

Тривале обмеження калорійності харчового раціону попереджає вікові зміни вмісту біологічно активних сфінго- та гліцероліпідів у тканинах щурів

Н.О. Бабенко, Г. В. Стороженко

НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, Харків;
e-mail: babenko@univer.kharkov.ua

Вивчали вікові особливості впливу калорійно обмеженої дієти на вміст біологічно активних сфінго- і гліцероліпідів у серці, печінці та мозку щурів 3- та 24-місячного віку. Калорійність раціону щурів дослідної групи протягом експерименту зберігали на рівні 20-30% від контрольної групи. Дієта щурів дослідної групи була повноцінна за складом мікроелементів, вітамінів і білків. Встановлено, що обмеження харчового раціону знижувало вміст цераміду, сфінгомієліну, кардіоліпіну та фосфатидної кислоти в усіх тканинах щурів вже у віці 3 міс, що, певно, є наслідком пригнічення біосинтезу цих ліпідів через обмежене надходження жирних кислот з їжею. Водночас у тканинах 24-місячних тварин обмеження калорійності харчового раціону запобігало віковому накопиченню цераміду і фосфатидної кислоти, зростанню відношення церамід/сфінгомієлін та зниженню вмісту сфінгомієліну і кардіоліпіну, згладжуючи вікові розбіжності вмісту сфінго- та гліцероліпідів. Разом із тим встановлена тканинна специфічність ефектів калорійно обмеженої дієти. Так, у серці та печінці підвищувався вміст кардіоліпіну та знижувався фосфатидної кислоти порівняно з тваринами, які отримували стандартний раціон віварію. Тоді як у мозку калорійне обмеження харчового раціону мало протилежні ефекти. Наші результати дають змогу припустити, що зміни метаболізму таких сигнальних месенджерів, як церамід та фосфатидна кислота можуть попереджувати розвиток асоційованих з віком патологій цих органів в умовах калорійного обмеження харчового раціону. Ключові слова: старіння; калорійно обмежена дієта; церамід; сфінгомієлін; кардіоліпін; фосфатидна кислота.

ВСТУП

Вікові порушення метаболізму сфінголіпідів асоціюються з виникненням та розвитком цілої низки патологічних станів, які спостерігаються в пізньому онтогенезі: жирова дистрофія печінки, інсулінрезистентність, різні нефропатії, атеросклероз, синдром Альцгеймера тощо [1]. Відомо, що церамід, внутрішньоклітинний вміст якого зростає при старінні, має антипроліферативні властивості, модулює фосфорилування різних білків та є індуктором апоптозу [2]. Показано його накопичення та підвищення співвідношення церамід/сфінгомієлін у клітинах старіючого організму [3–5].

Крім того, церамід впливає на функції мітохондрій, пригнічуючи роботу респіраторного ланцюга, збільшуючи продукцію активних форм кисню та активуючи протеїн-фосфатазу РР2А, яка дефосфорилує та інактивує такі антиапоптотичні білки, як Bcl2 і Akt, що у свою чергу призводить до апоптозу [6]. Водночас зміни активності фосфатидилгліцерофосфатсинтази та фосфоліпази опосередковані накопиченням цераміду змінюють метаболізм кардіоліпіну [7] – фосфоліпиду, потрібного для функціонування мітохондрій і зв'язування в їх мембранах цитохрому С, 3 і 4 комплексів електронно-транспортного ланцюга [8, 9]. Показано, що зменшення вмісту кардіоліпіну,

© Н.О. Бабенко, Г. В. Стороженко

як правило, поєднується зі зниженням інтенсивності електронно-транспортного ланцюга мітохондрій. Так, зменшення вмісту цього фосфоліпиду спостерігається при ішемії-реперфузії, гіпотиреозі, оксидативному стресі, серцевій недостатності й старінні [8] та може бути однією з ключових причин входження клітини в апоптоз, в той час як підтримка нормального вмісту кардіоліпіну має антиапоптотичні ефекти. Відомо, що біохімічні особливості тканини є основою її фізіологічної функції. Так, тканини головного мозку, які характеризуються високим вмістом і різноманіттям ліпідів, особливо чутливі до їх перебудов [10]. Водночас печінка відіграє ключову роль у ліпідному метаболізмі та є основним місцем утворення ліпопротеїдів і ліпідів [4, 11]. Крім того, серце характеризується підвищеним вмістом кардіоліпіну, зміна якого, як правило, пов'язана з розвитком асоційованих з віком патологій [8].

Враховуючи вікове накопичення кераміду і його ефекти на функції мітохондрій та метаболізм кардіоліпіну, важливим є дослідження моделей, що дають змогу коригувати вміст сфінго- і гліцероліпідів у клітинах і тканинах старіючого організму. Показано, що обмеження калорійності харчового раціону істотно впливає на розвиток вікової патології, знижуючи частоту виникнення діабету, нейродегенеративних та серцево-судинних захворювань [12] та пролонгує життя лабораторних тварин [13]. Однак механізми реалізації ефекту калорійного обмеження лишаються недостатньо з'ясованими. Припускається, що калорійно обмежена дієта впливає на функціональну активність мітохондрій, знижуючи окисне пошкодження, активацію апоптозу і вміст про-апоптотичних білків Bcl-XS/Bcl-XL, а також попереджає транслокацію Вах у мітохондрії і вивільнення цитохрому С до цитозолу [14, 15]. З іншого боку ефекти калорійно обмеженої дієти можуть реалізовуватися через зміну метаболізму

сфінголіпідів, знижуючи вміст кераміду в нирках мишей [16] і мозку щурів [5, 17].

Мета нашої роботи – вивчення вікових особливостей впливу калорійно обмеженої дієти на вміст біологічно активних сфінго- і гліцероліпідів та можливості корекції вікових змін їх вмісту у функціонально різних тканинах щурів.

МЕТОДИКА

Всі дослідження проводили з дотриманням Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та національних Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Україна, 2001). Щурів-самців лінії Вістар віком 3 і 24 міс (контроль) утримували на стандартному раціоні віварію. Маса тіла 3-місячних щурів становила $172,44 \pm 6,16$ г, а 24-місячних - $445,14 \pm 11,89$ г. Дослідну групу тварин у віці 1 міс переводили на експериментальну калорійно обмежену дієту за Маккеєм-Нікітіним [13] до 3- або 24-місячного віку. Маса тіла 3-місячних тварин дослідної групи становила $87,20 \pm 3,14$ г, 24-місячних - $122,80 \pm 4,63$ г.

Тварин декапітували під ефірним наркозом. Екстракцію ліпідів з тканин печінки, серця та мозку проводили за методом Bligh, Dyer [18]. Ліпіди фракціювали методом одномірної висхідної хроматографії у системах: діетиловий ефір (система 1) і хлороформ:метанол:вода (40:10:1 за об'ємом; система 2) для сфінголіпідів та хлороформ:метанол:оцтова кислота:вода (80:12:8:0,3, за об'ємом) - для кардіоліпіну та фосфатидної кислоти. Плями ліпідів проявляли в парах йоду та ідентифікували порівнянням зі стандартами: сфінгомієлін («Sigma», США), керамід («Sigma», США), кардіоліпін («Sigma», США) та фосфатидна кислота («Sigma», США). Кількісний вміст фосфоліпідів у хроматографічних фракціях визначали за

неорганічним фосфором [19], вміст кераміду – за методом, описаним раніше [3], вміст білка в пробах – за методом Lowry [20]. Для порівняння значень вмісту ліпідів контрольної та дослідних груп використовували однофакторний дисперсійний аналіз one-way Anova, за критерієм Фішера, та для порівняння вмісту білка в дослідних групах – критерій t Стьюдента. Відмінності між групами вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Спостерігали вікове збільшення вмісту кераміду і зменшення вмісту сфінгомеліну у всіх вивчених тканинах 24-місячних щурів, які отримували їжу *ad libitum*. Відомо, що в клітині керамід синтезується із пальмітоіл-КоА та серину за участю серинпальмітоїлтрансферази та керамідсинтази. Крім того, на вміст кераміду у клітинах різних тканин значно впливає активність сфінгомеліназ – ферментів які піддають гідролізу мембранний сфінгомелін. Надалі керамід під дією керамідаз перетворюється на сфінгозин, що фосфорилується сфінго-

зинкіназами до сфінгозин-1-фосфату. Деякі дослідники вказують на вікове підвищення активності кислих сфінгомеліназ у печінці [4] і нейтральних сфінгомеліназ у гіпокампі та корі головного мозку старих щурів [5]. Водночас показано можливість модуляції підвищеного з віком вмісту кераміду і його метаболітів обмеженням калорійності харчового раціону [16,5]. У нашій роботі в серці, печінці та мозку 3-місячних щурів, яких з 1-місячного віку перевели на низькокалорійну дієту спостерігалось зниження вмісту кераміду і сфінгомеліну порівняно зі значеннями цих ліпідів у контрольних 3-місячних щурів (див. рис. 1, а, б). Подібне зниження вмісту кераміду та сфінгомеліну може бути пов'язано зі зменшенням їх синтезу *de novo* внаслідок дефіциту насичених жирних кислот харчового раціону, які є попередниками в синтезі сфінголіпідів. Тривале утримання тварин на калорійно обмеженій дієті до 24-місячного віку збільшувало вміст сфінгомеліну (див. рис. 1. б) та зберігало вміст кераміду на рівні 3-місячних тварин, які отримували калорійно обмежену дієту (див. рис. 1, а). Причому вміст сфінгомеліну у старих тварин, які

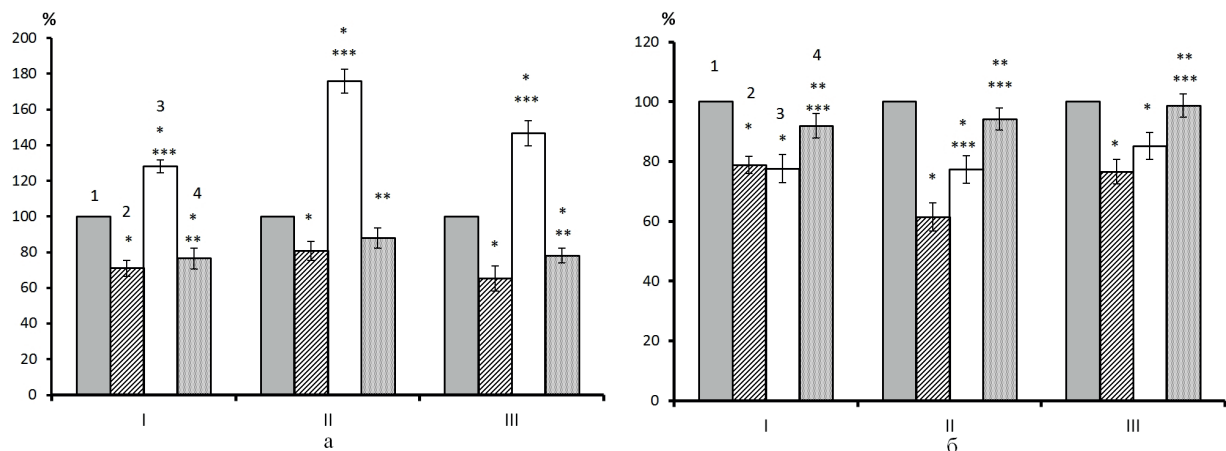


Рис. 1. Вплив калорійного обмеження харчового раціону на вміст кераміду (а) та сфінгомеліну (б) у тканинах щурів різного віку: 1 – інтактні 3-місячні щури, 2 – 3-місячні щури, що перебувають на калорійно обмеженій дієті, 3 – інтактні 24-місячні щури, 4 – 24-місячні щури, що перебувають на калорійно обмеженій дієті; I – серце, II – печінка, III – кора півкуль головного мозку. * $P < 0,05$ порівняно з інтактними 3-місячними щурами, ** $P < 0,05$ порівняно з інтактними 24-місячними щурами, *** $P < 0,05$ порівняно з 3-місячними щурами, які отримували калорійно обмежену дієту. Результати представлені у відсотках від значень 3-місячних щурів

отримували калорійно обмежену дієту, відновлювався до рівня інтактних 3-місячних щурів у всіх досліджених органах (див. рис. 1, б). Враховуючи те, що в нирках мишей [16] і мозку щурів [5] калорійно обмежена дієта пригнічувала підвищену з віком активність церамідсинтази і сфінгомеліназ, можна припустити, що в нашій роботі модуляція вмісту сфінголіпідів за його допомогою також пов'язана зі зменшенням активності цих ферментів в серці, печінці та мозку.

Зміщення балансу в метаболізмі сфінголіпідів у бік утворення цераміду може призводити до індукції апоптозу кластеризацією мембранних рецепторів, задіяних у передачі апоптотичних сигналів [2] або завдяки утворенню пор у мітохондріях внаслідок активації каспаз церамідом [2, 6]. Водночас зниження співвідношення церамід/сфінгомелін підвищує життєздатність клітин і зменшує їх чутливість до сигналів апоптозу. У нашій роботі воно збільшувалося з віком у печінці, серці і мозку щурів, які отримували стандартну дієту віварію (див. рис. 2). Ці результати добре узгоджуються з даними, отриманими раніше [3–5], та свідчать про активацію сфінгомеліназ, які гідролізують сфінгомелін до цераміду в клітинах старих щурів. Разом з тим калорійне обмеження протягом життя 24-місячних щурів попереджало зміни балансу церамід/сфінгомелін у серці і мозку, і знижувало це співвідношення в печінці щурів порівняно з молодими тваринами, які отримували калорійно обмежену дієту (див. рис. 2). Вочевидь, калорійно обмежена дієта модулює активність сфінгомеліназ в тканинах старих щурів, що підтверджується зростанням вмісту сфінгомеліну в серці, печінці та мозку 24-місячних щурів, які отримували калорійно обмежену дієту.

Збільшення цераміду у плазматичної мембрані може посилювати сигнал смерті, впливаючи на зміну співвідношення про- та антиапоптотичних білків сімейства Bcl-2 на зовнішній мембрані мітохондрій [1,

2]. Крім того, церамід пригнічує дихальну активність респіраторного ланцюга і регулює проникність мітохондріальної пори і зовнішньої мембрани мітохондрій для цитохрому С, діючи самостійно або разом з білком Вах [1,2]. Водночас зниження продукції АТФ і активності електронно-транспортного ланцюга мітохондрій, як правило, характеризується зниженням рівня кардіоліпіну – фосфоліпиду, розташованого виключно на внутрішній мембрані мітохондрій і що бере участь у стабілізації мембран та біоенергетиці цих органел [8]. Встановлене в нашій роботі зниження вмісту кардіоліпіну і фосфатидної кислоти у серці, печінці та мозку 3-місячних щурів, з 1-місячного віку переведених на калорійно обмежену дієту порівняно з інтактними 3-місячними тваринами (див. рис. 3) може спостерігатися внаслідок уповільнення метаболічних процесів і адаптації організму до обмеження калорійності харчового раціону. Слід зазначити, що вміст кардіоліпіну в серці і печінці старих щурів, яких утримували на калорійно обмеженій дієті, відповідав такому у ін-

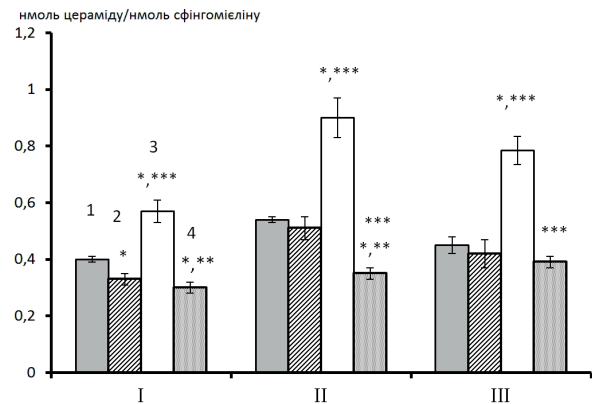


Рис. 2. Вплив калорійно обмеженої дієти на відношення церамід/сфінгомелін у різних тканинах 3- та 24-місячних щурів. I – серце, II – печінка, III – кора півкуль головного мозку; 1 – інтактні 3-місячні щури, 2 – 3-місячні на калорійно обмеженій дієті, 3 – інтактні 24-місячні щури, 4 – 24-місячні на калорійно обмеженій дієті. * $P < 0,05$ щодо значень інтактних 3-місячних щурів, ** $P < 0,05$ порівняно з групою інтактних 24-місячних щурів, *** $P < 0,05$ щодо 3-місячних щурів, які отримували калорійно обмежену дієту

тактних молодих щурів, тоді як у тканинах старих щурів, які отримували стандартну дієту, спостерігалось значне зниження вмісту кардіоліпіну (див. рис. 3, а). Однак у мозку цей показник з віком не змінювався як у тварин, які отримували калорійно обмежену дієту, так і у щурів на стандартному раціоні (див. рис. 3, а). Відомо, що основною причиною зниження кардіоліпіну є посилення його деградації (гідроліз фосфоліпазами), пригнічення синтезу *de novo* в результаті порушення роботи ферментів, що беруть участь у його біосинтезі або зниження біодоступності прекурсорів. Водночас вікове збільшення вмісту кераміду може безпосередньо впливати на вміст кардіоліпіну, модулюючи фосфатидилгліцерофосфатсинтазу, яка є ключовим ферментом в синтезі кардіоліпіну [7] або підвищуючи активність фосфоліпази A2 і продукцію активних форм кисню, які посилюють деградацію кардіоліпіну [7]. Таким чином, можна припустити, що спостережуване зниження вмісту кардіоліпіну в серці і печінці старих тварин (див. рис. 3, а) може бути опосередковано зростанням вмісту кераміду в цих тканинах, тоді як калорійно обмежена дієта попереджає накопичення кераміду в серці і печінці щурів з віком

(див. рис. 2, а) і збільшує вміст кардіоліпіну до рівня молодих інтактних тварин. Відомо, що фосфатидна кислота модулює активність таких ферментів, як фосфоліпаза С, протеїнкази, АМФ-циклічнафосфодіестераза, білок Ras, протеїнтирозинфосфатаза 1 [21]. Відмічають, що фосфатидна кислота і керамід здійснюють протилежні ефекти на такі процеси в клітинах як проліферація, активація протеїнказ, активація НАДФН оксидази і активність протеїнфосфатази 1 [22]. У нашій роботі фосфатидна кислота, яка є прекурсором у синтезі фосфоліпідів і кардіоліпіну, накопичувалась у печінці (див. рис. 3, б) і знижувалась у мозку (див. рис. 3, б) старих 24-місячних щурів, які отримували їжу без обмежень. Відомо, що фосфатидна кислота, яка синтезується з гліцерол-3-фосфату та ацил-S-КоА, надалі бере участь у синтезі фосфоліпідів, або тріацилгліцеролів. Розподіл фосфатидної кислоти між цими двома шляхами має важливе значення в регуляції синтезу ліпідів. Фосфоліпіди утворюються за розгалуженим біосинтетичним шляхом, що починається з фосфатидної кислоти і збільшення її вмісту в печінці при старінні може свідчити або про пригнічення її використання в синтезі

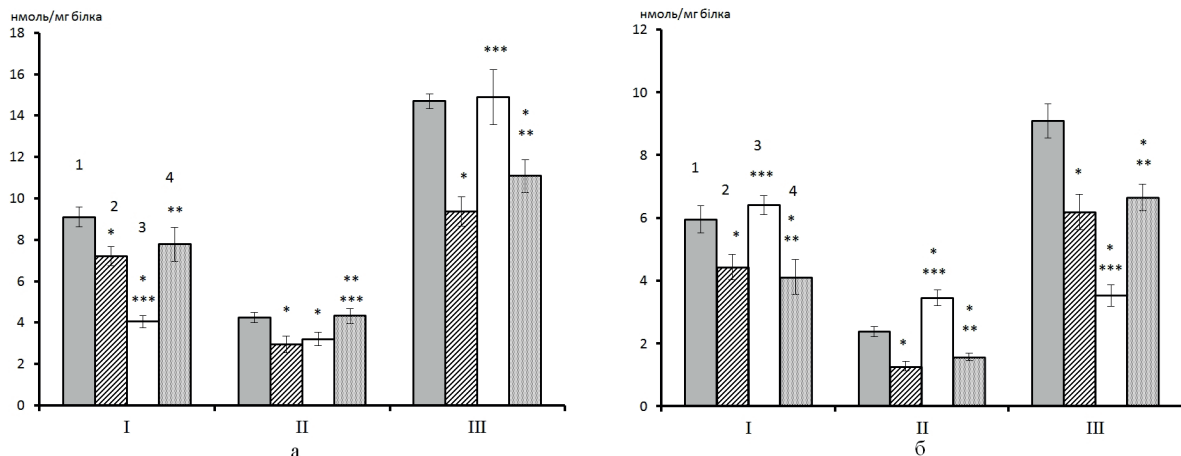


Рис. 3. Вплив калорійно обмеженої дієти на вміст кардіоліпіну (а) і фосфатидної кислоти (б) у тканинах щурів. 1 – інтактні 3-місячні щури, 2 – 3-місячні на калорійно обмеженій дієті, 3 – інтактні 24-місячні щури, 4 – 24-місячні на калорійно обмеженій дієті; I – серце, II – печінка, III – кора півкуль головного мозку. * $P < 0,05$ порівняно з групою інтактних 3-місячних щурів, ** $P < 0,05$ порівняно з групою інтактних 24-місячних щурів, *** $P < 0,05$ щодо 3-місячних щурів, які отримували калорійно обмежену дієту

фосфоліпідів та тригліцеридів або за рахунок активації фосфоліпази Д. Нами встановлено, що вміст фосфатидної кислоти в серці та печінці старих щурів (див. рис. 3, б), які отримували калорійно обмежену дієту, нижче відносно такого в 24-місячних щурів, що знаходилися на стандартному раціоні. Беручи до уваги зростання вмісту кардіоліпіну в цих умовах, можна припустити що калорійно обмежена дієта призводила до активації шляхів синтезу фосфоліпиду з фосфатидної кислоти. Однак у мозку старих щурів, які її отримували, спостерігалось зниження вмісту фосфатидної кислоти та кардіоліпіну порівняно з контролем (див. рис. 3, а, б), що передбачає спрямування фосфатидної кислоти на шляхи синтезу нейтральних ліпідів. Раніше було показано, що калорійне обмеження харчового раціону призводить до збільшення вмісту тріацилгліцеролів в головному мозку 24-місячних щурів, тоді як вміст фосфоліпідів лишається незмінним, що передбачає використання фосфатидної кислоти переважно в синтезі тріацилгліцеролів [22].

Таким чином, у нашій роботі встановлені тканинно-специфічні та вікові особливості дії калорійно обмеженої дієти на вміст біологічно активних ліпідів у тканинах щурів. Так, калорійно обмежена дієта у тканинах щурів 3-місячного віку знижувала вміст кераміду, сфінгомієліну, кардіоліпіну та фосфатидної кислоти, що може бути наслідком обмеженого надходження жирних кислот з їжею. Водночас тривале обмеження калорійності харчового раціону знижувало підвищений вміст кераміду та фосфатидної кислоти і відновлювало рівень сфінгомієліну та кардіоліпіну в серці та печінці 24-місячних щурів порівняно зі старими тваринами, що отримували стандартний раціон віварію. Подібні зміни вмісту сфінголіпідів можуть бути зумовлені модуляцією сфінгомієліназної активності під дією факторів дієти. У мозку 24-місячних тварин обмеження калорійності харчового раціону знижувало

вміст кардіоліпіну та підвищувало вміст фосфатидної кислоти, відносно вмісту цих ліпідів в мозку старих щурів, які отримували їжу без обмежень. Враховуючи, те, що керамід значно впливає на метаболізм кардіоліпіну і фосфатидної кислоти [7], можна припустити, що калорійно обмежена дієта, перешкоджаючи накопиченню кераміду в клітинах різних органів, з віком сприяє відновленню вмісту мітохондріального ліпиду кардіоліпіну і таким чином згладжує суттєві вікові зміни вмісту фосфоліпиду, що у свою чергу може бути важливою причиною відновлення функцій мітохондрій в старості [9].

Н.А. Бабенко, Г. В. Стороженко

ДЛИТЕЛЬНОЕ ОГРАНИЧЕНИЕ КАЛОРИЙНОСТИ ПИЩЕВОГО РАЦИОНА ПРЕДУПРЕЖДАЕТ ВОЗРАСТНЫЕ НАРУШЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СФИНГО- И ГЛИЦЕРОЛИПИДОВ В ТКАНЯХ КРЫС

Изучали возрастные особенности влияния калорийноограниченной диеты на содержание биологически активных сфинго- и глицеролипидов в сердце, печени и мозгу 3- и 24-месячных крыс. Калорийность рациона крыс опытной группы в течение всего эксперимента сохраняли на уровне 20-30% от контрольной группы. Диета животных опытной группы была полноценной по составу микроэлементов, витаминов и белков. Установлено, что ограничение пищевого рациона приводило к снижению содержания керамида, сфингомиелина, кардиолипина и фосфатидной кислоты во всех изученных тканях крыс в возрасте 3 мес, что, вероятно, является следствием подавления биосинтеза этих липидов в результате сниженного поступления жирных кислот с пищей. В то же время в тканях 24-месячных животных ограничение калорийности пищевого рациона предупреждало возрастное накопление керамида и фосфатидной кислоты, увеличение соотношения керамид/сфингомиелин и снижение содержания сфингомиелина и кардиолипина, сглаживая возрастные различия содержания сфинго- и глицеролипидов. Кроме того, установлена тканевая специфичность эффектов калорийно ограниченной диеты. Так в сердце и печени наблюдалось повышение содержания кардиолипина и снижение содержания фосфатидной кислоты по сравнению с животными, которые получали стандартный рацион вивария. Тогда как в мозгу ограничение калорийности пищевого рациона оказывало противоположные эффекты. Полученные результаты позволяют предположить, что изменения

метаболизма таких сигнальных мессенджеров, как церамид и фосфатидная кислота может предупреждать развитие ассоциированных с возрастом патологий в условиях калорийного ограничения пищевого рациона.

Ключевые слова: старение; калорийно ограниченная диета; церамид; сфингомиелин; кардиолипин; фосфатидная кислота.

N.A. Babenko, G.V. Storozhenko

LONG-TERM FOOD RESTRICTION PREVENTS THE AGE-RELATED CHANGES OF THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SPHINGO- AND GLYCEROLIPIDS CONTENTS IN THE RAT TISSUES.

Age peculiarities of the calorie-restricted diet effects on the contents biologically active sphingo- and glycerolipids were studied in the heart, liver and brain of 3- and 24-month-old rats. Rats were either kept on the ad libitum diet or on a calorie restricted diet (70-80% reduction in total calories) without reduction in essential nutrients. It has been determined that calorie restricted diet decreased the ceramide, sphingomyelin, cardiolipin and phosphatidic acid levels in the all investigated tissues of the rats. At the same time, calorie restriction diet prevented the age-induced ceramide and phosphatidic acid accumulation, ceramide/sphingomyelin ratio elevation, and sphingomyelin and cardiolipin content decrease in the tissues of 24-month-old rats. In addition, tissue specificity of calorie-restricted diet effects has been determined. The Elevated levels of cardiolipin and phosphatidic acid were determined in the heart and liver of 24 months-old rats under calorie-restricted diet, in comparison to control animals, whereas in the brain the calorie restriction diet had the opposite effects. These results suggest that calorie-restricted diet may prevent the development of age-associated pathologies due to the modulation of biologically active lipid turnover in the old tissues.

Keywords: aging; calorie restricted diet; ceramide; sphingomyelin; cardiolipin; phosphatidic acid.

Research Institute of Biology of the V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

REFERENCES

1. Hannun YA, Obeid LM. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9(2):139-50.
2. Tirodkar TS, Voelkel-Johnson C. Sphingolipids in apoptosis. *Exp Oncol.* 2012; 34(3):231-42.
3. Babenko NA, Kharchenko VS. Ceramides inhibit phospholipase D-dependent insulin signaling in liver cells of old rats. *Biochemistry (Moscow).* 2012; 77(2):180-6.
4. Babenko NA, Shakhova EG. Effects of Chamomilla recutita flavonoids on age-related liver sphingolipid turnover in rats. *Exp Gerontol.* 2006; 41(1):32-39.
5. Babenko NA, Shakhova EG. Long-term food restriction

- prevents aging-associated sphingolipid turnover dysregulation in the brain. *Arch Gerontol Geriatr.* 2014; 58(3):420-6.
6. Stiban J, Caputo L, Colombini M. Ceramide synthesis in the endoplasmic reticulum can permeabilize mitochondria to proapoptotic proteins. *J Lipid Res.* 2008; 49:625-34.
7. Xu FY, Kelly SL, Hatch GM. N-Acetylsphingosine stimulates phosphatidylglycerolphosphate synthase activity in H9c2 cardiac cells. *Biochem J.* 1999; 337:483-90.
8. Chicco AJ, Sparagna GC. Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007; 292:C33-C44.
9. Claypool SM. Cardiolipin, a critical determinant of mitochondrial carrier protein assembly and function. *Biochim Biophys Acta.* 2009; 1788:2059-68.
10. Akbar M, Calderon F, Wen Z, Kim HY. Docosahexaenoic acid: A positive modulator of Akt signaling in neuronal survival. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2005; 102(31):10858-63.
11. Babenko NA, Nikitin VN. Age peculiarities of the periodical calory-insufficient nutrition influence on the lipid composition of liver, small intestine, adipose tissue cells and blood serum in white rats. *Fiziol Zh.* 1990; 36(1):60-5. [Russian].
12. Omodei D, Fontana L. Calorie restriction and prevention of age-associated chronic disease. *FEBS letters.* 2011; 585(11):1537-42.
13. Nikitin VN. 1984. Experimental approaches toprolongation of life. In NM Emanuel, TL Nadzharyan (Eds.). *Itogi Nauki Tekhniki. Common problems of biology.* Moscow: VINITI. P. 6-43. [Russian].
14. Niemann B, Chen Y, Issa H, Silber RE, Rohrbach S. Caloric restriction delays cardiac ageing in rats: role of mitochondria. *Cardiovasc Res.* 2010; 88(2):267-76.
15. Pamplona R, Barja G. Mitochondrial oxidative stress, aging and caloric restriction: The protein and methionine connection. *Biochem Biophys Acta.* 2006; 1757:496-508.
16. Hernandez-Corbacho MJ, Jenkins RW, Clarke CJ, Hannun YA, Obeid LM, Snider AJ, Siskind LJ. Accumulation of long-chain glycosphingolipids during aging is prevented by caloric restriction. *PLoS One.* 2011; 6(6):e20411.
17. Babenko NA, Shakhova EG. Effects of a calorie-restricted diet on the content of phospholipids in the brain and cognitive functions in rats. *Neurophysiology.* 2012; 44(3):201-7.
18. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37(8):911-7.
19. Bartlett GR. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem.* 1959; 234:466-8.
20. Lowry ON, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193:265-75.
21. English D, Cui Y, Siddiqui RA. Messenger functions of phosphatidic acid. *Chem Phys Lipids.* 1996; 80(1-2):117-132.
22. Babenko NA, Basanets LM, Ezhova OA. Age peculiarities of changes in lung, heart and brain lipids of albino rats under the effect of dietary factors. *Fiziol Zh.* 1990; 36(6):59-63. [Russian].

Матеріал надійшов до редакції 30.03.2015