

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
КРАСНОЯРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ им. В.П. АСТАФЬЕВА
(КГПУ им. В.П. Астафьева)

Факультет биологии, географии и химии
Выпускающая кафедра биологии и экологии

Расторгуева Ксения Ивановна

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Тема: Разработка исследовательских проектов школьников по теме «Жировые
ткани для выживания в природе»

Направление подготовки 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профи-
лями подготовки)

Профиль География и биология

ДОПУСКАЮ К ЗАЩИТЕ

Зав. кафедрой д.б.н., профессор Антипова Е. М.

15.06.2018 Е.М. Антипова
(дата, подпись)

Руководитель: к.б.н., доцент Елсукова Е. И.

15.06.2018 Е.И. Елсукова
(дата, подпись)

Дата защиты: 27.06.2018

Обучающийся: Расторгуева К. И.

15.06.2018 К.И. Расторгуева
(дата, подпись)

Оценка _____

(подпись)

Красноярск

2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ ПО ТЕМАТИКЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ПРОЕКТОВ.....	6
1.1. Анатомо-морфологическая и биохимическая характеристика белой жировой ткани.....	6
1.1.1. Патологическая физиология жировой ткани.....	7
1.2. Значение факультативной теплопродукции для поддержания температурного гомеостаза при изменениях температурной среды.....	8
1.3. Характеристика термогенных жировых тканей: бурый и бежевый жир...11	
1.3.1. Бурая жировая ткань.....	11
1.3.2. Бежевая жировая ткань.....	13
1.4. Методы оценки метаболической активности жировых тканей.....	14
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	16
2.1. Жировые ткани.....	16
2.2. Морфологическое исследование жировых тканей в лаборатории.....	17
2.3. Определение общего белка в жировых тканях.....	17
2.4. Статистический анализ.....	18
ГЛАВА 3. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	19
3.1. Характеристика животных.....	19
3.2. Сезонная динамика массы крупных скоплений бурого жира.....	19
3.3. Влияние сезона на цветовую гамму бурого жира.....	21
3.4. Корреляционный анализ скорости потребления кислорода и содержания общего белка в бурой жировой ткани.....	22
3.5. Влияние сезона на содержание белка в бурой жировой ткани полевок...23	
3.6. Морфометрические показатели паховой белой жировой ткани и содержание в ней белка у полевок.....	25
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МАТЕРИАЛОВ И ОСНОВНЫХ ЭТАПОВ	

ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ «СРАВНИТЕЛЬНЫЙ	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЖИРОВЫХ	
ТКАНЕЙ КРАСНО-СЕРОЙ ПОЛЕВКИ И ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ».....	29
4.1. Основные этапы курирования исследовательской деятельности	
обучающихся.....	29
4.2. Межпредметные связи в научно-исследовательской работе	
старшеклассников.....	37
ВЫВОДЫ.....	40
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	41
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	47

ВВЕДЕНИЕ

В ФГОС ООО [25] большое внимание уделяется исследовательской деятельности обучающихся, которая в современной школе выступает как обязательный элемент учебного процесса. Помощь школе в организации исследовательской деятельности способных школьников оказывают НИИ, вузовские и академические лаборатории, заинтересованные в привлечении молодежи в науку.

Опыт такой работы со старшеклассниками имеется в лаборатории физиологии и биохимии энергообмена ФБГХ КГПУ, основным научным направлением которой является изучение закономерностей адипогенеза у высших животных и человека. Прошедшие два десятилетия кардинально изменили представления о физиологии жировой ткани. Значительное увеличение объемов энергозапасания в ней стало необходимым условием интенсификации метаболизма, на основе которой развивались тахиметаболизм, локомоции, сенсорика, сложные формы поведения млекопитающих. Качественные преобразования жировых клеток, их дифференцировка на типы, появление термогенной бурой и бежевой жировых тканей сделало возможным выживание в условиях пониженных и экстремально низких температур и обеспечило широкое расселение млекопитающих по всем регионам планеты. С другой стороны в организме современного человека жировая ткань стала слабым звеном, провоцирующим развитие тяжелых метаболических расстройств и лимитирующим продолжительность жизни. Для выяснения «нормального», т.е. эволюционно закрепленного функционирования жировых тканей разных типов представляют интерес сравнительные исследования жировых тканей бурого и белого типов у животных из природных популяций наряду с традиционным физиологическим экспериментом.

Возможность принять посильное участие в работе научного коллектива позволило бы старшекласснику не только углубить, но также обобщить и интегрировать знания из целого ряда разделов курса биологии и других

школьных дисциплин.

Цель работы: Разработка исследовательских проектов старшеклассников по общей и экологической физиологии жировых тканей.

Задачи:

1. Выполнить анализ современного состояния исследований в области общей и экологической физиологии жировых тканей;

2. Подобрать методы анатомо-морфологического и биохимического анализа для исследования жировых тканей у животных из природных популяций;

3. Получить предварительные результаты по анатомо-морфологическим и биохимическим показателям жировых тканей у лесных и серых полевок;

4. Определить тематику исследовательских проектов; разработать и апробировать исследовательский проект старшеклассника по сравнительной физиологии жировых тканей.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ ПО ТЕМАТИКЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ПРОЕКТОВ

1.1. Анатомо-морфологическая и биохимическая характеристика белой жировой ткани

Белые адипоциты представляют округлые клетки с липидными каплями, окруженными специальными мембранами. Зрелый белый адипоцит, как правило, имеет центрально расположенную крупную липидную каплю, оттесняющую цитоплазму с ядром на периферию [32]. Считалось, что клетки белой жировой ткани практически не обновляются в постнатальном онтогенезе, но исследования последних лет опровергли эту точку зрения [55]. Скорость обновления выше у молодых животных и значительно тормозится в ходе естественного старения. Высококалорийный рацион питания ускоряет возрастное нарушение процессов клеточного обновления в жировых депо.

Энергозапасание в форме триглицеридов или нейтральных жиров – основная функция белого адипоцита. В активное время суток избытки глюкозы и жирных кислот, получаемые с пищей, направляются инсулином в жировую ткань и используются для синтеза нейтральных жиров [24]. В неактивное время суток жиры в жировой ткани, наоборот, расщепляются до глицерина и жирных кислот, жирные кислоты кровью переносятся в разнообразные ткани и органы и используются для окисления и извлечения энергии или для синтеза фосфолипидов, стероидов и восстановления клеточных мембран. Сбалансированное протекание этих сложных ферментативных процессов, называемых в биохимии липогенезом и липолизом, соответственно, определяет метаболическую активность жировой клетки [47].

Основные депо белого жира - подкожное и абдоминальное (внутрибрюшное). Подкожная жировая ткань располагается в верхней части спины и, особенно в ягодичной и паховых областях тела [32, 34]. У лабораторных мышей и крыс в подкожном депо, как правило, доминирует по

размерам паховое скопление. Абдоминальное депо включает несколько скоплений жировой ткани. У грызунов самым крупным являются парные окологонадные скопления, окружающие семенники и их придатки у самцов, рога матки и яичники у самок. над ретроперитонеальными скоплениями располагаются почки; мезентериальный жир располагается в брыжейке. У человека в абдоминальном депо преобладает наджелудочный жир, так называемый сальник.

Жировая ткань – важный эндокринный орган. Адипоциты секретируют многочисленные гормоны [7, 41], среди которых наиболее изучен лептин. Лептин — один из основных гормонов белой жировой ткани. Он играет ключевую роль в регуляции энергетического гомеостаза, сигнализируя головному мозгу о запасах жира в организме, так как адипоциты секретируют лептин в количествах, пропорциональных массе жировой ткани. Это приводит к угнетению пищевого поведения, таким образом, лептин переключает поведение животных на решение других не связанных с удовлетворением пищевой потребности задач. С возрастом чувствительность к лептину центров пищевого поведения снижается [24, 49].

1.1.1. Патологическая физиология жировой ткани

В основе роста жировых депо, как и в основе роста любой другой ткани организма, лежат, во-первых, процессы клеточных делений и увеличения количества клеток, во-вторых, процесс роста отдельных клеток и их гипертрофия [47]. Усиленное жиронакопление, рост липидной капли и снижение доли цитоплазмы с органоидами ухудшает функционирование и метаболическую активность гипертрофированной клетки и может стимулировать процесс клеточной смерти – апоптоз [32, 46]. Накопление погибших адипоцитов привлекает в жировые депо иммунные клетки – макрофаги, разворачивается вялотекущий воспалительный процесс, сопровождаемый повреждениями рецепторов клеток к гормонам и другим сигнальным молекулам [4]. Одним из его проявлений является развитие

необратимой устойчивости организма к инсулину и, вследствие этого нарушение транспорта в скелетную мускулатуру, печень и сами адипоциты глюкозы и жирных кислот [24]. Вследствие этого развиваются сахарный диабет 2 типа, жировой гепатоз, атеросклероз и др.

Причины гипертрофического типа роста жировой ткани пока не изучены [58]. Предполагают, что они как-то связаны с нарушением чувствительности нервных центров гипоталамуса к лептину, избыточному питанию и появлению избытка энергосубстратов.

Имитация средовых воздействий, в том числе, сочетание низкотемпературных экспозиций и умеренного ограничения питания с сохранением микроэлементного и витаминного состава диеты в эксперименте препятствует развитию резистентности мозга к лептину и рассматривается в качестве перспективного относительно безопасного средства сдерживания метаболического синдрома [28, 49, 63]. В тоже время результаты их влияния на метаболические показатели лабораторных животных недостаточно однозначны.

1.2. Значение факультативной теплопродукции для поддержания температурного гомеостаза при изменениях температуры среды

Млекопитающие, как и любые другие живые организмы, зависят от условий внешней среды. Такие факторы как температура, влажность, давление и др. оказывают влияние на жизнедеятельность организма. Резкое отклонение одного из таких факторов, например, недостаток влаги в аридных областях, постоянное резкое падение температуры в ночное время суток в районах с резко-континентальным климатом, способствуют формированию специфических адаптаций животных [28].

Так, температура - фактор, влияющий на жизненно важные процессы организма, связанные с его гомеостазом, также имеет четкое прямое воздействие на метаболизм [20; 21]. Из 23 выделяемых им природных факторов среды, под влиянием которых в процессе органической эволюции

могли бы образоваться соответствующие адаптации, на первое место ставит холод и тепло. Такое высокое место эти факторы занимают по двум причинам. Во-первых, температура определяет скорость химических реакций и является одним из ведущих факторов, ограничивающих рост и метаболизм. Поэтому вся жизнь теплокровных животных возможна в рамках определенной ограниченно изменяющейся температуры тела. Во-вторых, температура ограничивает распространение животных и определяет уровень их активности. Тепловой баланс организма со средой складывается из двух противоположных процессов - теплопродукции и теплоотдачи.

Процесс потери тепла происходит следующими способами. Во-первых, при контакте с более холодными окружающими предметами (теплопроводность). Во-вторых, за счет переноса теплоты воздухом от нагретого тела к другим точкам пространства (конвекция). В-третьих, за счет теплопотерь на испарение жидкости. Наконец, в пятых, незначительная часть тепла расходуется на нагрев потребляемой пищи.

Большое значение в терморегуляции имеет способность к накоплению жира. Подкожный слой жира обеспечивает животное энергопитанием и предохраняет его от переохлаждения. Жир выполняет терморегуляционную роль физически, будучи плохим проводником тепла, также химически, производя "внутреннее" тепло. В тех случаях, когда физическая функция становится излишней или даже опасной для перегревания организма, и жиронакопление не охватывает подкожную поверхность всего тела животного, и жир как продукт питания откладывается лишь в локальных местах [16].

В производстве тепла принято выделять два слагаемых, по крайней мере у теплокровных организмов. Обязатная теплопродукция протекает во всех клетках организма и представляет собой побочный продукт окисления питательных веществ, поступающих в организм с пищей. При температурах окружающей среды, когда теплопотери превышают обязательную теплопродукцию, млекопитающие генерируют дополнительное

факультативное тепло [24]. Специализированным органом факультативной теплопродукции является бурый жир. Бурая жировая ткань выполняет специфическую роль биологического подогревателя. Данные об анатомической локализации и ультраструктурных особенностях бурого жира показывают, насколько хорошо эта ткань приспособлена к термогенезу. Тепло образующееся в бурой жировой ткани, эффективно направляется к двум жизненно важным органам - головному мозгу и сердцу.

Активность бурой жировой ткани опосредуется симпатической нервной системой. Теплопродукция бурой жировой ткани регулируется специализированными нервными центрами гипоталамуса, ствола мозга и эфферентными нейронами симпатической нервной системы [58]. Эти структуры вовлечены в гомеостатическую регуляцию, активность которых модулируется различными факторами.

Установлено, что тепло, образующееся в клетках бурого жира, связано с процессом распада триглицеридов и дальнейших превращений свободных жирных кислот. В ходе адаптации к холоду количество тепла, выделяемого бурым жиром возрастает в 5 раз [28; 63].

Удельный вес теплоты, производимой бурым жиром, в общей теплопродукции организма невелик, но именно эта ткань служит специально для обогрева жизненно важных органов, причем в наиболее критических условиях. Поэтому, бурому жиру отводится заметная адаптивно-защитная роль [14, 16].

1.3. Характеристика термогенных жировых тканей: бурый и бежевый жир

1.3.1. Бурая жировая ткань

Бурая жировая ткань расположена вблизи грудных кровеносных сосудов, вокруг шейно-грудного отдела позвоночника и в средостении. Самые крупные скопления бурого жира – межлопаточное, шейное, подмышечное, околопочечное располагаются в наиболее открытых с высоким

уровнем теплопотерь участках тела, вдоль крупных кровеносных сосудов, направляющих кровь в жизненно важные органы. Например, межлопаточный бурый жир был предложен в качестве наиболее значительного жирового скопления, поскольку оно транспортирует нагретую кровь через вену Сульцера в полую вену и в сердце, что обеспечивает оптимальное распределение тепла другим частям тела. Также, шейный бурый жир подогревает позвоночные артерии, подмышечный бурый жир расположен вдоль вен, возвращающих кровь от верхних конечностей в сердце. Околопочечное скопление расположено в области ворот почек, через которые магистральные сосуды кровоснабжают почки, у мелких животных описаны скопления бурых адипоцитов в районе перикарда [39; 40].

У большинства крупных животных, а также у человека бурый жир представлен в основном в первые дни рождения, а в последующем замещается обычной белой жировой тканью [9]. У мелких млекопитающих бурая жировая ткань сохраняется всю жизнь, хотя в раннем возрасте относительная масса этой ткани значительно больше.

Буроватый цвет является результатом высокого содержания железа, главным образом объясняемого высокой массой митохондрий, и частично также плотной васкуляризацией бурой жировой ткани [47]. Васкуляризация увеличивает транспортную емкость питательных веществ и нагревается от бурого жира [27]. Плотность митохондрий обеспечивает высокую окислительную способность. Цитохромы, содержащиеся в них, обеспечивают транспорт электронов на кислород. Перераспределение освобождающейся энергии в тепло, а не на синтез АТФ осуществляет особый содержащийся только в термогенных жировых тканях белок термогенин или в соответствии с научной номенклатурой разобщающий белок [32, 37]. Это название отражает факт, что термогенин разобщает окисление от синтеза АТФ.

В отличие от крупных однослойных жировых вакуолей белых адипоцитов, бурые адипоциты содержат многочисленные жировые капли, что позволяет быстро мобилизовать триглицериды [32].

Экспериментальные измерения скорости энергообмена в буром жире, а также его анатомическая локализация вблизи жизненно важных органов или вдоль кровеносных сосудов, снабжающих кровью или отводящих кровь к сердцу, как раз и послужили основой для предположения о термогенной функции (образование локального тепла). Как и в белых адипоцитах, в бурых постоянно идут процессы липолиза и липогенеза, но для собственных внутренних нужд [13, 32]. Термогенез значительно ускоряет метаболизм бурого адипоцита. Именно с высокой метаболической активностью этих клеток связаны и отличия их внешнего вида с белыми жировыми клетками. Бурые адипоциты мельче белых, имеют неправильную форму, что увеличивает их клеточную поверхность и увеличивает транспорт необходимых для термогенеза метаболитов [13, 32].

Относительная масса бурого жира у животных одного вида, как правило, тем выше, чем моложе животное и меньше его размеры, т.е. чем больше у него теплопотери на единицу массы тела. Это еще раз указывает на терморегуляторную роль бурого жира [13].

Включение термогенеза после холодного стимула, усиление клеточных делений и адаптивный рост бурого жира опосредованы нервными сигналами из терморегуляторных центров гипоталамуса [30]. Нейроны этих структур головного мозга, индуцируют высвобождение норадреналина из синапсов симпатической нервной системы [38, 39].

1.3.2. Бежевая жировая ткань

На протяжении почти двадцати лет накапливались сведения о присутствии в депо белого жира в малых количествах клеток, похожих на бурые адипоциты [9]. По форме, размерам, количеству жировых капель, митохондрий, другим биохимическим и функциональным признакам эти клетки представляют как бы переходную форму между типичными белыми и типичными бурыми адипоцитами [44]. Подобно бурым адипоцитам их митохондрии содержат разобщающий белок, т.е. потенциально способны

генерировать тепло, но интенсивность термогенеза в них очень низкая на пределе разрешающей способности приборов [36]. Поэтому ученые сомневаются в участии этих клеток в температурном гомеостатировании, активно дискутируется вопрос об их функциях [50].

Содержание этих клеток снижается по мере взросления животных и человека, некоторые воздействия, особенно низкие температуры среды приводят к росту их содержания в подкожных депо белого жира [33]. Увеличение этих клеток сопровождается изменением цвета жировых депо, появлением буроватых оттенков, поэтому в последние годы эти клетки часто называют бежевыми адипоцитами [9, 40].

Долгое время считалось, что эти клетки – одна из стадий развития бурых адипоцитов. Бежевые адипоциты, появляются в белой жировой ткани в ответ на адренергическую стимуляцию во время длительного холодного воздействия. Научной сенсацией стали несколько сообщений от независимых групп исследователей о принадлежности бежевых адипоцитов к другой, отличной от бурых адипоцитов клеточной линии [34, 50]. В раннем онтогенезе бурый жир в отличие от белого и бежевого закладывается от тех клеток предшественников, которые дают начало и скелетной мускулатуре [50]. Происхождение бежевых адипоцитов до сих пор не известно, предполагают существование общих клеточных предшественников у бежевых и белых адипоцитов и даже способность этих клеток к взаимопревращениям – трансдифференцировке [32].

Еще одной загадкой бежевых адипоцитов стали многочисленные факты о положительной корреляции между их содержанием и оптимальным метаболической активностью жировых депо, высоким уровнем здоровья [29]. Трансплантации бежевого жира экспериментальным животным существенно улучшает показатели биохимического анализа крови, сдерживает развитие сахарного диабета 2 типа, атеросклероза при несбалансированном высококалорийном питании. [37; 48] Применение этих клеток в медицине при тяжелых формах висцерального ожирения, инсулинонезависимого

сахарного диабета пока сдерживается из-за отсутствия точных сведений об их происхождении и функциях.

Для выяснения функций адипоцитов, закономерностей их функционирования используется большой арсенал методов, активно пополняющийся в последнее время благодаря прогрессу молекулярных и клеточных технологий.

1.4. Методы оценки метаболической и функциональной активности жировых тканей

Для оценки метаболической активности жировых тканей используют комплекс морфологических, физиологических, биохимических методов.

Морфология: цвет, клеточный размер, форма клетки, состояние клеточных органелл - самый простой и информативный критерий состояния жировых клеток. Метаболическая активность обратно пропорциональна размеру адипоцитов. Интенсивность энергообмена, термогенез тесно связаны с количеством и активностью митохондрий. Как отмечалось выше, цвет жировых тканей – зависит от плотности митохондрий в них и может быть чувствительным индикатором митохондриогенеза и повышения интенсивности энергообмена [8].

Физиологические методы включают оценку интенсивности энергообмена по скорости потребления тканью кислорода [36]. Биохимические методы предоставляют наиболее достоверную информацию о состоянии разных звеньев метаболизма жировой клетки. К биохимическим методам относятся определение содержания и активности ферментов липолиза и липогенеза, содержания триглицеридов, общего, митохондриального белка, отдельных физиологически значимых белков, например, разобщающего белка в буром и бежевом жире.

Физиологические и биохимические исследования у животных в природе затруднены из-за целого ряда причин. Во-первых, нежелательна транспортировка отловленных животных в лабораторию, так как неизбежная

стресс реакция вызывает выраженную симпатическую стимуляцию липолиза в жировых тканях, стимулирует термогенез в буром жире, может вызвать рекрутирование UCP1-адипоцитов в белой жировой ткани [53]. Условия эксплуатации сложного лабораторного оборудования (температура, влажность и др) не соответствуют природным условиям. Поэтому выбор методов анализа – относительно простых и в тоже время достаточно информативных - очень важный этап при планировании физиологических исследований животных в природной среде. Существенным морфологическим критерием для оценки энергообмена жировых тканей является цвет, поскольку, как указывалось выше, он обусловлен содержанием митохондриальных цитохромов [36, 48]. Теоретически, адаптивное изменение функционального резерва ткани практически всегда сопровождаются изменениями скорости белковых синтезов и изменением содержания общего тканевого белка [36]. Поэтому содержание тканевого белка может оказаться удобным критерием для оценки метаболической и функциональной активности жировых тканей. Однако это предположение требует дополнительной проверки.

Таким образом, простые и, в то же время, достаточно информативные методы оценки общего тканевого белка позволяют оценить метаболическую и функциональную активность жировой ткани без транспортировки отловленных животных. Это позволяет изучать вопросы адаптации животных из природных популяций.

Практически не изучен вопрос о жировых тканях животных, с разными сезонными адаптивными стратегиями. Известно, что таксономически близкие, обитающие на одной территории виды могут приспосабливаться к комплексу экологических факторов разными путями [2]. Например, переживание холодного сезона, поддержание температурного гомеостаза у одних животных обеспечивается значительным усилением энергообмена и, тем самым, производства тепла, другие виды в большей степени развивают термоизолирующие механизмы.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Жировые ткани

Предварительные исследования проведены на образцах жировых тканей полевок: красной (*Myodes rutilus*), красно-серой (*Myodes rufocanus*) и узкочерепной (*Microtus gregalis*). Выбор этих видов обусловлен, во-первых, их повсеместным распространением и легкостью отлова. Во-вторых, имеются сведения, что эти виды придерживаются разных стратегий сезонной адаптации [19]. Красно-серая полевка зимой не изменяет или даже уменьшает интенсивность энергообмена, оцененную по скорости потребления кислорода, это позволяет отнести ее к видам с энергосберегающей адаптивной стратегией. Красная и узкочерепная полевки увеличивает энергообмен зимой, поэтому ее относят к видам с энергозатратной сезонной адаптивной стратегией. Отлов и определение видовой принадлежности производились квалифицированными зоологами в окрестностях г. Красноярска. Животные отлавливались с помощью трапиковых ловушек, обеспечивающих мгновенную смерть животного, тем самым, исключалось влияние на жировые ткани стрессогенных факторов. Период отлова охватил три сезона: конец лета (август), осень (конец сентября – начало октября), конец весны (середина мая). Время от момента смерти животного до выделения тканей варьировало от 40 мин до 5-ти ч. Препарирование животных, как правило, проводилось в полевых условиях. В исследование включены только самцы. Бурую жировую ткань выделяли из межлопаточного и переднешейного скоплений. Источником белой жировой ткани, в которой чаще всего наблюдается рекрутирование бежевых адипоцитов, было подкожное паховое скопление. Транспортировка осуществлялась в пробирках типа эппендорф с известной массой на льду или в жидком азоте.

2.2. Морфологическое исследование жировых тканей в лаборатории

В ходе морфометрического анализа регистрировалась масса образцов жировых тканей. Пробы жировых тканей полевок взвешивали на весах в транспортировочных эппендорфах. Массу ткани затем вычисляли, отнимая от полученного значения известную массу эппендорфа. Относительную массу тканей рассчитывали в процентах от массы тела. С помощью трехцветовой шкалы визуально оценивали варианты окрашивания бурого жира [8]. Шкала включала песочный (светлый), бурый (промежуточный), шоколадный (темный) цвета. Кроме того обращали внимание на розовые и буроватые оттенки скоплений белого жира.

2.3. Определение общего белка в жировых тканях

Кусочки ткани массой около 30 мг для бурой жировой ткани и 50-80 мг для белой жировой ткани гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в 0,5 мл 0,01 М трис-НСl буфера с 1 мМ ЭДТА, рН 7,2 [15].

Определению белка предшествовала солюбилизация гомогената [35]. Смешивали 0,024 мл гомогената и 1,6 мл раствора 1,5% додецилсульфата натрия (ДСН) и 0,66 н NaOH. Смесь центрифугировали в течение 15 мин при 200g. Несолубилизованные кусочки ткани в ходе центрифугирования осаждались на дно пробирки. К 0,338 мл надосадочной жидкости добавляли 0,162 мл H₂O. При этом достигалось разбавление гомогената в 100 раз.

Белок определяли по методу Лоури [43], используя реактив Фолина фирмы Рансгеас (Испания).

Пробы спектрофотометрировали при длине волны 750 нм. против контрольного раствора. Состав контрольного раствора - 0,3 мл 1,5% ДСН и 0,66 NaOH + 0,16 мл H₂O + 0,004 мл Трис-НСl буфера. Концентрацию белка определяли с помощью калибровочной прямой. Содержание белка рассчитывали в мкг/мг ткани.

2.4. Статистический анализ

Все данные представлены в виде средних значений и статистических ошибок. Статистические расчеты выполняли в программной среде Microsoft Excel. Различия между сезонными группами животных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна и Уитни.

ГЛАВА 3. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Характеристика животных

Показатели массы тела животных и их сезонная динамика согласуются с данными литературы [19]. В августе средняя масса тела животных всех трех видов была очень близка и составляла для лесных полевок 17-18 г, для узкочерепной полевки этот показатель был незначительно меньше – около 15 г (табл. 1). Эти значения характерны для молодых неполовозрелых животных. В конце сентября значения показателя не изменялись или у лесных полевок проявляли тенденцию к снижению. Отсутствие положительной динамики массы тела указывает на сезонную ростовую паузу [49]. Масса тела отловленных животных всех трех изучаемых видов соответствовала взрослым значениям этого показателя в начале-середине мая. Размеры, внешний вид половых органов соответствовали периоду половой зрелости.

Таблица 1.

Масса тела лесных и серых полевок

Полевки	Август	Конец сентября – начало октября	Май
Красно-серая	18,18±2,85 (9)	15,76 (2)	40,10±7,60 (5)
Красная	16,40±0,79 (3)	15,36±1,67 (7)	21,70±2,26 (3)
Узкочерепная	15,53±1,59 (8)	14,51±1,13 (7)	45,85±5,56 (15)

Примечание: здесь и в последующих таблицах цифры в скобках обозначают количество животных.

3.2. Сезонная динамика массы крупных скоплений бурого жира

Все изученные животные имели хорошо выраженные скопления бурой жировой ткани: межлопаточное, переднешейное, подмышечное, заднешейное. Характерной особенностью распределения бурого жира у

полевков по сравнению с мышами является четко оформленное, локализованное между долями и с вентральной стороны подчелюстной слюнной железы переднешейное скопление. Причем у узкочерепной полевки оно зачастую превосходит по массе даже межлопаточное скопление.

Таблица 2.

Влияние сезона на показатели массы крупных скоплений бурого жира у полевков разных видов.

Сезон	Август	Конец сентября – начало октября	Май
Красно-серая полевка			
Масса МБЖТ, мг	45,33±18,22 (9)	50 (2)	44,2±11,99 (5)
%	0,26±0,13	0,32	0,11±0,03
Масса ПШБЖТ, мг	28,83±6,73 (6)	36,5 (2)	97,60±25,24 ¹ (5)
%	0,18±0,06	0,23	0,24±0,06
Красная полевка			
Масса МБЖТ, мг	36,33±2,08 (3)	47,86±12,16 (7)	44,10±8,00 (3)
%	0,20±0,04	0,31±0,08	0,21±0,05
Масса ПШБЖТ, мг	32,33±4,73 (3)	37,71±8,89 (7)	30,67±5,51 (3)
%	0,20±0,03	0,25±0,07	0,14±0,04
Узкочерепная полевка			
Масса МБЖТ, мг	29,50±5,81 (8)	34,57±7,30 (7)	64,39±14,81 ^{1,2} (14)
%	0,19±0,04	0,23±0,05	0,14±0,03
Масса ПШБЖТ, мг	34,00±15,17 (8)	39,79±10,57 (7)	82,77±15,11 ^{1,2} (15)
%	0,22±0,10	0,26±0,07	0,18±0,04

Примечание. ^{1,2} – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) с группами августовских и осенних полевков соответственно. Здесь и в последующих таблицах МБЖТ – межлопаточный бурый жир, ПШБЖТ – переднешейная бурая жировая ткань.

Сезонная динамика массы бурого жира очень близка у всех изученных полевков. Между августом и концом сентября абсолютная и относительная масса бурого жира увеличивается, несмотря на прекращение роста тела. Адаптивный рост межлопаточного бурого жира в начале осени в большей степени выражен у лесных полевков; у узкочерепной полевки масса этого скопления в первый месяц осени практически не изменяется. Судя по весенним значениям абсолютной массы обоих скоплений бурого жира у

узкочерепной полевки, в 2-3 раза превышающим сентябрьские, их адаптивный рост продолжается в последующие месяцы осенне-зимнего сезона. У красно-серой полевки абсолютная масса бурого жира почти не отличается от сентябрьских значений, а масса переднешейного бурого жира увеличивалась почти в 3 раза между сентябрем и маем. Это факт, однако, требует дополнительной проверки из-за малого количества животных и из-за возможности экстирпации белой жировой ткани, которая в этот период интенсивно растет латеральнее границы переднешейного бурого жира и дорсальнее границ межлопаточного бурого жира. В отличие от межлопаточного в переднешейном скоплении границы бурой и белой жировой ткани визуально не всегда достаточно отчетливы. В связи с интенсивным ростом тела весной относительная масса бурого жира становится меньше осенних показателей. У красной полевки весной абсолютная масса обоих скоплений бурого жира почти не отличается от сентябрьских значений.

Для межвидовых сравнений более адекватным показателем является относительная масса. Существенных различий между видами по показателям массы для обоих изученных скоплений в разные сезоны года не обнаружено.

3.3. Влияние сезона на цветовую гамму бурого жира

Как уже отмечалось ранее, интенсивность коричневого цвета скоплений бурого жира пропорциональна содержанию цитохромов ЭТЦ в бурых адипоцитах и, следовательно, их окислительной и термогенной активности. Оценки с помощью трехцветной шкалы обнаруживают общую закономерность – повышение частоты темного варианта окраски осенью; в мае этот вариант окрашивания практически не встречается, наоборот, увеличивается доля светлых вариантов (рис. 1). Количественный анализ выполнен для красной и узкочерепной полевок. Доля более темных вариантов окрашивания у красной полевки во все сезоны выше по сравнению с узкочерепной.



Рисунок 1. Внешний вид межлопаточного бурого жира полевок

Примечание:

Слева - красно-серая полевка, отловленная в мае (светлый вариант окрашивания бурого жира)

Справа - красная полевка, отловленная в конце сентября (темный вариант окрашивания бурого жира)

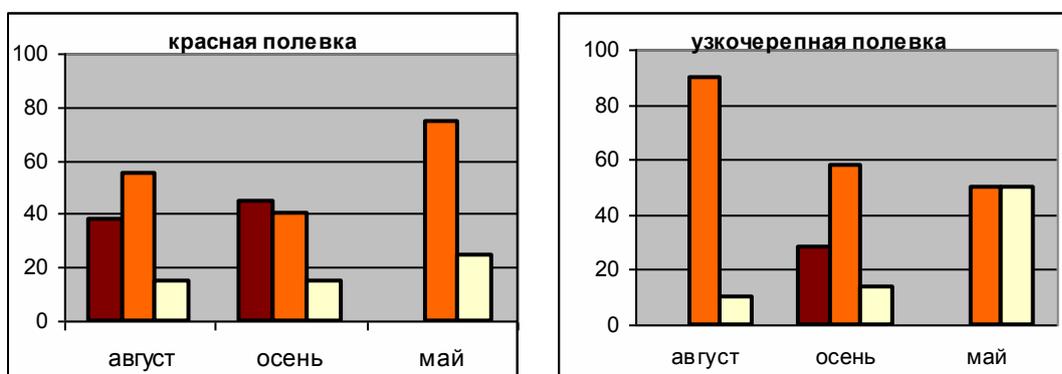


Рисунок 2. Процентное распределение полевок с разными вариантами окрашивания бурого жира

- темное
- промежуточное
- светлое

3.4. Корреляционный анализ скорости потребления кислорода и содержания общего белка в бурой жировой ткани

Для проверки предположения о тесной связи между изменениями содержания тканевого белка и интенсивности энергообмена при разных видах адаптаций проведен корреляционный анализ (рис. 2). В анализе

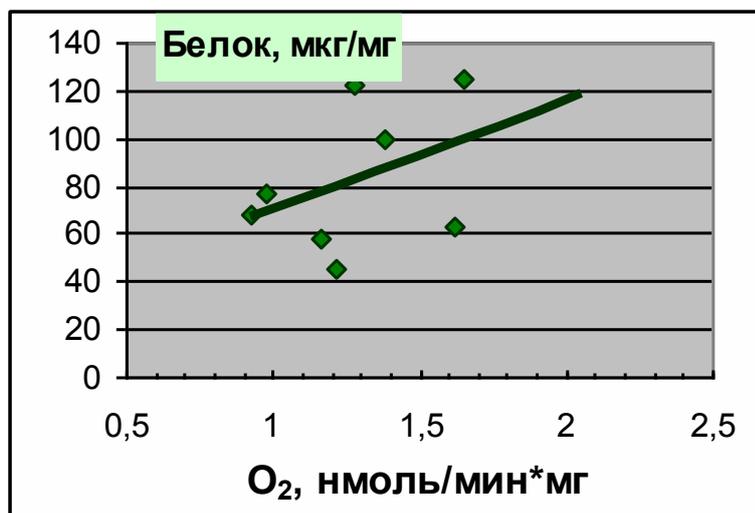


Рисунок 3. Зависимость между содержанием белка в буром жире и скоростью потребления им O₂ в экспериментальных группах лабораторных мышей.

Примечание: Каждая точка графика представляет среднее значение показателя в экспериментальной группе животных. Количество животных в этих группах варьировало от 5 до 15.

использованы ранее полученные данные по этим показателям в буром жире аутбредных лабораторных мышей ICR, адаптированных к разным температурным режимам содержания и к пищевой рестрикции [15; 35]. Установлена положительная корреляционная зависимость между скоростью потребления кислорода и содержанием белка. Это позволяет использовать видовые, сезонные особенности содержания общего тканевого белка для приближенной оценки адаптивных изменений энергообмена жировых тканей.

3.5. Влияние сезона на содержание белка в бурой жировой ткани полевков

Содержание белка в буром жире полевков увеличивалось осенью и снижалось в мае (табл. 3). В августе самые высокие значения этого показателя наблюдались у красно-серой полевки. Ввиду малых выборок и высокой вариабельности показателя различия с другими видами не были статистически значимыми. Но стоит отметить, что содержание белка в буром жире у августовского молодняка красно-серой полевки превышало значение

для узкочерепной полевки более чем в 2 раза. В конце сентября существенные изменения этого показателя у красно-серой полевки отсутствовали; в мае значения показателя снижались в 3,5 раза. Количество обработанных проб красной полевки недостаточно для полноценного статистического анализа, но отмеченные тенденции к повышению осенью и снижению весной содержания белка в буром жире у нее появляются. У узкочерепной полевки осенью содержание белка увеличивалось на 80%, но это изменение не было статистически значимым. Весной показатель почти не изменился по сравнению с осенью.

Таблица 3.

Содержание белка в межлопаточном буром жире полевок в разные сезоны

Животные	Август	Конец сентября – начало октября	Май
Красно-серая мкг/мг мкг/г ^{0,75}	140,74±35,39* 641,67±229,85* (6)	141,50 852 (2)	36,30±9,10* ¹ 117,33±44,47* ⁺¹ (3)
Красная, мкг/мг мкг/г ^{0,75}	79,91 379,10 (2)	109,50 675,12 (2)	48,27±4,05* 212,30±22,61* (3)
Узкочерепная мкг/мг мкг/г ^{0,75}	65,92±30,20 215,49±113,82 (6)	119,33±23,50 404,31±250,45 (3)	115,24±26,69 423,17±50,20 ¹ (4)

Примечание: Статистическая значимость различий ($p < 0,05$) - ¹ с группами августовских полевок; * - с узкочерепной полевкой, ⁺ - с красной полевкой.

Чтобы точнее представить вклад бурого жира в энергообмен и терморегуляцию его показатели нормируют к площади поверхности тела. Последняя рассчитывается как масса тела, возведенная в степень -0,75. Нормированный показатель общего белка проявляет такую же динамику, как и не нормированный. В соответствии с полученными данными у всех изученных видов вклад бурого жира в терморегуляцию максимален осенью.

Но у красно-серой полевки, согласно нашим данным, термогенный потенциал достигает максимума еще у августовского молодняка, а осенью и зимой не меняется. У узкочерепной и, по-видимому, красной полевок имеет место осенне-зимнее усиление термогенного потенциала. Однако, до весны все изучаемые показатели и, следовательно, термогенный потенциал у красно-серой (*Myodes rufocanus*) полевки выше, чем у красной (*Myodes rutilus*) и узкочерепной (*Microtus gregalis*) полевок. Наоборот, весной нормированный показатель тканевого белка самый низкий у красно-серой полевки, а самый высокий у узкочерепной полевки.

3.6. Морфометрические показатели паховой белой жировой ткани и содержание в ней белка у полевок

В свете новых данных о потенциально термогенных бежевых адипоцитах резерв факультативного термогенеза должен оцениваться с учетом состояния этой клеточной популяции [32]. В данной работе исследовались некоторые морфологические и биохимические свойства пахового жира, жирового депо, которое рассматривается как депо с наибольшим содержанием бежевых адипоцитов, к тому же обнаружено его представительство в гипоталамических центрах теплопродукции у лабораторных крыс [30].

У полевок всех трех видов масса пахового депо была существенно (в 3-4,5 раза) меньше, чем у лабораторной мыши, являющейся традиционным эталоном в сравнительно-физиологических исследованиях грызунов (табл. 4). Цвет пахового жира – розово-буроватый указывал на высокое содержание митохондриальных цитохромов и, следовательно, высокую окислительную активность. Содержание тканевого белка также было в 3-5 раз выше, чем у лабораторной мыши (табл. 4). Существенных различий по этим показателям у разных видов полевок, отловленных в течение одного сезона, не обнаружено.

Таблица 4.

Масса паховой жировой ткани и содержание в ней белка у лесных и серых полевков

Полевки	сезон	Масса, мг	Масса, %	Белок, мкг/мг
Красно-серая, n=4	август	74,75±12,97	0,46±0,17	32,32±20,96
Красно-серая, n=2	май	88	0,22	43,46
Красная, n=3	август	55,33±27,02	0,33±0,20	31,47±5,68
Узкочерепная, n=3	май	138,70±140	0,32±0,21	58,94±32,99
Лабораторная мышь, n=10	май	490,10±16,1 8	1,41±0,14	11,22±0,19



А



Б

Рисунок 3. Внешний вид паховой жировой ткани полевков, отловленных в мае

А – красно-серая полевка; Б – узкочерепная полевка

Высокое содержание тканевого белка в сочетании с темным окрашиванием косвенно свидетельствует в пользу содержания в паховом жире термогенных клеток. Их прямая детекция может быть осуществлена со специфическими антителами к разобщающему белку UCP1.

В ходе анализа полученных результатов выявлено несколько интересных фактов. В отличие от лабораторных грызунов у отловленных в

естественной природной среде в разные сезоны полевки доминирующими по массе являются скопления не белого, а бурого жира. Это, вероятно, свидетельствует о значительной роли факультативного термогенеза в терморегуляции и, как следствие, о его достаточно высоком вкладе в энергообмен этих мелких млекопитающих. Подкожная белая жировая ткань во все сезоны проявляет морфологические и биохимические признаки, соответствующие высокой окислительной активности. Связано ли интенсивное окисление в паховом жире с присутствием бежевых адипоцитов и термогенезом в них для подогрева мышц задних конечностей, либо с генерацией АТФ для процессов пластического обмена, влияние внешних сезонных факторов на соотношение этих путей использования энергии в нетипичном буром жире – фундаментальные вопросы, изучение которых планируется с использованием специфических антител к разобщающему белку UCP1.

Наряду с общими закономерностями представляет интерес сопоставление особенностей функционирования жировых тканей с особенностями занимаемой экологической ниши, питания, физиологических и поведенческих реакций на факторы среды. В соответствии с полученными предварительными данными, у красно-серой полевки, относимой к видам с энергосохраняющей стратегией зимней адаптации, показатели термогенного потенциала бурого жира к началу холодов были не ниже, чем у красной и узкочерепной полевки, придерживающихся энергозатратной адаптивной стратегии. Это позволяет предположить, что биохимическая конструкция, анатомическая локализация термогенного механизма бурого жира обеспечивает нужный тепловой эффект с меньшими энергозатратами. Недостаточное развитие этого уникального термогенного аппарата, компенсаторное вовлечение в теплообразование не связанных с разобщающим белком UCP1 футильных циклов требует больше энергии и сопровождается большим потреблением кислорода. Еще один интересный факт – развитие у полевки в отличие от мышей бурого жира в области самой

крупной подчелюстной слюнной железы. В связи с этим фактом встает еще не исследованный вопрос о возможных связях между подогревом, секреторной активностью этой железы и типом питания.

Таким образом, полученные в ходе предварительного исследования результаты представляют интерес, как для общей физиологии, так и для сравнительной и экологической физиологии энергообмена и терморегуляции. Для проведения полноценного статистического анализа исследования в этом направлении будут продолжены. Для научно-исследовательской работы обучающихся могут быть предложены следующие темы:

- Сравнительный морфологический и биохимический анализ жировых тканей у грызунов из природных популяций и лабораторных мышей.

/Подсказки природы в борьбе за здоровье и долголетие/

Планируется определение в пробах межлопаточного бурого и пахового белого жира содержания общего белка методом Лоури, визуальная оценка цветовой гаммы и сравнительный анализ полученных результатов. Природные объекты исследований – полевки родов *Microtus*, *Clethrionomys*, лесные и полевые мыши рода *Apodemus*.

- Сезонные особенности анатомического распределения и массы бурой и белой жировых тканей у грызунов в природе. */Беречь или тратить? Альтернативные стратегии выживания/*

Планируется измерить и сопоставить массу основных скоплений бурого жира (межлопаточное, переднешейное, заднешейное, подмышечное) и подкожного и абдоминального белого жира у нескольких видов грызунов с различающимися сезонными адаптивными стратегиями.

- Содержание белка как интегральный показатель метаболической активности бурой и белой жировых тканей. */Жир инертный или активный. Как измерить метаболическую активность жировых тканей?/*

Планируется определение цветовой гаммы и содержания белка в пробах межлопаточного бурого и пахового жира грызунов, отловленных весной и летом.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МАТЕРИАЛОВ И ОСНОВНЫХ ЭТАПОВ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ «СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЖИРОВЫХ ТКАНЕЙ КРАСНО-СЕРОЙ ПОЛЕВКИ И ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ»

4.1. Основные этапы курирования исследовательской деятельности обучающегося

Современное образование требует формирования у обучающихся способности самостоятельно мыслить, добывать и применять знания, тщательно обдумывать принимаемые решения и чётко планировать действия. Это требует широкого внедрения в образовательный процесс альтернативных форм и способов ведения образовательной деятельности. Такой формой, среди прочих, может быть исследовательская деятельность.

Исследовательская деятельность обучающихся — деятельность, связанная с решением творческой, исследовательской задачи с заранее неизвестным решением и предполагающая наличие основных этапов, характерных для исследования в научной сфере [5; 10; 22].

В современной школе 1) много внимания уделяют пропаганде научных достижений и открытий; 2) в обязательном порядке обучающиеся учат готовить исследовательские проекты, начиная с начальных классов. Нередко в самой школе проводятся конференции, в которых обучающимся предоставляется возможность выступить, продемонстрировать свой проект. МАОУ «Средняя школы №153», которая стала базой для прохождения интернатуры, не является исключением. Поэтому поиск заинтересованных обучающихся, знающих, что такое научно-исследовательская деятельность не составил труда. У Носыревой Серафимы, обучающейся в 10 классе, желание выполнить исследование по биологии возникло после научно-популярной лекции по протеомным методам анализа. После личной беседы выяснилось, что обучающаяся планирует поступать в медицинский ВУЗ. Поэтому из разработанных нами тем была предложена та, которая наиболее связана с

медициной, проблемами сохранения здоровья. При составлении индивидуального плана работы (табл. 4) мы руководствовались представлениями об этапах, принятых в научных исследованиях [5; 6; 22], таких как:

- Выработка гипотезы;
- Постановка проблемы;
- Планирование исследовательских действий;
- Изучение теории, посвященной данной проблеме;
- Проверка гипотезы в ходе наблюдения или опыта;
- Анализ полученных результатов;
- Формулирование выводов;
- Подготовка отчета.

Согласно классификации [1; 10], по продолжительности работа является долгосрочной, выполняется индивидуально, во внеурочное время.

Выполнение исследования на базе научной лаборатории представляет для старшеклассника дополнительные сложности. Одна из них связана с недостатком адаптированной к уровню знаний школьника литературы. При подборе литературы для школьницы мы исходили из необходимости прежде всего расширить сверх школьной программы знания в области биологической энергетики, поэтому в качестве основного базового источника ей была рекомендована для изучения научно-популярная книга известного советского и российского биохимика, академика РАН В.П. Скулачева. Особое внимание школьница должна была уделить вопросам трансформации энергии питательных веществ в митохондриях, а, именно, возникновению электрохимического потенциала протонов водорода между разными сторонами внутренней мембраны митохондрий, видам работ, которые могут быть совершены за счет его энергии в обычных клетках животных и в термогенных клетках бурого жира.

Индивидуальный план научно-исследовательской работы

Носыревой Серафимы Михайловны, обучающейся 10 Б класса МАОУ «Средняя школы №153»

По теме: Сравнительный морфологический и биохимический анализ жировых тканей красно-серой полевки и лабораторных мышей. Подсказки природы в борьбе за здоровье и долголетие.

Этапы работы	Сроки	Конкретный продукт
1. Обсуждение темы исследовательского проекта, научной проблемы, решаемой в ходе его выполнения, рекомендации по работе с основной литературой и самостоятельному поиску дополнительной литературы	19.12.2017- 22.12.2017	Заинтересованный обучающийся, знающий и понимающий суть работы.
2. Знакомство с работой в лаборатории, составление индивидуального плана, знакомство с методологией исследования.	22.12.2017- 11.01.2018	Понимание практического этапа исследовательской работы, знания правил безопасности при работе в лаборатории, индивидуальный план работы над исследовательским рефератом и его защиты, знание правил и особенностей написания исследовательской работы.
3. Обзор литературы, написание данной главы.	12.01.2018- 16.02.2018	Полное понимание теории исследовательской работы. Готовность к практической работе. Написанная глава «Обзор литературы».

4. Практический этап – проведение эксперимента и анализ полученных результатов.	22.02.18- 24.02.2018	Знание метода определения белка по Лоури и практическое его использование, умение работать с лабораторным оборудованием, написаны две последние главы «Методы исследования» и «Результаты исследования и их обсуждение».
5. Обсуждение и корректировка реферата, подготовка текста доклада и презентации. Рекомендации к выступлению.	25.02.2018- 01.03.2018	Готовая презентация, текст доклада и исследовательский реферат.
6. Выступление на первом школьном этапе. Конференция «Научный потенциал Сибири», проводимая на базе МАОУ «Средняя школа №153».	01.03.18	Приобретенный опыт публичного выступления с научным сообщением
7. Корректировка работы с учетом рекомендаций жюри, подготовка к следующему этапу.	02.03.2018- 20.03.2018	Редактированный вариант презентации, доклада и реферата с учетом рекомендаций жюри.
8. Выступление на втором школьном этапе конференции.	20.03.18	Выступление на втором школьном этапе.
9. Выступление на районном этапе конференции.	22.03.18	Выступление на районном этапе.

Таблица 5.

Список литературы к проекту

Источники, рекомендованные школьнице	Источники, найденные школьницей
<p>Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Бутрова С.А. Жировая ткань как эндокринный орган // Ожирение и метаболизм. 2006. №1. С. 14-20.</p> <p>Стасевич К. Жир белый, бурый, бежевый // Наука и жизнь. 2014. №11.</p> <p>Скулачев В.П. Рассказы о биоэнергетике. 2-е издание. М. : Молодая гвардия, 1981. 191 с.</p> <p>Шварцбурд П.М. Разные лица инсулинорезистентности // Химия и жизнь. 2013. №7. С. 24-26.</p>	<p>Бурый жир. Бурая жировая ткань / Публикации для учащихся [Электронный ресурс]: http://examans.ru/fizika/8621/index.html?page=60.</p> <p>Кондратенко Ю. У животных, впадающих в спячку, нервные клетки обогреваются белком термогенином // Элементы. 01.02.2015 [Электронный ресурс]: http://elementy.ru/novosti_nauki/432400/.</p> <p>Резник Н. Любовный жар миноги // Троицкий вариант. №15. 2013 [Электронный ресурс]: http://elementy.ru/nauchnopolulyarnaya_biblioteka/432092.</p>

Для перехода от клеточной к организменной биоэнергетике школьнице предлагалось прочитать статью академика И.И. Дедова, где в относительно доступной форме обсуждаются проблемы эволюционного понижения КПД биологической работы, вклада несократительного термогенеза в энергообмен животных, необходимости энергодепонирования в жировой ткани. Для формирования у старшеклассницы общих представлений о причинах ожирения и механизмах развития сопутствующих тяжелых метаболических заболеваний предложена научно-популярная статья Шварцбурда. Работа с литературой на начальном этапе подразумевала подготовку кратких конспектов, составление терминологического словаря. В связи с обилием в предлагаемой литературе новых научных терминов обучающейся рекомендовано попробовать сначала самой найти их содержание, пользуясь поисковыми интернет ресурсами, при возникновении сложностей в понимании обращаться к руководителю. Поощрялся самостоятельный поиск научно-популярной литературы по теме исследования. Заключительным этапом работы с литературой было написание главы «Обзор литературы» исследовательского реферата по плану, который предварительно обсуждался.

Практический этап исследования проводился под постоянным присмотром руководителя. Тем не менее, важно дать возможность обучающемуся самостоятельно провести работу. Для этого, была подготовлена памятка с описанием каждого этапа практической работы. Сначала школьница определяла оптическую плотность в пробах с известной концентрацией бычьего сывороточного альбумина и строила калибровочную прямую. Только после освоения манипуляции с непосредственным определением содержания белка девушка была допущена к работе с биологическим материалом.

Памятка по определению тканевого белка по методу Лоури

1 этап – гомогенизация кусочков ткани. Кусочки массой около 30 мг гомогенизировать в стеклянном гомогенизаторе в 0,5 мл буфера.

2 этап солюбилизация гомогената. Солюбилизация - разрушение мембранных структур, липидных капель. В нашем исследовании это достигается с помощью сильного ионного детергента – додецилсульфата натрия (ДСН).

2.1. Отобрать в центрифужную пробирку с помощью автоматической пипетки с регулируемым объемом 0,024 мл гомогената и 1,6 мл раствора детергента. Смесь взболтать.

2.2. Поставить пробирки с обработанными детергентом пробами жировых тканей в центрифугу друг против друга, выставить на задней панели прибора положение тумблера ускорения на 200 (ускорение свободного падения). Центрифугировать в течение 15 мин. Несолубилизированные кусочки ткани в ходе центрифугирования осаждаются на дно пробирки.

3 этап разбавление гомогената. Отобрать 0,338 мл надосадочной жидкости и добавляли к ней 0,162 мл H₂O. При этом достигается разбавление гомогената в 100 раз

4 этап проведение цветных реакций. Реактивы: Для проведения цветной реакции на пептидные связи используются реактивы А и В. Для приготовления реактива В Na₂CO₃ (2 г) и NaOH (0,4 г) смешивают в 50 мл воды. Для приготовления реактива А 0,05 г CuSO₄ и 5,5 г цитрата натрия смешивают и растворяют в 10 мл воды. Перед определением их смешивают в соотношении 50 мл реактива В к 1 мл реактива А. Смесь принято называть реактивом С Для окрашивания ароматических аминокислот на следующем этапе анализа используется препарат реактива Фолина.

4.1. В пробы добавлять 2,5 мл реактива С и инкубировать их при комнатной температуре 15 мин.

4.2. Затем добавлять 0,25 мл реактива Фолина и для развития окраски пробы инкубировать 30 минут.

5 этап спектрофотометрия. Пробы спектрофотометрировать при длине волны 750 нм против контрольного раствора. Состав контрольного

раствора - 0,3 мл детергента+ 0,16 мл H₂O + 0,004 мл буфера.

6 этап построение калибровочной прямой. Для определения количества белка в пробах используется калибровочная прямая – графическая зависимость между оптической плотностью проб и концентрацией в них белка. Для ее построения манипуляции 4 и 5 этапа проводят с растворами белка (бычьего сывороточного альбумина) с известными концентрациями. Обычно используют концентрации в мг/мл - 25, 50, 100, 150, 200. Для построения калибровочной прямой удобно использовать программу Microsoft Excel.

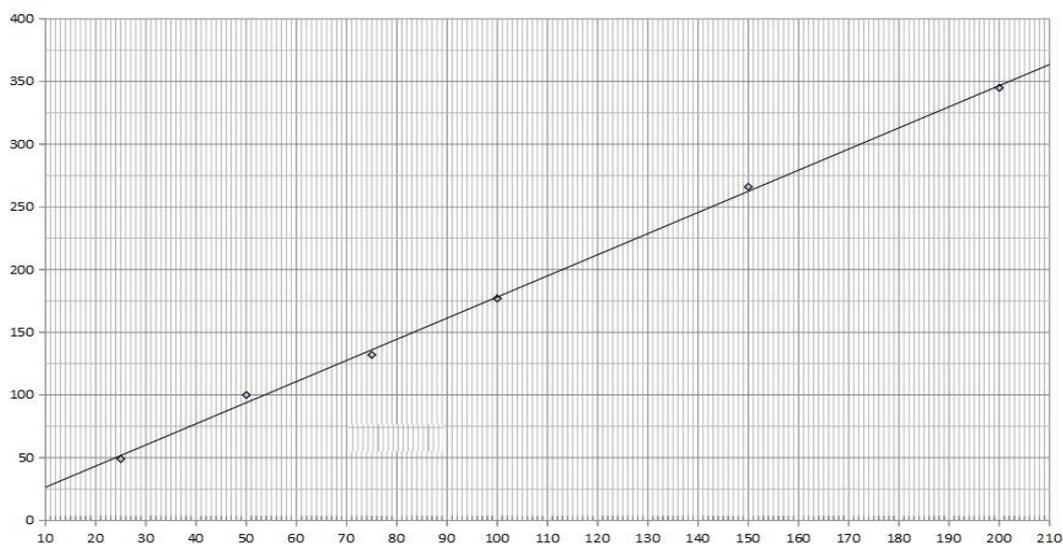


Рисунок 4. Калибровочная прямая

7 этап подсчет количества белка. Окончательно по содержанию белка в пробе, зная разведение гомогената, количество ткани в гомогенате, рассчитывали количество белка на мг пробы по формуле:

$$\frac{\text{Оптическая плотность} * 100 * 0,5}{\text{Кусочки ткани, мг}}$$

В ходе работы школьница не раз сталкивалась с необходимостью вспомнить пройденный материал или заранее посмотреть материал, который предстоит изучать в дальнейшем, причем не только по биологии, но и по физике, химии, математике, информатике.

В связи с этим нас заинтересовали возможности исследовательской работы в интеграции знаний, получаемых в разных разделах школьного

курса.

4.2. Межпредметные связи в научно-исследовательской работе старшекласников

Одна из серьезных проблем современного школьного образования в России – все более углубляющаяся разрозненность изучаемых предметов, их зачастую чрезмерное дробление на всевозможные элективные курсы, за которыми теряется целостное представление о той или иной науке, об естествознании в целом. Обучающиеся, как правило, не используют умения и знания, приобретенные при изучении одних предметов, в рамках других предметов – для них учебные предметы существуют изолированно друг от друга. Эта негативная тенденция находится в противоречии с развитием науки, в которой на протяжении нескольких столетий наряду с дифференциацией активно развиваются и интеграционные процессы. Особенно заметны они были в биологии, где в течение XX в. произошло сначала становление биохимии, биофизики, бурное развитие молекулярной биологии, а затем на рубеже XX и XXI веков появились такие мощные физико-химические методы как геномика, протеомика, биоинформатика. Преодолеть эти негативные тенденции в образовании может реализация межпредметных связей в рамках учебной и внеучебной деятельности [3; 6; 11].

Межпредметные связи – это дидактическая категория, которая отображается во взаимосвязанном и взаимообусловленном изучении учебных предметов в школе [12]. Они обеспечивают: обоснованную последовательность в формировании понятий; согласованное во времени изучение разных учебных дисциплин с целью их взаимной поддержки; показ общности методов, которые применяются в разных дисциплинах (генерализация знаний); раскрытие взаимосвязи природных явлений, показ единства мира; подготовку учеников к овладению современными

технологиями [25]. По нашему мнению, особое место занимает научно-исследовательская деятельность обучающихся, в ходе которой ученик самостоятельно в соответствии со своими интересами открывает для себя тесное взаимодействие наук в решении поставленной исследовательской задачи.

Рассмотрим межпредметные связи на примере вышеописанной исследовательской работы. Данная работа разделена на несколько этапов. Первый этап - знакомство с теорией, работа с литературой. Основной пласт информации ложится на знания по биологии: особенности млекопитающих (теплокровность, терморегуляция, факультативный термогенез), метаболизм, единство анатомо-морфологических свойств и функций белой и бурой жировых тканей, их адаптивные реакции. Однако необходимая для самостоятельного исследования глубина понимания и усвоения этих биологических понятий требует от ребенка и его наставника постоянного обращения, по крайней мере, к физике и химии. Например, облигатная метаболическая теплопродукция и митохондриальная организация регулируемого термогенеза в буром жире – являются прекрасными конкретными иллюстрациями первого и второго законов термодинамики. Многие особенности физиологии мелких млекопитающих, прежде всего высокая интенсивность энергообмена, тесно связанные с физиологией используемые адаптивные стратегии, могут быть объяснены из элементарных законов геометрии и из физики теплообмена - чем меньше размер тела, тем больше поверхность, приходящаяся на единицу его массы, и, следовательно, тем быстрее оно остывает, поэтому требуется более интенсивный термогенез и/или более совершенная термоизоляция. Понимание самой общей схемы термогенеза в буром или бежевом адипоците требует от ребенка знания таких изученных в химии понятий как окислительно-восстановительные реакции, ионы, теория электролитической диссоциации, а также не просто повторения, но и небольшого углубления в химию липидов.

Следующий этап - непосредственная работа в лаборатории - требует практического применения знаний по химии и физике. К примеру, содержание общего тканевого белка - косвенный показатель уровня метаболизма в жировых тканях – традиционно определяют методами, в основе которых цветные реакции на пептидные связи и/или ароматические аминокислоты, проходимые в школьном курсе химии и законы поглощения света (раздел Оптика школьного курса физики). В рассматриваемом исследовательском проекте использовался метод Лоури, комбинирующий две цветные реакции, поглощение монохроматического света оценивалось количественно с помощью спектрофотометра, принцип работы которого разбирается в школьных учебниках по оптике в 11 классе. Не каждая школа имеет возможность работать с вузовской лабораторией, однако во многих случаях качество исследовательской работы существенно не пострадает, если метод Лоури заменить микробиуретовым методом, реактивы к которому найдутся в школьной лаборатории, а вместо спектрофотометрической регистрации использовать цветовую шкалу.

Финальный этап – анализ полученных данных, которые становятся, действительно, научным результатом только при их математической обработке: подсчете средних значений по выборкам, подсчету стандартных отклонений для оценки вариабельности показателей и достоверности различий исследуемых групп. По сути, эти расчеты - не более чем задача из школьного курса информатики, но задача, значение которой, понятно обучающемуся и поэтому стимулирует к освоению информационной среды. Безусловно, подготовка исследовательского реферата и выступления на школьной или любой другой конференции потребуют также знания правил и норм русского языка, основ риторики.

Таким образом, научно-исследовательский проект обучающегося, обеспечивает наиболее эффективную реализацию связей между основными базовыми школьными предметами при его выполнении.

ВЫВОДЫ

1. Анализ современной литературы свидетельствует, что основной вклад в факультативный термогенез у мелких млекопитающих вносит бурая жировая ткань. В раннем онтогенезе и при адаптации к низким температурам дополнительное тепло могут продуцировать бежевые адипоциты пахового жира. Сведения о метаболической активности термогенных жировых тканей у свободнообитающих животных немногочисленны.

2. Для косвенной оценки адаптивных изменений энергообмена термогенных жировых тканей у природных животных наряду с классическими морфологическими цветовыми критериями может использоваться показатель содержания тканевого белка, который в лабораторном эксперименте положительно коррелирует со скоростью потребления O_2 бурым жиром *in vitro*.

3. У всех изученных видов полевок проявляются сезонные особенности морфологии и биохимии бурой жировой ткани. При сравнительном анализе в буром жире красно-серой полевки в преддверии холодного сезона (август-сентябрь) регистрировались самые высокие значения, а в конце весны, наоборот, самые низкие значения содержания белка по сравнению с красной и особенно узкочерепной полевками. В пробах пахового жира всех трех видов полевок повышенное содержание белка, темные оттенки цвета указывали на присутствие термогенных бежевых адипоцитов.

4. На основании полученных результатов определена тематика исследовательских проектов старшеклассников. Проект «Сравнительный морфологический и биохимический анализ жировых тканей у грызунов из природных популяций и лабораторных мышей» выполнен обучающимся 10 класса МАОУ «Средняя школа №153» под руководством Расторгуевой К.И. и успешно представлен на школьной конференции. Анализ работы обучающейся над проектом выявил многочисленные межпредметные связи, подтверждающие эффективность этой формы деятельности в усвоении и интеграции знаний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ачекулова Л.И., Прохорчук Е.Н.. Учебное проектирование по биологии в школе. Лабораторный практикум для студентов биологических специальностей педагогических вузов. Красноярск : Краснояр. гос. пед. Ун-т им В.П.Астафьева, 2007. 76 с.
2. Башенина Н. В. Пути адаптации мышевидных грызунов. М. : Наука, 1977. 354 с.
3. Богин В.Г. Несколько аспектов проблемы школьного образования и несколько размышлений о путях её решения // Вопросы методологии. 1999. № 1–2. С. 35–54.
4. Бутрова С.А., Дзгоева Ф.Х. Висцеральное ожирение – ключевое звено метаболического синдрома // Ожирение и метаболизм. 2004. № 1. С. 34-45.
5. Вединеева Н.А. Развитие научно-исследовательской деятельности учителя и учащегося в школьной практике // Оренбург. 2004. №3. С. 6-7.
6. Выготский Л.С. Проблема обучения и творческого развития в школьном возрасте // Избран, психол. исследования. 1982. Т.1. С. 24.
7. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Бутрова С.А. Жировая ткань как эндокринный орган // Ожирение и метаболизм. 2006. №1. С. 14-20.
8. Елсукова Е. И., Екимов Е.В., Мизонова О.В., Екимова Е.Ю. Морфология бурой жировой ткани у самок узкочерепной полевки (*Microtus gregalis*) в природной популяции // Зоологический журнал. 2010. Т.89. С. 620-624.
9. Елсукова Е.И., Медведев Л.Н. Новый тип термогенных адипоцитов: происхождение, свойства, функции // В мире научных открытий. 2016. №8. С. 97-126.
10. Леонтович А.В. Учебно-исследовательская деятельность школьника как модель педагогической технологии // Народное образование. 1999. № 10.
11. Мазяркина Т.В., Первак С.В. Исследовательская деятельность школьников // Современные наукоемкие технологии. 2011. №1. 121 с.
12. Максимова В.Н. Межпредметные связи в учебно-воспитательном процессе современной школы. М.: Просвещение, 1986. 31 с.
13. Медведев Л. Н., Елсукова Е.И. Бурая жировая ткань: молекулярно – клеточные основы регулируемого термогенеза // Амальгама. 2002. 528 с.

14. Медведев Л.Н., Елсукова Е.И. Бурая жировая ткань человека // Успехи физиологических наук. 2002. Т. 33. С. 17-29.
15. Мизонова О. В., Елсукова Е.И., Медведев Л.Н. Энергообмен и биохимические особенности жировых тканей мышц линии ICR в условиях продолжительного ограничения питания // Бюллетень эксперта биологии и медицины. 2013. Т.155. № 6. С. 706-709.
16. Пастухов Ю. Ф. Некоторые особенности длительно и ускоренной адаптации к холоду // Биологические проблемы Севера. 1971, С. 110-138.
17. Савенков А.И. Исследовательское обучение и проектирование в современном образовании // Школьные технологии. 2004. №4. С. 83-84.
18. Савенков А.И. Содержание и организация исследовательского обучения школьников. М.: Учебная литература, 2003. С. 10-15.
19. Сафронов В.М. Адаптивные особенности терморегуляции и поддержания энергетического баланса у мышевидных грызунов // Вестник ТГУ. 2009. №4. С. 47-61.
20. Слоним А.Д. Минимизация и максимизация физиологических функций и природные физиологические адаптации организма // Экология. 1979. №4. С. 5-15.
21. Слоним А.Д. Учение о физиологических адаптациях. Руководство по физиологии: Экологическая физиология животных. Спб. : Наука, 1979. С. 79-182.
22. Смирнова Н.З., Иванова Н.В., Голикова Т.В., Бережная О.В. Исследовательские работы учащихся по школьной биологии: учебное пособие. Красноярск: КГПУ им. В.П. Астафьева, 2013. 232 с.
23. Стасевич К. Жир белый, бурый, бежевый // Наука и жизнь. 2014. №11.
24. Терешина Е.В. Возрастная дисфункция жировой ткани // Геронтология и гериатрия. 2010. № 5. С. 98-101.
25. Федеральный Государственный Образовательный Стандарт: Примерная основная образовательная программа образовательного учреждения. Основная школа. М.: Просвещение, 2011. 342 с.
26. Шварцбурд П.М. Разные лица инсулинорезистентности // Химия и жизнь. 2013. №7. С. 24-26.
27. Abreu-Viera G. Adrenergically-stimulated blood flow in brown adipose tissue

is not dependent on thermogenesis // American Journal of physiology. 2015. V. 308. P/ 822-829.

28. Bai Z., Wuren T., Liu S., Han S., Chen L., McClain D., Ge R.L. Intermittent cold exposure results in visceral adipose tissue "browning" in the plateau pika (*Ochotona curzoniae*) // Comp. Biochem. Physiol. 2015. V. 184A. P. 171-178.

29. Bartelt A., Heeren J. Adipose tissue browning, metabolic health // Nat Rev Endocrinol. 2014. V. 10. № 1. P. 24-36.

30. Bartness T.J. Neural innervation of white adipose tissue and the control of lipolysis // Frontiers in Neuroendocrinology. 2014. №35(4). P. 473-493.

31. Bonda-Ostaszewska E., Wtostowski T., Krasowska A., Kozłowski P. Seasonal and photoperiodic effects on lipid droplet size and lipid peroxidation in the brown adipose tissue of bank voles (*Myodes glareolus*) // Acta theriol. 2012. V. 57. P. 289-294.

32. Cinti S. The adipose organ at a glance // Disease Models Mechanisms. 2012. V. 5. P. 588-594.

33. Chabowska-Kita A. Low ambient temperature during early postnatal development fails to cause a permanent induction of brown adipocytes // The FASEB Journal. 2015. P. 489-510.

34. De Long J. A stringent validation of mouse adipose tissue identity markers // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2015. V. 308. P. 1085-1105.

35. Elsukova E.I., Medvedev L.N., Mizonova O.V. Physiological features of perigonadal adipose tissue containing uncoupling protein UCP1 in ICR mice // Bull. Exp. Bio. Med. 2016. V. 161. № 3. P. 347-350.

Fisher F.M., Maratos-Flier E. Stress heats up the adipocyte // Nat. Med. 2013. V. 630. P. 17-18.

36. Kalinovich A., De Jong J., Cannon B., Nedergaard J. UCP1 in adipose tissue: two steps to full browning // Biochimie. 2017. V. 134. P. 127-137.

37. Keipert S., Jastroch M. Brite/beige fat and UCP1 – is it thermogenesis? // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1837. P. 1075-1082.

38. Klaus S., Heldmaier G., Ricquier D. Seasonal acclimation of bank voles and wood mice: nonshivering thermogenesis and thermogenic properties of brown adipose tissue mitochondria // J Comp Physiol B. 1988. V. 158. P. 157-164.

39. Kozak L.P., Koza R., Anunciado-Koza R. Brown fat thermogenesis and body

- weight regulation in mice: relevance to humans // *International J Obesity*. 2010. V. 34. P. 523-527.
40. Li Y., Lasar D., Fromme T., Klingenspor M. White, brite, and brown adipocytes: the evolution and heater organ in mammals // *Journal of Canadian J. Zoology*. 2014. V. 92. №6. P. 615-626.
41. Lihn A., Pedersen S., Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity // *Obes. Rev.* 2005. V. 6. P. 13-22.
42. Liu J., Sun R., Wang D-H. Thermogenic properties in three rodent species from Northeastern China in summer // *J Thermal biology*. 2006. V. 31. P. 172-176.
43. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT // *The Journal of Biological Chemistry*. 1952. V. 193. P.265-275.
44. Nedergaard J., Cannon B. The browning of white adipose tissue: some burning issues // *Cell Metab*. 2014. V. 20. P. 396-407.
45. Oelkrug R., Goetze N., Exner C., Lee Y., Ganjam G.K., Kutschke M., Muller S., Stohr S., Tscho M.H., Crichton P.G., Heldmaier G., Jastroch M., Meyer C. Brown fat in a protoendothermic mammal fuels eutherian evolution // *Nat. Commun*. 2013. V. 4. P. 333-336.
46. Rajala M., Scherer E. The Adipocyte - at the Crossroads of Energy Homeostasis, Inflammation, and Atherosclerosis // *Endocrinology*. 2003. P. 3765-3773.
47. Rosen E.D., Spiegelman B.M. What we talk about when we talk about fat? // *Cell*. 2014. V. 156. P. 20-44.
48. Shabalina I.G., Petrovic N., De Jong J., Kalinovich A., Cannon B., Nedergaard J. UCP1 in Brite/Beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic // *Cell. Reports*. 2013. V. 5. № 5. P. 1196-1203.
49. Wang J., Zhang Y., Wang D. Seasonal regulations of energetics, serum concentrations of leptin, and uncoupling protein content of brown adipose tissue in root voles (*Microtus oeconomys*) from the Qinghai-Tibetan plateau // *J. Comp. Physiol. B*. 2006. V. 6. P. 240-249.
50. Wu J., Cohen P., Spiegelman B. M. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown // *Genes Dev*. 2013. V. 27. P. 234-250.
51. Zhang Y., Daquinag A.C., Amaya-Manzanares F., Sirin O., Tseng C., Kolonin

M. G. Stromal Progenitor Cells from Endogenous Adipose Tissue Contribute to Pericytes and Adipocytes That Populate the Tumor Microenvironment // *Cancer Research*. 2012. V. 72. P. 5198-5209.

52. Zhang C., Zhang H. Regulation of Microvascular Function by Adipose Tissue in Obesity and Type 2 Diabetes: Evidence of an Adipose - Vascular Loop // *American Journal of Biomedical Sciences*. 2009. V. 2. P. 133-142.

53. Zhu W., Yang S., Zhang L., Wang Z. Seasonal variations of body mass, thermogenesis and digestive tract morphology in *Apodemus chevrieri* in Hengduan mountain region // *Animal biology*. 2012. V. 62. P. 463-478.

54. Zhu W., Nelson C.M. Adipose and mammary epithelial tissue engineering // *Biomatter*. 2013. V. 3.

55. Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.I., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells // *Mol Biol Cell*. 2002. V.13. P. 4279-4295.

56. Башмакова В. Регуляцией термогенеза занимается не только нервная, но и иммунная система // *Элементы* [Электронный ресурс]: <http://elementy.ru/news/431716.html>

57. Бурый жир. Бурая жировая ткань / Публикации для учащихся [Электронный ресурс]: <http://exam-ans.ru/fizika/8621/index.html?page=60.html>

58. Иванов К.П. Современные медицинские проблемы энергообмена человека // *Вестник РАМН*. 2013. Т. 68 [Электронный ресурс]: <http://dx.doi.org/10.15690/vramn.v68i6.674.html>

59. Кондратенко Ю. У животных, впадающих в спячку, нервные клетки обогреваются белком термогенином // *Элементы* [Электронный ресурс]: http://elementy.ru/novosti_nauki/432400.html

60. Концепция развития исследовательской и инновационной деятельности в российских вузах // *Инновационный Центр МФТИ*. 2011 [Электронный ресурс]: <http://cnp.miptic.ru/index.html>

61. Резник Н. Любовный жар миноги // *Троицкий вариант*. №15. 2013 [Электронный ресурс]: http://elementy.ru/nauchnopolulyarnaya_biblioteka/432092.html

62. Семенов С.Е. Исследовательская деятельность школьников в лучших школах мира и России // *Материалы Всерос. конф. уч. хим. "Кадр. рез. уч.*

хим.”. 2014 [Электронный ресурс]: <http://chem-teacher.ru/?p=2174>.html

63. Wang Y., Zhu T., Ke S., Fang N., Irwin D., Lei M., Zhang J., Shi H., Zhang S., Wang Z. The great roundleaf bat (*Hipposideros armiger*) as a good model for cold-induced browning of intra-abdominal white adipose tissue // PLoS One. 2014. Nov. 13. № 9. Article 112495e. [Электронный ресурс]: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25393240>.html

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Тезисы доклада Носыревой Серафимы Михайловны на школьном этапе конференции «Научный потенциал Сибири» на базе МАОУ «Средняя школа №153»

Здравствуйте, уважаемые участники конференции. Представляю вам доклад на тему: «Сравнительный морфологический и биохимический анализ жировых тканей красно-серой полевки и лабораторных мышей»

Теплокровность – поддержание температуры тела на достаточно высоком уровне независимо от колебаний температуры среды - важнейшее свойство млекопитающих, на основе которого стали возможны и развивались совершенные формы поведения и двигательная деятельность. Но теплокровность требует постоянных больших затрат энергии, в тоже время в природе доступность кормов не всегда соответствует потребностям животного. Поэтому важной эволюционной ступенью на пути к теплокровности стало развитие жировых тканей. Многократно увеличилась их масса, появились депо белой жировой ткани, хранящие энергию в форме триглицеридов. Часть жировой ткани, так называемый бурый жир, наоборот, специализировалась в направлении окисления пищевых веществ без синтеза АТФ с быстрым и мощным высвобождением всей энергии в тепло. Термогенез, запускающийся в буром жире при похолодании окружающей среды, надежно защищает организм от охлаждения. Поскольку теплообразование в буром жире требуется не всегда, а только при температурах окружающей среды ниже термонеutralной зоны, когда теплотери с поверхности кожи становятся значительнее внутреннего метаболического тепла, оно получило название факультативного термогенеза. В большинстве регионов планеты факультативный термогенез у животных требуется почти всегда в течение суток и на протяжении годового цикла. Запасание энергии в белом жире и термогенез в буром жире были условиями надежного

функционирования человеческого организма на протяжении всей истории человечества.

Не прошло и века с тех пор как успехи научно-технического прогресса резко видоизменили условия жизни большинства людей. Термонеutralная среда, доступное, энергоемкое питание привели к резкому снижению у современного человека потребности в термогенезе и к чрезмерной перегрузке нейтральными жирами жировых депо. Возник конфликт между сформировавшейся на протяжении многих тысяч лет функциональной конструкцией нашего организма и новой средой, конфликт, проявившийся в прогрессивном росте страдающих ожирением и тесно связанным с ним комплексом таких опасных заболеваний как инсулинонезависимый сахарный диабет, гепатоз, саркопения, атеросклероз. Эта гипотеза подтверждается многочисленными фактами воспалительных изменений жировых тканей у лабораторных грызунов, условия жизни (питание, температурный режим) которых имитируют условия жизни современного человека.

Новым перспективным подходом к выяснению «здорового», т.е. эволюционно закрепленного функционирования жировых тканей и на этой основе разработке режимов профилактики и коррекции метаболических нарушений у человека, могут стать исследования жировых тканей у животных из природных популяций. На сегодняшний день сведения о жировых тканях животных в природе ограничены сведениями о сезонных изменениях массы и морфологии бурой жировой ткани у мелких млекопитающих. Информация о состоянии белой жировой ткани у этих животных практически отсутствует.

Мы предполагаем, что в природных условиях интенсивность метаболических процессов и в буром жире и в депо белой жировой ткани выше. **Целью работы** был сравнительный морфологический и биохимический анализ жировых тканей лабораторных мышей и красно-

серой полевки, отловленной в окрестностях г. Красноярска. Задачи представлены на слайде.

Работа выполнена на базе лаборатории биохимии и физиологии энергообмена КГПУ им. В.П. Астафьева. Для анализов сотрудники лаборатории предоставили выделенные пробы жировых тканей, хранившиеся в пробирках «эппендорф» при температуре -20 С. В ходе морфометрического анализа регистрировались показатели абсолютной и относительной массы межлопаточного бурого жира и белого жира. Из литературы известно, что, цвет жировых тканей - чувствительный индикатор плотности митохондрий в них. Поэтому оценивали визуально варианты окрашивания бурого жира (песочный, бурый, шоколадных оттенков), обращали внимание на розовые и буроватые оттенки скоплений белого жира, крупные сосуды, сосудистую сеть.

Физиологические и биохимические исследования у животных в природе затруднены из-за целого ряда причин. Относительно простым и информативным показателем метаболической активности жировых тканей является содержание общего тканевого белка. Наиболее часто используемый чувствительный метод определения содержания общего белка в ткани является метод Лоури, в основе которого цветные реакции на пептидные связи и на ароматические аминокислоты. Интенсивность окрашивания пропорциональна содержанию белка в растворе и может быть количественно оценена с помощью спектрофотометра. Основные этапы этого анализа представлены на слайде.

У диких грызунов жировая ткань была представлена скоплениями бурого и белого типов. В нашем исследовании использованы пробы самого крупного межлопаточного скопления бурого жира, самых крупных скоплений белой жировой ткани – паховый и окологонадный жир. Относительная масса межлопаточного бурого жира у красно-серой полевки была ниже почти в 2 раза по сравнению с этим показателем у

лабораторных мышей. Цветовая гамма межлопаточного бурого жира варьировала от темно-песочных до темно-бурого и даже шоколадного оттенков. В целом, у мышей природных популяций наблюдались темные варианты окраски межлопаточного скопления, относительно бледнее выглядел бурый жир лабораторных мышей. Средняя относительная масса пахового жира красно-серой полевки составляла около 0,4%, что примерно в 3 раза меньше значения этого показателя в группе лабораторных мышей.

По результатам наших исследований, содержание общего белка в пробах жировых тканей всех тестируемых видов у красно-серой полевки было примерно в 3 раза больше чем у лабораторных мышей.

Таким образом, полученные данные подтверждают наше предположение о более высокой интенсивности метаболизма в жировых тканях мышевидных грызунов в природных популяциях.