КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
Інститут високих технологій

Завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики
доц. Олексій Юрійович Нипорко
Протокол №____засідання кафедри
від “____”_____2021 р.

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД ФРОНТАЛЬНОЇ КОРИ ТА ГІПОКАМПУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ СТАРІННІ

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра
денної форми навчання
за спеціальністю 091 «Біологія»
Романенко Катерини Сергіївни

Науковий керівник від кафедри
д.б.н. **Цимбалюк О. В.**

Робота виконана на базі відділу біохімії ліпідів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
під керівництвом ст. н. с. відділу біохімії ліпідів,
к.б.н. Горідько Т. М.

Оцінка захисту роботи
_____

Київ – 2021 р.

АНОТАЦІЯ

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра: 67 сторінок, 11 рисунків, 6 таблиць, 161 джерело.

Об'єкт досліджень – геропротекторна дія N-стеароїлетаноламіну.

Мета роботи –дослідити вплив NSE на ліпідом гіпокампу та фронтальної кори головного мозку щурів при старінні.

Методи дослідження – експериментальні моделі на тваринах, біохімічні, спектрофотометричні, тонкошарова хроматографія, газорідинна хроматографія, поведінкові тести у тварин, статистичні.

Дослідження проводились на білих безпородних щурах самцях (n=20). Тварин утримули в умовах віварію на стандартному раціоні до досягнення ними віку 18 місяців. Контрольну групу складали молоді щурі самці віком 4 місяці (n=10). Далі щурів тестували у поведінкових тестах «Розпізнавання нового об'єкту» та «Відкрите поле» з метою оцінки в них стану пам'яті та когнітивних фукцій. Далі групу старих щурів було розділено на дві групи по 10 тварин в кожній, одній з яких щоденно протягом 10 днів вводили per os водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла, інша група слугувала контролем за віком. По закіченню введення NSE тварин повторно тестували у поведінкових тестах. Для подальших біохімічних досліджень використовували фронтальну кору, гіпокамп головного мозку щурів, в яких визначали ліпідний склад тканин.

Виявили, що зміни фосфоліпідного складу фронтальної кори та гіпокампу головного мозку старих щурів, спричинені застосуванням NSE, носять адаптивно-відновлювальний характер. Екзогенний NSE у старих щурів спричиняє зростання вмісту плазмалогенних форм фосфоліпідів у фронтальній корі та гіпокампі головного мозку, що можна розглядати як один з механізмів нейропротекторної дії NSE при старінні. Встановили, що NSE сприяє зменшенню вмісту насичених вільних жирних кислот, нормалізації вмісту ненасичених вільних жирних кислот за рахунок зростання моно- та поліенових вільних жирних кислот. Введення старим щурам NSE сприяє відновленню вмісту вільного холестеролу в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку. За результатми поведінокового тесту «розпізнавання нового об'єкту» встановили, що застосування NSE сприяє відновленню короткострокової пам'яті у старих щурів.

Отримані результати розширюють уявлення про механізми біологічної дії N-стеароїлетаноламіну за старіння у ссавців та створюють підгрунтя для створення на його основі лікарського засобу для профілактики та лікування захворювань, що супроводжують процес старіння.

Ключові слова: N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІН (NSE), СТАРІННЯ, ФОСФОЛІПІДИ, ХОЛЕСТЕРОЛ, ЖИРНІ КИСЛОТИ, ПЛАЗМАЛОГЕНИ, КОРОТКОСТРОКОВА ПАМ'ЯТЬ, КОГНІТИВНІ ФУНКЦІЇ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

NAE – N-ацилетаноламіни;

NSE – N-стеароїлетаноламін;

PC – фосфатидилхолін;

PE – фосфатидилетаноламін;

LPE – лізофосфатидилетаноламін;

DPG – дифосфатидилгліцерол;

SM – сфінгомієлін;

PI – фосфатидилінозитол;

PS – фосфатидилсерин;

LPC – лізофосфатидилхолін;

ФЛ – фосфоліпіди;

ЗХ – загальний холестерол;

PPAR – рецептори (α, β/δ, γ), що активуються проліфератором перок-сисом;

FAAH – амідогідролаза жирних кислот;

CB – канабіноїдні рецептори.

ФКГМ – фронтальна кора головного мозку

ГКМ – гіпокамп головного мозку

ЖК – жирні кислоти

ПФ – плазмалогенні форми фосфоліпідів

ДФ – диацильні форми фосфоліпідів

ХА – хвороба Альцгеймера

АФК – активні форми кисню

CR – обмеження калорій (caloric restriction)

мтДНК – мітохондріальна ДНК

ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти

ЗМІСТ

ВСТУП……... 5

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ……... 8

1.1 Старіння…… 8

1.1.1 Здорове старіння мозку…… 9

1.1.2 Когнітивний спад в старінні населення…… 10

1.1.3 Вікові зміни в мозку, що призводять до нейродегенеративних захворювань……... 12

1.2 Ліпіди (класифікація та функції), фосфоліпіди, плазмалогени. 12

1.2.1 Роль ліпідів в метаболічних змінах, пов'язаних зі старінням…….. 15

1.2.2 Зміни в ліпідному складі різних частин мозку людини протягом…… 18

1.2.3 Плазмалогенні форми фосфоліпідів…….. 22

1.3 N-ацилетаноламіни (NAE)……. 26

1.3.1 Перші згадки про N-ацилетаноламін…… 27

1.3.2 Утворення N-ацилетаноламінів……. 28

1.3.3 Функції та властивості N-ацилетаноламінів……... 31

1.4 N-стеароїлетаноламін (NSE)…….. 34

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ…….. 37

2.1 Експериментальна модель……... 37

2.2 Екстракція ліпідів……... 37

2.3 Кількісне визначення індивідуальних фосфоліпідів…… 38

2.4 Визначення діацильної та плазмалогенної форм фосфоліпідів. 38

2.5 Визначення жирнокислотного складу……. 39

2.6 Визначення вмісту холестеролу……... 39

2.7 Тест «Розпізнавання нового об'єкту»……. 40

2.8 Статистичний аналіз…….. 42

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ……... 43

3.1 Вплив NSE на вміст діацильної та плазмалогенної форм фосфоліпідів у гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів при старінні…….. 43

3.2 Вплив NSE на жирнокислотний склад гіпокампу та фронтальної кори головного мозку щурів при старінні……... 49

3.3 Вплив NSE на вміст холестеролу в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів при старінні……... 51

3.4 Вплив NSE на поведінкові реакції щурів в тесті «Розпізнавання нового об'єкту» при старінні……. 53

ВИСНОВКИ……. 54

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ…… 55

ВСТУП

Старіння - це універсальний біологічний процес, що характеризується прогресивним погіршенням структури і функціонального стану тканин та органів, що супроводжується розвитком хронічного низькоградієнтного запального стану, який отримав назву «inflammaging» і є передумовою виникнення так званої множинної захворюваності, тобто сукупності різноманітних хронічних захворювань, зокрема, метаболічних , онкологічних, аутоімунних, нейродегенеративних, тощо [1], що, зрештою, призводить до летальних наслідків для організму.

Старіння мозку є невід'ємною складовою біологічного старіння організму і частіше за все супроводжується розвитком нейродегенеративних захворювань (хвороби Альцгеймера, Ґантінгтона, Паркінсона, тощо), а, відтак, становить найбільш актуальну медичну та соціальну проблему сьогодення.

У фокусі уваги дослідників, які вивчають причини виникнення та механізми розвитку старіння, протягом останніх років опинились ліпіди, роль яких у процесах старіння тривалий час зводилась до джерела вільнорадикальних сполук за умов посилення процесів пероксидного окиснення. Сьогодні ж ліпіди виступають в ролі важливих регуляторів різноманітних біологічних процесів, як то диференціація, апоптоз, трансмембранний трафік і, зрештою, є головними регуляторами рідинності біологічних мембран [2]. Тканина мозку є найбільш збагаченою ліпідними сполуками серед всіх тканин організму, що вказує на важливу роль ліпідів у забезпеченні структурних особливостей цього органу та регуляції його роботи. Зміни ліпідного складу посідають важливе місце і в механізмах старіння мозку. В літературі описано, що після 50 років у мозку людини спостерігається зменшення вмісту більшості ліпідних класів [3], особливо значущих змін зазнає рівень холестеролу та фосфоліпідів [4, 5].

Виявлено суттєве зниження вмісту фосфоліпідів (до 20%) у структурах головного мозку людини, які відповідають за формування когнітивної функції та пам’яті (префронтальна кора, гіпокамп) [6]. З віком, істотні зміни відбуваються й в жирнокислотному складі тканин мозку , зокрема відмічено стійке зниження вмісту поліненасичених жирних кислот, що вказує на залучення останніх у процесах пероксидного окиснення [7]. Особливого значення набувають зменшення вмісту ліпідів у складі ліпідних рафтів, що створює передумови для розвитку нейродегенеративних процесів, порушення когнітивної функції та формування патологічних станів [8].

Ендоканабіноїдна система відіграє важливу роль в регуляції процесів пам’яті та навчання, а також у формуванні емоцій [9]. До складу ендоканабіноїдної системи входить клас мінорних ліпідів – N-ацилетаноламіни (NAE). Нині відомо, що NAE притаманні адаптогенні, мембранопротекторні, антиоксидантні, імуномодулюючі, протизапальні, антиалергічні, антитоксичні та інші властивості. NAE також проявляють анксіолітичну, знеболювальну, антидепресантну дію, беруть участь у регуляції сну, апетиту, проникності гематоенцефалічного бар’єру [10], Встановлено, що інгібування гідролізу ендоканнабіноїдів сприяє збереженню цілісності гематоенцефалічного бар’єру та запобігає розвитку неврологічних та поведінкових порушень у щурів [10]. До покращення пам'яті та здатності до навчання приводить застосування інгібіторів амідогідролази жирних кислот (FAAH), причому, інгібітори FAAH сприяють формуванню пам’ятного сліду через активацію PPARα та CB1-рецепторів [11,12]. Відомо, що насичені представники класу NAE здатні впливати на активність та експресію FAAH [13,14], а також є високоафінними лігандами PPARα [15], що вказує на можливість їх участі у процесах формування пам’яті. Так, в дослідженнях на мишах виявлено, що насичений представник класу NAE – N-стеароїлетаноламін (NSE) зменшує проникність гематоенцефалічного бар’єру та покращує пам'ять тварин, яким вводили ліпополісахарид або імунізували позаклітинним доменом α7 нікотинових ацетилхолінових рецепторів [16]. Нещодавно було показано, що NSE за умов

введення його щурам до індукції скополамініндукованих когнітивних порушень запобігає розвитку порушення пам’яті в тварин [17].

З огляду на вище викладене, актуальним є дослідження можливого протекторного впливу NSE на ліпідний склад префронтальної кори та гіпокампу головного мозку щурів та на стан епізодичної памяті при старінні.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Дослідити вплив NSE на вміст діацильної та плазмалогенної форм фосфоліпідів у гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів при старінні.

2. Дослідити вплив NSE на жирнокислотний склад гіпокампу та фронтальної кори головного мозку щурів при старінні.

3. Дослідити вплив NSE на вміст холестеролу в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів при старінні.

4. Дослідити вплив NSE на поведінкові реакції щурів в тесті «Розпізнавання нового об’єкту» при старінні.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Старіння

Старіння людей – це фізіологічний та динамічний процес, що триває з часом. Відповідно до тверджень більшості геронтологів, він починається з четвертого десятиліття життя і призводить до смерті. Процес старіння людини складний та індивідуалізований, відбувається в біологічній, психологічній та соціальній сфері. Біологічне старіння характеризується прогресивними віковими змінами в обміні речовин та фізико-хімічними властивостями клітин, що призводить до порушення саморегуляції, регенерації, а також до структурних та функціональних змін в тканинах та органах. Це природний і незворотний процес, який може протікати як успішне старіння, типове або патологічне. Біологічні зміни, що відбуваються з віком в організмі людини, впливають на настрій, ставлення до навколишнього середовища, фізичний стан та соціальну активність і визначають місце людей похилого віку в сім'ї та суспільстві. Психічне старіння стосується обізнаності людини та її пристосованості до процесів старіння. Серед пристосувальних установок ми можемо розрізнити: конструктивне, залежне, вороже по відношенню до інших і до себе ставлення. Із прогресуванням віку труднощі з адаптацією до нової ситуації зростають, відбуваються несприятливі зміни в когнітивній та інтелектуальній сфері, інволюціонує процес сприйняття, сприйняття відчуттів та отриманої інформації знижується, а процеси мислення змінюються. Соціальне старіння обмежується роллю старої людини, яка обумовлена культурою і може змінюватися зі зміною звичаїв. Дане старіння означає, як людина сприймає процес старіння і як його бачить суспільство [18].

1.1.1 Здорове старіння мозку

Якщо запитати групу 85-річних людей, що вільно живуть в співтоваристві, як вони сприймають своє здоров'я, то 45% з них оцінять своє «здоров'я» як хороше чи відмінне, в той час як об'єктивні фізичні, психологічні здібності і соціальні показники, вказуватимуть, що більшість з них мають значні проблеми зі здоров’ям, які можна прирівняти до інвалідності, і тільки близько 10% людей похилого віку знаходяться в оптимальному стані функціонування [19]. Термін «здорове старіння» серед лікарів зазвичай передбачає умовну відсутність захворювань.

Тобто береться певний еталон здоров’я людини похилого віку відносно здоров’я молодої дорослої людини в перші репродуктивні роки життя. Грубо кажучи, здорове старіння мозку – це процес старіння мозку в молодості при відсутності хвороб. При визначенні стану здоров’я відштовхуються від того, що можна вважати оптимальним у даний вік, в залежності від уявлень про функціональні здібності в цьому віці.

Старіння супроводжується зниженням когнітивних здібностей у значної частини населення і є основним фактором ризику хвороби Альцгеймера та інших поширених нейродегенеративних розладів [20]. При обстеженні когнітивних функцій вікового спектру середні бали найстарших груп ніколи не бувають краще, ніж у молодших груп майже за всіма психометричними тестами. Це становить основу класичного підходу до оцінки психометричних тестів з поправкою на вік. Наприклад, очікується, що 89-річна людина виконає лише 50% того, що 20-річна людина зробить в субтестах Векслера [21]. Здорові літні люди – це ті, в яких немає поширених вікових захворювань. В даний час це не рідкісний стан в віці 65 років, але у віці 85 років і старше ці люди можуть складати менше 2% всіх літніх людей [22]. Ці рідкісні, макси-

мально здорові люди похилого віку є золотим стандартом для свого віку. Вони являють собою еталон здорового функціонування мозку при старінні.

Не існує дуже старого мозку, який був би схожий на мозок 20-річного віку. Більш того, є дуже передбачувані зміни по десятиліттю, які характеризують весь старіючий мозок, починаючи з молодого мозку дорослої людини: (1) втрата обсягу мозку (більше білої речовини, ніж сірої), особливо в гіпокампі і лобових частках; (2) втрата мієліну; (3) втрата синапсів і дендритних гілок; (4) зміни цитоскелету, включаючи накопичення нейрофібрилярних клубків і відкладення амілоїдів в головному мозку і кровоносних судинах. З віком в будь-якому мозку будуть накопичуватися інфаркти різних розмірів. Ці зміни балансу здаються швидше питанням ступеня, ніж істинною диференціацією старіючого мозку від пацієнтів з найбільш поширеним віковим захворюваннями мозку – цереброваскулярною хворобою Альцгеймера [23].

Виникнення загальних захворювань, пов'язаних зі старінням мозку, і особливо нейродегенеративних захворювань, стає питанням швидкості змін в мозку людини з віком.

1.1.2 Когнітивний спад в старінні населення

Поперечні дослідження показують, що відстрочене згадування вербальної інформації значно знижується в нормально старіючій популяції людей [24]. Крім того, робоча пам'ять і короткочасне пам'ять, а також швидкість обробки інформації поступово знижуються протягом усього дорослого життя [25]. Ще одна особливість вікової втрати пам'яті це зниження просторової пам'яті, зареєстрована у літніх людей, мавп, собак і мишей. Довготривала пам'ять про історію життя та імпліцитна пам'ять, несвідома реакція на раніше отриману інформацію, добре зберігаються в процесі нормального старіння. Інші стійкі до віку показники когнітивної функції включають концентрацію уваги, словниковий запас і вербальні знання. Деякі когнітивні процеси можуть змінюватися або поліпшуватися з віком. Наприклад, емоційні компо-

ненти спогадів можуть отримувати більший акцент у літніх людей, ніж у молодих людей [26]. Емоційна стабільність може поліпшуватися з віком, особливо після 65 років, можливо, в результаті зміни фізіологічних реакцій медіальної префронтальної кори [27].

Дослідження функціональної магнітно-резонансної та позитронно-емісійної томографій показують, що вікові зміни пам'яті можуть бути пов'язані зі зміненою функціональною активацією префронтальної кори і гіпокампу. Коли перед ними ставиться завдання, що включає виконавчу функцію, області префронтальної кори, що активуються у молодих людей, зазвичай демонструють знижену активацію у літніх людей [28,29]. Крім того, люди похилого віку часто демонструють більш широку область активованої префронтальної кори і, на відміну від молодих людей, також активують контралатеральну півкулю – явище, відоме як втрата асиметрії півкуль. Це може являти собою нормальну компенсаторну реакцію старіючого мозку, яка втрачається через легкі когнітивні порушення і хворобу Альцгеймера (ХА) [30]. Активація гіпокампу також знижується, коли здорові люди похилого віку виконують завдання, пов'язані з пам'яттю. Зубчаста звивина гіпокампа найбільш схильна до старіння [31].

Нормальна вікова втрата пам'яті відрізняється від патологічної втрати пам'яті як ступенем порушення, так і швидкістю когнітивного зниження. Структурним корелятом патологічної втрати пам'яті є втрата обсягу в медіальних скроневих частках, особливо в енторинальній корі головного мозку. Ця втрата обсягу може з'явитися на самих ранніх стадіях легкого когнітивного порушення, прогресуючого до важкої атрофії при ХА, але, зазвичай, не спостерігається у людей нормального віку. На відміну від цього, втрата обсягу в префронтальної корі головного мозку може виникнути у «здорових» людей похилого віку. Таким чином, з'являється все більше доказів того, що змінена активація мозку при функціональній візуалізації і поява ранніх патологічних змін в структурах медіальних скроневих часток можуть відрізняти деменцію, що зароджується, від нормального старіння [32].

1.1.3 Вікові зміни в мозку, що призводять до нейродегенеративних захворювань

Консервативний набір біологічних систем, що беруть участь в синаптичній функції, мітохондріальному енергетичному метаболізмі та стресостійкості, змінюється в старіючому мозку. Підмножина пов'язаних з віком змін транскрипції може бути викликана пошкодженням ДНК і геномної нестабільністю, встановленим етіологічним фактором при онкологічних захворюваннях і синдромах прискореного старіння. Також з'являється все більше доказів ролі мітохондріальної дисфункції як джерела окисного стресу і дисфункції нейронів в старіючому мозку [33].

Отже, ядерна та мітохондріальна дисфункція може узгоджено змінювати системну біологію мозку, призводячи до спектру вікових когнітивних змін. Центральним питанням є ставлення нормального до патологічного старіння і механізми, що лежать в основі цього переходу. Ризик ХА збільшується в 14 разів у віці 65-85 років, вражаючи до 47% людей старше 85 років [34].

Отже, початок ХА тісно пов'язаний з процесом старіння. Більш того, нормальні вікові зміни, ймовірно, збільшуються при ХА на декількох рівнях, включаючи поширення бляшок і патологію клубочків, зміни в експресії генів і перебільшені вікові зміни аутофагії, мітохондріальної функції і транспортування білків. Хворобу Альцгеймера, лобно-скроневу деменцію та хворобу Паркінсона відрізняє від нормального старіння – крайня ступінь втрати нейронів, яка мінімальна в більшості областей мозку при нормальному старінні [35].

1.2 Ліпіди (класифікація та функції), фосфоліпіди, плазмалогени

Ліпіди – велика група речовин біологічного походження, добре розчинних в органічних розчинниках, таких, як метанол, ацетон, хлороформ і бен-

зол. У той же час ці речовини нерозчинні або мало розчинні у воді. Слабка розчинність пов'язана з недостатнім вмістом в молекулах ліпідів атомів з електронною оболонкою, що поляризується, таких, як O, N, S або P [36].

Ліпіди мають величезне значення для живих організмів. За хімічною структурою всі ліпіди діляться на прості і складні. Молекула простих ліпідів складається зі спирту та жовчних кислот, в той час як до складу складних ліпідів входять і інші атоми або з'єднання. Загалом ліпіди мають величезне значення для людини. Ці речовини входять в значну частину продуктів харчування, використовуються в медицині і фармації, грають важливу роль в багатьох галузях промисловості. В живому організмі ліпіди в тому чи іншому вигляді входять до складу всіх клітин. З точки зору харчування – це дуже важливе джерело енергії.

Ліпіди входять до складу практично всіх тканин організму. Їх молекули є в будь-якій живій клітині, і без цих речовин просто неможливе життя. В організмі людини зустрічається дуже багато різних ліпідів. Кожен вид або клас цих з'єднань має свої функції. Від нормального надходження і утворення ліпідів залежить безліч біологічних процесів.

З точки зору біохімії, ліпіди беруть участь в наступних важливих процесах: вироблення організмом енергії; поділ клітин; передача нервових імпульсів; творення компонентів крові, гормонів та інших важливих речовин; захист і фіксація деяких внутрішніх органів; клітинний розподіл, дихання та ін.

Таким чином, ліпіди є життєво важливими хімічними сполуками. Значна частина цих речовин надходить в організм з їжею. Після цього структурні компоненти ліпідів засвоюються організмом, і клітини виробляють нові молекули ліпідів.

Ліпіди є дуже важливою складовою частиною нервових клітин не тільки в головному мозку, а й у всій нервовій системі. Як відомо, нервові клітини контролюють різні процеси в організмі шляхом передачі нервових імпульсів. При цьому всі нервові шляхи "ізольовані" один від одного, щоб імпульс доходив до певних клітин і не чіпляв інших нервових шляхів. Така «ізоляція»

можлива завдяки мієліновій оболонці нервових клітин. Мієлін, що перешкоджає хаотичному поширенню імпульсів, приблизно на 75% складається з ліпідів. Як і в клітинних мембранах, тут вони утворюють подвійний шар (бішар), який кілька разів обгорнутий навколо нервової клітини. До складу мієлінової оболонки в нервовій системі входять наступні ліпіди: фосфоліпіди; холестерин; галактоліпіди; гліколіпіди. При деяких вроджених порушеннях утворення ліпідів можливі неврологічні проблеми. Це пояснюється саме витонченням або перериванням мієлінової оболонки [37].

Існує кілька класифікацій ліпідів. Найбільшого поширення набула класифікація, заснована на структурних особливостях ліпідів. Згідно з цією класифікацією розрізняють такі основні класи ліпідів:

❖ Прості ліпіди: складні ефіри жирних кислот з різними спиртами.

1. Гліцериди (ацилгліцерини, або ацилгліцероли - по міжнародній номенклатурі) представляють собою складні ефіри трьохатомного спирту гліцерину і вищих жирних кислот.

2. Воски: складні ефіри вищих жирних кислот і одноатомних або двоатомних спиртів.

❖ Складні ліпіди: складні ефіри жирних кислот зі спиртами, додатково містять також інші групи.

1. Фосфоліпіди: ліпіди, що містять, крім жирних кислот і спирту, залишок фосфорної кислоти. До їх складу часто входять азотисті основи та інші компоненти:

   a) гліцерофосфоліпіди (в ролі спирту виступає гліцерин);

   b) сфінголіпіди (в ролі спирту – сфінгозин).

2. Гліколіпіди (глікосфінголіпіди).

3. Стероїди.

4. Інші складні ліпіди: сульфоліпіди, аміноліпіди. До цього класу можна віднести і ліпопротеїни.

❖ Попередники і похідні ліпідів: жирні кислоти, гліцерол, стероли та інші спирти (крім гліцерину і стеролів), альдегіди жирних кислот, вуглеводні, жиророзчинні вітаміни і гормони [38].

У мембранах містяться ліпіди трьох класів: фосфоліпіди, холестерол і гліколіпіди. Група фосфоліпідів забезпечує текучі і пластичні властивості мембран клітин і клітинних органел та включає гліцерофосфоліпіди (фосфатидилхолін (лецитин), фосфатидилетаноламіни (кефалін), фосфатидилсерин, кардіоліпін, плазмалоген (етаноламіновий плазмологен)); фосфосфінголіпіди (сфінгомієліни), фосфоінозитиди (фосфатидилінозитол). Холестерол присутній у внутрішньоклітинних мембранах клітин тварин (за винятком внутрішньої мембрани мітохондрій) забезпечує жорсткість і стабільність мембран. Гліколіпіди входять до складу багатьох мембран (наприклад, у зовнішній шар плазматичних мембран). До складу гліколіпідів входять вуглеводневі функціональні групи [36].

Плазмалогени – альдегідогенні ліпіди, фосфоліпіди, біосинтез яких відбувається в результаті дегідрування алкілацилфосфоліпідів. Плазмалогени широко поширені в природі, зустрічаються у всіх клітинах тварин (іноді складають до 22% по масі від загального вмісту фосфоліпідів) і в окремих видах рослин. Синтез плазмалогенів здійснюється в печінці, а в кров вони надходять у вигляді ліпопротеїдних комплексів. Плазмалогени беруть участь у клітинному обміні поліненасичених жирних кислот, в першу чергу арахідонової, виконуючи функції проміжного депо, через які кислоти транспортуються до мембранних діацилфосфоліпідів. Передбачається, що плазмалогени захищають ліпопротеїди від окислення.

Плазмалогени – це ліпіди, в яких перший вуглецевий атом гліцерину пов'язаний не з жирною кислотою, а зі спиртом. Два перші етапи синтезу плазмалогенів каталізуються пероксисомними ферментами – дигідроацетонфосфаталкілтрансферазою і синтазою [39].

1.2.1 Роль ліпідів в метаболічних змінах, пов'язаних зі старінням

Жир історично асоціюється з поганим здоров'ям та ожирінням. Однак, постійне використання ліпідоміки і генетичних досліджень на модельних організмах показало, що певні ліпідні профілі і сигнали можуть уповільнювати старіння. Щоб ідентифікувати і кількісно визначити види ліпідів, дослідники використовують переваги останніх досягнень в області ліпідоміки, які в основному виконуються за допомогою мас-спектрометрії та інших методів, таких як ЯМР-спектроскопія і хроматографічне розділення [40].

Мітохондрії є основним джерелом активних форм кисню (АФК), тому вони особливо чутливі до пошкодження АФК мтДНК, мембранних ліпідів (перекисне окислення) і білків дихального ланцюга. Наприклад, рівні кардіоліпіну в мітохондріальної мембрани незбалансовані в старіючих клітинах людини [41], що викликає нестабільність геному і зміни в передачі сигналів стресової відповіді [42]. Таке пошкодження генома призводить до перевиробництва АФК і в подальшому призводить до дисфункції мітохондрій, пошкодження тканин і загибелі клітин [43]. Крім того, існує тісний зв'язок між дисфункцією мітохондрій і змінами метаболізму під час старіння, такими як зниження рівня НАД+ у черв'яків [44], гризунів [45] і людей [46] частково через перевиробництво АФК і зміненого окисно-відновного стану мітохондрій.

Перекисне окислення ліпідів відбувається, коли жири, особливо поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), піддаються атаці АФК, і цей процес відіграє важливу роль в старінні клітин [47].

Примітно, що старіючі клітини характеризуються більш жорсткою мембраною [48]. Плинність мембран в головному мозку, печінці та серці у старіючих щурів знижується [49] через зміни ліпідного складу. Дійсно, мембранні сфінголіпіди можуть сприяти або проліферації клітин – коли вони перетворюються в сфінгозин-1-фосфатазу (SP1), або апоптозу, коли вони перетворюються в цераміди [50]. Дисбаланс осі SP1 / церамід пов'язаний зі старінням і віковими захворюваннями, такими як діабет, оскільки він показує

важливу роль в регуляції енергетичного балансу у гризунів [51]. Більш того, SP1 бере участь у безлічі клітинних сигнальних процесів, таких як перенесення імунних клітин. Таким чином, він причетний до запальних захворювань, таких як діабет, атеросклероз і рак [52].

Дослідження на людях і тваринах показують, що ліпідний склад і розподіл ліпідних рафтів змінюється в старих Т-лімфоцитах. Ліпідні рафти стають менш рідкими і динамічними, коли вміст холестеролу в старих Т-клітинах різко змінює сигнальні каскади активації Т-клітин [53].

Рівень накопичення жиру і тригліцеридів в плазмі також підвищується з віком, що збільшує ризик розвитку вікових станів, таких як діабет, серцево-судинні і метаболічні захворювання. Від дріжджів до приматів, при обмеженні калорійності харчування демонструється збільшення максимальної тривалості життя і зниження частоти виникнення вікових захворювань [54].

CR затримує зворотнє метилювання ДНК у ссавців, включаючи приматів [55], впливаючи на залучені гени в метаболізмі ліпідів, і, в кінцевому рахунку, призводить до більш високого рівня ліполізу та більш короткій довжині ланцюга жирних кислот [56]. Крім того, ліпідний гомеостаз є фундаментальним для регулювання аутофагій, оскільки делеція залучених ферментів, відповідальних за тригліцериди (ТГ) та ефіри стеролу, повністю блокує спричинену голодуванням аутофагію в дріжджових клітинах. Тож, ліпіди відіграють важливу роль не тільки в регуляції генів, пов’язаних з аутофагією, але й на рівні мембранних компонентів[54].

Висока плинність і низька переокисленість мембран є оптимальними умовами для збільшення тривалості життя [57]. Окислені ліпіди здатні пошкодити інші макромолекули або утворювати продукти, оскільки вони є радикалами [58]. Отримані в результаті окислення продукти є мутагенними та канцерогенними, тому вони можуть сприяти виникненню зворотніх захворювань та старінню [59].

Відомо, що сприйнятливість індивідуальних ЖК до перекисного окислення експоненціально зростає зі збільшенням числа подвійних зв’язків в ву-

глецевих ланцюгах. Це дозволяє розрахувати значення, що називається індексом перекисного оксилення. Було виявлено, що надзвичайна тривалість життя Arctica islandica (максимальна зареєстрована тривалість життя = 507 років) пов'язана з підвищеною стійкістю до перекисного оксилення [60]. Збільшення тривалості життя в першу чергу є результатом зниження перекисного оксилення ліпідів у мітохондріальному середовищі [54].

Збільшення кількості специфічних видів фосфатидилхоліну та сфінгомієліну, пов'язаних з ефіром, дозволяє зменшити ризик діабету 2-го типу і збільшити тривалість життя. Також було виявлено, що сироваткові рівні конкретних пов'язаних ефіром PC та молекул фосфатидилетаноламіну (PE) були нижче в старших людей, ніж у дітей. Знижена кількість видів пов'язаних з ефіром фосфоліпідів (PL) може бути ознакою старіння та пов'язаними з старінням захворюваннями [54].

В огляді [57] описано, шо підвищені рівні ендогенних трансжирних кислот пов'язані зі схильністю до виключного довголіття. Однак, як показали дослідження, показано лише те, що трансжирні кислоти знижують швидкість перекисного окислення ліпідів, ефект, який може пом’якшити атерогенний ефект цих жирних кислот [61].

Харчові ліпіди, ліпогенез de novo та сотні ферментів разом впливають на ліпідний профіль організму. Ферменти, які, як передбачається, беруть участь у ліпідному метаболізмі в цілях довголіття, модулюють довжину і десатурацію ланцюгів ЖК та їх включення в більш складні молекули ліпідів націлювання на такі ліпідні сигнальні шляхи за допомогою генетичних, фармакологічних або дієтичних засобів, вплине на тривалість життя і допоможе нам краще зрозуміти роль ліпідного метаболізму в процесах старіння [54].

1.2.2 Зміни в ліпідному складі різних частин мозку людини протягом життя

Якщо проаналізувати фосфоліпідний склад різних областей людського мозку (в період життя між 33 і 92 роками) з використанням матеріалу аутопсії, то можна побачити, що склад фосфоліпідів залишається незмінним при старінні. Загальний вміст фосфоліпідів у найстаршій віковій групі знижується тільки на 5-10%. Всі області людського мозку багаті холестеролом, але зміни кількості цього ліпіду сильно відрізняються під час старіння, від відсутності змін до зниження на 40%.[62].

Вміст ліпідів в мозку людини значно вище, ніж в інших органах. Експериментальні дані, отримані на різних тваринах і, в деякій мірі, також і на людях, демонструють, що зміни ліпідного складу мозку відбуваються під час народження і в ранній постнатальний період [63,64, 65]. Мієлінізація після народження – фактор, добре вивчений і має велике функціональне значення.

В дослідженнях, опублікованих в 1970-х роках, прийшли до висновку, що в перерахунку на масу вміст більшості досліджених ліпідів в мозку з віком знизився на 5-20%. Передбачається, що склад жирних кислот фосфоліпідів також змінюється [66,67]. Холестерол в значній мірі впливає на проникність, плинність і стабільність мембран, навіть коли концентрація цих ліпідів становить всього кілька відсотків від загальної кількості ліпідів [68,69, 70,71].

Загальний вміст фосфоліпідів в різних ділянках мозку (мозочок, міст, довгастий мозок, гіпокамп, хвостате ядро, сіра та біла речовини) варіював від 18 до 35 мг/г сирої ваги (Таблиця 1.1). У тих регіонах, де, як відомо, високий вміст мієліну (біла речовина, міст і довгастий мозок), вміст фосфоліпідів був найвищим. В інших проаналізованих ділянках мозку вміст фосфоліпідів становив близько 20 мг/г. Ці значення були стабільними протягом досліджуваного періоду життя, і значні зміни, як правило, відбувалися тільки в найстаршій групі, яка демонструвала зниження загального вмісту фосфоліпідів в головному мозку на 10-20%.

Таблиця 1.1

Вміст фосфоліпідів в різних відділах головного мозку[62]

Region	Content (mg/g wet weight)			
	33–36 yr (n = 7)	54–57 yr (n = 8)	69–72 yr (n = 8)	89–92 yr (n = 7)
Gray matter	18.2 ± 1.7	17.8 ± 1.2	17.4 ± 1.9	16.4 ± 1.6[a]
White matter	35.1 ± 2.3	34.7 ± 4.3	29.9 ± 4.2[a]	28.2 ± 3.4[a]
Nucleus caudatus	21.2 ± 1.6	20.8 ± 1.8	20.2 ± 2.7	18.4 ± 2.8[a]
Hippocampus	23.6 ± 1.8	20.5 ± 1.9[a]	18.5 ± 2.1[a]	17.2 ± 2.4[a]
Pons	32.3 ± 2.1	31.0 ± 2.6	28.2 ± 3.1[a]	26.6 ± 3.6[a]
Cerebellum	23.3 ± 3.3	22.3 ± 1.9	22.0 ± 1.6	20.2 ± 1.8
Medulla oblongata	34.5 ± 3.4	33.3 ± 4.7	32.9 ± 2.3	28.4 ± 1.6[a]

Окремі області, віддалені для аналізу ліпідів, досліджували гістологічно. Білу речовину у всіх аналізах брали з лобової частки. Загальний вміст фосфоліпідів в ліпідному екстракті показано в таблиці, і значення є середніми значеннями ± SD.

Значне зниження ($p < 0,05$) в порівнянні з молодшою віковою групою, з використанням t-критерію Стьюдента.

Двома найбільшими фосфоліпідними компонентами у всіх областях мозку були фосфатидилетаноламін (PE) і фосфатидилхолін (PC), за якими слідував сфінгомієлін, який був найбільш багатий білою речовиною (Рис. 1.1). Легко вимірювані, але відносно невеликі кількості фосфатидилсерина і фосфатидилінозитола також можуть бути виміряні в гомогенатах.

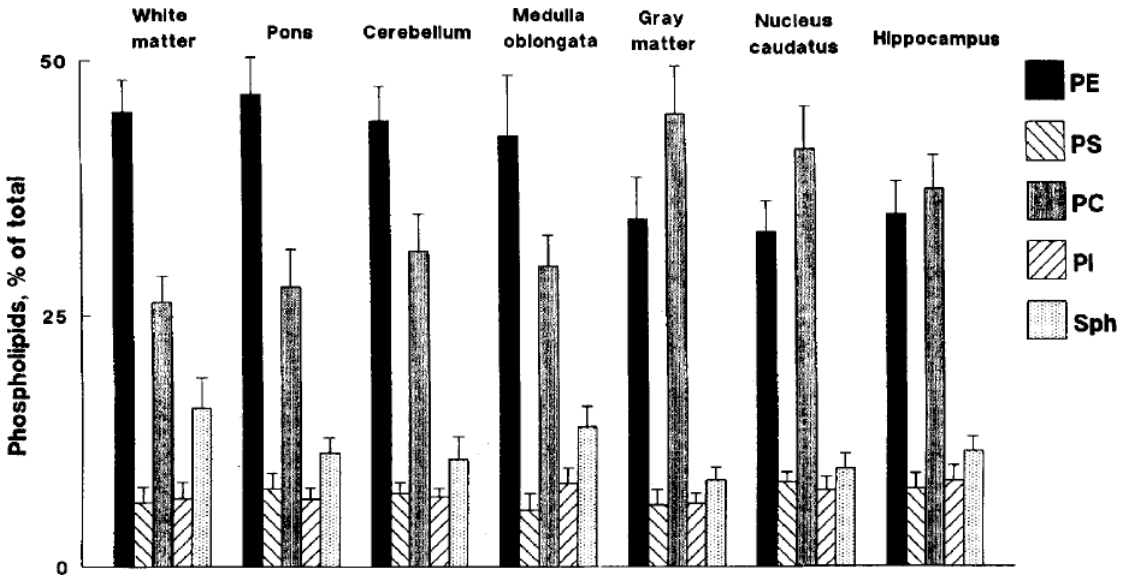


Рис. 1.1. Фосфоліпідний склад різних відділів головного мозку. У стовпчиках зліва направо представлені PE, фосфатидилсерин (PS), PC, фосфатидилінозитол (PI) і сфінгомієлін (Sph). Цей експеримент показує результати, отримані для групи 54-57 років. Значення є середніми з восьми експериментів. а вертикальні смуги ± SD [62].

Цікаво, що існує співвідношення PE / PC було характерно для окремих досліджених відділів мозку. Це співвідношення становило близько 1,7 для білої речовини і моста, 1,4 для мозочка і довгастого мозку, 0,8 для сірої речовини і хвостатого ядра, і близько до 1 в гіпокампі. Склад фосфоліпідів в різних відділах також було проаналізовано у всіх вікових групах, але в матеріалі не було виявлено значних змін.

Холестерол є основним компонентом ліпідів головного мозку (Таблиця 1.2). Кількість цього ліпіду варіювалося від 8 до 23 мг/г сирої ваги в різних відділах. Зміни, що спостерігаються з віком, були подібними по напрямку, але різними за розміром. Загалом зниження було помірним в середній період життя і більш значним в старшій віковій групі. Порівнюючи наймолодшу групу зі старшою, зниження вмісту холестеролу в хвостатому ядрі склало 40%; в гіпокампі і мості він був низьким або незначним; а інші тканини показали зміни між цими крайнощами [62].

Таблиця 1.2

Вміст холестеролу в різних відростках рубця[62].

Region	Content (mg/g wet weight)			
	33–36 yr (n = 7)	54–57 yr (n = 8)	69–72 yr (n = 8)	89–92 yr (n = 7)
Gray matter	10.2 ± 1.2	9.1 ± 0.9	8.6 ± 1.0[a]	7.7 ± 0.6[a]
White matter	22.4 ± 2.9	20.5 ± 4.7	18.6 ± 2.1[a]	16.4 ± 1.7[a]
Nucleus caudatus	10.9 ± 0.9	9.3 ± 1.2[a]	7.6 ± 0.9[a]	6.7 ± 0.5[a]
Hippocampus	8.1 ± 0.7	8.3 ± 1.0	7.9 ± 0.5	7.2 ± 0.8[a]
Pons	20.7 ± 2.9	21.3 ± 3.1	19.7 ± 2.0	20.1 ± 2.6
Cerebellum	17.5 ± 2.0	15.4 ± 1.1[a]	14.0 ± 1.6[a]	12.8 ± 1.3[a]
Medulla oblongata	17.8 ± 2.0	16.6 ± 1.4	15.4 ± 1.9[a]	14.0 ± 1.6[a]

Значення arc означають ± SD. Достовірна різниця (p <0,05) в порівнянні з молодшою віковою групою.

Холестерол є основним ліпідним компонентом мозку, і у всіх областях цього органу його вміст в помірному ступені знижується при старінні. Оскільки мієлін багатий цим ліпідом, певні ділянки мозку мають особливо високі концентрації холестеролу. Однак ступінь зменшення в процесі старіння в цих областях не більше, ніж в інших частинах мозку [62].

Фосфоліпіди регулюють структуру, проникність і ферментативну активність мембран [72], а холестерол збільшує стабільність мембран і знижує рухливість і проникність [73]. Очевидно, що підвищення та/або зниження рівнів цих ліпідів і їх похідних може впливати на властивості мембрани протилежним чином, і, отже, кінцевий результат важко передбачити. Точне вивчення змін кількості та природи конкретних ліпідів є важливим при аналізі процесу старіння, оскільки відомо, що деякі з описаних модифікацій ліпідів впливають не тільки на властивості мембран, але також на каталітичні та термодинамічні характеристики мембранозв'язаних ферментів [62].

1.2.3 Плазмалогенні форми фосфоліпідів

Плазмалогени – це унікальний клас фосфоліпідів, особливо отримані з фосфатидилхоліну (PC) або фосфатидилетаноламіну (PE), що містять вініловий ефірний фрагмент у sn-1 положенні каркасу гліцерину. Хоча відомі також фосфоліпіди плазмалогену інших класів фосфоліпідів, PC- та PE- плазмологени домінують у біологічних мембранах. Зазвичай фосфоліпіди плазмалогену (PL) етерифікуються вкрай ненасиченими жирними кислотами у вигляді докозагексаєноїлу або арахідоноїльної жирної кислоти у sn-2 положенні каркасу гліцерину, тоді як залишок у положенні sn-1 становить насичений або помірно ненасичений. Плазмалоген PL набув особливої актуальності при дослідженні захворювань з дуже низьким вмістом плазмологізму та відсутніми пероксисомами. Плазмалогени синтезуються в пероксисомах, а отже, низький вміст плазмогену при патологіях без пероксисом, може бути мотивованим. Таким патологічним захворюванням є синдром Зеллвегера, який характеризується відсутністю пероксисом, що спричиняє серйозні порушення [74].

Таблиця 1.3

Огляд вмісту плазмологенів (плазмологени фосфатидилетаноламіну та фосфатидилхоліну) у мозку різних видів (людина, щур, морська свинка, коала) [74]

	Human	**Rat**	**Guinea pig**
Phosphatidylethanolamine plasmalogen	20.2% [41]	22.4% [41]	21.1% [41]
Phosphatidylcholine plasmalogen	traces [41]	traces [41]	traces [41]

	Koala
Phosphatidylethanolamine plasmalogen	55% grey matter; 70 % white matter [42]
Phosphatidylcholine plasmalogen	negligible [42]

Плазмологену фосфатидилетаноламіну (PlsEtn) дуже багато в нервовій тканині, проте, його фізіологічна роль невідома. Дослідження мембранних препаратів in vitro вказують на те, що ефірний зв'язок плазмалогенів більш сприйнятливий до окислювального розщеплення, ніж ацил-гліцеринові фосфоліпіди, і припускають, що PlsEtn може мати здатність діяти як антиоксидант. Великий інтерес представляє можливість того, що PlsEtn має антиоксидантну здатність і може захистити мембрани від перекисного окислення ліпідів. [75].

Таблиця 1.4

Огляд розподілу клітин і тканин плазмалогенів у серці, мозку, плазмі, сперматозоїдах та запальних клітинах людини [74]

Tissues/cells	Human heart	Human brain
8-20% [23, 24]	32-50% [3, 25]	20-50% [3, 25]
Inflammatory cells	**Human Plasma**	**Human Spermatozoa**
Up to 50% [23,25]	5% [26]	55% [28, 29]

Плазмалогени накопичуються в тканинах при деяких патологічних станах, наприклад, при ішемії серцевого м'яза; їх вміст в плазмі крові зменшується при старінні.

Передбачувана функція плазмологенів як «поглиначів» активних форм кисню (АФК) у біологічних мембранах піддається висновку, що продукти окислення плазмологи, як α-гідроксиальдегіди та епоксиди плазмалогену, накопичуються при всіх хронічних захворюваннях, як атеросклероз та інфаркт міокарда, при старінні, а також як при хворобі Альцгеймера та інших невропатологічних станах [74]

Хоча деталі функцій плазмалогенів в ліпопротеїніах і клітинних мембранах ще недостатньо вивчені, в будь-якому випадку передбачається, що

вони відіграють вирішальну роль [76]. Плазмалогени є не тільки структурними компонентами мембрани і резервуаром для вторинних месенджерів ліпідів, вони також, як відомо, сприяють злиттю мембран, грають важливу роль під час диференціювання, беруть участь в перенесенні іонів, відтоку холестерину і зберігають довголанцюгові ПНЖК. Однак дія ендогенних антиоксидантів на захист клітинних мембран і ліпопротеїнів від активних форм кисню є спірною [76, 79].

Передбачається, що плазмалогени захищають клітини тварин від синглетного кисню та/або окислення, ініційованого радикалами, діючи як "поглиначі". Про захисну роль плазмалогенів в біологічних мембранах, що знаходяться під загрозою через процеси перекисного окислення ліпідів, свідчать дослідження клітин зі зниженим біосинтезом плазмалогенів [77].

Після народження і під час росту відбувається значне збільшення маси мозку, а вміст плазмалогенів більш ніж подвоюється в мозку, який розвивається [78,79].

Рівень плазмалогенів поступово знижується, починаючи з 30-річного віку в нормальному людському мозку в процесі старіння [80;81].. Дійсно, 80-річна людина досягає фактичного значення вмісту плазмалогена однорічної дитини. Інші дослідження також показують зниження концентрації плазмалогенів з віком [80, 82, 83]. Зменшення вмісту плазмалогенів в старіючому мозку пов'язане зі збільшенням співвідношення епоксиду плазмалогена і нативного плазмалогена, що передбачає потенційну роль перекисного окислення ліпідів [84].

Окислені продукти плазмалогенів, вільних альдегідів і α-гідроксиальдегідів накопичуються в 30 разів більш високих концентраціях в старому мозку, що вказує на підвищений обіг плазмалогенів, їх підвищений гідроліз і більш значний ступінь реакцій окиснення [85]. Проте, легкий стрес, що виникає при нормальному старінні, можна майже повністю перенести за рахунок активації систем антиоксидантного захисту, таких як токофероли і аскорбінова кислота, які здатні відновлювати окислювальний баланс [79].

Зв'язок вінілового ефіру і відповідні лізозв’язки плазмалогенів розглядаються як чутливі сурогатні маркери окисного стресу. Підвищені рівні альдегідів беруть участь у багатьох клітинних станах, деякі з яких потенційно токсичні. Окислення фосфоліпідів в біологічних мембранах пов'язано з різними захворюваннями людини, такими як атеросклероз, ішемія, канцерогенез і хвороба Альцгеймера. [74]. Зокрема, зниження рівня плазмалогенів фосфоліпідів в деяких тканинах при нормальному старінні і при деяких патологічних станах можна розглядати як зв’язок з окислювальним стресом. Плазмалогени у високому ступені позитивно корелюють з цілісністю ліпопротеїнів високої щільності і особливо аполіпопротеїна А1 і зазнають значного зниження (40%) при старінні, що може бути викликано зниженою функцією пероксисом в печінці [82].

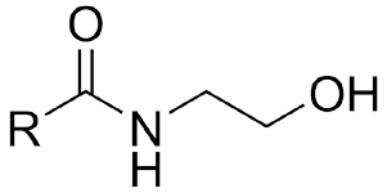
Плазмалогени лінійно корелюють з поширенням метастазів in vivo. Отже, вони можуть бути корисні для прогнозування найбільш часто спостережуваних видів раку у людини, особливо патологічних тканин грудей, легенів і передміхурової залози. Показово також значно підвищений вміст моноенових жирних ацильних залишків в плазмалогенній субфракції. Визначення співвідношення моноенові/насичені жирні ацили полегшує розрізнення нормальних тканин, доброякісних і неопластичних тканин з високою чутливістю, вказуючи на плазмалогени як на надійні біомаркери [86].

1.3 N-ацилетаноламіни (NAE)

N -acylethanolamine (NAE) – це тип аміду жирної кислоти, що утворюється, коли один з декількох типів ацильної групи пов'язаний з атомом азоту етаноламіну. Ці аміди теоретично можуть бути утворені з жирної кислоти і етаноламіну з вивільненням молекули води, але відомий біологічний синтез використовує специфічну фосфоліпазу D для відщеплення фосфоліпідної одиниці від N- ацилфосфатидилетаноламінов. [87] Інший шлях заснований на

переетерифікації ацильних груп із фосфатидилхоліну за рахунок активності N- ацилтрансферази (NAT).

Загальна хімічна структура N -ацилетаноламінів :



До прикладів N- ацилетаноламінів можна віднести [87] анандамід (AEA), N-пальмітоїлетаноламін (PEA), N-стеароїлетаноламін (SEA), N-олеїлетаноламін (OEA), N-докозагексоєнетаноламін (DHEA), N-ейкозопентаеноїлетаноламін (EPEA), N-гомо-гамма-ліноленоїлетаноламін (HGLEA).

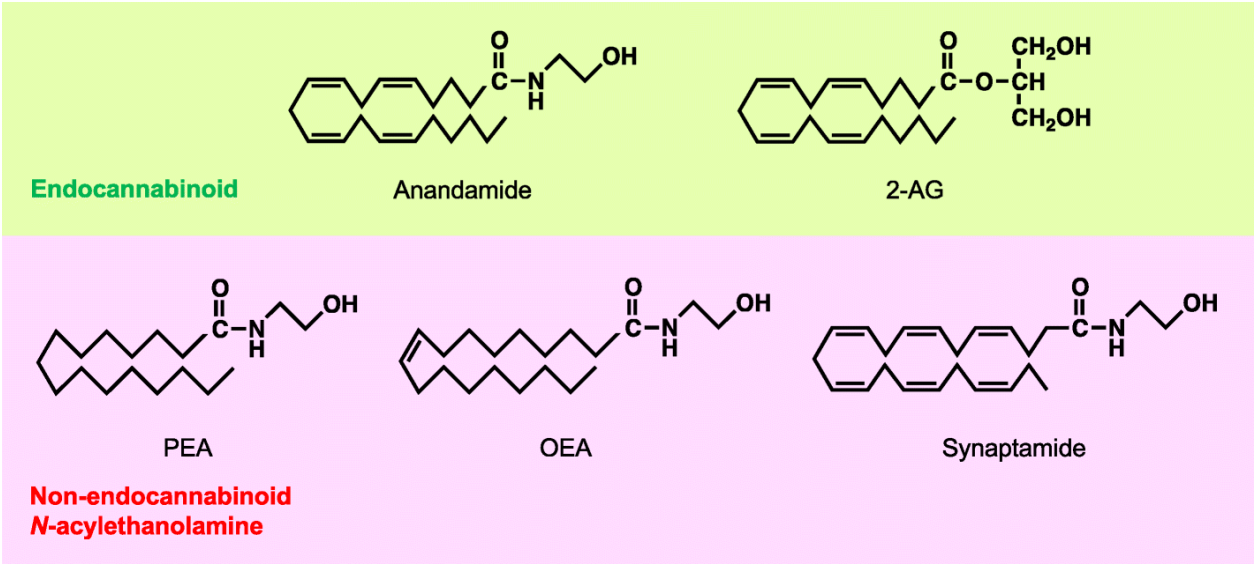


Рис. 1.2. Хімічні структури ендоканабіноїдів та не-ендоканабіноїдів деяких *N* –ацилетаноламінів [88].

NAE є типовим представником ендоканабіноїдів. Ендоканнабіноїдна система є ключовим гомеостатичним регулятором в організмі, що впливає на майже кожну фізіологічну систему організму.

1.3.1 Перші згадки про N-ацилетаноламіни

Амідно-зв'язані жирні кислоти зустрічаються в природі в основному в сфінголіпідах як частина їх церамідного (N-ацилсфінгозинового) скелета. Навпаки, первинні аміногрупи гліцерофосфоліпідів, таких як фосфатидилетаноламін і фосфатидилсерин, зазвичай не N-ацильовані. Однак N-ацилфосфатидилетаноламін (N-ацилPE) і відповідний лізофосфоліпід спочатку були виявлені в пшеничному борошні [89], і присутність цих фосфоліпідів як природних компонентів вищих раслин [90] і мікроорганізмів [91,92] у даний час добре встановлена. Рання робота над «протизапальним принципом», виявленим в ліпідних екстрактах яєчного жовтка [93,94], привела до ідентифікації N-ацилетаноламіну (NAE) в якості активного компонента.[95] Хоча пізніше було виявлено, що цей ліпідний амід є артефактом, отриманим в результаті лужного амінолізу, він викликав значний інтерес через його фармакологічні ефекти.[96]

Також спостерігалось накопичення як фосфоліпідів N-ацилетаноламінів, так і вільних N-ацилетаноламінів в уражених інфарктом областях міокарда собак після перев'язки коронарної артерії і припустили, що вони можуть генеруватися як захисні агенти, спрямовані на мінімізацію незворотного ішемічного ушкодження і розміру інфаркту [97,98].

1.3.2 Утворення N-ацилетаноламінів

NAE утворюються в тканинах із фосфоліпідів-попередників, *N*- ацилфосфатидилетаноламінів та *N*- ацил-плазмалогенів, які часто називають скорочено NAPE (Рис. 1.3). Ці NAPEs містяться в незначній кількості в мембранах еукаріотичних клітин (зазвичай менше 0,05% від загальної кількості фосфоліпідів [99]). NAPEs генеруються з фосфатидилетаноламіну / плазмалогена та ацил-донорного фосфоліпіда (часто фосфатидилхоліну) за допомогою стимульованого кальцієм ферменту *N*- ацилтрансферази, який ще не

очищений або клонований [100,101] , та групи погано охарактеризованих ферментів з сімейства фосфоліпаз А / ацилтрансферази (PLA / AT).

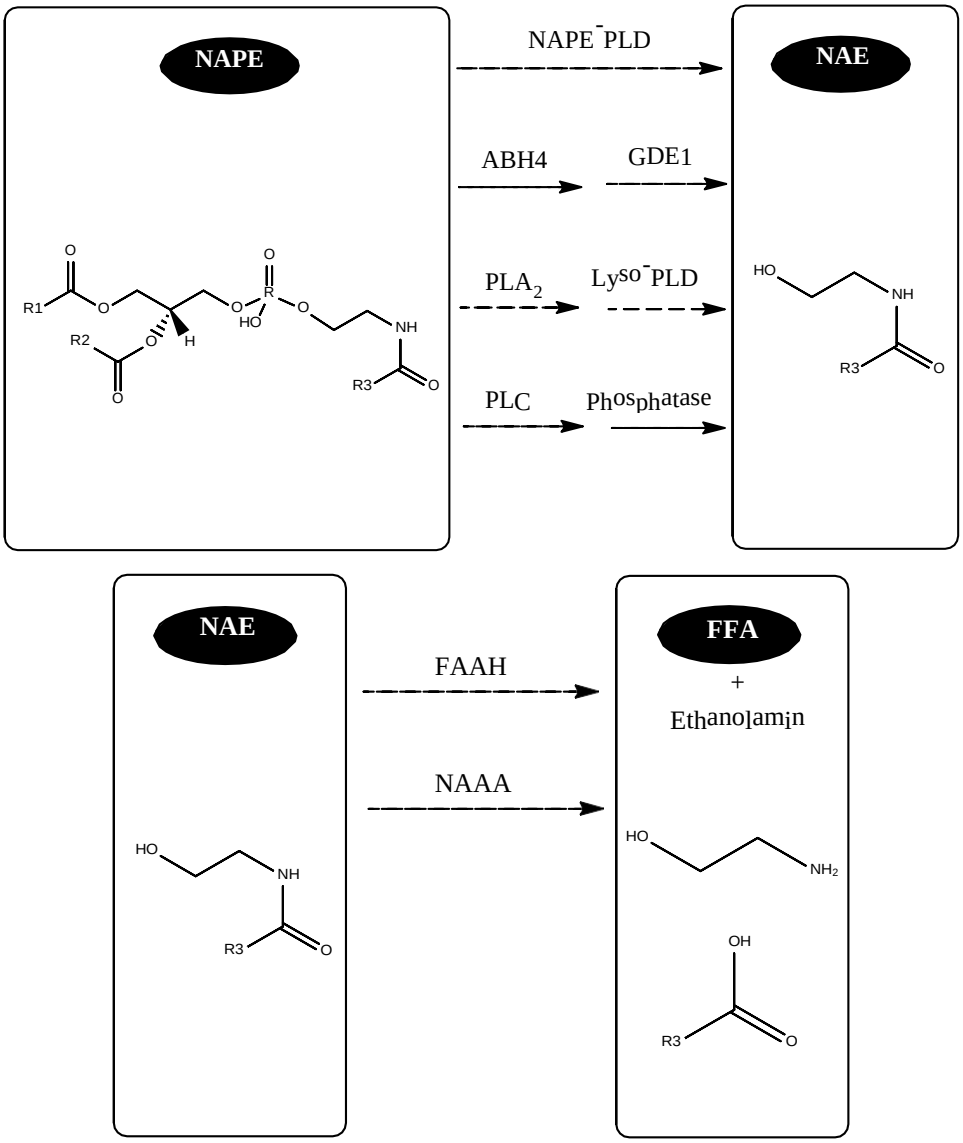


Рис. 1.3. Формування та деградація NAE. N-ацил-фосфатидилетаноламін (NAPE) може перетворюватися в NAE кількома ферментативними шляхами. Ці шляхи включають NAPE-гідролізуючу фосфоліпазу D (NAPE-PLD), α / β-гідролазу-4 (ABH4) – гліцерофосфодіестер, фосфодіестеразу-1 (GDE1), фосфоліпазу А2 (PLA2) - лізофосфоліпазу D (лізо-PLD), (PLC) - фосфатазу. Розпад NAE до етаноламіну та вільних жирних кислот (FFA) може каталізуватися FAAH та NAAA. R1 – R3: алкільна група з довгим ланцюгом [102].

Невідомо, чи відбувається утворення NAPE у якійсь конкретній мембранній структурі всередині клітин, і незрозуміло, які ферменти відповідають за утворення NAPEs різних тканинах. Очевидно, що в реакції *N*-ацилтрансферази відсутня селективна ацильна група, внаслідок чого це жирна кислота в *sn* -1-положенні ацил-донорного фосфоліпіду, яка опиняється в *N*- ацильній позиції NAPE. Існує декілька ферментів, що беруть участь у формуванні NAEs (Рис. 1.3), а найвідомішим є NAPE-гідролізуюча фосфоліпаза D (NAPE-PLD), яка була клонована та добре охарактеризована [102].

Миші, у яких відсутній NAPE-PLD, мають знижений рівень NAE в тканинах, хоча незрозуміло, чи обмежується це зниження лише насиченими та мононенасиченими *N*-ацилетаноламінами [103], а також включає анандамід та поліненасичені NAE [104] . Той факт, що *N* - ацилетаноліміни не є повністю відсутніми у нокаутованих мишей, вказує на те, що існують інші біосинтетичні шляхи, як зазначено на рис. 1.1.

NAEs гідролізуються в тканинах переважно двома ферментами - амідною гідролазою жирних кислот (FAAH) та амідазою *N* - ацилетаноламінової кислоти (NAAA) [102]. FAAH, який знаходиться в ендоплазматичному ретикулумі, виявляє найвищу ферментативну активність щодо анандаміду та інших ненасичених NAEs; тоді як NAAA, яка в основному знаходиться в лізосомах, переважно гідролізує насичені NAEs, такі як PEA. Миші, у яких відсутній FAAH, мають підвищений рівень усіх NAEs, включаючи анандамід, у тканинних рівнях [105] , підкреслюючи роль цього ферменту в регуляції рівня NAEs. Наслідки елімінації NAAA у нокаутованій моделі мишей ще не з’ясовані [102].

Основним шляхом деградації NAEs є гідроліз до вільних жирних кислот та етаноламіну. Центральна роль FAAH у цій реакції гідролізу демонструється значним збільшенням ендогенних рівнів NAEs у мишей з дефіцитом FAAH та специфічних тварин, які отримували інгібітори FAAH [105]. Подібно до вільних поліненасичених жирних кислот , полінена-

сичені NAEs, такі як анандамід, можуть перетворюватися на гідрокси або гідропероксипохідні, або простагландиноподібні молекули (простаміди) за допомогою оксигеназ, таких як цитохром Р-450 [106], ліпоксигенази та циклооксигенази-2 відповідно.

FAAH – це мембранно-асоційована серинова гідролаза, що належить до сімейства амідаз. FAAH широко поширений у тканинах ссавців, а рівень його експресії у щурів найвищий у печінці, тонкому кишечнику та мозку [107].

1.3.3 Функції та властивості N-ацилетаноламінів

NAE - етаноламіди довголанцюгових жирних кислот - це клас природних молекул ліпідів, що мають різноманітну біологічну активність. Залежно від природи ацильного ланцюга, NAE у тварин можуть брати участь у численних фізіологічних процесах, таких як нейропротекція, нейротоксичність, проліферація клітин, біль, запалення, фертильність, апоптоз, тривога, пізнання та пам’ять, а також споживання їжі [108].

Накопичення N-пальмітоїлетаноламіну в головному мозку вказує на його проникнення через гематоенцефалічний бар’єр і свідчить про можливу роль насичених N-ацилетаноламінів у функціонуванні мозку, зокрема, в регуляції реакції на стрес організму гіпоталамусом гіпофізарно-надниркової системи. Лікування N-стеароїлетаноламіном опромінених щурів викликає захисний ефект щодо індукованих опроміненням змін ліпідного складу мозку та рівня 11-ОН-кортикостероїдів та модифікує склад жирних кислот фосфоліпідів. [109]

PEA має протизапальні та знеболюючі властивості і дуже добре переноситься людиною. N-пальмітоїлетаноламін здійснює більшу частину своїх біологічних ефектів в організмі внаслідок активації активованого проліфератором пероксисом рецептора-α (PPAR-α), але незалежні від PPAR-α шляхи,

що залучають інші рецептори (транзиторний потенціал рецептора ванілоїд 1 (TRPV1), GPR55) також були ідентифіковані [110].

N-ацилетаноламіни (NAE) і N-ацилфосфатидилетаноламіни (NAPE) є природними мембранними ліпідами, вміст яких різко зростає в різних організмах під впливом стресу, тобто вони можуть відігравати роль у механізмах боротьби зі стресом в організмах. N-арахідонілетаноламін (анандамід) діє як ендогенний ліганд для канабіноїдного рецептора CB-1, інгібує провідність проміжку між сполученнями і зменшує здатність до запліднення сперми, пригнічуючи реакцію акросом, тоді як N-олеоїлетаноламін інгібує керамідазу [111]. Також було виявлено, що деякі NAE з насиченими ацильними ланцюгами проявляють цікаву біологічну активність і можуть відігравати важливу функціональну роль у природних мембранах. Наприклад, у тучних клітинах N-пальмітоїлетаноламін діє як антагоніст рецептору канабіноїдів типу 2 (CB-2) [112].

У культивованих нейрональних клітинах індукована глутаматом продукція NAEs була пов'язана із загибеллю клітин, і було висловлено припущення, що їх вироблення може зменшити вплив місцевого ураження нейронів у мозку [**Ошибка! Закладка не определена.**].

Оскільки NAPE є попередником NAE, і оскільки останні можуть мати цитопротекторну дію, посилене утворення NAPE у запаленому яєчку [Kondo, S., Sugiura, T., Kodaka, T., Kudo, N., Waku, K., Tokumura, A., 1998. Accumulation of various Nacylethanolamines including N-arachidonoylethanolamine (anandamide) in cadmium chloride-administered rat testis. Arch. Biochem. Biophys. 354, 303–310.] та в ішемізованому собачому серці [Epps, D.E., Natarajan, V., Schmid, P.C., Schmid, H.H.O., 1980. Accumulation of N-acylethanolamine glycerophospholipids in infarcted myocardium. Biochim. Biophys. Acta 618, 420–430.] можна розглядати як відповідь на генерацію цитопротекторних NAE. Виявивши NAE в ішемізованій тканині серця собак було припущено, що NAE має цитопротекторні функції. Цитопротекторні функції можуть проявлятися кількома способами, наприклад інгібуючи процес некрозу в

окремій пошкодженій клітині, стимулюючи пошкоджену клітину та / або сусідні клітини активуючи апоптотичні механізми, щоб зупинити поширення некрозу, та інгібуючи вивільнення медіаторів, що сприяють некрозу та запаленню. Різні види NAE можуть сприяти передбачуваним цитопротекторним ефектам за допомогою механізмів, що залучають каннабіноїдні рецептори [113]. На рівні окремих пошкоджених клітин різноманітні насичені та мононенасичені NAE можуть стабілізувати пошкоджені мітохондрії, запобігаючи тим самим витоку Ca^{2+} [114], а також повідомляється, що мононенасичені та насичені NAE мають антиоксидантні властивості [115, 116].

Також було встановлено, що NAE можуть виконувати протизапальну та антиалергічну дії, проявляти антивірусний та антибактеріальний ефекти, впливати на агрегацію тромбоцитів та скорочення міокарду, а також проявляти гіпотензивні ефекти.[117]

На сьогоднішній день проведено дуже багато досліджень про вплив NAE на процеси в організмі та користь цієї сполуки у боротьбі з різними клінічними проявами.

Проте, як можна побачити із вище наведених властивостей NAE, спектр дії цієї речовини досить широкий і до кінця не вивчений. N-ацилетаноламіни є природними мембранними ліпідами, і дедалі частіше виявляють збільшення їх кількості в організмі досліджуючи клінічні прояви різних захворювань та патологічних процесів, що може свідчити про захисну функцію та адаптогенні властивості.

Цілком вірогідно, що якщо дослідити реальний внесок у функціонування організму N-ацилетаноламінів, то можна було б вирішити найбільші проблеми сьогодення, наприклад, лікування таких захворювань як різні види раку, нейродегенеративні захворювання, покращення функціонування організму загалом та, навіть, збільшити тривалість та якість життя, а може й взагалі розгадати секрет довголіття.

1.4 N-стеароїлетаноламін (NSE)

N-стеароїлетаноламін (NSE) – мінорний ліпід, який належить до сімейства N-ацилетаноламінів (NAE), який опосередковує широкий спектр біологічних процесів.

NSE виявляє терапевтичний потенціал для лікування запальних захворювань, пов'язаних із підвищеною активацією макрофагів [118].

Введення доксорубіцину щурам спричиняє зниження активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази) в тканині серця. В той же час, введення NSE сприяє частковій нормалізації активності цих ферментів. Також було показано, що лікування доксорубіцином спричиняє підвищення рівня сечовини та креатиніну в плазмі крові дослідних тварин. Застосування NSE нормалізує рівень сечовини і не впливає на рівень креатиніну **[119].**

Введення NSE спричинило статистично значуще зниження рівня загального холестерину та суттєво вплинуло на нормалізацію вмісту окремих фосфоліпідів адипоцитів індукованих інсулінорезистентним ожирінням щурів [120].

Введення NSE діабетичним щурам спричинило нормалізацію загального та індивідуального вмісту фосфоліпідів, а також складу вільних та фосфоліпідів жирних кислот у яєчках щурів. Крім того, вміст тестостерону демонстрував незначне збільшення під дією NSE. Ці результати показали, що ранні стадії діабету спричинили деструктивні зміни в яєчках щурів, які можуть спричинити зниження майбутньої функції яєчок. Введення NSE діабетичним щурам нормалізує вміст ліпідів у яєчках щурів і корелює з підвищеним рівнем тестостерону. NSE індукує відновлення структури та функції яєчок на ранніх стадіях індукованого стрептозотоцином діабету у щурів [121].

Застосування NSE при ожирінні з інсулінорезистентністю підвищує вміст мононенасичених ЖК та знижує рівень поліненасичених ЖК у плазмі

щурів**,** відновлює вміст моно- та поліненасичених FFA, збільшує вміст холестеролу ЛПВЩ та знижую рівень холестеролу ЛПНЩ. Крім того, IP щури, які отримували NSE, продемонстрували нормалізацію рівня TNFα в сироватці крові. Результати показали відновлення ліпідного профілю плазми при введенні NSE [122].

Результати дослідження оцінки захисного ефекту N-стеароїлетаноламіну (NSE) на стан пам'яті, біохімічні показники крові та мозку у щурів при когнітивних порушеннях, спричинених скополаміном показали, що введення NSE щурам per os запобігали розвитку погіршення пам’яті. Зокрема, дія NSE була пов’язана із запобіганням збільшенню активності ацетилхолінестерази, змінам фосфоліпідів, рівня вільного та етерифікованого холестеролу в гіпокампі та лобовій корі, а також порушенню про- / антиоксидантного балансу в крові та досліджуваних відділах мозку. Враховуючи вищезазначені біологічні ефекти, NSE є перспективним препаратом для інтегративної терапії когнітивних порушень різних профілів [123].

N-стеароїлетаноламін (NSE) нормалізує вміст кортикостерону, тестостерону, адреналіну, норадреналіну, дофаміну, TBARS, нітрит-аніон і підвищує рівень серотоніну, що призводить до поліпшення стану пам'яті та збільшення дослідницької активності у щурів [124].

Під час лікування N-стеароїлетаноламіном спостерігалось відновлення рівня вільного холестеролу в мозку [125].

На моделі інтоксикації доксорубіцином в умовах розвитку карциноми Льюїса в серці, нирках, тканинах печінки та плазмі крові самок мишей показані антиоксидантний ефект N-стеароїлетаноламіну (NSE) у складі нанокомплексу та у суспензії. . Суспензія NSE знижує рівень сечовини в плазмі крові мишей з карциномою Льюїса, зростання якої виявлено в результаті введення доксорубіцину. При введенні нанокомплексу кількість сечовини залишається на рівні кількості у інтактних мишей. У плазмі крові мишей з карциномою Льюїса суспензія NSE і нанокомплекс знижують активність аспартатамінотрансферази, основного маркера некрозу серцевої тканини, ріст якої був ви-

кликаний розвитком пухлини. Доксорубіцин підвищує активність аланінамінотрансферази, маркер ураження печінки; введення NSE у нанокомплексну композицію перешкоджає зростанню активності ферменту. N-стеароїлетаноламін, як у нанокомплексі, так і у суспензії, модулює активність ферментів антиоксидантного захисту серця, нирок та печінки мишей при карциномі Льюїса [126].

Було встановлено, що NSE збільшує інтенсивність фрагментації ДНК в тканинах гормонально неактивних пухлин [127].

Дослідження дії N-стеароїлетаноламіну почали проводити відносно нещодавно, тому всі функції цієї речовини ще невідомі людству. Але виходячи з тих досліджень, що вже опубліковані, можна сміливо сказати, що внесок NSE у регуляційні процеси організму неоціненний. N-стеароїлетаноламін бере участь у перебігах багатьох захворювань і справляє позитивний вплив на усунення цих захворювань та різних патологічних процесів. Оскільки NSE продукуються в організмі самостійно і входить до ліпідного складу мембран, то можна сказати, що введення препаратів на основі N-стеароїлетаноламіну абсолютно безпечне та не несе за собою чужорідних втручань в організм, а лише допомагає пришвидшити та зробити ефективнішою нормалізацію станів всього організму.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Експериментальна модель

Дослідження проводили на безпородних лабораторних щурах самцях (n=20), вік яких на початок експерименту становив 3 місяці, які утримувались в умовах віварію до досягнення ними віку 18 місяців. Контрольну групу складали молоді щурі-самці віком 4 місяці (n=10). Далі щурів тестували у поведінковому тесті «Розпізнавання нового об'єкту» з метою оцінки в них стану короткотривалої (епізодичної) пам'яті. Далі старих щурів було розділено на дві групи по 10 тварин в кожній, одній з яких щоденно протягом 10 днів вводили per os водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла, інша група слугувала контролем за віком. По закінченню введення NSE тварин повторно тестували у поведінковому тесті Для подальших біохімічних досліджень використовували фронтальну кору, гіпокамп головного мозку щурів, в яких визначали ліпідний склад тканин.

2.2 Екстракція ліпідів

Екстракцію ліпідів із тканин гіпокампа та фронтальної кори щурів проводили за методом Bligh і Dyer [128]. Для зменшення адсорбції аніонних фосфоліпідів на білки та для більш повного виділення цих сполук використовували водну фазу з іонами кальцію згідно рекомендації Palmer [129]. Заморожені у скрапленому азоті фронтальну кору та гіпокамп зважували та розтирали у порцеляновій ступці. Потім розтерту до порошку тканину пересипали до скляного гомогенізатора і додавали екстрагуючу суміш - хлороформ : метанол (1:2) до кінцевого співвідношення розчинників хлороформ : метанол :

вода (1:2:0,8), враховуючи при цьому, що 1 г сирої тканини містить близько 0,8 г води. Отриману суміш гомогенізували протягом 30 хвилин. Для розшарування системи на водну та збагачену ліпідами хлороформну фазу додавали ще один об'єм хлороформу та 0,9 % розчин хлористого кальцію до одержання кінцевого співвідношення розчинників - водна фаза: хлороформ: метанол - 0,9 :1 :1. Для прискорення розділення фаз гомогенат центрифугували протягом 10 хвилин при (2,0-3,0)×10^3 об/хв на центрифузі К-23 (Росія). Нижню хлороформну фазу забирали, а до водно-метанольної фази додавали такий самий об'єм хлороформу для повторного екстрагування. Після центрифугування знову відбирали хлороформний шар. Екстрагування повторювали тричі. Хлороформні фази об'єднували та випарювали. До обробки ліпідні екстракти (у певному об'ємі хлороформу) зберігали у холодильній камері при -18 ^{0}C.

2.3 Кількісне визначення індивідуальних фосфоліпідів

Фосфоліпіди розділяли методом двовимірної тонкошарової хроматографії. У першому напрямку використовували систему для розділення : хлороформ (65) : метанол (30) : аміак (6) : бензол (10), а у другому напрямку – хлороформ (5) : метанол (1) : оцтова кислота (1) : вода (0,5) : ацетон (2) [130,131]. Фосфоліпідні класи ідентифікували як описано у роботі [132,133]. Вміст фосфоліпідів оцінювали за кількістю неорганічного фосфору у ліпідних екстрактах, який визначали методом Васьковського і Костецького [133].

2.4 Визначення діацильної та плазмалогенної форм фосфоліпідів

Для розділення діацильних та плазмалогенних форм фосфоліпідів у правий нижній куток пластини SORBFIL наносили аліквоту ліпідного екстракту та розганяли у системах: 1- хлороформ : метанол : 28% аміак (65: 35:

5); 2 - 3М HCl у метанолі ; 3 - хлороформ : ацетон : метанол : льодова оцтова кислота: вода (100: 40: 20: 20: 10) [134]. У другій та третій системах розгонку проводили в одному напрямку. У другій системі розгонку припиняли, коли її фронт проходив пляму старту. Після кожної системи пластини добре висушували. Потім пластини обприскували 10% розчином концентрованої сірчаної кислоти в метанолі та нагрівали при 180-200 ^{0}С. Ліпідні плями забарвлювалися у чорний колір. Плазмалогенні форми фосфоліпідів мали менш інтенсивне забарвлення.

2.5 Визначення жирнокислотного складу

Метилові естери жирних кислот з ліпідного екстракту одержували за моди-фікованим методом Carreau і Dubaco [135]. Після розділення ліпідного екстракту шляхом тонкошарової хроматографії в системі розчинників гексан : діетиловий етер : льодяна оцтова кислота (85 : 15 : 1) зони вільних ЖК, ефірів холестеролу та фосфоліпідів знімали та метилювали.

Кількісний аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили за допомогою газорідинної хроматографії на хроматографі GC7890 Agilent з мас-детектором Agilent 8987 з використанням капілярної колонки Supelco SP-2560 (100 m×0.25 mm×0.2 μm), як внутрішній стандарт використовували каприлову кислоту (C8:0) (Sigma).

2.6 Визначення вмісту холестеролу

Фракції вільного та естерифікованого холестеролу розділяли методом одновимірної мікротонкошарової хроматографії на платівках “Sorbfil” (Росія). На хроматографічні платівки розміром 6 х 9 см наносили аліквоту ліпідного екстракту і проводили хроматографію в системі розчинників гексан : діетиловий ефір : льодяна оцтова кислота (85 : 15 : 1). Зони вільного та естери-

фікованого холестеролу знімали з платівки і переносили в підготовлену мікроколонку та елюювали діетиловим ефіром. Після випарювання розчинника сухий залишок холестеролу піддавали аналізу на газорідинному хроматографі Carlo Erba (Італія) з полум'яно-іонізаційнім детектором на скляній колонці (0,5 м з внутрішнім діаметром 3 мм), яку було заповнено Chimalite W (80-100 mesh) та просичено 1,5% рідкою фазою OV-1 ("Shimadzu", Japan), при температурі інжектора і детектора 250 ^{0}C і 270 ^{0}C відповідно та запрограмованій температурі 180-250 ^{0}C (100 ^{0}C/хв). Кількісне визначення холестеролу проводили за калібрувальною кривою стандарта холестеролу.

2.7 Тест «Розпізнавання нового об'єкту»

Поведінковий тест «Розпізнавання нового об'єкту» заснований на схильності тварин надавати перевагу взаємодії із новим об'єктом над раніше знайомим і широко використовується для оцінки функцій гіпокамп-опосередкованної пам'яті у гризунів. Його використовують для оцінки функцій пам'яті та навчання при дослідженні ефектів фармакологічних агентів, ураження специфічних ділянок мозку, зміни його нейрохімії, старіння та розвитку, відміни наркотичних препаратів, тощо.

Переваги використання даного тесту полягають в тому, що він не вимагає зовнішньої мотивації, винагороди чи покарання, тобто дозволяє уникати аверсивних стимулів, оскільки використовує властиву тваринам схильність досліджувати нове, потребує лише нетривалого звикання і може бути відтворений з використанням різноманітних модифікацій дизайну установки та модельних об'єктів.

Установка являє собою квадратну камеру 40х40х40см (ВхШхД) із темними стінками. В двох кутах на відстані 4см від стінок камери закріплювали два об'єкта. Об'єкти представляли собою пари предметів різних за формою, кольором і матеріалом: скляні банки, металеві гантелі, пластико-металеві йо-

ршики та прямокутники з пінопласту. Всі об’єкти були висотою 15-16 см і розміщувались у скляних піддонах діаметром 9см. Вибір грунтувався на здатносі для маніпулятивності, складності, розмірі, фактурі, тощо. Зазначені параметри підбиралися таким чином, щоб обидва об'єкти вимагали приблизно однакову кількість часу на взаємодію з кожним із них.

Дослідження проводилось у ізольованій кімнаті у період з 13 до 18 години при приглушеному світлі. Процедура тесту включає три етапи: звикання, дослідження, вибору [136].

На етапі звикання об’єкти з камери прибирали і тварини досліджували порожню установку протягом 3 хвилин для ознайомлення з умовами тестування.

Наступного дня на етапі дослідження в установку поміщали два однакових об’єкта. Щурів висаджували в протилежний від об’єктів бік установки і протягом 3 хвилин реєстрували тривалість дослідження кожного з об'єктів. По закінченню етапу дослідження тварина поверталась в домашню клітку.

Етап вибору проводили через 15 хвилин після закінчення етапу дослідження. Одних з об’єктів присутніх на етап дослідження замінювали на новий. Розміщення нового об’єкта зліва або справа, а також комбінації об’єктів були урівнянні між всіма щурами. Тварин поміщали в протилежний від об’єктів бік установки і протягом 3 хвилин проводили реєстрацію часу витраченого твариною на обстеження нового і знайомого об’єктів.

Після кожної тварини на кожному з етапів дослідження, підлогу арени протирати 70% розчином етанолу. Критерієм дослідження щуром об’єкту вважали реакції принюхування та наближення (напрямок носа до об'єкту на відстані не більше 2 см) [137, 136].

Реєстрували тривалість дослідження обох об’єктів на етапі дослідження, тривалість дослідження обох об’єктів на етапі вибору. Стан пам'яті визначали за коефіцієнтом дискримінації (КД), що являв собою відношення тривалості дослідження нового об’єкту до тривалості дослідження обох

об’єктів [137, 136]. Рівень дослідницької активності визначали за сумарною тривалістю дослідження об’єктів на кожному етапі тесту.

Тестування тварин проводили два рази – перше тестування здійснювали до початку розподілу тварин на експериментальні групи, друге тестування проводили по закінченню введення NSE. Час проведення тестувань: з 13-ї до 18-ї години. Поведінка тварин у відкритому полі фіксувалася за допомогою веб-камери Logitech для уникнення впливу присутності експериментатора на поведінку тварин.

2.8 Статистичний аналіз

Статистичний аналіз проводили з використанням t-критерію Стьюдента; вірогідними вважали дані при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Вплив NSE на вміст діацильної та плазмалогенної форм фосфоліпідів у гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів при старінні

На рис. 3.1 наведено дані, щодо вмісту діацильної (ДФ) та плазмалогенної форми (ПФ) ФЛ у фронтальній корі головного мозку (ГМ) щурів.

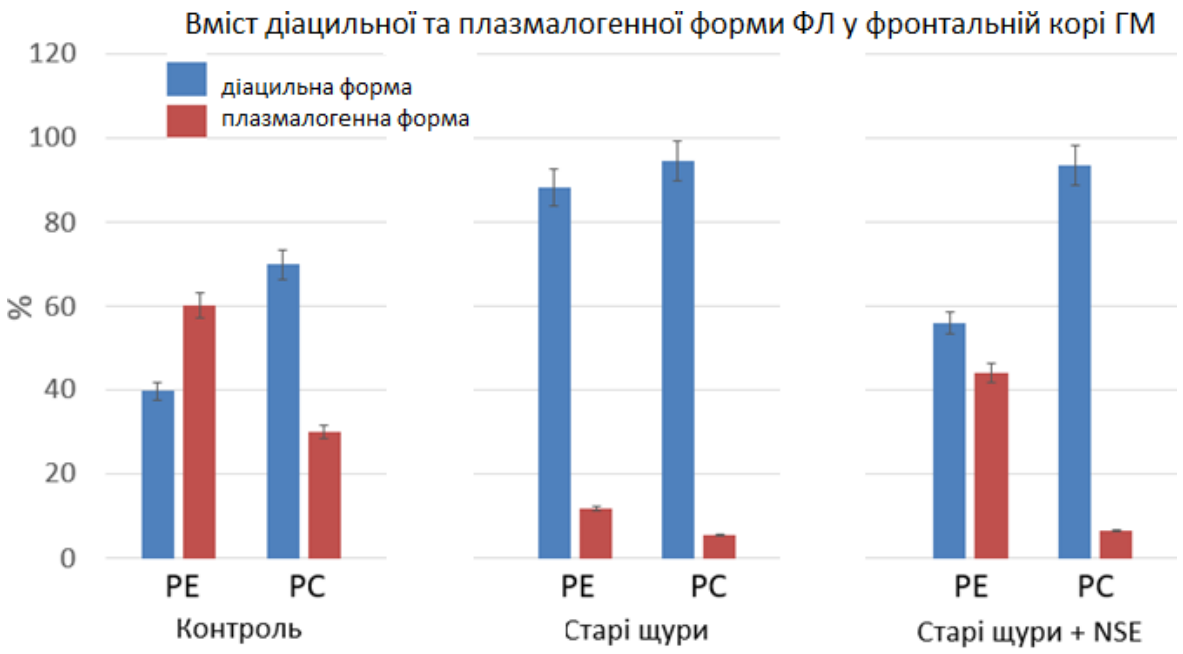


Рис. 3.1. Вміст диацильної та плазмалогенної форм ФЛ у фронтальній корі головного мозку щурів

З рис. 3.1 видно, що у фронтальній корі молодих щурів переважна більшість (60%) РЕ перебуває у формі плазмалогену, тоді як на діацильну форму припадає біля 40%. Ці дані узгоджуються із даними літератури, що предомі-

нантною формою РЕ у мозку людини є плазмалоген, на який припадає 50-60% його вмісту [138]. У складі РС більш як 60% ліпіду перебуває у діацильній формі.

У старих щурів виявлено істотне зменшення плазмалогенної форми РЕ (до 15%) та зростання його діацильної форми. Змешується вміст ПФ і у складі РС, правда не так драматично, як для РЕ.

Застосування NSE старим щурам спричиняє суттєве зростання ПФ РЕ і не викликає істотних змін щодо вмісту ПФ у складі інших ФЛ фронтальної кори головного мозку.

На рис. 3.2 показано вміст ДФ та ПФ ФЛ у гіпокампі ГМ (ГГМ) щурів.

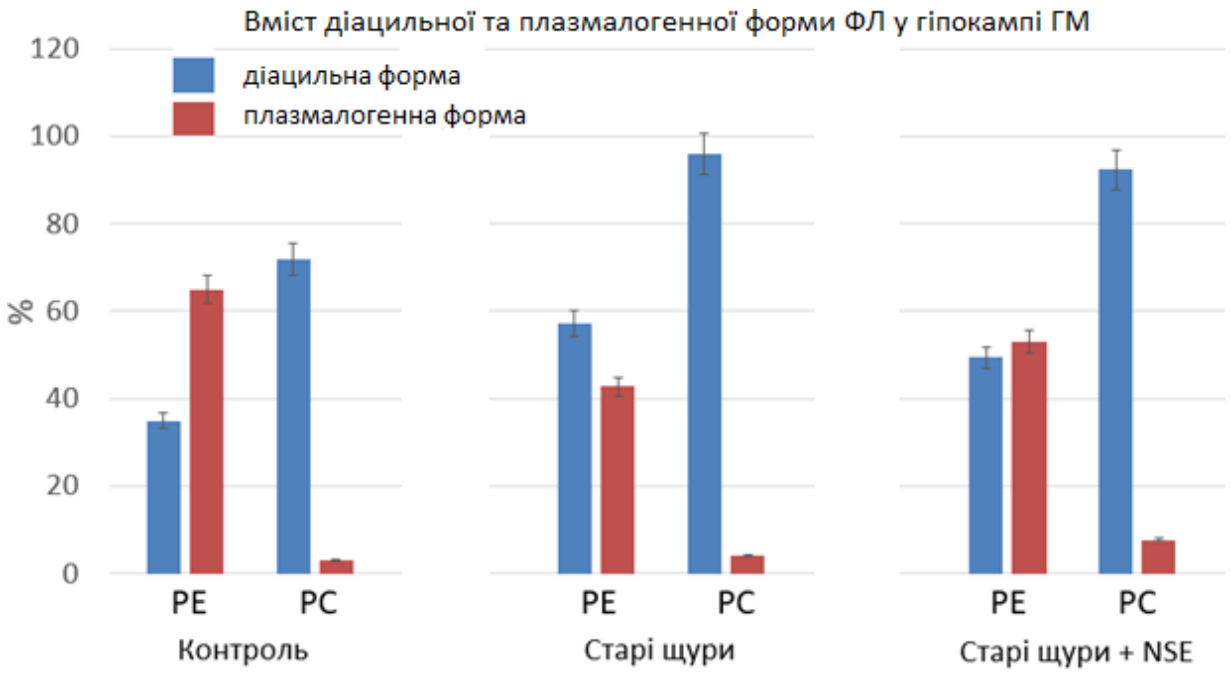


Рис. 3.2. Вміст діацильної та плазмалогенної форм ФЛ у гіпокампі головного мозку щурів

З рис. 3.2 видно, що характер розподілу ПФ та ДФ ФЛ у гіпокампі молодих щурів подібний до такого у фронтальній корі. У гіпокампі старих щурів виявлено вірогідне зменшення вмісту ПФ РЕ, тоді як співвідношення плаз-

малогенної та діацильної форми інших ФЛ не відрізнялось від такого у гіпокампі молодих щурів.

Застосування старим щурам NSE сприяє вірогідному зростанню вмісту ПФ РЕ, а також декотрому зростанню ПФ РС.

Сьогодні добре відомо, що деякі фосфогліцероліпіди, а саме РЕ, РС можуть існувати у вигляді діацильної та плазмалогенної форм. Плазмалогенні форми ФЛ відрізняються від свої діацильних аналогів наявністю вінілефірного звязку у sn-1 положенні фосфогліцеролу (рис. 3.3), що дозволяє проксимальним ділянкам ланцюгів sn-1 та sn-2 набувати паралельного розташування, що, в свою чергу, створює умови більш щільного пакування ФЛ у мембрані [139]. Присутність ПФ ФЛ значно змінює фізико-хімічні властивості біологічних мембран, а саме: зменшує плинність та надає жорсткості. Зрозуміло, що ПФ ФЛ збагачуть мікродомени ліпідних рафтів, де зосереджені протеїни, що беруть участь у клітинному сигналюванні [140]. Плазмалогени є також невід'ємними компонентами мієліну, синаптичних мембран, секреторних гранул [141]. Головний мозок, серце та селезінка є органами найбільш збагаченими на плазмалогенні форми ФЛ [142].

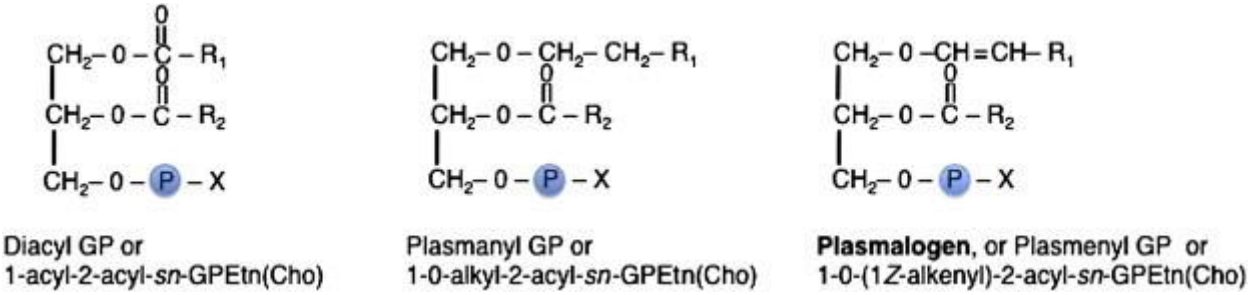


Рис. 3.3. Схематичне зображення діацильної та плазмалогенної форм гліцерофосфоліпідів [143].

В літературі описано, що вміст плазмалогенів у мозку людини сильно зростає в період постнатального розвитку і становленні процесів мієлінізації, досягаючи максимальних значень у 30 -ти річному віці[144].

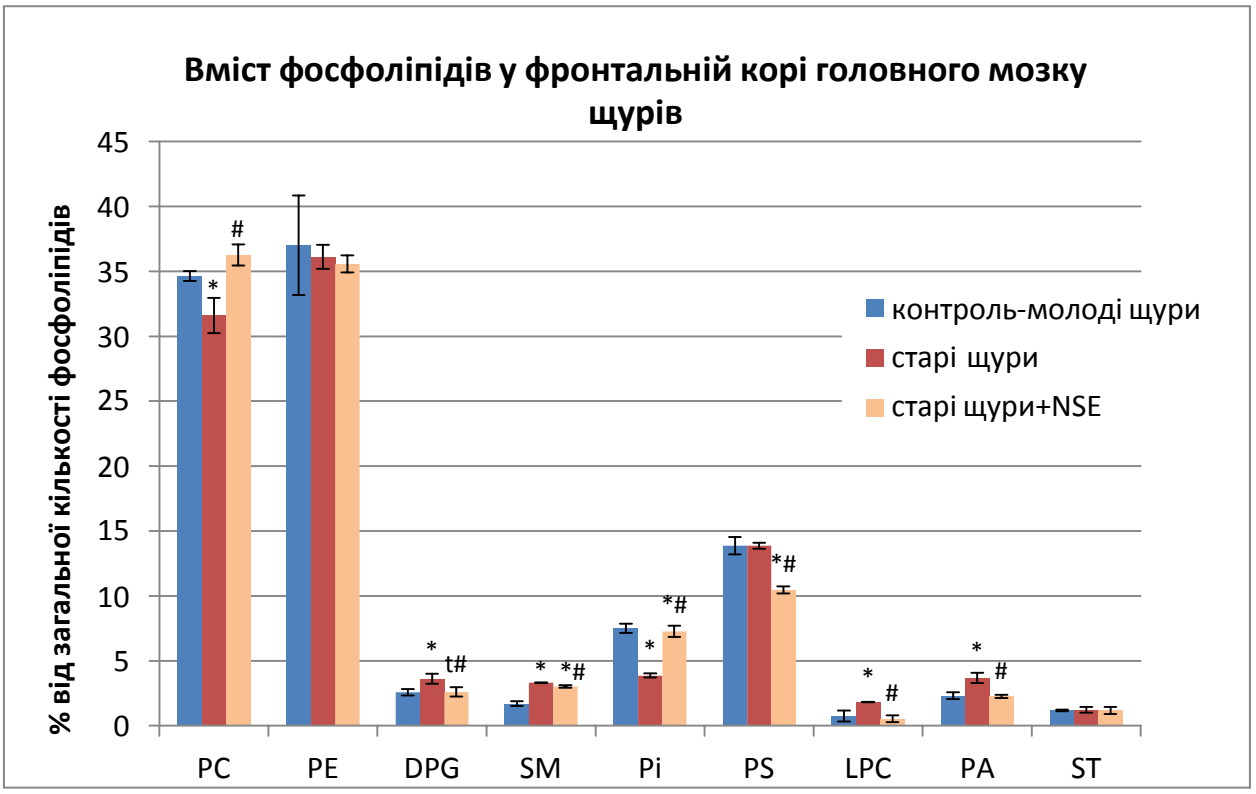
З огляду на важливу роль плазмалогенів у забезпечені фізико-хімічних властивостей мембран нейрональних клітин, зменшення їх вмісту в структурах головного мозку в процесі старіння можна розглядати як передумову виникнення вікових порушень роботи мозку, що,у подальшому, може спричиняти розвиток нейродегенеративних захворювань.

У наших дослідженнях, застосування NSE старим щурам спричиняло зростання вмісту плазмалогенних форм фосфоліпідів у фронтальній корі та гіпокампі головного мозку, що можна розглядати як один з механізмів нейропротекторної дії NSE при старінні.

Також було досліджено, що у гіпокампі та фронтальній корі ГМ старих щурів спостерігається зниження вмісту основних ФЛ, порівняно з їх вмістом у мозку молодих щурів. Зокрема, істотних змін зазнає вміст SM, PC, PE, PS в ФКГМ та DPG, PI, PS у ГГМ.

Введення старим щурам NSE сприяє зростанню вмісту PC, PI у КГМ та DPG, PS, LPC у ГГМ та зниженню вмісту LPC, PA, PS у ФКГМ і вмісту PC в ГГМ.

Клітини головного мозку людини так само, як і клітини інших систем органів підвладні старінню, проте погіршення структури та функцій мозку дорослої людини під час старіння не є рівномірним у всьому мозку, отже, старіння мозку людини є гетерогенним процесом. Як показали результати дослідження метаболічної активності різних відділів головного мозку ссавців при старінні, саме фронтальна кора є навразливішим відділом мозку, який одним з перших «починає старіти» [145]. Безумовно, зміни метаболічної активності нейрональних клітин тісно пов’язані із процесами клітинного сигналювання та фізико-хімічних характеристик мембран.



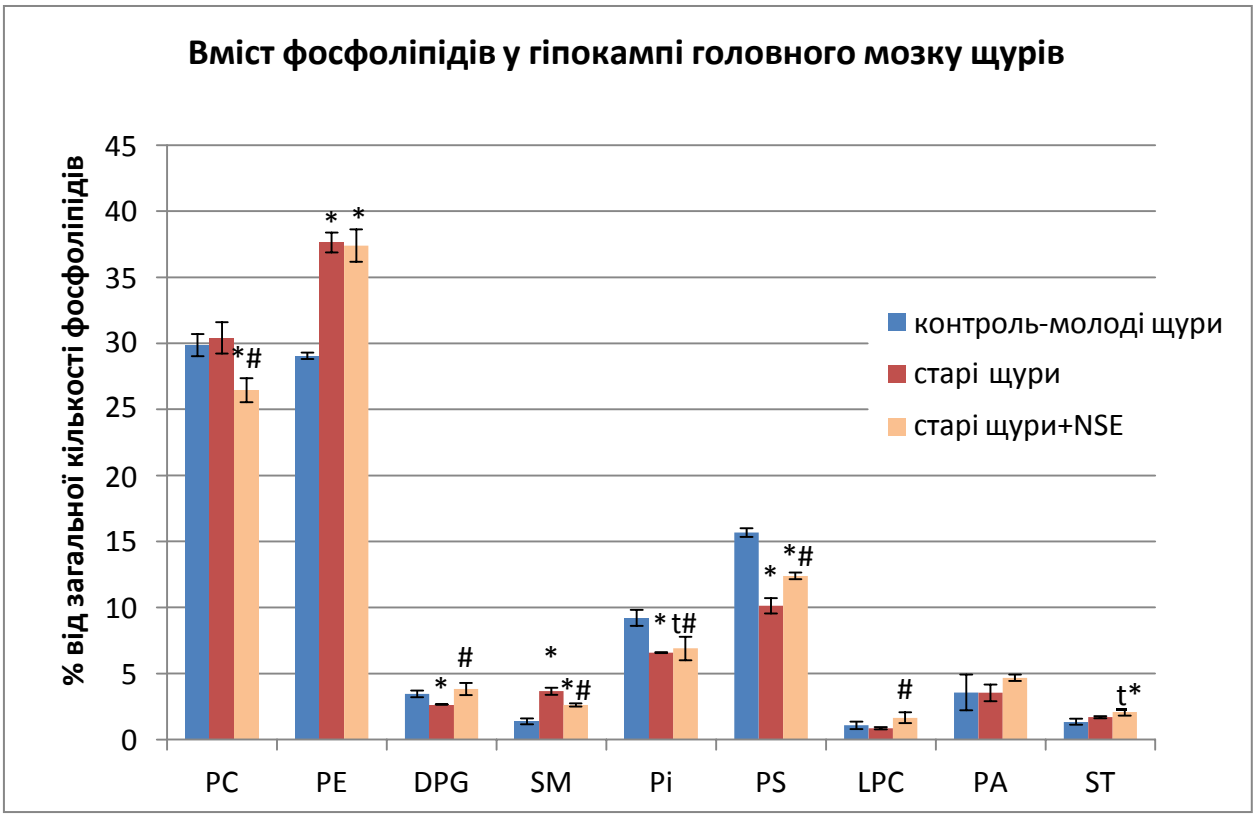


Рис. 3.4. Вміст ФЛ у фронтальній корі (А) та гіпокампі (Б) головного мозку щурів

В сучасній літературі досить багато даних щодо зниження вмісту основних фосфоліпідів у структурах головного мозку людини при старінні, при чому найбільш істотні зміни фосфоліпідного складу виявлені саме у фронтальній корі та гіпокампі [146].

В наших дослідженнях , також, найбільш глибокі зміни фосфоліпідного складу були виявлені у фронтальній корі старих щурів. Слід зазначити, що зміни фосфоліпідного складу в гіпокампі та фронтальній корі ГМ старих щурів були обумовлені зниженням відсоткового вмісту різних фосфоліпідів: якщо у фронтальній корі істотно знижувався вміст PC, PE, SM, PI,PS, то у гіпокампі вірогідно змінювався рівені тільки аніонних ФЛ – PI та PS.

Введення NSE старим щурам викликало різноспрямовану дію на вміст різних фосфоліпідів. Особливо виразним є підвищення вмісту PC та PI у фронтальній корі та PS й DPG у гіпокампі за дії NSE. Відомо, що DPG є необхідним ФЛ для функціонування електроно-транспортувального ланцюгу мітохондрій, а, отже для підтримання енергетики клітини. Слід зауважити, що подібний ефект щодо впливу NSE на вміст DPG був отриманий раніше на різних моделя патологічних станів у тварин [147, 148, 149]. Загалом, можна відзначити, що зміни складу фронтальної кори та гіпокампу, спричинені застосуванням NSE, носять адаптивно-відновлювальний характер.

Відомо, що синтез ФЛ є складним багатостадійним процесом, що протікає із залученням великої кількості протеїнів, кофакторів, субстратів і є інтегрованим у загальні схеми метаболізму організму, в той же час, окремі реакції взаємоперетворення деяких фосфоліпідів можуть відбуватися і на рівні плазматичних мембран.

NSE, як і решта представники N-ацилетаноламінів, є природним компонентом всіх біологічних мембран і синтезується з попередника N-ацилфосфатидилетаноламіну. Як було описано раніше, він легко вбудовується у плазматичну мембрану і може змінювати її фізико-хімічні характеристики, впливаючи на активність деяких мембранозв’язаних ензимів. В наших попередніх дослідження неоднократно були показані зміни фосфоліпідного

складу тканин органів за різних патологічних станів за умов застосування NSE [150, 151]. Причому зміни, викликані NSE були, як правило, спрямовані в бік усунення дисбалансу ФЛ, спричиненого моделюванням того чи іншого патологічного стану. В той же час, ведення цього ліпіду нормальним (контрольним) тваринам не спричиняло вірогідних змін ФЛ.

Крім того, NSE може реалізовувати свою дію і на геномному рівні, змінюючи експресію генів, залучених у шляхи біосинтезу ФЛ. Як було показано нами в попередніх дослідженнях, NSE може взаємодіяти з ядерними рецепторами (PPARγ) [152,153] і спричиняти зміни експресії PPARγ- залежних генів [154].

3.2 Вплив NSE на жирнокислотний склад гіпокампу та фронтальної кори головного мозку щурів при старінні

У таблицях 3.1 та 3.2 наведено результати визначення жирнокислотного складу фронтальної кори та гіпокампу ГМ щурів.

Таблиця 3.1

Рівень насиченості вільних жирних кислот (% від загальної кількості ЖК) у фронтальній корі головного мозку щурів (M ± m; n=7-10)

Жирні кислоти	Контроль	Старі щури	Старі щури + NSE
Насичені, Σ	37,762 ± 4,385	51,4 ± 3,707*	36,489 ± 9,524
Ненасичені, Σ	60,837 ± 4,573	49,6 ± 3,694*	62,424 ± 9,154
Насичні/ненасичені	0.62	1.04	0.56
Моно'єнові, Σ	8,199 ± 0,666	5,734 ± 1,085#	13,939 ± 0,662*
Дієнові, Σ	1,549 ± 0,349	2,842 ± 0,293	2,41 ± 0,723
Полієнові, Σ	51.089± 4,255	41.024± 4,462*	46.114 ± 7,959

Неідентифіковані, Σ	0,958 ± 0,62	0,815 ± 0,118	0,844 ± 0,295

1.* - P< 0,05 відносно групи «Контроль»,

2.# - P< 0,05 відносно групи «Старі щури»

Таблиця 3.2

Рівень насиченості вільних жирних кислот (% від загальної кількості ЖК) у гіпокампі головного мозку щурів (M ± m; n=7-10)

Жирні кислоти	Контроль	Старі щури	Старі щури + NSE
Насичені. Σ	39.3 ± 3.1	55.2 ± 2.9*	33.3 ± 3.1
Ненасичені. Σ	60.7 ± 4.5	44.8 ± 1.5*	66.7 ± 2.1
Насичені/ненасичені	0.65	1.23	0.5
Моно'єнові. Σ	6.1 ± 0.3	4.1 ± 0.8#	12.8 ± 0.3*
Дієнові. Σ	1.1 ± 0.1	1.9 ± 0.1	3.5 ± 0.2
Полієнові. Σ	53.5± 5.1	38.8± 3.8*	51.4 ± 4.8
Неідентифіковані. Σ	0.95 ± 0.62	0.6 ± 0.08	0.78 ± 0.3

1.* - p < 0,05 відносно групи «Контроль»,

2.# - p < 0,05 відносно групи «Старі щури»

Як видно з даних, представлених в табл. 3.1, 3.2 у фронтальній корі та гіпокампі молодих щурів більше 60 % пулу ВЖК складають ненасичені ЖК, серед яких основна частина представлена полієновими ЖК. У старих щурів зміни кількісного складу ВЖК відбуваються за рахунок зростання вмісту насичених ЖК старінні відбувається зростання вмісту насичених вільних жирних кислот та зниження вмісту ненасичених вільних ЖК у ФК ГМ щурів. При цьому істотно зменшується вміст полінєнових та моноєнових ВЖК.

Застосування NSE сприяє зменшенню вмісту насичених ВЖК, нормалізації вмісту ненасичених ВЖК за рахунок зростання моно- та поліенових ВЖК.

Відомо, що синтез поліенових ЖК здійснюється за рахунок злагодженої активності десатураз та елонгаз. В літературі описаний регуляторний вплив NSE на активність десатураз, зокрема Δ9 десатурази [155], що може частково пояснювати виявлене в наших дослідженнях зростання вмісту поліенових ЖК в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку старих щурів.

3.3 Вплив NSE на вміст холестеролу в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів при старінні.

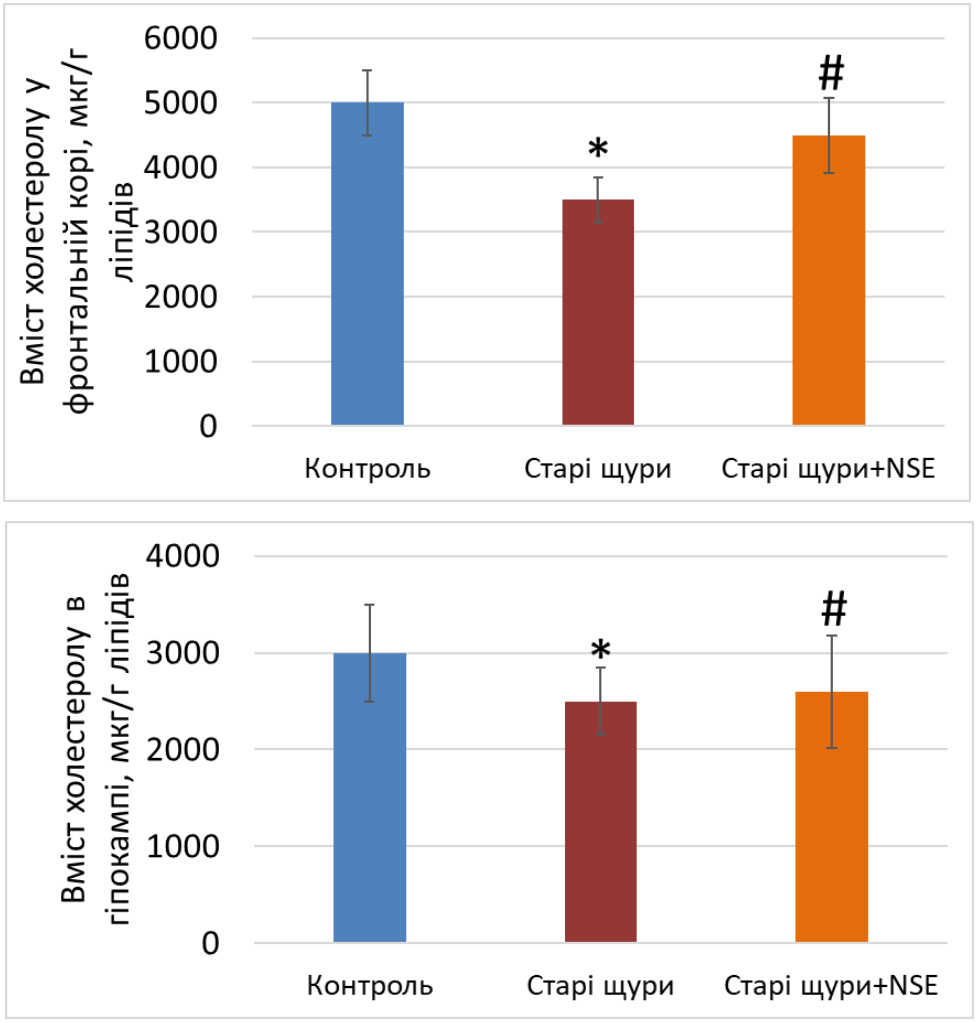


Рис. 3.5. Вміст вільного холестеролу в ГГМ та КГМ щурів.

Як видно з рис. 3.5, старіння у щурів супроводжується вірогідним зниженням вмісту вільного холестеролу як у фронтальній корі, так і в гіпокампі мозку щурів, порівняно із значеннями його вмісту у молодих тварин. Причому найбільш істотне зниження вмісту холестеролу виявлено у фронтальній корі мозку старих щурів. Застосування NSE сприяє вірогідному зростанню вмісту холестеролу як у фронтальній корі, так і в гіпокампі головного мозку старих щурів.

З даних літератури відомо, що головний мозок ссавців надзвичайно збагачений холестеролом орган, він містить 25% від загальної кількості холестеролу в організмі [156], що вказує на важливу роль останнього у забезпеченні структурних та функціональних особливостей цього органу. Описано вікове зниження вмісту холестеролу в головному мозку людини, показано, що воно є регіоноспецифічним: втрата холестеролу починається у фронтальній корі, гіпокампі, хвостатому ядрі, мозочку [157]. Таке зниження вмісту холестеролу обумовлено як зниженням його синтезу [158], так й інтенсифікацією процесів катаболізму [159]. Слід зазначити, що вміст холестеролу у головному мозку людини не залежить від рівнів циркулюючого холестеролу [160].

В наших дослідженнях застосуваня старим щурам NSE сприяло відновленню вмісту вільного холестеролу в досліджуваних відділах головного мозку.

Відомо, що основними шляхами виведення холестеролу з мембран є процеси ацилювання його за допомогою лецитинхолестеролацилтрансферази (ЛХАТ) та ацетилхолестеролацилтрансферази (АХАТ). ЛХАТ здійснює перенос олеоїлу фосфатидилхоліну на вільний холестерол з утворенням естерифікованого холестеролу та лізофосфатидилхоліну, тоді як АХАТ використовує для естерифікації холестеролу пул вільних ЖК. Раніше, в дослідженнях in vitro було показано, що насичені N-ацилетаноламіни модулюють активність ЛХАТ [161]. Отже, ми припускаємо, що застосування NSE за умов на-

шого експерименту може зменшувати виведення холестеролу, шляхом обмеження процесів його ацилювання.

3.4 Вплив NSE на поведінкові реакції щурів в тесті «Розпізнавання нового об’єкту» при старінні

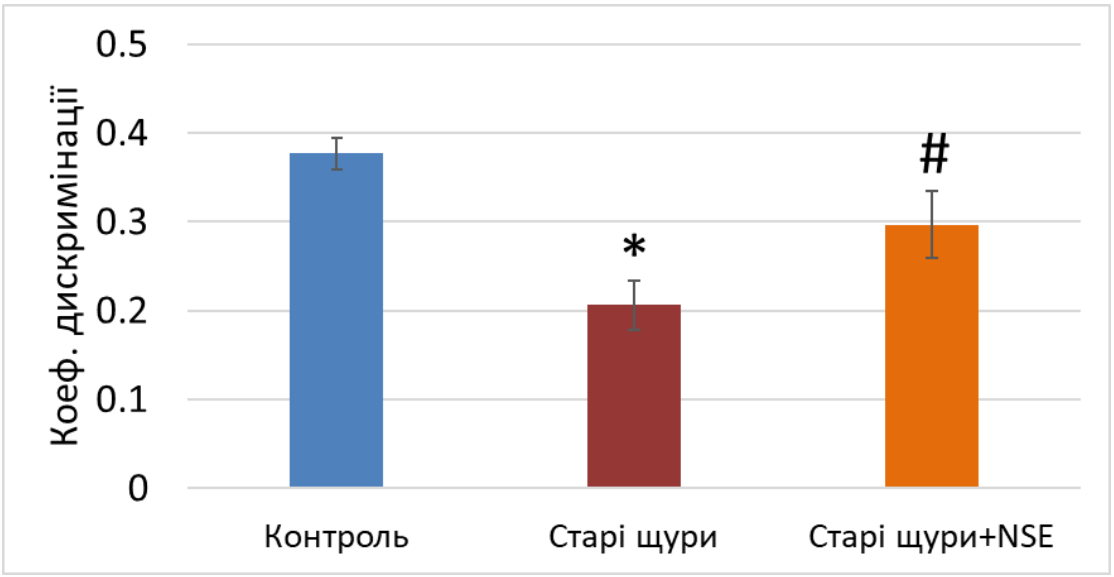


Рис. 3.6. Результати тесту «Розпізнавання нового об’єкту» у щурів.

З рис. 3.6 видно, що у старих щурів за результатами тесту розпізнавання нового об’єкту погіршується короткострокова пам’ять, що проявляється у наданні переваги у дослідженні вже знаймого (старого) об’єкту або одночасному дослідженні нового і старого об’єкту. У щурів, що отримували NSE, віддавали більшу перевагу дослідженню нового об’єкту, що свідчить про покращення короткострокової пам’яті за дії NSE.

ВИСНОВКИ

1. Застосування NSE старим щурам спричиняє зростання вмісту плазмалогенних форм фосфоліпідів у фронтальній корі та гіпокампі головного мозку, що можна розглядати як один з механізмів нейропротекторної дії NSE при старінні.

2. Показано, що зміни фосфоліпідного складу фронтальної кори та гіпокампу головного мозку старих щурів, спричинені застосуванням NSE, носять адаптивно-відновлювальний характер.

3. Застосування NSE сприяє зменшенню вмісту насичених вільних жирних кислот, нормалізації вмісту ненасичених вільних жирних кислот за рахунок зростання моно- та полієнових вільних жирних кислот.

4. Застосуваня старим щурам NSE сприяло відновленню вмісту вільного холестеролу в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку.

5. За результатми поведінокового тесту «розпізнавання нового об'єкту» показано, що застосування NSE сприяє відновленню короткострокової пам'яті у старих щурів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1 Stepanova M, Rodriguez E, Birerdinc A, Baranova A. Age-independent rise of inflammatory scores may contribute to accelerated aging in multi-morbidity. Oncotarget. 2015; 6(3):1414-21.

2 de Diego I, Peleg S, Fuchs B. The role of lipids in aging-related metabolic changes. Chem Phys Lipids. 2019; 222:59-69.

3 Naudí A, Cabré R, Jové M, Ayala V, Gonzalo H, Portero-Otín M, Ferrer I, Pamplona R. Lipidomics of human brain aging and Alzheimer's disease pathology. Int Rev Neurobiol. 2015; 122:133-89.

4 Dietschy JM, Turley SD. Thematic review series: brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. J Lipid Res. 2004; 45(8):1375-97.

5 Farooqui AA, Liss L, Horrocks LA. Neurochemical aspects of Alzheimer's disease: involvement of membrane phospholipids. Metab Brain Dis. 1988; 3(1):19-35.

6 Söderberg M, Edlund C, Kristensson K, Dallner G. Lipid compositions of different regions of the human brain during aging. J Neurochem. 1990; 54(2):415-23.

7 Hancock SE, Friedrich MG, Mitchell TW, Truscott RJ, Else PL. Decreases in Phospholipids Containing Adrenic and Arachidonic Acids Occur in the Human Hippocampus over the Adult Lifespan. Lipids. 2015; 50(9):861-72.

8 Mesa-Herrera F, Taoro-González L, Valdés-Baizabal C, Diaz M, Marín R. Lipid and Lipid Raft Alteration in Aging and Neurodegenerative Diseases: A Window for the Development of New Biomarkers. Int J Mol Sci. 2019; 20(15).

9 Zanettini C., Panlilio L.V., Alicki M., Goldberg S.R., Haller J., Yasar S. Effects of endocannabinoid system modulation on cognitive and emotional behavior // Front Behav Neurosci. – 2011.– № 5 (57). – P. 1 – 21.

10 Hind W.H., Tufarelli C., Neophytou M., Anderson S.I., England T.J., O'Sullivan S.E. // Endocannabinoids modulate human blood–brain barrier permeability in vitro.– Br J Pharmacol. –2015 – V. 172, № 12.–P. 3015 – 3027.

11 Mazzola C, Medalie J, Scherma M. et al. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition enhances memory acquisition through activation of PPAR–alpha nuclear receptors // Learn Mem. – 2009. – № 16 (5). – P. 332 – 337.

12 Panlilio LV, Justinova Z, Goldberg SR. et al. Inhibition of FAAH and activation of PPAR: new approaches to the treatment of cognitive dysfunction and drug addiction //Pharmacol Ther. – 2013. – № 138 (1). – P. 84 – 102.

13 Di Marzo V., Melck D., Orlando P., Bisogno T., Zagoory O., Bifulco V., Vogel Z., De Petrocellis L. Palmitoylethanolamide inhibits the expression of fatty acid amide hydrolase and enhances the anti–proliferative effect of anandamide in human breast cancer cells // Biochem J. – 2001.– № 358(Pt 1). – P. 249 – 255.

14 Costa B., Comelli F., Bettoni I. et al. The endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, has anti–allodynic and anti–hyperalgesic effects in a mu-

rine model of neuropathic pain: involvement of CB(1), TRPV1 and PPARgamma receptors and neurotrophic factors // Pain. – 2008.– №139(3). – P. 541 – 550.

15 Moreno S, Cerù MP. In search for novel strategies towards neuroprotection and neuroregeneration: is PPARα a promising therapeutic target? // Neural Regen Res. –2015.–№10(9). – P.1409 – 1412.

16 Lykhmus O, Uspenska K, Koval L, Lytovchenko D, Voytenko L, Horid'ko T, Kosiakova H, Gula N, Komisarenko S, Skok M N–Stearoylethanolamine protects the brain and improves memory of mice treated with lipopolysaccharide or immunized with the extracellular domain of α7 nicotinic acetylcholine receptor//Int Immunopharmacol. – 2017. – № 52. – P.290 – 296.

17 Horid'ko T.M., Kosiakova H. V., Berdyshev A. G. et al. Preventive effect of N–stearoylethanolamine on memory disorders, blood and brain biochemical parameters in rats with experimental scopolamine–induced cognitive impairment // Ukr. Biochem. J. – 2018. – Vol. 90, N 6.– P. 97 – 109.

18 Dziechciaż M, Filip R. Biological psychological and social determinants of old age: Bio-psycho-social aspects of human aging. Ann Agric Environ Med. 2014; 21(4): 835–838. doi: 10.5604/12321966.1129943.

19 vonFaber M, Bootsma-van der Wiel A, van Exel E, et al. Successful aging in the oldest old. *Arch Intern Med*. 2001;161:2694-2700.

20 Bruce A. Yankner, Tao Lu, and Patrick Loerch, Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2008. 3:41–66. The Aging Brain. This article's doi:10.1146/annurev.pathmechdis.2.010506.092044.

21 Jeffrey A. Kaye, MD Portland, Ore. Healthy Brain Aging. Available at: http://archneur.jamanetwork.com/ by a University of St. Andrews Library User on 05/16/2015.

22 Gonzales McNeal M, Zareparsi S, Camicioli R, et al. Predictors of healthy brain aging. *J Gerontology A Biol Sci Med Sci.* 2001;56A:294-301.

23 Jeffrey A. Kaye, MD Portland, Ore. Healthy Brain Aging. Available at: http://archneur.jamanetwork.com/ by a University of St. Andrews Library User on 05/16/2015.

24 Albert M, Duffy FH, Naeser M. 1987. Nonlinear changes in cognition with age and their neuropsychologic correlates. *Can. J. Psychol.* 41:141–57.

25 Craik FI, Moscovitch M, McDowd JM. 1994. Contributions of surface and conceptual information to performance on implicit and explicit memory tasks. *J. Exp. Psychol. Learn. Mem. Cogn.* 20:864–75.

26 Cartensen II, Fung HH, Charles ST. 2003. Socioemotional selectivity theory and the regulation of emotion in the second half of life. *Motiv. Emot.* 27:103–23.

27 Williams LM, Brown KJ, Palmer D, Liddall BJ, Kemp AH, et al. 2006. The mellow years?: Neural basis of improving emotional stability over age. *J. Neurosci.* 26:6422–30.

28 Persson J, Sylvester CY, Nelson JK, Welsh KM, Jonides J, Reuter-Lorenz PA. 2004. Selection requirements during verb generation: differential recruitment in older and younger adults. *Neuroimage* 23:1382–90.

29 Logan JM, Sanders AL, Snyder AZ, Morris JC, Buckner RL. 2002. Under-recruitment and nonselective recruitment: dissociable neural mechanisms associated with aging. *Neuron* 33:827–40.

30 Remy F, Mirrashed F, Campbell B, Richter W. 2004. Mental calculation impairment in Alzheimer's disease: a functional magnetic resonance imaging study. *Neurosci. Lett.* 358:25–28.

31 Small SA, Chawla MK, Buonocore M, Rapp PR, Barnes CA. 2004. Imaging correlates of brain function in monkeys and rats isolates a hippocampal subregion differentially vulnerable to aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:7181–86.

32 Hedden T, Gabrieli JD. 2004. Insights into the ageing mind: a view from cognitive neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* 5:87–96.

33 Liu J, Head E, Gharib AM, Yuan W, Ingersoll RT, et al. 2002. Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and/or *R*-α-lipoic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:2356–61.

34 Hebert LE, Scherr PA, Beckett LA, Albert MS, Pilgrim DM, et al. 1995. Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population. *JAMA* 273:1354–59.

35 Bruce A. Yankner, Tao Lu, and Patrick Loerch, Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2008. 3:41–66. The Aging Brain. This article's doi:10.1146/annurev.pathmechdis.2.010506.092044.

36 Jan Koolman, Klaus-Heinrich Rohm (1994) *Taschenatlas der Biochemie.*

37 Кисляков И.А. (2017) *Липиды - что это такое? Классификация. Обмен липидов в организме и их биологическая роль.* [online] Available at: https://www.tiensmed.ru/news/lipidys1.html#nov1.

38 Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. (1998) *Биологическая химия.*

39 База знаний по биологии человека. *Плазмологены.* [online] Available at: http://humbio.ru/humbio/ped12pdd/000b788e.htm.

40 Irene de Diego, Shahaf Peleg, Beate Fuchs (2019). *The role of lipids in aging-related metabolic changes.* Chemistry and Physics of Lipids. [online]. Available at: https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2019.05.005.

41 Maftah, A., Ratinaud, M.H., Dumas, M., Bonte, F., Meybeck, A., Julien, R., 1994. Human epidermal cells progressively lose their cardiolipins during ageing without change in mitochondrial transmembrane potential. Mech. Ageing Dev. 77, 83–96.

42 Zhou, J., Zhong, Q., Li, G., Greenberg, M.L., 2009. Loss of cardiolipin leads to longevity defects that are alleviated by alterations in stress response signaling. J. Biol. Chem. 284, 18106–18114.

43 Wei, Y.H., Wu, S.B., Ma, Y.S., Lee, H.C., 2009. Respiratory function decline and DNA mutation in mitochondria, oxidative stress and altered gene expression during aging. Chang Gung Med. J. 32, 113–132.

44 Mouchiroud, L., Houtkooper, R.H., Moullan, N., Katsyuba, E., Ryu, D., Canto, C., Mottis, A., Jo, Y.S., Viswanathan, M., Schoonjans, K., Guarente, L.,

Auwerx, J., 2013. The NAD(+)/Sirtuin pathway modulates longevity through activation of mitochondrial UPR and FOXO signaling. Cell 154, 430–441.

45 Braidy, N., Guillemin, G.J., Mansour, H., Chan-Ling, T., Poljak, A., Grant, R., 2011. Age related changes in NAD+ metabolism oxidative stress and Sirt1 activity in wistar rats. PLoS One 6, e19194.

46 Massudi, H., Grant, R., Braidy, N., Guest, J., Farnsworth, B., Guillemin, G.J., 2012. Ageassociated changes in oxidative stress and NAD+ metabolism in human tissue. PLoS One 7, e42357.

47 Ayala, A., Munoz, M.F., Arguelles, S., 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid. Med. Cell. Longev. 2014, 360438.

48 Matjusaitis, M., Chin, G., Sarnoski, E.A., Stolzing, A., 2016. Biomarkers to identify and isolate senescent cells. Ageing Res. Rev. 29, 1–12.

49 Hulbert, A.J., Pamplona, R., Buffenstein, R., Buttemer, W.A., 2007. Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals. Physiol. Rev. 87, 1175–1213.

50 Papsdorf, K., Brunet, A., 2019. Linking lipid metabolism to chromatin regulation in aging. Trends Cell Biol. 29 (2), 97–116.

51 Green, C., Mitchell, S., Speakman, J., 2017. Energy balance and the sphingosine-1- phosphate/ceramide axis. Aging (Albany NY) 9, 2463–2464.

52 Spiegel, S., Milstien, S., 2011. The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity. Nat. Rev. Immunol. 11, 403–415.

53 Fulop, T., Le Page, A., Garneau, H., Azimi, N., Baehl, S., Dupuis, G., Pawelec, G., Larbi, A., 2012. Aging, immunosenescence and membrane rafts: the lipid connection. Longev. Healthspan 1, 6.

54 Irene de Diego, Shahaf Peleg, Beate Fuchs (2019). *The role of lipids in aging-related metabolic changes.* Chemistry and Physics of Lipids. [online]. Available at: https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2019.05.005

55 Maegawa, S., Lu, Y., Tahara, T., Lee, J.T., Madzo, J., Liang, S., Jelinek, J., Colman, R.J., Issa, J.J., 2017. Caloric restriction delays age-related methylation drift. Nat. Commun. 8, 539.

56 Hahn, O., Gronke, S., Stubbs, T.M., Ficz, G., Hendrich, O., Krueger, F., Andrews, S., Zhang, Q., Wakelam, M.J., Beyer, A., Reik, W., Partridge, L., 2017. Dietary restriction protects from age-associated DNA methylation and induces epigenetic reprogramming of lipid metabolism. Genome Biol. 18, 56.

57 Puca, A.A., Chatgilialoglu, C., Ferreri, C., 2008. Lipid metabolism and diet: possible mechanisms of slow aging. Int. J. Biochem. Cell Biol. 40, 324–333.

58 Hulbert, A.J., 2003. Life, death and membrane bilayers. J. Exp. Biol. 206, 2303–2311.

59 Muller, F.L., Lustgarten, M.S., Jang, Y., Richardson, A., Van Remmen, H., 2007. Trends in oxidative aging theories. Free Radic. Biol. Med. 43, 477–503.

60 Munro, D., Blier, P.U., 2012. The extreme longevity of Arctica islandica is associated with increased peroxidation resistance in mitochondrial membranes. Aging Cell 11, 845–855.

61 Sargis, R.M., Subbaiah, P.V., 2003. Trans unsaturated fatty acids are less oxidizable than cis unsaturated fatty acids and protect endogenous lipids from oxidation in lipoproteins and lipid bilayers. Biochemistry 42, 11533–11543.

62 M. Soderberg, C. Edlund, K. Kristensson, and G. Dallner (1990). *Lipid Compositions of Different Regions of the Human Brain During Aging.* Journal of Neurochemistry Vol. 54, No. 2, Raven Press, Ltd., New York.

63 Ansell *G.* B. and Hawthorne J. N. (1964) Phospholipids and the nervous system, in *The Phospholipids: Chemistry, Metabolism and Function* (Ansell *G.* B. and Hawthorne J. N., eds), pp. 278-372. Elsevier, Amsterdam.

64 Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A., and Baxter C. F. (1972) Lipids in the nervous system of different species as a function of age: brain, spinal cord, peripheral nerve, purified whole cell preparations, and subcellular particulates: regulatory mechanisms and membrane structure. *Adv. Lipid Res.* 10,26 1-360.

65 Sakakihara Y. and Volpe J. J. (1 985) Dolichol in human brain: regional and developmental aspects. *J. Neurochem.* 44,1535-1540.

66 Kishimoto Y., Davies W. E., and Radin N. S. (1965) Developing rat brain: changes in cholesterol, galactolipids, and the individual fatty acids of gangliosides and glycerophosphatides. *J. Lipid Res.*

67 Svennerholm L. (1968) Distribution and fatty acid composition of phosphoglycendes in normal human brain. J. *Lipid Res.* 9,570-579.

68 de Gier J. (1969) Regulation of membrane permeability by lipids, in *Proceedings* of *the Fourth International Congress on Pharmacology, Vol.* I *V,* pp. 102- 106.

69 Schneider H., Lemasters J. J., and Hackenbrock C. R. (1985) Membrane fluidity and mobility of ubiquinone, in *Coenzyme* Q (Lenaz G., ed), pp. 201-214. Wiley, Chichester.

70 Valtersson C., van Duijn G., Verkleij A. J., Chojnacki T., de Kruijff B., and Dallner G. (1985) The influence of dolichol, dolichol esters and dolichyl phosphate on phospholipid polymorphism and fluidity in model membranes. *J. Biol. Chem. 260,* 2742-2751.

71 van Duijn G., Verkleij A. J., de Kruijff B., Valtersson C., Dallner G., and Chojnacki T. (1987) Influence of dolichols on lipid polymorphism in model membranes and the consequences for phospholipid flip-flop and vesicle fusion. *Chemica Scripta 21, 95-100.*

72 Cullis P. R. and Hope M. J. (1985) Physical properties and functional roles of lipids in membranes, in *Biochemistry of Lipids and Membranes* (Vance D. E. and Vance J. E., eds), pp. 25-72. Benjamin/Cummings, Menlo Park.

73 Bloch K. (1985) Cholesterol: evolution of structure and function, in *Biochemistry of Lipids and Membranes* (Vance D. E. and Vance J. E., eds), pp. 1-24. Benjamin/Cummings, Menlo Park.

74 J. Leßig and B. Fuchs (2009). *Plasmalogens in Biological Systems: Their Role in Oxidative Processes in Biological Membranes, their Contribution to Pathological Processes and Aging and Plasmalogen Analysis.* Current Medicinal Chemistry, 16, 2021-2041.

75 Beth Kuczynski, Nicholas V. Reo (2006). *Evidence that Plasmalogen is Protective Against Oxidative Stress in the Rat Brain.* Neurochem Res (2006) 31:639–656 DOI 10.1007/s11064-006-9061-7.

76 Brosche, T.; Brueckmann, M.; Haase, K.K.; Sieber, C.; Bertsch, T. Decreased plasmalogen concentration as a surrogate marker of oxidative stress in patients presenting with acute coronary syndromes or supraventricular tachycardias. Clin. Chem. Lab. Med., 2007, 45, 689-691.

77 Zoeller, R.A.; Morand, O.H.; Raetz, C.H. A possible role for plasmalogens in protecting animal cells against photosensitized killing. J. Biol. Chem., 1988, 263, 11590-11596.

78 Erickson, N.E., Lands, W.E., 1959. Plasmalogen in the developing brain. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102, 512–514.

79 Farooqui, A.A., Horrocks, L.A., 2001. Plasmalogens: workhorse lipids of membranes in normal and injured neurons and glia. Neuroscientist 7, 232–245.

80 Brosche, T., Platt, D., 1998. The biological significance of plasmalogens in defense against oxidative damage. Exp. Gerontol. 33, 363–369.

81 Lessig, J., Fuchs, B., 2009. Plasmalogens in biological systems: their role in oxidative processes in biological membranes, their contribution to pathological processes and aging and plasmalogen analysis. Curr. Med. Chem. 16, 2021–2041.

82 Maeba, R., Maeda, T., Kinoshita, M., Takao, K., Takenaka, H., Kusano, J., Yoshimura, N., Takeoka, Y., Yasuda, D., Okazaki, T.

83 Teramoto, T., 2007. Plasmalogens in human serum positively correlate with high- density lipoprotein and decrease with aging. J. Atheroscler. Thromb. 14, 12–18.

84 Weisser, M., Vieth, M., Stolte, M., Riederer, P., Pfeuffer, R., Leblhuber, F., Spiteller, G., 1997. Dramatic increase of alpha-hydroxyaldehydes derived from plasmalogens in the aged human brain. Chem. Phys. Lipids 90, 135–142.

85 Weisser, M., Spiteller, G., 1996. Increase of aldehydic compounds derived from plasmalogens in the brain of aged cattle. Chem. Phys. Lipids 82, 173–178.

86 Smith, R.E.; Lespi, P.; Di Luca, M.; Bustos, C.; Marra, F.A.; de Alaniz, M.J.; Marra, C.A. A reliable biomarker derived from plasmalogens to evaluate malignancy and metastatic capacity of human cancers. Lipids, 2008, 43, 79-89.

87 Okamoto Y, Morishita J, Tsuboi K, Tonai T, Ueda N (February 2004). "Molecular characterization of a phospholipase D generating anandamide and its congeners". *The Journal of Biological Chemistry*. 279 (7): 5298–305.

88 Kazuhito Tsuboi, Toru Uyama, Yasuo Okamoto & Natsuo Ueda (2018). Endocannabinoids and related N-acylethanolamines: biological activities and metabolism. [online]. Available at: https://inflammregen.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41232-018-0086-5.

89 BOMSTEIN. R. A. (1965). *Biochem. biophys. Res. Commun*. il, 49-54

90 DAWSQN, R. M. C., CLARKE, N. and QUARLES, R. H. (1969). *Biochem. J*. 114, 265-270.

91 CLARKE, N. G., HAZLEWOOD, G. P. and DAWSON, R. M. C. (1976). *Chem. Phys. Lipids* 17, 222-232.

92 ELLINGSON, J. S. (1980). *Biochemistry* 19, 6176-6182.

93 GANLEY, 0. H., GRAESSLE, 0. E. and ROBINSON, H. J. J. (1958). *Lab. clin. Med*. 51, 709-714.

94 LONG, D. A. and MARTIN, A. J. P. (1956). *Lancer* I, 464-466.

95 KUEHL, JR., F. A., JACOB, T. A., GANLEY, 0. H., ORMOND, R. E. and MEISINGER, M. A. P. J. (1957). *Am. Chem. Sot.*79, 5511-5578.

96 WREN, J. J. and MERRYFIELD, D. S. (1965). *Biochim. biophys. Acta* 98, 589-597.

97 EPPS, D. E., NATARAJAN, V., SCHMID, P. C. and SCHMID, H. H. 0. *Biochim. biophys. Acra* 618,420-430 (1980).

98 EPPS, D. E., SCHMID, P. C., NATARAJAN, V. and SCHMID, H. H. 0. (1979). *Biochetn. biophys. Res. Commun.* 90, 628-633.

99 Wellner N, Diep TA, Janfelt C, Hansen HS. N-Acylation of phosphatidylethanolamine and its biological functions in mammals. Biochim Biophys Acta 2013;1831:652–62.

100 Young SG, Zechner R. Biochemistry and pathophysiology of intravascular and intracellular lipolysis. Genes Dev 2013;27:459–84.

101 Wellner N, Diep TA, Janfelt C, Hansen HS. N-Acylation of phosphatidyl-ethanolamine and its biological functions in mammals. Biochim Biophys Acta 2013;1831:652–62.

102 Harald S. Hansen, Karen Kleberg, Helle Adser Hassing (2015). *The Endocannabinoidome (Chapter 1 - Non-endocannabinoid N-Acylethanolamines and Monoacylglycerols: Old Molecules New Targets)*. Pages 1-13.

103 Leung D, Saghatelian A, Simon GM, Cravatt BF. Inactivation of N-acyl-phosphatidylethanolamine phospholipase D reveals multiple mechanisms for the biosynthesis of endocannabinoids. Biochemistry 2006;45:4720–6.

104 Tsuboi K, Okamoto Y, Ikematsu N, Inoue M, Shimizu Y, Uyama T, et al. Enzymatic formation of N-acyl-ethanolamines from N-acylethanolamine plasmalogen through N-acylphosphatidylethanolamine-hydrolyzing phospholipase D-dependent and -independent pathways. Biochim Biophys Acta 2011;1811:565–77.

105 Cravatt BF, Demarest K, Patricelli MP, Bracey MH, Giang DK, Martin BR, et al. Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:9371–6.

106 Bornheim LM, Kim KY, Chen B, Correia MA. The effect of cannabidiol on mouse hepatic microsomal cytochrome P450-dependent anandamide metabolism. Biochem Biophys Res Commun 1993;197:740–6.

107 Ueda, N., Tsuboi, K., & Uyama, T. (2015). Metabolic Enzymes for Endocannabinoids and Endocannabinoid-Like Mediators. The Endocannabinoidome, 111–135. doi:10.1016/b978-0-12-420126-2.00008-0.

108 Piscitelli, F. (2015). Endocannabinoidomics: "Omics" Approaches Applied to Endocannabinoids and Endocannabinoid-Like Mediators. The Endocannabinoidome, 137–152. doi:10.1016/b978-0-12-420126-2.00009-2

109 M. ARTAMONOV, O. ZHUKOV, I. SHUBA, L. STOROZHUK, T. KHMEL, V. KLIMASHEVSKY, A. MIKOSHA, N. GULA (2005). *INCORPORATION OF LABELLED N-ACYLETHANOLAMINE (NAE) INTO RAT BRAIN REGIONS IN VIVO AND ADAPTIVE PROPERTIES OF SATURATED NAE UNDER X-RAY IRRADIATION*. Укр. біохім. журнал, т.77, № 6.

110 Linda Rankin, Christopher J. Fowler (2020). The Basal Pharmacology of Palmitoylethanolamide. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21(21), 7942; *https://doi.org/10.3390/ijms21217942.*

111 Swamy, M. J., Tarafdar, P. K., & Kamlekar, R. K. (2010). *Structure, phase behaviour and membrane interactions of N-acylethanolamines and N-acylphosphatidylethanolamines. Chemistry and Physics of Lipids, 163(3), 266–279.*

112 Facci, L., Dal Toso, R., Romanello, S., Buriani, A., Skaper, S.D., Leon, A., 1995. Mast cells express a peripheral cannabinoid receptor with differential sensitivity to anandamide and palmitoylethanolamide. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92, 3376– 3380.

113 Hansen, H. S., Moesgaard, B., Hansen, H. H., & Petersen, G. (2000). N-Acylethanolamines and precursor phospholipids — relation to cell injury. Chemistry and Physics of Lipids, 108(1-2), 135–150. doi:10.1016/s0009-3084(00)00192-4.

114 Epps, D.E., Palmer, J.W., Schmid, H.H.O., Pfeiffer, D.R., 1982. Inhibition of permeability-dependent Ca2+ release from mitochondria by N-acylethanolamines, a class of lipids synthesized in ischemic heart tissue. J. Biol. Chem. 257, 1383–1391.

115 Parinandi, N.L., Schmid, H.H.O., 1988. Effects of long-chain N-acylethanolamines on lipid peroxidation in cardiac mitochondria. FEBS Lett. 237, 49–52.

116 Gulaya, N.M., Volkov, G.L., Klimashevsky, V.M., Goseeva, N.N., Melnik, A.A., 1989. Changes in lipid composition of neuroblastoma C1300 N18 cell during differentiation. Neuroscience 30, 153–164.

117 Гула Н. М., Косякова Г. В. (2003). *N-ацилетаноламіни (NAE): нові аспекти біологічної дії.* Медичний всесвіт №2.

118 A. G. Berdyshev, H. V. Kosiakova, N. M. Hula (2017). *Modulation of LPS-induced ROS production and NF-κB nuclear translocation by N-stearoylethanolamine in macrophages.* Ukr.Biochem.J.; Volume 89, Issue 5, Sep-Oct, pp. 62-69

119 I. A. Goudz, N. M. Gula, T. O. Khmel, T. M. Goridko, A. G. Berdyshev (2011). *Antioxidative effect of the N-stearoylethanolamine in the heart tissue and blood plasma of rats under doxorubicin treatment*. Ukr.Biochem.J.; Volume 83, Issue 6, Nov-Dec, pp. 86-91

120 O. S. Dziuba, Ie. A. Hudz, H. V. Kosiakova, T. M. Horid'ko, V. M. Klimashevsky, N. M. Hula (2018). *The effect of N-stearoylethanolamine on adipocytes free cholesterol content and phospholipid composition in rats with obesity-induced insulin resistance.* Ukr.Biochem.J.; Volume 90, Issue 5, Sep-Oct, pp. 81-90.

121 O. V. Onopchenko*, T. M. Horid'ko, H. V. Kosiakova, A. G. Berdyshev, V. M. Klimashevsky, N. M. Hula (2020) *The effect of N-stearoylethanolamine on the lipid composition of the rat testes and testosterone level during the early stages of streptozotocin-induced diabetes*. Ukr. Biochem. J.

122 O. V. Onopchenko, G. V. Kosiakova, V. M. Klimashevsky, N. M. Hula (2015). *The effect of N-stearoylethanolamine on plasma lipid composition in rats with experimental insulin resistance.* Ukr. Biochem. J., 2015, Vol. 87, N 1.

123 Horid'ko T. M. Preventive effect of N-stearoylethanolamine on memory disorders, blood and brain biochemical parameters in rats with experimental scopolamine-induced cognitive impairment / T. M. Horid'ko, H. V. Kosiakova, A. G. Berdyshev, O. F. Meged, O. V. Onopchenko, V. M. Klimashevsky, O. S. Tkachenko, V. R. Bazylianska, V. O. Kholin, K. O. Peschana // The Ukrainian Biochemical Journal. - 2018. - Vol. 90, № 6. - С. 97-109. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem_2018_90_6_13.

124 Горидько Т. М. Антистрес-ефекти н-стеароїлетаноламіну у щурів з хронічним соціальним стресом / Т. М. Горидько, Х. В. Косякова, А. Г. Бердишев, О. Ф. Мегед, Є. А. Гудзь, О. В. Онопченко, В. С. Асмолкова, В. М. Лозова, Є. В. Тукаленко, О. В., Тубалзева І. І. , Коваленко О. А., Макарчук М. Ю., Гула Н. М. Бондаренко // Український біохімічний журнал. - 2017. - Вип. 89, № 4. - С. 68-76. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem_2017_89_4_10.

125 M. ARTAMONOV, O. ZHUKOV, I. SHUBA, L. STOROZHUK, T. KHMEL, V. KLIMASHEVSKY, A. MIKOSHA, N. GULA (2005). *INCORPORATION OF LABELLED N-ACYLETHANOLAMINE (NAE) INTO RAT BRAIN REGIONS IN VIVO AND ADAPTIVE PROPERTIES OF SATURATED NAE UNDER X-RAY IRRADIATION*. Укр. біохім. журнал, т.77, № 6.

126 I. A. Goudz, N. M. Gula, T. O. Khmel, T. M. Goridko, Y. M. Bashta, R. R. Panchuk, R. S. Stoika, A. A. Ryabtseva, O. S. Zaichenko (2012). *Antitoxical effects of N-stearoylethanolamine in suspension and in nanocomposite complex in the organs of mice with the Lewis carcinoma under doxorubicin administration*. Ukr.Biochem.J.; Volume 84, Issue 4, Jul-Aug, pp. 61-69.

127 N. I. Levchuk, V. M. Pushkarev, O. I. Kovzun, A. S. Mikosha, N. M. Gula, M. D. Tronko (2012). Effect of N-stearoylethanolamine on the DNA fragmenta-

tion intensity in tumour and extratumoral tissues of the human adrenal cortex. Ukr.Biochem.J.; Volume 84, Issue 4, Jul-Aug, pp. 49-53.

128 Bligh E.G., Dyer W.I. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. – 1959.– № 37 (8). – P. 911 – 917.

129 Palmer F.B.St.C. The extraction of acidic phospholipids in organic solvent mixtures containing water // Biochim. Biophys. Acta.– 1971.–№ 231 (1).– P.134 – 144.

130 Vaskovsky V.E., Terekhova T.A. HPTLC of phospholipid mixtures containing phosphatidylglycerol. // J. High. Resol. Chromatogr. & C.C. – 1979. – № 2 (11).– P.671 – 672.

131 Svetashev V.I., Vaskovsky V.E A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. // J. Chromatogr. – 1972.– № 67.– P. 376 – 378.

132 Кейтс М. Техника липидологии./ Москва: Мир. - 1975.-322с.

133 Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholopid analysis. J. Chromatogr. 1975; 114: 129 – 141.

134 Vaskovsky V.E., Dembitzky V.M. Determination of plasmalogent contents of phospholipid classes by reaction micro-thin-layer chromatography // J. Chromatogr.-1975.-Vol.115.- P.645-647.

135 Carreau I.D., Dubaco I.P. Adaptation of a macro–scale method to the micro–scale for fatty acid methyl transeterification of a biological lipid extraction. // J. Chromatogr. – 1978. – № 151 (3) .– P. 384 – 390.

136 Juan Z. Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain / Z. Juan, L. Qiang // Protein Cell.– 2015. – № 6(4). – P. 254 – 264.

137 Martin MG, Perga S, Trovò L, Rasola A, Holm P, Rantamäki T, Harkany T, Castrén E, Chiara F, Dotti CG. Cholesterol loss enhances TrkB signaling in hippocampal neurons aging in vitro. Mol Biol Cell. 2008; 19(5):2101-12.

138 Naudí A, Cabré R, Jové M, Ayala V, Gonzalo H, Portero-Otín M, Ferrer I, Pamplona R. Lipidomics of human brain aging and Alzheimer's disease pathology. Int Rev Neurobiol. 2015; 122:133-89.

139 Paltauf F. Ether lipids in biomembranes. Chem Phys Lipids. 1994; 74(2):101-39.

140 Brodde A, Teigler A, Brugger B, Lehmann WD, Wieland F, Berger J, Just WW. Impaired neurotransmission in ether lipid-deficient nerve terminals. Hum Mol Genet. 2012; 21(12):2713-24.

141 Honsho M, Yagita Y, Kinoshita N, Fujiki Y. Isolation and characterization of mutant animal cell line defective in alkyl-dihydroxyacetonephosphate synthase: localization and transport of plasmalogens to post-Golgi compartments. Biochim Biophys Acta. 2008; 1783(10):1857-65.

142 Braverman NE, Moser AB. Functions of plasmalogen lipids in health and disease. Biochim Biophys Acta. 2012; 1822(9):1442-52.

143 Honsho M, Yagita Y, Kinoshita N, Fujiki Y. Isolation and characterization of mutant animal cell line defective in alkyl-dihydroxyacetonephosphate syn-

thase: localization and transport of plasmalogens to post-Golgi compartments. Biochim Biophys Acta. 2008; 1783(10):1857-65.

144 Nagan N, Zoeller RA. Plasmalogens: biosynthesis and functions. Prog Lipid Res. 2001; 40(3):199-229.

145 Loessner A, Alavi A, Lewandrowski KU, Mozley D, Souder E, Gur RE. Regional cerebral function determined by FDG-PET in healthy volunteers: normal patterns and changes with age. J Nucl Med. 1995; 36(7):1141-9.

146 Söderberg M, Edlund C, Kristensson K, Dallner G. Lipid compositions of different regions of the human brain during aging. J Neurochem. 1990; 54(2):415-23.

147 Горідько Т. М., Гула Н.М., Маргітич В. М., Говсеєва Н. М., Кліма-шевський В. М., Шагідулін М. Ю. Вивчення впливу N-пальмітоїлетаноламіну на склад фосфоліпідів та жирних кислот ішемізованої печінки щурів за реперфузії // Укр. біохім. журн. -2001. -73, №4. -С. 33-38.

148 Артамонов М. В. Модифікація фосфоліпідного складу тканини ізольованого серця щурів N-стеароїлетаноламіном (NSE) за гострої модельної ішемії-реперфузії // Укр. біохім. журн. -1999. -71, №5. -С.132-134.

149 Асмолкова В.С., Лавренчук Г.Й., Клімашевський В.М., Гула Н.М. Фосфоліпідний склад нормальних та трансформованих клітин, культивованих з N-ацилетаноламінами // Укр. біохім. журн. -2010. -82, №4. -С. 33-39.

150 Dziuba O.S., Hudz Ie. A., Kosiakova H. V., Horid'ko T. M., Klimashevsky V. M., Hula N. M. The effect of N-stearoylethanolamine on adipocytes free cholesterol content and phospholipid composition in rats with obesity-induced insulin resistance // Ukr. Biochem. J . -2018. - V. 90, N5. - P. 81 - 90.

151 Horid'ko T. M., Kosiakova H. V., Berdyshev A. G., Meged O. F., Onopchenko O. V., Klimashevsky V. M., Tkachenko O. S., Bazylianska V. R., Kholin V. O., Peschana K. O., Mykhalskiy S. A., Hula N. M. Preventive effect of N-stearoylethanolamine on memory disorders, blood and brain biochemical parameters in rats with experimental scopolamine-induced cognitive impairment // Ukr. Biochem. J . - 2018. - V. 90 , N6. - P. 97 - 109.

152 Бердишев А.Г., Косякова Г.В., Гула Н.М. In silico взаємодія N-стеароїлетаноламіну з PPAR/Матеріали XII Українського біохімічного конгресу. м.Тернопіль 30 вересня - 4 жовтня 2019 р. // Медична та клінічна хімія. -2019. -Т.21, №3(80)(додаток). - С. 158.

153 Onopchenko O., Berdyshev A., Kosiakova H., Hula N. PPAR/NF-kB – Dependent Mechanism of N-Stearoylethanolamine Anti-Inflammatory Action // Abstract book 16th International Conference of Biochemistry and Molecular Biology, Vancouver. – 2016 . – PP01.06.

154 Косякова Г.В., Бердишев А.Г., Ткаченко О.С., Досенко В.Є., Гула Н.М. Участь ядерних рецепторів (PPAR-gamma) у реалізації протизапальної дії N-стеароїлетаноламіну при моделюванні інсулінорезистентного стану в щурів/Матеріали XII Українського біохімічного конгресу. м.Тернопіль 30 ве-

ресня - 4 жовтня 2019 р. // Медична та клінічна хімія. -2019. -Т.21, №3(80)(додаток). - С. 200.

155 Terrazzino S. Stearoylethanolamide exerts anorexic effects in mice via down-regulation of liver stearoyl-coenzyme A desaturase-1 mRNA expression / S. Terrazzino, F. Berto, Carbonare. Dalle // FASEB J. – 2004. – 18, №13. – P. 1580–1582.

156 Dietschy JM, Turley SD. Cholesterol metabolism in the brain. Curr Opin Lipidol. 2001; 12(2):105-12.

157 Söderberg M, Edlund C, Kristensson K, Dallner G. Lipid compositions of different regions of the human brain during aging. J Neurochem. 1990; 54(2):415-23.

158 Thelen KM, Falkai P, Bayer TA, Lütjohann D. Cholesterol synthesis rate in human hippocampus declines with aging. Neurosci Lett. 2006; 403(1-2):15-9.

159 Martin MG, Perga S, Trovò L, Rasola A, Holm P, Rantamäki T, Harkany T, Castrén E, Chiara F, Dotti CG. Cholesterol loss enhances TrkB signaling in hippocampal neurons aging in vitro. Mol Biol Cell. 2008; 19(5):2101-12.

160 Juan Z. Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain / Z. Juan, L. Qiang // Protein Cell.– 2015. – № 6(4). – P. 254 – 264.

161 Волков Г. Л. Роль холестерин-зависимых регуляторных механизмов в стуктурнофункциональной организации биологических мембран / Г. Л. Волков // Автореферат дис..