

МИНИСТЕРСТВО ПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ 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, химии и методики обучения

Вохмина Елизавета Дмитриевна
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**ВНЕУЧЕБНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ОБУЧАЮЩИХСЯ СТАРШИХ
КЛАССОВ ПО ФИЗИОЛОГИИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЕГО
РЕГУЛЯЦИИ**

Направление подготовки 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя
профилями подготовки)

Направленность (профиль) образовательной программы Биология и химия

ДОПУСКАЮ К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой: профессор, д.б.н.
Антипова Е.М.

(дата, подпись)

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

(дата, подпись)

Обучающийся: Вохмина Е.Д.

(дата, подпись)

Оценка _____

(прописью)

Красноярск, 2025

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ИЗУЧЕНИЕ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ В СТАРШИХ КЛАССАХ	6
1.1. Обмен веществ и энергии в углублённом курсе биологии в старших классах	6
1.2. Интегративная физиология углеводного обмена	10
1.3. Возможности внеучебной деятельности для интегративного или углубленного изучения вопросов метаболизма.....	19
ГЛАВА 2. ПРОЕКТИРОВАНИЕ МАСТЕР-КЛАССА «МОНИТОРИНГ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА С ПОМОЩЬЮ ГЛЮКОМЕТРА У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ».....	21
2.1. Пояснительная записка	22
2.2. Методика проведения мастер-класса по теме «Мониторинг углеводного обмена с помощью глюкометра у лабораторных мышей»	25
2.3. Апробация и анализ результатов проведённого мастер-класса.....	27
ГЛАВА 3. ПРОЕКТИРОВАНИЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ «МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ УРОВНЯ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ И ИХ ОЦЕНКА С ПОМОЩЬЮ ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОГО ТЕСТА У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ».....	29
3.1. Организационно-методические документы к научно-исследовательскому проекту обучающегося.....	30
3.2. Апробация исследовательской работы	33
3.2.1. Этапы работы с обучающимся.....	33
3.2.2. Результаты выполнения научно-исследовательской работы.....	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	38
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	39
Приложение А.....	43

ВВЕДЕНИЕ

В современном образовательном процессе недостаточно уделяется внимание физиологическим аспектам обмена веществ и энергии и их регуляции. Учебные программы недостаточно развернуты и не предоставляют полную картину о процессах, происходящих в организме.

С одной стороны, эти знания везде востребованы, например, при поступлении в высшее учебное заведение с биологическим, биохимическим или медицинским профилями, с другой стороны, они вызывают сложности у обучающихся, так как их усвоение требует высокого уровня знаний не только по биологии, но и по химии, физике, физической химии, биохимии. Следовательно, объема школьного курса биологии недостаточно для успешной сдачи государственных экзаменов, для участия в региональных и всероссийских этапах олимпиад, для участия в научных конференциях школьников и т.д. К тому же, в соответствии, с Федеральным государственным образовательным стандартом среднего общего образования с изменениями от 2022 года (ФГОС СОО) устанавливаются требования к результатам освоения обучающимися основной образовательной программы (пункт 6), а именно пункт 8.1. Овладение универсальными учебными познавательными действиями:

«а) базовые логические действия:

<...> самостоятельно формулировать и актуализировать проблему, рассматривать ее всесторонне;

<...> определять цели деятельности ... и критерии их достижения;

б) базовые исследовательские действия:

<...> владеть навыками учебно-исследовательской деятельности ...;

<...> формирование научного типа мышления, владение научной терминологией, ключевыми понятиями и методами;

<...> ставить и формулировать собственные задачи в образовательной деятельности;

<...> анализировать полученные в ходе решения задачи результаты, критически оценивать их достоверность ...;

в) работы с информацией:

<...> владеть навыками получения информации из источников разных типов, самостоятельно осуществлять поиск, анализ, систематизацию и интерпретацию информации различных видов и форм представления;

<...> оценивать достоверность, легитимность информации ...» [ФГОС СОО ..., 2022, С. 6-7].

Восполнить пробелы и реализовать овладение универсальными учебными познавательными действиями можно с помощью разных форм внеучебной деятельности.

Содержание выпускной квалификационной работы (ВКР) по теме обмена веществ и энергии поможет заполнить пробелы в знаниях и обеспечить углубленное изучение данной области.

Целью ВКР является проектирование внеучебной деятельности по физиологии обмена веществ и его регуляции для обучающихся старших классов в форме мастер-класса и научно-исследовательской деятельности.

Задачи:

1. Проанализировать содержание тем по физиологии обмена веществ и его регуляции в школьном курсе биологии;

2. Подготовить материалы по современным проблемам физиологии метаболизма и его регуляции;

3. Разработать и провести мастер-класс по теме «Мониторинг углеводного обмена с помощью глюкометра у лабораторных мышей»;

4. Подготовить организационно-методические документы к исследовательской работе по теме «Механизмы поддержания уровня глюкозы в крови и их оценка с помощью глюкозотолерантного теста у лабораторных мышей»

Методы:

1. Теоретические методы: Поиск публикаций по теме исследования с помощью поисковых систем google scholar, CyberLeninka, PubMed [Пузавин, 2012], анализ, синтез, обобщение [Колмогорова, 2012];

2. Методы физиологического эксперимента: глюкозотолерантный тест [Vinué and González-Navarro, 2015];

3. Статистические методы: оценка нормальности распределения по критерию Шапиро-Уилка, однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с поправкой Тьюки с использованием программного обеспечения GraphPadPrism 8.2.1 [Елсукова, Якуненков, 2021].

Впервые разработана методика проведения мастер-класса по метаболической физиологии для обучающихся старших классов, продемонстрирована эффективность этой формы внеучебной деятельности для усвоения и углубления материалов школьного курса биологии, для межпредметной интеграции знаний, для формирования научного мышления, и овладения базовыми исследовательскими действиями, для развития интереса к современным достижениям биомедицинской науки, выполнения научно-исследовательских проектов. Методические рекомендации могут использоваться также при организации мероприятий, направленных на популяризацию научных знаний, профессиональное самоопределение старшеклассников и студентов младших курсов вузов.

Личный вклад: Все представленные в ВКР разработки, результаты, диагностики выполнены лично соискателем, а именно: разработаны дидактические материалы к мастер-классу ««Мониторинг углеводного обмена с помощью глюкометра у лабораторных мышей» и научно-исследовательской работе «Механизмы поддержания уровня глюкозы в крови и их оценка с помощью глюкозотолерантного теста у лабораторных мышей». Дидактические материалы включают пояснительные записки для педагога и для обучающихся с постановкой целей и задач, список необходимого

оборудования, препаратов и реактивов, инструкции по их использованию, описание хода работы, сделаны выводы.

ГЛАВА 1. ИЗУЧЕНИЕ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ В СТАРШИХ КЛАССАХ

1.1. Обмен веществ и энергии в углублённом курсе биологии в старших классах

В соответствие с Приказом Министерства просвещения в качестве единого учебника по биологии для старших классов (профильный уровень) рекомендован учебник Пасечника и др. [Приказ ..., 2022]. Темы, связанные с обменом веществ и энергии, изучаются в нем в главе 2 «Клеточный уровень» в 10 классе углублённого курса. Изучению клеточного уровня организации обменных процессов предшествует глава 1 «Молекулярный уровень», посвященная биологической роли, химическому строению и функциям углеводов, липидов, белков в целом и ферментов, нуклеотидов, нуклеиновых кислот, витаминов. Знание основных метаболитов клетки, а также основ энзимологии, мембранологии, регуляции активности ферментов, несомненно, важно для понимания обучающимися особенностей химических превращений в клетке, поддерживающих ее структурную и функциональную целостность.

Описание обменных процессов представлено в 4-х параграфах. В параграфе 27 рассмотрены на самом общем уровне понятия «обмен веществ в клетке», «анаболизм», «катаболизм», даются представления о сопутствующих метаболическим реакциям превращениях энергии, о различиях в источниках энергии у анаэробных и аэробных клеток, тканей, организмов. Таким образом, этот материал углубляет, наполняет физико-химическим содержанием с использованием химических формул рассмотренные в

учебнике за 9 класс этих же авторов понятия «пластический и энергетический обмен» [Пасечник и др., 2023].

В следующем параграфе 28 закономерности энергетического обмена рассматриваются, как принято в вузовских курсах биохимии, на примере катаболизма углеводов в клетках человека и животных. Выбор именно углеводного обмена обосновывается химическими свойствами глюкозы, ее высокой способностью к окислению даже в отсутствие кислорода, поэтому глюкоза рассматривается в качестве основного источника энергии. Кроме того, продукты метаболизма пирувата - трикарбоновые и дикарбоновые кислоты цикла Кребса – необходимые участники конечного пути катаболизма и жирных кислот и аминокислот. Традиционно, процесс утилизации углеводов делится авторами на три этапа: подготовительный, анаэробный и аэробный.

На подготовительном этапе сложные углеводы (олигосахариды и полисахариды) расщепляются на мономеры (глюкоза и другие сахара). Согласно учебнику, этот этап локализован в пищеварительном тракте, в нем участвуют пищеварительные ферменты, после чего происходит всасывание глюкозы в кровь. Такая интерпретация, на наш взгляд, неправомерна, ведь глава посвящена энергообмену клетки, а не организма, в клетках животных есть депо углеводов – гранулы гликогена, есть ферменты, способные их расщеплять гликоген до глюкозо-6-фосфата, направляемого в любые пути углеводного обмена, и это уже отчасти известные обучающимся из предыдущего материала факты. Поэтому с точки зрения клеточной биологии подготовительный этап надо рассматривать как гликогенолиз, а переход от клеточного уровня к организменному, а затем снова к клеточному только запутывает обучающихся.

Следующий этап — гликолиз, который протекает в условиях отсутствия кислорода и происходит в цитоплазме клеток, где глюкоза расщепляется на молочную кислоту, выделяя при этом энергию, запасаемую в виде АТФ. Этот

процесс особенно активен в скелетных мышцах, печени и других тканях. Гликолиз делится на две стадии: на первой глюкоза расщепляется на трехуглеродные сахара, а на второй — происходит окисление этих сахаров с образованием или пировиноградной кислоты, или молочной кислоты, АТФ и восстановленного никотинамидадениндинуклеотида НАДН. При дефиците кислорода НАДН отдает электроны и восстанавливает пируват до лактата.

На третьем этапе при достаточном обеспечении кислородом пируват продолжает окисление в митохондриях. Если в клетке ранее накопилась молочная кислота, лактат окисляется до пирувата с образованием НАДН и направлением ее в митохондрии в электрон-транспортную цепь. Сначала специальный ферментный комплекс окисляет пируват до двууглеродного ацетилКоА, затем в цикле Кребса (*син* – цикл трикарбоновых кислот ЦТК) происходит окисление последнего до углекислого газа с передачей электронов на НАД и ФАД (флавинадениндинуклеотид). Чистый энергетический выход гликолиза составляет 2 молекулы АТФ на 1 молекулу глюкозы, а энергия, необходимая для этого процесса, выделяется в результате окисления альдегидной группы трёхуглеродного сахара до карбоксильной группы. Приводится общая схема энергетического обмена в клетке и общая схема гликолиза. Последний пункт в этом параграфе в общих чертах рассказывает про спиртовое брожение.

Кислородный этап катаболизма, характерный для аэробных организмов, более детально представлен в следующем, 29 параграфе. В тексте параграфа этот этап также рассматривают под термином «клеточное дыхание», т.е. как совокупность окислительно-восстановительных реакций, где конечным акцептором электронов является O_2 , а выделяющаяся энергия используется для синтеза макроэргической связи в АТФ и продукции тепла. Рассмотрение клеточного дыхания начинается с окислительного декарбоксилирования пирувата и бета-окисления жирных кислот с образованием восстановленных динуклеотидов НАДН, ФАДН₂ и ацетил-

КоА, вступающего в ЦТК. Цикл Кребса может быть дополнен углеродными скелетами всех аминокислот, что подчеркивает интеграцию окислительных путей углеводов, жиров и белков. Окисление ацетил-КоА в ЦТК дополнительно дает восстановленные НАДН и ФАДН₂. В параграфе представлены сведения о строении электрон-транспортной цепи, о превращениях энергии, освобождающейся при транспорте электронов на кислород, в энергию мембранного градиента протонов водорода и затем в энергию макроэргической связи АТФ в активном центре АТФ-синтазы [Пасечник и др., 2019]. Краткость изложения очень сложных биохимических процессов компенсируют информативные иллюстрации, позволяющие заинтересовавшемуся обучающемуся найти самостоятельно ответы на возникающие вопросы. Следует отметить, что в учебнике почему-то в качестве переносчика электронов в электрон-транспортную цепь указан только НАДН, учитывая близкий к вузовскому уровень предоставления материала, сомнительно, что добавление ФАДН₂ привело к его существенному усложнению. Отсутствие ФАДН₂ затрудняет понимание баланса между окислительными реакциями и АТФ.

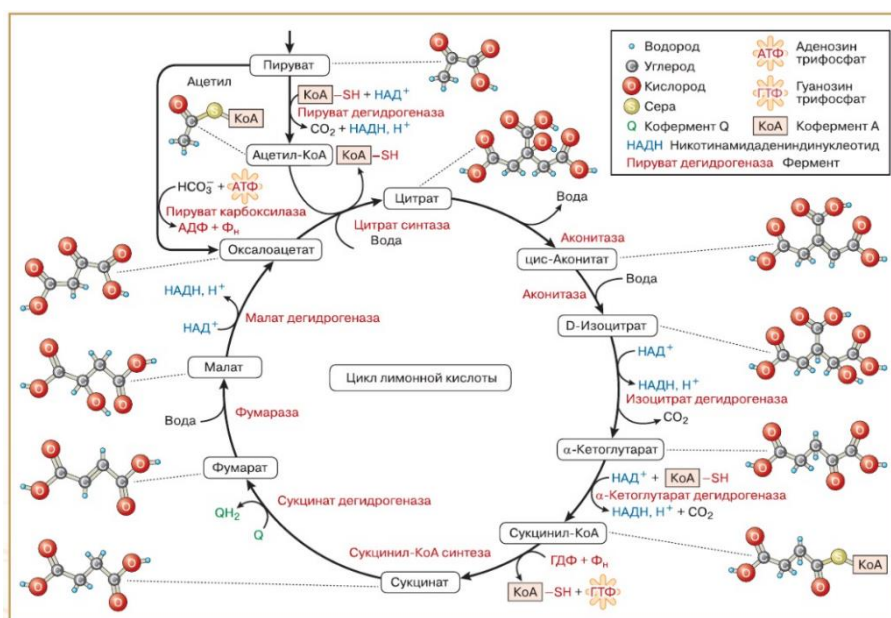


Рисунок 1.1. Цикл Кребса (цикл лимонной кислоты) [Пасечник и др., 2019]

Пути анаболизма с участием глюкозы и других сахаров не рассматриваются, но для школьной биологии более принципиально

рассмотреть анаболизм на примере белкового обмена, хотя общая схема метаболизма с прорисованными связями между путями катаболизма и анаболизма углеводов, липидов и аминокислот была бы полезной для целостного восприятия материала, самостоятельной работы обучающихся.

На наш взгляд самым главным упущением в учебнике является игнорирование организменного уровня рассмотрения обменных процессов. Основы строения и функционирования организма, общие представления о нервной и эндокринной регуляции изучались ранее в 9 классе. Для обеспечения преемственности в обучении, целостного понимания обменных процессов целесообразно в старших классах возвращаться к ранее пройденному материалу, привлекая для его более глубокого объяснения изученные молекулярно-клеточные механизмы. На наш взгляд для объяснения надежного функционирования углеводного обмена в клетках организма необходимо актуализировать полученные в 9 классе знания о гомеостазе и его регуляции на примере гомеостатирования глюкозы в крови с помощью гормонов инсулина и глюкагона, с помощью нервной регуляции аппетита, вернуться к 1 главе учебника 10 класса и актуализировать знания о внутриклеточном гормональном сигналинге на примере клеточных механизмов действия глюкагона, о мембранном транспорте на примере транспорта глюкозы.

Многоуровневое, междисциплинарное рассмотрение биологического процесса доминирует и в современной науке. В физиологии такой подход, объединивший молекулярную биологию, биохимию и классическую физиологию, получил название интегративной физиологии. Ниже представлен обзор современных представлений об обмене углеводов с позиций интегративной физиологии.

1.2. Интегративная физиология углеводного обмена

Как ключевое звено в метаболизме, углеводы играют жизненно важную роль в поддержании здоровья и жизнедеятельности человека и животных. Углеводы, также известные как сахара, являются основным источником топлива для клеток. От микроскопических простейших до величественных млекопитающих, все живые организмы зависят от этого основного источника энергии. Помимо энергетической роли, углеводы также служат строительными материалами, входящими в состав нуклеиновых кислот (рибоза и дезоксирибоза), клеточных мембран (гликолипиды, гликопротеины, протеогликаны), межклеточного вещества соединительной ткани и даже нервных волокон. Этот структурный вклад углеводов обеспечивает животным крепкий фундамент для роста, развития и регенерации. Но углеводы не только снабжают энергией и участвуют в строительстве тела, но и играют ключевую роль в поддержании внутреннего баланса организма [Конь, 2005].

Обмен углеводов начинается с расщепления в пищеварительном тракте пищевых ди-, олиго- и полисахаридов и всасывания образующихся моносахаридов в кровь. Гидролиз полисахаридов (крахмала и гликогена) начинается в ротовой полости и затем продолжается в 12-перстной кишке под действием альфа-амилазы (альфа-1,4-гликозидаза), содержащейся в слюне и в панкреатическом соке, расщепляющей внутренние 1,4-гликозидные связи. В панкреатическом соке содержится также 1,6-глюкозидаза, расщепляющая 1,6-гликозидные связи в крахмале и гликогене. Окончательным продуктом этих ферментов является дисахарид мальтоза. Окончательное расщепление до моносахаридов происходит в тонком кишечнике, под действием ферментов мальтазы, сахаразы и лактазы, локализованных на поверхности энтероцитов (мембранное пищеварение). Конечные продукты гидролиза в тонком кишечнике – глюкоза, галактоза и фруктоза. Целлюлоза, содержащая бета-1,4-гликозидные связи, не расщепляется собственными ферментами в пищеварительном тракте животных. Однако, некоторые растительноядные животные способны переваривать целлюлозу с помощью симбионтов –

бактерий, имеющих бета-1,4-гликозидазы. Всасывание глюкозы и галактозы через апикальную мембрану энтероцита происходит путем симпорта с Na^+ (переносчик SGLT), т.е. вторично-активным транспортом (на базолатеральных мембранах высокоактивен Na,K -насос). Фруктоза поступает в энтероцит с помощью унипортера Глют5. Перенос всех трех моносахаридов через базолатеральную мембрану осуществляется переносчиком Глют2 [Физиология ..., 2021].

Метаболизм (промежуточный обмен) углеводов в организме животных — это сложный процесс, в результате которого моносахариды, поступающие из желудочно-кишечного тракта, в клетках превращаются в необходимые для анаболизма строительные блоки или окисляются, освобождая энергию, необходимую для жизнедеятельности организма.

Глюкоза — центральный метаболит в углеводном обмене животной клетки. В связи с высокой реакционной способностью глюкозы клетки используют ее прежде всего, как мобильный энергетический субстрат. Полное окисление глюкозы до углекислого газа и воды сопровождается изменением свободной энергии, равным -2840 кДж/моль. Основные метаболические пути углеводного обмена включают гликолиз и окислительное декарбоксилирование пирувата, пентозофосфатный путь, синтез гликогена. Продукт окислительного декарбоксилирования пирувата — ацетилКоА вступает в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), в ходе которого электроны подаются на НАД^+ и ФАД^+ и переносятся в электрон-транспортную цепь (ЭТЦ). Часть образующегося в ЦТК цитрата транспортируется трикарбоксилатным переносчиком через внутреннюю мембрану в цитоплазму и используется для синтеза жирных кислот. Продуктами пентозофосфатного пути являются рибоза, участвующая в синтезах нуклеотидов, и участвующий в восстановительных биосинтезах НАДФН. Скорости метаболических путей углеводного обмена регулируются 1) на уровне аллостерических ферментов, важнейшими эффекторами которых

являются адениновые нуклеотиды (соотношение АТФ/АМФ), никотинамидные коферменты (НАДН/НАД⁺ и НАДФН/НАДФ⁺), метаболиты, используемые в нескольких путях, такие как глю-6-ф, цитрат, ацетилКоА.

Углеводный обмен клетки начинается с транспорта глюкозы из крови с помощью семейства транспортеров Глют. В настоящее время в клетках животных идентифицировано 14 переносчиков глюкозы и фруктозы, объединенных в 3 класса [Holman, 2020]. Наиболее охарактеризованы переносчики 1 класса, обеспечивающие транспорт только глюкозы – Глют1-4, Глют14. Первый, идентифицированный переносчик Глют1 присутствует практически на всех клетках и ответственен за базальный транспорт глюкозы. Содержание этого переносчика повышено на мембранах эритроцитов, на клетках эндотелия церебральных сосудов, в стромальных эндометриальных клетках плаценты. Таким образом распределение Глют1 выше в клетках, энергетика и жизнеспособность которых в наибольшей степени зависит от углеводного обмена. Через гематоэнцефалический барьер слабо проникают липиды, поэтому глюкоза – основной энергосубстрат для мозга. Вероятно, этим объясняется усиление экспрессии Глют1 в эндотелии церебральных сосудов при гипогликемии [Chadt, Al-Hasani, 2020]. Глют 2 имеет относительно низкое сродство к глюкозе, поэтому особенно значим в клетках, функции которых так или иначе связаны с регуляцией процессов, чувствительных к глюкозе [Holman, 2020]. В панкреатических бета-клетках Глют 2 участвует в контроле глюкозо-зависимой секреции инсулина. В нейронах гипоталамуса Глют2 связан с регуляцией пищевого поведения в связи с уровнем глюкозы в крови. Глют-2 также обеспечивает транспорт глюкозы через базолатеральные мембраны энтероцитов в тонком кишечнике и клеток эпителия почечных канальцев. Таким образом, этот переносчик обеспечивает транспорт глюкозы в кровь из кишечника и из почек в процессе реабсорбции в канальцах нефрона. Глют3 наряду с Глют1 важны для

транспорта глюкозы в мозг и в ткани плода. Экспрессия Глют3 стимулируется фактором HIF при гипоксии, также имеет место замедление деградации белка Глют3 при истощении уровня АТФ в нейронах. Экспрессия Глют3 значительно возрастает в некоторых опухолях мозга, в частности, при нейроглиобластоме [Chadt, Al-Hasani, 2020].

Глют4 – инсулин-зависимый переносчик глюкозы, главным образом, экспрессируется в скелетной мышце, в миокарде, в жировой ткани [Wangetc., 2020]. Инсулин приводит к быстрому и значительному в некоторых тканях к 10-кратному увеличению его максимальной скорости. В основе этого быстрого механизма – транслокация белка Глют4 из специальных везикул на мембрану клетки. Кроме того, известны некоторые посттрансляционные модификации Глют4 под действием инсулина: гликозилирование, убиквитинирование, фосфорилирование, пальмитоилирование, а также предполагается механизм регуляции транскрипции и деградации. Однако эти механизмы остаются слабоизученными [Wang et al, 2020].

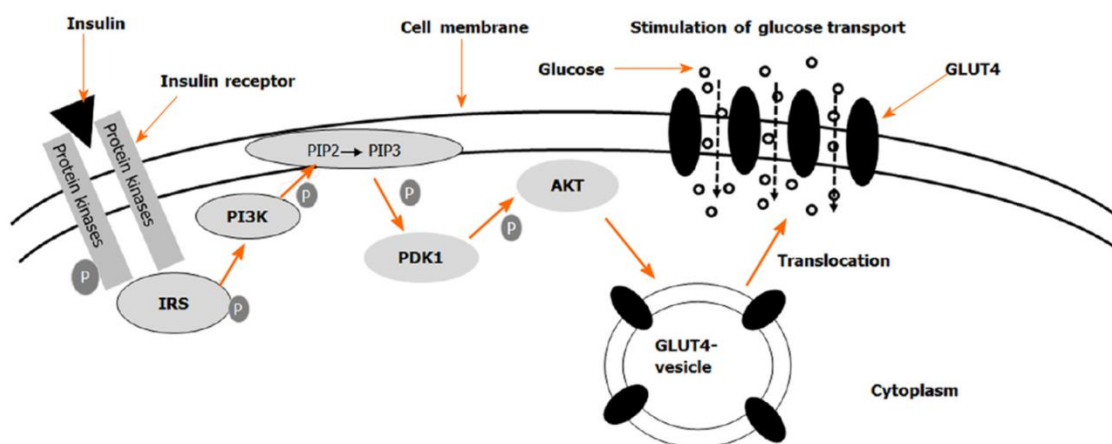


Рисунок 1.2. Инсулин-зависимая транслокация переносчика Глют4 на мембрану клетки [Teixeira, 2021]

Связывание инсулина с рецептором инициирует ферментативный каскад реакций фосфорилирования (рис. 1.2). Первой реакцией этого каскада является аутофосфорилирование внутриклеточного домена самого рецептора; фосфорилирование и активация протеинкиназы В (АКТ) запускает транспорт везикул с Глют4 к мембране, слияние мембраны везикулы и плазматической

мембраны и появление, и транспортную активность Глют4 на мембране. Чтобы исключить обратный транспорт из клетки глюкозы она быстро превращается в глюкозо-6-фосфат под действием фермента гексокиназы.

При нарушенном связывании инсулина с рецептором или нарушениях функционирования сигнального пути этого гормона, как и при недостаточной секреции инсулина увеличивается уровень глюкозы в крови [Балаболкин, 2002]. Будучи реакционноспособным соединением, глюкоза вступает в реакции гликозилирования белков эндотелия капилляров, нарушая их функциональность. Нарушение липогенеза в жировой ткани сочетается с усилением синтеза триглицеридов в печени, скелетных мышцах, миокарде, повышенной секрецией из печени липопротеинов особо низкой и низкой плотности в кровь [Ткачук, Воротников, 2014]. В результате развивается неалкогольная жировая дистрофия этих тканей, атеросклеротические поражения сосудов, сопровождающаяся функциональными нарушениями – саркопенией, сердечной недостаточностью, атерогенезом.

Поддержание постоянного уровня глюкозы в крови (нормогликемии) – жизненно важная функция организма. Отклонение от нормы, как в сторону повышения (гипергликемия), так и в сторону понижения (гипогликемия), может привести к серьёзным нарушениям в работе органов и систем [Литвицкий, Мальцева, 2017]. За поддержание баланса глюкозы отвечает сложный механизм, в котором ключевую роль играют гормоны поджелудочной железы – инсулин и глюкагон, а также печень, мышцы и жировая ткань. Повышение уровня глюкозы в крови стимулирует секрецию инсулина в бета-клетках - инсулоцитах. Увеличенное поступление глюкозы в инсулоцит сопровождается увеличенной продукцией АТФ и закрытием АТФ-зависимых каналов для K^+ . Это приводит к деполяризации клетки, открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов, входу ионов Ca^{2+} и стимуляции секреции инсулина, накапливаемого в специальных везикулах инсулоцита [Меликян, 2010]. Снижение уровня глюкозы в крови стимулирует секрецию

глюкагона и ингибирует секрецию инсулина [Худоерова, 2024]. Инсулин стимулирует поглощение глюкозы и ее использование для синтеза гликогена в мышцах и печени, для липогенеза в жировой ткани. В печени глюкоза под действием инсулина также используется для синтеза липидов, в дальнейшем направляемых в составе липопротеинов в другие ткани и органы [Ткачук, Воротников, 2014]. Кроме того, в печени под действием инсулина угнетается глюконеогенез из аминокислот и глицерина и гликогенолиз. Глюкагон, синтезируемый альфа-клетками поджелудочной железы, является антагонистом инсулина. Он повышает уровень глюкозы в крови, мобилизуя запасы энергии. Глюкагон активирует расщепление гликогена до глюкозы в печени, усиливает образование глюкозы из не углеводных источников.

Нейроэндокринная система играет важную роль в регуляции углеводного обмена для поддержания гомеостаза глюкозы в крови. Гипоталамус является основным центром нейроэндокринной регуляции углеводного обмена. В нем находятся две группы нейронов, которые влияют на секрецию гормонов гипофиза: 1. Вентромедиальное ядро (VMN), которое секретирует соматостатин (SRIF), угнетающий секрецию соматотропного гормона гипофиза (STG) или гормона роста. 2. Латеральное гипоталамическое ядро (LHA) – секретирует орексигенные пептиды, такие как нейропептид Y (NPY) и агути-связанный пептид (AgRP), которые стимулируют секрецию STG. STG с одной стороны действует на мишени как самостоятельный гормон через собственные рецепторы, с другой стороны он стимулирует секрецию инсулиноподобного фактора 1 (IGF1) [Эндокринология ..., 2013]. Эффекты STH и IGF1 на углеводный обмен не совпадают. STG стимулирует в мышечной, костной ткани и в печени синтез белка, стимулирует гликогенез в печени и мышцах, стимулирует глюконеогенез в печени, липолиз в жировой ткани и угнетает инсулин-зависимое поглощение и использование глюкозы мышцами и жировой тканью. Эти эффекты могут приводить к повышению уровня глюкозы в крови. IGF1 стимулирует инсулин-зависимый транспорт

глюкозы в мышцы и жировую ткань, угнетает липолиз в жировой ткани и глюконеогенез в печени. Надпочечники выделяют кортизол и адреналин в ответ на разные виды стрессоров [Эндокринология ..., 2013]. Мозговое вещество надпочечников отвечает на острый стресс увеличенной продукцией адреналина быстро через нервно-проводниковый путь. Эффект длительного хронического стресса опосредован синтезом и секрецией в паравентрикулярной зоне VMN гипоталамуса кортикотропин-рилизинг гормона ACTG-RH, его транспортом в аденогипофиз и выделением оттуда кортикотропного гормона ACTG. Кортизол является глюкокортикоидом, который стимулирует глюконеогенез и ингибирует утилизацию глюкозы периферическими тканями. Адреналин является катехоламином, который стимулирует гликогенолиз и глюконеогенез.

Таким образом, гомеостаз глюкозы является важным процессом, обеспечивающим поддержание оптимального уровня глюкозы в крови. Нарушение гомеостаза глюкозы может привести к развитию метаболических заболеваний, таких как диабет. Поэтому оценка гомеостаза глюкозы является важной задачей как в фундаментальных экспериментальных исследованиях метаболизма, так и в медицинской диагностике.

Самым простым методом оценки гомеостатирования глюкозы является ее определение в крови натощак. Для оценки механизмов гомеостатирования применяют глюкозо- и инсулинотолерантные (ГТ и ИТТ соответственно) тесты. Они основаны на измерении уровня глюкозы в крови до и после приема глюкозы или инсулина. Эти тесты позволяют оценить способность организма регулировать уровень глюкозы, а также выявить наличие нарушений в метаболических процессах.

Глюкозотолерантный тест представляет собой оценку способности организма утилизировать глюкозу после ее приема. Тест проводится путем измерения уровня глюкозы в крови до и через определенные интервалы времени после приема определенного количества глюкозы. Обычно

используется нагрузочная доза глюкозы, которая в растворенном виде вводится через зонд или внутривентриальной инъекцией. Измерения проводятся с использованием глюкометра или биохимического анализатора [Vinué andGonzález-Navarro, 2015].

Инсулинотолерантный тест, в отличие от глюкозотолерантного, оценивает способность организма реагировать на инсулин. Инсулин, как известно, играет ключевую роль в регуляции уровня глюкозы в крови. В тесте проводятся измерения уровня глюкозы в крови до и после введения инсулина. Обычно используется стандартизированная доза инсулина, которая человеку вводится подкожно, а лабораторным грызунам с помощью внутривентриальной инъекции. Измерения проводятся также с использованием глюкометра или биохимического анализатора [Тест ..., 2024].

Инсулинотолерантность определяется как способность организма использовать инсулин для снижения уровня глюкозы в крови. Глюкозотолерантность, с другой стороны, оценивает способность организма поддерживать уровень глюкозы в крови в пределах нормы после введения глюкозы. Глюкозотолерантность зависит не только от секреции инсулина и чувствительности к нему, но и от активности неинсулинзависимых переносчиков глюкозы.

Перед проведением тестов необходимо подготовить животных и обеспечить оптимальные условия для их проведения. Лабораторные мыши должны содержаться в специальных камерах с контролируемой температурой и освещением, а также иметь свободный доступ к стандартной лабораторной диете и воде. Перед началом эксперимента животным следует предоставить период адаптации к новым условиям в течение нескольких дней [Vinué and González-Navarro, 2015].

Для проведения глюкозо- и инсулинотолерантных тестов необходимо использовать специальные растворы глюкозы и инсулина. Раствор глюкозы готовится путем растворения определенного количества глюкозы в

физиологическом растворе. Концентрация глюкозы в растворе должна быть точно измерена и контролироваться перед каждым тестом. Раствор инсулина также готовится путем разведения определенного количества инсулина в физиологическом растворе [Vinué andGonzález-Navarro, 2015].

В результате проведения глюкозо- и инсулинотолерантных тестов можно получить информацию об эндокринной функции поджелудочной железы, об эффективности использования инсулина, а также о наличии или отсутствии инсулинорезистентности. Эти данные могут быть использованы для оценки гомеостаза глюкозы в разные периоды онтогенеза, при разных видах адаптаций, позволяют оценить функцию поджелудочной железы, эффективность использования инсулина и выявить нарушения в метаболической функции.

1.3. Возможности внеучебной деятельности для интегративного или углубленного изучения вопросов метаболизма

В школьном курсе биологии, как и в других курсах дисциплин обучение строится по принципу «от конкретного и наглядного к абстрактному». Такой путь познания обусловлен закономерностями развития мышления - от понимания реальных предметов и явлений к пониманию идей и концепций, не имеющих прямого визуального аналога. Поэтому упрощенный обзор строения и функций организма предшествует изучению молекулярных механизмов физиологических процессов. В старших профильных классах естественнонаучной и медицинской направленности было бы полезно проделать и обратный путь от молекулярно-клеточной к организменной биологии с опорой на знания химии, физики, истории науки т.е. на междисциплинарные связи. При этом обучающиеся обобщают и систематизируют полученные во время школьного обучения знания в

интересуемой их предметной области, что обеспечивает их качественную подготовку к итоговой государственной аттестации. Кроме того, меж- и внутридисциплинарная интеграция будет способствовать достижению важных целей образования – формированию системного мышления и на его основе целостной картины мира, развитию критического и креативного мышления [Ужан, 2011]. Внедрение интегративных методов в образовательный процесс является стратегически важной задачей для современного образования и подготовки будущих специалистов.

Главной проблемой обновления содержания школьных курсов является дефицит учебного времени. Не подкрепленное дополнительным учебным временем насыщение учебников новым материалом приводит к неуверенности и потере интереса к предмету у обучающихся. Значительным потенциалом для расширения, углубления, систематизации и интеграции знаний обладает внеучебная деятельность. Формы внеучебной деятельности многообразны, включают экскурсии, подготовку и участие в конкурсах и олимпиадах, участие в проводимых вузами мероприятиях, направленных на профориентацию и/или популяризацию научных знаний, исследовательскую и проектную деятельность.

Систематизировать внеучебную деятельность по биологии помогает организация кружка, где учащиеся могли бы обсуждать посещенные мероприятия, свои достижения, результаты своих исследований, проводить дискуссии, создавать блоги или видео-каналы, посвященные популяризации научных знаний, публиковать результаты собственных проектов [Панов, Фёдорова, 2014]. Важно, что внеучебная деятельность по сравнению с уроками дает возможность школьникам проявить собственную инициативу вовлекает их в активное обсуждение и практическое применение знаний, что повышает интерес к теме и учит применять теорию на практике.

Особое место в организации внеучебной деятельности по предмету приобретают разнообразные формы взаимодействия школы с вузовскими и

академическими лабораториями. Вузы заинтересованы в притоке способной, увлеченной молодежи. Школа получает возможность в формате таких вузовских мероприятий знакомить старшеклассников с современными научными методами и технологиями.

ГЛАВА 2. ПРОЕКТИРОВАНИЕ МАСТЕР-КЛАССА «МОНИТОРИНГ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА С ПОМОЩЬЮ ГЛЮКОМЕТРА У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ»

Метаболическая физиология изучает организацию и регуляцию обменных процессов на клеточном и организменном уровне. Современные омиксные технологии позволяют одномоментно сканировать тысячи малых молекул метаболома, ферменты протеома клеток и плазмы крови, эти технологии уже находят применение в медицине. Существенно увеличились по объему информации раздел «метаболизм» в учебниках для 10 классов. Несмотря на добротные иллюстрации этот материал слабо усваивается школьниками. Как показал проведенный опрос 65% старшеклассников не понимают, что такое метаболизм, 47% не имеют представления об механизмах регуляции обменных процессов и 23% не знают, что называется обменным и процессами. Затруднительна интеграция знаний о клеточном метаболизме с ранее полученными в 8-9 классах о гормональной и нейроэндокринной регуляции, с знаниями из курса химии и физики об оптических методах анализа, с медициной. Поэтому этот материал

представляется чем-то абстрактным, далеким от повседневной жизни. Для того чтобы каким-то образом организовать понимание данных процессов необходимо использовать дополнительные формы работы, например, мастер-классы.

Мастер-классы являются одним из самых эффективных методов внеучебной деятельности не только для расширения кругозора, но и для актуализации ранее изученного материала. К тому же они позволяют вовлекать учащихся в процесс исследования.

У мастер-классов есть множество преимуществ, например, передача практического опыта. Участники наблюдают за процессом, могут задавать вопросы, могут непосредственно помогать в проведении мастер-класса, но под контролем специалиста, получают обратную связь, всё это способствует более глубокому усвоению навыков. Данная форма занятия не регламентирована по времени: он может длиться от нескольких часов до целого рабочего дня. К тому же количество непосредственных участников может составлять от двух до 40 человек.

Но помимо преимуществ у мастер-класса есть и ряд недостатков. В первую очередь, наличие предварительной базы. Занятие обычно не предусматривают глубокого теоретического объяснения, что может затруднить участие новичков без базовых знаний. Для некоторых мастер-классов нужно специальное оборудование и материалы, что тоже может затруднять использование данной формы.

2.1. Пояснительная записка

Мониторинг углеводного обмена является важной составляющей здоровья по нескольким причинам. Во-первых, углеводы напрямую влияют на уровень глюкозы в крови, и их неправильное потребление или отсутствие контроля может приводить к серьезным метаболическим нарушениям, таким

как диабет и метаболический синдром. Во-вторых, регулярный контроль помогает своевременно выявлять колебания уровня глюкозы и корректировать диету, медикаменты и образ жизни. Особенно это важно для людей с диабетом, поскольку правильное управление уровнем сахара в крови снижает риск гипогликемии, гипергликемии и связанных с ними опасных состояний, таких как диабетический кетоацидоз и осложнения сосудистого характера [Kirstine et al., 2015].

В ходе занятия участники узнают о выборе моделей мышей, правильных методах сбора крови, минимизации стрессовых факторов, влияющих на результаты, а также о сравнении глюкометрических измерений с лабораторными анализами.

Для повышения точности и достоверности результатов необходимо соблюдать стандартизацию условий и учитывать особенности линий мышей, пола и возраста животных. Важной задачей является также правильная интерпретация данных, полученных с помощью глюкометра, в сравнении с лабораторными методами, что позволяет более объективно оценить состояние углеводного обмена у исследуемых животных.

Цель мастер класса: измерение уровня глюкозы в крови лабораторных мышей для оценки поддержания ее гомеостаза

Задачи:

- 1) изучить устройство и принцип работы глюкометра, преимущества для повседневного мониторинга глюкозы;
- 2) познакомиться с методикой определения глюкозы в крови хвостовой вены лабораторной мыши;
- 3) определить и сопоставить концентрацию глюкозы в крови у голодающих в течение 4 ч и имеющих постоянно доступ к корму лабораторных мышей.

Время: 60 минут

Участники: обучающиеся старших классов

Минимальное количество участников: 2

Мастер-класс предназначен для обучающихся старших классов профильного уровня, студентов естественно-научного и медицинского направлений.

Он поможет участникам понять методику работы с глюкометром, научиться избегать распространенных ошибок при использовании глюкометров у человека и лабораторных мышей; особенности проведения физиологического эксперимента и интерпретации полученных данных.

Планируемые результаты:

Предметные результаты: Актуализация знаний о метаболическом гомеостазе; освоение методов мониторинга уровня глюкозы в крови лабораторных мышей с использованием глюкометра; знание этических аспектов работы с лабораторными животными и правил обращения с ними.

Личностные результаты: формирование ответственности за гуманное и этичное обращение с лабораторными животными; развитие профессиональной этической позиции в области биомедицинских исследований; повышение мотивации к самостоятельной работе и изучению методов мониторинга в экспериментальной биологии; воспитание исследовательской культуры и ответственности за качество получаемых данных.

Познавательные результаты: расширение знаний о биохимических механизмах, нервной, эндокринной и нейроэндокринной регуляции углеводного обмена у мышей; понимание устройства и принципа работы глюкометра как инструмента для оценки состояния углеводного обмена в экспериментальных условиях.

Регулятивные результаты: умение планировать и проводить экспериментальные исследования с учетом правил безопасности и гуманного обращения; способность самостоятельно оценивать и контролировать качество и достоверность полученных данных.

Коммуникативные результаты: развитие умений работать в группе, обсуждать и анализировать экспериментальные данные; формирование навыков профессионального общения и обмена опытом в рамках научной деятельности.

Мотивационные результаты: интенсификация интереса к экспериментальной биологии и биохимии; стимулирование самостоятельной исследовательской деятельности и профессионального развития; вдохновение к соблюдению этических принципов в научных исследованиях; повышение мотивации к овладению современными методами мониторинга и анализа в биомедицинских исследованиях.

Перед началом мастер-класса необходимо определить у участников уровень знаний и понимание данной темы. Для этого достаточно провести небольшой фронтальный опрос:

Что такое гомеостаз?

Для чего нужно поддержание гомеостаза глюкозы в крови?

Какова роль глюкозы в организме?

Какие гормоны играют важную роль в поддержании уровня глюкозы в крови?

После этого участникам рассказывается про глюкометры их виды и принцип работы. Затем можно переходить к методике проведения.

2.2. Методика проведения мастер-класса по теме «Мониторинг углеводного обмена с помощью глюкометра у лабораторных мышей»

Проведение мастер-класса на тему «Мониторинг углеводного обмена с помощью глюкометра у лабораторных мышей» является не сложным как в плане методики, так и необходимых материалов, и оборудования.

Материалы: лабораторные мыши две группы по три особи. Первая группа после четырёхчасового голодания, вторая группа неограниченная в пищевом ресурсе.

Оборудование: нитриловые перчатки, фиксатор для мышей, лезвие, ватные диски или вата, глюкометр, тест-полоски.

Реактивы: спирт или антисептик.

Для проведения мастер-класса рекомендуется использовать следующую методику, основанную на актуальных научных протоколах и практических рекомендациях.

Все действия необходимо совершать в перчатках!

1. Подготовительный этап

- Обеспечить стерильность всех инструментов и материалов, включая тест-полоски, лезвия;
- Подготовить необходимое оборудование: глюкометр, тест-полоски, стерильные лезвия;
- Поместить лабораторную мышь в фиксатор (рисунок 2.1), обеспечив свободный доступ к боковой вене.

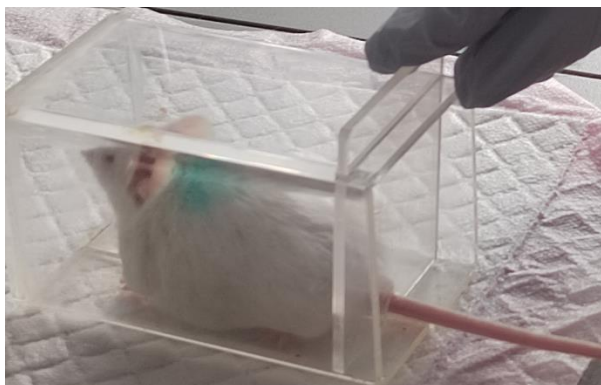


Рисунок 2.1. Фиксатор с лабораторной мышью

2. Забор крови и использование глюкометра

- На хвосте найти боковую вену, круговыми движениями создать давление, чтобы она стала заметнее;
- В глюкометр вставить тест-полоску для его включения и начала работы;

- Место на хвосте обработать ватным диском или ватой, смоченной спиртом;
- Лезвием сделать неглубокий, но точный надрез;
- Аккуратно сформировать каплю крови на хвосте (обычно 0,5-1 мкл или согласно инструкции глюкометра) и нанести на тест-полоску, следуя рекомендациям производителя;
- Тест-полоску вставить в глюкометр;
- Получить результат измерения уровня глюкозы в крови, который обычно отображается в течение 5 секунд.

3. Запись и интерпретация данных

- Все результаты необходимо фиксировать в журнале или электронных таблицах для дальнейшего анализа.
- Оценивать показатели по стандартным референсным значениям для мышей, учитывая особенности экспериментальной модели и состояния животных.

4. Рекомендации по безопасности и уходу

- Обеспечить минимальный стресс для животных, соблюдать гигиенические нормативы;
- После забора крови обработать место надреза антисептиком и прижать тампон для предотвращения кровотечения;

5. Итоговый этап

- Обсудить с участниками полученные результаты, затронуть вопросы точности измерений и возможных ошибок.
- Провести анализ данных, показать примеры интерпретации уровня глюкозы у мышей с различным метаболическим статусом.
- Обсудить возможности применения методов мониторинга в исследованиях и практических экспериментах.

2.3. Апробация и анализ результатов проведённого мастер-класса

Мастер-класс был апробирован Школе-семинаре «Калейдоскоп исследовательских практик» в рамках III Международного педагогического форума Енисейской Сибири». Занятие проводилось на базе лаборатории биохимии и физиологии энергообмена, количество участников – 15 человек. В ходе ее выяснилось, что школьники не могут определить значение углеводов для организма, путают понятия «метаболизм» и «гомеостаз», не могут из уже пройденного материала вспомнить основные гормоны, обеспечивающие гомеостаз глюкозы.

Получив результаты, ребята убедились в гомеостатировании глюкозы крови. Также участники актуализировали знания из курса физики об оптических методах анализа, получили опыт планирования и выполнения научного эксперимента. Несколько школьников освоили технику работы с мышью и глюкометром. Занятие вызвало интерес, о чем свидетельствовали вопросы медицинской направленности, вопросы по истории открытия инсулина, разведению лабораторных мышей, проблемам, изучаемым в лаборатории.

ГЛАВА 3. ПРОЕКТИРОВАНИЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ «МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ УРОВНЯ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ И ИХ ОЦЕНКА С ПОМОЩЬЮ ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОГО ТЕСТА У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ»

Работа школьников в научной лаборатории требует постоянного контроля и внимания со стороны сотрудников, что обусловлено необходимостью обеспечения безопасности и сохранности лабораторного оборудования, экспериментальных животных и других материалов. Важно, чтобы учащиеся принимали непосредственное участие в исследовательской деятельности в меру своих возможностей, что способствует развитию понимания командной работы и коллективного характера современной науки. Такой опыт развивает аккуратность, ответственность и навыки ведения научных экспериментов, а также помогает понять свою роль в общем исследовательском процессе.

Ответственность за деятельность школьников в лаборатории возлагается на наставника, который обеспечивает связь между учениками и сотрудниками, а также следит за подготовкой и организацией работы. В процессе планирования работы наставник разрабатывает индивидуальные планы и дидактические материалы, учитывая интересы, мотивацию, здоровье и свободное время школьников. Важной частью подготовки является ознакомление с лабораторным оборудованием и правилами безопасной работы, так как лабораторная деятельность связана с потенциальными опасностями, такими как химические реагенты, лабораторные животные и электроприборы.

Перед началом эксперимента школьники проводят подготовительные мероприятия под контролем наставника, который проверяет наличие необходимого оборудования и безопасность условий. Во время эксперимента наставник обеспечивает постоянное присутствие для консультаций и контроля правильности выполнения процедур. Важной составляющей

является ведение протоколов и записей, что облегчает подготовку отчетов и итоговых документов. После завершения работы проводится обсуждение, в ходе которого оценивается выполнение плана, выявляются трудности и при необходимости — повторяется эксперимент.

Этапы организации научно-исследовательской работы включают знакомство с интересами и мотивациями школьников, выбор темы исследования, чтение специализированной литературы и обсуждение прочитанного, что способствует формированию исследовательской инициативы и мотивации. Планирование включает составление индивидуальных планов работы с определением сроков и результатов, а также обучение правильному протоколированию экспериментов. Важной частью является также обучение безопасным методам работы с лабораторным оборудованием, химическими веществами и биоматериалами, что обусловлено потенциальными рисками.

Обеспечение безопасности в лаборатории включает проведение инструктажей по технике безопасности, использование средств индивидуальной защиты (перчатки, халаты, очки), а также соблюдение правил обращения с лабораторным оборудованием и животными. В случае аварийных ситуаций требуется знать порядок действий, таких как использование огнетушителей, обработка пролившихся веществ и оказание первой помощи.

Организация работы школьников в лаборатории — это комплекс мер, направленных на безопасную, эффективную и познавательную исследовательскую деятельность, которая способствует развитию научных компетенций и интереса к науке.

3.1. Организационно-методические документы к научно-исследовательскому проекту обучающегося

Организационно-методические документы включают пояснительную записку к проекту, примерный план НИР. В пояснительной записке доступно с учетом возраста и знаний школьника излагается научная проблема, актуальность ее изучения для фундаментальной науки, для практики медицины и др., ставится цель и задачи исследования. Составление плана НИР вызывает наибольшие сложности из-за занятости как наставника, так и обучающегося. Ниже представлены тексты пояснительной записки и откорректированного плана НИР.

**Пояснительная записка к выполнению научно-исследовательской
работы обучающегося 10 класса МБОУ СШ №62 Захмедова Закириё
Абдусаломовича**

Тема работы: «Механизмы поддержания гомеостаза глюкозы в крови и методы их оценки».

Актуальность темы:

Нарушение гомеостаза глюкозы является основным механизмом развития диабета, который в последние десятилетия приобрел эпидемический характер. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, количество людей с диабетом продолжает расти, что вызывает серьезные социальные и экономические проблемы. Исследование механизмов поддержания нормального уровня глюкозы в крови может помочь в разработке эффективных методов профилактики и лечения диабета, а также связанных с ним осложнений.

Кроме того, понимание механизмов регуляции уровня глюкозы в крови важно для диагностики и лечения различных эндокринных заболеваний, таких как болезни надпочечников, гипотиреоз и другие состояния, влияющие на обмен веществ. Это также может способствовать более точному назначению терапевтических мер и улучшению качества жизни пациентов.

Значимую роль играет развитие и внедрение новых методов оценки гомеостаза глюкозы, таких как непрерывный мониторинг уровня глюкозы, а

также анализ биомаркеров, позволит не только своевременно выявлять проблемы с метаболизмом углеводов, но и осуществлять индивидуализированный подход к лечению. Современные технологии, такие как использование смартфонов и носимых устройств, стимулируют интерес к объектам исследования и новым методам мониторинга.

Таким образом, исследование механизмов поддержания гомеостаза глюкозы и методов их оценки представляет собой важную научную задачу, способствующую более глубокому пониманию человеческого организма и обеспечению эффективного контроля гликемии, что в свою очередь положительно скажется на профилактике и лечении различных заболеваний.

Цель работы: выявление чувствительности к глюкозе на примере аутбредных мышей ICR.

Задачи:

1. Изучить механизмы поддержания гомеостаза глюкозы в крови.
2. Рассмотреть методы поддержания гомеостаза глюкозы в крови.
3. Проведение эксперимента и подведение результатов.

Планируемый продукт проекта: Стендовый доклад для демонстрации результатов на научно-практической конференции «БиоЭко».

План работы:

Таблица 1. План научно-исследовательской работы Захмедова Закириё Абдусаломовича обучающегося 10«Б» класса МБОУ СШ №62

Этапы работы	Сроки	Содержание работы
1) Изучение литературных и других информационных источников, помогающих понять специфику работы лаборатории биохимии поддержания гомеостаза глюкозы, инструктаж по ТБ	25.10.2024-12.11.2024	Четко сложившиеся представления о работе лаборатории биохимии поддержания гомеостаза глюкозы; изучена необходимая литература и другие информационные источники, выслушан инструктаж
2) Встреча с наставником для обсуждения изученных источников и формулирования темы, цели и задач исследования	12.11.2024-26.11.2024	Обсуждены возникшие в ходе ознакомления с работой лаборатории и источников информации; Определена тема научно-исследовательской работы, поставлена

		цель, определены задачи исследования
3) Встреча для подготовки к экспериментальной части работы	27.11.2024-05.12.2024	Выполнена подготовка к экспериментальной части работы: познакомились с реактивами необходимым для эксперимента, с методикой проведения инъектирования, с работой глюкометра и способом взятия крови
4) Проведение экспериментальной работы	20.12.2024	Оформлен протокол экспериментальной части, выполнен эксперимент; Обсуждение и расчёты результатов
5) Обсуждение результатов эксперимента; начало работы над подготовкой доклада	10.01.2025-17.01.2025	Обсуждение результатов всего исследования; намечено направление на подготовку доклада
6) Дополнительный поиск и изучение литературы по теме исследования	18.01.2025-01.02.2025	Оформление списка литературы
7) Написание доклада, подготовка стендового доклада	08.02.2025-01.03.2025	Оформление доклада
8) Редакция работы наставником	08.03.2025-22.03.2025	-
9) Заключительная часть подготовки работы к демонстрации	04.04.2025-17.04.2025	Полностью готовый доклад для демонстрации
10) Выступление на школьной конференции	23.04.2025-25.04.2025	Стендовый доклад

3.2. Апробация исследовательской работы

В результате проделанной работы обучающийся подготовил стендовый доклад, с которым успешно выступил на школьной конференции в рамках защиты индивидуальных проектов.

3.2.1. Этапы работы с обучающимся

Обучающиеся 10 класса МБОУ СОШ №62 с углубленным изучением биологии и химии с октября 2024 года посещали занятия преподавателей КГПУ им. В.П. Астафьева на факультете биологии, географии и химии. В рамках занятий была проведена экскурсия в лабораторию биохимии, после

безопасности при проведении эксперимента, с правилами протоколирования.

Экспериментальная часть состояла из нескольких этапов. На первом этапе проводился глюкозотолерантный тест – внутривенное введение 40 %-ого раствора глюкозы и измерение уровня глюкозы в течение 120 минут с интервалами в 30 минут и фиксация полученных результатов. Каждый этап работы требовал указаний и четкого контроля наставника. Действуя сообща и соблюдая все рекомендации руководителя проекта, обучающиеся успешно воспроизвели сопоставимые результаты, которые были получены в лаборатории ранее.

Вторая часть работы состояла в построении гликемических кривых, статистики и расчёта площади под гликемической кривой (AUC). AUC рассчитывают методом трапеций по дискретным измерениям концентрации глюкозы в определённые моменты времени. Отражает изменение концентрации глюкозы в крови с момента приёма пищи до полного её усвоения организмом.

После завершения каждой части работы следовала обязательная рефлексия, имеющая целью выяснить: «Что лучше всего получилось сделать в ходе работы?», «Чему следует еще поучиться, чтобы в следующий раз чувствовать себя более уверенно?», «Какие манипуляции показались наиболее трудными?».

При выполнении НИР обучающийся проявил себя по высшей мере ответственно, несмотря на некоторые сложности, которые были связаны с 1) недостатком времени для присутствия на всех этапах эксперимента; 2) трудностями концентрации внимания и памяти при выполнении многоступенчатой работы. В целом, школьник справился со своими задачами, поставленными перед началом исследований.

Завершением успешного опыта работы в лаборатории биохимии и физиологии стала подготовка стендового доклада, с которым обучающийся

выступил на школьной конференции в рамках защиты индивидуальных проектов школьников.

3.2.2. Результаты выполнения научно-исследовательской работы

Исследование проводилось на трёх группах лабораторных мышей разных возрастов: 2,5, 6 и 9 месяцев.

Во всех изученных возрастных группах гликемические кривые имели стандартную куполообразную форму (рис. 3.1.). В соответствие с результатами ГТТ базальная глюкоза крови от 7 до 9. После инъекции глюкозы наблюдалось увеличение ее уровня в крови в течение 30 мин. Восстановление уровня глюкозы в крови достигалось к 90 мин.

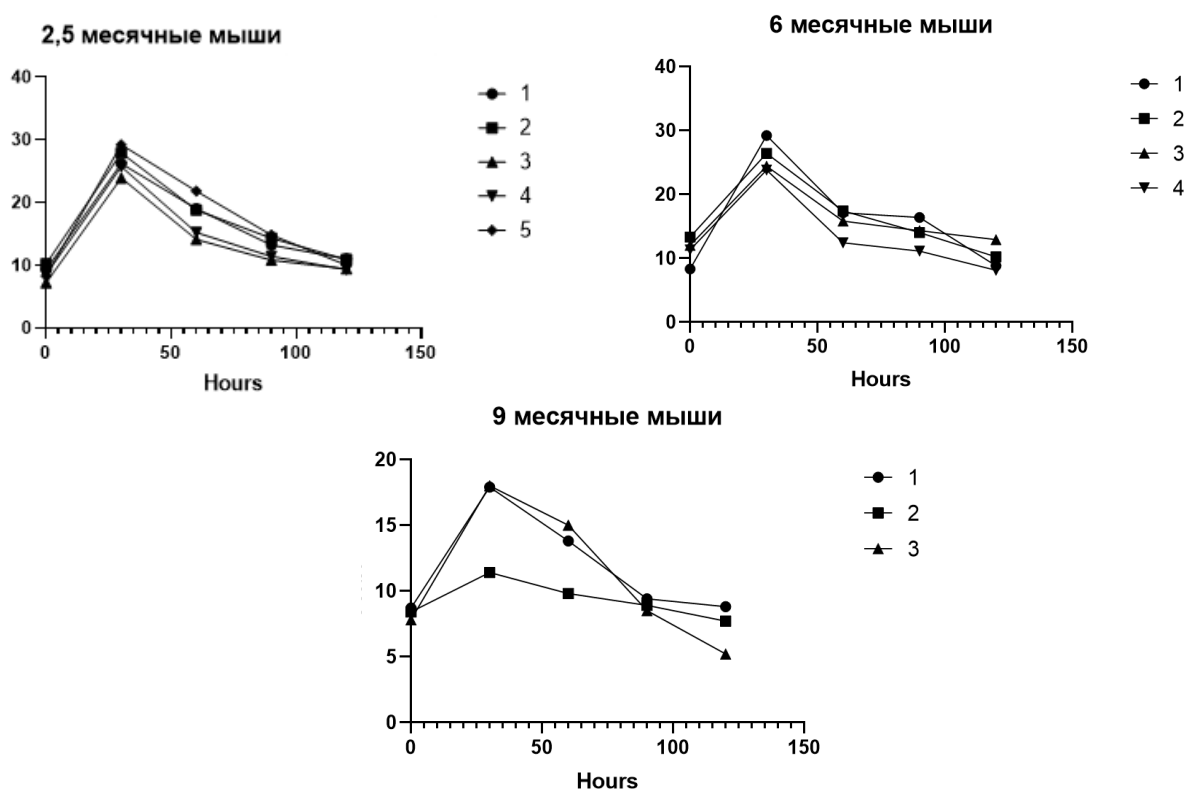


Рисунок 3.1. Гликемические кривые разных возрастных групп мышей

Результаты глюкозотолерантного теста показывают в среднем повышение чувствительности к глюкозе с возрастом после полугода (Рис. 3.2). Начиная с 9 мес наблюдается статистически значимое снижение средней площади под кривой по сравнению с более молодыми животными. Таким

образом, полученные данные ГТТ свидетельствуют о более быстром использовании глюкозы у старых животных. Можно предположить, что с возрастом у данной линии больший вклад начинают вносить инсулин независимые переносчики глюкозы, и поэтому уровень глюкозы крови поддерживается без существенных изменений. Особого внимания заслуживает группа 9 мес животных, у которых показатель AUC быстро снижается и статистически значимо отличается и от 6-мес животных.

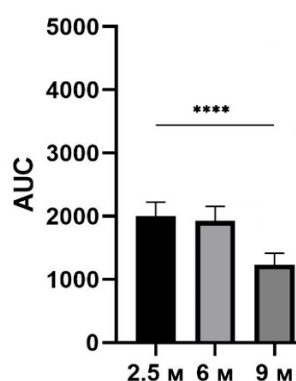


Рисунок 3.2. Площадь под гликемической кривой. Среднее $\pm$ SD; * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, **** - $p < 0.0001$; ANOVA с поправкой Тьюки.

Таким образом, в результате исследования было найдено, что у самцов ICR с возрастом хоть и наблюдается тенденция к развитию инсулинорезистентности, но, исходя из результатов ГТТ, существенных изменений в уровне глюкозы крови не отмечено, предположительно за счет активации неинсулинзависимых переносчиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Первое описание обмена веществ и его регуляции представлено в учебнике биологии 9 класса. В учебнике биологии 10 класса эти вопросы рассматриваются на молекулярно-клеточном уровне. Для обеспечения преемственности в обучении, целостного понимания обменных процессов целесообразно в старших классах актуализировать ранее пройденный материал для его более глубокого объяснения с учетом новых знаний о молекулярно-клеточных механизмах.

2. Современные проблемы физиологии метаболизма и его регуляции включают взаимодействие разных гормонов и их сигнальных путей в клетках разных типов, обработку больших и сложных массивов данных протеомного и метаболомного анализов, механизмы патогенеза наследственных и приобретенных нарушений метаболизма.

3. Разработаны дидактические материалы к мастер-классу на тему «Мониторинг углеводного обмена с помощью глюкометра у лабораторных мышей»: пояснительная записка, инструкция проведения. Мастер-класс апробирован на Школе-семинаре «Калейдоскоп исследовательских практик» в рамках III Международного педагогического форума Енисейской Сибири».

4. Разработаны дидактические материалы к исследовательской работе на тему «Механизмы поддержания уровня глюкозы в крови и их оценка с помощью глюкозотолерантного теста у лабораторных мышей»: организационно-методические документы, инструкция проведения, результаты исследовательской деятельности. Исследовательская работа выполнялась обучающимся 10 класса МБОУ СШ №62. Подготовлен стендовый доклад, который был представлен на школьной конференции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балаболкин М.И. Инсулинорезистентность и её значение в патогенезе нарушений углеводного обмена и сахарного диабета типа 2 // Сахарный диабет. Научно-практический медицинский журнал. 2002. Том5, № 1. С. 12-20.
2. Елсукова Е.И., Якуненков А.В. Введение в физиологический эксперимент. Основы планирования эксперимента и статистического анализа данных в физиологии: учебное пособие / Краснояр. Гос. Пед. ун-т им. В.П. Астафьева. Красноярск, 2021. 112 с.
3. Колмогорова Н. В. Методология и методика психолого-педагогических исследований: учебное пособие / Н. В. Колмогорова, З. А. Аксюткина. Омск: Изд-во СибГУФК, 2012. 248 с.
4. Конь И.Я. Углеводы: новые взгляды на их физиологические функции и роль питания // Вопросы детской диетологии. 2005. Т. 3, № 1. С. 17-27.
5. Литвицкий П.Ф., Мальцева Л.Д. Расстройства углеводного обмена у детей: гипогликемия, гипергликемия, гликогеноз, агликогеноз, гексоземия // Вопросы современной педиатрии. 2017. Том 16, № 5. С. 362-369.
6. Меликян М.А. Врождённый гиперинсулизм // Проблемы эндокринологии. М., 2010. № 6. С. 41-47.
7. Панов А.В., Фёдорова М.А. Формирование системного мышления // Омский научный вестник. 2014. №4 (131). С. 162-165.
8. Пасечник В.В. Биология. 10 класс: учеб, для общеобразоват. организаций: углубл. уровень; под ред. В. В. Пасечника. М.: Изд-во Просвещение, 2019. 336 с.: ил. (Линия жизни).
9. Пасечник В.В. и др. Биология: 9-й класс: базовый уровень: учебник. М.: Изд-во Просвещение, 2023. 272 с.: ил. (Линия жизни).

10. Приказ Министерства просвещения РФ от 21 сентября 2022 г. № 858 «Об утверждении федерального перечня учебников, допущенных к использованию при реализации имеющих государственную аккредитацию образовательных программ начального общего, основного общего, среднего общего образования организациями, осуществляющими образовательную деятельность и установления предельного срока использования исключенных учебников». М., 2022.

11. Рузавин Г.И., Методология научного познания: Учеб. пособие для вузов. М.: Изд-во ЮНИТИ-ДАНА, 2012. 287 с.

12. Сахабутдинов А.Р. Исследование методов для определения уровня глюкозы в крови// XXV Туполевские чтения (школа молодых учёных) / Международная молодежная научная конференция, посвященная 60-летию со дня осуществления Первого полета человека в космическое пространство и 90-летию Казанского национального исследовательского технического университета им. А.Н. Туполева-КАИ, Том. IV. Казань: ИП Сагиева А.Р., 2021. С. 157-163.

13. Тест на толерантность к инсулину (ITT) // Melior Discovery. URL: <https://www.meliordiscovery.com/in-vivo-efficacy-models/insulin-tolerance-test-itt/> (дата обращения: 18.11.2024 г.).

14. Титов В.В. Регуляция инсулином метаболизма жирных кислот, а затем глюкозы в реализации биологической функции локомоции // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. № 5. С. 3-12.

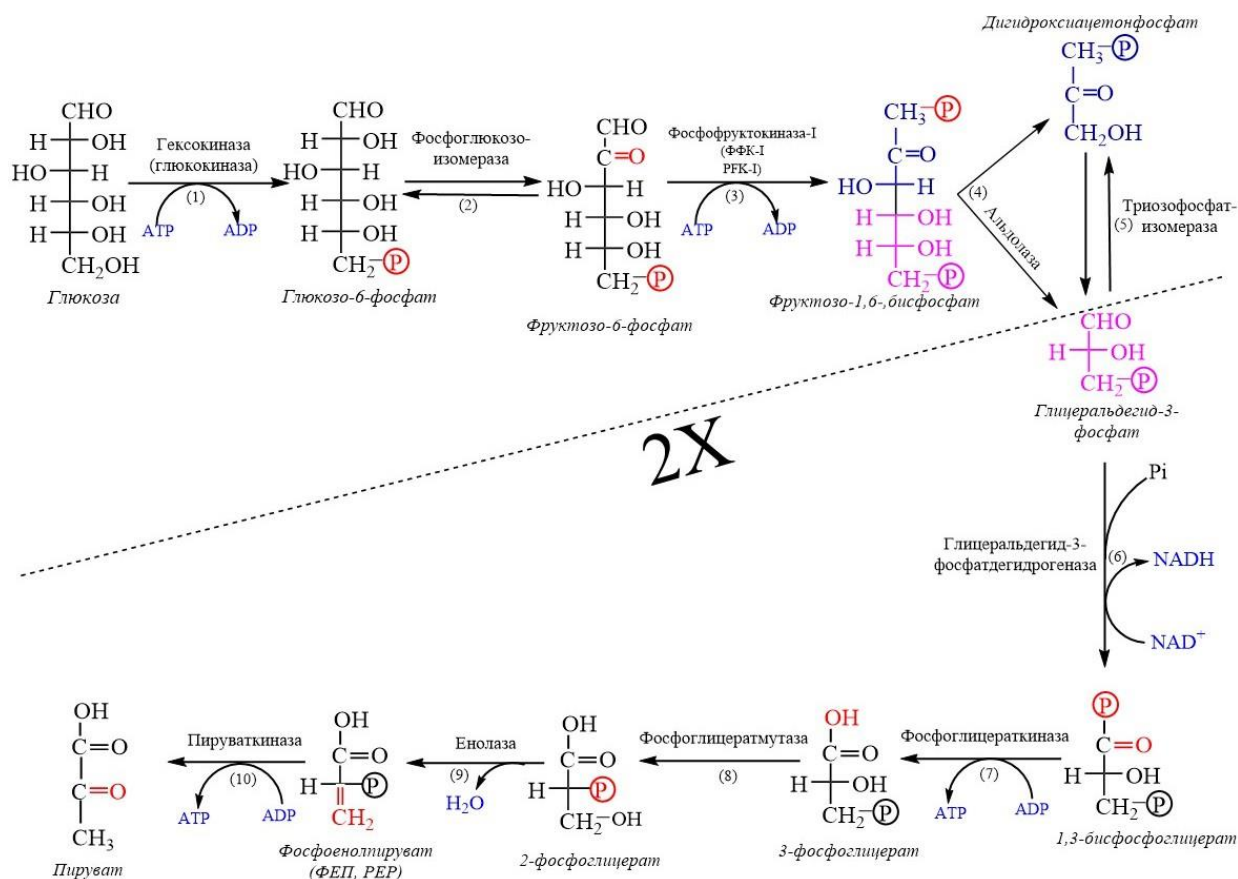
15. Ткачук В.А., Воротников А.В. Молекулярные механизмы развития резистентности к инсулину // Вопросы патогенеза / Сахарный диабет. Научно-практический медицинский журнал. 2014. Том 17, № 2. С. 29-40.

16. Ужан О.Ю. Интегрированное обучение как следствие модернизации образования // Профессиональное образование в России и за рубежом. 2011. Том 2, № 4. С. 90-94.

17. Федеральный государственный образовательный стандарт среднего общего образования, утв. Приказом Минобрнауки РФ от 17 мая 2012 г. № 413 с изменениями от 12 августа 2022 г. № 732.
18. Физиология человека с основами патофизиологии: в 2 т. / под ред. Р.Ф. Шмидта, Ф. Ланга, М. Хекманна: пер. с нем. под ред. М.А. Каменской и др. 2-е изд., испр. М.: Изд-во Лабораториязнаний, 2021. С. 397-400.
19. Худоерова Д.Р. Эффекты бариатрических операций на уровень гормонов, регулирующих массу тела // Научный журнал прикладных и медицинских наук. 2024. Том 3, № 4. С. 69-76.
20. Эль-Тарави Я.А. и др. Нобелевские открытия в истории обмена веществ и диабетологии// Сахарный диабет. Научно-практический медицинский журнал. 2023. Том 26, № 4. С. 375-381.
21. Эндокринология: Руководство для врачей/Под ред. заслуженного врача РФ, заслуженного работника высшей школы РФ проф. В.В. Потемкина. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2013. С. 72.
22. Chadt, A. and Al-Hasani, H. Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease. // Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2020. 472(9), pp. 1273-1298.
23. Holman, G. D. Structure, function and regulation of mammalian glucose transporters of the SLC2 family. // Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2020. 472(9), pp. 1155-1175.
24. Kirstine J. Bell; Carmel E. Smart; Garry M. Steil; Jennie C. Brand-Miller; Bruce King; Howard A. Wolpert. Impact of Fat, Protein, and Glycemic Index on Postprandial Glucose Control in Type 1 Diabetes: Implications for Intensive Diabetes Management in the Continuous Glucose Monitoring Era // Diabetes Care. 2015. 38 (6), pp. 1008-1015.

25. Teixeira P. D. S., Tavares M. R., Jose D. Temporal characterization of the insulin resistance during puberty in mice // *Endocrine regulations*. 2021. 55 (1), pp. 1-4.
26. Vinué, A. and González-Navarro, H. Glucose and Insulin Tolerance Tests in the Mouse // *Methods in Mouse Atherosclerosis, Methods in Molecular Biology*. Springer Science + Business Media New York. 2015. pp. 247-254.
27. Wang, T., Wang, J., Hu, X., Huang, X. J., & Chen, G. X. Current understanding of glucose transporter 4 expression and functional mechanisms // *World journal of biological chemistry*. 2020. 11(3). p. 76.

Гликолиз



1. Как только глюкоза попадает в клетку, первым этапом является фосфорилирование глюкозы семейством ферментов, называемых гексокиназами, с образованием глюкозо-6-фосфата (G-6-P). Эта реакция расходует АТФ, но она поддерживает низкую концентрацию глюкозы внутри клетки, способствуя непрерывному транспорту глюкозы из крови в клетку через переносчики плазматической мембраны. Кроме того, фосфорилирование препятствует утечке глюкозы из клетки

У животных в печени также используется изофермент гексокиназы, называемый глюкокиназой, который имеет гораздо более низкое сродство к глюкозе и отличается регуляторными свойствами.

2. Затем G-6-P превращается в фруктозо-6-фосфат (F-6-P) с помощью фосфоглюкозоизомеразы. Эта реакция легко обратима в нормальных клеточных условиях. В условиях высокой концентрации F-6-P эта реакция легко протекает в обратном направлении.

3. Далее F-6-P превращается в фруктозо-1,6-бисфосфат (F-1,6-BP) с помощью фосфофруктокиназы-1 (PFK-1). Затрата энергии на этом этапе с помощью другого АТФ оправдана двумя способами: Гликолитический процесс (до этого этапа) становится необратимым, а затраченная энергия дестабилизирует молекулу. Поскольку реакция, катализируемая фосфофруктокиназой 1 (PFK-1), связана с гидролизом АТФ (энергетически благоприятным этапом), она, по сути, необратима, и для обратного преобразования во время глюконеогенеза необходимо использовать другой путь. Это делает реакцию ключевым регулирующим моментом.

4. Дестабилизация молекулы в предыдущей реакции позволяет расщепить гексозное кольцо с помощью альдозазы на два триозных сахара: дигидроксиацетонфосфат (кетозу) и глицеральдегид-3-фосфат (альдозу).

5. Триозофосфатизомераза быстро превращает дигидроксиацетонфосфат в глицеральдегид-3-фосфат (ГАДФ), который далее участвует в гликолизе. Это выгодно, так как дигидроксиацетонфосфат проходит тот же путь, что и глицеральдегид-3-фосфат, что упрощает регуляцию.

6. Альдегидные группы сахаров триоз окисляются, и к ним добавляется неорганический фосфат, образуя 1,3-бисфосфоглицерат.

Водород используется для восстановления двух молекул NAD^+ , переносчика водорода, до NADH для каждой триозы.

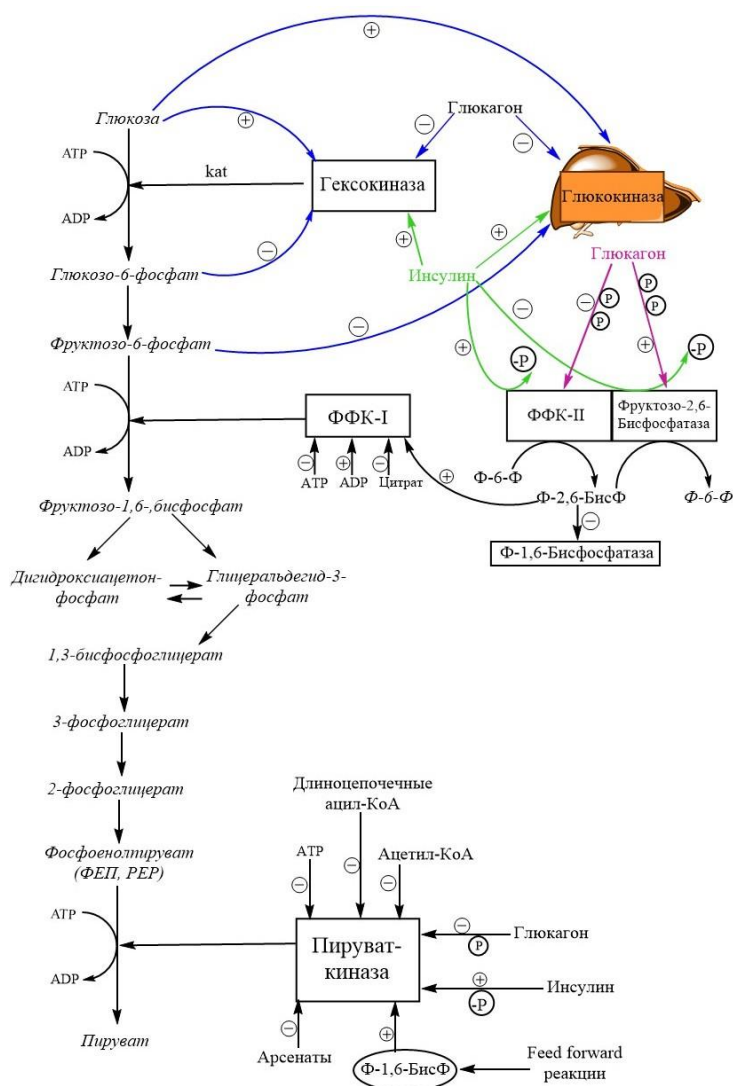
7. На этом этапе происходит ферментативный перенос фосфатной группы от 1,3-бисфосфоглицерата к АДФ с помощью фосфоглицераткиназы, в результате чего образуются АТФ и 3-фосфоглицерат. На этом этапе гликолиз достигает точки безубыточности: 2 молекулы АТФ были израсходованы, и теперь синтезируются 2 новые молекулы.

8. Фосфоглицератмутаза изомеризует 3-фосфоглицерат в 2-фосфоглицерат.

9. Далее енолаза превращает 2-фосфоглицерат в фосфоенолпируват (PEP) с отщеплением воды.

10. В результате заключительного фосфорилирования на уровне субстрата образуется молекула пирувата и молекула АТФ с помощью фермента пируваткиназы.

Регуляция гликолиза



1. *Регуляция первой стадии гликолиза – превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф).*

Превращение глюкозы в Г-6-Ф катализирует гексокиназа или глюкокиназа (в печени). Гексокиназу стимулируют глюкоза, инсулин, а ингибируют большая концентрация Г-6-Ф, глюкагон. Глюкокиназу

стимулирует большая концентрация глюкозы и инсулин, а ингибирует глюкагон и большая концентрация фруктозо-6-фосфата (Ф-6-Ф).

2. *Регуляция третьей стадии гликолиза – превращение фруктозо-6-фосфата в фруктозо-1,6-бисфосфат.*

Фруктозо-6-фосфат превращается во фруктозо-1,6-бисфосфат, реакцию катализирует фосфофруктокиназа-I (PFK-I). Ингибирует PFK-I высокая концентрация молекул АТФ и цитрат. PFK-I стимулирует высокая концентрация АДФ и фруктозо-2,6-бисфосфат, которая синтезируется из фруктозо-6-фосфата за счёт фосфофруктокиназы-II (PFK-II). Инсулин стимулирует PFK-II через дефосфорилирование, глюкагон ингибирует PFK-II через фосфорилирование. Фруктозо-2,6-бисфосфат ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу. Фруктозо-2,6-бисфосфат под действием фруктозо-2,6-бисфосфатазы превращается в фруктозо-6-фосфат. Фруктозо-2,6-бисфосфатазу ингибирует инсулин через дефосфорилирование и стимулирует глюкагон через фосфорилирование.

3. *Регуляция десятой стадии гликолиза – превращение фосфоенолпирувата (PEP) в пируват.*

Превращение PEP в пируват катализирует пируваткиназа. Пируваткиназу ингибируют высокая концентрация молекул АТФ, длинноцепочечные ацил-КоА, ацетил-КоА, арсенаты, глюкагон через фосфорилирование. Стимулируют пируваткиназу инсулин через дефосфорилирование и большое количество фруктозо-1,6-бисфосфат – feedforward реакция.

Глюконеогенез

T₁– переносчик 1. Переносит глюкозо-6-фосфат в ЭПР.

T₂– переносчик 2. Переносит глюкозы из клетки.

F-1,6-ВР – фруктозо-1,6-бисфосфат

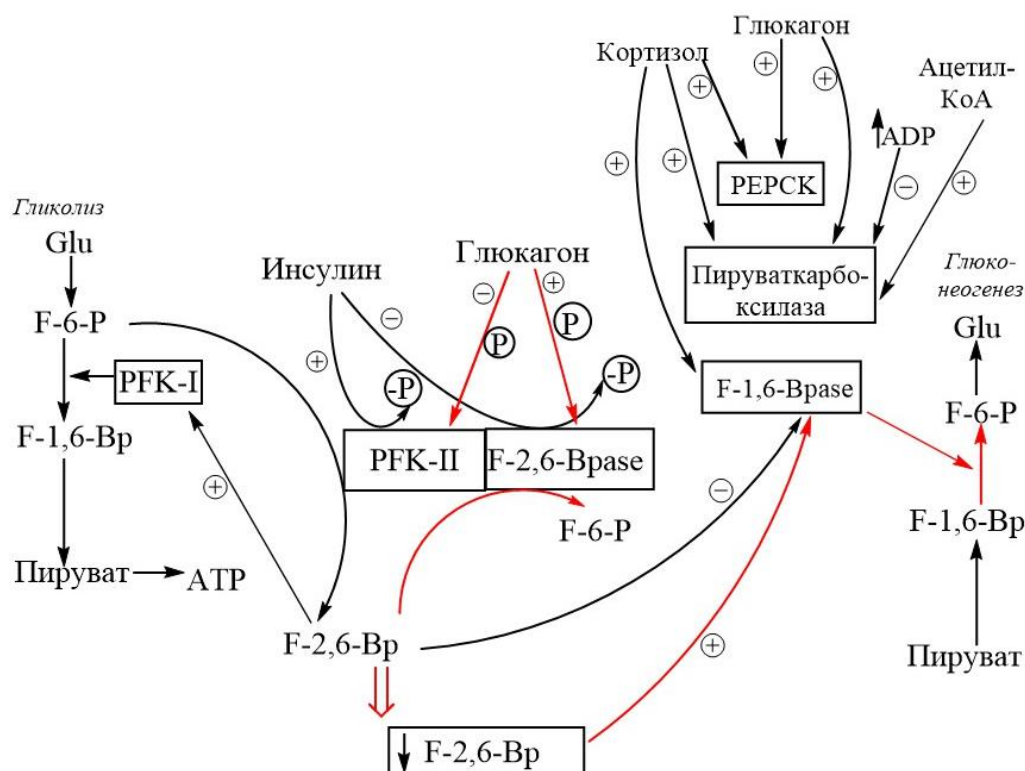
Глюконеогенез – это метаболический процесс, при котором глюкоза синтезируется из неуглеводных предшественников, таких как лактат, триглицериды и белки.

Пируват, являясь конечным продуктом гликолиза, может снова давать Glu по обратному гликолитическому пути с некоторыми нюансами, так как не все реакции обратимые. Так пируват, образованный в гликолизе и получаемый из лактата с помощью фермента ЛДГ транспортируется в мтх, где фермент пируваткарбоксилаза превращает его в ОАА, добавляя молекулы CO₂. ОАА не может напрямую выйти из мтх, поэтому он преобразуется в малат с помощью МДГ и транспортируется в цитоплазму (малат-аспартатный шунт). Там он снова окисляется до ОАА, а затем превращается в РЕР под действием фермента РЕРСК. Далее РЕР превращается до F-1,6-ВР теми же реакциями, что и в гликолизе, но в обратном направлении. Далее F-1,6-ВР преобразуется во F-6-Р с помощью фермента фруктозо-1,6-бисфосфатазы. Далее идет еще одна обратимая реакция гликолиза с получением G-6-Р из F-6-Р. Затем F-6-Р связывается с T₁ и переносится в гладкий ЭПР, где происходит его превращение в Glu ферментом глюкозо-6-фосфатазой. После этого Glu переносчиком T₂ выносится из гЭПР в цитоплазму, а затем через GLUT выходит в кровоток.

Еще одним субстратом для синтеза Glu служат триглицериды. Высвобождающийся при гидролизе триглицеридов в жировой ткани глицерин, фосфорилируется до глицерин-3-фосфата под действием фермента глицерокиназы. Затем он преобразуется в ДНАР (продукт 4 стадии гликолиза), ферментом этой реакции является цитозольная глицеролдегидрогеназа. ДНАР затем конденсируется с GA3P, образуя F-1,6-ВР и далее превращается в глюкозу по описанному выше пути.

Белки также служат субстратом для синтеза глюкозы. Путем протеолиза белков образуются аминокислоты, например, аланин, который преобразуется в пируват или промежуточные продукты цикла Кребса (α -КГ, сукцинил-КоА).

Регуляцию глюконеогенеза



Glu – глюкоза

F-6-P – фруктозо-6-фосфат

F-1,6-Bp – фруктозо-1,6-бисфосфат

F-2,6-Bp – фруктозо-2,6-бисфосфат

F-2,6-Bpase – фруктозо-2,6-бисфосфатаза

F-1,6-Bpase – фруктозо-1,6-бисфосфатаза

F-6-P превращается во фруктозо-1,6-бисфосфат, реакцию катализирует фосфофруктокиназа-I (PFK-I). PFK-I стимулирует F-2,6-Bp, которая синтезируется из F-6-P за счёт фосфофруктокиназы-II (PFK-II). Инсулин стимулирует PFK-II через дефосфорилирование, глюкагон ингибирует PFK-II через фосфорилирование. F-2,6-Bp ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу, которая катализирует превращение F-1,6-Bp в F-6-P в процессе

глюконеогенеза. F-2,6-BP под действием F-2,6-Bpase превращается в F-6-P. Следовательно, уменьшение концентрации F-2,6-BP ведёт к стимуляции F-1,6-Bpase, её стимулирует кортизол. F-2,6-Bpase ингибирует инсулин через дефосфорилирование и стимулирует глюкагон через фосфорилирование.

Регуляция ряда ферментов, которые принимают участие в глюконеогенезе. Фосфоенолпируваткарбоксикиназу (PEPCK) стимулирует кортизол, глюкагон. Пируваткарбоксилазу стимулируют кортизол, глюкагон, ацетил-КоА, а ингибирует высокая концентрация молекул ADP.