

# СФИНГОМИЕЛИНЫ ЛОКАЛЬНЫХ ЖИРОВЫХ ДЕПО И СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОМАРКЕРЫ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

DOI: 10.17691/stm2024.16.1.06

УДК 616.127-005.4:577.21

Поступила 25.07.2023 г.



**Е.В. Белик**, к.м.н., научный сотрудник лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>;

**Ю.А. Дылева**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>;

**Е.Г. Учасова**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>;

**С.В. Иванов**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории рентгенэндоваскулярной и реконструктивной хирургии сердца и сосудов отдела хирургии сердца и сосудов<sup>1</sup>;

**А.Н. Стасев**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории пороков сердца отдела хирургии сердца и сосудов<sup>1</sup>;

**М.Г. Зинец**, врач-кардиохирург отделения кардиохирургии №1<sup>1</sup>;

**О.В. Груздева**, д.м.н., доцент, профессор РАН, зав. лабораторией исследований гомеостаза отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>; зав. кафедрой медицинской биохимии<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, бульвар имени академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, 650002;

<sup>2</sup>Кемеровский государственный медицинский университет, ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, 650056

Оценка липидного спектра крови не всегда адекватно отражает локальные дисфункциональные изменения в жировой ткани и не позволяет выявить всех пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Мониторинг изменений уровня сфингомиелинов дает возможность оценивать и прогнозировать прогрессирование и/или тяжесть этих заболеваний, а также использовать сфингомиелины в качестве новых терапевтических мишеней.

**Цель исследования** — оценить сфингомиелиновый спектр локальных жировых депо и сыворотки крови во взаимосвязи с клинико-инструментальными показателями у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и с дегенеративными приобретенными пороками сердца (ППС).

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужили образцы подкожной, эпикардальной, периваскулярной жировой ткани (ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ соответственно) и сыворотки крови, полученные во время плановой операции у 30 пациентов с ИБС и 30 пациентов с ППС. Сфингомиелиновый спектр сыворотки крови и жировой ткани пациентов определяли с использованием хромато-масс-спектрометрического комплекса высокого разрешения — жидкостного хроматографа серии Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) с масс-спектрометрическим детектором maXis impact (Bruker Daltonics, Германия). Уровни сфингомиелинов в образцах жировой ткани оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием в диапазоне отношений масса/заряд от 100 до 1700.

**Результаты.** При ИБС и ППС выявлен одинаковый спектр сфингомиелинов локальных жировых депо и сыворотки крови. Однако их содержание различалось. При ИБС наблюдалось специфическое обогащение сфингомиелинами жировой ткани эпикардальной локализации по сравнению с ПЖТ и ПВЖТ, при ППС же ПВЖТ характеризовалась статистически значимым увеличением уровней всех сфингомиелинов относительно ЭЖТ. Практически все измеренные виды сфингомиелинов в сыворотке крови у пациентов с ИБС превышали их уровни в группе ППС.

**Заключение.** Установленные ассоциации параметров сфингомиелинового профиля жировой ткани и сыворотки крови с клинико-инструментальными показателями при ССЗ свидетельствуют о взаимосвязи метаболизма сфингомиелинов в жировой ткани сердечной локализации с нарушениями систолической и диастолической функций левого желудочка у пациентов с ССЗ, с многососудистым поражением коронарного русла при ИБС и позволяют использовать сфингомиелины в качестве перспективных биомаркеров ССЗ. Однако для выяснения природы этой взаимосвязи необходимы дальнейшие исследования.

**Ключевые слова:** сфингомиелин; эпикардальная жировая ткань; периваскулярная жировая ткань; ишемическая болезнь сердца; дегенеративные приобретенные пороки сердца.

**Как цитировать:** Belik E.V., Dyleva Yu.A., Uchasova E.G., Ivanov S.V., Stasev A.N., Zinets M.G., Gruzdeva O.V. Sphingomyelins of local fat depots and blood serum as promising biomarkers of cardiovascular diseases. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2024; 16(1): 54, <https://doi.org/10.17691/stm2024.16.1.06>

**Для контактов:** Белик Екатерина Владимировна, e-mail: [sionina.ev@mail.ru](mailto:sionina.ev@mail.ru)

## Sphingomyelins of Local Fat Depots and Blood Serum as Promising Biomarkers of Cardiovascular Diseases

**E.V. Belik**, MD, PhD, Researcher, Laboratory of Homeostasis Research, Department of Experimental Medicine<sup>1</sup>;

**Yu.A. Dyleva**, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Homeostasis Research, Department of Experimental Medicine<sup>1</sup>;

**E.G. Uchasova**, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Homeostasis Research, Department of Experimental Medicine<sup>1</sup>;

**S.V. Ivanov**, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of X-ray Endovascular and Reconstructive Surgery of the Heart and Vessels, Department of Cardiovascular Surgery<sup>1</sup>;

**A.N. Stasev**, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Heart Diseases, Department of Cardiovascular Surgery<sup>1</sup>;

**M.G. Zinets**, Cardiac Surgeon, Department of Cardiac Surgery No.1<sup>1</sup>;

**O.V. Gruzdeva**, MD, DSc, Associate Professor, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory for Homeostasis Research, Department of Experimental Medicine<sup>1</sup>; Head of the Department of Medical Biochemistry<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 6 Academician L.S. Barbarash Blvd, Kemerovo, 650002, Russia;

<sup>2</sup>Kemerovo State Medical University, 22A Voroshilov St., Kemerovo, 650056, Russia

Assessment of the blood lipid spectrum does not always properly reflect local dysfunctional changes in the adipose tissue and prevents identification of all patients at high risk of cardiovascular diseases (CVD). Monitoring of changes in sphingomyelin levels allows to assess and anticipate the development and/or severity of these diseases, as well as to make sphingomyelins new therapeutic targets.

**The aim of the study** was to evaluate the sphingomyelin spectrum of local fat depots and blood serum in connection with clinical and instrumental indicators in patients with coronary artery disease (CAD) and patients with degenerative acquired valvular heart disease (AVHD).

**Materials and Methods.** The study analyzed samples of subcutaneous, epicardial, perivascular adipose tissue (SAT, EAT, PVAT, respectively) received from 30 patients with CAD and 30 patients with AVHD. Sphingomyelin spectrum of the blood serum was assessed using a high-resolution chromatography-mass spectrometric complex (liquid chromatograph of the Agilent 1200 series (Agilent Technologies, USA) with a maXis impact mass spectrometric detector (Bruker Daltonics, Germany)). Determination of the levels of sphingomyelins (SM) in adipose tissue samples was conducted by high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection in the mass/charge ratio range from 100 to 1700.

**Results.** Consistent sphingomyelin spectrum of local fat depots and blood serum was revealed in CAD and AVHD. However, the content of SM varied: in CAD, a specific enhancement of SM in epicardial adipose tissue was observed compared to subcutaneous and perivascular localization. In AVHD, PVAT was characterized by a statistically significant increase in the levels of all SM relative to EAT. Almost all measured SM types in the serum of patients with CAD were higher than the levels in the AVHD group.

**Conclusion.** Established associations of indicators of the sphingomyelin profile of adipose tissue and blood serum with clinical and instrumental indicators in CVD indicate the relationship between the metabolism of SM in adipose tissue of cardiac localization and disorders of systolic and diastolic function of the LV in patients with CVD, multivessel coronary disease in CAD and allow the use of SM as promising biomarkers of CVD. However, further research is needed to clarify the nature of these relationships.

**Key words:** sphingomyelin; epicardial adipose tissue; perivascular adipose tissue; coronary artery disease; acquired degenerative valvular heart disease.

### Введение

Известно, что центральную роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) играют нарушения липидного обмена. Хотя определение содержания общего холестерина/холестерина (ОХС), холестерина/холестерина липопротеинов высокой, низкой, очень низкой плотности (ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП соответственно) и триацилглицеридов обеспечивает приемлемую оценку вероятности неблагоприятных сер-

дечно-сосудистых событий, имеются данные о высоком остаточном риске при достижении целевых значений этих показателей, поскольку и другие липиды могут служить независимыми от холестерина факторами заболевания [1]. В настоящее время внимание ученых уделяется в основном исследованию липидного спектра плазмы/сыворотки крови, но эта оценка не всегда адекватно отражает локальные дисфункциональные изменения в жировой ткани (ЖТ), что не позволяет выявить всех пациентов с высоким риском ССЗ [1].

Прогресс в области липидомики за последние 20 лет способствовал активному изучению метаболической дисрегуляции ЖТ при ССЗ. Однако информация относительно содержания липидов в эпикардиальной (ЭЖТ) и периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ), наиболее близко расположенных к очагу поражения, практически отсутствует, хотя локальные жировые депо сердца метаболически активны и могут приводить к развитию/прогрессированию ишемической болезни сердца (ИБС) посредством паракринного высвобождения проатерогенных медиаторов [2, 3].

Среди биологически активных липидов наибольший интерес вызывают сфинголипиды, регулирующие многочисленные клеточные функции и ассоциированные с ССЗ. Особое место занимают сфингомиелины (sphingomyelin, SM), состоящие из фосфохолиновой головной группы, сфингозина и жирной кислоты [4].

Сфингомиелины образуются из керамидов, синтезированных в эндоплазматическом ретикулуме, с помощью сфингомиелинсинтазы (SMS). Фермент SMS относится к группе фосфолипаз и имеет несколько изоформ: SMS1 (кодируется геном *SGMS1*) отвечает за синтез SM в аппарате Гольджи, SMS2 (*SGMS2*) локализуется преимущественно в плазматической мембране [4].

Сфингомиелин считается одним из наиболее распространенных сфинголипидов ЖТ и сыворотки крови человека [5]. Так, на долю SM приходится около 87% от общего количества сывороточных сфинголипидов [6]. Ранее проведенные исследования показали, что повышение уровня сывороточных SM является фактором риска ССЗ [7]. Кроме того, выявлены корреляции между увеличением SM и чувствительностью к инсулину, между развитием ИБС и ожирением [8]. Однако источники избыточного сывороточного уровня SM до сих пор не определены.

Несмотря на многочисленные попытки идентификации SM, определения их критического уровня, биологических функций, способа транспортировки, управления синтезом и обнаружения зависимых от SM сигнальных путей при ССЗ, данные о спектре SM в ЖТ человека на сегодняшний день практически отсутствуют [9], в то время как мониторинг изменений уровня SM позволит оценивать и прогнозировать тяжесть и/или прогрессирование ССЗ, а также использовать их в качестве новых потенциальных мишеней для терапевтического воздействия. Поэтому управление сфингомиелиновым спектром может быть многообещающей стратегией лечения сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний.

**Цель исследования** — оценить сфингомиелиновый спектр локальных жировых депо и сыворотки крови во взаимосвязи с клинико-инструментальными показателями у пациентов с ишемической болезнью сердца и с дегенеративными приобретенными пороками сердца.

## Материалы и методы

**Характеристика пациентов.** Сфингомиелиновый спектр локальных жировых депо и сыворотки крови определен у 30 пациентов с ИБС и 30 пациентов с дегенеративными приобретенными пороками сердца (ППС) — стенозом/недостаточностью аортального и митрального клапанов. Протокол исследования утвержден локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. Пациентов подбирали в соответствии с критериями включения и исключения, руководствуясь ГОСТ Р 52379—2005 («Надлежащая клиническая практика») и принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации («Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования»), с учетом изменений, принятых в 2013 г., а также «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России N 266 от 19.06.2003 г.

Все пациенты имели показания для проведения открытого вмешательства на сердце — прямой реваскуляризации миокарда методом коронарного шунтирования или операции на клапанах сердца. В исследование не включали пациентов старше 75 лет, с наличием клинически значимых сопутствующих патологий (сахарного диабета 1-го и 2-го типов, инфаркта миокарда, анемии, почечной и печеночной недостаточности, онкологических и инфекционно-воспалительных заболеваний) в период обострения, аутоиммунных заболеваний). Критериями включения для пациентов группы сравнения служили верифицированный ППС, согласие на проведение исследования.

Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по полу и возрасту (см. таблицу). В анамнезе лиц с ИБС чаще фиксировали такие факторы риска ССЗ, как артериальная гипертензия, дислипидемия, курение. Уровни ОХС, ХС-ЛПНП и индекс атерогенности пациентов с ИБС превышали аналогичные показатели у лиц с ППС. Содержание ХС-ЛПВП, напротив, было выше в группе ППС.

Пациенты с ППС чаще страдали хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II функционального класса (ФК). Систолическую функцию левого желудочка (ЛЖ) у пациентов оценивали по фракции выброса ЛЖ по Тейхольцу; она составила 53,6 [46,3; 58,9]% у пациентов с ИБС и 51,6 [42,5; 55,8]% — в группе ППС, что соответствует сохраненной фракции выброса.

В течение госпитального периода все пациенты получали стандартную медикаментозную терапию в соответствии с рекомендациями Министерства здравоохранения РФ (2020) и Европейского общества кардиологов (2020) (см. таблицу).

Во время оперативного вмешательства (коронарного шунтирования или коррекции пороков сердца)

**Клиническая характеристика пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями**

Показатели	Пациенты с ИБС (n=30)	Пациенты с СПС (n=30)	p
Мужчины, n (%)	18 (60,0)	17 (56,7)	0,056
Возраст, лет, Me [Q1; Q3]	64,9 [47,8; 69,5]	59,3 [43,7; 62,1]	0,071
Индекс массы тела, Me [Q1; Q3]	26,4 [22,5; 30,2]	27,3 [23,4; 31,2]	0,062
Артериальная гипертензия, n (%)	17 (56,7)	7 (23,3)	0,002
Дислипидемия, n (%)	13 (43,3)	3 (10,0)	0,001
Курение, n (%)	15 (50,0)	5 (16,7)	0,0001
ИБС в анамнезе, n (%)	18 (60,0)	11 (36,7)	0,038
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	21 (70,0)	0	
Острые нарушения мозгового кровообращения, n (%)	3 (10,0)	0	
Атеросклероз других бассейнов, n (%)	5 (16,7)	0	
Стенокардия, n (%):			
отсутствие	1 (3,3)	30 (100)	0,0001
I ФК	0	0	
II ФК	14 (46,7)	0	
III ФК	15 (50,0)	0	
IV ФК	0	0	
ХСН, n (%):			
I ФК	12 (40,0)	7 (23,3)	0,055
II ФК	4 (13,3)	23 (76,7)	
III ФК	0	0	0,002
IV ФК	0	0	
Атеросклероз, n (%):			
одной КА	4 (13,3)	0	
двух КА	1 (3,3)	0	
трех и более КА	24 (80,0)	0	
Фракция выброса, %, Me [Q1; Q3]	53,6 [46,3; 58,9]	51,6 [42,5; 55,8]	0,046
<b>Липидограмма</b>			
ОХС, ммоль/л, Me [Q1; Q3]	5,89 [4,12; 8,25]	3,97 [3,56; 5,75]	0,030
ХС-ЛПВП, ммоль/л, Me [Q1; Q3]	0,91 [0,51; 0,97]	1,20 [0,97; 1,80]	0,035
ХС-ЛПНП, ммоль/л, Me [Q1; Q3]	3,31 [2,95; 5,65]	2,21 [1,93; 3,20]	0,021
ХС-ЛПОНП, ммоль/л, Me [Q1; Q3]	0,60 [0,45; 1,33]	0,61 [0,31; 1,28]	0,137
Триглицериды, ммоль/л, Me [Q1; Q3]	1,75 [1,52; 2,83]	1,32 [0,88; 2,25]	0,098
Индекс атерогенности, Me [Q1; Q3]	3,38 [2,75; 4,33]	2,38 [1,95; 2,72]	0,014
<b>Терапия в стационаре</b>			
Аспирин, n (%)	28 (93,3)	0	
Клопидогрель, n (%)	4 (13,3)	0	
Варфарин, n (%)	0	25 (83,3)	
β-блокаторы, n (%)	27 (90,0)	26 (86,7)	0,091
иАПФ, n (%)	23 (76,7)	24 (80,0)	0,247
Статины, n (%)	30 (100)	22 (73,3)	0,059
Блокаторы Са-каналов, n (%)	23 (76,7)	21 (70,0)	0,166
Нитраты, n (%)	1 (3,3)	2 (6,7)	0,107
Диуретики, n (%)	24 (80,0)	25 (83,3)	0,087

Примечание: КА — коронарная артерия, иАПФ — ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента. Остальные обозначения см. в тексте.

были получены образцы ЖТ подкожной (ПЖТ), эпикардиальной и периваскулярной локализации (3–5 г), которые подвергали криогенной заморозке жидким азотом с последующим хранением при температуре –150°C. Источником ПЖТ служила подкожная клетчатка нижнего угла средостенной раны, ЭЖТ — зоны ее наибольшего присутствия (правые отделы сердца — правое предсердие и правый желудочек), ПВЖТ — область правой коронарной артерии.

Липидомный состав сыворотки крови и ЖТ пациентов был определен с использованием хромато-масс-спектрометрического комплекса высокого разрешения — жидкостного хроматографа серии Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) с масс-спектрометрическим детектором *maXis impact* (Bruker Daltonics, Германия). Для определения SM-состава образцов сыворотки крови и ЖТ предварительно проводили жидкостно-жидкостную экстракцию с помощью хлороформа, метанола и воды. Для анализа SM в анализируемых пробах использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектированием в диапазоне отношений масса/заряд от 100 до 1700. Для идентификации SM выполняли tandemную масс-спектрометрию (МС) в режиме зависимого сканирования с шириной окна 5 Да. Исходные файлы, полученные в результате ВЭЖХ-МС, конвертировали с помощью программы *msConvert* из пакета *ProteoWizard 3.0.9987* в открытый формат *MzXml*, содержащий информацию о масс-спектре в любой момент времени, и в формат *ms2*, содержащий информацию о tandemных масс-спектрах в заданный момент времени. Использовали также программу *MzMine* для выделения пиков, нормирования на полный ионный ток и создания таблицы, содержащей информацию о массе иона, площади его хроматографического пика и времени выхода. Идентификацию SM проводили средствами скриптов *LipidMatch* путем сопоставления значений отношения массы к заряду (*m/z*) экспериментальных фрагментов со значениями *m/z* библиотеки фрагментации *in silico*, содержащей более 500 000 видов липидов, которые охватывают более 60 типов липидов, что делает *LipidMatch* одной из наиболее полных и точных баз данных и номенклатуры липидов (*LipidMaps*). Работа выполнена с использованием оборудования Центра клинического пользования «Клиническая масс-спектрометрия» НИИЦ АГП имени В.И. Кулакова Минздрава России.

**Условия хроматографического анализа профиля липидов в режиме положительных и отрицательных ионов.** Исследования проводились с использованием системы ВЭЖХ-МС/МС, состоящей из гибридного квадрупольного времяпролетного масс-спектрометрического детектора *maXis impact* (Bruker Daltonics, Германия) и жидкостного хроматографа *Dionex UltiMate 3000* (Thermo Scientific, США). Для хроматографического определения липидомного спектра SM применяли колонку *ZORBAX SB-C18*, 0,5×150 мм; 3,5 мкм (Agilent Technologies, США) с предколонкой

*Security Guard* (Phenomenex, США). Исследования проводили при следующих условиях.

1. Температура термостата — 50°C.
2. Состав и режим подвижной фазы:  
элюент А — 10 мМ раствора ацетата аммония в смеси муравьиная кислота–вода–ацетонитрил (0,1:40:60%), об:об;  
элюент В — 10 мМ раствора ацетата аммония в смеси муравьиная кислота–вода–ацетонитрил–изопропиловый спирт (0,1:2:8:90%), об:об.
3. Скорость потока элюента — 35 мкл/мин.
4. Объем вводимой пробы — 0,5 мкл (в режиме положительных ионов), 1,0 мкл (в режиме отрицательных ионов).
5. Раствор для промывки иглы — ацетонитрил.
6. Параметры масс-спектрометрического детектирования:  
диапазон отношения масса/заряд — 100–1700;  
напряжение на капилляре — 4500 В (в режиме положительных ионов), 3000 В (в режиме отрицательных ионов);  
давление газа-распылителя — 0,6 Бар;  
поток осушающего газа — 5 л/мин;  
температура осушающего газа — 200°C;  
время регистрации хроматограммы — 25 мин.

**Приготовление образцов сыворотки крови пациентов.** К 100 мкл сыворотки крови добавляли 375 мкл воды очищенной и 1200 мкл смеси хлороформ:метанол в соотношении 2:1, об:об. Полученную смесь тщательно перемешивали на мульти-вортексе *V-32* (*Biosan*, Латвия) в течение 10 мин, затем центрифугировали при скорости вращения 16 000 об./мин также в течение 10 мин. Отбирали 555 мкл нижнего органического слоя и добавляли еще 440 мкл смеси хлороформ:метанол в соотношении 2:1, об:об. Полученную смесь также тщательно перемешивали на мульти-вортексе *V-32* в течение 5 мин, затем центрифугировали при скорости вращения 16 000 об./мин в течение 10 мин. Отбирали еще 200 мкл нижнего органического слоя и упаривали досуха при помощи концентратора в токе азота *MULTIVAP* (*Organomation*, США) при комнатной температуре 15 мин. Затем сухой остаток растворяли в 100 мкл смеси изопропиловый спирт:ацетонитрил в соотношении 50:50%, об:об, полученную смесь опять перемешивали на мульти-вортексе *V-32* в течение 5 мин, затем центрифугировали при скорости вращения 16 000 об./мин в течение 10 мин. 80 мкл супернатанта переносили в виалу со вставкой, и 10 мкл каждого образца пулировали для приготовления образца контроля качества.

**Приготовление образцов жировой ткани пациентов.** К образцу гомогенизированных адипоцитов локальных жировых депо нормализованной массы добавляли 700 мкл смеси хлороформ:метанол в соотношении 2:1, об:об. Полученную смесь помещали в ультразвуковую ванну на 10 мин, затем добавляли 440 мкл воды очищенной и тщательно перемешивали на мульти-вортексе *V-32* в течение 5 мин, по-

сле чего центрифугировали при скорости вращения 16 000 об./мин в течение 10 мин. Отбирали 200 мкл нижнего органического слоя и добавляли еще 500 мкл смеси хлороформ:метанол в соотношении 2:1, об:об. Полученную смесь также тщательно перемешивали на мульти-вортексе V-32 в течение 5 мин, затем центрифугировали при скорости вращения 16 000 об./мин в течение 10 мин. Отбирали еще 400 мкл нижнего органического слоя и упаривали досуха при помощи концентратора в токе азота MULTIVAP (Organomation, США) при комнатной температуре 15 мин. Затем сухой остаток растворяли в 1000 мкл смеси изопропиловый спирт:ацетонитрил в соотношении 50:50%, об:об, полученную смесь перемешивали на мульти-вортексе V-32 в течение 5 мин, затем центрифугировали при скорости вращения 16 000 об./мин в течение 10 мин. 200 мкл супернатанта переносили в виалу со вставкой, и 10 мкл каждого образца пулировали для приготовления образца контроля качества. Полученные результаты нормировали на степень разбавления образцов и массу навески.

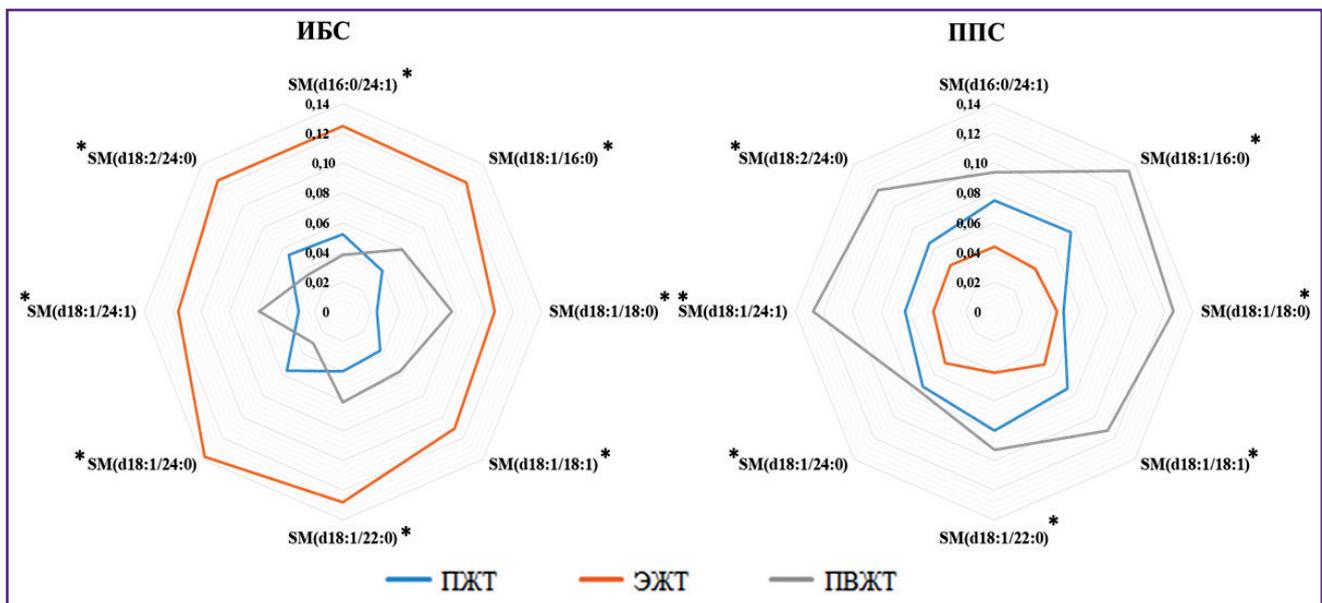
**Статистический анализ результатов** проводили с помощью программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей. Уровни SM в сыворотке крови и ЖТ определяли в относительных величинах. Межгрупповые различия выявляли при помощи непараметрических критериев. Для сравнения трех независимых групп применяли критерий Краскела–Уоллиса с последующим попарным сравнением с использованием U-критерия Манна–Уитни. Сравнение двух независимых групп выполняли при помощи U-критерия Манна–Уитни. Категориальные

переменные, выраженные в процентах, сравнивали с использованием критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера. Оценку взаимосвязи уровней сывороточных SM с SM в образцах ЖТ и с параметрами липидного спектра у пациентов с ССЗ проводили при помощи непараметрической ранговой корреляции Спирмена (r). Зависимость наличия ИБС от уровней SM в сыворотке крови оценивали методом логистической регрессии. Во всех процедурах статистического анализа различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты**

При анализе сфингомиелинового спектра подкожной, эпикардиальной и периваскулярной ЖТ пациентов с ИБС и ППС выявлены следующие виды сфингомиелинов: SM(d16:0/24:1), SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/18:1), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:0), SM(d18:1/24:1) и SM(d18:2/24:0) (рис. 1). Наиболее часто встречающимся основанием обнаруженных сфингомиелинов был C18-сфингозин (d18:1 и d18:2). Был также выявлен C16-сфингозин (d16:0). При этом SM содержали в основном насыщенные жирные кислоты.

При анализе особенностей спектра SM в ЖТ установлено, что ЭЖТ пациентов с ИБС характеризовалась более высоким уровнем всех обнаруженных SM по сравнению с подкожной и периваскулярной ЖТ ( $p < 0,05$ ). В ПВЖТ лиц с ППС наблюдалось статистически значимое увеличение уровней всех SM относительно ЭЖТ ( $p < 0,05$ ) и уровней SM(d16:0/24:1), SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/18:1), SM(d18:1/24:1) — относительно ПЖТ ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 1. Сфингомиелиновый спектр жировой ткани различной локализации у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями**

\* статистически значимые различия между пациентами с ишемической болезнью сердца и приобретенными пороками сердца,  $p < 0,05$

Анализ индивидуальных особенностей SM в ЖТ показал, что ПЖТ пациентов с ИБС характеризовалась более высоким уровнем SM с очень длинноцепочечными жирными кислотами — SM(d16:0/24:1), SM(d18:1/24:0) — по сравнению с ПВЖТ ( $p=0,023$ ;  $p=0,0026$  соответственно). Однако содержание SM с длинноцепочечными жирными кислотами SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/18:1) и с очень длинноцепочечными жирными кислотами — SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:1) — в ПЖТ было ниже, чем в ПВЖТ ( $p=0,0001$ ;  $p=0,0015$ ;  $p=0,0002$ ;  $p=0,006$ ;  $p=0,013$  соответственно) (см. рис. 1).

Подкожная ЖТ пациентов с ППС содержала больше SM с длинноцепочечными жирными кислотами — SM(d16:0/24:1), SM(d18:1/18:1), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:0), SM(d18:1/24:1), SM(d18:2/24:0) и SM(d18:1/16:0), чем ЭЖТ. В то же время ЭЖТ пациентов с ППС содержала меньше таких SM относительно ПВЖТ — (SM(d16:0/24:1), SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/18:1), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:0), SM(d18:1/24:1), SM(d18:2/24:0) — и ПЖТ ((SM(d16:0/24:1), SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:1), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:0), SM(d18:1/24:1), SM(d18:2/24:0)).

Оценка межзонологических различий сфингомиелинового спектра локальных жировых депо показала статистически значимое снижение уровня обнаруженных SM в ПЖТ, кроме SM(d16:0/24:1) — это наблюдалось чаще у пациентов с ИБС по сравнению с лицами с ППС. ЭЖТ лиц с ИБС демонстрировала увеличение

уровней всех обнаруженных SM относительно группы ППС. А ПВЖТ лиц с ИБС, напротив, была менее богата SM, чем в группе ППС.

В сыворотке крови пациентов с ИБС и ППС выявлен следующий сфингомиелиновый спектр: SM(d16:1/16:0), SM(d16:1/18:0), SM(d18:0/22:3), SM(d18:0/22:4), SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/18:1), SM(d18:1/20:0), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:0), SM(d18:1/24:1), SM(d18:2/16:0), SM(d18:2/20:0), SM(d18:2/22:0), SM(d18:2/24:1), SM(d22:1/20:3). Обнаруженные SM содержали длинно- и очень длинноцепочечные жирные кислоты. При этом уровни практически всех измеренных видов сывороточных SM были статистически значимо выше у пациентов с ИБС по сравнению с уровнями в группе ППС ( $p<0,05$ ) либо имели тенденцию к повышению ( $p>0,05$ ). Самым распространенным основанием сывороточных сфингомиелинов, как и в ЖТ, был C18-сфингозин (d18:0, d18:1 и d18:2), также обнаружен C16-сфингозин (d16:1). Кроме того, в сыворотке крови пациентов, в отличие от локальных жировых депо, выявлен C22-сфингозин (d22:1) (рис. 2).

Большинство видов сывороточных SM имели в своем составе различные насыщенные ацильные цепи (C16:0, C18:0, C20:0, C22:0 и C24:0), как и в локальных жировых депо. Обращает на себя внимание наличие полиненасыщенных жирных кислот в составе сывороточных SM (C20:3, C22:3, C22:4), чего не наблюдалось в ЖТ.

Таким образом, у пациентов с ССЗ в сыворотке кро-

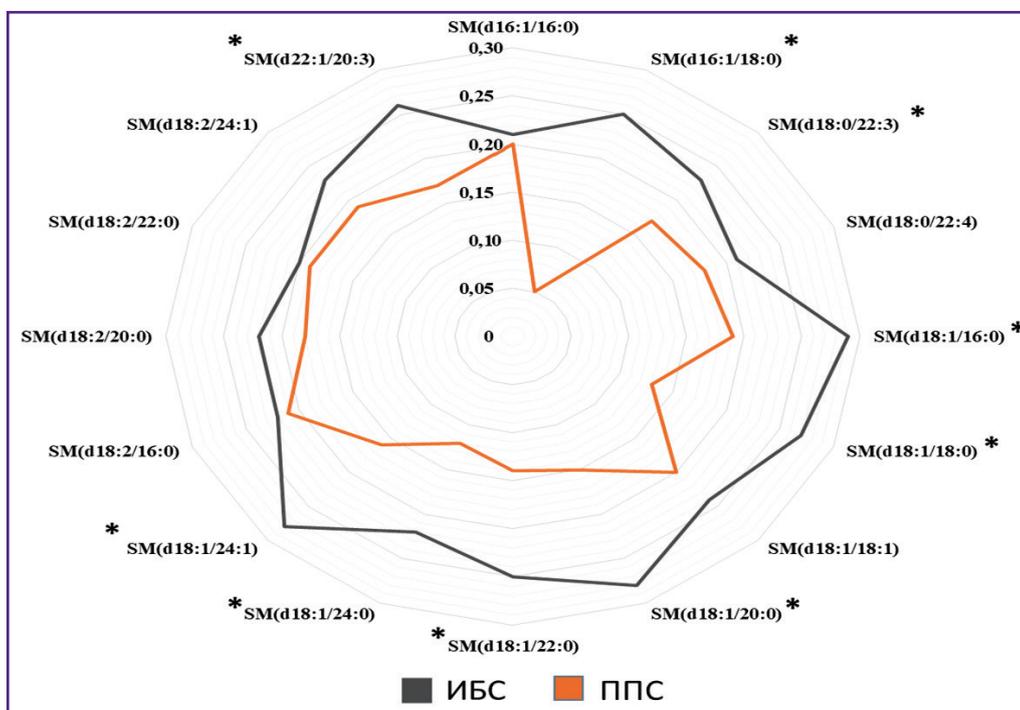


Рис. 2. Сывороточные уровни сфингомиелина у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

\* статистически значимые различия между пациентами с ишемической болезнью сердца и приобретенными пороками сердца,  $p<0,05$

ви, в отличие от локальных жировых депо, выявлен SM, в основании которого — C22-сфингозин (d22:1), а также полиненасыщенные жирные кислоты (C20:3, C22:3, C22:4). Обнаруженными как в сыворотке крови пациентов, так и в их локальных жировых депо, были SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/18:1), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:0), SM(d18:1/24:1), основанием которых служил C18-сфингозин (d18:1) (см. рис. 1 и 2). На основании выявленных различий можно предположить, что сфингомиелиновый профиль сыворотки крови лишь частично соответствует (отражает) содержанию SM в ЖТ.

Уровни SM в образцах ЖТ и сыворотки крови кор-

релировали между собой преимущественно у пациен-тов с ИБС (рис. 3).

В исследовании выявлены отрицательные взаимо-связи сывороточных длинноцепочечных SM, обла-дающих кардиопротективным действием, с ОХС, ХС-ЛПНП, триацилглицеридами. С16-сфингозин, на-иболее опасный для сердечно-сосудистой системы, отрицательно коррелировал с ХС-ЛПВП, индексом ате-рогенности при ИБС. При ППС выявлены схожие кор-реляции, но в меньшем количестве (рис. 4).

При коронарогенной патологии SM, в состав кото-рых входит остаток церамидов C16 и C18, вызываю-щих неблагоприятные сердечно-сосудистые эффекты,

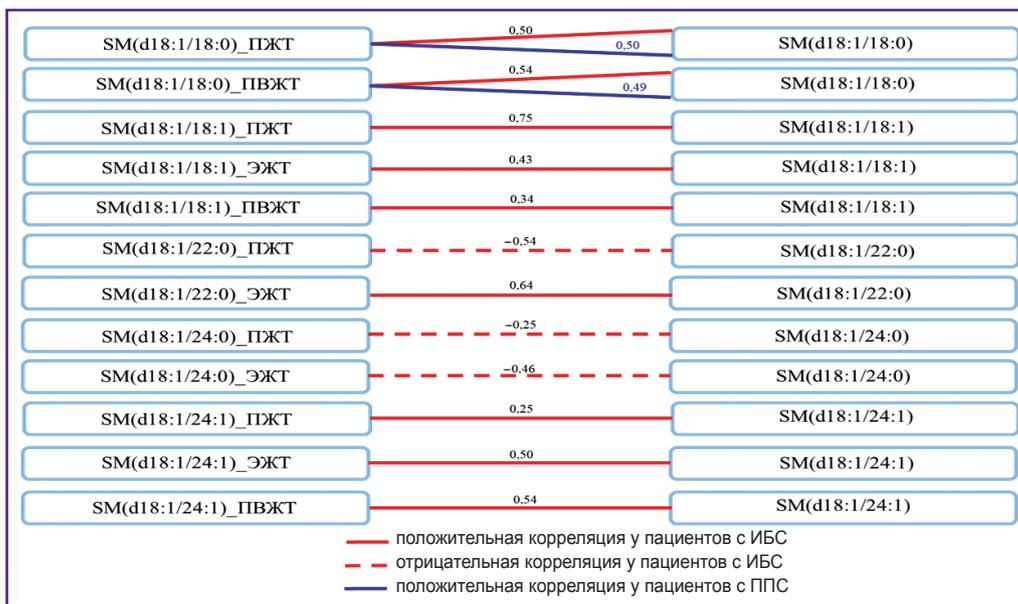


Рис. 3. Взаимосвязь сфингомиелинов локальных жировых депо с их сывороточными уровнями у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

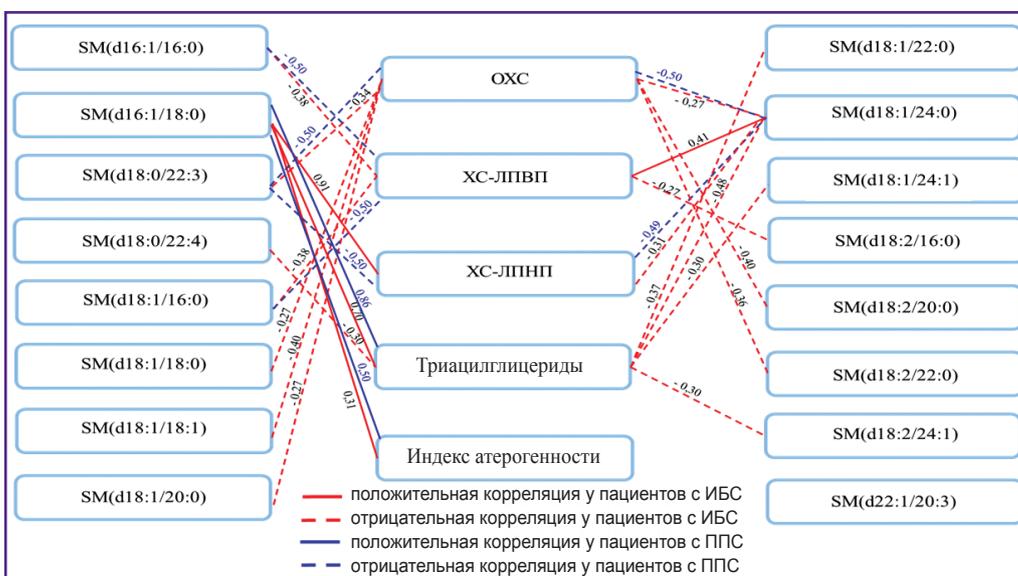


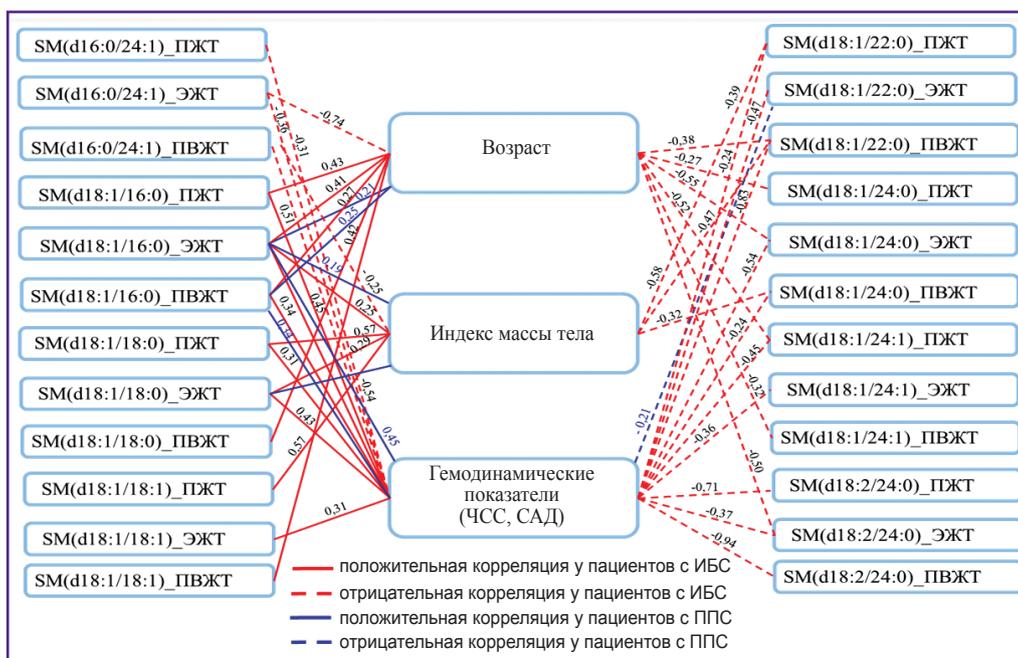
Рис. 4. Взаимосвязь сывороточных сфингомиелинов с параметрами липидного спектра у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

положительно коррелировали с антропометрическими (возраст, индекс массы тела) и гемодинамическими (частота сердечных сокращений, систолическое артериальное давление) показателями, отрицательно — с ХС-ЛПВП, в отличие от лиц с пороками сердца, у которых выявлены лишь единичные корреляции (рис. 5).

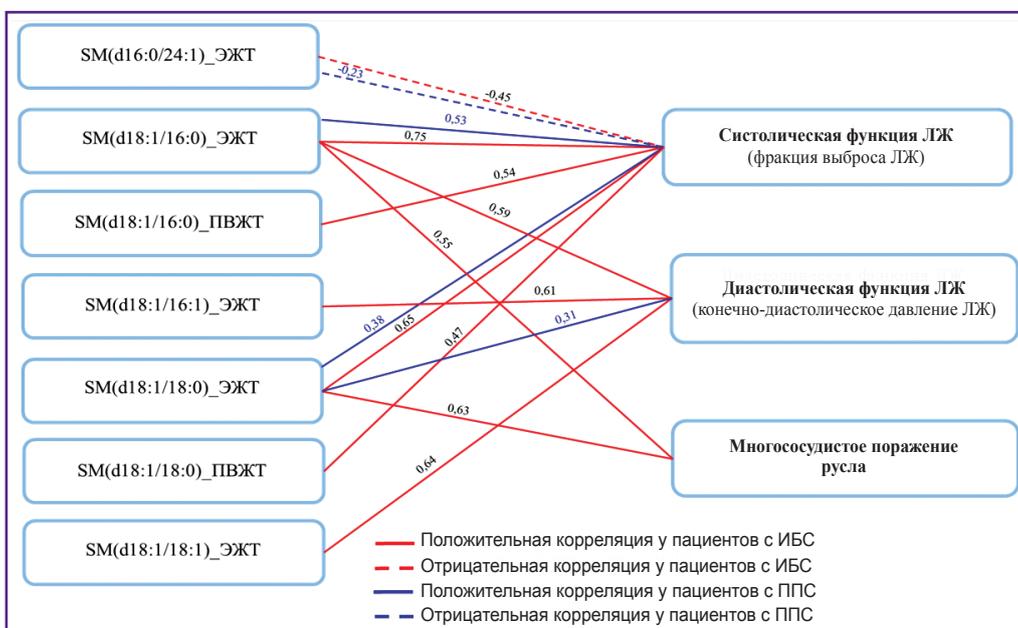
Полученные данные корреляционного анализа позволяют предположить взаимосвязь между метаболизмом SM в ЖТ сердечной локализации и нару-

шениями систолической (фракция выброса) и диастолической (конечно-диастолическое давление — КДД) функций ЛЖ у пациентов с ССЗ, а также с многососудистым поражением коронарного русла у лиц с ИБС (рис. 6). Однако для выяснения природы этих взаимосвязей необходимы дальнейшие исследования.

С помощью логистического регрессионного анализа установлено, что наличие ИБС ассоциировано с более высокими сывороточными уровня-



**Рис. 5. Взаимосвязь сфингомиелинов локальных жировых депо с клиническими параметрами у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями**



**Рис. 6. Взаимосвязь сфингомиелинов локальных жировых депо с инструментальными параметрами у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями**

ми SM(d18:1/16:0) — ОШ=2,63; 95% ДИ: 2,05–3,31;  $p=0,003$ ; SM(d18:1/18:0) — ОШ=1,85; 95% ДИ: 1,52–2,11;  $p=0,021$ ; SM(d18:1/20:0) — ОШ=1,63; 95% ДИ: 1,33–2,0;  $p=0,001$ ; SM(d18:1/22:0) — ОШ=2,0; 95% ДИ: 1,55–2,51;  $p=0,002$ ; SM(d18:1/24:0) — ОШ=2,17; 95% ДИ: 1,75–2,71;  $p=0,011$ ; SM(d18:1/24:1) — ОШ=2,45; 95% ДИ: 1,92–2,98;  $p=0,013$ .

## Обсуждение

Результаты проведенного исследования показали, что наиболее обогащенными SM по сравнению с другими локальными жировыми депо были эпикардальная ЖТ у пациентов с ИБС и периваскулярная ЖТ у лиц с ППС. Самым распространенным основанием SM в ЖТ являлся C18-сфингозин (d18:1 и d18:2), но также выявлен и SM C16-сфингозин (d16:0), что согласуется с данными литературы [4, 5].

Избыточный уровень SM в ЭЖТ при ИБС соответствует повышению сывороточных SM относительно аналогичных показателей в группе с ППС. При этом большинство сывороточных SM содержали насыщенные ацильные цепи (C16:0, C18:0, C20:0, C22:0 и C24:0).

Предполагается, что насыщенность ацильных цепей SM имеет важное значение для реализации биологических/патологических свойств SM. Так, H. Nanamatsu с соавт. [8] продемонстрировали, что у лиц с ожирением повышены SM с насыщенными ацильными цепями (C18:0, C20:0, C22:0 и C24:0) по сравнению с контрольной группой; они положительно коррелируют с показателями липидного спектра сывотки крови (ОХС, триацилглицериды, ХС-ЛПНП) и индексом инсулинорезистентности HOMA-IR. При этом SM, содержащие ненасыщенные ацильные цепи, не были ассоциированы с этими показателями.

Однако A. Sigruener и соавт. [11] при изучении плазмы более 3300 человек — участников исследования Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) — обнаружили, что длинноцепочечные насыщенные SM с основанием d18:1 (C22:0, C23:0, C24:0) демонстрируют отрицательную взаимосвязь с ИБС и общей смертностью, т.е. обладают кардиопротективными свойствами. Небольшая ассоциация с защитным эффектом была также выявлена для SM с цепями C22:1 и C23:1. Напротив, SM с цепями C16:0, C16:1, C24:1 и C24:2 показали положительную связь с ИБС и смертностью.

Интересные результаты были получены A.M. Poss с соавт. [10] при изучении взаимосвязи между сфинголипидами в сывотке крови и ИБС. Исследуя образцы сывотки людей с семейной ИБС ( $n=462$ ) и группы контроля ( $n=212$ ), авторы показали, что SM(d18:1/16:0), SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/20:0), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:0), SM(d18:1/24:1) ассоциированы с ИБС. При этом сфинголипиды, содержащие C24:1 (ОШ — 2,66; 95% ДИ: 2,12–3,38), были наиболее взаимосвязаны с ИБС.

Анализ литературных данных относительно спектра SM в ЖТ пациентов свидетельствует о неоднознач-

ности ранее полученных результатов. Так, M. Varchuk с соавт. [2] проводили нецелевое липидное профилирование ПЖТ и ЭЖТ у 25 пациентов с ИБС и у 14 лиц без ИБС. Авторы установили в ЭЖТ всех исследуемых лиц ( $n=39$ ) значительное увеличение содержания SM(d41:1) в отличие от ПЖТ. Однако не обнаружено различий уровня SM в зависимости от нозологии ни в ЭЖТ, ни в ПЖТ.

P. Tomášová с соавт. [12] выполнили основанный на МС липидомный анализ подкожной и эпикардальной ЖТ у 23 пациентов с ИБС и 13 человек контрольной группы с целью выявления факторов эпикардального жира, способствующих развитию ИБС. Авторы также не обнаружили статистически значимых различий содержания SM(36:1), SM(40:1), SM(42:2) в зависимости от локализации ЖТ и наличия ИБС.

M. Kolak с соавт. [13] провели липидомный анализ ПЖТ 20 здоровых женщин с ожирением, не страдающих диабетом, которые были разделены на группы с нормальным ( $n=10$ ) и высоким ( $n=10$ ) содержанием жира в печени. У лиц с высоким содержанием жира были увеличены следующие молекулярные виды SM: SM(d18:1/18:0), SM(d18:1/20:0), SM(d18:1/22:0), SM(d18:1/24:1). При этом уровни наиболее распространенного SM(d18:1/16:0) не различались между группами. Учитывая повышенную экспрессию индуцируемого гипоксией фактора 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) и тенденцию к увеличению экспрессии фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в ПЖТ лиц с высоким содержанием жира в печени, авторы сделали вывод, что длинноцепочечные жирные кислоты стимулируют синтез церамидов, которые могут вызывать воспаление ЖТ.

Результаты проведенного нами исследования указывают на независимый сфингомиелиновый профиль локальных жировых депо (и при ИБС, и при ППС выявлен одинаковый спектр SM) со специфическим обогащением SM ЭЖТ при коронарогенной патологии и ПВЖТ — при некоронарогенной патологии.

Ранее в работе [14] показана высокая концентрация SM в плазме при атеросклеротических поражениях аорты. Изучение бляшек сонных артерий человека, полученных при эндартерэктомии, также выявило повышенные уровни SM в бляшках, связанных с транзиторными ишемическими атаками, инсультом и стенозом >70% по данным УЗИ. Кроме того, уровни SM коррелировали с воспалительными цитокинами, гистологическими маркерами нестабильности бляшек и их массой.

В более поздних исследованиях с использованием МС-сканирования выявлено, что SM составляет около 80% фосфолипидов в очагах некроза атеросклеротических бляшек человека [15]. Происхождение атеросклеротических SM до сих пор не выяснено. В большинстве исследований наблюдаемые изменения объясняются повышенным поглощением липопротеинов, богатых SM, и их агрегацией. При этом ХС-ЛПНП бляшек содержат намного больше SM, чем ХС-ЛПНП плазмы [16].

Согласно нашим данным, ПВЖТ пациентов с ППС характеризуется наибольшим уровнем всех обнаруженных SM. Наблюдаемые изменения могут быть обусловлены влиянием воспаления, поскольку стеноз аортального клапана также относится к воспалительным заболеваниям [17]. При изучении аортальных клапанов 23 пациентов, перенесших операцию по замене клапана, S. Lehti с соавт. [17] показали накопление в стенозированных аортальных клапанах человека по сравнению с нестенозическими аортальными клапанами внеклеточных липидных частиц с более высоким соотношением SM — фосфатидилхолина. Изучая образцы восходящей грудной аорты, C. Doppler с соавт. [18] выявили, что уровни SM были значительно выше у пациентов с заболеванием двустворчатого аортального клапана, перенесших операцию на восходящей грудной аорте, и у лиц с расслоением аорты, связанным с трехстворчатым аортальным клапаном, по сравнению с контрольной группой. Среди метаболитов со значительными различиями между контрольной группой и группами с аневризмой восходящей грудной аорты авторы выделяют SM(C18:1), SM(C22:1), SM(C22:2) и SM(C24:1).

Таким образом, проведенный в рамках настоящего исследования сравнительный анализ свидетельствует о независимом от нозологии сфингомиелиновом спектре локальных жировых депо и сыворотки крови: при ИБС и ППС выявлен одинаковый спектр SM. Однако их содержание различалось в зависимости от заболевания. При коронарогенной патологии установлено специфическое обогащение SM ЖТ эпикардальной локализации, при некоронарогенной — периваскулярной. Наблюдаемые изменения могут способствовать аккумуляции SM, запуская патологические процессы, ассоциированные как с ИБС, так и ППС. Кроме того, выявленный сфингомиелиновый профиль сыворотки крови шире спектра SM в ЖТ различной локализации, что может быть связано с образованием SM в печени или эндотелии кровеносных сосудов.

Полученные новые знания фундаментального характера могут служить основой для разработки стратегий фармакологической коррекции патологической активации ЖТ среди пациентов кардиологического профиля и подходов к первичной и вторичной профилактике ССЗ. Установленные ассоциации параметров сфингомиелинового профиля ЖТ с клинико-инструментальными параметрами при ССЗ свидетельствуют о взаимосвязи метаболизма SM в ЖТ сердечной локализации и нарушений систолической и диастолической функции ЛЖ у пациентов с ССЗ с многососудистым поражением коронарного русла при ИБС, а также позволяют использовать SM в качестве перспективных биомаркеров ССЗ. Однако для выяснения природы этих взаимосвязей необходимо проведение дальнейших исследований.

**Ограничения исследования.** Во-первых, это одноцентровое исследование; во-вторых, размер выборки был небольшим; в-третьих, необходимо из-

учение других классов липидов локальных жировых депо у пациентов с ССЗ, что планируется выполнить в дальнейшем.

## Заключение

Оценка липидного спектра крови не всегда адекватно отражает локальные дисфункциональные изменения в жировой ткани и не позволяет выявить всех пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний. Мониторинг изменений уровня сфингомиелинов позволит оценивать и прогнозировать прогрессирование и/или тяжесть сердечно-сосудистых заболеваний, а также использовать их в качестве новых терапевтических мишеней.

**Источники финансирования.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-15-20007 «Церамидный 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.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Литература/Reference

1. Noothi S.K., Ahmed M.R., Agrawal D.K. Residual risks and evolving atherosclerotic plaques. *Mol Cell Biochem* 2023; 478(12): 2629–2643, <https://doi.org/10.1007/s11010-023-04689-0>.
2. Barchuk M., Dutour A., Ancel P., Svilar L., Miksztovcz V., Lopez G., Rubio M., Schreier L., Nogueira J.P., Valéro R., Béliard S., Martin J.C., Berg G., Gaborit B. Untargeted lipidomics reveals a specific enrichment in plasmalogens in epicardial adipose tissue and a specific signature in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2020; 40(4): 986–1000, <https://doi.org/10.1161/atvbaha.120.313955>.
3. Брель Н.К., Груздева О.В., Коков А.Н., Масенко В.Л., Белик Е.В., Дылева Ю.А., Тарасов Р.С., Кузьмина А.А., Кашталап В.В., Барбараш О.Л. Взаимосвязь кальциноза коронарных артерий и локальных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний* 2022; 11(3): 51–63, <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2022-11-3-51-63>.
4. Brel N.K., Gruzdeva O.V., Kokov A.N., Masenko V.L., Belik E.V., Dyleva Yu.A., Tarasov R.S., Kuzmina A.A., Kashtalap V.V., Barbarash O.L. Relationship of coronary calcinosis and local fat deposits in patients with coronary artery disease. *Kompleksnyye problemy serdecno-sosudistykh zabolevanij* 2022; 11(3): 51–63, <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2022-11-3-51-63>.
5. Carreira A.C., Santos T.C., Lone M.A., Zupančič E., Lloyd-Evans E., de Almeida R.F.M., Hornemann T., Silva L.C. Mammalian sphingoid bases: biophysical, physiological and pathological properties. *Prog Lipid Res* 2019; 75: 100988, <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.100988>.
6. Taniguchi M., Okazaki T. The role of sphingomyelin

and sphingomyelin synthases in cell death, proliferation and migration—from cell and animal models to human disorders. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1841(5): 692–703, <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2013.12.003>.

6. Torretta E., Barbacini P., Al-Daghri N.M., Gelfi C. Sphingolipids in obesity and correlated co-morbidities: the contribution of gender, age and environment. *Int J Mol Sci* 2019; 20(23): 5901, <https://doi.org/10.3390/ijms20235901>.

7. Hammad S.M., Pierce J.S., Soodavar F., Smith K.J., Al Gadban M.M., Rembiesa B., Klein R.L., Hannun Y.A., Bielawski J., Bielawska A. Blood sphingolipidomics in healthy humans: impact of sample collection methodology. *J Lipid Res* 2010; 51(10): 3074–3087, <https://doi.org/10.1194/jlr.d008532>.

8. Hanamatsu H., Ohnishi S., Sakai S., Yuyama K., Mitsutake S., Takeda H., Hashino S., Igarashi Y. Altered levels of serum sphingomyelin and ceramide containing distinct acyl chains in young obese adults. *Nutr Diabetes* 2014; 4(10): e141, <https://doi.org/10.1038/nutd.2014.38>.

9. Jiang X.C., Paultre F., Pearson T.A., Reed R.G., Francis C.K., Lin M., Berglund L., Tall A.R. Plasma sphingomyelin level as a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(12): 2614–2618, <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.12.2614>.

10. Poss A.M., Maschek J.A., Cox J.E., Hauner B.J., Hopkins P.N., Hunt S.C., Holland W.L., Summers S.A., Playdon M.C. Machine learning reveals serum sphingolipids as cholesterol-independent biomarkers of coronary artery disease. *J Clin Invest* 2020; 130(3): 1363–1376, <https://doi.org/10.1172/jci131838>.

11. Siguener A., Kleber M.E., Heimerl S., Liebisch G., Schmitz G., Maerz W. Glycerophospholipid and sphingolipid species and mortality: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *PLoS One* 2014; 9(1): e85724, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085724>.

12. Tomášová P., Čermáková M., Pelantová H., Vecka M., Kratochvílová H., Lipš M., Lindner J., Ivák P., Netuka I., Šedivá B., Haluzík M., Kuzma M. Lipid profiling in epicardial and subcutaneous adipose tissue of patients with coronary

artery disease. *J Proteome Res* 2020; 19(10): 3993–4003, <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00269>.

13. Kolak M., Westerbacka J., Velagapudi V.R., Wågsäter D., Yetukuri L., Makkonen J., Rissanen A., Häkkinen A.M., Lindell M., Bergholm R., Hamsten A., Eriksson P., Fisher R.M., Oresic M., Yki-Järvinen H. Adipose tissue inflammation and increased ceramide content characterize subjects with high liver fat content independent of obesity. *Diabetes* 2007; 56(8): 1960–1968, <https://doi.org/10.2337/db07-0111>.

14. Edsfieldt A., Dunér P., Ståhlman M., Mollet I.G., Ascianto G., Grufman H., Nitulescu M., Persson A.F., Fisher R.M., Melander O., Orho-Melander M., Borén J., Nilsson J., Gonçalves I. Sphingolipids contribute to human atherosclerotic plaque inflammation. *Arter Thromb Vasc Biol* 2016; 36(6): 1132–1140, <https://doi.org/10.1161/atvbaha.116.305675>.

15. Song J.H., Kim G.T., Park K.H., Park W.J., Park T.S. Bioactive sphingolipids as major regulators of coronary artery disease. *Biomol Ther (Seoul)* 2021; 29(4): 373–383, <https://doi.org/10.4062/biomolther.2020.218>.

16. Li Z., Chiang Y.P., He M., Zhang K., Zheng J., Wu W., Cai J., Chen Y., Chen G., Chen Y., Dong J., Worgall T.S., Jiang X.C. Effect of liver total sphingomyelin synthase deficiency on plasma lipid metabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 2021; 1866(5): 158898, <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2021.158898>.

17. Lehti S., Käkälä R., Hörrkö S., Kumm O., Helske-Suihko S., Kupari M., Werkkala K., Kovanen P.T., Oörni K. Modified lipoprotein-derived lipid particles accumulate in human stenotic aortic valves. *PLoS One* 2013; 8(6): e65810, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065810>.

18. Doppler C., Arnhard K., Dumfarth J., Heinz K., Messner B., Stern C., Koal T., Klavins K., Danzl K., Pitterl F., Grimm M., Oberacher H., Bernhard D. Metabolomic profiling of ascending thoracic aortic aneurysms and dissections — implications for pathophysiology and biomarker discovery. *PLoS One* 2017; 12(5): e0176727, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176727>.