

ОБМЕН СФИНГОЛИПИДОВ В ГИППОКАМПЕ И КОГНИТИВНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС: КОРРЕКЦИЯ С ПОМОЩЬЮ АЛИМЕНТАРНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ РЯДА *n-3*

Поступила 28.11.09

В работе изучали влияние длительного (в течение 60 дней) потребления двух-четырёхмесячными крысами 15 %-ного раствора этанола на обмен сфинголипидов в гиппокампе и когнитивные функции у таких животных. Установлено, что хроническое действие этанола приводило к снижению содержания вновь синтезированного сфингомиелина и увеличению уровня церамида и отношения церамид/сфингомиелин в гиппокампе; это сопровождалось значительным ухудшением условнорефлекторной деятельности крыс (тестирование рефлекса активного избегания в челночной камере). Введение в рацион животных, которые потребляли этанол, рыбьего жира, содержащего в себе значительное количество жирных кислот ряда *n-3*, в существенной степени препятствовало развитию нарушений обмена сфинголипидов и когнитивной функции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: этанол, алкоголизация, жирные кислоты ряда *n-3*, гиппокамп, сфингомиелин, церамид, когнитивные функции.

ВВЕДЕНИЕ

Сфинголипиды представляют собой важнейший класс биоактивных молекул. Они играют существенную структурную роль, а также участвуют в регуляции текучести клеточных мембран и формировании субдомениальной структуры их липидного бислоя [1]. Биологически активные сфинголипиды – церамид, глюкозилцерамид (ГЛЦ), сфингозин (СФЗ), СФЗ-1-фосфат – являются эффекторными молекулами, участвуя в индукции и регуляции апоптоза, пролиферации клеток и их миграции, а также влияя на процессы воспаления. Содержание церамидов в различных клетках резко увеличивается в условиях оксидативного стресса, развивающегося под действием различных токсических веществ, в частности этанола. Это предшествует развитию воспалительных реакций и гибели клеток в ряде тканей. Показано, что этанол при длительном воздействии индуцирует развитие нейродегенеративных процессов в мозгу мышей и крыс [2, 3] и апоптотические изменения нервных клеток и астроцитов

у человека [4, 5]. Гибели клеток в этих условиях предшествуют активация этанолом сфингомиелиназа, накопление церамида и активация ряда сигнальных путей (ERK, p38), вовлеченных в реализацию программы апоптоза. Длительное введение в организм молодых крыс этанола сопровождается существенным увеличением в коре мозга количественного соотношения проапоптотический липид (церамид) – пропролиферативный сфинголипид (ГЛЦ) и вызывает выраженное нарушение когнитивных функций [6]. До определенной стадии индуцированные этанолом нарушения обмена сфинголипидов в мозгу и условнорефлекторной деятельности у крыс остаются обратимыми. Введение алкоголизированным крысам кверцетина в заметной степени нормализует синтез сфингомиелина (СФМ) и ГЛЦ в коре головного мозга и (параллельно) когнитивные функции. Полагают, что нейропротекторное действие упомянутого препарата связано с его антиоксидантными свойствами и опосредуется увеличением уровня эндогенного ингибитора нейтральной сфингомиелиназы мозга – восстановленного глутатиона [7].

В ряде исследований была продемонстрирована нейропротекторная роль полиненасыщенных жир-

¹ НИИ биологии Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина, Харьков (Украина).

Эл. почта: babenko@univer.kharkov.ua (Н. А. Бабенко); yaroslava2611@yandex.ru (Я. А. Семенова).

ных кислот (ПНЖК) ряда *n*-3 [8–10]. Докозагексаеновая кислота (ДГК) и ее метаболиты (докозатриены, резолвины и протектины) предотвращают апоптоз нейронов головного мозга и сетчатки, обусловленный оксидативным стрессом [11, 12]. ДГК оказывает нейропротекторное действие прежде всего на нейронные системы гиппокампа и коры, в заметной мере предотвращая вызванную этанолом нейродегенерацию [13]. Введение в пищевой рацион людей с сердечно-сосудистыми заболеваниями (в частности, перенесших инфаркт миокарда) и экспериментальных животных ПНЖК ряда *n*-3, содержащихся в рыбьем жире, или же ДГК сопровождается снижением уровней индуктора апоптоза (церамида) в плазме крови и Т-лимфоцитах [14, 15]. ДГК, усиливая превращение церамида в глюкозилцерамид, снижает повышенный в результате действия N-ацетилсфингозина (С2-церамида) уровень эндогенных церамидов в нейронах фоторецепторов сетчатки и предотвращает гибель этих клеток [16].

ПНЖК ряда *n*-3 являются агентами, необходимыми для нормального развития головного мозга, поддержания процессов нейропластичности, адекватного протекания процессов обучения и памяти [17–19]. Под действием ДГК увеличивается текучесть синаптических мембран, что облегчает процесс нейротрансдукции. Эта жирная кислота влияет на экспрессию генов и процессы сигнальной трансдукции в нейронах. Полагают, что ПНЖК ряда *n*-3 обеспечивают нейропротекторное действие при травматическом и ишемическом повреждении мозга и в условиях алкогольной интоксикации. Данные нейропротекторные эффекты опосредуются стимуляцией экспрессии антиоксидантных ферментов (каталазы, глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы), усилением продукции нейротрофического фактора [20], ингибированием фосфолипазы А2 (ФЛА2) и усилением продукции провоспалительных цитокинов [20, 21].

Цитокины реализуют свое действие на клетки, активируя сфингомиелиновый цикл и увеличивая в клетках уровень церамида. Последний, в свою очередь, активирует ФЛА2. ПНЖК же ряда *n*-3 подавляют усиленную под действием этанола продукцию цитокинов и активацию ФЛА2 в клетках мозга. С учетом этого в настоящей работе мы изучали воздействие алиментарных ПНЖК ряда *n*-3, содержащихся в рыбьем жире, на обмен сфинголипидов в гиппокампе алкоголизованных крыс и когнитивные функции у данных животных.

МЕТОДИКА

Опыты были проведены с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1985), и национальных общих этических принципов экспериментов на животных (Киев, 2001). Использовали двухмесячных крыс-самцов линии Вистар массой 110–120 г. Контрольные крысы ($n = 12$) вплоть до четырехмесячного возраста содержались на стандартном рационе виария (количество белков по калорийности 12, жиров – 14 и углеводов – 74 %). Крысы экспериментальной группы ($n = 12$) в течение этих же 60 дней потребляли с питьевой водой этанол (15 %); шесть животных указанной группы дополнительно получали в течение 53 дней рыбий жир. Рацион данной группы по калорийности включал в себя 9 % белков, 32 % жиров и 59 % углеводов; общая калорийность использованной диеты превышала таковую в контрольной группе животных на 17 %. В эксперимент были предварительно отобраны животные, предпочитающие раствор этанола в чистой питьевой воде.

Содержание липидов в ткани гиппокампа. Животных умерщвляли после наркотизации диэтиловым эфиром. Мозг быстро извлекали, область гиппокампа выделяли на холоде (охлаждение льдом). Образцы ткани гиппокампа инкубировали в буфере Кребса–Хензеляйта (рН 7.5) в присутствии $^{14}\text{C}_3\text{COONa}$ (10 мкКи/мл) в течение 90 мин. Экстракцию липидов из гомогената ткани гиппокампа проводили по методу Блая и Дайера [22]. Экстракты липидов, предназначенные для анализа сфинголипидов, выпаривали в вакууме и инкубировали 60 мин при 37 °С в среде хлороформ – метанол (объемное соотношение – ОС – 1:1), к которой добавляли КОН (0.1 М) для обеспечения гидролиза ацилглицеролов [23]. Липиды вновь экстрагировали и разделяли на классы (СФМ, церамид, ГЛЦ и СФЗ) с использованием тонкослойной хроматографии на коммерческих пластинках Sorbfil («Сорбполимер», РФ) в системе растворителей хлороформ – этилацетат – изопропиловый спирт – метанол – 0.25 % КСl (ОС 25:25:25:10:9). Пятна СФМ, ГЛЦ и церамида на хроматограммах проявляли в парах йода. Пятна СФЗ проявляли путем обработки хроматограмм 3%-ным раствором нингидрина в насыщенном водной бутаноле и идентифицировали путем сравнения со стандартами. Радиоактивность

меченых липидов измеряли в сцинтилляционной жидкости с помощью счетчика радиоактивности БЕТА. Содержание общего белка определяли по методу Лоури [24].

Поведенческие характеристики экспериментальных животных. Условный рефлекс активного избегания (УРАИ) болевого раздражения вырабатывали в челночной камере с двумя отделениями и электрифицированным полом. Условным стимулом было включение электрической лампы (30 Вт); его предъявляли за 5 с до нанесения безусловного электроболевого раздражения конечностей (ток 0.8–1 мА, подаваемый через электродный пол попеременно то в одном, то в другом отделении). Как условнорефлекторные феномены рассматривали вызванные включением света переходы животного из одного отделения камеры в другое, если латентный период (ЛП) такой локомоторной реакции составлял менее 5 с.

Ежедневный сеанс обучения для каждого животного включал в себя 30 предъявлений условного сигнала с рандомизированными интервалами от 30 до 90 с. Обучение продолжалось до такого уровня воспроизведения УРАИ, когда животное выполняло девять условнорефлекторных переходов в ответ на 10 предъявлений условного сигнала. Ежедневно регистрировали количество условнорефлекторных реакций избегания и безусловных реакций избавления в пределах сеанса обучения, измеряли задержки выполнения этих рефлексов (с), а также оценивали общую продолжительность обучения до достижения выбранного критерия воспроизведения [25].

Эффекты потребления этанола и диеты с повышенным содержанием рыбьего жира в отношении содержания сфинголипидов в ткани гиппокампа

оценивали с использованием дисперсионного анализа и критерия Ньюмена – Кейлса; при оценке выработки УРАИ в челночной камере применяли непараметрический критерий Краскелла – Уоллиса. Критическое значение вероятности нулевой гипотезы принималось равным 5 %. Анализ данных производился с помощью пакета программ «STATISTICA 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованиях на целых организмах развивающихся крыс и мышей [2, 3], культурах срезов гиппокампа и коры головного мозга [13], а также на культурах нейронов [4] и астроцитов [5] было установлено, что этанол индуцирует интенсивный апоптоз и нейродегенеративные изменения. Гибели клеток, вызванной хроническим действием этанола, предшествует накопление известного индуктора апоптоза – церамида [4, 5].

Результаты наших экспериментов показали, что длительное потребление этанола молодыми крысами сопровождается увеличением содержания вновь синтезированного церамида в гиппокампе (табл. 1).

Основной источник церамида в клетках – СФМ. Активация кислой и нейтральной сфингомиелиназ под действием этанола является важной причиной накопления церамида в клетках нервной системы [5] и печени [26]. В наших опытах было обнаружено, что увеличение уровня меченого [¹⁴C]церамида происходит на фоне снижения содержания субстрата сфингомиелиназ – [¹⁴C]СФМ. Соотношение [¹⁴C]церамид/[¹⁴C]СФМ в гиппокампе алкоголизованных крыс по сравнению с таковым у контрольных животных повышалось (табл. 1). Полученные

Т а б л и ц а 1. Влияние пищевого рациона, обогащенного жирными кислотами ряда *n*-3, на синтез сфинголипидов и отношение церамид/сфингомиелин (СФМ) в гиппокампе алкоголизованных крыс

Т а б л и ц я 1. Вплив харчового раціону, збагаченого жирними кислотами ряду *n*-3, на синтез сфінголіпідів та відношення церамід/сфінгомелінін (СФМ) у гіпокампі алкоголізованих щурів

Условия эксперимента	СФМ	Церамид	Церамид/СФМ
Контроль	33.70 ± 2.11	21.19 ± 0.98	0.71 ± 0.08
Этанол	21.51 ± 2.54*	26.95 ± 2.74*	1.28 ± 0.12*
Этанол+рыбий жир	28.30 ± 1.53 ⁺	20.24 ± 1.25 ⁺	0.74 ± 0.06 ⁺

П р и м е ч а н и я. Приведены нормированные значения (%) количеств СФМ и церамидов (за 100 % принято общее содержание сфинголипидов). Звездочками отмечены случаи достоверных ($P < 0.05$) различий при сравнении с группой контрольных, крестиками – с группой алкоголизованных крыс.

данные, видимо, следует интерпретировать как свидетельство активации сфингомиелиназы и деградации СФМ в гиппокампе под влиянием длительного потребления животными этанола. Было показано, что введение этанола в культуральную среду для нейронов крыс линии CGN, а также клеток нейробластомы человека и мыши (SK-N-SH, Neuro2a) вызывает накопление церамида и инициирует церамидиндуцированную гибель клеток за счет подавления превращения сфинголипида в ГЛЦ [4]. Снижение содержания вновь синтезированного ГЛЦ и повышение соотношения церамид/ГЛЦ выявлялись в коре головного мозга крыс, длительное время потреблявших этанол [6].

Содержание в гиппокампе алкоголизованных крыс [¹⁴C]ГЛЦ и продукта деградации церамида ([¹⁴C]СФЗ), однако, не отличалось достоверно от такового у контрольных животных. Так, средние значения уровней радиоактивности, отражающие содержание ГЛЦ в гиппокампе контрольных и опытных животных, составляли 436 ± 34 и 355 ± ± 41.5 имп/мин на 1 мг белка соответственно. Содержание СФЗ в гиппокампе контрольных и опытных крыс составляло 412 ± 33 и 496 ± 40 имп/мин на 1 мг белка соответственно.

В экспериментах на животных было установлено, что длительное потребление этанола, приводящее к гибели нейронов гиппокампа, обуславливает снижение подвижности нервных процессов, усиление процессов торможения, подавление двигательной условнорефлекторной активности и снижение способности к обучению [27, 28]. Результаты тестирования условнорефлекторной деятельности, проведенного в настоящей работе, показали, что межгрупповые различия спонтанной моторной активности исследуемых четырехмесячных крыс в

период их адаптации к обстановке челночной камеры не достигали уровня значимости. Среднее количество спонтанных переходов из отсека в отсек в пределах пятиминутного периода наблюдения составляло 8.67 ± 1.12, 9.0 ± 1.65 и 13.13 ± 2.66 в контрольной группе животных и у крыс, потреблявших этанол или этанол и рыбий жир соответственно.

Когнитивные функции животных, хронически потреблявших алкоголь, явно снижались по сравнению с таковыми в контроле. Так, число сочетаний раздражений, необходимое для достижения критерия воспроизводимости УРАИ в группе крыс, получавших этанол, было значительно выше, чем в контрольной группе (табл. 2). Число актов активных избеганий в челночной камере в группе крыс, получавших этанол, в первый день эксперимента снижалось по сравнению с соответствующим показателем у контрольных крыс (см. рисунок, А). На третий день эксперимента по выработке УРАИ ЛП реакции избегания у алкоголизованных крыс были значительно большими, чем в контрольной группе (см. рисунок, Б).

Таким образом, мы установили, что потребление этанола в выбранной дозе заметно нарушает метаболизм сфинголипидов в гиппокампе четырехмесячных крыс, вызывая изменения липидного обмена, сходные с возрастными. Происходит снижение уровня СФМ в упомянутой структуре ЦНС на фоне повышения уровня церамида [29–31]. Алкоголь индуцирует метаболические преобразования сфинголипидов, особо важных для обеспечения адекватности структуры и функции нервной ткани. Это может являться одной из основных причин нарушения условнорефлекторной деятельности у алкоголизованных животных.

Т а б л и ц а 2. Влияние пищевого рациона, обогащенного жирными кислотами ряда *n-3*, на когнитивные функции алкоголизованных крыс

Т а б л и ц я 2. Вплив харчового раціону, збагаченого жирними кислотами ряду *n-3*, на когнітивні функції алкоголізованих щурів

Число предъявлений условных и безусловных раздражителей	Контроль	Этанол	Этанол + + рыбий жир
До появления первого условного рефлекса активного избегания (УРАИ)	20.78 ± 5.55	25.0 ± 5.75	7.86 ± 3.7 ⁺
До достижения критерия воспроизводимости УРАИ	83.56 ± 9.29	124.29 ± 15.9 [*]	67.71 ± 15.4 ⁺

Пр и м е ч а н и е. Обозначения те же, что и в табл. 1.

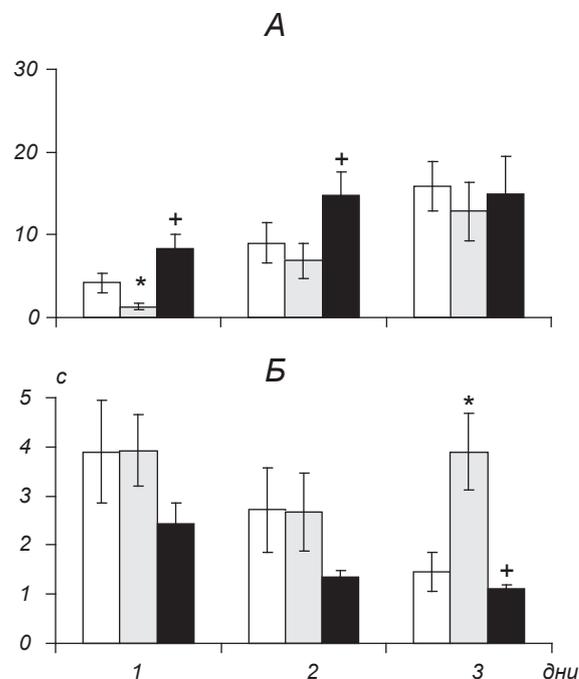
Учитывая то, что усиленное поступление в организм ПНЖК ряда *n-3* положительно воздействует на процессы нейротрансмиссии и продукцию цитокинов, усиливает экспрессию нейротрофического фактора мозга, повышает в целом функциональную активность нейронов и их сетей и защищает мозг при различных стрессорных воздействиях, мы посвятили следующую серию экспериментов изучению возможности коррекции негативного действия этанола на обмен сфинголипидов и когнитивные функции крыс путем добавления в рацион рыбьего жира, содержащего в себе значительные количества этих кислот.

При совместном потреблении экспериментальными животными этанола и рыбьего жира, являющегося источником ДГК и эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК), содержание изученных сфинголипидов в гиппокампе почти не отличалось от такового у контрольных животных (табл. 1). В гиппокампе крыс, получавших дополнительно рыбий жир, содержание вновь синтезированного церамида, увеличенное под действием этанола, оказалось более низким, чем у алкоголизованных животных. В то же время уровень СФМ в гиппокампе алкоголизованных крыс, у которых рацион включал в себя рыбий жир, было более высоким, чем у контрольных животных. Отношение [^{14}C]церамид/[^{14}C]СФМ в гиппокампе алкоголизованных крыс, которые содержались на диете, обогащенной рыбьим жиром, практически соответствовало таковому у контрольных крыс и было заметно более низким, чем аналогичное отношение в гиппокампе животных, потреблявших этанол, но не получавших жир (табл. 1). Приведенные данные свидетельствуют о том, что наличие рыбьего жира в пищевом рационе нормализует обмен сфинголипидов в гиппокампе алкоголизованных крыс. По-видимому, это происходит прежде всего за счет подавления активности сфингомиелиназ.

Параллельно с коррекционными изменениями обмена сфинголипидов в гиппокампе упомянутых крыс под действием потребления рыбьего жира происходила определенная нормализация условно-рефлекторной деятельности данных животных. Количества последовательных сочетаний раздражений до появления первой УРАИ и до достижения выбранного критерия воспроизводимости такой реакции в группе крыс, получавших этанол и рыбий жир, было значительно более низким, чем аналогичные показатели в группе животных, получавших только этанол (табл. 2). Число активных из-

беганий в челночной камере в группе, получавшей этанол на фоне обогащенной рыбьим жиром диеты, в первый и второй дни эксперимента значительно превышало соответствующие значения у алкоголизованных животных (см. рисунок, А). На третий день эксперимента по выработке УРАИ у животных, потреблявших рыбий жир, отмечались значительно меньшие ЛП реакции избегания по сравнению с таковыми в алкоголизованной группе (см. рисунок, Б).

Известно, что под влиянием этанола содержание в мозгу, печени и сыворотке крови провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли альфа – ФНО α), интерлейкина-1 бета (ИЛ-1 β)) увеличива-



Влияние пищевого рациона, обогащенного жирными кислотами ряда *n-3*, на число активных избеганий (А) и латентные периоды (с) реакции избегания (Б) у четырехмесячных крыс.

Данные представлены в виде средних значений \pm ошибка среднего ($M \pm s.e.m.$). Белые, заштрихованные и черные столбцы – показатели для контрольной и алкоголизованной групп, а также группы крыс, получавшей, кроме этанола, рыбий жир, соответственно. По оси абсцисс – дни тестирования; по оси ординат – число активных избеганий в пределах интервала наблюдения (А) и длительность латентного периода (Б), с. Звездочками отмечены случаи статистически значимых различий при сравнении крыс контрольной и алкоголизованной групп, крестиками – случаи статистически значимых различий при сравнении крыс алкоголизованной группы и группы, получавшей, кроме этанола, рыбий жир ($P = 0.032$).

Вплив харчового раціону, збагаченого жирними кислотами ряду *n-3*, на кількість активних уникань (А) та латентні періоди реакції уникання (Б) у чотиримісячних щурів.

ется; это происходит не только при хроническом, но и при однократном потреблении этанола [32]. Если в сыворотке крови и печени уровень цитокинов нормализуется относительно быстро, то в мозгу после прекращения потребления этанола он остается длительное время повышенным. На клетках самых различных типов было показано, что ФНО α и ИЛ-1 β реализуют свое действие в значительной степени посредством стимуляции сфингомиелинового цикла и накопления церамида [33, 34]. Этанол также снижает в клетках уровень глутатиона – ингибитора нейтральной сфингомиелиназы [35]. С учетом этого можно полагать, что в наших условиях эксперимента индуцированные этанолом изменения обмена сфинголипидов в гиппокампе были опосредованы действием данного агента на продукцию цитокинов, окислительно-восстановительный статус и активность сфингомиелиназы. Поскольку нейропротекторное действие ДГК и ЭПК во многом зависит от стимуляции экспрессии антиоксидантных ферментов и подавления продукции провоспалительных цитокинов [21], установленная в настоящей работе нормализация обмена сфинголипидов в гиппокампе алкоголизованных крыс под действием ПНЖК рыбьего жира может происходить как за счет подавления активности сфингомиелиназ, так и в результате снижения продукции индукторов данного фермента – цитокинов.

В заключение следует отметить, что в настоящей работе впервые было продемонстрировано модулирующее действие ПНЖК ряда *n-3*, вводимых в состав пищевого рациона, на обмен сфинголипидов в гиппокампе алкоголизованных крыс. Учитывая то, что церамид индуцирует воспалительные явления и гибель клеток, его излишнее накопление в гиппокампе в условиях хронического потребления этанола представляется важным фактором, обуславливающим нарушения условнорефлекторной деятельности крыс. Длительное содержание алкоголизованных экспериментальных животных на диете, обогащенной рыбьим жиром, не только нормализовало содержание важных компонентов рафтов клеточных мембран – СФМ и церамида – в ткани гиппокампа, но и значительно улучшало способности животных, потреблявших этанол, к обучению. Учитывая важную роль нарушений метаболизма церамидов в процессе нейродегенерации и индукции когнитивной дисфункции [29, 36, 37], можно полагать, что ПНЖК ряда *n-3*, поступающие с пищевым рационом, способны в заметной степени препятствовать нарушению функций гип-

покампа, в определенной мере нивелируя негативное действие этанола на обмен сфинголипидов.

Н. О. Бабенко¹, Я. О. Семенова¹

ОБМІН СФІНГОЛІПІДІВ У ГІПОКАМПІ ТА КОГНІТИВНА ДИСФУНКЦІЯ В АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ: КОРЕКЦІЯ ЗА ДОПОМОГОЮ АЛІМЕНТАРНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ РЯДУ *n-3*

¹ НДІ біології Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна, Харків (Україна).

Резюме

У роботі вивчали вплив тривалого (протягом 60 днів) споживання дво-чотиримісячними щурятами 15 %-вого розчину етанолу на обмін сфінголіпідів у гіпокампі та когнітивні функції у таких тварин. Встановлено, що хронічна дія етанолу призводила до зниження вмісту новосинтезованого сфінгомієліну та збільшення рівня цераміду і співвідношення церамід/сфінгомієлін у гіпокампі; це супроводжувалося значним погіршенням умовнорефлекторної діяльності щурів (тестування рефлексу активного уникання в човниковій камері). Уведення в раціон тварин, що споживали етанол, рибачого жиру, який вміщує значну кількість жирних кислот ряду *n-3*, в істотній мірі перешкоджало розвитку порушень обміну сфінголіпідів і когнітивних функцій.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Y. A. Hannun and L. M. Obeid, "Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids," *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **9**, No. 2, 139-150 (2008).
2. C. Ikonomidou, P. Bittigau, M. J. Ishimaru, et al., "Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome," *Science*, **287**, No. 5455, 1056-1060 (2000).
3. J. W. Olney, T. Tenkova, K. Dikranian, et al., "Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in the developing C57BL/6 mouse brain," *Brain Res. Dev. Brain Res.*, **133**, No. 2, 115-126 (2002).
4. M. Saito, M. Saito, T. B. Cooper, et al., "Ethanol-induced changes in the content of triglycerides, ceramides and glucosylceramides in cultured neurons," *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **29**, No. 8, 1374-1383 (2005).
5. M. Pascual, S. L. Valles, J. Renau-Piqueras, et al., "Ceramide pathways modulate ethanol-induced cell death in astrocytes," *J. Neurochem.*, **87**, No. 6, 1535-1545 (2003).
6. Н. А. Бабенко, Е. Г. Шахова, "Коррекция кверцетином когнитивной функции и обмена сфинголипидов в коре головного мозга крыс", *Эксперим. клин. медицина*, № 2, 62-65 (2008).
7. C. S. Patil, V. P. Singh, P. S. Satyanarayan, et al., "Protective effect of flavonoids against aging- and lipopolysaccharide-induced cognitive impairment in mice," *Pharmacology*, **69**, No. 2, 59-67 (2003).

8. M. Okada, T. Amamoto, M. Tomonaga, et al., "The chronic administration of docosahexaenoic acid reduces the spatial cognitive deficit following transient forebrain ischemia in rats," *Neuroscience*, **71**, 17-25 (1996).
9. M. Martinez, E. Vazquez, M. T. Garcia-Silva, et al., "Therapeutic effects of docosahexaenoic acid ethyl ester in patients with generalized peroxisomal disorders," *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**, 376-385 (2000).
10. F. Calon, G. P. Lim, F. Yang, et al., "Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model," *Neuron*, **43**, 633-645 (2004).
11. A. J. Sinclair, D. Begg, M. Mathai, et al., "Omega 3 fatty acids and the brain: review of studies in depression," *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, **16**, Suppl. 1, 391-397 (2007).
12. P. M. Kidd, "Omega-3 DHA and EPA for cognition, behavior, and mood: clinical findings and structural-functional synergies with cell membrane phospholipids," *Alt. Med. Rev.*, **12**, No. 3, 207-227 (2007).
13. J. Brown, N. Achille, E. J. Neafsey, et al., "Binge ethanol-induced neurodegeneration in rat organotypic brain slice cultures: effects of PLA2 inhibitor mepacrine and docosahexaenoic acid (DHA)," *Neurochem. Res.*, **34**, No. 2, 260-267 (2009).
14. C. A. Jolly, Y. H. Jiang, R. S. Chapkin, et al., "Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion, and the formation of diacylglycerol and ceramide," *J. Nutr.*, **12**, No. 1, 37-43 (1997).
15. M. Lankinen, U. Schwab, A. Erkkila, et al., "Fatty fish intake decreases lipids related to inflammation and insulin signaling—a lipidomics approach," *PLoS One*, **4**, No. 4, e5258 (2009).
16. O. L. German, G. E. Miranda, C. E. Abraham, et al., "Ceramide is a mediator of apoptosis in retina photoreceptors," *Invest. Ophthalmol. Vision. Sci.*, **47**, No. 4, 1658-1668 (2006).
17. S. Chalon, S. Delion-Vancassel, C. Belzung, et al., "Dietary fish oil affects monoaminergic transmission and behavior in rats," *J. Nutr.*, **128**, 2512-2519 (1998).
18. T. Moriguchi, R. S. Greiner, and N. Salem Jr., "Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration," *J. Neurochem.*, **75**, 2563-2573 (2000).
19. S. M. Innis, "Dietary (n-3) fatty acids and brain development," *J. Nutr.*, **137**, No. 4, 855-859 (2007).
20. A. Wu, Z. Ying, and F. Gomez-Pinilla, "Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats," *J. Neurotrauma*, **21**, No. 10, 1457-1467 (2004).
21. R. M. Adibhatla and J. F. Hatcher, "Altered lipid metabolism in brain injury and disorders," *Subcell. Biochem.*, **49**, 241-268 (2008).
22. E. G. Bligh and W. J. Dyer, "A rapid method of total lipid extraction and purification," *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, No. 8, 911-917 (1959).
23. C. J. Lauter and E. G. Trams, "On the isolation and characterization of gangliosides," *J. Lipid. Res.*, **3**, 135-138 (1962).
24. O. N. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, et al., "Protein measurement with the folin phenol reagent," *J. Lipid. Res.*, **193**, 365-375 (1951).
25. Я. Буреш, О. Бурешова, П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высш. шк., Москва (1991).
26. J. J. Liu, J. Y. Wang, E. Hertvig, et al., "Activation of neutral sphingomyelinase participates in ethanol-induced apoptosis in Hep G2 cells," *Alcohol Alcohol.*, **35**, 569-573 (2000).
27. Э. Н. Попова, В. Б. Полянский, К. А. Никольская и др., *Мозг и алкоголь*, Наука, Москва (1984).
28. N. V. Lukoyanov, F. Brandro, A. Cadete-Leite, et al., "Synaptic reorganization in the hippocampal formation of alcohol-fed rats may compensate for functional deficits related to neuronal loss," *Alcohol*, **20**, No. 2, 139-148 (2000).
29. R. G. Cutler, J. Kelly, K. Storie, et al., "Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, No. 7, 2070-2075 (2004).
30. N. Babenko and E. Shachova, "Effects of Chamomilla recutita flavonoids on age-related liver sphingolipid turnover in rats," *Exp. Gerontol.*, **41**, 32-39 (2005).
31. Л. Хасунех, Я. О. Семенова, О. А. Красильникова та ін., "Вікові особливості вмісту сигнальних ліпідів у печінці та мозку щурів", *Фізіол. журн.*, **52**, № 6, 79-84 (2006).
32. L. Qin, J. He, R. N. Hanes, et al., "Increased systemic and brain cytokine production and neuroinflammation by endotoxin following ethanol treatment," *J. Neuroinflamm.*, **5**, 10 (2008).
33. Y. Zhang and R. Kolesnick, "Signaling through the sphingomyelin pathway," *Endocrinology*, **136**, 4157-4160 (1995).
34. H. Kanety, R. Feinstein, M. Z. Papa, et al., "Tumor necrosis factor alpha-induced phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1). Possible mechanism for suppression of insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of IRS-1," *J. Biol. Chem.*, **270**, 23780-23784 (1995).
35. G. Addolorato, A. Gasbarrini, S. Marcocchia, et al., "Prenatal exposure to ethanol in rats: effects on liver energy level and antioxidant status in mothers, fetuses, and newborns," *Alcohol*, **14**, No. 6, 569-573 (1997).
36. S. Patil, J. Melrose, and C. Chan, "Involvement of astroglial ceramide in palmitic acid-induced Alzheimer-like changes in primary neurons," *Eur. J. Neurosci.*, **26**, No. 8, 2131-2141 (2007).
37. L. Puglielli, B. C. Ellis, A. J. Saunders, et al., "Ceramide stabilizes beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 and promotes amyloid beta-peptide biogenesis," *J. Biol. Chem.*, **278**, No. 22, 19777-19783 (2003).