;1,85) p _k =0,004 p _{m2,3} =0,006	0,75 (0,63;1,36)	1,42 (1,26;1,81)	1,00 (0,74;1,31) p _k =0,0007 p _{m5,6} =0,005	0,76 (0,61;1,34)	1,52 (0,94;2,20)	p≥0,05

Сокращения: ПВЖТ — периваскулярная жировая ткань, ПЖТ — подкожная жировая ткань, ЭЖТ — эпикардальная жировая ткань, Cer — церамиды, P_k — уровень статистический значимости, критерий Краскела-Уоллиса, P_m — уровень статистический значимости, критерий Манна-Уитни с поправкой.

в ЭЖТ некурящих лиц уровни Cer d18:1/14:0, 17:2 были выше, чем в ПЖТ (в 1,4 раза, $p=0,0013$ и в 2,3 раза, $p=0,02$, соответственно). Содержание Cer d18:1/18:0 в ЭЖТ и ПВЖТ было двукратно увеличено по сравнению с ПЖТ ($p=0,004$ и $p=0,001$, соответственно).

В ПВЖТ наблюдалось повышение Cer d18:1/16:0 и 24:1 относительно ПЖТ (в 1,5 раза, $p=0,0018$ и 1,3 раза, $p=0,0005$), 26:0 относительно ЭЖТ (в 1,9 раза, $p=0,006$). ЭЖТ курящих пациентов характеризовалась увеличенной концентрацией Cer d18:1/14:0 по сравнению с ПЖТ (в 1,4 раза, $p=0,012$). В ЭЖТ и ПВЖТ уровни Cer d18:1/17:2, 18:0, 20:0, 24:1 были выше, чем в ПЖТ (в 3,1 раза, $p=0,015$ и 3,8, $p=0,011$; в 3 раза, $p=0,0031$ и 3,7 раза, $p=0,002$; в 3,0 раза, $p=0,007$ и 2,6 раза, $p=0,0011$; в 1,4 раза, $p=0,031$ и в 1,7 раза, $p=0,023$, соответственно). В ПВЖТ отмечалось повышенное содержание Cer d18:1/16:0, 22:2, 22:5, 23:0, 24:0 относительно ПЖТ (в 2,1 раза, $p=0,035$; в 1,7 раза, $p=0,017$; в 1,7 раза, $p=0,021$; в 1,7 раза, $p=0,033$; в 1,6 раза, $p=0,002$, соответственно) и 26:0 относительно ЭЖТ (в 2 раза, $p=0,005$) (табл. 2).

Были выявлены следующие межгрупповые различия: в ПЖТ курящих пациентов наблюдалось более высокое содержание Cer d18:1/14:0 и 17:0 (в 1,2 раза, $p=0,000015$ и $p=0,0011$) и снижение 22:2 и 23:0 (в 1,5 раза, $p=0,03$ и в 1,6 раза, $p=0,004$) по сравнению с некурящими, в ЭЖТ курящих лиц — более высокий уровень Cer 22:5 (в 1,4 раза, $p=0,00014$), в ПВЖТ — 23:0 (в 1,6 раза, $p=0,03$) относительно некурящих лиц. В ЭЖТ и ПВЖТ курящих пациентов уровни следующих Cer были выше, чем у некурящих: Cer d18:1/16:0 в 1,7 раза ($p=0,001$) и в 1,6 раза ($p=0,003$), 17:2 в 1,3 раза ($p=0,0001$) и 1,9 раза ($p=0,006$), 18:0 в 1,5 раза ($p=0,0002$) и в 1,7 раза ($p=0,0011$), 22:0 в 1,5 раза и 1,4 раза ($p=0,006$, $p=0,003$), 24:1 в 1,5 раза и 1,6 раза ($p=0,0003$, $p=0,0011$), соответственно (табл. 2).

Обсуждение

В проведенном нами исследовании выявлено специфическое обогащение ЭЖТ курящих пациентов полиненасыщенными Cer d18:1/22:5, ПВЖТ — насыщенными Cer d18:1/23:0 относительно некурящих лиц. В ЭЖТ и ПВЖТ курящих пациентов уровни Cer d18:1/16:0, 17:2, 18:0, 22:0, 24:1 были выше, чем у некурящих лиц. ПЖТ курящих пациентов характеризовалась высоким содержанием Cer d18:1/14:0 и 17:0 и снижением 22:2 и 23:0 по сравнению с некурящими.

Большинство исследований влияния курения на уровни Cer выполнены в плазме/сыворотке крови. В то время как данные о содержании Cer в ЖТ сердца и сосудов и их взаимосвязи с курением у людей практически отсутствуют. Ранее проведенные экспериментальные работы показали накопление Cer, цереброзидов, фосфолипидов и различных сфингоидных оснований — метаболитов пути синтеза Cer *de novo* в плазме мышей ApoE^{-/-} (хорошо зарекомендовав-

шей себя мышинной модели атерогенеза человека), подвергшихся воздействию сигаретного дыма [10].

Аналогичные результаты о повышении плазменных уровней Cer продемонстрировали и другие исследователи. Cruickshank-Quinn CI, et al. (2014) определяли, вызывает ли сигаретный дым изменения метаболического профиля липидов у мышей, а также их постоянство после прекращения курения. Показано увеличение Cer d18:1/20:0 и галабиозилцерамидов d18:1/25:0 при применении сигаретного дыма. После прекращения влияния сигаретного дыма их уровни снижались, но были повышены по сравнению с группой контроля, которые подвергались воздействию воздуха [11]. Воздействие сигаретного дыма в течение 3 мес. приводило к значительному повышению отношения Cer d18:1/24:0 и Cer d18:1/24:1 к Cer d18:1/18:0 в плазме, печени, легких и брюшной аорте мышей [12].

Boué S, et al. (2012) показали накопление Cer в стенке аорты мышей ApoE^{-/-}, но накопление эфиров ХС пропорционально превышало накопление Cer. Поскольку было показано значительное увеличение относительной доли дигидро-церамидов и дигидро-сфингомиелинов в аорте мышей, подвергшихся воздействию сигаретного дыма, предполагают, что курение индуцирует синтез Cer *de novo* в стенке сосудов [10].

Считается, что длинноцепочечные Cer (C14-22) оказывают неблагоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему, в то время как очень длинноцепочечные Cer (C23:0-C26:0), напротив, обладают кардиопротективным действием [13, 14]. Одним из объяснений такого мнения служит предположение о способности Cer C16:0 хорошо смешиваться с холестерином, влиять на функциональность липидных рафтов и активировать как внутренние, так и внешние пути апоптоза. Cer C24:0 не смешивается должным образом с холестерином, что может объяснить его протективный эффект [15].

Обращает на себя внимание увеличение уровня Cer с двойными связями в ЖТ у курящих пациентов, что может сделать их более восприимчивыми к окислительному стрессу [16]. Действительно, показано, что Cer с двойной связью (ненасыщенные) ведут себя иначе, чем насыщенные: Cer 24:0 обладает защитными эффектами в отношении сердечно-сосудистых событий в отличие от Cer 24:1. Показано, что большинство жирных кислот, подвергающихся β -окислению в сердце, представляют собой мононенасыщенные жирные кислоты [17]. Возможным объяснением считается дисрегуляция метаболизма Cer при ССЗ [18].

Ограничения исследования. 1. Проведенное исследование одноцентровое. 2. Размер выборки невелик. 3. Отсутствие условно здоровых лиц в качестве группы сравнения. 4. Необходимо сопоставление результатов сфинголипидного профилирования и результатов экспрессии генов ферментов, метабо-

лизирующих сфинголипиды в жировых депо сердца и коронарных сосудов, у пациентов с ССЗ, что даст более полную картину о влиянии курения на метаболизм сфинголипидов, Сег в частности, и является целью будущей работы.

Заключение

Таким образом, локальные жировые депо пациентов с ССЗ отличались по уровню Сег в зависимости от курения. Полученные результаты свидетельствуют о модуляции синтеза Сег и их накоплении преимущественно в ЖТ эпикардиальной и периваскулярной локализации у курящих пациентов. Наблюдаемые изменения могут быть обусловлены рядом причин: избыток жирных кислот, гипоксия, воспаление, активация Toll-like рецепторов (TLR) 4 типа на адипо-

цитах. Принимая во внимание широкий спектр метаболических эффектов, использование Сег в качестве биомаркеров и мишенной персонализированной терапии является перспективным для выявления лиц высокого риска и улучшения лечебно-диагностических стратегий при ССЗ, имеет огромные перспективы для лечения широкого спектра сердечно-сосудистых патологий.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20007 "Церамидный профиль локальных жировых депо сердца: клинко-патогенетическое значение и терапевтический потенциал" (<https://rscf.ru/project/22-15-20007>) и средств Министерства науки и высшего образования Кузбасса.

Литература/References

- Noothi SK, Ahmed MR, Agrawal DK. Residual risks and evolving atherosclerotic plaques. *Mol Cell Biochem.* 2023;478(12):2629-43. doi:10.1007/s11010-023-04689-0.
- Gallucci G, Tartarone A, Lerosé R, et al. Cardiovascular risk of smoking and benefits of smoking cessation. *J Thorac Dis.* 2020;12(7):3866-76. doi:10.21037/jtd.2020.02.47.
- Ma B, Chen Y, Wang X, et al. Cigarette smoke exposure impairs lipid metabolism by decreasing low-density lipoprotein receptor expression in hepatocytes. *Lipids Health Dis.* 2020;19(1):88. doi:10.1186/s12944-020-01276-w.
- Mantovani A, Dugo C. Ceramides and risk of major adverse cardiovascular events: A meta-analysis of longitudinal studies. *J Clin Lipidol.* 2020;14(2):176-85. doi:10.1016/j.jacl.2020.01.005.
- Poss AM, Summers SA. Too much of a good thing? An evolutionary theory to explain the role of ceramides in nafld. *Front. Endocrinol.* 2020;11:505. doi:10.3389/fendo.2020.00505.
- Brel NK, Gruzdeva OV, Kokov AN, et al. Relationship of coronary calcinosis and local fat deposits in patients with coronary artery disease. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2022;11(3):51-63. (In Russ.) Брель Н.К., Груздева О.В., Коков А.Н. и др. Взаимосвязь кальциноза коронарных артерий и локальных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний* 2022;11(3):51-63. doi:10.17802/2306-1278-2022-11-3-51-63.
- Belik EV, Dyleva YuA, Gruzdeva OV. Ceramides: correlation with cardiovascular risk factors. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2023;38(1):28-36. (In Russ.) Белик Е.В., Дылева Ю.А., Груздева О.В. Церамиды: взаимосвязь с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2023;38(1):28-36. doi:10.29001/2073-8552-2023-38-1-28-36.
- Gruzdeva OV, Dyleva YuA, Belik EV, et al. Expression of Ceramide-Metabolizing Enzymes in the Heart Adipose Tissue of Cardiovascular Disease Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24:9494. doi:10.3390/ijms24119494.
- Zheng W, Kollmeyer J, Symolon H, et al. Ceramides and other bioactive sphingolipid backbones in health and disease: lipidomic analysis, metabolism and roles in membrane structure, dynamics, signaling and autophagy. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1758(12):1864-84. doi:10.1016/j.bbame.2006.08.009.
- Boué S, Tarasov K, Jänis M, et al. Modulation of atherogenic lipidome by cigarette smoke in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis.* 2012;225(2):328-34. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.032.
- Cruickshank-Quinn CI, Mahaffey S, Justice MJ, et al. Transient and persistent metabolomic changes in plasma following chronic cigarette smoke exposure in a mouse model. *PLoS One.* 2014;9(7):e101855. doi:10.1371/journal.pone.0101855.
- Lavrynenko O, Titz B, Dijon S, et al. Ceramide ratios are affected by cigarette smoke but not heat-not-burn or e-vapor aerosols across four independent mouse studies. *Life Sci.* 2020;263:118753. doi:10.1016/j.lfs.2020.118753.
- Summers SA, Chaurasia B, Holland WL. Metabolic Messengers: Ceramides. *Nat. Metab.* 2019;1(11):1051-8. doi:10.1038/s42255-019-0134-8.
- Turpin SM, Nicholls HT, Willmes DM, et al. Obesity-induced CerS6-dependent C16:0 ceramide production promotes weight gain and glucose intolerance. *Cell Metab.* 2014;20:678-86. doi:10.1016/j.cmet.2014.08.002.
- Grosch S, Schiffmann S, Geisslinger G. Chain length-specific properties of ceramides. *Prog. Lipid Res.* 2012;51:50-62. doi:10.1016/j.plipres.2011.11.001.
- Pamplona R. Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: a causal role in aging and longevity. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1777(10):1249-62. doi:10.1016/j.bbabi.2008.07.003.
- Dobrzyn P, Pyrkowska A, Jazurek M, et al. Increased availability of endogenous and dietary oleic acid contributes to the upregulation of cardiac fatty acid oxidation. *Mitochondrion.* 2012;12(1):132-7. doi:10.1016/j.mito.2011.05.007.
- Laaksonen R, Ekroos K, Sysi-Aho M, et al. Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. *N Engl J Med.* 2007;356(15):1503-16. doi:10.1056/NEJMoa070829.