

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ТЕРМОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ПОДКОЖНОЙ БЕЛОЙ ЖИРОВОЙ
ТКАНИ ПРИРОДНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ**

К.И. Расторгуева, Н.А. Гурков

Научный руководитель: доцент, к.б.н. Е.И. Елсукова

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева»,

Россия, г. Красноярск, ул. Ады Лебедевой, 89, 660049

E-mail: kseiyara95@gmail.com

**METABOLIC AND THERMOGENIC PROPERTIES OF THE SUBCUTANEOUS WHITE ADIPOSE
TISSUE OF WILD AND LABORATORY RODENTS**

K.I. Rastorgueva, N.A. Gurkov

Scientific Supervisor: assistant professor, Ph.D. of Biological Sciences E.I. Elsukova

Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V. P. Astafev,

Russia, Krasnoyarsk, Lebedeva str., 89, 660049

E-mail: kseiyara95@gmail.com

***Abstract.** For the first time biochemical analysis of inguinal adipose tissue of korean mouse (*Apodemus peninsulae*) and short-tailed vole (*Microtus agrestis*) have performed. Expression of uncoupling protein UCP1 in inguinal fat was combined with high metabolic and oxidative activity of this fat depot in wild rodents, in comparison with laboratory mice. Studies of the adipose tissues in animals from natural populations can be useful for the elucidating of the physiological norm of their functioning and for the development of regimes for the prevention and correction of metabolic disorders.*

Введение. Прошедшие два десятилетия кардинально изменили представления о физиологии жировой ткани [1]. Она все чаще предстает как структура, филогенетическое становление которой предопределило эволюцию гомойотермии у млекопитающих [2]. Депонирование энергии в белой жировой ткани было условием надежного функционирования организма на всех этапах антропогенеза и на протяжении большей части истории человечества. Термонеutralная среда, доступное, энергоемкое питание привели к функциональной перегрузке энергетических депо жировой ткани, прогрессивному росту абдоминального ожирения и связанных метаболических нарушений [1, 3]. Имитация этих условий в экспериментах на лабораторных грызунах раскрывает этапы и механизмы дистрофических изменений жировых тканей и их ключевую роль в патогенезе метаболического синдрома. Другим перспективным подходом к выяснению «нормального», т.е. эволюционно закрепленного функционирования жировых тканей и на этой основе разработке режимов профилактики и коррекции метаболических нарушений у человека, могут стать исследования свойств жировых тканей у животных из природных популяций [4, 5]. На сегодняшний день сведения о состоянии жировых депо у природных животных немногочисленны и не выходят за рамки анатомо-морфологических описаний. Целью работы был сравнительный анализ метаболических и термогенных свойств подкожной белой жировой ткани природных и лабораторных грызунов.

Материалы и методы исследования. Природные объекты исследований - половозрелые самцы темной полевки (*Microtus agrestis*) и восточно-азиатской лесной мыши (*Apodemus peninsulae*), отловленные в июне - июле в окрестностях г. Красноярска. Самцы мышей *ICR* получены из питомника ГНЦ ВБ «Вектор» (Новосибирск). При проведении исследований руководствовались Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986). Подкожную белую жировую ткань выделяли из пахового депо после декапитации животных. Ее метаболическую и окислительную активность оценивали по содержанию воды, общих фракций РНК, ДНК и белка в тканевых гомогенатах, приготовленных на 0,01 М Трис-НСl с 1 мМ ЭДТА, рН 7,2. ДНК и РНК определяли по результатам спектрофотометрии при 270 и 290 нм тканевых гидролизатов [6], содержание воды определяли, высушивая кусочки ткани до постоянного веса при 105 °С, белок определяли по методу Лоури. Термогенный потенциал жировых тканей оценивали по присутствию разобщающего белка UCP1, который в паховом жире маркирует популяцию термогенных бежевых адипоцитов [1, 2, 7, 8]. Белок UCP1 идентифицировали с помощью вестерн-блоттинга [8]. На гель наносили по 80 мкг белка, электроперенос белка на нитроцеллюлозу (0,2 мкм) проводили полусухим способом. Для выявления полосы UCP1 использовали препараты антител компании Sigma Aldrich (USA), нагрузочные контроли отсутствовали. Титр первичных и вторичных антител составил 1:500. Всего в каждой группе животных вестерн-блоттинг проводили с 3-5 пробами пахового жира. Интенсивность полосы UCP1 оценивали с помощью программы «GelAnalyzer». Все показатели представлены в виде средних и их статистических ошибок. Различия между группами животных оценивали с помощью критерия наименьшей значимой разницы (LSD) в программе «Statistica 6» StatSoft.

Результаты. У всех отловленных грызунов наблюдались выраженная редукция подкожного и абдоминального жировых депо (табл. 1), темные розово-буроватые оттенки цвета (browning) – особенность морфологии жировых тканей, отражающая активный митохондриогенез в них [7].

Таблица 1

Биохимические показатели паховой жировой ткани лабораторных мышей
и свободно обитающих грызунов

№	Животные	Масса, %	ДНК, мкг/мг	РНК, мкг/мг	Общий белок, мкг/мг	Белок UCP1, у.е./мкг белка	Вода, мкг/мг
1	Лабораторные мыши <i>ICR</i> , n=10	1,41±0,14	0,21±0,04 ²	0,22±0,03	11,22±0,19	18,68 (2)	110,0±9,8
2	Восточноазиатская мышь, n=7	0,27±0,04 ¹	0,54±0,05 ^{1,3}	0,40±0,04 ¹	60,49±6,46 ^{1,3}	29,45±5,86 (3)	320,7±30,7 ¹
3	Темная полевка, n=6	0,27±0,05 ¹	0,23±0,04 ²	0,29±0,05	25,13±6,05 ^{1,2}	21,27±2,88 (3)	220,5±30,1 ¹

Примечание: Масса пахового депо выражена в % по отношению к массе тела. Верхние индексы указывают номера группы животных, с показателем которых имеется статистически значимое различие, $p < 0,05$. При расчете интенсивности полосы UCP1 учитывались только блоты, где идентифицировалась полоса этого белка; их количество указано в круглых скобках.

Содержание воды, РНК и белка в пробах пахового жира у природных грызунов было существенно выше по сравнению с лабораторными мышами (табл. 1). Особенно высокие значения этих показателей в сочетании с двукратным увеличением содержания ДНК регистрировались у лесной мыши. Разобщающий белок UCP1 идентифицировали примерно с одинаковой частотой в пробах пахового жира во всех группах животных, интенсивность полосы UCP1 не различалась между группами.

Заключение. В результате проведенного комплексного исследования впервые получены данные о массе, основных биохимических показателях белой жировой ткани мышевидных грызунов из природных популяций. Особый интерес представляет идентификация белка UCP1, который в белом жире маркирует недавно открытый у лабораторных грызунов и у человека новый тип жировых клеток – бежевые адипоциты [1, 7], функции которых окончательно не установлены. Впервые полученные нами данные о присутствии UCP1 в паховом депо свободно обитающих грызунов свидетельствуют, что бежевые адипоциты – не лабораторный артефакт, а нормальный компонент тканевого комплекса белой жировой ткани. Сравнительный анализ полученных данных показывает, что присутствие UCP1-позитивных клеток не обязательно коррелирует с окислительной активностью жировых депо. Для свободно обитающих грызунов по сравнению с аутбредными лабораторными мышами характерна высокая метаболическая и окислительная активность пахового жира. Изучение природных факторов, стимулирующих бежевый адипогенез в жировых депо, представляет несомненный интерес для разработки стратегий профилактики и лечения метаболического синдрома.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rosen E.D., Spiegelman B.M. (2014). What we talk about when we talk about fat?. Cell, vol. 156, pp. 20-44.
2. Li Y., Lasar D., Fromme T., Klingenspor M. (2014). White, brite, and brown adipocytes: the evolution and heater organ in mammals. Journal of Canadian J. Zoology, vol. 92, no 6. pp. 615-626.
3. Bartelt A., Heeren J. (2014). Adipose tissue browning, metabolic health. Nat Rev Endocrinol, vol. 10, no 1, pp. 24-36.
4. Wang Y., Zhu T., Ke S., Fang N., Irwin D., Lei M., Zhang J., Shi H., Zhang S., Wang Z. (2014, November 13). The great roundleaf bat (*Hipposideros armiger*) as a good model for cold-induced browning of intra-abdominal white adipose tissue, no 9, Article 112495e, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4231071.html>.
5. Трудолюбова М.Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 313–316.
6. Shabalina I.G., Petrovic N., de Jong J., Kalinovich A., Cannon B., Nedergaard J. (2013). UCP1 in Brite/Beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic. Cell. Reports, vol. 5, no 5, pp. 1196-1203.
7. Elsukova E.I., Medvedev L.N., Mizonova O.V. (2016). Physiological features of perigonadal adipose tissue containing uncoupling protein UCP1 in ICR mice. Bull. Exp. Bio. Med, vol. 161, no 3, pp. 347-350.
8. Bai Z., Wuren T., Liu S., Han S., Chen L., McClain D., Ge R.L. (2015). Intermittent cold exposure results in visceral adipose tissue "browning" in the plateau pika (*Ochotona curzoniae*). Comp. Biochem. Physiol, vol.184A, pp.171-178.