

УДК 616.36-002.1-008.9-092.9:577.15

©Коллектив авторов

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СФИНГОМИЕЛИНОВОГО ЦИКЛА И АКТИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС НА РАЗНЫХ ФАЗАХ ГОЛОДАНИЯ

*Д.И. Кузьменко<sup>1\*</sup>, П.Г. Буров<sup>1</sup>, В.Ю. Серебров<sup>1</sup>, Е.А. Файт<sup>2</sup>, Т.В. Перевозчикова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Кафедра биохимии и молекулярной биологии ГОУ ВПО “Сибирский государственный медицинский университет Росздрава”

<sup>2</sup>Центральная научно-исследовательская лаборатория ГОУ ВПО “Сибирский государственный медицинский университет Росздрава”, Московский тракт, 2634050 Томск; тел.: 8-(3822)-42-09-61; эл. почта: dik51@mail.ru

В печени крыс изучали функциональное состояние сфингомиелинового цикла и характер его взаимоотношений с процессами свободнорадикального окисления липидов при голодании животных в течение 1, 2, 3 суток (I фаза) и 6 суток (II фаза голодания) без ограничения доступа к питьевой воде. На 3 сутки голодания в печени животных отмечены максимальные значения отношения содержания церамида к сфингомиелину (церамид/сфингомиелин) и активности нейтральной сфингомиелиназы и исполнительной каспазы-3. Начиная с 3 суток голодания в сыворотке крови крыс выявлено повышение концентрации фактора некроза опухоли- $\alpha$ , который является одним из активаторов нейтральной сфингомиелиназы. На протяжении большей части I фазы голодания интенсивность процессов свободнорадикального окисления липидов в печени была сравнима с таковой в группе контроля благодаря полноценному функционированию системы антиоксидантной защиты. После перехода I фазы голодания во II фазу (6 суток эксперимента) на фоне истощения потенциала системы антиоксидантной защиты в печени развивался окислительный стресс.

Полученные нами результаты могут свидетельствовать о том, что во время I фазы голодания в печени формировались условия для проявления церамид-опосредованной проапоптотической сигнализации. Мы полагаем, что церамид-опосредованный апоптоз является одним из механизмов оптимизации клеточной популяции печени и формирования системного структурного следа в рамках её метаболической адаптации. В то время как в I фазе голодания в печени в наибольшей мере проявляла себя церамид-опосредованная сигнализация, во II фазе голодания преобладал окислительный стресс.

**Ключевые слова:** сфингомиелиновый цикл, голодание, свободнорадикальное окисление липидов.

**ВВЕДЕНИЕ.** Интерес к углубленному исследованию биохимии голодания во всем мире обусловлен перспективой создания технологий лечебного голодания нового поколения, которые призваны стать не только средством профилактики и борьбы с избыточной массой тела, но занять достойное место в комплексной коррекции состояния организма при сердечно-сосудистой патологии, сахарном диабете и злокачественных новообразованиях [1, 2]. Так, изменением продолжительности голодания животных и комбинированием периодов голодания и возобновления кормления оказалось возможным как замедлять гепатокарциногенез, так и повышать восприимчивость печени

\* - адресат для переписки

к диэтилнитрозамину [3, 4], а также активно влиять на реакцию нормальных и пренеопластических гепатоцитов [5]. Открытие лептина, установление половых отличий в механизмах сохранения энергетического гомеостаза [6] и феномена экспрессии нескольких тысяч генов в ответ на голодание, чей профиль находится в четкой зависимости от его длительности [7], лишь подчеркнули глубину проблемы. Сегодня очевидно, что не по фундаментальным механизмам, а по эффективности, метаболическая адаптация у самок превышает таковую у самцов.

При голодании печень играет ключевую роль в стабилизации энергетического гомеостаза организма, обеспечивая адаптивное переключение метаболизма с “углеводного” типа на “жировой” и синтез кетоновых тел. Пластическое обеспечение, необходимое для формирования системного структурного следа метаболической адаптации печени [8], неразрывно связано с процессом регулируемой оптимизации состава клеточных популяций органа – апоптозом [9, 10]. Несомненный интерес представляет выяснение природы проапоптотической сигнализации, участвующей в метаболической адаптации печени. Одними из регуляторов апоптоза являются компоненты сфингомиелинового цикла (СМ-цикла), обладающие свойствами вторичных посредников: индуктор апоптоза церамид и сфингозин-1-фосфат – активатор пролиферативных процессов [11, 12]. Данные об участии компонентов сфингомиелинового цикла в метаболической адаптации печени к начальным фазам голодания отсутствуют.

Наиболее четко длительность фаз голодания очерчена для крыс. I Фаза длится первые трое суток. При возобновлении питания биохимические сдвиги в организме крыс, вызванные голоданием такой продолжительности, полностью нормализуются в течение 12-15 часов. Это важная фаза, поскольку под влиянием изменения эндокринного статуса, после быстрого истощения резерва углеводов (гликоген печени), в печени начинает активизироваться глюконеогенез, а в жировой ткани – гидролиз триацилглицеролов. К завершению этой фазы формируется основа метаболической адаптации (формируется базис системного структурного следа адаптации по Ф.З. Меерсону). Эти явления подготавливают организм к дальнейшему голоданию – происходит переход ко II фазе. Если итогом первой фазы является формирование генетически детерминированных механизмов метаболической адаптации, то в ходе II фазы – сформированные приспособления активно реализуются, что позволяет организму голодающего животного сохранять достаточную локомоторную активность и адекватность реагирования ЦНС, что абсолютно необходимо для поиска пищи и выживания. Согласно данным литературы, временные границы II фазы очерчены не так определенно, поскольку “резервы адаптации” определяются исходной (до начала голодания) массой жировой ткани, возрастом и др. факторами. По данным литературы, крысы могут находиться в этой фазе до 8 суток. Если голодание продолжается и далее, то II фаза переходит в III фазу, которая (в отличие от двух первых) очень быстро переходит в необратимое состояние (неизбежная гибель).

Цель работы - изучить функциональное состояние СМ-цикла печени крыс в динамике голодания, а также выяснить закономерности его взаимоотношений с процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ). Этот аспект важен в связи с тем, что голодание существенно изменяет интенсивность процессов ПОЛ в организме [13], а активность ключевого фермента СМ-цикла – нейтральной сфингомиелиназы (нСМазы), зависит от редокс-статуса ткани [14].

**МЕТОДИКА.** Исследования проведены на самцах крыс Вистар массой 140-160 г, из которых были сформированы группа “контроль” (интактные крысы, n=15) и четыре группы “опыт” (в каждой n=15), которых подвергали голоданию без ограничения доступа к питьевой воде в течение 1, 2, 3 суток (I фаза) и 6 суток (II фаза голодания) [7]. Печень перфузировали *in situ* ледяным 0,9% раствором NaCl через *v. portae*. Материалами для исследования служили 10% (масса : объём)

гомогенат печени и сыворотка крови. Липидный экстракт из гомогената получали методом Фолча. Количество общих липидов в экстракте определяли гравиметрическим методом. Содержание компонентов СМ-цикла оценивали методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей толуол : метанол (7:3). Активность нейтральной сфингомиелиназы (нСМазы) в печени определяли согласно [15], активность исполнительской каспазы-3 по [16]. Об интенсивности процессов ПОЛ в печени судили по накоплению продуктов, взаимодействующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов - ТБКАП) и диеновых конъюгатов (ДК) – по поглощению гептан-изопропанолового экстракта при 232 нм. Активность каталазы в гомогенате печени оценивали согласно [17], содержание восстановленного глутатиона - по [18], концентрацию белка – микробиуретовым методом. В сыворотке крови определяли концентрацию кортикостерона (Corticosterone EIA Kit, “Cayman Chemical”, США), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (Rat TNF $\alpha$  ELISA Kit, “Thermo Scientific”, США), неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) [19] и глюкозы (НОВОГЛЮК-К,М, “Вектор-Бест”, Россия). Статистическую обработку осуществляли с использованием непараметрического критерия Вилкоксона.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Результаты, представленные в таблице 1, свидетельствовали о том, что на фоне прогрессирующего падения массы тела голодавших крыс происходило существенное увеличение концентрации в крови кортикостерона, достигавшее наибольших значений на 2 и 3 сутки эксперимента (прирост на 52% и 50% соответственно;  $p < 0,05$ ). Концентрации глюкозы и НЭЖК в сыворотке крови голодавших крыс изменялись реципрокно. Концентрация НЭЖК было достоверно повышена уже спустя сутки от начала голодания. При этом достоверное снижение концентрации глюкозы (по сравнению с группой контроля), не выходило за пределы нижней границы нормы для крыс [20]. За весь период наблюдения мы не отметили ни одного случая гибели животных. Результаты комплексной оценки эндокринно-метаболических сдвигов в организме голодавших животных свидетельствовали о том, что начальные сроки эксперимента, охватывающие 1–3 сутки голодания, соответствовали I фазе голодания, в то время как 6 сутки голодания приходились на II его фазу [7, 20].

Таблица 1. Изменение массы тела крыс и некоторых эндокринно-метаболических показателей в сыворотке крови в зависимости от сроков голодания.

Исследуемый показатель	Контроль	Голодание, сутки			
		1	2	3	6
Масса тела крыс, г	195,33 $\pm$ 3,50	186,67 $\pm$ 3,11*	183,00 $\pm$ 4,08*	178,33 $\pm$ 2,99*	168,00 $\pm$ 3,84*
Концентрация кортико-стерона, нМ	0,683 $\pm$ 0,036	0,981 $\pm$ 0,063**	1,040 $\pm$ 0,064**	1,030 $\pm$ 0,050**	0,995 $\pm$ 0,023**
Концентрация глюкозы, мМ	6,324 $\pm$ 0,186	5,858 $\pm$ 0,204	4,437 $\pm$ 0,228*	5,168 $\pm$ 0,403*	6,004 $\pm$ 0,280
Концентрация НЭЖК, мМ	0,195 $\pm$ 0,031	0,736 $\pm$ 0,064*	0,669 $\pm$ 0,082*	0,742 $\pm$ 0,049*	0,649 $\pm$ 0,059**
Концентрация ФНО- $\alpha$ , нг/мл	0,150 $\pm$ 0,008	0,152 $\pm$ 0,011	0,171 $\pm$ 0,020	0,183 $\pm$ 0,014*	0,192 $\pm$ 0,017*

Примечание: Здесь и в таблицах 2-4 приведены средние арифметические  $\pm$  ошибка средних.  
\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  достоверные изменения по сравнению с контролем.

## ЭФФЕКТ ГОЛОДАНИЯ НА СФИНГОМИЕЛИНОВЫЙ ЦИКЛ И ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

На протяжении I и II фаз голодания крыс функциональное состояние СМ цикла и баланс его метаболитов в печени претерпевали закономерные фазные изменения (табл. 2). На 1 и 2 сутки эксперимента содержание сфингомиелина (СМ) изменялось незначительно, в то время как на 6 сутки голодания показатель был в 9,7 раза выше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Содержание сфингозина в печени голодавших животных по сравнению с контролем было понижено: наиболее значимыми были сдвиги на 1, 2 и 6 сутки ( $p < 0,05$ ). Содержание церамида в печени крыс на начальных сроках голодания (1 и 2 сутки) уменьшалось (достоверное снижение отмечено на 2 сутки голодания,  $p < 0,05$ ), в то время как на 3 и 6 сутки - демонстрировало тенденцию к увеличению. С учетом того, что проявление регуляторных эффектов компонентов СМ-цикла определяется не абсолютной концентрацией, а их количественным соотношением [12], мы вычисляли индекс: отношение содержания церамида к содержанию СМ (церамид/СМ), который мог бы объективно отразить динамику баланса между содержанием субстрата и продукта реакции, катализируемой нСМазой. Оказалось (табл. 2), что индекс был существенно увеличен по сравнению с контролем (в 1,6 раза;  $p < 0,05$ ) на 3 сутки голодания. Такой сдвиг мог означать, что на этих сроках эксперимента происходила активация ключевого фермента цикла – нСМазы. Дальнейшие исследования показали, что достоверное увеличение активности нСМазы (в 2,2 раза по сравнению с контролем;  $p < 0,05$ ) также пришлось на 3 сутки голодания животных (табл. 3).

Таблица 2. Изменение содержания компонентов сфингомиелинового цикла в печени крыс (мкг сфинголипидов на 1 мг общих липидов) в зависимости от сроков голодания.

Исследуемый показатель	Контроль	Голодание, сутки			
		1	2	3	6
СМ	46,63±3,40	29,70±5,48	39,30±3,96	41,77±2,73	61,61±5,45*
Сфингозин	8,17±1,28	1,74±0,69*	4,05±0,53*	5,74±0,39	3,82±0,23*
Церамид	11,93±1,34	7,74±2,34	9,28±0,87*	12,5±0,98	12,51±0,90
Церамид/ /СМ	0,20±0,02	0,29±0,11	0,28±0,04	0,32±0,02*	0,21±0,03

Примечание: \* -  $p < 0,05$  достоверные изменения по сравнению с контролем.

Таблица 3. Изменение активностей нейтральной сфингомиелиназы (мкг СМ/мин на 1 мг белка) и каспазы-3 (нмоль АМК/мин на 1 мг белка) в печени крыс в зависимости от сроков голодания.

Исследуемый показатель	Контроль	Голодание, сутки			
		1	2	3	6
нСМаз	5,93±0,85	9,73±2,41	5,59±1,68	13,05±1,45*	8,68±1,11
Каспаза-3	0,67±0,08	0,84±0,09	0,76±0,01	1,35±0,30*	0,98±0,16

Примечание: \* -  $p < 0,05$  достоверные изменения по сравнению с контролем. СМ - сфингомиелин; АМК - аминок-4-метилкумарин.

Подтверждением возможности активации в печени нСМазы на 3 сутки голодания крыс стали наши результаты о том, что концентрация в крови животных поливалентного цитокина – фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ , являющегося одним из естественных активаторов ключевого фермента СМ цикла [21], достоверно увеличивалась, начиная с 3 суток голодания (табл. 1). Ещё одним свидетельством в пользу того, что на этих сроках голодания в печени формируются условия для активации нСМазы, являются сведения о том, что усиливающийся в результате голодания поток НЭЖК в печень, также оказывает активирующее воздействие на ключевой фермент СМ-цикла [22]. Наши результаты согласуются с данными литературы о том, что при голодании в организме человека и животных под влиянием трансформированного эндокринного статуса происходит не только изменение массы жировой ткани, но и усиление продукции ею ФНО- $\alpha$ . [23]. Кроме того, нами было показано, что в печени голодавших крыс также согласовано изменялась активность исполнительный каспазы-3: максимум активности фермента приходился на 3 сутки наблюдений (табл. 3).

На протяжении большей части I фазы голодания крыс (1–2 сутки) в печени сохранялась высокая функциональная активность её антиоксидантной (АО) системы (табл. 4). Так, спустя сутки после лишения животных пищи содержание в печени как первичных продуктов ПОЛ (ДК), так и продуктов, образующихся на конечных его этапах (ТБК-активных продуктов), оказались достоверно ниже, чем в контроле. При этом в печени были отмечены статистически достоверно повышенная по сравнению с контролем активность каталазы и не отличающаяся от контроля концентрация восстановленного глутатиона. Лишь к завершению этой фазы голодания (3 сутки) были зафиксированы признаки активации свободнорадикального окисления липидов: рост содержания ТБК-активных продуктов и ДК на фоне не отличавшихся от контроля активности каталазы и содержания восстановленного глутатиона. На 6 сутки голодания, приходившихся на II фазу голодания, в печени формировался окислительный стресс, о чём свидетельствовали существенный рост содержания ДК и ТБК-активных продуктов на фоне выраженного падения активности каталазы и содержания восстановленного глутатиона. Динамика вышеуказанных параметров хорошо согласовывалась с изменением индексов, отражающих баланс между интенсивностью процессов ПОЛ и активностью системы АО защиты. Оба индекса на 1 сутки голодания оказались достоверно выше таковых в контроле и к 3 суткам голодания оба индекса оказались ниже контрольных значений. На 6 сутки голодания крыс оба индекса были снижены в ещё большей степени (табл. 4). Наши результаты согласуются с данными литературы, согласно которым, во-первых, при 24-часовом голодании крыс в печени может происходить компенсаторно-адаптивная активация системы её АО защиты [13] и, во-вторых, под влиянием окислительного стресса происходит “переключение” между разными типами гибели клеток: апоптоз  $\rightarrow$  некроз [24]. Процесс реализуется с участием, по крайней мере, двух механизмов: а) инактивация каспаз в результате окисления тиоловых групп в их активном центре и б) критическое снижение внутриклеточной концентрации АТФ вследствие повреждений митохондрий под влиянием избытка оксидантов. Известно, что введение крысам ФНО- $\alpha$  вызывает повышение содержания продуктов ПОЛ и активацию нСМазы в печени и головном мозге [25]. Учитывая эти данные, а также ввиду отсутствия унифицированной градации степеней тяжести окислительного стресса, мы можем полагать, что в условиях нашего эксперимента на 3 сутки голодания, увеличение концентрации ФНО- в сыворотке крови и содержания ДК и ТБКАП в печени (табл. 4), могли способствовать активации ключевого фермента СМ-цикла. В условиях выраженного истощения системы АО защиты (6 сутки голодания) избыток оксидантов мог оказывать как прямой, так и опосредованный (через окислительную модификацию фосфолипидного микроокружения в мембране) негативные эффекты на нСМазу.



## ЭФФЕКТ ГОЛОДАНИЯ НА СФИНГОМИЕЛИНОВЫЙ ЦИКЛ И ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

Таблица 4. Изменение концентрации диеновых конъюгатов (ед. опт. плотности на 1 мг белка), ТБК-активных продуктов (нмоль на 1 мг белка), активности каталазы (мккат на 1 мг белка), содержания восстановленного глутатиона (мкмоль на 1 мг белка) и индексов, отражающих баланс между активностью процессов ПОЛ и функциональным состоянием антиоксидантной системы, в печени крыс в зависимости от сроков голодания.

Исследуемый показатель	Контроль	Голодание, сутки			
		1	2	3	6
Диеновые конъюгаты	0,25±0,02	0,16±0,01*	0,17±0,01*	0,30±0,07*	0,37±0,09*
ТБК-активные продукты	0,13±0,01	0,10±0,01*	0,22±0,03	0,35±0,03*	0,26±0,05*
Каталаза	7,11±0,72	8,95±0,97*	5,35±0,76	6,80±0,44	4,47±0,51*
Восстановленный глутатин	30,77±3,64	30,88±2,54	23,26±1,66	29,13±4,37	20,21±2,29*
Кат. / ТБКАП	75,06±18,82	110,21±20,11*	29,62±5,35	21,04±1,45*	24,90±5,13*
Кат. / ДК	34,01±5,42	51,53±3,43*	33,77±5,09	31,87±3,75	27,05±5,07*

Примечание: \* -  $p < 0,05$  достоверные изменения по сравнению с контролем. Кат.- активность каталазы; ТБКАП - ТБК-активные продукты; ДК - диеновые конъюгаты.

Мы полагаем, что *in vivo* функциональное состояние СМ-цикла печени и активность его ключевого фермента - нСМазы, определяется одновременным влиянием нескольких, различных по своей природе регуляторных факторов, способных оказывать разнонаправленные эффекты. Очевидно, что в динамике голодания относительный вклад отдельных регуляторных факторов меняется, что требует дальнейших исследований.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ.** На исходе I фазы голодания (к 3 суткам) в печени животных формировались условия для проявления церамид-опосредованной сигнализации. Церамид-опосредованный апоптоз мы рассматриваем как один из инструментов оптимизации клеточной популяции органа и формирования системного структурного следа в рамках его метаболической адаптации.

На I и II фазах голодания в печени крыс изменялось соотношение между церамид-опосредованной проапоптотической сигнализацией и активностью процессов свободнорадикального окисления липидов. Если на протяжении большей части I фазы голодания интенсивность протекания процессов ПОЛ была сравнима с таковой в группе контроля благодаря полноценному функционированию системы АО защиты печени, то после перехода I фазы голодания во II фазу (6 сутки эксперимента) на фоне истощения потенциала системы АО защиты в печени животных формировался окислительный стресс, который становился причиной нарастания деструктивных процессов в печени. Мы полагаем, что на II фазе голодания церамид-опосредованная проапоптотическая сигнализация перестает играть существенную роль.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Varady K.A., Hellerstein M.K.* (2007) *Am. J. Clinical Nutrition*, **86**, 7-13.
2. *Gerstenblith G.* (2006) *J. Am. Coll. Cardiol.*, **47**, 403-404.
3. *Tessitore L.* (2000) *J. Nutr.*, **130**, 104-110.
4. *Tomasi C., Laconi E., Laconi S., Greco M., Sarma D., Pani P.* (1999) *Carcinogenesis*, **20**, 1979-1983.
5. *Raffaghello L., Lee Ch., Safdie F.M., Wei M., Madia F., Bianchi G., Longo V.D.* (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 8215-8220.
6. *Cortright R.N., Koves T.R.* (2000) *Can. J. Appl. Physiol.*, **25**(4), 288-311.
7. *Li Rong-Ying, Zhang Qing-Hua, Liu Zhi, Qiao Jie, Zhao Shuang-Xia, Shao Li, Xiao Hua-Sheng, Chen Jia-Lun, Chen Ming-Dao, Song Huai-Dong* (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **344**, 562-570.
8. *Меерсон Ф.З., Пиенникова М.Г.* (1988) Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам, Медицина, М.
9. *Москалева Е.Ю., Северин С.Е.* (2002) *Патол. физиол.*, №2, 2-16.
10. *Kiechle L., Zhang X.* (2002) *Clin. Chim. Acta*, **326**, 27-45.
11. *Bartke N., Hannun Y.A.* (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, S91-S96.
12. *Ruvolo P.P.* (2003) *Pharmacological Research.*, **47**, 383-392.
13. *Marczuk-Krynicka D., Hryniewiecki T., Piatek J., Poluszak J.* (2003) *Med. Sci. Monit.*, **9**(30), 131-135.
14. *Won Je-S., Singh I.* (2006) *Free Radl. Biol. Med.*, **40**, 1875-1888.
15. *Бабенко Н.А.* (1991) *Биохимия*, **56**, 346-353.
16. *Nicholson D.W.* (1999) *Cell Death Differ.*, **6**, 1028-1042.
17. *Корольюк М.А., Иванова Л.И.* (1988) *Лабор. дело*, №1, 16-18.
18. *Moron M.S., Depier J.W., Mannervik B.* (1979) *Biochim. Biophys. Acta*, **582**, 67-68.
19. *Duncomb W.* (1964) *Clin. Chim. Acta*, **9**, 122-131.
20. *McGarry J.D., Meier J.M., Foster D.W.* (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 270-278.
21. *Clarke Ch.J., Guthrie J.M., Hannun Y.A.* (2008) *Mol. Pharmacol.*, **74**, 1022-1032.
22. *Hannun Y.A., Obeid L.M.* (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 25847-25850.
23. *Fantuzzi G., Di Santio E., Sacco S., Benigni F., Ghezzi P.* (1995) *J. Immunol.*, **155**, 3552-3555.
24. *Chandra J., Samali A., Orrenius S.* (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **29**(3-4), 323-333.
25. *Alessenko A.V., Shupik M.F., Gutner U.A., Bugriva A.E., Dudnik L.B., Shingarova L.N., Mikoyan A., Vanin A.F.* (2005) *FEBS Lett.*, **579**, 5571-5576.

Поступила: 29. 11. 2010.

FUNCTIONAL STATE OF A SPHINGOMYELINE CYCLE  
AND FREE RADICAL LIPID OXIDATION ACTIVITY OF A RAT'S LIVER  
DURING DIFFERENT PHASES OF STARVATION

*D.I. Kuzmenko<sup>1</sup>, P.G. Burov<sup>1</sup>, V.Yu. Serebrov<sup>1</sup>, E.A. Fait<sup>2</sup>, T.V. Perevozchikova<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Department of biochemistry and molecular biology of the Siberian State Medical University,  
Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Central Research Laboratory of the Siberian State Medical University, Moskovsky trakt, 2, Tomsk,  
634050 Russia; tel.: 8-(3822)-42-09-61, e-mail: dik51@mail.ru

The functional state of a sphingomyeline cycle and character of its mutual relations with the processes of free radical lipid oxidation during starvation of animals without any restriction of access to drinking water at 1, 2, 3 day (I phase) and 6 day (II phase of starvation) were studied at the liver of rats. The maximal values of the ceramide/sphingomyeline ratio and activity neutral sphingomyelinase and executive caspase-3 were reached in a liver of animals at the 3rd day of starvation. From the 3rd day of starvation the concentration of the tumour necrosis factor- $\alpha$  which is one of activators neutral sphingomyelinase was increase in rats blood serum. During the extent of large part of the I phase of starvation the intensity of free radical lipid peroxidation in a liver had almost the same level as in control group – that was a result of the high-grade functioning of antioxidant defense system. After transition the I phase of starvation into the II phase (6 day of experiment) the oxidative stress was developed as result of an exhaustion of system antioxidant defense potential in a liver. The results of this data can testify that during I phase of starvation in a liver the conditions was raised for display of the ceramide-mediated proapoptotic signalling. We assume that ceramide-mediated apoptosis is one of mechanisms of optimization of liver cellular population at the frames of metabolic adaptation. The I phase of starvation in a liver proves by the ceramide-mediated proapoptotic signaling developing. During the II phase of starvation the oxidative stress process were prevailed.

**Key words:** starvation, sphingomyeline cycle, free radical lipid oxidation.