

ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СФИНГОЛИПИДОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ НА ФОНЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

А. А. Рогожина^{1,2}, А. В. Алесенко³, И. Н. Курочкин³, Л. О. Минушкина¹ ✉, У. А. Гутнер³, М. А. Шупик³, О. А. Малошицкая⁴, А. Т. Лебедев⁴, Д. А. Затеищikov^{1,2}

¹ Центральная государственная медицинская академия управления делами президента РФ, Москва, Россия

² Городская клиническая больница № 51, Москва, Россия

³ Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля, Москва, Россия

⁴ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Гиполипидемические препараты влияют на стандартные липопротеины, но как изменяются при лечении другие липиды плазмы — не известно. Целью работы было оценить динамику холестерина (ХС), липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛВП и ЛНП), триглицеридов (ТГ) и сфинголипидов у пациентов с преждевременно развившейся ишемической болезнью сердца, атеросклерозом и гиперхолестеринемией на фоне гиполипидемической терапии. В исследование включено 18 больных (средний возраст $53 \pm 6,7$ года): в 1-й группе 6 пациентов получили стартовые дозы статинов; во 2-ю группу вошли 6 пациентов, не достигших на фоне стартовой терапии статинами целевых уровней ЛНП и принимавших увеличенные дозы статинов; 7 пациентов 3-й группы не достигли целевых уровней ЛНП на фоне терапии максимально переносимыми дозами статинов и эзетимиба и получили алирокумаб. Исследование уровня сфинголипидов проводили методом масс-спектрометрии. В 1-й группе отмечено снижение уровня церамида Cer 14:1 ($p = 0,046$) и сфингомиелинов SM 22:1, SM 22:0, SM 24:0 ($p = 0,028$). Уровни общего ХС (ОХС), ХС ЛНП, ХС ЛВП и ТГ существенно не изменились. Во 2-й группе отмечено достоверное снижение уровня ОХС ($p = 0,028$), ЛНП ($p = 0,043$), сфингомиелинов SM 18:1, SM 24:1 и SM 26:1, церамида Cer 16:1 ($p = 0,028$). Cer 22:1 достоверно увеличился ($p = 0,028$). В 3-й группе ОХС снизился на 36,2%, ХС ЛНП ($p = 0,018$) — на 60,1% от исходных значений (Δ ХС ЛНП = $-2,67 \pm 3,12$), выявлено повышение уровня церамида Cer 22:1 ($p = 0,028$). Показано, что снижение содержания сфингомиелинов происходит на фоне терапии статинами и коррелирует со снижением уровня ХС ЛНП. Значимой динамики церамидов и церамидного риска на фоне терапии статинами не зарегистрировано, однако при добавлении к терапии ингибитора PCSK9 произошло уменьшение соотношения Cer 16:0/24:0.

Ключевые слова: атеросклероз, сфингомиелины, сфингозин, церамиды, гиполипидемическая терапия

Финансирование: грант РФФИ 19-04-00870А «Сфинголипидомный анализ маркеров сердечно-сосудистых заболеваний».

Вклад авторов: А. А. Рогожина — отбор материала, сбор данных; А. В. Алесенко — руководитель проекта; И. Н. Курочкин — анализ данных; Л. О. Минушкина — анализ данных, написание статьи; У. А. Гутнер, М. А. Шупик, О. А. Малошицкая — пробоподготовка, проведение лабораторных исследований, анализ данных; А. Т. Лебедев, Д. А. Затеищikov — планирование работы, анализ данных, редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Городской клинической больницы № 51 г. Москва (протокол № 02/19 от 7 февраля 2019 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Лариса Олеговна Минушкина
ул. М. Тимошенко, д. 19, стр. 1А, г. Москва, 121359; minushkina@mail.ru

Статья получена: 24.05.2021 **Статья принята к печати:** 13.06.2021 **Опубликована онлайн:** 23.06.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.030

CHANGES IN PLASMA SPHINGOLIPID LEVELS AGAINST THE BACKGROUND OF LIPID-LOWERING THERAPY IN PATIENTS WITH PREMATURE ATHEROSCLEROSIS

Rogozhina AA^{1,2}, Alessenko AV³, Kurochkin IN³, Minushkina LO¹ ✉, Gutner UA³, Shupik MA³, Maloshitskaya OA⁴, Lebedev AT⁴, Zateyshchikov DA^{1,2}

¹ Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russia

² City Clinical Hospital № 51, Moscow, Russia

³ Institute of Biochemical Physics named after N. M. Emanuel, Moscow, Russia

⁴ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Lipid-lowering drugs affect standard lipoproteins. However, we have no knowledge of changes in other plasma lipids upon treatment. The study was aimed to assess the dynamic changes in cholesterol, high- and low-density lipoproteins (HDL and LDL), triglycerides, and sphingolipids against the background of lipid-lowering therapy in patients with premature coronary artery disease, atherosclerosis and hypercholesterolemia. A total of 18 patients were enrolled (the average age was 53 ± 6.7 years): in group 1, six patients received starting statin doses; group 2 included six patients, who failed to achieve LDL target levels against the background of treatment with starting statin doses, and received escalated statin doses; seven patients in group 3 failed to achieve LDL target levels against the background of treatment with maximum tolerated doses of statins and ezetimibe, and received alirocumab. Sphingolipid levels were assessed by mass spectrometry. In group 1, the decreased levels of ceramide Cer 14:1 ($p = 0.046$) and sphingomyelins SM 22:1, SM 22:0, SM 24:0 ($p = 0.028$) were observed. There were no significant changes in the levels of total cholesterol, LDL-C, HDL-C, and triglycerides. In group 2, the significantly decreased levels of total cholesterol ($p = 0.028$), LDL ($p = 0.043$), sphingomyelins SM 18:1, SM 24:1 and SM 26:1, and ceramide Cer 16:1 ($p = 0.028$) were observed. The level of Cer 22:1 significantly increased ($p = 0.028$). In group 3, total cholesterol decreased by 36.2%, and LDL-C ($p = 0.018$) decreased by 60.1% compared to baseline (Δ LDL-C = -2.67 ± 3.12); the elevated levels of ceramide Cer 22:1 ($p = 0.028$) were observed. It has been shown, that decreased sphingomyelin levels are associated with statin therapy and correlate with decreased levels of LDL-C. No significant dynamic changes in ceramides and ceramide risk against the background of statin therapy were observed, however, PCSK9 inhibitor added to therapy reduced the Cer 16:0/24:0 ratio.

Keywords: atherosclerosis, sphingomyelins, sphingosine, ceramides, lipid-lowering therapy

Funding: RFBR grant 19-04-00870A, Sphingolipidome Analysis of Cardiovascular Disease Markers.

Author contribution: Rogozhina AA — sampling, data acquisition; Alessenko AV — project management; Kurochkin IN — data analysis; Minushkina LO — data analysis, manuscript writing; Gutner UA, Shupik MA, Maloshitskaya OA — sample preparation, laboratory tests, data analysis; Lebedev AT, Zateyshchikov DA — study planning, data analysis, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of City Clinical Hospital № 51, Moscow (protocol № 02/19 dated February 7, 2019). Informed consent was submitted by all patients.

✉ **Correspondence should be addressed:** Larisa O. Minushkina
Marshala Timoshenko, 19, str. 1A, Moscow, 121359; minushkina@mail.ru

Received: 24.05.2021 **Accepted:** 13.06.2021 **Published online:** 23.06.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.030

В связи с ростом инвалидизации и смертности среди молодых пациентов от ишемической болезни сердца (ИБС) [1], а также появлением новых методик диагностики более глубокое изучение факторов риска, методов профилактики и развития осложнений «ранней» ИБС, т. е. дебютировавшей в возрасте до 55 лет у мужчин и до 60 лет у женщин [2], приобретает все большую актуальность.

Наиболее значимым фактором риска развития атеросклероза является дислипидемия и, прежде всего, повышение уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛНП). Оно напрямую ассоциировано с повышением риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [3], гиперхолестеринемия более 4,9 ммоль/л шестикратно увеличивает риск развития ИБС [4].

В связи с развитием масс-спектрометрических методов, все чаще стали определять новые лабораторные параметры в качестве дополнительных маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов с ИБС, в том числе и сфинголипиды.

Сфинголипиды содержат в своем составе молекулу алифатического спирта сфингозина. Установлено, что катаболизм сфинголипидов связан с катаболизмом холестерина [5]. Содержание холестерина в мембране четко коррелирует с содержанием сфинголипидов (церамидов, сфингозинов и сфингозин-1-фосфата). Сфингомиелины входят в состав клеточных мембран миелиновой оболочки, а также выявляются в атеросклеротической бляшке [6], а церамиды играют роль в пролиферации, апоптозе и воспалении при атеросклерозе [7]. В настоящее время появились данные о том, что уровень церамидов и прежде всего Cer16:0 коррелирует в риском осложненной атеросклероза. Эти данные послужили основой для расчета специфического показателя церамидного риска (ceramide risk score — CRS) [8].

Всем пациентам, относящимся к категориям высокого и очень высокого риска атеросклероза, показано назначение высокоинтенсивной гиполипидемической терапии с целью коррекции дислипидемии и снижения риска прогрессирования атеросклероза.

Целью исследования было оценить динамику стандартных липидных показателей и сфинголипидов у пациентов с преждевременно развившейся ИБС, атеросклерозом и гиперхолестеринемией на фоне гиполипидемической терапии.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе Городской клинической больницы № 51 г. Москвы в 2019–2020 гг. В него вошли 18 пациентов (4 женщины и 14 мужчин) в возрасте $53 \pm 6,7$ года (от 35 до 65 лет), имеющих показания для интенсивной гиполипидемической терапии. Критерии включения пациентов в исследование: клиническая манифестация ИБС или периферического атеросклероза у мужчин в возрасте до 55 лет, у женщин — до 60 лет или наличие гиперлипидемии (ХС ЛНП выше 4,9 ммоль/л). Критерии исключения: отсутствие подписанного добровольного информированного согласия. 15 пациентов ранее перенесли острый инфаркт миокарда со стентированием коронарных артерий, 2 из них имели многососудистое поражение и перенесли аортокоронарное шунтирование (АКШ), у остальных был выявлен атеросклероз периферических артерий или дислипидемия. Среди всех пациентов 16 (36,4%) страдали гипертонической болезнью, 3 (6,8%) — сахарным диабетом, 11 (25%) — курили на момент включения и 4 (9,1%) курили ранее.

Все пациенты были разделены на три группы в зависимости от приема гиполипидемической терапии на момент включения (см. рис.). Динамику липидов крови во всех группах оценивали до начала терапии и через 4–8 недель после начала лечения. Эффективность стартовой терапии статинами была проанализирована в группе 1 ($n = 6$). Все пациенты этой группы до момента включения не принимали гиполипидемические препараты, как минимум за три месяца до включения в исследование по причине самостоятельной отмены.

Все пациенты группы 2 ($n = 6$) имели в анамнезе инфаркт миокарда, перенесенный в молодом возрасте (средний возраст $54,5 \pm 1,87$ лет). На момент включения пациенты уже принимали гиполипидемические препараты, назначенные лечащими врачами вне рамок исследования, однако не достигали целевых значений ХС ЛНП ($<1,4$ ммоль/л). Пять человек принимали аторвастатин в дозе 20–40 мг, один — розувастатин 10 мг. Всем больным была проведена коррекция гиполипидемической терапии и увеличена дозировка препаратов.

Отдельно были проанализированы все пациенты, принимавшие статины (группы 1 и 2) ($n = 12$).

Группа 3 ($n = 7$) включала 5 мужчин и 2 женщины (среднего возраста $52,29 \pm 9,1$ лет; одна пациентка перешла в группу 3, закончив исследование по протоколу в группе 2). Пятеро пациентов имели в анамнезе инфаркт миокарда. Все принимали гиполипидемические препараты (аторвастатин 40–80 мг 1 р/д или розувастатин 40 мг 1 р/д в комбинации с эзетемибом 10 мг 1 р/д или, в связи с непереносимостью статинов или наличием противопоказаний, только эзетемиб 10 мг 1 р/д). На фоне этой терапии все пациенты имели ХС ЛНП выше 1,7 ммоль/л на момент включения в исследование. Всем больным в соответствии с протоколом исследования был назначен алирокумаб 150 мг 1 р/2 недели. Также в группу 3 были включены двое пациентов с вероятным или установленным диагнозом семейной гиперхолестеринемии, определенной по шкале голландских липидных клиник. Один из них не мог получать статины в связи с наличием сопутствующей патологии гепатобилиарной системы (хронический панкреатит, вирусный гепатит С) и повышением уровня трансаминаз, у второй пациентки со стабильной ИБС не было достигнуто целевых значений ЛНП на фоне максимально переносимой дозы статинов.

Взятие крови для биохимического и масс-спектрометрического анализа осуществляли в день включения пациентов в исследование (утром натощак, после 12-часового голодания) и через 4–8 недель терапии из кубитальной вены в стерильные пробирки типа «вакутейнер». Сыворотку получали путем центрифугирования крови на скорости 3000 об./мин в течение 15 мин. Для определения параметров сыворотки использовали биохимический анализатор CLIMA MC-15 (RAL; Испания). Референсными принимали значения: ОХС — 2,0–5,2 ммоль/л; ХС ЛНП — до 3,3 ммоль/л; ХС ЛВП — 0,91–1,56 ммоль/л; ТГ сыворотки крови — 0,50–1,70 ммоль/л.

Измерение содержания сфинголипидов в плазме крови

Сфинголипиды определяли в плазме крови указанных пациентов. При пробоподготовке кровь центрифугировали 10 мин при 3000 об./мин, отбирали 1,5 мл супернатанта. Далее 1,5 мл супернатанта центрифугировали 10 мин при 15 000 об./мин для полного осаждения клеток. Для масс-

спектрометрического анализа липиды выделяли из плазмы по методу Блайя–Дайера [9].

Масс-спектрометрическое детектирование различных молекулярных видов сфингомиелинов, керамидов и сфингоидных оснований (сфингозина и сфинганина) проводили с помощью масс-спектрометра TSQ Endura (Thermo Fisher Scientific; Германия) в режиме мониторинга множественных реакций (ММР) при давлении в ячейке соударений 2,0 мТорр. Разрешение на Q1 и Q3 составляло 1,2 Да. Для керамидов фрагментацию исходных протонированных и дегидратированных молекул проводили при энергии 20 эВ до иона с отношением массы к заряду (m/z) 264,2 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфингомиелинов фрагментацию исходных протонированных молекул проводили при энергии 20 эВ до иона с m/z 184,1 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфингозина и его дейтерированного стандарта (d7, Avanti; США) фрагментацию протонированных молекул проводили при энергии 12,5 эВ до ионов с m/z 259,3 и 252,3 Да соответственно, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфинганина фрагментацию исходной протонированной молекулы проводили при энергии 12,5 эВ до иона с m/z 266,3 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Использовали следующие параметры источника ионизации: температура нагревателя — 300 °С, температура капилляра — 340 °С, поток газа завесы — 45 п.е. (приборных единиц), поток вспомогательного газа — 13 п.е., поток продувочного газа — 1 п.е. В качестве стандартов использовали сфингозин d7, сфинганин, сфингомиелин d18:1/16:0, сфингомиелин d18:1/18:0, керамид d18:1/16:0, керамид d18:1/18:1, керамид d18:1/18:0, керамид d18:1/24:1, керамид d18:1/24:0 (Avanti; США). Хроматографическое разделение проводили с использованием системы Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific; Германия) на колонке Eclipse Plus C8 3,0 × 150 мм (Agilent; США), размер частиц 3,5 мкм. Температура составляла 50 °С, поток — 400 мкл/мин. При определении сфингозина, керамидов и сфингомиелина использовали следующие составы мобильных фаз: фаза А — вода + 0,1% (по объему) муравьиной кислоты, фаза Б — метанол + 0,1% (по объему) муравьиной кислоты

(0,7 мин 55% фазы Б, 100% фазы Б к 7-й мин, 100% фазы Б до 12-й мин, 55% фазы Б от 13-й до 17-й мин, 55% фазы Б к 13-й мин). При определении сфинганина использовали следующие составы мобильных фаз: фаза А — вода + 0,1% (по объему) муравьиной кислоты, фаза Б — 50% метанол + 50% ацетонитрил + 0,1% (по объему) муравьиной кислоты (1,5 мин 20% фазы Б, 100% фазы Б к 2-й мин, 100% фазы Б до 7-й мин, 20% фазы Б к 7 мин, 20% фазы Б до 10-й мин). Относительное содержание керамидов оценивали по внешней калибровке (метод стандарта). В качестве стандарта использовали смесь керамидов Ceramide Porcine Brain 860052P (Avanti; США) с содержанием керамидов d18:1/18:0 (50%) и d18:1/24:1 (20%). Вычисления проводили по площадям пиков ММР-переходов $MH^+ \rightarrow m/z$ 264,4 Да и $(M+H-H_2O)^+ \rightarrow m/z$ 264,4 Да. Содержание сфингозина d18:1 определяли по внутренней калибровке (метод внутреннего стандарта, стандарт D-erythro-sphingosine d7, Sigma; США) по площадям ММР-переходов (m/z 300+ \rightarrow m/z 252,3 Да для недейтерированного и m/z 307+ \rightarrow m/z 259,3 Да для дейтерированного сфингозина). Содержание сфинганина d18:0 определяли по внешней калибровке (стандарт — DL-erythro-dihydrosphingosine, Sigma; США) по площадям ММР-переходов m/z 302+ \rightarrow m/z 266,3 Да.

CRS, описанный как прогностический маркер смертности от ИБС, рассчитывали по шкале, описанной ранее с использованием определенных молекулярных видов керамидов [8]. Для оценки керамидного риска были рассчитаны соотношения Cer16:0/Cer24:0, Cer18:0/Cer24:0, Cer24:1/Cer24:0. Уровни Cer16:0, Cer18:0, Cer24:1 и значения, полученные для соотношения этих керамидов к Cer24:0, были разделены на квартили. Больные, относящиеся к третьему квартилю, по каждому из шести параметров получали 1 балл, к четвертому квартилю — 2 балла. Сумму баллов считали значением керамидного риска.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ SPSS версия 21.0. (An IBM Company; США). Количественные переменные

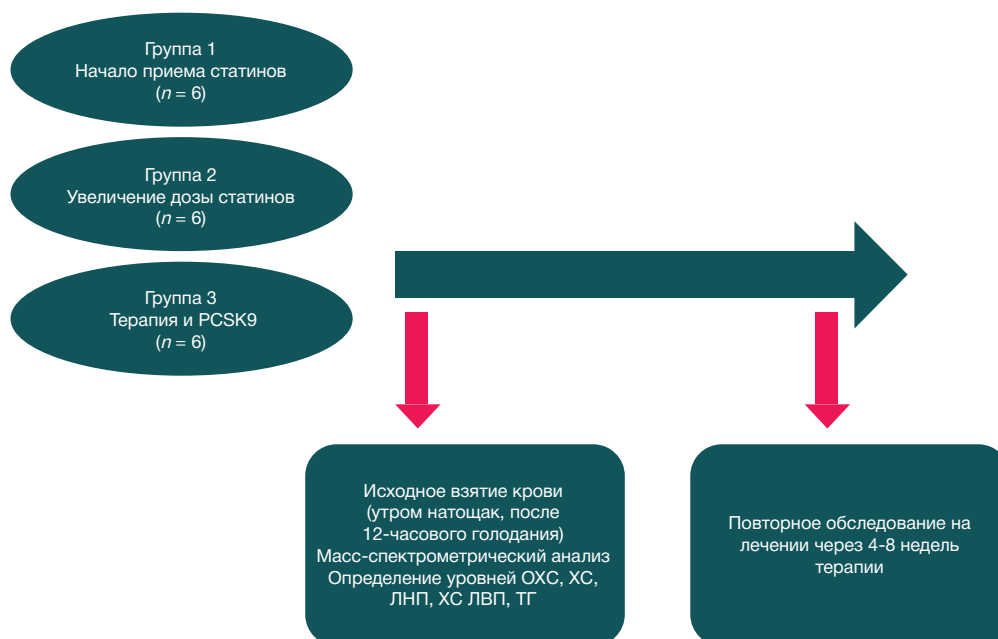


Рисунок. Протокол исследования

Таблица 1. Динамика уровней липидов в исследуемых группах

Показатели	Группа 1 (n = 6)		Группа 2 (n = 6)		Все больные, принимавшие статины (группы 1 и 2) (n = 12)		Группа 3 (n = 7)		
	M ± SD	p	M ± SD	p	M ± SD	p	M ± SD	p	
Стандартные липидные показатели (ммоль/л)									
ОХС	до	7,42 ± 2,39	0,249	4,75 ± 1,46	0,028*	6,09 ± 2,35	0,028*	7,51 ± 5,36	0,063
	после	5,83 ± 1,38		4,31 ± 1,36		5,07 ± 1,53		4,79 ± 1,49	
ХС ЛНП	до	4,98 ± 2,45	0,116	3,07 ± 1,29	0,043*	4,03 ± 2,12	0,021*	4,44 ± 2,87	0,018*
	после	3,42 ± 0,83		2,57 ± 1,22		2,99 ± 1,09		1,77 ± 1,46	
ХС ЛВП	до	1,09 ± 0,16	0,528	1,01 ± 0,32	0,686	1,05 ± 0,25	0,755	1,12 ± 0,39	0,176
	после	1,18 ± 0,33		0,98 ± 0,23		1,08 ± 0,29		1,51 ± 1,08	
ТГ	до	2,93 ± 1,77	0,463	1,5 ± 0,34	0,463	2,22 ± 1,43	0,814	3,4 ± 4,34	0,753
	после	2,69 ± 2,20		1,65 ± 0,59		2,17 ± 1,63		4,85 ± 8,2	
ЦЕРАМИДЫ (нг/мл)									
Cer 14:1	до	0,96 ± 0,16	0,046*	0,71 ± 0,09	0,463	0,83 ± 0,18	0,158	0,39 ± 0,42	0,612
	после	0,7 ± 0,11		0,76 ± 0,09		0,73 ± 0,1		0,49 ± 0,4	
Cer 14:0	до	38,52 ± 18,73	0,463	22,93 ± 8,55	0,345	30,72 ± 16,09	1	20,29 ± 12,3	0,866
	после	33,61 ± 9,85		23,81 ± 6,93		28,71 ± 9,6		22,3 ± 5,42	
Cer 16:1	до	9,10 ± 2,26	0,173	11,32 ± 1,90	0,028*	10,21 ± 2,31	0,937	7,17 ± 3,35	0,612
	после	13,26 ± 6,34		9,62 ± 2,18		11,44 ± 4,91		7,09 ± 2,96	
Cer 16:0	до	470,34 ± 221,52	0,6	222,07 ± 23,74	0,753	346,2 ± 198,42	0,583	370,49 ± 353,84	0,612
	после	438,73 ± 145,74		222,27 ± 55,34		330,5 ± 154,36		338,64 ± 240,77	
Cer 18:1	до	2,01 ± 0,98	0,6	2,48 ± 0,46	0,6	2,24 ± 0,77	0,48	1,7 ± 0,74	0,176
	после	2,37 ± 0,49		2,60 ± 0,71		2,48 ± 0,6		2,01 ± 0,64	
Cer 18:0	до	45,10 ± 31,72	0,463	40,67 ± 7,68	0,463	42,89 ± 22,13	0,754	34,78 ± 11,13	1
	после	46,63 ± 18,84		38,31 ± 7,83		42,47 ± 14,43		33,36 ± 9,92	
Cer 20:1	до	0,66 ± 0,12	0,345	0,64 ± 0,12	0,463	0,65 ± 0,11	0,388	0,46 ± 0,5	0,499
	после	0,7 ± 0,8		0,71 ± 0,16		0,71 ± 0,12		0,59 ± 0,2	
Cer 20:0	до	71,84 ± 36,27	0,917	81,88 ± 23,78	0,917	76,86 ± 29,71	1	61,72 ± 31,72	0,237
	после	72,3 ± 18,41		78,59 ± 17,31		75,45 ± 17,35		81,18 ± 50,40	
Cer 22:1	до	5,44 ± 3,96	0,753	4,08 ± 1,10	0,028*	4,76 ± 2,86	0,182	3,47 ± 2,34	0,028*
	после	4,73 ± 1,04		5,62 ± 0,81		5,18 ± 1		6,20 ± 5,03	
Cer 22:0	до	1948,4 ± 1113,75	0,753	1254,62 ± 181,13	0,345	1601,51 ± 842,63	0,695	979,11 ± 715,92	0,499
	после	1821,5 ± 765,99		1358,95 ± 299,06		1590,22 ± 604,74		1336,47 ± 743,56	
Cer 24:1	до	578,1 ± 147,68	0,249	537,41 ± 77,21	0,753	557,76 ± 114,34	0,308	585,77 ± 362,55	0,612
	после	632,9 ± 179,15		541,90 ± 122,05		587,4 ± 153,68		538,53 ± 299,16	
Cer 24:0	до	2083,59 ± 1180,12	0,345	1451,87 ± 143,86	0,917	1767,73 ± 866,77	0,48	1205,09 ± 719,65	0,176
	после	1896,72 ± 833,38		1490,96 ± 245,89		1693,84 ± 622,96		1777,98 ± 1078,81	
Cer 26:1	до	12,50 ± 8,24	0,116	13,10 ± 8,14	0,6	12,80 ± 7,82	0,388	11,36 ± 7,62	0,398
	после	16,35 ± 8,14		11,30 ± 4,55		13,83 ± 6,82		15,19 ± 11,41	
Cer 26:0	до	49,67 ± 7,68	0,917	45,48 ± 3,33	0,917	47,57 ± 6,05	1	28,75 ± 14,25	0,31
	после	50,28 ± 5,59		45,40 ± 5,72		47,84 ± 5,96		37,56 ± 6,61	
Cer 16:0/24:0	до	0,24 ± 0,12	0,753	0,15 ± 0,02	0,6	0,2 ± 0,1	0,875	0,29 ± 0,09	0,043*
	после	0,24 ± 0,86		0,15 ± 0,03		0,2 ± 0,08		0,19 ± 0,04	
Cer 18:0/24:0	до	0,028 ± 0,027	0,345	0,03 ± 0,01	0,6	0,03 ± 0,02	0,814	0,04 ± 0,02	0,128
	после	0,03 ± 0,01		0,03 ± 0,01		0,03 ± 0,02		0,02 ± 0,01	
Cer 24:1/24:0	до	0,33 ± 0,16	0,249	0,37 ± 0,03	0,917	0,35 ± 0,11	0,347	0,58 ± 0,28	0,063
	после	0,37 ± 0,17		0,37 ± 0,08		0,37 ± 0,13		0,33 ± 0,11	
Ceramide risk score	до	4,83 ± 3,71	0,336	2,67 ± 2,07	0,593	3,75 ± 3,08	0,231	5,57 ± 2,44	0,233
	после	5,83 ± 4,17		3,33 ± 2,73		4,58 ± 3,60		4,0 ± 2,58	
СФИНГОМИЕЛИНЫ (нг/мл)									
SM 14:1	до	1243,79 ± 579,25	0,345	1076,05 ± 456,93	0,345	1159,92 ± 505,07	0,158	578,70 ± 721,70	0,866
	после	1107,35 ± 539,53		969,59 ± 329,81		1038,47 ± 432,36		655,45 ± 463,86	
SM 14:0	до	15560,92 ± 7789,49	0,249	10218,99 ± 4643,12	0,753	12889,95 ± 6720,27	0,308	5379,57 ± 6666,57	0,866
	после	13293,42 ± 4925,96		9803,30 ± 3771,31		11548,36 ± 4562,52		6516,82 ± 4797,92	
SM 16:1	до	27147,34 ± 9245,24	0,345	14994,30 ± 4552,79	0,463	21070,82 ± 9410,35	0,209	9288,60 ± 11795,93	0,866
	после	24289,12 ± 8455,16		14567,22 ± 4838,38		19428,17 ± 8301,39		12154,21 ± 9026,99	

Таблица 1 (продолжение).

SM 16:0	до	68884,57 ± 29300,16	0,6	43109,35 ± 5476,51	0,249	55996,96 ± 24187,79	0,53	29457,23 ± 26795,25	0,612
	после	58719,28 ± 18464,01		41511,66 ± 8959,72		50115,47 ± 16498,73		42283,32 ± 25753,31	
SM 18:1	до	4998,28 ± 2970,69	0,917	4138,09 ± 957,21	0,028*	4568,18 ± 2151,66	0,182	3513,39 ± 2645,09	0,612
	после	4254,22 ± 2140,22		3786,43 ± 1074,09		4020,32 ± 1632,83		3483,78 ± 1193,06	
SM 18:0	до	18597,76 ± 10587,79	0,345	14163,76 ± 1608,14	0,116	16380,76 ± 7582,39	0,071	8957,79 ± 7701,24	0,612
	после	15006,64 ± 5504,22		12963,34 ± 2468,85		13984,99 ± 4204,79		10214,96 ± 5423,62	
SM 20:1	до	19571,11 ± 9063,27	0,463	34801,84 ± 6713,68	0,249	27186,47 ± 11004,16	0,182	19003,09 ± 7981,50	0,499
	после	15399,44 ± 4090,53		33308,30 ± 7232,94		24353,87 ± 10902,14		21255,95 ± 11508,78	
SM 20:0	до	122191,42 ± 61041,05	0,463	107398,59 ± 12787,35	0,463	114795,00 ± 42750,99	0,239	83678,97 ± 38585,26	0,31
	после	95985,48 ± 23943,68		104156,92 ± 15085,34		100071,20 ± 19550,99		108695,09 ± 50687,07	
SM 22:1	до	32751,55 ± 7675,39	0,028*	37536,42 ± 11536,91	0,046*	35143,98 ± 9670,69	0,004*	14233,44 ± 15712,63	0,866
	после	27480,53 ± 7931,12		33221,35 ± 10422,30		30350,94 ± 9324,97		18164,23 ± 11614,33	
SM 22:0	до	49975,11 ± 7453,47	0,028*	50443,83 ± 11076,52	0,753	50209,47 ± 9004,42	0,071	17147,95 ± 18892,94	1
	после	39664,55 ± 10888,20		49134,09 ± 16770,24		44399,32 ± 14358,99		25262,43 ± 16913,88	
SM 24:1	до	86437,81 ± 20948,28	0,173	87494,43 ± 21994,99	0,028*	86966,12 ± 20485,92	0,012*	31116,71 ± 31595,14	1
	после	80493,43 ± 14190,94		76736,87 ± 22166,55		78615,15 ± 17853,01		43885,51 ± 28272,08	
SM 24:0	до	44680,38 ± 11292,01	0,028*	41334,09 ± 7361,87	0,463	43007,24 ± 9254,61	0,028*	11042,64 ± 12530,05	0,735
	после	33338,06 ± 6060,00		38593,57 ± 12040,46		35965,82 ± 9493,26		15850,33 ± 10223,83	
SM 26:1	до	992,02 ± 541,84	0,116	944,03 ± 417,87	0,028*	968,02 ± 462,01	0,010*	248,38 ± 269,04	0,499
	после	769,60 ± 301,79		752,44 ± 269,19		761,02 ± 272,79		398,84 ± 285,35	
СФИНГОИДНЫЕ ОСНОВАНИЯ (нг/мл)									
SPN	до	5,26 ± 6,71	0,345	3,18 ± 1,59	0,753	4,22 ± 4,77	0,433	2,30 ± 1,21	0,735
	после	3,20 ± 0,92		3,28 ± 1,14		3,24 ± 0,99		2,47 ± 1,50	
SPH	до	13,32 ± 17,58	0,463	9,39 ± 4,25	0,753	11,35 ± 12,36	0,388	7,00 ± 2,98	0,237
	после	10,85 ± 5,28		9,85 ± 4,61		10,35 ± 4,75		8,27 ± 4,78	
S1P	до	17,28 ± 5,13	0,753	19,32 ± 2,88	0,116	18,30 ± 4,11	0,433	14,57 ± 2,75	0,31
	после	16,84 ± 2,01		17,54 ± 1,50		17,19 ± 1,73		16,18 ± 3,61	

Примечание: SPN — сфингазин, SPH — сфингонин, S1P — сфингазин-1-фосфат.

представлены в виде средних величин и стандартных отклонений от среднего ($M \pm SD$). Для всех количественных переменных выполняли проверку на соответствие нормальному распределению с использованием теста Шапиро–Уилка. Распределение всех количественных переменных отличалось от нормального. Для сравнения зависимых совокупностей использовали критерий Уилкоксона. Статистическую значимость различий оценивали для двух независимых выборок по критерию Манна–Уитни. Значимость корреляций оценивали по критерию Спирмена. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изменение уровня ХС и сфинголипидов оценивали в группах пациентов, на этапах инициации или коррекции гиполипидемической терапии (статины или алирокумаб) (табл. 1).

В 1-й группе пациентов было отмечено достоверное снижение уровня короткоцепочечных церамидов Cer 14:1 ($p = 0,046$). У всех пациентов этой группы достоверно снижались длинноцепочечные сфингомиелины SM 22:1, SM 22:0, SM 24:0 ($p = 0,028$) на фоне начала гиполипидемической терапии.

Во 2-й группе на фоне увеличения дозировки статина было отмечено достоверное снижение уровня ОХС ($p = 0,028$), ХС ЛНП ($p = 0,043$), а также длинноцепочечных сфингомиелинов SM 18:1, SM 24:1 и SM 26:1, церамида Cer 16:1 ($p = 0,028$), и SM 22:1 ($p = 0,046$). Cer 22:1 достоверно увеличивался ($p = 0,028$).

После коррекции гиполипидемической терапии у всех пациентов выявлено снижение уровня ХС на 9,5% ($\Delta XС = -0,45 \pm 0,40$), а ХС ЛНП на 16,2% ($\Delta XС ЛНП = -0,50 \pm 0,44$). Целевые значения ХС ЛНП были достигнуты только у одного пациента, остальным были даны рекомендации по коррекции образа жизни и повышены дозировки гиполипидемического препарата или добавлен второй препарат эзетемиб 10 мг 1 р/день. У одной пациентки сохранялись значения ХС ЛНП $\geq 2,6$ ммоль/л на фоне двойной гиполипидемической терапии (максимально переносимые дозы статинов аторвастатина — 80 мг и эзетемива — 10 мг), ей была назначена терапия алирокумабом.

При анализе данных всех больных, принимавших статины, отмечено достоверное снижение ХС ($p = 0,028$), ХС ЛНП ($p = 0,021$) и длинноцепочечных сфингомиелинов SM 24:1 ($p = 0,012$), SM 24:0 ($p = 0,028$), SM 26:1 ($p = 0,010$), SM 22:1 ($p = 0,004$).

В 3-й группе на фоне терапии алирокумабом уровень ОХС снизился на 36,2% ($\Delta OХС = -2,72 \pm 4,48$), уровень ХС ЛНП ($p = 0,018$) — на 60,1% от исходных значений ($\Delta XС ЛНП = -2,67 \pm 3,12$).

Из всех определенных соотношений церамидов (Cer 16:0/24:0, 18:0/24:0, 24:1/24:0) только соотношение Cer 16:0/24:0 достоверно снижалось в группе алирокумаба ($p = 0,043$). Показатель церамидного риска существенно не изменялся ни в одной из групп.

Сравнение динамики уровней сфинголипидов было проведено между пациентами, впервые начавшими терапию и на фоне усиления дозировки статинов (группы 1 и 2), а также в каждой из групп с пациентами на алирокумабе (группа 3) (табл. 2).

Таблица 2. Динамика показателей липидома в исследуемых группах

	Группа 1 (n = 6)	Группа 2 (n = 6)	Все больные, принимавшие статины (группы 1 и 2) (n = 12)	Группа 3 (n = 7)	p			
	M ± SD	M ± SD		M ± SD	M ± SD	1vs2	1vs3	2vs3
ΔОХС, ммоль/л	-1,59 ± 2,26	-0,45 ± 0,40	-1,02 ± 1,66	-2,72 ± 4,48	1	1	0,366	0,592
ΔХС ЛНП, ммоль/л	-1,57 ± 2,05	-0,50 ± 0,44	-1,03 ± 1,52	-2,67 ± 3,12	0,589	0,445	0,101	0,142
ЦЕРАМИДЫ (нг/мл)								
Δ Cer 14:1	-0,26 ± 0,259	0,05 ± 0,10	-0,10 ± 0,25	0,10 ± 0,35	0,065	0,022*	0,731	0,299
Δ Cer 14:0	-4,9 ± 16,8	0,87 ± 6,07	-2,01 ± 12,41	2,01 ± 14,44	0,699	0,445	0,534	0,967
Δ Cer 16:1	4,1 ± 7,17	-1,70 ± 1,32	1,23 ± 5,79	-0,08 ± 5,64	0,015*	0,181	0,945	0,482
Δ Cer 16:0	-31,61 ± 128,6	0,20 ± 39,22	-15,70 ± 92,17	-31,85 ± 186,90	0,485	0,731	0,295	0,384
Δ Cer 18:1	0,36 ± 1,44	0,12 ± 1,10	0,24 ± 1,23	0,31 ± 0,87	0,699	1	0,731	0,837
Δ Cer 18:0	1,53 ± 22,4	-2,36 ± 8,61	-0,41 ± 16,33	-1,42 ± 14,20	0,24	0,534	0,945	0,773
Δ Cer 20:1	0,04 ± 0,96	0,07 ± 0,22	0,05 ± 0,16	0,13 ± 0,49	0,937	0,534	0,836	0,592
Δ Cer 20:0	0,46 ± 31,2	-3,30 ± 23,91	-1,42 ± 26,57	19,45 ± 33,98	1	0,366	0,366	0,261
Δ Cer 22:1	-0,71 ± 3,12	1,55 ± 0,86	0,42 ± 2,48	2,73 ± 3,13	0,24	0,073	0,731	0,196
Δ Cer 22:0	-126,9 ± 455,6	104,33 ± 253,10	-11,29 ± 371,56	357,35 ± 684,10	0,699	0,366	0,628	0,837
Δ Cer 24:1	54,8 ± 80,02	4,48 ± 76,78	29,64 ± 79,25	-47,24 ± 276,47	0,24	0,366	0,836	0,482
Δ Cer 24:0	-186,9 ± 377	39,09 ± 303,56	-73,89 ± 347,01	572,89 ± 946,70	0,394	0,366	0,731	0,432
Δ Cer 26:1	3,85 ± 5,3	-1,80 ± 8,47	1,03 ± 7,35	3,83 ± 8,54	0,31	0,731	0,445	0,837
Δ Cer 26:0	0,60 ± 9,61	-0,09 ± 3,01	0,26 ± 6,80	8,82 ± 16,90	0,818	0,534	0,731	0,536
СФИНГОМИЕЛИНЫ (нг/мл)								
Δ SM 14:1	-136,44 ± 264,64	-106,46 ± 222,84	-121,45 ± 233,78	76,75 ± 597,50	1	0,945	0,628	0,711
Δ SM 14:0	-2267,50 ± 4319,4	-415,69 ± 2599,93	-1341,60 ± 3533,89	1137,25 ± 7185,34	0,394	0,534	0,731	0,536
Δ SM 16:1	-2858,22 ± 5090,2	-427,07 ± 2668,56	-1642,65 ± 4077,53	2865,61 ± 12002,14	0,589	1	0,945	0,967
Δ SM 16:0	-10165,3 ± 42892,64	-1597,70 ± 4740,43	-5881,49 ± 29436,31	12826,09 ± 39663,43	1	0,445	0,945	0,592
Δ SM 18:1	-744,05 ± 3065,24	-351,66 ± 255,92	-547,86 ± 2083,88	-29,60 ± 2322,63	0,394	0,366	0,234	0,196
Δ SM 18:0	-3591,13 ± 9189,7	-1200,41 ± 1637,43	-2395,77 ± 6415,91	1257,17 ± 7871,83	0,699	0,366	0,445	0,299
Δ SM 20:1	-4171,7 ± 10715,9	-1493,53 ± 3174,60	-2832,60 ± 7663,77	2252,86 ± 10836,10	0,699	0,295	0,366	0,227
Δ SM 20:0	-26205,9 ± 68374,9	-3241,66 ± 9337,83	-14723,80 ± 48047,04	25016,12 ± 54734,68	0,699	0,234	0,234	0,142
Δ SM 22:1	-5271,02 ± 2725,40	-4315,07 ± 3580,24	-4793,04 ± 3074,40	3930,79 ± 13493,31	0,485	0,101	0,101	0,045*
Δ SM 22:0	-10310,6 ± 7398,5	-1309,75 ± 15485,82	-5810,15 ± 12489,23	8114,48 ± 20690,12	0,24	0,035*	0,534	0,1
Δ SM 24:1	-5944,38 ± 9369,28	-10757,56 ± 7584,82	-8350,97 ± 8507,03	12768,79 ± 34445,18	0,485	0,445	0,138	0,167
Δ SM 24:0	-11342,31 ± 7409,98	-2740,53 ± 7497,64	-7041,42 ± 8407,70	4807,69 ± 13661,89	0,132	0,022*	0,445	0,068
Δ SM 26:1	-222,42 ± 267,17	-191,58 ± 204,63	-207,00 ± 227,46	150,46 ± 270,72	1	0,073	0,005*	0,005*

При сравнении динамики сфинголипидов каждой из групп было отмечено, что в 1-й группе уровень церамида Cer 16:1 несколько повышался (Δ Cer 16:1 = 4,1 ± 7,17), а в группе 2 снижался (Δ Cer 16:1 = -1,70 ± 1,32). Различия достоверно значимы ($p = 0,015$).

На фоне терапии алирокумабом отмечено повышение уровня Cer 14:1 (Δ Cer 14:1 = 0,10 ± 0,35) ($p = 0,022$), в отличие от пациентов, начавших прием статинов, у которых этот церамид снижался (Δ Cer 14:1 = -0,26 ± 0,259). При сравнении динамики в группах 1 и 3 были показаны существенные различия для SM 22:0 (Δ SM 22:0 = -10310,6 vs 8114,48) ($p = 0,035$) и SM 24:0 (Δ SM 24:0 = -11342,31 vs 4807,69) ($p = 0,022$). У больных, принимавших статины, и у пациентов, получивших алирокумаб, различалась динамика SM 22:1 (Δ SM 22:1 = -4793,04 vs 3930,79) ($p = 0,045$) и SM 26:1 (Δ SM 26:1 = -207,00 vs 150,46) ($p = 0,005$) соответственно, в группах 2 и 3 (Δ SM 26:1 = -191,58 vs 150,46).

При проведении корреляционного анализа в группе 1 была установлена статистически значимая прямая корреляционная связь высокой тесноты динамики церамида Cer 14:1 с изменением уровня ХС ЛНП ($p = 0,829$;

$p = 0,042$), а с исходным уровнем ХС ЛНП обратная связь высокой тесноты ($p = -0,829$; $p = 0,042$) (табл. 3). В этой же группе были отмечены прямые корреляционные связи динамики длинноцепочечных сфингомиелинов с изменением уровня ЛНП — Δ SM 24:1 с Δ ЛНП ($p = 0,943$; $p = 0,005$), Δ SM 26:1 с Δ ЛНП ($p = 0,829$; $p = 0,042$) и обратные связи с исходным уровнем ХС ЛНП — с Δ SM 24:1 ($p = -0,943$; $p = 0,005$), с Δ SM 26:1 ($p = -0,829$; $p = 0,042$). В группе 2 только изменение SM 18:0 имело прямую корреляцию с исходным уровнем ЛНП ($p = 0,812$; $p = 0,05$).

В 1-й группе отмечена значимая корреляция высокой тесноты динамики Δ SM 26:1 с исходным уровнем ХС ЛВП ($p = -0,829$; $p = 0,042$), у пациентов 2-й группы значимых корреляций не было. У всех больных, принимавших статины, значимые корреляции с исходным уровнем ЛВП были отмечены для Δ SM 14:1 ($p = -0,602$; $p = 0,038$), Δ SM 14:0 ($p = -0,676$; $p = 0,016$), Δ SM 16:1 ($p = -0,630$; $p = 0,028$), Δ SM 24:0 ($p = -0,581$; $p = 0,047$), Δ SM 26:1 ($p = -0,595$; $p = 0,041$). В 3-й группе выявлено наличие обратной связи высокой тесноты изменения SM 20:1 ($p = -0,929$; $p = 0,003$) и SM 20:0 ($p = -0,929$; $p = 0,003$) с исходным уровнем ХСЛВП.

Таблица 3. Корреляционный анализ динамики сфинголипидов с исходными уровнями ХС ЛНП, ХС ЛВП и динамикой ХС ЛНП

	Исходный уровень ХС ЛНП	Δ ХС ЛНП	Исходный уровень ХС ЛВП
Группа 1 (n = 6)			
Δ Cer 14:1	$\rho = -0,829; p = 0,042$	$\rho = 0,829; p = 0,042$	$\rho = -0,6; p = 0,208$
Δ SM 24:1	$\rho = -0,943; p = 0,005$	$\rho = 0,943; p = 0,005$	$\rho = -0,657; p = 0,156$
Δ SM 26:1	$\rho = -0,829; p = 0,042$	$\rho = 0,829; p = 0,042$	$\rho = -0,829; p = 0,042$
Группа 2 (n = 6)			
Δ SM 18:0	$\rho = 0,812; p = 0,05$	$\rho = -0,200; p = 0,704$	$\rho = 0,029; p = 0,957$
Все больные, принимавшие статины (группы 1 и 2) (n = 12)			
Δ SM 14:1	$\rho = -0,329; p = 0,296$	$\rho = 0,606; p = 0,037$	$\rho = -0,602; p = 0,038$
Δ SM 14:0	$\rho = -0,417; p = 0,178$	$\rho = 0,504; p = 0,094$	$\rho = -0,676; p = 0,016$
Δ SM 16:1	$\rho = -0,109; p = 0,737$	$\rho = 0,245; p = 0,442$	$\rho = -0,630; p = 0,028$
Δ SM 24:0	$\rho = -0,235; p = 0,463$	$\rho = 0,343; p = 0,275$	$\rho = -0,581; p = 0,047$
Δ SM 26:1	$\rho = -0,452; p = 0,140$	$\rho = 0,480; p = 0,114$	$\rho = -0,595; p = 0,041$
Группа 3 (n = 7)			
Δ SM 20:1	$\rho = -0,143; p = 0,760$	$\rho = -0,036; p = 0,939$	$\rho = -0,929; p = 0,003$
Δ SM 20:0	$\rho = -0,179; p = 0,702$	$\rho = 0,107; p = 0,819$	$\rho = -0,929; p = 0,003$

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время в качестве основных классов гиполипидемических препаратов используют ингибиторы ГМГ-КЛА-редуктазы (статины), блокирующие печеночный синтез холестерина, блокаторы обратного всасывания холестерина в кишечнике (эзетимиб) и ингибиторы пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9 (PCSK9), механизм действия которых основан на блокаде связывания этого фермента с рецептором ЛНП и увеличении числа таких рецепторов на поверхности гепатоцитов. При проведении гиполипидемической терапии основным клиническим ориентиром является снижение уровня ХС ЛНП до целевых уровней [2]. Различия в механизме действия могут обуславливать и наличие различий во влиянии на уровень других липидных фракций, и, в частности, сфингомиелинов и церамидов. Известно, что уровень церамидов можно рассматривать как дополнительный фактор риска осложнений атеросклероза (инфаркта миокарда и инсульта). Это было показано в когортном исследовании Rochester Epidemiology Project (REP) при наблюдении за 1131 здоровыми лицами старше 45 лет. Основными предикторами неблагоприятных исходов оказались соотношения Cer 16:0/Cer 24:0, Cer 18:0/Cer 24:0, Cer 24:1/Cer 24:0 и показатель церамидного риска [10]. Эти же церамиды и их соотношения оказались независимыми предикторами сердечно-сосудистой смерти в когорте из 1704 больных с ИБС [11]. В нашей работе мы тоже проводили оценку динамики этих соотношений и показателя церамидного риска на фоне проводимой гиполипидемической терапии.

Повышение уровня сфингомиелинов тоже можно рассматривать как независимый предиктор неблагоприятных исходов. Это было показано при анализе когорт больных с семейной дислипидемией при применении методов анализа больших данных и машинного обучения [12]. Прогностическое значение некоторых сфингомиелинов показано и для цереброваскулярной болезни [13].

Данных о влиянии терапии статинами, ингибиторами PCSK9 и эзетимибом на уровень сфинголипидов в литературе немного. В рандомизированном исследовании было показано, что комбинация аторвастатина и фибратов приводила к снижению уровня ацилглицеролов и большинства

церамидов и увеличению уровня сфингомиелинов. Увеличение дозы аторвастатина приводило к умеренному снижению уровня лизофосфатидилхолина. [14]. В рандомизированном исследовании при сравнении влияния симвастатина в дозе 80 мг и комбинации симвастатина 10 мг и эзетимиба было показано отличающееся влияние этих режимов терапии на уровень липидных и сфинголипидных фракций. Терапия увеличенной дозой статина приводила к более значимым изменениям уровня сфинголипидов. При этом динамика уровня ОХС и ХС ЛНП была сопоставимой. Большая доза статина в значительно большей степени снижала уровень сфингомиелинов и церамидов, а также влияла на уровень фосфотидилхолина, что отчасти может объяснить плейотропность действия статинов [15].

В рандомизированном исследовании с применением двух разных доз розувастатина (10 и 40 мг) у больных с метаболическим синдромом и низкие и высокие дозы статина значимо снижали уровень церамидов и сфинголипидов. Существенные дозозависимые различия были показаны для динамики фосфатидилхолина, лизофосфатидилхолина, алкилфосфатидилхолина, алкенилфосфатидилхолина (плазмалоген) и фосфатидилинозитола. Дозозависимый эффект был показан и для сфинголипидов после нормализации их уровня к уровню фосфатидилхолина [16].

При лечении розувастатином динамика уровня церамидов крови демонстрировала обратную корреляцию по сравнению с динамикой уровня ApoB100 липопротеинов очень низкой плотности. Не было выявлено также ассоциации динамики уровня церамидов и сфингомиелинов с динамикой уровня ОХС, ХС ЛНП, ТГ и ApoA1 ЛНП. Обнаруженная ассоциация между динамикой ApoB ЛОНП и динамикой церамидов на фоне приема розувастатина демонстрирует возможные особенности механизма действия этого статина [17].

В нашем исследовании стартовая терапия статинами приводила к статистически значимому снижению уровня Cer 14:1 и уменьшению уровня сфингомиелинов SM 22:1, SM 22:0 и SM 24:0. Снижение уровня Cer 14:1 и длинноцепочечных сфингомиелинов коррелировало с исходным уровнем ХС ЛНП и динамикой ЛНП. При интенсификации гиполипидемической терапии (увеличении дозы статинов и добавлении у части больных эзетимиба) в

целом динамика сфингомиелинов была более выраженной, что коррелирует с данными приведенных исследований. Существенного влияния на уровень керамидов и церамидный риск не зарегистрировано.

Ассоциация между уровнем PCSK9 и уровнем сфинголипидов и керамидов крови была изучена в исследовании на 31 пациенте с заболеваниями печени различной этиологии. У пациентов с высоким уровнем PCSK9 уровень ХС ЛНП был выше ожидаемого. При этом уровни ОХС, сфинголипидов и керамидов с уровнем PCSK9 не коррелировали. При разбиении пациентов на группы с высоким и низким уровнем PCSK9 оказалось, что у больных с уровнем PCSK9 плазмы крови выше медианы оказался существенно ниже уровень некоторых типов сфинголипидов и керамидов: CE 16:0, CE 20:5, CE 20:4, CE 22:6, CE 22:4, SM 18:0, SM 20:1, SM 24:2, SM 24:1. Механизм подобной ассоциации на сегодняшний день неясен [18].

В исследовании EQUATOR при применении моноклонального антитела к PCSK9 RG7652 было показано преимущественное снижение уровня керамидов CE 24:1, CE 24:0 и CE 26:0, преимущественно содержащихся в ЛНП [19]. В другом исследовании, где ингибиторы PCSK9 назначали на фоне проведения терапии максимально переносимыми дозами статинов, тоже было зарегистрировано прежде всего снижение уровня керамидов, а также снижение показателя церамидного риска — интегрального параметра, коррелирующего с риском неблагоприятного исхода у больных с дислипидемиями [20]. Ранее в исследовании Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) было показано, что гомозиготное носительство редкого аллеля мутации R46L гена PCSK9, характеризующегося сниженной активностью фермента, ассоциировано с 30%-м снижением показателя церамидного риска по сравнению с носителями другого аллеля [21]. В этом же исследовании продемонстрировано 13%-е снижение церамидного риска на фоне терапии симвастатином и отсутствие динамики керамидов при применении эзетимиба.

В нашем исследовании добавление к терапии алирокумаба привело к значимому снижению ХС ЛНП, но существенно не изменило уровень сфингомиелинов и керамидов. Отмечено лишь значимое увеличение Cer 22:1 и снижение величины соотношения Cer 16:0/24:0, являющегося одним из маркеров церамидного риска. В нашем исследовании добавление к терапии алирокумаба проводили у больных, уже принимавших максимально переносимые дозы статинов в соответствии с зарегистрированными для этого препарата показаниями [2, 22]. При этом исходные уровни сфинголипидов были достаточно низкими, существенно ниже, чем в группах 1 и 2 на фоне четырехнедельной терапии статинами. На фоне исходно низких уровней сфингомиелинов ингибитор PCSK9 не оказал существенного влияния на уровни сфингомиелинов и керамидов. Возможно, это связано и с отличным от статинов механизмом действия данного препарата.

Исследование имело следующие ограничения: выполнено на малой выборке больных и проведено с использованием в качестве базовой терапии различных статинов.

Выводы

Снижение содержания сфингомиелинов происходит на фоне терапии статинами и при лечении стартовыми дозами статинов коррелирует со снижением уровня ХС ЛНП. При эскалации гиполипидемической терапии корреляция динамики сфингомиелинов и ЛНП становится менее значимой. Терапия ингибиторами PCSK9 приводит к существенному снижению уровня ХС ЛНП, но не влияет на уровень сфингомиелинов. Существенной динамики керамидов и церамидного риска на фоне терапии статинами не зарегистрировано, но при добавлении к терапии ингибитора PCSK9 произошло уменьшение соотношения Cer 16:0/24:0, что может быть маркером снижения сердечно-сосудистых рисков.

Литература

- Bossard M, Latifi Y, Fabbri M, Kumann R, Brinkert M, Wolfrum M, et al. Increasing Mortality From Premature Coronary Artery Disease in Women in the Rural United States. *J Am Heart Assoc.* 2020; 9 (9): e015334. DOI: 10.1161/JAHA.119.015334.
- Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020; 41 (1): 111–88. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz455.
- Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2017; 38 (32): 2459–72. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx144.
- Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67 (22): 2578–89. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.03.520.
- Barenholz Y. Sphingomyelin and cholesterol: from membrane biophysics and rafts to potential medical applications. *Subcell Biochem.* 2004; 37: 167–215. DOI: 10.1007/978-1-4757-5806-1_5.
- Manicke NE, Nefliu M, Wu C, Woods JW, Reiser V, Hendrickson RC, et al. Imaging of lipids in atheroma by desorption electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem.* 2009; 81 (21): 8702–7. DOI: 10.1021/ac901739s.
- Brunkhorst R, Friedlaender F, Ferreirós N, Schwalm S, Koch A, Grammatikos G, et al. Alterations of the Ceramide Metabolism in the Peri-Infarct Cortex Are Independent of the Sphingomyelinase Pathway and Not Influenced by the Acid Sphingomyelinase Inhibitor Fluoxetine. *Neural Plast.* 2015; 2015: 503079. DOI: 10.1155/2015/503079.
- Laaksonen R, Ekroos K, Sysi-Aho M, Hilvo M, Vihervaara T, Kauhanen D, et al. Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. *Eur Heart J.* 2016; 37 (25): 1967–76. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw148.
- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37 (8): 911–7.
- Vasile VC, Meeusen JW, Medina Inojosa JR, Donato LJ, Scott CG, Hyun MS, et al. Ceramide Scores Predict Cardiovascular Risk in the Community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021; 41 (4): 1558–69. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.315530.
- Li Q, Wang X, Pang J, Zhang Y, Zhang H, Xu Z, et al. Associations between plasma ceramides and mortality in patients with coronary

- artery disease. *Atherosclerosis*. 2020; 314: 77–83. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.09.004.
12. Poss AM, Maschek JA, Cox JE, Hauner BJ, Hopkins PN, Hunt SC, et al. Machine learning reveals serum sphingolipids as cholesterol-independent biomarkers of coronary artery disease. *J Clin Invest*. 2020; 130 (3): 1363–76. DOI: 10.1172/JCI131838.
 13. You Q, Peng Q, Yu Z, Jin H, Zhang J, Sun W, et al. Plasma lipidomic analysis of sphingolipids in patients with large artery atherosclerosis cerebrovascular disease and cerebral small vessel disease. *Biosci Rep*. 2020; 40 (9): BSR20201519. DOI: 10.1042/BSR20201519.
 14. Han JS, Kim K, Jung Y, Lee JH, Namgung J, Lee HY, et al. Metabolic Alterations Associated with Atorvastatin/Fenofibric Acid Combination in Patients with Atherogenic Dyslipidaemia: A Randomized Trial for Comparison with Escalated-Dose Atorvastatin. *Sci Rep*. 2018; 8 (1): 14642. DOI: 10.1038/s41598-018-33058-x.
 15. Snowden SG, Grapov D, Settergren M, D'Alexandri FL, Haeggström JZ, Fiehn O, et al. High-dose simvastatin exhibits enhanced lipid-lowering effects relative to simvastatin/ezetimibe combination therapy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014; 7 (6): 955–64. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000606.
 16. Ng TW, Ooi EM, Watts GF, Chan DC, Weir JM, Meikle PJ, et al. Dose-dependent effects of rosuvastatin on the plasma sphingolipidome and phospholipidome in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99 (11): E2335–40. DOI: 10.1210/jc.2014-1665.
 17. Ng TW, Ooi EM, Watts GF, Chan DC, Meikle PJ, Barrett PH. Association of Plasma Ceramides and Sphingomyelin With VLDL apoB-100 Fractional Catabolic Rate Before and After Rosuvastatin Treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015; 100 (6): 2497–501. DOI: 10.1210/jc.2014-4348.
 18. Feder S, Wiest R, Weiss TS, Aslanidis C, Schacherer D, Krautbauer S, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) levels are not associated with severity of liver disease and are inversely related to cholesterol in a cohort of thirty eight patients with liver cirrhosis. *Lipids Health Dis*. 2021; 20 (1): 6. DOI: 10.1186/s12944-021-01431-x.
 19. Hilvo M, Simolin H, Metso J, Ruuth M, Öörni K, Jauhiainen M, et al. PCSK9 inhibition alters the lipidome of plasma and lipoprotein fractions. *Atherosclerosis*. 2018; 269: 159–65. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.01.004.
 20. Ye Q, Svatikova A, Meeusen JW, Kludtke EL, Kopecky SL. Effect of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Inhibitors on Plasma Ceramide Levels. *Am J Cardiol*. 2020; 128: 163–7. DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.04.052.
 21. Tarasov K, Ekroos K, Suoniemi M, Kauhanen D, Sylvänne T, Hurme R, et al. Molecular lipids identify cardiovascular risk and are efficiently lowered by simvastatin and PCSK9 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99 (1): E45–52. DOI: 10.1210/jc.2013-2559.
 22. Инструкция к препарату Пралуэнт. Доступно по ссылке: http://grfs.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e7885c43-2824-42ee-8673-f6221d7f2f5a&t=

References

1. Bossard M, Latifi Y, Fabbri M, Kurmann R, Brinkert M, Wolfrum M, et al. Increasing Mortality From Premature Coronary Artery Disease in Women in the Rural United States. *J Am Heart Assoc*. 2020; 9 (9): e015334. DOI: 10.1161/JAHA.119.015334.
2. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020; 41 (1): 111–88. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz455.
3. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2017; 38 (32): 2459–72. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx144.
4. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67 (22): 2578–89. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.03.520.
5. Barenholz Y. Sphingomyelin and cholesterol: from membrane biophysics and rafts to potential medical applications. *Subcell Biochem*. 2004; 37: 167–215. DOI: 10.1007/978-1-4757-5806-1_5.
6. Manicke NE, Neffliu M, Wu C, Woods JW, Reiser V, Hendrickson RC, et al. Imaging of lipids in atheroma by desorption electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem*. 2009; 81 (21): 8702–7. DOI: 10.1021/ac901739s.
7. Brunkhorst R, Friedlaender F, Ferreirós N, Schwalm S, Koch A, Grammatikos G, et al. Alterations of the Ceramide Metabolism in the Peri-Infarct Cortex Are Independent of the Sphingomyelinase Pathway and Not Influenced by the Acid Sphingomyelinase Inhibitor Fluoxetine. *Neural Plast*. 2015; 2015: 503079. DOI: 10.1155/2015/503079.
8. Laaksonen R, Ekroos K, Sysi-Aho M, Hilvo M, Vihervaara T, Kauhanen D, et al. Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. *Eur Heart J*. 2016; 37 (25): 1967–76. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw148.
9. Blish EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959; 37 (8): 911–7.
10. Vasile VC, Meeusen JW, Medina Inojosa JR, Donato LJ, Scott CG, Hyun MS, et al. Ceramide Scores Predict Cardiovascular Risk in the Community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021; 41 (4): 1558–69. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.315530.
11. Li Q, Wang X, Pang J, Zhang Y, Zhang H, Xu Z, et al. Associations between plasma ceramides and mortality in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2020; 314: 77–83. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.09.004.
12. Poss AM, Maschek JA, Cox JE, Hauner BJ, Hopkins PN, Hunt SC, et al. Machine learning reveals serum sphingolipids as cholesterol-independent biomarkers of coronary artery disease. *J Clin Invest*. 2020; 130 (3): 1363–76. DOI: 10.1172/JCI131838.
13. You Q, Peng Q, Yu Z, Jin H, Zhang J, Sun W, et al. Plasma lipidomic analysis of sphingolipids in patients with large artery atherosclerosis cerebrovascular disease and cerebral small vessel disease. *Biosci Rep*. 2020; 40 (9): BSR20201519. DOI: 10.1042/BSR20201519.
14. Han JS, Kim K, Jung Y, Lee JH, Namgung J, Lee HY, et al. Metabolic Alterations Associated with Atorvastatin/Fenofibric Acid Combination in Patients with Atherogenic Dyslipidaemia: A Randomized Trial for Comparison with Escalated-Dose Atorvastatin. *Sci Rep*. 2018; 8 (1): 14642. DOI: 10.1038/s41598-018-33058-x.
15. Snowden SG, Grapov D, Settergren M, D'Alexandri FL, Haeggström JZ, Fiehn O, et al. High-dose simvastatin exhibits enhanced lipid-lowering effects relative to simvastatin/ezetimibe combination therapy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014; 7 (6): 955–64. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000606.
16. Ng TW, Ooi EM, Watts GF, Chan DC, Weir JM, Meikle PJ, et al. Dose-dependent effects of rosuvastatin on the plasma sphingolipidome and phospholipidome in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99 (11): E2335–40. DOI: 10.1210/jc.2014-1665.
17. Ng TW, Ooi EM, Watts GF, Chan DC, Meikle PJ, Barrett PH. Association of Plasma Ceramides and Sphingomyelin With VLDL apoB-100 Fractional Catabolic Rate Before and After Rosuvastatin Treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015; 100 (6): 2497–501. DOI: 10.1210/jc.2014-4348.
18. Feder S, Wiest R, Weiss TS, Aslanidis C, Schacherer D, Krautbauer S, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) levels are not associated with severity of liver disease and are inversely related to cholesterol in a cohort of thirty eight

- patients with liver cirrhosis. *Lipids Health Dis.* 2021; 20 (1): 6. DOI: 10.1186/s12944-021-01431-x.
19. Hilvo M, Simolin H, Metso J, Ruuth M, Öörni K, Jauhiainen M, et al. PCSK9 inhibition alters the lipidome of plasma and lipoprotein fractions. *Atherosclerosis.* 2018; 269: 159–65. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.01.004.
 20. Ye Q, Svatikova A, Meeusen JW, Kludtke EL, Kopecky SL. Effect of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Inhibitors on Plasma Ceramide Levels. *Am J Cardiol.* 2020; 128: 163–7. DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.04.052.
 21. Tarasov K, Ekroos K, Suoniemi M, Kauhanen D, Sylvänne T, Hurme R, et al. Molecular lipids identify cardiovascular risk and are efficiently lowered by simvastatin and PCSK9 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99 (1): E45–52. DOI: 10.1210/jc.2013-2559.
 22. Инструкција к препарату Пралужент. Доступно по ссылке: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e7885c43-2824-42ee-8673-f6221d7f2f5a&t=. Russian.