

**АБДОМИНАЛЬНАЯ ЖИРОВАЯ ТКАНЬ АУТБРЕДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ПРИ
АДАПТАЦИИ К РАЗНЫМ ТЕМПЕРАТУРНЫМ РЕЖИМАМ**

А.В. Якуненко

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: dedesterlocke@gmail.com

**INTRA-ABDOMINAL ADIPOSE TISSUE OF LABORATORY MICE ADAPTED TO DIFFERENT
TEMPERATURE REGIMES**

A.V. Yakunenko

Scientific Supervisor: assistant professor, Ph.D. of Biological Sciences. E.I. Elsukova
Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V. P. Astafev,
Russia, Krasnoyarsk, Lebedeva st., 89, 660049
E-mail: dedesterlocke@gmail.com

***Abstract.** For the first time the presence of beige adipocytes, cellularity, basic metabolic parameters of perigonadal abdominal fat have studied in outbred laboratory mice kept at different temperature regimes: 1) 30 °C (thermoneutral zone) and 2) regular daily 8-hour cold exposures. Unlike brown fat in the abdominal depot, temperature-dependent changes of these parameters were not detected. The functions of the beige adipocytes of the abdominal depot were discussed.*

Введение. Абдоминальная жировая ткань – важнейший эффектор энергообмена, углеводного и липидного обменов, многофункциональный эндокринный орган [1]. Возрастные или приобретенные нарушения ее функционирования являются ключевыми в патогенезе ожирения и метаболического синдрома. Их развитие замедляется, если в абдоминальном жировом депо присутствует небольшая популяция адипоцитов с разобщающим белком UCP1, идентичным специфическому термогенному маркеру бурого жира [2, 3]. Происхождение и функции этих клеток, названных бежевыми адипоцитами, не изучены. Предполагают, что холодовые воздействия могут стимулировать увеличение численности бежевых адипоцитов и термогенез в них [2]. Однако эти предположения недостаточно подкреплены экспериментальными данными. Целью данной работы было изучение динамики морфофункциональных и метаболических показателей абдоминальной жировой ткани, состояния UCP1-позитивных клеток в ней при адаптации аутбредных лабораторных мышей к разным температурным режимам.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на самцах аутбредных мышей ICR (питомник ГНЦ ВБ «Вектор») с соблюдением правил Хельсинкской декларации о гуманном отношении к лабораторным животным. В 1 эксперименте опытная группа содержалась в течение 3 недель при 30°C (термонейтральная зона), во 2 эксперименте животные адаптировались в течение 2 мес к регулярным 8-ч экспозициям при 10°C. Контрольные группы содержались при 23°C. Окологонадное скопление абдоминального депо и межлопаточный бурый жир экстирпировали после декапитации животных. Интенсивность энергообмена тканей оценивали по скорости поглощения O₂ *in vitro* при 37°C

[4]. Тканевые гомогенаты готовили в буфере 0,01 М трис-HCl с 1 мМ ЭДТА, pH 7,2. Содержание ДНК определяли по результатам спектрофотометрии тканевого гидролизата при 270 и 290 нм [5]. Общий белок определяли по методу Лоури. Белок UCP1 идентифицировали в гомогенатах с помощью Вестерн-блоттинга [4]. На дорожку полиакриламидного геля наносили 60 мкг белка. Электроперенос белка на нитроцеллюлозу (0,2 мкм) проводили полусухим способом, нагрузочный контроль не использовался. Полосу UCP1 выявляли с помощью препаратов антител Sigma Aldrich (USA), ее интенсивность на блоте оценивали с помощью программы «GelAnalyzer». Статистический анализ различий между группами выполнен с помощью критерия Манна-Уитни.

Результаты. Тестируемые температурные режимы стимулировали значительные и разнонаправленные биохимические и функциональные изменения в межлопаточном буром жире (табл. 1). При адаптации животных к термонеutralным условиям содержание ДНК, тканевого белка снижались в нем в 2 раза. При адаптации к холодным воздействиям содержание ДНК увеличивалось более чем в 2 раза, скорость потребления O_2 *in vitro* увеличивалась на 57%. Таким образом, динамика показателей энергетического и пластического обменов в буром жире согласуется с его функцией как основного эффектора факультативного холод-индуцированного термогенеза.

По сравнению с бурым жиром в окологонадном жире изменения при обоих видах температурных адаптаций были однонаправлены – снижение скорости потребления O_2 и содержания белка (табл. 1).

Таблица 1

Свойства жировых тканей мышей при адаптации к различным температурным режимам

Показатели жировых тканей	Окологонадный жир		Межлопаточный жир	
	Контроль, n=10	Опыт, n=6	Контроль, n=11	Опыт, n=6
30 °C в течение 3 недель				
Масса, мг	372,73±42,02	562,13±58,98*	90,80±3,79	114,50±10,15
Масса, %	1,03±0,11	1,50±0,15	0,25±0,01	0,30±0,02
ДНК, мкг/мг	0,19±0,04	0,13±0,03	0,58±0,07	0,22±0,02*
Белок, мкг/мг	32,64±5,91	16,08±1,64*	100,13±8,19	45,53±6,16*
VO_2 , нмоль/мин•мг	0,17±0,04	0,10±0,01	1,38±0,17	1,22±0,24
	Контроль, n=6	Опыт, n=10	Контроль, n=6	Опыт, n=10
10 °C (9 -17 ч), в остальное время 23 °C				
Масса, мг	502,80±40,84	567,10±66,28	138,80±15,46	105±10,62
Масса, %	1,25±0,18	1,38±0,14	0,33±0,04	0,25±0,02
ДНК, мкг/мг	0,18±0,029	0,17±0,025	1,26±0,05	2,86±0,24*
Белок, мкг/мг	47,64±9,24	29,06±9,51	122,08±8,03	148,80±18,21
VO_2 , нмоль/мин•мг	0,27±0,04	0,14±0,017	1,14±0,08	1,80±0,12*

*Примечание: * $p < 0,05$ – статистическая значимость различий между контрольной и опытной группами*

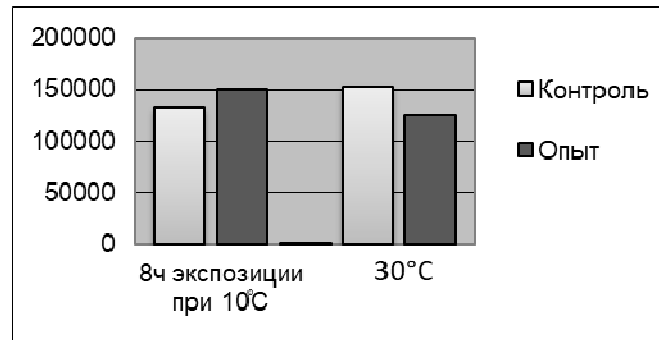


Рис. 1. Интенсивность полосы белка UCP1 (у.е.) в окологонадной жировой ткани животных, содержащихся при разных температурных режимах

При адаптации к 30°C эти изменения сочетались с 1,5-кратным увеличением массы жирового депо, так что в пересчете на весь окологонадный жир эти показатели в «теплой» группе не отличались от контроля. В «холодной» группе масса окологонадного жира не отличалась от контроля, тенденция к снижению энергообмена и общего белка сохранялась при обоих способах расчета показателей. Можно предположить, что такая динамика показателей обусловлена усилением липогенеза, что при свободном доступе к корму представляется целесообразной реакцией на холодовые воздействия. Маркер бежевых адипоцитов белок UCP1 определялся в пробах окологонадного жира во всех группах. В каждой группе животных исследовано по 3 пробы. Интенсивность полосы UCP1 в пересчете на все окологонадное скопление в группе мышей, адаптированных к холоду, была выше, а в группе животных, содержащихся при 30°C, ниже, чем в контроле (рис. 1). Однако эти различия не были статистически значимыми.

Заключение. Полученные результаты не согласуются с предположениями о терморегуляторной функции бежевых адипоцитов абдоминальной жировой ткани, либо используемые в работе холодовые нагрузки недостаточны для заметной индукции термогенеза в этом резервном пуле UCP1-позитивных клеток. Учитывая локализацию этой популяции бежевых адипоцитов в ядре тела, накапливающиеся данные об их стимуляции в условиях пищевой рестрикции [4], представляется, что слабый локальный термогенез в них через подогрев чувствительных нервных окончаний может представлять обратную связь для совместной настройки гипоталамических центров терморегуляции и пищевого поведения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rosen E., Spiegelman B. (2014). What we talk about when we talk about fat. *Cell*, vol. 156, pp. 20-44.
2. Ramseyer V., Granneman J. (2016). Adrenergic regulation of cellular plasticity in brown, beige/brite and white adipose tissues. *Adipocyte*, vol. 5, pp. 119–129.
3. Yamada T., Katagiri H., Ishigaki H., Oqihara T. et al (2006). Signals from intra-abdominal fat modulate insulin and leptin sensitivity through different mechanisms: Neuronal involvement in food-intake regulation. *Cell Metab.*, vol. 3, pp. 223-229.
4. Mizonova O.V., Elsukova O.V., Medvedev L.N. (2013). Energy metabolism and biochemical features of adipose tissues in ICR mice after long-term calorie-restricted diet. *Bull. Exp. Bio. Med.*, vol. 155, pp. 745-747.
5. Трудолюбова М.Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных // *Современные методы в биохимии* – М.: Медицина, 1977. – С. 313–316.