

... ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ...
... PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ...

УДК: 615.2/.3:577.115:[591.143+591.175]:591.139

Модуляція вікових порушень вмісту сфінголіпідів у тканинах щурів за допомогою інгібування нейтральної сфінгомієлінази
Н.А.Бабенко, О.А.Тимофійчук, А.Х.М.Хассунех*Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, НИИ биологии (Харьков, Украина)*
olga.timofijchuk@gmail.com

Активация метаболизма сфинголипидов и накопление церамида характерно для клеток в старости и является важной предпосылкой развития целого ряда возраст-зависимых патологических состояний организма. Учитывая то, что нейтральная сфингомиелиназа является одним из ключевых ферментов обмена сфинголипидов, а GSH и его предшественник N-ацетилцистеин подавляют активность данного фермента, мы изучали влияние N-ацетилцистеина на содержание церамида и сфингомиелина в сыворотке крови, икроножной мышце и почках крыс 24-месячного возраста. Установлено, что N-ацетилцистеин приводит к накоплению негативного регулятора нейтральной сфингомиелиназы (GSH), что индуцирует снижение массы церамида и накопление сфингомиелина в тканях старых крыс. Наиболее чувствительными к действию препарата оказались икроножная мышца и почки. Полученные результаты свидетельствуют о том, что N-ацетилцистеин является эффективным модулятором содержания сфинголипидов. Возрастные изменения содержания сфингомиелина и церамида во многом определяются активацией нейтральной сфингомиелиназы в процессе старения.

Ключевые слова: *сфингомиелин, церамид, нейтральная сфингомиелиназа, N-ацетилцистеин, старение.*

Модуляція вікових порушень вмісту сфінголіпідів у тканинах щурів за допомогою інгібування нейтральної сфінгомієлінази
Н.О.Бабенко, О.О.Тимофійчук, А.Х.М.Хассунех

Активация метаболизма сфинголипидов и накопление церамида характерно для клеток в старости та є важливою передумовою розвитку цілого ряду залежних від віку патологічних станів організму. Враховуючи те, що нейтральна сфінгомієліназа є одним із ключових ферментів обміну сфінголіпідів, а GSH і його попередник N-ацетилцистеїн пригнічують активність даного ферменту, ми вивчали вплив N-ацетилцистеїну на вміст цераміду та сфінгомієліну у сироватці крові, литковому м'язі та нирках щурів 24-місячного віку. Встановлено, що N-ацетилцистеїн викликає накопичення негативного регулятора нейтральної сфінгомієлінази (GSH), що індукує зниження маси цераміду та накопичення сфінгомієліну у тканинах старих щурів. Найбільш чутливими до дії препарату виявились литковий м'яз і нирки. Отримані результати свідчать про те, що N-ацетилцистеїн є ефективним модулятором вмісту сфінголіпідів. Вікові зміни вмісту сфінгомієліну та цераміду багато в чому визначаються активацією нейтральної сфінгомієлінази у процесі старіння.

Ключові слова: *сфінгомієлін, церамід, нейтральна сфінгомієліназа, N-ацетилцистеїн, старіння.*

Modulation of age-associated changes in sphingolipid content in rat tissues by neutral sphingomyelinase inhibition
N.A.Babenko, O.A.Timofiychuk, A.Kh.M.Hassouneh

The increased sphingolipid metabolism and ceramide accumulation in old cells are associated with the age-dependent pathology. Taking in account that neutral sphingomyelinase is a key enzyme of sphingolipid turnover, enzyme inhibitor effect on sphingolipids contents in blood serum, gastrocnemius muscle and kidney of old rats have been investigated. The administration of N-acetylcysteine to 24-month-old rats increased sphingomyelin and glutathione contents and decreased ceramide level in the tissues. Gastrocnemius muscle and kidney are most sensitive to N-acetylcysteine action. These results suggest that the neutral sphingomyelinase plays a key role in the age-associated ceramide accumulation in rat tissues.

Key words: *sphingomyelin, ceramide, neutral sphingomyelinase, N-acetylcysteine, aging.*

Введение

Сфинголипиды (СФЛ) – важные структурные компоненты биологических мембран, которые являются предшественниками активных метаболитов, выполняющих роль медиаторов клеточного сигнала в процессах пролиферации, дифференциации, роста клеток, воспаления, онкогенеза и старения (Bartke, Hannun, 2009). Критическая роль в регуляции клеточных процессов через сигнальный сфингомиелиновый (СФМ) путь принадлежит именно церамиду, который, являясь вторичным мессенджером, обладает антипролиферативными свойствами, модулирует фосфорилирование различных белков и является индуктором апоптоза (Hannun, Obeid, 2002).

Известно, что действие ряда внеклеточных стимулов, таких как: фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкин- 1β , интерферон- γ (Pfeilschifter, Huwiler, 2000) и оксидативный стресс (Gulbins, Li, 2006) в клетках различных тканей эукариотического организма индуцируют обмен СФЛ, что приводит к накоплению церамида. Кроме синтеза церамида *de novo* в эндоплазматическом ретикулуме при участии серин-пальмитоил-КоА-трансферазы и церамидсинтазы (Hanada, 2003), значительная его часть образуется в результате гидролиза фосфодиефирной связи СФМ плазматических мембран, катализируемого сфингомиелиназами (СФМазами) (Perrotta, Clementi, 2009). Установлено, что аккумуляция церамида сопровождается индукцией апоптоза как посредством активации специфических протеаз, в частности каспазы-3 и 9 (Ravid et al., 2003), так и через кластеризацию таких мембранных рецепторов, как CD95/Fas (Gulbins, Li, 2006).

Одним из ключевых ферментов в регуляции обмена СФМ является нейтральная Mg^{2+} -зависимая СФМаза (нСФМаза) (Wu et al., 2010), активность которой значительно возрастает в процессе старения (Petkova et al., 1988). По мнению ряда исследователей (Levy et al., 2006; Jana, Pahan, 2007; Liu, Hannun, 1997), экспрессия данного фермента ассоциирована с высоким уровнем оксидативного стресса на поздних стадиях постнатального онтогенеза, т.е. именно нСФМаза специфично активируется реактивными формами кислорода, в частности H_2O_2 . Кроме того, Filosto и соавторы (Filosto et al., 2010) показали, что нСФМаза является фосфопротеином, активность которого регулируется посредством дефосфорилирования специфической фосфатазой. Каталитический статус последней, в свою очередь, модулируется при действии на клетку оксидативного стресса.

В исследованиях *in vivo* и *in vitro* (Rahman et al., 1995; Liu, Hannun, 1997; Yoshimura et al., 1999; Rutkute et al., 2007) было показано, что как восстановленная (GSH) и окисленная формы глутатиона (GSSG), так и его предшественник N-ацетилцистеин (NAC) являются эффективными регуляторами активности нСФМазы. Полагают, что именно GSH является негативным аллостерическим ингибитором нСФМазы (Liu, Hannun, 1997). Так, в экспериментах на культуре гепатоцитов (Rahman et al., 1995) и кардиомиоцитов (Hernandez et al., 2000) было продемонстрировано дозозависимое подавление активности нСФМазы при помощи и GSH, и NAC. Поэтому ингибирование нСФМазы и изменение содержания СФЛ в разных типах клеток может играть ключевую роль в предотвращении индуцированного рядом внеклеточных стимулов, а также оксидативным стрессом апоптоза.

Таким образом, способность NAC ингибировать активность нСФМазы позволяет нам предположить возможность коррекции при помощи данного препарата возрастных изменений метаболизма СФЛ, которые играют важную роль в развитии возрастных патологий. Поэтому целью данного исследования была коррекция возраст-зависимых нарушений содержания СФМ и церамида в различных морфофункциональных типах тканей старых крыс линии Wistar посредством ингибирования нСФМазы при помощи NAC.

Объекты и методы исследования

В работе использовали интактных крыс-самцов линии Wistar 3- и 24-месячного возраста, содержащихся в стандартных условиях вивария Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина. Старые животные опытной группы получали перорально NAC (Sigma-Aldrich, Германия) в дозировке 3 мг/кг в течение 18 суток. Контрольная группа крыс 24-месячного возраста в это же время получала 1%-ый раствор глюкозы. Животных наркотизировали диэтиловым эфиром. После декапитации крыс кровь собирали для получения сыворотки. Из брюшной полости извлекали почки, с задних конечностей выделяли икроножную мышцу. С выделенных тканей удаляли видимый жир и фасцию. После чего ткани замораживали в жидком азоте и гомогенизировали.

Экстракцию сфинголипидов из сыворотки крови, почек и скелетных мышц выполняли методом Bligh и Dyer (1959). Фракционирование индивидуальных представителей липидов проводили методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля (пластины Sorbfil,

АО «Сорбполимер», Россия) в системе растворителей: диэтиловый эфир [система 1] и хлороформ : метанол : вода (40:10:1, об/об) [система 2] (Кейтс, 1975). Пятна липидов проявляли в парах йода и идентифицировали, сравнивая со стандартами (Финдлей, Эванз, 1990). Количественное определение содержания липидов в пробах проводили по методу, описанному ранее (Babenko, Kharchenko, 2012). Содержание белка – методом Lowry и соавторов (Lowry et al., 1951). Определение содержания GSH в тканях крыс проводили методом (Прохорова, 1982). Результаты экспериментов представлены как среднее арифметическое \pm стандартная ошибка. Для сравнения данных содержания липидов контрольной и опытной групп использовали однофакторный дисперсионный анализ one-way Anova и t-критерий Стьюдента. Различия между группами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В данной работе было показано, что в процессе постнатального онтогенеза содержание СФМ значительно снижается, а церамида – повышается в различных типах тканей крыс в сравнении с молодыми животными (рис. 1).

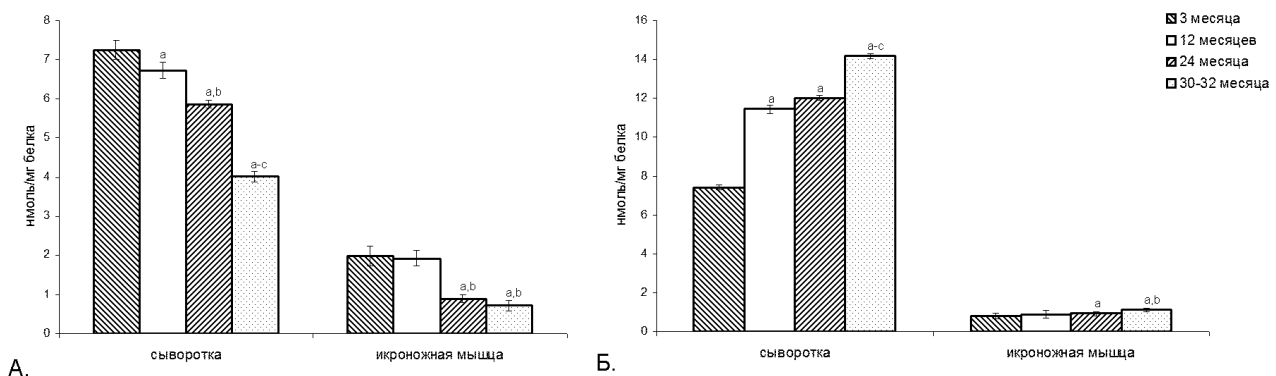


Рис. 1. Возрастные особенности содержания СФЛ в тканях крыс

Примечания: А. – содержание СФМ; Б. – содержание церамида; а – достоверно в сравнении с животными 3-месячного возраста; b – достоверно в сравнении с животными 12-месячного возраста; с – достоверно в сравнении с животными 24-месячного возраста, $p < 0,05$.

Установлено достоверное снижение уровня СФМ (рис. 1.А) в икроножной мышце 24-месячных животных в сравнении с молодыми крысами, который остается неизменным вплоть до 30–32-месячного возраста. В свою очередь, в сыворотке крови снижение массы липида было отмечено уже у 12-месячных крыс в сравнении с животными 3-месячного возраста. На последующих стадиях постнатального развития (до 32 месяцев) наблюдается достоверное снижение содержания СФМ в сыворотке крови по отношению к 3-месячным животным. Следует отметить, что наиболее выраженное снижение содержания СФМ было характерно для икроножной мышцы, поскольку у 32-месячных крыс базальный уровень СФМ на 64% ниже такового 3-месячных животных.

Достоверное накопление церамида в скелетной мышечной ткани было отмечено у крыс 24-месячного возраста, в то время как в сыворотке крови – уже в 12-месячном возрасте в сравнении с молодыми животными (рис. 1.Б). На последующих стадиях постнатального онтогенеза (30–32 месяца) масса церамида в исследуемых типах тканей остается неизменной в сравнении с 24-месячными животными.

Рядом исследований (Stratford et al., 2004; Pickersgill et al., 2007) было показано, что повышение уровня церамида в клетках скелетной мышечной ткани провоцирует развитие инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа, наиболее часто возникающих в пожилом возрасте и в старости. Полагают, что развитие данной возрастной патологии обусловлено тем, что церамид ингибирует вызванную инсулином транслокацию протеинкиназы В в мембраны (Straczkowski, Kowalska, 2008) и подавляет активность фосфолипазы Д, связываясь с каталитическим ядром фермента либо за счет нарушения связывания липазы с кофакторами: фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфатом и Rho (Mansfield et al., 2004).

Изменение соотношения церамид/СФМ в клетках является важным показателем активности СФМаз. Повышение соотношения церамид/СФМ в тканях в процессе старения организма, показанное

в данном исследовании (табл. 1), может вызывать усиление чувствительности клеток к действию апоптотических сигналов, а относительное повышение содержания церамида может индуцировать гибель клеток как апоптотическим, так и некротическим путем (Hannun, Obeid, 2002). Кроме того, полагают, что активация церамидом каспазы-3 обуславливает повреждения не только ядерных, но и миофибриллярных белков, что вызывает нарушение функциональных свойств мышечной ткани, в частности сократимости (Communal et al., 2002). Церамид может способствовать снижению величины силы сокращения, работы, которую совершает мышца, мощности, развиваемой ею при работе, а также ее выносливости (Nikolova-Karakashian, Reid, 2011). Таким образом, весь этот комплекс атрофических дегенеративных изменений скелетной мышечной ткани может привести к развитию саркопении, которая является характерным признаком физиологического старения организма. Ряд исследователей полагает, что саркопения наряду с ожирением усугубляет развитие инсулинорезистентности (Srikanthan et al., 2010; Batsis, Buscemi, 2011).

Таблица 1.

Возрастные особенности отношения церамида к СФМ в тканях крыс

Тип ткани	Возраст, мес.			
	3	12	24	30–32
Сыворотка	1,02±0,25	1,69±0,22 ^a	2,05±0,34 ^{a,b}	3,53±0,22 ^{a-c}
Икроножная мышца	0,39±0,11	0,46±0,03 ^a	1,05±0,05 ^{a,b}	1,58±0,03 ^{a-c}

Примечания: *a* – достоверно в сравнении с животными 3-месячного возраста; *b* – достоверно в сравнении с животными 12-месячного возраста; *c* – достоверно в сравнении с животными 24-месячного возраста, $p < 0,05$.

Учитывая все вышесказанное, нами предприняты попытки коррекции возрастных изменений содержания СФЛ в различных морфофункциональных типах тканей крыс при помощи специфического ингибитора активности нСФМазы – NAC. Установлено, что продолжительное введение NAC животным на поздней стадии постнатального онтогенеза позволяет модулировать содержание СФЛ в сыворотке крови, скелетной мышечной ткани и почках (рис. 2). Наибольший эффект в отношении накопления СФМ наблюдали в икроножной мышце и в почках, где содержание СФМ повысилось на 60 и 47%, соответственно, в сравнении со значениями контрольной группы. В то время как наиболее выраженное NAC-стимулированное снижение уровня церамида было отмечено также в икроножной мышце и в почках, где его содержание снизилось на 29 и 37%, соответственно, в сравнении с контролем. В сыворотке крови старых животных опытной группы изменения содержания СФЛ выражены в меньшей степени.

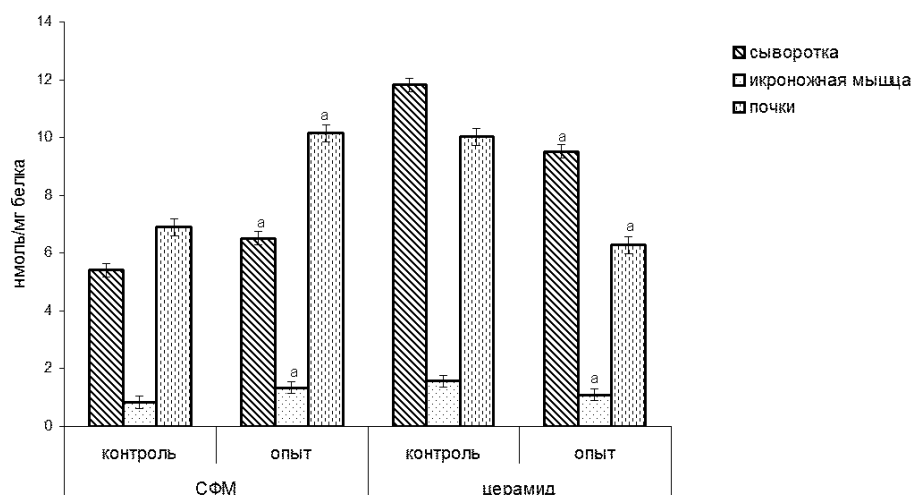


Рис. 2. Влияние NAC на содержание СФЛ в тканях старых крыс

Примечание: *a* – достоверно в сравнении с животными контрольной группы, $p < 0,05$.

Установлено достоверное снижение соотношения церамид/СФМ в сыворотке крови, скелетной мышечной ткани и почках после продолжительного введения препарата, что может свидетельствовать об угнетении активности нСФМазы (табл. 2).

Таблица 2.

Влияние NAC на отношение церамида к СФМ в тканях старых крыс

Тип ткани	Группа	
	Контроль	Опыт (NAC)
Сыворотка	2,19±0,10	1,46±0,2 ^a
Икроножная мышца	1,85±0,08	0,82±0,02 ^a
Почки	1,45±0,05	0,62±0,03 ^a

Примечания: а – достоверно в сравнении с животными контрольной группы, $p < 0,05$.

Известно, что снижение соотношения церамид/СФМ, а значит и подавление активности нСФМазы в различных типах клеток способствуют повышению их жизнеспособности, снижению чувствительности CD-95/Fas-рецепторов, а также восприимчивости клеток к воздействию апоптотических сигналов таких, как ФНО- α (Adamy et al., 2004).

Таким образом, NAC является эффективным регулятором содержания СФЛ в различных морфофункциональных типах тканей стареющего организма, что, вероятно, свидетельствует о снижении активности нСФМазы. Поскольку NAC – это предшественник непосредственного ингибитора нСФМазы, GSH, то содержание последнего в результате продолжительного перорального введения препарата, вероятно, должно повышаться. Так, в настоящей работе установлено, что в результате 18-дневного введения NAC животным 24-месячного возраста наблюдается достоверное повышение уровня GSH в сыворотке крови, скелетной мышечной ткани и почках в сравнении со значениями контрольной группы (рис. 3).

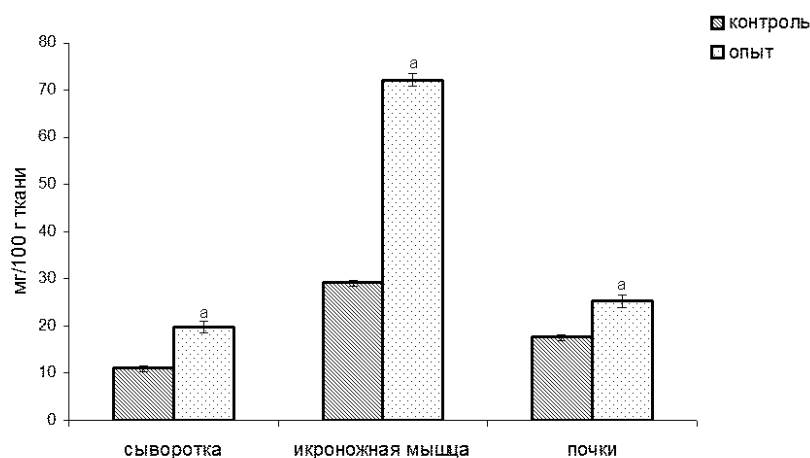


Рис. 3. Влияние NAC на содержание GSH в тканях старых крыс

Примечание: а – достоверно в сравнении с животными контрольной группы, $p < 0,05$.

Наиболее выраженное влияние препарата на содержание GSH наблюдали в икроножной мышце, где его уровень повысился на 148% в сравнении со значениями контрольной группы, тогда как в сыворотке крови и в почках 24-месячных животных NAC-индуцированное накопление GSH было менее выражено (81 и 45%, соответственно). Liu и Choi показали, что в процессе старения содержания GSH снижается, вследствие угнетения экспрессии гена γ -глутамилцистеин синтетазы в различных органах старых крыс (Liu, Choi, 2000). Известно, что NAC представляет собой модифицированную форму аминокислоты цистеина, которая является обязательным элементом в синтезе трипептида GSH. Полученные результаты согласуются с данными современных исследований, которые показывают, что введение NAC приводит к повышению внутриклеточного содержания GSH в печени, почках, легких, сердце и селезенке старого организма (Li et al., 2002; Alfawwaz, Alhamdan, 2006). Ряд исследований in

vivo подтверждают роль GSH как негативного регулятора активности нСФМазы в клетках печени (Tsyurko et al., 2001) и мозга (Bernardo et al., 2000), что сопровождается снижением содержания церамида и остановкой апоптоза.

Установленное повышение уровня СФМ и снижение церамида, а также снижение соотношения церамида/СФМ в сыворотке крови, скелетной мышечной ткани и почках старых животных под действием НАС может свидетельствовать об успешной коррекции возрастных нарушений содержания СФЛ в разных тканях стареющего организма.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что НАС является эффективным модулятором содержания СФЛ в тканях старых крыс. Возраст-ассоциированные нарушения обмена СФМ являются обратимыми. Наиболее чувствительными к действию препарата оказались икроножная мышца и почки, что дает возможность предположить тканевую специфичность действия препарата на обмен СФЛ. Действие препарата может быть связано с накоплением специфического ингибитора нСФМазы, GSH, непосредственным предшественником которого является НАС. Учитывая то, что НАС индуцирует накопление СФМ и снижение церамида в различных морфофункциональных типах тканей старых животных, можно сделать вывод о том, что возрастные нарушения обмена СФЛ во многом связаны с активацией нСФМазы.

Список литературы

- Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 322с. /Keys M. Tekhnika lipidologii. – М.: Mir, 1975. – 322s./
- Прохорова М.И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272с. /Prokhorova M.I. Metody biokhimicheskikh issledovaniy (lipidnyy i energeticheskiy obmen). – L.: Izd-vo Leningr. un-ta, 1982. – 272s./
- Финдлей Дж.Б., Эванз У.Г. Биологические мембраны. Методы: Пер. с англ. – М.: Мир, 1990. – 424с. /Findley Dzh.B., Evanz U.G. Biologicheskiye membrany. Metody: Per. s angl. – М.: Mir, 1990. – 424s./
- Adamy Ch., Mulder P., Khouzami L. et al. Neutral sphingomyelinase inhibition participates to the benefits of N-acetylcysteine treatment in post myocardial infarction failing heart rats // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2004. – Vol.43, №3. – P. 344–353.
- Alfawwaz R.A., Alhamdan A.A. The modulatory effect on N-acetyl cysteine supplementation on hepatic glutathione concentration and lipid peroxidation status in old rats fed a low-protein diet // Pakistan Journal of Nutrition. – 2006. – Vol.5, №2. – P. 156–165.
- Babenko N.A., Kharchenko V.S. Ceramides inhibit phospholipase D-dependent insulin signaling in liver cells of old rats // Biochemistry (Moscow). – 2012. – Vol.77, №2. – P. 180–186.
- Bartke N., Hannun Y.A. Bioactive sphingolipids: metabolism and function // The Journal of Lipid Research. – 2009. – Vol.50. – P. S91–S96.
- Batsis J.A., Buscemi S. Sarcopenia, sarcopenic obesity and insulin resistance // Medical Complications of Type 2 Diabetes. – 2011. – doi: 10.5772/22008.
- Bernardo K., Krut O., Wiegmann K. et al. Purification and characterization of magnesium-dependent neutral sphingomyelinase from bovine brain // The Journal of Biological Chemistry. – 2000. – Vol.275, №11. – P. 7641–7647.
- Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. – 1959. – Vol.37, №8. – P. 911–917.
- Communal C., Sumandea M., De Tombe P. et al. Functional consequences of caspase activation in cardiac myocytes // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. – 2002. – Vol.99. – P. 6252–6256.
- Filosto S., Fry W., Knowlton A.A., Goldkorn T. Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2) is a phosphoprotein regulated by calcinerium (PP2B) // The Journal of Biological Chemistry. – 2010. – Vol.285, №14. – P. 10213–10222.
- Gulbins E., Li P.L. Physiological and pathophysiological aspects of ceramide // American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative, and Comparative Physiology. – 2006. – Vol.290. – P. R11–R26.
- Hanada K. Serine palmitoyltransferase, a key enzyme of sphingolipid metabolism // Biochimica et Biophysica Acta. – 2003. – Vol.1632, № 1–3. – P. 16–30.
- Hannun Y.A., Obeid L.M. The ceramide-centric universe of lipid-mediated cell regulation: stress encounters of the lipid kind // The Journal of Biological Chemistry. – 2002. – Vol.277, №29. – P. 25847–25850.
- Hernandez O.M., Discher D.J., Bishopric N.H., Webster K.A. Rapid activation of neutral sphingomyelinase by hypoxia-reoxygenation of cardiac myocytes // Circulation Research. – 2000. – Vol.86. – P. 198–204.

- Jana A., Pahan K. Oxidative stress kills human primary oligodendrocytes via neutral sphingomyelinase: implications for multiple sclerosis // *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. – 2007. – Vol.2, №2. – P. 184–193.
- Levy M., Castillo S.S., Goldkorn T. nSMase2 activation and trafficking are modulated by oxidative stress to induce apoptosis // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2006. – Vol.344, №3. – P. 900–905.
- Li J., Wang H., Stoner G., Bray T. Dietary supplementation with cysteine prodrugs selectively restores tissue glutathione levels and redox status in protein-malnourished mice (1) // *The Journal of Nutritional Biochemistry*. – 2002. – Vol.13. – P. 625–633.
- Liu R., Choi J. Age-associated decline in gamma-glutamylcysteine synthase gene expression in rats // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2000. – Vol.28, №4. – P. 566–574.
- Liu B., Hannun Y.A. Inhibition of the neutral magnesium-dependent sphingomyelinase by glutathione // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1997. – Vol.272, №26. – P. 16281–16287.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randal R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1951. – Vol.193. – P. 365–375.
- Mansfield P.J., Carey Sh.S., Hinkovska-Galcheva V. et al. Ceramide inhibition of phospholipase D and its relationship to RhoA and ARF1 translocation in GTPγS-stimulated polymorphonuclear leucocytes // *Blood*. – 2004. – Vol.103, №6. – P. 2363–2368.
- Nikolova-Karakashian M.N., Reid M.B. Sphingolipid metabolism, oxidant signaling, and contractile function of skeletal muscle // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2011. – Vol.15, №9. – P. 2501–2517.
- Perrotta C., Clementi E. Biological roles of acid and neutral sphingomyelinases and their regulation by nitric oxide // *Physiology*. – 2009. – Vol.25. – P. 64–71.
- Petkova D.H., Momchilova-Pankova A.B., Markovska T.T., Koumanov K.S. Age-related changes in rat liver plasma membrane sphingomyelinase activity // *Experimental Gerontology*. – 1988. – Vol.23, №1. – P. 19–24.
- Pfeilschifter J., Huwiler A. Ceramides as key players in cellular stress response // *News in Physiological Sciences*. – 2000. – Vol.15. – P. 11–15.
- Pickersgill L., Litherland G.J., Greenberg A.S. et al. Key role for ceramides in mediating insulin resistance in human muscle cells // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2007. – Vol.282, №17. – P. 12583–12589.
- Rahman I., Li X.Y., Donaldson K. et al. Glutathione homeostasis in alveolar epithelial cells in vitro and lung in vivo under oxidative stress // *American Journal of Physiology*. – 1995. – Vol.269, №3. – P. L285–L292.
- Ravid T., Tsaba A., Gee P. et al. Ceramide accumulation precedes caspase-3 activation during apoptosis of A549 human lung adenocarcinoma cells // *American Journal of Physiology – Lung Cellular and Molecular Physiology*. – 2003. – Vol.284, №6. – P. L1082–L1092.
- Rutkute K., Asmis R.H., Nikolova-Karakashian M.N. Regulation of neutral sphingomyelinase-2 by GSH: a new insight to the role of oxidative stress in aging-associated inflammation // *The Journal of Lipid Research*. – 2007. – Vol.48, № 11. – P. 2443–2452.
- Srikanthan P., Hevener A.L., Karlamangla A.S. Sarcopenia exacerbates obesity-associated insulin resistance and dysglycemia: findings from the national health and nutrition examination survey III // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol.5, №5. – P. 1–7.
- Straczkowski M., Kowalska I. The role of skeletal muscle sphingolipids in the development of insulin resistance // *The Review of Diabetic Studies*. – 2008. – Vol.5, №1. – P. 13–24.
- Stratford S., Hoehn K.L., Liu F., Summers S.A. Regulation of insulin action by ceramide: dual mechanisms linking ceramide accumulation to the inhibition of Akt/protein kinase B // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Vol.279, №35. – P. 36608–36615.
- Tsyupko A.N., Dudnik L.B., Evstigneeva R.P., Alessenko A.V. Effects of reduced and oxidized glutathione on sphingomyelinase activity and contents of sphingomyelin and lipid peroxidation products in murine liver // *Biochemistry (Moscow)*. – 2001. – Vol.66, №9. – P. 1028–1034.
- Yoshimura S., Banno Y., Nakashima S. et al. Inhibition of neutral sphingomyelinase activation and ceramide formation by glutathione in hypoxic PC12 cell death // *Journal of Neurochemistry*. – 1999. – Vol.73, №2. – P. 675–683.
- Wu B.X., Clarke Ch.J., Hannun Y.A. Mammalian neutral sphingomyelinases: regulation and roles in cell signaling responses // *Neuromolecular Medicine*. – 2010. – Vol.12, №4. – P. 320–330.

Представлено: Л.А.Бондаренко / Presented by: L.A.Bondarenko

Рецензент: В.А.Бондаренко / Reviewer: V.A.Bondarenko

Подано до редакції / Received: 12.11.2012