

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«КРАСНОЯРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

им. В.П. Астафьева»
(КГПУ им. В.П. Астафьева)

Институт/факультет: Факультет биологии, географии и химии
Выпускающая(ие) кафедра(ы): Кафедра физиологии человека и методики
обучения биологии

Гурков Никита Александрович

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

**Тема: Курс «Сравнительная и эволюционная физиология энергообмена
и терморегуляции» для студентов естественнонаучного профиля
подготовки**

Направление подготовки/специальность: 44.04.01 Педагогическое
образование

Направленность (профиль) образовательной программы:
Теория и методика естественнонаучного образования

ДОПУСКАЮ К ЗАЩИТЕ:

зав. кафедрой
канд. пед. наук, доцент, Горленко Н.М.

« 16 » 05 2019 г.

Руководитель магистерской программы:
д-р. пед. наук, профессор, Смирнова Н.З.

« 16 » 05 2019 г.

Научный руководитель:
канд. био. наук, доцент, Елсукова Е.И.

« 16 » 05 2019 г.

Обучающийся: Гурков Н.А.

« 24 » 06 2019

Красноярск 2019

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
Глава 1. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ КУРСА «СРАВНИТЕЛЬНАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЭНЕРГООБМЕНА И ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ».....	5
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ К КУРСУ «СРАВНИТЕЛЬНАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЭНЕРГООБМЕНА И ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ».....	12
2.1. Тексты лекций.....	12
2.1.1. Общая структура энергообмена животных.....	12
2.1.2. Теплообмен, Температура тела и ее влияние на скорость метаболизма.....	24
2.1.3. Терморегуляция. Терморцепторы.....	28
2.1.4. Центральное звено терморегуляции.....	32
2.1.5. Эффекторы терморегуляции. Специализированные механизмы теплопродукции и теплоотдачи. Температурные адаптации животных. Жизнь при экстремальных температурах. Гетеротермия.....	36
2.1.6. Механизмы термогенеза бурой жировой ткани.....	42
2.1.7. Обзор термогенных жировых тканей свободнообитающих мышевидных грызунов на примере природных популяций Средней Сибири (по результатам собственных исследований).....	47
2.1.8. Современные проблемы сравнительной и эволюционной физиологии энергообмена.....	54
2.2. Фонд оценочных средств.....	58
Глава 3. АПРОБАЦИЯ МАТЕРИАЛОВ КУРСА.....	66
Выводы.....	68
Библиографический список.....	69
Приложение.....	82

ВВЕДЕНИЕ

Непрерывный процесс совершенствования системы образования приводит к тому, что наука занимает все больше места в образовательном процессе. Наряду с курсами базовых дисциплин появились различные вариативные курсы, которые дают возможность остановиться на современных проблемах науки, истории развития ее проблем, ключевых идей, современное состояние исследований. На современном этапе развития постгеномной биологии, наряду с дальнейшим накоплением данных геномных, протеомных, метаболомных исследований все острее стоит проблема их систематизации и обобщения. В связи с этим во всех разделах биологии растет интерес к вопросам эволюции.

В физиологии в последние годы биологи разных профилей проявляют значительный интерес к жировым тканям, который связан с их важной ролью в эволюции гомойотермии, их определяющим влиянием на темпы как раннего, так и позднего онтогенеза. Жизнь современного человека в термонеutralной среде с неограниченным доступом к высокоусвояемым энергоемким пищевым продуктам неизбежно сопровождается, с одной стороны дистрофией термогенной бурой жировой ткани с другой стороны функциональной перегрузкой, компенсаторным ростом, а затем также дистрофическими изменениями основных депо белой жировой ткани. Проявлением этих тенденций является абдоминальное ожирение и связанный с ним метаболический синдром, по сути, представляющий вариант ускоренного метаболического старения. Прослеживание путей становления такого явления, как например, гомойотермия, может дать ответы на многие вопросы, касающиеся проблем современного человека.

Целью квалификационной работы была разработка курса «Сравнительная и эволюционная физиологии энергообмена и терморегуляции» для студентов естественнонаучного профиля подготовки.

Основные задачи включали:

1. На основе анализа литературы о современном состоянии исследований в сравнительной и эволюционной физиологии, в физиологии энергообмена определить тематику курса
2. Разработать необходимые материалы к реализации курса (тексты лекций, оценочные средства)
3. Апробировать несколько занятий в рамках курсов «Физиология человека и животных» и «Избранные главы физиологии» и на основе их анализа подготовить методические рекомендации для студентов.

Глава 1. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ КУРСА «СРАВНИТЕЛЬНАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЭНЕРГООБМЕНА И ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ»

Курс лекций разработан для студентов естественнонаучных специальностей, прослушавших курсы общей физики, биохимии и физиологии человека и животных. Прогресс молекулярной биологии, сопровождающийся появлением и расширением баз данных аннотированных последовательностей ДНК, РНК и кодируемых ими белков, обострил проблему недостатка системных подходов в современной биологии и биологическом образовании. Одним из основополагающих принципов системной биологии является принцип эволюции функций. На основе современных научных данных предлагаемый курс демонстрирует механизмы совершенствования температурного гомеостатирования, повышения эффективности терморегуляции, общей интенсификации метаболизма и повышения уровня организации. Таким образом, предлагаемый курс носит интегративный характер, существенно углубляет знания, полученные в общей физиологии, в зоологии, способствует развитию системного мышления.

Материалы курса могут быть также использованы для углубленного изучения биологии старшеклассниками. относится к вариативной части образовательной программы (курс по выбору).

Целью освоения дисциплины является совершенствование предметных компетенций по ряду разделов физиологии человека и высших животных (энергообмен).

Программа курса включает 9 разделов. Первый раздел знакомит студентов с общими положениями биотермодинамики и физиологии энергообмена. Обсуждение основ термодинамики облегчает понимание путей и механизмов трансформации энергии в живых клетках, вооружает знаниями об использовании термодинамических функций для оценки направления биохимического процесса, о простых термодинамических расчетах с

использованием стандартной свободной энергии в биоэнергетике. При рассмотрении общих положений физиологии энергообмена большее внимание уделяется молекулярно-клеточному уровню. Даже если студенты уже прослушали общие курсы биохимии, физиологии изучение механизмов окислительного фосфорилирования в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) является фундаментом для объяснения в дальнейшем высокой облигатной теплопродукции гомойотермов, для понимания механизмов факультативного термогенеза в бурой жировой ткани млекопитающих. Полезно проследить цепь превращений энергии от энергии химических связей окисляемых субстратов до энергии электрохимического потенциала протонов водорода на внутренней мембране митохондрии. В системе формируемых понятий центральная роль в сравнительной физиологии отводится понятиям: КПД превращений энергии при синтезе и гидролизе макроэргической связи, дыхательный контроль, разобщение окислительного фосфорилирования и дыхания как механизм снятия дыхательного контроля. После формулирования этих понятий целесообразно классифицировать позвоночных животных по величине КПД и скорости метаболических процессов, вводя понятие тахиметаболизм, на гомойотермных и пойкилотермных. Рекомендуется кратко ознакомить студентов с имеющимися гипотезами о возможной локализации у гомойотермных организмов процессов с низким КПД. Одновременно с классификацией по температуре тела на гомойотермов и пойкилотермов целесообразно представить классификацию животных по источнику тепла для метаболических процессов, т. е. выделить групп экзотермов, эндотермов и гетеротермов. Материал первой темы легко разбивается на 3 занятия.

Для понимания эволюционного значения появления эндотермии и гомойотермии во втором разделе после рассмотрения общих закономерностей процесса теплообмена в организме животных обсуждается влияние температуры тела на скорость метаболических процессов. Ускорение метаболических процессов на уровне целого организма неизбежно сопровождается ускорением и

совершенствованием всех функциональных систем, прогрессивным развитием. Температурный гомеостаз призван стабилизировать достигнутые благодаря эндотермии преимущества гомойотермных организмов при температурах среды, выходящих за границы термонеutralной зоны. Соответственно ключевым понятием наряду с температурным гомеостазом будет понятие «термонеutralной зоны или зоны температурного комфорта». Достижение температурного гомеостаза у высших эндотермов обеспечивается совершенной системой терморегуляции.

Третий раздел содержит в себе детальное описание системы терморегуляции на примере млекопитающих. Сначала система терморегуляции рассматривается в общем виде, затем последовательно рассматриваются виды и особенности функционирования терморцепторов. Большой анатомический материал при обсуждении центрального звена терморегуляции послужил причиной выделения материалов по этому вопросу в отдельную четвертый раздел. Сначала описывается концепция установочной точки, возможные механизмы ее реализации на нейронах преоптической зоны гипоталамуса, далее рассматриваются центры управления эффекторами, причем большее внимание уделяется центрам теплопродукции, поскольку они были детально исследованы в последние годы с помощью нейротропных вирусов. Пятый раздел посвящен специализированным термоэффекторам, к которым мы относим специализированные органы факультативного термогенеза и испарительной теплоотдачи. Как показали последние исследования, стабилизация температурных параметров организма — задача, которая была поставлена природой еще до развития эндотермии. Соответственно механизмы факультативной теплопродукции появились задолго до млекопитающих. В этом разделе обзор механизмов факультативной теплопродукции начинается с рассмотрения специализированного аппарата теплопродукции на основе регулируемой утечки ионов Ca из саркоплазматического ретикулума у тунцовых рыб, обсуждаются его значение для обогрева мозга у этих скоростных и

ныряющих рыб, а также риски, связанные с функционированием этого Са-зависимого аппарата. Нагреватель мозга тунцовых — пример механизма, рассеивающего энергию АТФ. Пример механизма, рассеивающего энергию протонного градиента на внутренней мембране митохондрий — регулируемое разобщение в митохондриях бурой жировой ткани. Обсуждаются преимущества этого механизма по сравнению с механизмом АТФ-гидролитической нагрузки.

В 6 разделе вводится понятие температурных адаптаций, рассматриваются общие представления о механизмах роста функциональных резервов терморегуляторной системы, основанных на регуляции экспрессии генов, кратко обсуждается значение мехового покрова у млекопитающих в защите от экстремально низких температур, сущность и причины такого явления как гетеротермия.

Важная роль бурой жировой ткани в эволюции класса млекопитающих побудила подробнее рассмотреть в 7 разделе современные данные об эволюционном появлении ключевого элемента термогенного механизма — разобщающего белка 1 (Uncoupling protein 1 - UCP1). Рассмотрены классы позвоночных животных, у которых обнаружен ген-ортолог UCP1. Обсуждаются известные данные о различиях в регуляции экспрессии этого гена у рыб, у сумчатых и у плацентарных млекопитающих. Подробно для плацентарных млекопитающих разбираются механизмы регуляции термогенеза через симпатическую иннервацию, сигнальные пути в буром адипоците, ведущие к термогенезу.

Обзор анатомической локализации основных скоплений бурой жировой ткани, ее морфологии, интегральных показателей термогенного потенциала рассматривается в 8 разделе на примере мышей и полевок, причем привлечены результаты собственных исследований.

Последний 9 раздел посвящен современным проблемам сравнительной и эволюционной физиологии энергообмена.

Для повышения эффективности усвоения материала разработаны оценочные средства, представленные тестами, ситуативными и расчетными задачами, заданиями по схемам и рисункам. Количество заданий по разделам варьирует. Наибольшее число заданий относятся к первому разделу, что можно объяснить тем, что от усвоения этих основополагающих общих закономерностей превращения энергии в организме зависит понимание материала в других разделах.

Тематический план учебных занятий

Наименование разделов и тем	Аудиторных часов			Формы и методы контроля
	Всего	Лекции или семинары	Лабораторные работы	
Общая структура энергообмена животных	2	2		Решение задач с расчетами стандартной свободной энергии биохимических реакций и метаболических путей
Теплообмен, Температура тела и ее влияние на скорость метаболизма	4	2	2	Проверка в тетради схем субстратного и окислительного фосфорилирования, Решение тестов и задач. Защита лабораторной работы «Интенсивность тканевого энергообмена у прудовой лягушки и лабораторной мыши»
Терморегуляция.	2	2		Проверка схем «Теплообмен»,

Терморцепторы				«Влияние температуры на скорость ферментативной реакции»
Центральное звено терморегуляции	6	6		Проверка схемы «Функциональная система терморегуляции) и заданий по ней
Эффекторы терморегуляции. Специализированные механизмы теплопродукции и теплоотдачи	2	2		Проверка схем «Са-зависимый термогенез у тунцовых рыб», «Термогенез, основанный на разобщении окислительного фосфорилирования и дыхания»
Температурные адаптации животных. Жизнь при экстремальных температурах. Гетеротермия	2	2		Проверка схем «Термогенные жировые ткани млекопитающих», «Сигнальные пути активации термогенеза в буром адипоците»,
Механизмы термогенеза бурой жировой ткани	4	2	2	Защита лабораторной работы «Влияние холодовой адаптации на массу и морфологию бурой жировой ткани лабораторных мышей»
Современные проблемы сравнительной и эволюционной	2	2		

физиологии энергообмена				
ИТОГО	24	20	4	

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ К КУРСУ «СРАВНИТЕЛЬНАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЭНЕРГООБМЕНА И ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ»

2.1. Тексты лекций

2.1.1. Общая структура энергообмена животных

Законы термодинамики в живых системах

Состояние живых систем в любой момент времени (динамическое состояние) характерно тем, что элементы системы постоянно разрушаются и строятся заново. Этот процесс носит название биологического обновления. Для обновления элементов в живых системах требуется постоянный приток извне веществ и энергии, а также вывод во внешнюю среду тепла и продуктов распада. Это означает, что живые системы обязательно должны быть открытыми системами. Благодаря этому в них создается и поддерживается химическое и физическое неравновесие. Именно на этом неравновесии основана работоспособность живой системы, направленная на поддержание высокой упорядоченности своей структуры (а значит, на сохранение жизни) и осуществление различных жизненных функций. Кроме того, живая система, благодаря свойству открытости, достигает стационарности, т.е. постоянства своего неравновесного состояния.

В изолированной системе (такая система не обменивается с внешней средой веществом и энергией), находящейся в неравновесном состоянии происходят необратимые процессы, которые стремятся привести систему в равновесное состояние. Переход живой системы в такое состояние означает для нее смерть.

Таким образом, открытость – одно из важнейших свойств живых систем.

Поэтому весьма важным является вопрос о применимости законов термодинамики к живым системам.

I закон (начало) термодинамики. Первый закон термодинамики гласит: изменение энергии системы равно количеству тепла, полученному системой, плюс работа внешних сил, совершенная над системой

$$dE = Q + A$$

Для адиабатически изолированных ($Q = 0$, то есть обмена теплом с внешней средой не происходит) и замкнутых ($A = 0$, то есть внешние силы отсутствуют) систем $dE = 0$. Последнее утверждение является законом сохранения энергии: при всех изменениях, происходящих в адиабатически изолированных и замкнутых системах, полная энергия системы остается постоянной.

Если рассматривать термодинамическую систему, состоящую только из живой системы, то закон сохранения энергии неприменим, так как живая система является открытой. *Для термодинамической системы, включающей в себя живую систему и среду, с которой система обменивается энергией и веществом, закон сохранения энергии выполняется.*

Действительно, как показали опыты, общее количество энергии, которое получает организм за некоторый промежуток времени, вновь обнаруживается впоследствии в виде:

а) выделяемого тепла; б) в совершаемой внешней работе или выделяемых веществах; в) в виде теплоты сгорания веществ, синтезированных за этот промежуток времени за счет энергии, поступившей извне.

II закон термодинамики.

Второй закон термодинамики может быть сформулирован следующим образом: любой самопроизвольно протекающий процесс, а также и химическая реакция, идет в том направлении, которое сопровождается уменьшением свободной энергии в системе (при постоянных температуре и давлении).

Свободная энергия Гиббса (G)— это величина, изменение которой в ходе химической реакции равно изменению внутренней энергии системы. Энергия Гиббса показывает, какая часть от полной внутренней энергии системы может

быть использована для химических превращений или получена в их результате в заданных условиях и позволяет установить принципиальную возможность протекания химической реакции в заданных условиях.

Энергию Гиббса можно понимать как полную потенциальную химическую энергию системы (кристалла, жидкости и т. д.)

Классическим определением энергии Гиббса является выражение:

$$G = U + PV - TS$$

где U — внутренняя энергия, P — давление, V — объём, T — абсолютная температура, S — энтропия.

В изолированной термодинамической системе энтропия никогда не может уменьшаться. Она равна нулю при обратимых процессах и может только увеличиваться при необратимых процессах, то есть $dS \geq 0$. Переход системы из неравновесного состояния в равновесное необратим, поэтому также $dS \geq 0$.

Здесь есть также определенная связь с упорядоченностью системы, а также с информацией (большая упорядоченность соответствует большому количеству информации). Можно говорить при этом о *единстве природы информации и энтропии*. Действительно, увеличение энтропии соответствует переходу системы из более упорядоченного в менее упорядоченное состояние. Такой переход сопровождается уменьшением информации, содержащейся в структуре системы. Беспорядок, неопределенность можно трактовать как недостаток информации. В свою очередь возрастание количества информации уменьшает неопределенность.

Вспомним физический смысл энтропии. Все процессы, самопроизвольно протекающие в природе, необратимы и способствуют переходу системы в равновесное состояние, которое всегда характеризуется тем, что:

а) в процессе этого перехода всегда безвозвратно выделяется некоторая энергия и для совершения полезной работы она использована быть не может;

б) равновесном состоянии элементы системы характеризуются наименьшей упорядоченностью.

Отсюда следует, что энтропия является как мерой рассеяния энергии, так и мерой неупорядоченности системы.

В течение времени жизни живой системы ее элементы постоянно подвергаются распаду. Энтропия этих процессов положительна (возникает неупорядоченность).

Для компенсации распада (компенсации неупорядоченности) должна совершаться внутренняя работа в форме процессов синтеза элементов взамен распавшихся. А это означает, что эта внутренняя работа является процессом с отрицательной энтропией (такие процессы называют негэнтропийными, а отрицательную энтропию – негэнтропией).

Негэнтропийный процесс противодействует увеличению энтропии системы, которое связано с процессом распада и создает упорядоченность.

Источником энергии для совершения негэнтропийной внутренней работы являются:

Для организмов – гетеротрофов (питающихся только органической пищей) – энергия в виде химических связей и низкая энтропия поглощаемых высокоструктурированных органических веществ. В этом случае поглощаемые пищевые вещества обладают больше упорядоченностью (меньшей энтропией), чем выделяемые продукты обмена. Организмы гетеротрофы переносят упорядоченность (негэнтропию) из питательных веществ в самих себя.

Для организмов – автотрофов (самостоятельно синтезирующих для себя питательные вещества из неорганических соединений с участием солнечного излучения) – энергия солнечного света, представляющего электромагнитное излучение с низкой энтропией.

Таким образом, обмен веществ с точки зрения термодинамики необходим для противодействия увеличению энтропии, обусловленному необратимыми процессами в живой системе.

Если рассматривать систему «живой организм плюс среда», из которой берутся питательные вещества и в которую отдаются продукты обмена, то второй закон термодинамики справедлив: энтропия этой системы возрастает и никогда не уменьшается. Это означает, что живая система создает внутри себя упорядоченность за счет того, что она уменьшает упорядоченность в окружающей среде.

Таким образом, с позиций термодинамики можно утверждать, что живым системам присущи процессы, уменьшающие энтропию систем и, следовательно, поддерживающие их организованность.

Этапы энергообмена в клетке

Энергетический обмен (катаболизм, диссимиляция) — совокупность реакций расщепления органических веществ, сопровождающихся выделением энергии (рис.1). Энергия, освобождающаяся при распаде органических веществ, не сразу используется клеткой, а преобразуется в энергию макроэргической связи АТФ и других высокоэнергетических соединений. АТФ — универсальный источник энергообеспечения клетки. Синтез АТФ происходит в клетках всех организмов в процессе фосфорилирования — присоединения неорганического фосфата к АДФ.

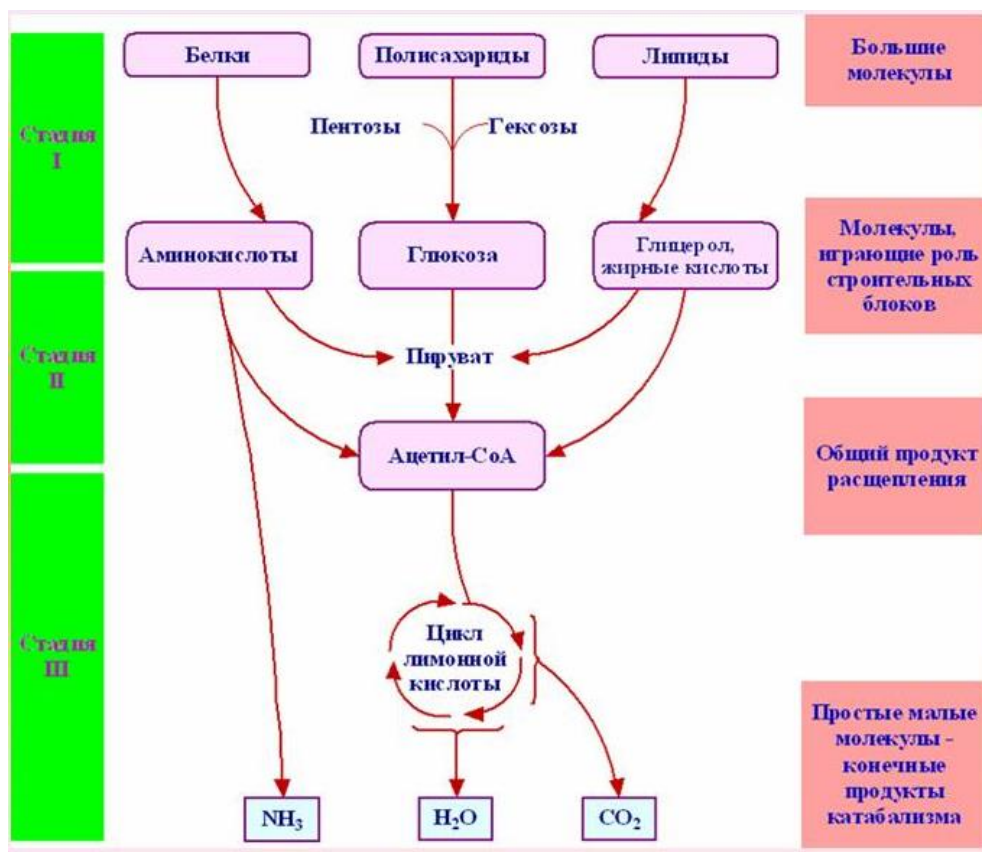


Рис.1. Общая схема катаболизма и анаболизма.

У аэробных организмов (живущих в кислородной среде) выделяют три этапа энергетического обмена: подготовительный, бескислородное окисление и кислородное окисление; у анаэробных организмов (живущих в бескислородной среде) и аэробных при недостатке кислорода — два этапа: подготовительный, бескислородное окисление.

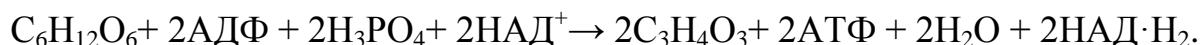
Подготовительный этап заключается в ферментативном расщеплении сложных органических веществ до простых: белковые молекулы — до аминокислот, жиры — до глицерина и карбоновых кислот, углеводы — до глюкозы, нуклеиновые кислоты — до нуклеотидов. Распад высокомолекулярных органических соединений осуществляется или ферментами желудочно-кишечного тракта или ферментами лизосом. Часть высвобождающейся при этом энергии рассеивается в виде тепла. Образовавшиеся небольшие органические молекулы могут быть использованы в качестве «строительного материала» или могут подвергаться дальнейшему окислительному расщеплению.

Этап бескислородного окисления, или гликолиз заключается в дальнейшем расщеплении органических веществ, образовавшихся во время подготовительного этапа, происходит в цитоплазме клетки и в присутствии кислорода не нуждается.

В большинстве клеток главным источником энергии является глюкоза. Процесс бескислородного неполного расщепления глюкозы — гликолиз.

Напомним, что потеря электронов называется окислением, приобретение — восстановлением, при этом донор электронов окисляется, акцептор восстанавливается.

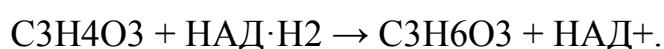
Гликолиз — сложный многоступенчатый процесс, включающий в себя десять реакций. Во время этого процесса происходит дегидрирование глюкозы, акцептором гидрид-иона служит кофермент НАД⁺ (никотинамидадениндинуклеотид). Глюкоза в результате цепочки ферментативных реакций превращается в две молекулы пировиноградной кислоты (ПВК), при этом суммарно образуются 2 молекулы АТФ и восстановленная форма НАД·Н₂:



Дальнейшая судьба ПВК зависит от присутствия кислорода в клетке. Если кислорода нет, у дрожжей и растений происходит спиртовое брожение, при котором сначала происходит образование уксусного альдегида, а затем этилового спирта:

1. $C_3H_4O_3 \rightarrow CO_2 + CH_3COH,$
2. $CH_3COH + НАД \cdot Н_2 \rightarrow C_2H_5OH + НАД^+.$

У животных и некоторых бактерий при недостатке кислорода происходит молочнокислое брожение с образованием молочной кислоты:



В результате гликолиза одной молекулы глюкозы высвобождается 200 кДж, из которых 120 кДж рассеивается в виде тепла, а около 30% запасается в связях АТФ.

Кислородное окисление, или дыхание заключается в полном окислении пировиноградной кислоты, происходит в митохондриях и при обязательном присутствии кислорода.

Механизмы окислительного фосфорилирования

Пировиноградная кислота транспортируется в митохондрии. Здесь происходит окислительное дегидрирование и декарбоксилирование ПВК с образованием двухуглеродной ацетильной группы, которая вступает в цикл реакций, получивших название реакций цикла Кребса. Идет дальнейшее окисление, связанное с дегидрированием и декарбоксилированием. В результате на каждую окисленную молекулу ПВК из митохондрии удаляется три молекулы CO_2 , образуется 5 гидрид-ионов, связанных с переносчиками ($4\text{НАД}\cdot\text{H}_2$, $\text{ФАД}\cdot\text{H}_2$), а также одна молекула АТФ (рис.2.)

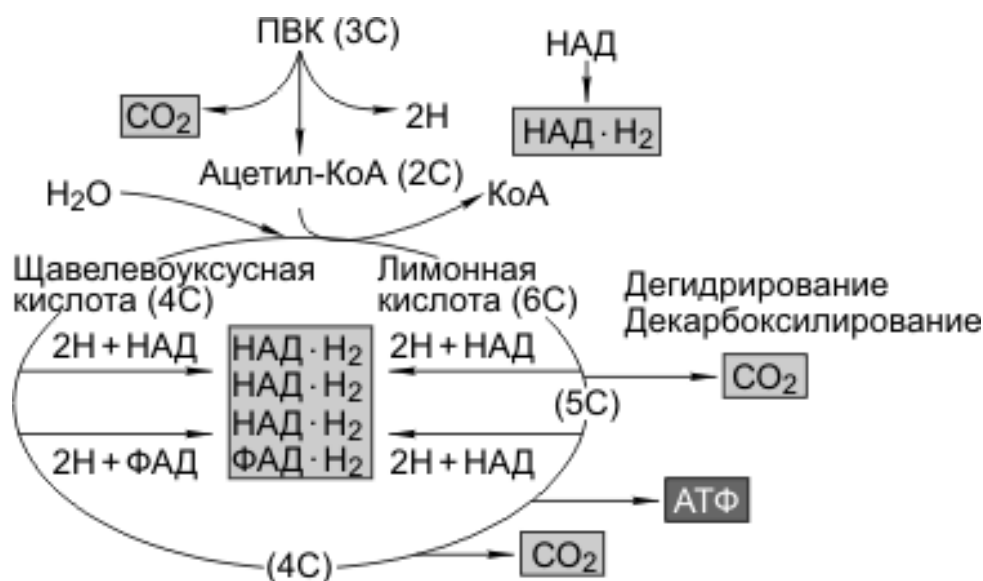


Рис.2. Общая структура энергообмена

Суммарная реакция гликолиза и окисления ПВК в митохондриях выглядит следующим образом:



Две молекулы АТФ образуются в результате гликолиза, две — в цикле Кребса; две пары атомов водорода образовались в результате гликолиза, десять пар — в цикле Кребса.

Последним этапом является окисление гидрид ионов с участием кислорода до воды с одновременным фосфорилированием АДФ до АТФ. Электроны передаются трем дыхательным комплексам. Каждый представляет сложную надмолекулярную структуру, в транспорте электронов участвуют железосерные белки, цитохромы, флавопротеины. Транспорт электронов между первым и третьим и вторым и третьим комплексом обеспечивается низкомолекулярным органическим коэнзимом Q или убихиноном. Конечным акцептором электронов является кислород.

В составе дыхательных комплексов функционируют протонные насосы. Энергия, освобождаемая при переносе электронов на комплекс с более положительным значением электрохимического потенциала, используется протонными насосами, выкачивающими протоны из матрикса в межмембранное пространство митохондрий, в «протонный резервуар». Внутренняя мембрана непроницаема для протонов водорода, с одной стороны она заряжается отрицательно, с другой — положительно (за счет H^+). Когда разность потенциалов на внутренней мембране достигает 200 мВ, протоны проходят через канал фермента АТФ-синтетазы, энергия их тока преобразуется в активном центре фермента в энергию макроэргической связи АТФ, а цитохромоксидаза катализирует восстановление кислорода до воды. Так в результате окисления двенадцати пар атомов водорода образуется 34 молекулы АТФ (рис.3).

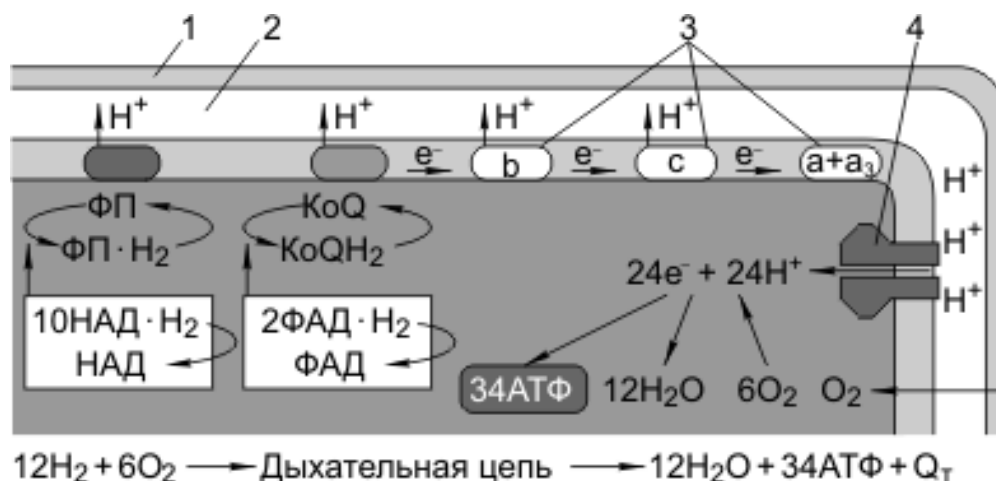


Рис.3. Проницаемость мембраны. 1— наружная мембрана; 2— межмембранное пространство, протонный резервуар; 3— цитохромы; 4— АТФ-синтетаза.

В цепи переносчиков электронов на пути от НАД·Н к кислороду существует три точки, в которых энергия, освобождающаяся в процессе окисления — восстановления, трансформируется в энергию фосфатной связи.

Для термодинамического анализа этого процесса суммарное уравнение можно разделить на экзергонический компонент:



и эндергонический компонент:



Очевидно, что при фосфорилировании, сопряженном с окислением в ЭТЦ, в результате которого образуется три молекулы АТФ, запасается $21,9/52,7 \cdot 100$, т. е. около 40% всей энергии, освобождающейся в процессе переноса электронов от НАД·Н к кислороду в стандартных условиях после достижения равновесия [22,68]. Около 60% энергии теряется в виде тепла.

АТФ является носителем свободной энергии для многочисленных биохимических реакций. Являясь носителем двух высокоэнергетических связей, АТФ служит непосредственным источником энергии для множества энергозатратных биохимических и физиологических процессов. Всё это реакции синтеза сложных веществ в организме: осуществление активного переноса

молекул через биологические мембраны, в том числе и для создания трансмембранного электрического потенциала; осуществления разных видов локомоций. *КПД гидролиза как и КПД синтеза АТФ* составляет около 40%. Суммарный выход тепла в результате метаболических процессов называется *облигатной теплопродукцией*, а само тепло — метаболическим теплом.

Скорость синтеза АТФ и скорость всего окислительного катаболизма определяется потребностью клетки в АТФ, это называется *дыхательным контролем*. Механизмы дыхательного контроля связаны с аллостерическими эффектами АТФ на ключевые ферменты окислительного катаболизма, с тормозящим эффектом высоких значений электрического потенциала на внутренней мембране на транспорт электронов [23,54].

При вызванной теми или иными причинами повышении проницаемости внутренних митохондриальных мембран для H^+ окисление НАД· H_2 продолжается, но H^+ идут в обход АТФ-синтетазы, поэтому образования АТФ в дыхательной цепи не происходит, снимается дыхательный контроль, ускоряются скорости катаболических путей, и энергия рассеивается в форме тепла (разобщение окислительного фосфорилирования и дыхания). Таким образом, распределение энергии электрохимического потенциала протонов водорода в тепловую энергию и энергию макроэргической связи определяется величиной КПД. В нормальных интактных митохондриях транспортные механизмы для многих ионов и метаболитов, например, для жирных кислот, АТФ/АДФ антипорта через внутреннюю мембрану работают на энергии электрохимического потенциала протонов H .

По скорости метаболизма, КПД и облигатной теплопродукции всех позвоночных животных можно разделить на две большие группы. К первой группе относятся моллюски, рыбы, насекомые, паукообразные, земноводные, пресмыкающиеся. Их клетки характеризуются высокими значениями КПД превращений энергии и относительно низкой облигатной теплопродукцией. Ко второй группе относятся классы млекопитающих и птиц со сниженным КПД,

высокими скоростями окислительного метаболизма и высоким облигатным теплообразованием значительный в 3-10 раз прирост интенсивности энергообмена у гомойотермных организмов называют тахиметаболизмом. Обсуждается возможная связь тахиметаболизма с недостаточно эффективной работой ионных насосов на плазматической мембране [75], с утечкой протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану [77].

2.1.2. Теплообмен, Температура тела и ее влияние на скорость метаболизма

Тепловой баланс.

Содержание тепла во внутренней среде (теплосодержание) зависит как от продукции тепла, так и от процессов теплообмена. Проведение тепла представляет собой передачу тепла от одного объекта к другому вследствие прямого молекулярного контакта. Например, тепло, образующееся в глубине тела, может передаваться через соседние ткани до тех пор, пока не достигнет поверхности тела. Затем оно может передаваться окружающему воздуху. Если же температура воздуха выше, чем температура поверхности кожи, тепло воздуха передаётся поверхности кожи, повышая её температуру.

Конвекция - передача тепла через движущийся поток воздуха или жидкости. Воздух вокруг нас находится в постоянном движении. Циркулируя вокруг нашего тела, касаясь поверхности кожи, воздух уносит молекулы, получившие тепло в результате контакта с кожей. Чем сильнее движение воздуха, тем выше интенсивность теплоотдачи вследствие конвекции. В сочетании с проведением конвекция также может обеспечить повышение температуры тела при нахождении в окружающей среде с высокой температурой воздуха.

В состоянии покоя радиация - основной процесс передачи тела избыточного количества тепла. При нормальной комнатной температуре тело обнаженного человека передаёт около 60% «лишнего» тепла посредством радиации. Тепло передаётся в форме инфракрасных лучей. Количественной мерой теплосодержания является температура тела.

Влияние температуры на метаболизм

Как известно, скорость химических реакций зависит от тепловой энергии [34,51]. С увеличением температуры в диапазоне от 0° до 42°С скорость ферментативных реакций увеличивается. Эта зависимость описывается уравнением Аррениуса, а в менее строгой форме коэффициентом Вант-Гоффа.

При повышении температуры на каждые 10 градусов константа скорости ферментативной реакции увеличивается в два раза. Соответственно увеличиваются скорости физиологических процессов, в частности, скорость проведения возбуждения, мышечного сокращения, дыхания, окисления и т. д.

Тахиметаболизм. Гомойотермы и пойкилотермы

По способности поддерживать постоянную высокую температуру тела в широком диапазоне температур окружающей среды существующие животные разделяют на две группы пойкилотермов и гомойотермов. Пойкилотермы не обладают такой способностью в отличие от гомойотермов. К гомойотермам относят млекопитающих и птиц. Второе принципиальное различие между гомойотермами и пойкилотермами - скорость метаболизма. Значительный в 3-10 раз прирост интенсивности энергообмена у гомойотермных организмов называют тахиметаболизмом. Природа тахиметаболизма не вполне ясна, понятно, что она обусловлена низким КПД энергетических процессов в клетках гомойотермов. Обсуждается возможная связь тахиметаболизма с недостаточно эффективной работой ионных насосов на плазматической мембране [75], с утечкой протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану [77].

Значительная интенсификация метаболизма могла бы стать «полезной» только при условии совершенствования механизмов депонирования энергии. Действительно, масса жировых депо у гомойотермных организмов увеличена примерно на порядок по сравнению с рептилиями и амфибиями [88, 101], жировые депо дифференцировались на легко мобилизуемые (висцеральные) и предназначенные для более длительного энергозапасания (подкожное депо).

Гомойотермов часто называют эндотермами, подчеркивая, что высокая температура тела является результатом продукции собственного тепла их клетками [92,93]. Соответственно пойкилотермы используют в большей степени внешние источники тепла, например, солнечный свет, нагретый субстрат и др., поэтому относятся к эктотермам [67]. Эта внешняя тепловая зависимость позволяет им использовать поведенческую терморегуляцию путем:

1) перемещения между областями с более низкими и более высокими температурами 2) изменения положения тела для регулирования теплообмена через проводимость и излучение [54,62]. Например, древесные черепахи (*glyptemys insculpta*) ежедневно приходят на лесные поляны, чтобы погреться и поднять температуру тела, но возвращаются к водоемам ночью, потому что температура воды не падает так сильно, как температура воздуха [29,36]. Поведенческая терморегуляция в пойкилотермах может привести к устойчивым средним температурам тела, которые являются оптимальными для решающих метаболических действий, таких как кормление и передвижение [93, 102].

Меланистический полиморфизм среди родственных видов ящериц может быть связан с терморегуляцией. У кордилидных (*Cordylus*) ящериц меланистические виды разогреваются быстрее, чем у более светлых видов с более высоким тепловым отражением [82]. Это удержание тепла помогает этим ящерицам оставаться активными в холодных условиях. Другие виды ящериц, такие как *Amphibolurus decresii* и *Anolis carolinensis*, показывают лабильную окраску тела, но выбор цвета не связан с тепловым состоянием, вместо этого, он используется в социальных или камуфляжных целях [33,55]. Следует, однако отметить, что при определенных условиях пойкилотермы могут локально интенсифицировать энергообмен для подогрева, например, нервных центров [47,48].

Тахиметаболизм гомойотермов уравнивает теплопотери в диапазоне температур ниже, чем у пойкилотермов. Этот диапазон температур назван **термонеutralной зоной или зоной температурного комфорта**. При опускании температуры среды ниже границы термонеutralной зоны метаболического теплообразования недостаточно, возникает угроза гипотермии, соответственно при превышении верхней границы термонеutralной зоны возникает угроза гипертермии. Гомойотермы как и пойкилотермы используют поведенческую терморегуляцию (т. е. выбор среды обитания) для регулировки температуры тела [48, 51], но это не главный способ поддержания

температурного гомеостаза. Вторая составляющая гомойотермии — совершенная система терморегуляции, включающая как механизмы увеличения теплопродукции (химическая терморегуляция), так и механизмы регуляции теплопотерь.

Однако всякий раз, когда животное использует терморегуляцию для предотвращения перегрева или переохлаждения, скорость метаболизма увеличивается. Это увеличение скорости метаболизма ограничивает пределы допустимых температур за пределами термонеutralной зоны, особенно верхний температурный предел. В общем, гомойотермы используют поведенческие средства для поддержания себя в термонеutralной зоне (рис.4).

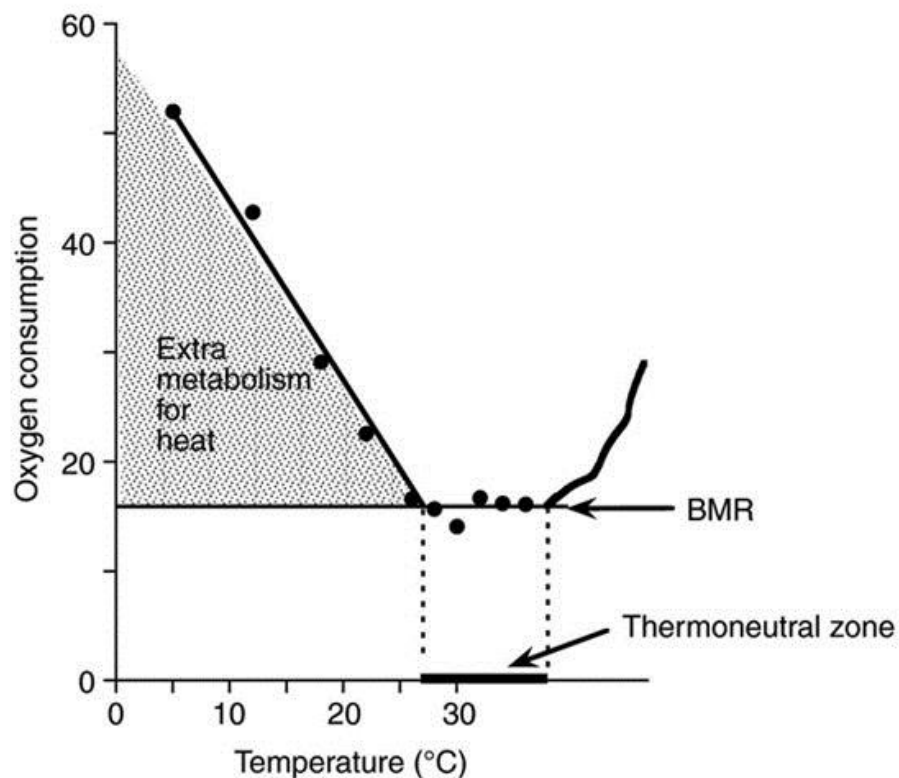


Рис.4. Влияние изменения температуры окружающей среды на скорость метаболизма у мышей выше и ниже термонеutralной зоны. Cannon & Nedergaard (2011).

2.1.3. Терморегуляция

Терморегуляция направлена на поддержание температуры тела с небольшими колебаниями независимо от температуры окружающей среды. Считалось, что это одна из молодых вегетативных функций живых организмов, она имеется только у животных с развитым головным мозгом, так как именно для мозга с его высокими скоростями метаболизма и центральной ролью в поддержании гомеостаза важна стабилизация температуры. В последние годы у разных групп пойкилотермов обнаружены разнообразные терморегуляторные реакции, однако их мощности недостаточны для постоянного контроля за температурой тела и ее коррекцией.

Система терморегуляции у млекопитающих как и любая другая функциональная система включает: терморорецепторы, центральное звено и термоэффекторы.

Терморорецепция

Различают холодовые и тепловые терморорецепторы, которые в свою очередь подразделяются на экстеро-, интеро-, и центральные терморорецепторы. Экстеротерморорецепторы расположены на различных участках кожи. Интеротерморорецепторы расположены во внутренних органах: желудке, кишечнике, матке, мочевом пузыре, а также в дыхательных путях, слизистых оболочках, роговице глаза, скелетных мышцах, кровеносных сосудах и др. Центральные терморорецепторы находятся в ЦНС: в коре больших полушарий, переднем гипоталамусе (преоптическая зона), среднем мозге, ретикулярной формации и спинном мозге. Среди периферических терморорецепторов преобладают холодовые, а среди центральных преобладают тепловые терморорецепторы.

В настоящее время установлено, что некоторые механорецепторы (медленно адаптирующиеся механорецепторы кожи, проприорецепторы, ампулы Лоренцини и др.) в ответ на быстрое охлаждение реагируют коротким залпом и импульсной активностью, подобно специфическим холодовым рецепторам.

Термическими сигналами для возбуждения терморцепторов могут быть изменения конформации белков и фазовых свойств липидов, что приводит к изменению проницаемости мембран нервных терминалей и возникновению рецепторного потенциала.

Терморцепторы в функциональном отношении отличны от всех остальных рецепторов. У любого рецептора можно определить абсолютный порог возбуждения, в то время как у терморцепторов этого сделать невозможно. Поэтому при определении максимальной температуры раздражителя говорят о порогах различения, но не об абсолютных порогах чувствительности. Важнейшим свойством терморцепторов является их зависимость их ответной реакции от градиента температуры: быстрое охлаждение холодных рецепторов приводит к учащению импульсов, а быстрое нагревание – к урежению.

Больше всего холодных терморцепторов на коже шеи и лица. В среднем на 1 мм^2 поверхности кожи приходится 1 терморцептор. Всего их около 250 тысяч. Холодовые рецепторы располагаются на глубине 0,17 мм от поверхности кожи. Среди холодных имеются различные по чувствительности популяции рецепторов: одни реагирует на изменение температуры, равное $0,1^\circ\text{C}$ (высокочувствительные рецепторы), другие – на изменение температуры, равное 1°C (рецепторы средней чувствительности), третьи – на изменение в 10°C (высокопороговые, или рецепторы низкой чувствительности). Аfferентные импульсы, идущие от периферических терморцепторов составляют 2-5 Гц (для холодных рецепторов при температуре $15-34^\circ\text{C}$), что определяет тоническую активность этих рецепторов. От периферических терморцепторов сигналы по спиноталамическому тракту поступают в центры терморегуляции гипоталамуса (вентробазальные ядра).

Функциональная мобильность терморцепторов.

Особенностью экстерорецепторов является не только неравномерность их распределения в коже, но и непостоянство места нахождения и

чувствительности. Под функциональной мобильностью рецепторов понимается способность изменять количество функционирующих рецепторов в ответ на качественные и количественные колебания раздражений. Это один из механизмов адаптации организма к окружающей среде. Кратковременное охлаждение или согревание кожи первоначально вызывает дезорганизацию рецепторной функции и выключение большинства рецепторов. В дальнейшем за счёт изменения кровоснабжения и выравнивания температуры кожи функция терморепрепторов восстанавливается. В норме при регистрации потенциалов действия от афферентного волокна терморепрептора наблюдается постоянная частота импульсации, которая зависит от качества раздражителя. При изменении температуры раздражителя частота импульсации резко возрастает и устанавливается через некоторое время на новом уровне пропорционально силе раздражителя.

Центральная терморепрепция.

Центральные терморепрепторы представлены специфическими термочувствительными афферентными нейронами. С одной стороны, к ним приходят сигналы от терморепрепторов кожи, сосудов, внутренних органов и различных отделов ЦНС, а с другой стороны, они изменяют свою возбудимость при изменении температуры крови и при непосредственном их термораздражении. Сдвиги температуры гипоталамуса на 0,2-0,5°С приводят к изменению частоты импульсации этих нейронов. Таким образом, гипоталамус является интегрирующим центром в функциональной системе терморегуляции, а нейроны, осуществляющие эту функцию, называются «интегрирующими» или «суммирующими».

Доказательством наличия терморепрепторов в гипоталамусе является его местное нагревание или охлаждение: нагревание передней области гипоталамуса приводит к учащению дыхания и усиленному выделению пота, а охлаждение – к возникновению дрожи и свёртыванию в клубок. Отношение «тепловых» нейронов в гипоталамусе к «холодовым» нейронам составляет 6:1.

Термочувствительные нейроны гипоталамуса подразделяются на несколько типов:

I тип – это нейроны, обладающие термочувствительностью и автоматией;

II тип – это нейроны без термочувствительности и автоматии, вызывающие при возбуждении реакции теплорассеивания. Их возбуждают нейроны I типа;

III тип – это нейроны, обладающие термочувствительностью и автоматией, тормозящие нейроны II типа и возбуждающие нейроны IV типа;

IV тип – это нейроны без термочувствительности и автоматии, увеличивающие при возбуждении теплопродукцию. Они тормозятся нейронами I типа.

2.1.4. Центральное звено терморегуляции

Поддержание температуры на оптимальном для обмена веществ уровне осуществляется регулирующими влияниями ЦНС. Центры терморегуляции представляют собой ансамбли нейронов, участвующих в регуляции температуры тела. Они обнаружены в различных областях ЦНС – в коре больших полушарий, лимбической системе (амигдаларный комплекс, гиппокамп), таламусе, гипоталамусе, среднем, продолговатом и спинном мозге, а также в ретикулярной формации ствола мозга. Каждый отдел мозга выполняет свои задачи. В частности, кора, лимбическая система и таламус обеспечивают контроль за деятельностью гипоталамических центров и спинномозговых структур, формируя адекватное поведение человека в различных температурных условиях среды (рабочая поза, произвольная двигательная активность) и восприятия тепла, холода или комфорта[99].

Основную роль в терморегуляции играет гипоталамус. В нём различают скопления нейронов, регулирующих как теплоотдачу (центры теплоотдачи), так и теплопродукцию (центры теплопродукции). Впервые существование таких центров в гипоталамусе обнаружил К. Бернар. Его опыт, получивший название «теплого укола», состоял в следующем. В область гипоталамуса вводился электрод, вызывавший раздражение гипоталамуса, и спустя 2-3 часа у животного наступала стойкая гипертермия. Таким образом, была доказана важная роль гипоталамуса в терморегуляции. Разрушение центров терморегуляции превращает гомойотермный организм в пойкилотермный.

Гипоталамический термостат

Принцип работы гипоталамического термостата называют установочной точкой (рис. 5). Нейроны преоптической зоны, к которым поступают сигналы от терморцепторов, на уровне значений порогов возбудимости сохраняют информацию о гомеостатируемой величине температуры ядра тела и при расхождении сигналов от терморцепторов с установочной точкой передают

команды термоэффекторам. В последние годы эта модель критикуется. С учетом расположения терморецепторов не только в ядре, но и в разных слоях оболочки предлагается модель, в которой нейроны установочной точки отслеживают не температуру, а общее теплосодержание, либо температурные градиенты между слоями тела.

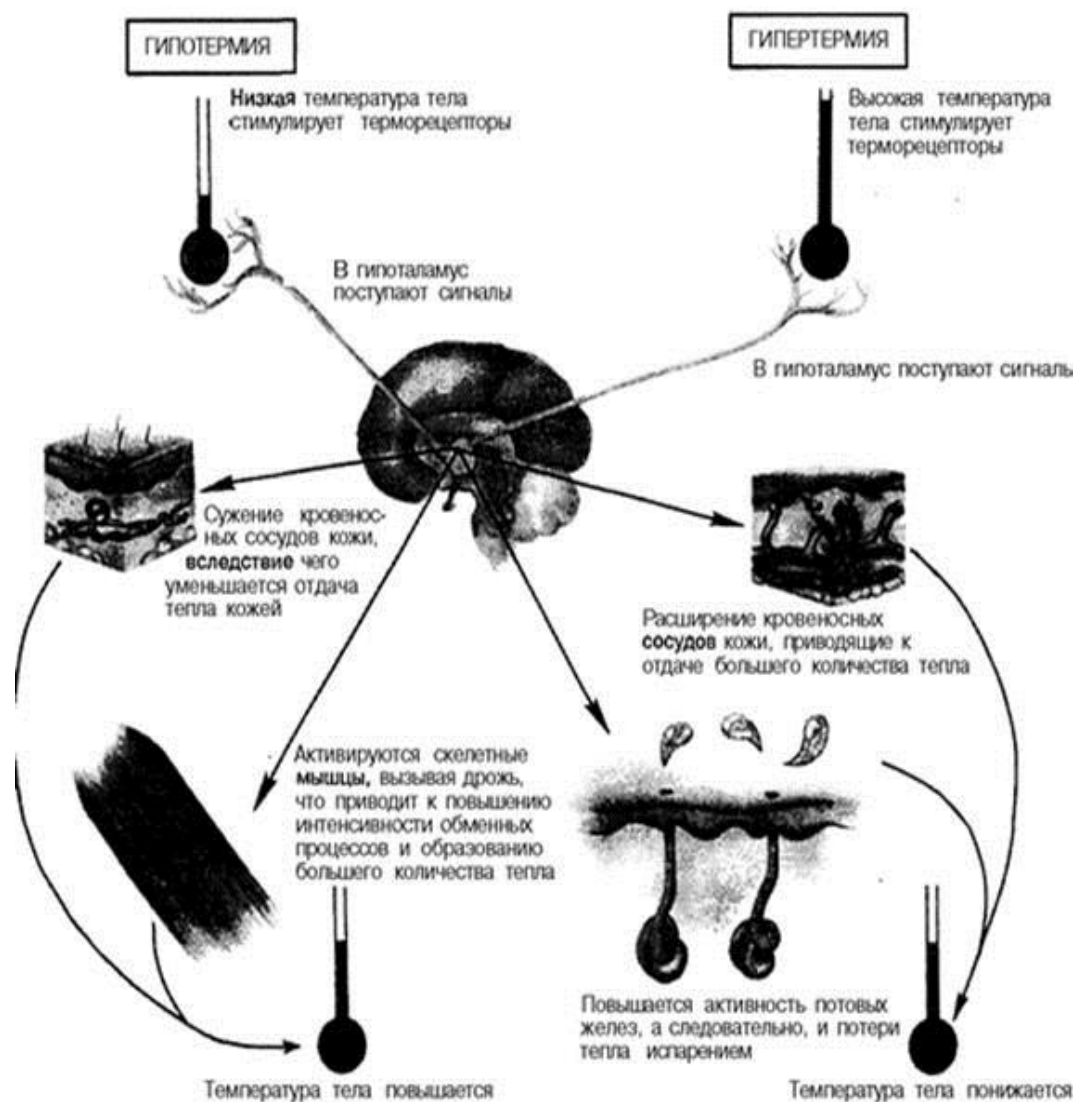


Рис. 5. Реакция гипоталамуса на изменение температуры

Изменение температуры тела воспринимают три типа терморецепторов: центральные, висцеральные и периферические. Центральные рецепторы находятся в сосудистой стенке капиллярной сети гипоталамуса. Они имеют низкий порог чувствительности и генерируют рецепторный потенциал даже при колебаниях температуры около $0,01^{\circ}\text{C}$. Изменение температуры крови,

проходящей через гипоталамус, приводит в действие рефлексы, которые в зависимости от потребности либо сохраняют, либо отдают тепло [109].

Периферические рецепторы, локализованные по всей поверхности кожи, осуществляют контроль за окружающей температурой. Они направляют информацию в гипоталамус, а также в кору головного мозга, обеспечивая сознательное восприятие температуры и адекватное терморегуляторное поведение (рис.6).

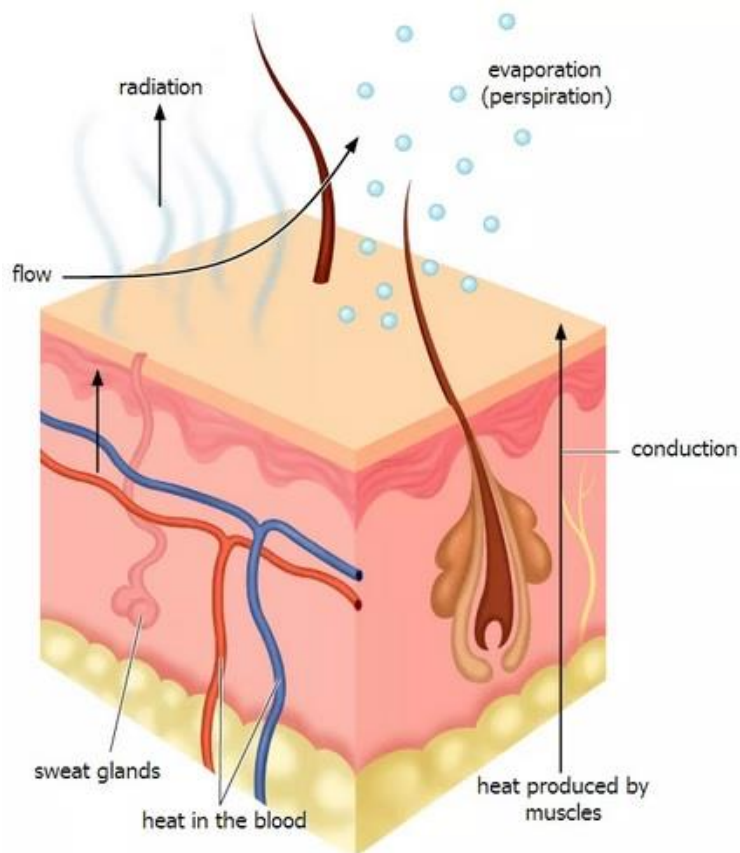


Рис.6. Механизмы теплообмена с окружающей средой

Путь от периферических терморцепторов к интеграторам преоптической зоны проходит через нейроны, называемые иногда в учебной литературе сенсорными нейронами. Нейроны преоптической зоны характеризуются высокой плотностью синаптических шипиков, что отражает важную роль пространственной суммации сигналов от сенсорных нейронов. При отклонении контролируемого параметра (температура, теплосодержание, температурный градиент) от заданного уровня прекращается передача тормозных команд

термозффекторам. Соответственно возбуждаются эфферентные нейроны: в центре теплоотдачи – это нейроны, регулирующие потоотделение, тонус кожных сосудов, объем циркулирующей крови, а в центре теплопродукции – это нейроны, которые регулируют процесс образования тепла. Высшие отделы ЦНС (кора и лимбическая система) обеспечивают формирование теплоощущения (тепло, холодно, температурный комфорт, температурный дискомфорт). Ощущение комфорта строится на потоке импульсации от терморепцепторов оболочки (в основном – кожи).

Центры теплопродукции имеют многоуровневое строение. Нейроны дорсомедиального гипоталамуса совместно с нейронами бледного ядра в ретикулярной формации ствола мозга через симпатические нервы и через β_3 -адренорецепторы активируют процессы липолиза и термогенез в буром жире. Одновременно при возбуждении симпатической нервной системы повышается продукция катехоламинов в мозговом веществе надпочечников, которые активируют гликогенолиз и липолиз. В паравентрикулярных ядрах гипоталамуса нейроны, выделяющие тиреолиберин, через стимуляцию секреции тиреотропина гипофиза и тиреогормонов (T_3 и T_4) в щитовидной железе также стимулируют как облигатную, так и факультативную теплопродукцию в буром жире. Отдельный нервный центр в стволе мозга влияет на тонус скелетных мышц, благодаря чему увеличивается теплообразование, или возникает мышечная дрожь. В этих случаях сигналы от эфферентных нейронов гипоталамуса передаются на альфа-мотонейроны передних рогов спинного мозга.

2.1.5. Эффекторы терморегуляции. Механизмы теплопродукции

Под факультативной теплопродукцией, или химической терморегуляцией, понимают совокупность механизмов теплообразования, функционирующих при угрозе гипотермии. Образование тепла в организме происходит непрерывно в процессе обмена веществ – экзотермических реакций катаболизма. Это, как отмечалось выше, облигатное метаболическое теплообразование. Больше всего тепла образуется в мышцах – 60%, в печени – 30%, в остальных органах – 10%. У позвоночных животных, включая некоторые группы пойкилотермов, появляются специализированные эффекторы теплопродукции, в которых за счет снижения КПД синтеза или гидролиза АТФ возможно многократно усилить теплообразование [120]. Снижение КПД АТФ-гидролитического процесса происходит в видоизмененных глазодвигательных мышцах (нагреватель мозга или heater organ) тунцовых рыб, в которых утечка ионов Са из саркоплазматического ретикулума интенсифицирует работу Са-насоса и, соответственно, митохондриальное окисление и тем самым продукцию тепла. Нагреватель мозга поддерживает температурный гомеостаз мозга во время быстрых погружений в холодные слои воды. Специализированные органы теплопродукции млекопитающих представлены скоплениями бурого жира. Теплопродукция бурого жира основана на разобщении окислительного фосфорилирования и дыхания посредством специфического разобщающего белка, рассеивающего энергию протонного градиента в тепло.

В наиболее изученной системе терморегуляции млекопитающих можно выделить факультативный термогенез в бурой жировой ткани, сарколипин-зависимый термогенез в скелетных мышцах и играющую скорее аварийный характер, развивающуюся при недостаточных функциональных резервах двух предыдущих механизмов — холодовую мышечную дрожь скелетных мышц;

Для предотвращения угрозы гипертермии при повышении температуры окружающей среды выше термонеutralной зоны развивались механизмы

увеличения теплопотерь — от вазодилатации периферических сосудов до испарительное охлаждение через потоотделение и/или дыхание [44,47].

Испарение

За счёт испарения при мышечной деятельности организм теряет около 80% тепла, тогда как в состоянии покоя - не более 20%. Постоянные теплопотери, несвязанные с терморегуляцией, называют ***неощущаемыми теплопотерями***. С повышением температуры тела усиливается процесс потения. Когда пот достигает поверхности кожи, то под действием тепла кожи он переходит из жидкого состояния в газообразное. Таким образом, при повышении температуры тела значительно возрастает роль потоиспарения.

Потовые железы.

За потоиспарение в организме отвечают потовые железы. Они активно участвуют в процессе терморегуляции (выделяют пот, который при испарении охлаждает тело, спасая от перегрева), помогают выведению из кожи воды, продуктов обмена, солей, тяжелых металлов, а также способствуют формированию индивидуального запаха у млекопитающих.

Потовая железа состоит из секреторного клубочка (концевого отдела) и более узкого выводного протока (рис.7). Секреторные клубочки залегают в глубоких слоях дермы и подкожной жировой клетчатке. Имеют вид крупной, свёрнутой в клубок трубочки. Располагаются в подкожно – жировой клетчатке (ладони, подошва), либо в глубоких слоях дермы. В конечном отделе потовых желёз представлены два слоя клеток: внутренний слой секреторных клеток и наружный слой миоэпителиальных клеток. Секреторные клетки эккриновых желёз бывают двух типов: *тёмные* (у человека, как правило, имеют треугольную форму: узкое основание при широкой апикальной части; отвечают за синтез входящих в состав пота органических и неорганических соединений) и *светлые* (имеют у человека и некоторых обезьян форму усечённой пирамиды с более узкой апикальной частью; отвечают за образование жидкой фракции пота). Секреторные клетки апокриновых желёз имеют кубическую или уплощённую

форму. Миоэпителиальные клетки обычно имеют звёздчатую форму и обладают сложно устроенным цитоскелетом, обеспечивающим изменение формы данных клеток; сокращения данных клеток приводят к выбросу секрета.

Выводные протоки соединяют секреторные клубочки с поверхностью кожи. Выводные протоки апокриновых потовых желёз впадают в устья волосяных фолликулов над местом впадения сальных желёз. Иногда имеют независимый выход на поверхность кожи.

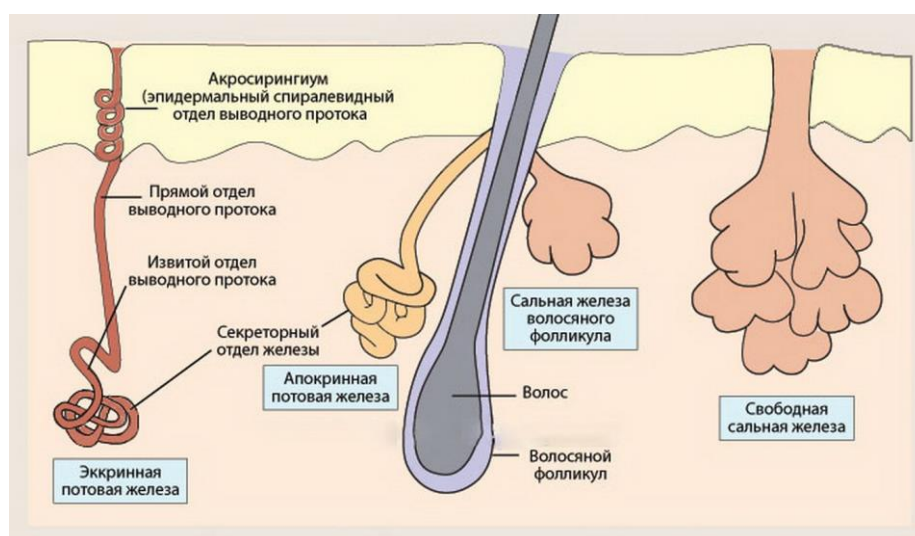


Рис.7. Строение потовой железы.

Выделяют два основных типа – апокриновые и эккриновые. Апокриновые находятся в подмышечных впадинах, анальной области, промежности, на крыльях носа, веках, наружном слуховом проходе. У человека такие железы практически не участвуют в терморегуляции, но реагируют на стресс. Выделяемый ими пот бывает очень пахучий и вязкий — это объясняется тем, что разрушаются секреторные клетки. Эккриновые находятся на всей поверхности тела, кроме головки, крайней плоти полового органа, красной каймы губ. Разрушение секреторных клеток не происходит. Состав выделяемого ими пота: 99 % воды, 1 % неорганических и органических веществ. Пот этих желёз придаёт поверхности кожи кислую реакцию.

Таким образом, постоянство температуры тела при изменениях температуры окружающей среды достигается несколькими механизмами. В так

называемой термонеutralной области теплопродукция и теплоотдача уравновешены за счет поведенческих (смены места пребывания и позы) и вегетативных (укладка шерсти, изменение характера кровотока) реакций без существенных изменений энергообмена. За пределами термонеutralной области, ограниченной нижней и верхней «критическими точками», поддержание постоянства температуры требует повышения энергозатрат. При повышенной температуре дополнительная энергия расходуется на испарение воды, выделяющейся с потом и/или выдыхаемым воздухом. При пониженной температуре энергозатраты увеличиваются за счет несократительного и сократительного термогенеза. В условиях длительного пребывания животного при повышенной или пониженной температуре происходит адаптация уровня экспрессии ферментов и других белков, участвующих в терморегуляции.

Жизнь в экстремальных температурах

Когда варианты миграции и метаболических регулировок невозможны, резидентные гомойотермы способны выдерживать экстремальные температуры. Северный олень (*Rangifer tarandus*) остается активным в весьма холодных окружающих средах (-23°C), даже имеет детенышей во время зимнего периода. Их толстый мех помогает с изоляцией, в то время как гетеротермия сохраняет тепло в ядре тела. Кроме того, их термонеutralная зона простирается гораздо дальше в более низкие температуры, чем у других позвоночных. С противоположной проблемой сталкиваются крупные млекопитающие, такие как верблюды и ориксы, которые должны выдерживать экстремальную жару, но быть активными в течение дня. Как и у оленей, верблюды также имеют густой мех, но эта изоляция предназначена для предотвращения попадания тепла окружающей среды из атмосферы в тело от конвекции и радиации. Верблюды и ориксы становятся гипертермическими (с температурой тела выше 41°C) в течение высокой температуры дня, чтобы уменьшить градиент для входа тепла в их тело [85].

Толерантность к экстремальным температурам-это не просто подвиг для гомойотермов. Некоторые пойкилотермы также способны на это. Несколько видов амфибий и рыб способны выдерживать морозы. Например, древесная лягушка (*Rana sylvatica*) может замерзнуть и оставаться в состоянии анабиоза до весенней оттепели. Древесные лягушки и другие морозостойкие животные используют криопротекторы, такие как глюкоза и мочевины, для обезвоживания клеток и ограничения замораживания во внеклеточных пространствах [37,98].

Гетеротермия

Несмотря на то, что гомойотермы регулируют температуру своего тела вокруг определенной заданной точки [29,61], температура тела большинства гомойотерм не является полностью однородной. Гетеротермия описывает изменения температуры тела как в пространственном, так и во временном масштабе. Например, температура тела животного обычно самая теплая в центре, но может быть намного ниже в конечностях. Конечности обычно охлаждаются в гомойотермах, в то время как температура тела может быть сохранена путем нагревания крови, возвращающейся из конечностей через противоточный обмен. У зайцев уши могут нагреваться выше температуры тела, чтобы облегчить рассеивание тепла тела излучением [73,112].

Временная гетеротермия относится к различиям температуры тела у одного и того же животного во времени. Многие животные меняют свои покровы сезонно [65,98] для сохранения или выделения тепла тела. Другие гомойотермы могут временно использовать лихорадку в ответ на присутствие патогена [107,119]. Особый случай временной гетеротермии связан с животными, которые не только регулируют температуру тела, но и скорость метаболизма. Эти корректировки необходимы, потому что энергетические ресурсы могут быть недоступны для поддержания одних и тех же основных обменных процессов в любое время. Например, чернохвостые луговые собаки (*Synomys ludovicianus*) остаются активными в течение зимы, но периодически подвергаются неглубоким приступам пониженной скорости метаболизма и

гипотермии, состояние, называемое оцепенением, когда условия слишком суровые, чтобы позволить воздействию. У гомойотерм с малым телом теплопотери через их более высокую площадь поверхности относительно объема тела настолько велики, что они должны подвергаться ежедневным метаболическим корректировкам. Ежедневное оцепенение является частым снижением скорости метаболизма, что сохраняет ограниченные запасы энергии, которые в противном случае должны быть направлены на терморегуляцию, когда животное не может кормить, чтобы сохранить запасы энергии [46,76].

2.1.7. Механизмы термогенеза бурой жировой ткани

Бурая жировая ткань впервые была описана в 1551 г. Conrad Gesner [21,84]. Позже, в 1670 г. Georg Velshі из Аугсбурга в одном из коротких писем комментировал анатомическое вскрытие сурка. В нем он высказал предположение об интересе, который БЖТ гибернирующих животных может представлять для врачей [13, 41, 97].

Бурая жировая ткань – БЖТ представляет собой компактные скопления адипоцитов в форме «островков» (глобул), локализованных в разных местах организма [20, 59]. Название «бурая» возникло не случайно, так как островки этой ткани заметны даже невооруженным глазом по цвету, изменяющемуся от светло–кофейного к темно–шоколадному и буровато–красному [17, 95] в отличие от белого жира, имеющего окраску от белой до желтоватой. Такой цвет ткани объясняется наличием большого числа митохондрий в адипоцитах, содержащих окрашенные белки цитохромы [19, 106] и высокой степенью васкуляризации, намного превышающей таковую в белом жире [31, 63, 109]. Поэтому буро–красноватое окрашивание является отражением повышенной метаболической активности и высокого энергетического статуса клеток бурого жира.

Наибольшим количеством БЖТ обладают гибернанты и новорожденные животные. По мере взросления организма количество БЖТ снижается. В среднем по обобщенным данным относительная масса БЖТ составляет около 1% у взрослых не гибернантов и 5–6% у некоторых новорожденных и взрослых гибернантов [24, 87].

В организме запасы бурого жира распределяются в определенных местах. Давно было замечено, что компактные скопления БЖТ сосредоточены вблизи жизненно важных органов и вокруг крупных сосудов. При этом между глобулой бурого жира и органом имеется прямая сосудистая связь [30, 113]. Именно в этом случае может быть осуществлен «подогрев» жизненно важных органов при опасности охлаждения ядра тела.

Сам факт присутствия бурого жира только у млекопитающих, гомойотермов, поддерживающих температуру тела в широком диапазоне колебаний внешних температур, указывает на его участие в терморегуляции. Это сейчас наиболее изученная составляющая термогенной функции БЖТ. К ранее полученным экспериментальным доказательствам участия БЖТ в индуцированном холодом несократительном термогенезе (рис.8) в начале 21 века добавились манипуляции на трансгенной линии мышей с функционально неактивным из-за отсутствия гена UCP1 бурым жиром.

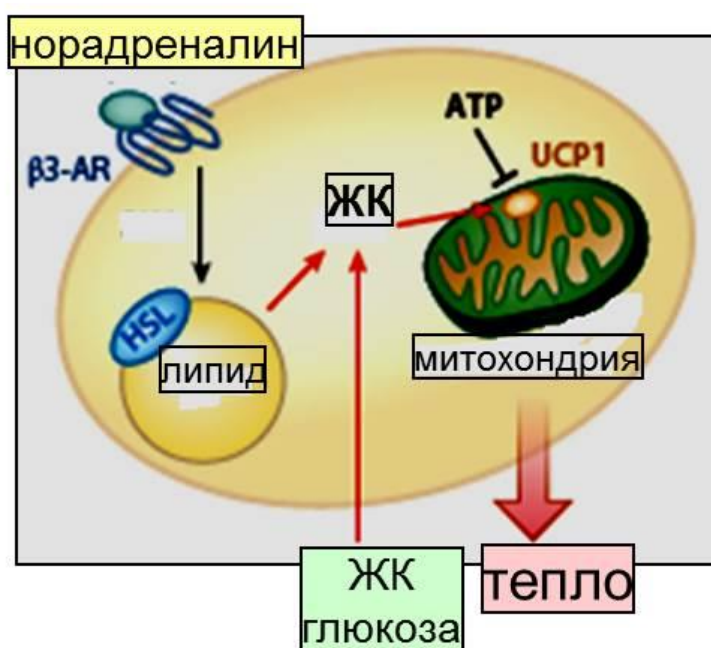


Рис.8. Запуск термогенеза через симпатические нервы

Хотя UCP1 необходим для поддержания температуры тела во время острого воздействия холода, мыши с нокаутом UCP1 выживают при медленной адаптации к холоду без видимых метаболических дефектов [57,116]. Продолжительность жизни мышей, нокаутированных по UCP1, не изменяется при комнатной температуре [26,66, 101], однако на холоде у животных без UCP1 развивается устойчивое повышение интенсивности потребления O₂, которое, как оказалось, было вызвано непрекращающейся на протяжении всего периода холодной экспозиции дрожью. Следовательно, отсутствие термогенеза в БЖТ не может компенсироваться теплообразованием в других тканях и органах.

Бурая жировая ткань – единственный физиологически значимый эффектор несократительного термогенеза.

Теплообразующий механизм в клетках бурого жира находится в митохондриях. Его ключевым элементом является тканеспецифический, разобщающий окисление от фосфорилирования белок (uncouple protein 1 - UCP1), находящийся во внутренней мембране митохондрий [27, 71]. Разобщающий эффект UCP1 обеспечивается многократным увеличением потока протонов в матрикс. При отсутствии термогенного запроса белок блокирован пуриновыми нуклеотидами и термогенез отсутствует. Основным физиологическим стимулом, вызывающим быстрое включение и развитие термогенеза, является холод [72, 103]. Снижение температуры окружающей среды через терморцепторы передается в задний гипоталамус, где находятся центры регуляции функции бурого жира. Сигнал о включении термогенеза передается по симпатическим волокнам, медиатором в которых является норадреналин. Запуск термогенеза, усиление синтеза термогенно значимых белков, усиление митохондриогенеза происходит через бета-3-адреноцептор и аденилатциклазную систему, многократное усиление клеточной пролиферации осуществляется через бета-2-адренорецепторы [72, 115]. Симпатическая стимуляция бурого жира модулируется многими нейропептидами и нейромедиаторами, включая серотонин, гастроинтестинальный пептид, бомбезин, лептин и др. [33, 40, 108]. Поэтому термогенная активность ткани подвержена влиянию со стороны таких факторов, как фотопериод [74, 118], калорийность и качественный состав пищи [28, 81], возраст животного и ряда других [42, 101].

Долгое время считалось, что происхождение UCP1 и бурой жировой ткани происходило параллельно и сопряжено с появлением гомойотермии в классе млекопитающих. Масштабные сравнительные исследования привели к пересмотру этих данных.

Эволюция UCP1 и БЖТ

Появление гена-ортолога UCP1 относится к ранним этапам эволюции позвоночных животных. Выявление причин эволюции термогенных жировых тканей помогает понять механизм генетического и метаболического программирования, тем самым выясняя, что было реализовано в ходе эволюции, чтобы обеспечить термогенез. Эти исследования могут помочь получить доступ к термогенной жировой ткани для трансляционной медицины, одной из основных целей которой является создание термогенных бурых жировых депо у людей, имеющих различные метаболические нарушения.

Ортолог UCP1 обнаружен в геноме костистых рыб и амфибий [79,104], у однопроходных и сумчатых. Он исчезает из генома линии *Sauropsida*, включающей рептилий и птиц [94, 112]. У костистых рыб экспрессия этого гена обнаружена в тканях печени, в нейронах гипоталамуса [32, 86]. Причем экспрессия гена на уровне мРНК и белка регулируется не одинаково в разных тканях. У карповых рыб в печени уровень мРНК UCP1 растет при тепловой адаптации, в мозге — при холодовой адаптации. У однопроходных ген UCP1 был обнаружен в геномных базах уткуноса (*Ornithorhynchus anatinus*) [40, 64, 111], ткань в которой экспрессируется ген не известна. У сумчатых представителей фауны Австралии и Южной Америки UCP1 экспрессируется в жировых депо. Таким образом, изменения в тканеспецифической экспрессии UCP1 произошли до дивергенции плацентарных и сумчатых. Интересно, что различия в регуляции экспрессии UCP1, у представителей австралийских сумчатых, отличающихся размерами тела имеют сходный характер с плацентарными млекопитающими. Хотя воздействие холода запускает экспрессию UCP1 у жирнохвостой сумчатой мыши (*S. crassicaudata*), мРНК UCP1 не обнаруживается у подвергнувшегося воздействию холода домового опоссума (*Monodelphis domestica*) с крупными размерами тела. Несмотря на то, что индуцированные холодом уровни мРНК UCP1 у *S. crassicaudata* предполагают некоторую функцию адаптивного несократительного термогенеза,

метаболический ответ на норадреналин, который сообщает об активности БЖТ, не выявил адаптации к холоду [45,78].

У ветви *Afrotheria* древних плацентарных млекопитающих экспрессия UCP1 приурочена к скоплениям типичного бурого жира. Значительные изменения по сравнению с предшествующими таксонами позвоночных животных претерпел ген UCP1.

2.1.8. Обзор термогенных жировых тканей свободнообитающих мышевидных грызунов на примере природных популяций Средней Сибири (по результатам собственных исследований)

Исследовательское сообщество стремится расширять знания по физиологии БЖТ, используя разнообразие млекопитающих, которые адаптировались ко всем экстремальным природным и климатическим условиям. Можно ожидать большую разницу в результатах исследований, учитывая, что даже между некоторыми штаммами мышей существуют различия в экспрессии UCP1 и БЖТ [76, 114]. Отличия между разными линиями мышей удивительны, учитывая, что эти животные были инбредными в течение последних 100 лет. Хотя *M. musculus*, несомненно, важна, использование в качестве объекта исследований только мышей может ограничить наше полное понимание значения БЖТ в природе.

Результаты исследований

У свободнообитающих грызунов жировая ткань представлена скоплениями бурого и белого типов. Скопления бурого жира включали межлопаточное, шейное, подмышечные; околосоливарное (между долями подчелюстной слюнной железы). Наиболее крупным, легко идентифицируемым было межлопаточное скопление, которое служит для согревания крови, собираемой с открытых поверхностей тела, прежде, чем эта кровь попадет в нижнюю полую вену и в сердце. Шейное скопление обеспечивает обогрев позвоночных кровеносных сосудов. Подмышечное скопление служит для согревания крови, собираемой с верхних конечностей. Околосоливарное скопление более развитое у свободнообитающих грызунов, чем у лабораторных мышей, возможно, в связи с отличительными особенностями температуры потребляемой пищи и служит для обогрева подчелюстной слюнной железы. Относительная масса межлопаточного бурого жира статистически не различалась в изученных группах животных (рис. 9). Темные варианты окраски межлопаточного скопления наблюдались у свободнообитающих грызунов

(восточноазиатской мыши и красной полевки) за счет большого количества митохондрий, содержащих цитохром. Бурый жир лабораторных мышей выглядел более бледным, кроме того, сверху он был прикрыт слоем белой жировой ткани.

У всех отловленных грызунов наблюдается выраженная редукция основных подкожного и абдоминального депо белой жировой ткани (рис.9). Свободнообитающие грызуны, в отличие от лабораторных мышей, имели более выраженные скопления бурой жировой ткани. Основные скопления абдоминальной жировой ткани – окологонадное и ретроперитонеальное у большинства животных присутствовали в следовых количествах (менее 15-20 мг), их количественное выделение было затруднено. Подкожный жир отловленных животных имеет более темными оттенки цвета, часто имел темно-розовое и даже буроватое окрашивание. Таким образом, морфологические черты пахового жира указывают на повышенное содержание митохондриальных цитохромов, что характерно для UCP1 позитивных адипоцитов бежевого типа[2].

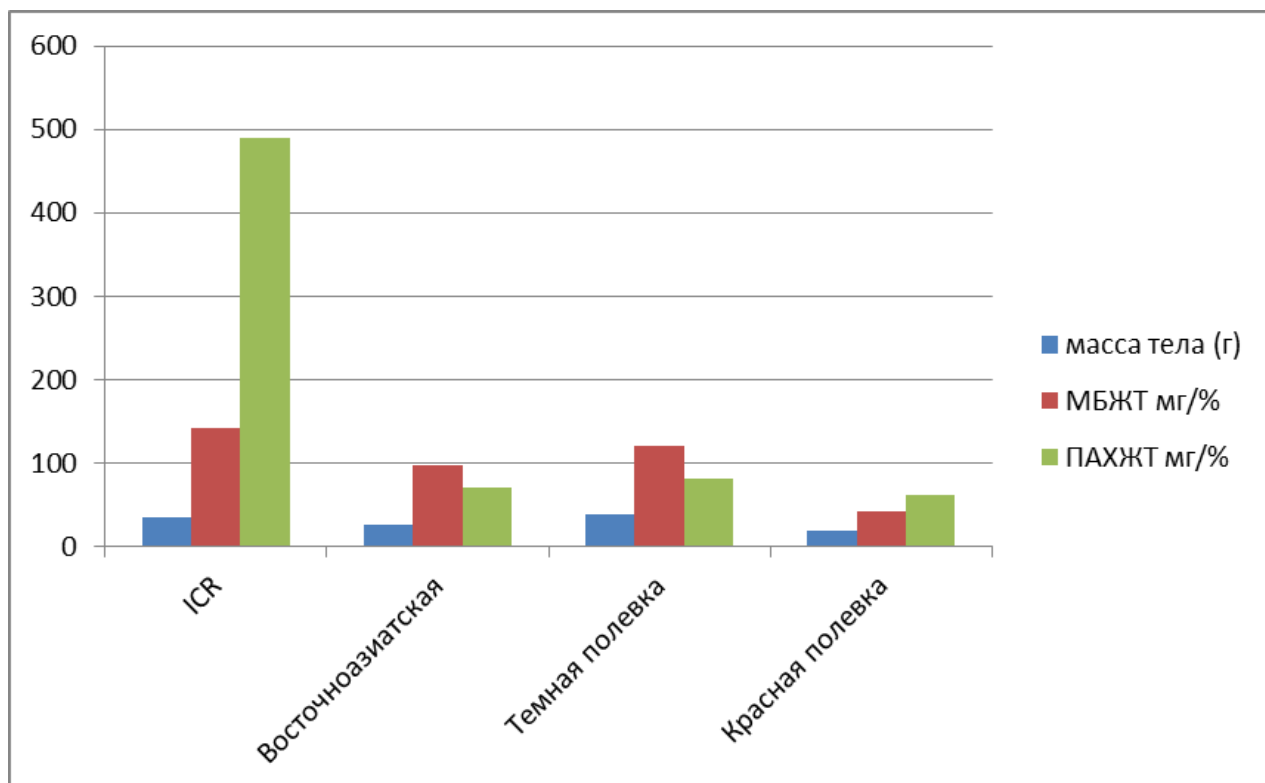


Рис.9. Абсолютная и относительная масса основных скоплений бурой и белой жировых тканей свободнообитающих грызунов и лабораторных мышей.

Примечание: Масса скоплений жировой ткани выражена двумя способами: в мг – верхний показатель, в % к массе тела – нижний показатель. * - статистически значимые различия с показателем относительной массы пахового жира у лабораторных мышей $p < 0,05$.

Биохимические показатели жировых тканей свободнообитающих мышевидных грызунов и лабораторных мышей

Не выявлено различий в содержании ДНК, РНК, общего и разобщающего белка UCP1 в буром жире, его обводненности у исследуемых групп свободнообитающих грызунов и лабораторных мышей (рис.11)

Паховая жировая ткань у всех природных животных характеризовалась повышенным содержанием воды и тканевого белка (рис. 11). Из 5-ти проб пахового жира, использованных при вестерн-блоттинге, полоса разобщающего белка UCP1 определялась в 2-х пробах лабораторных мышей, в 3-х пробах темных полевок и во всех 5-ти пробах восточноазиатских мышей.

При сравнении тех проб, где идентифицирована полоса UCP1, интенсивность полосы, выраженная в усл. ед. на мг тканевого белка, была практически одинаковой в трех изученных группах животных, примерно в 4-5 раз слабее соответствующего показателя для бурого жира (рис.10). Таким образом, с учетом повышенного содержания общего тканевого белка в паховом жире у отловленных в природе грызунов, суммарное содержание разобщающего белка в мг пахового жира у них также было выше, чем у лабораторных мышей. Эти факты указывают на высокую окислительную активность митохондрий белой жировой ткани у животных в природных популяциях, более частое присутствие в ней термогенных UCP1-позитивных адипоцитов. Как известно, размеры этих клеток меньше чем размеры зрелых белых адипоцитов [25]. Вероятно, присутствием UCP1-позитивных адипоцитов можно объяснить тенденцию к повышенному содержанию ДНК (мкг/мг ткани) в пробах пахового жира красной полевки и восточноазиатской мыши. Причем у последней по этому показателю отмечены статистически значимые различия с лабораторными мышами.

При сопоставлении свойств жировых тканей у отловленных в природе грызунов все показатели пахового жира были выше, многие показатели бурого жира проявляли тенденцию к повышенным значениям у восточноазиатской мыши по сравнению с двумя видами полевок.

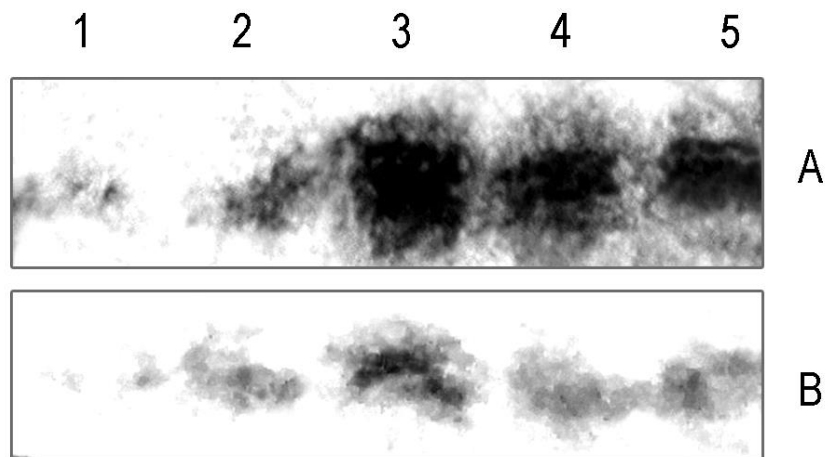


Рис.10. Разобцающий белок 1 в жировых тканях свободнообитающих грызунов и лабораторных мышей (репрезентативные блоты).

А – блоты пахового жира *A. peninsulae* (1) и *M. agrestis* (2), межлопаточного бурого жира *A. peninsulae* (3), *M. agrestis* (4) и лабораторной мыши (5); В – блоты пахового жира *M. agrestis* (1 и 2), *A. peninsulae* (3 и 4) и лабораторной мыши (5)

Таким образом, в результате проведенного комплексного исследования впервые получены данные о массе, некоторых биохимических показателях белой и бурой жировых тканей у свободнообитающих представителей двух семейств мышевидных грызунов. Сравнительно-видовой анализ показателей отловленных летом серых, лесных полевков и восточноазиатской мыши, а также сопоставление данных этих видов природных грызунов с показателями жировых тканей аутбредных лабораторных мышей *ICR*, не выявило существенных различий по межлопаточному бурому жиру. Паховый белый жир природных животных по сравнению с лабораторными мышами демонстрирует выраженную метаболическую и термогенную активацию.

Для природной среды даже летом характерны значительные суточные градиенты температур. В период отлова наших животных дневные температуры составляли 18-25°C, а ночные опускались до 10-15°C. Поэтому быстро включающиеся и малоинерционные механизмы терморегуляции, к которым, как раз относят термогенез, летом не менее важны чем в зимний сезон.

Термогенез в UCP1-позитивных клетках пахового жира может обеспечивать быстрый разогрев мышц нижних конечностей, что важно для животных с летней активностью в прохладные ночные часы, когда к тому же теплопотери могут дополнительно увеличиваться из-за выпадения росы. Обнаруженный нами факт более высокой окислительной активности пахового жира, более высокой встречаемости в нем белка UCP1 у восточноазиатской мыши согласуется с этим предположением, если учесть описанные в литературе наблюдения о характерной для мышей большей подвижности, их перемещениям на относительно дальние расстояния от убежища по сравнению с полевыми [47, 89]. Дальнейшие исследования прояснят детальнее роль термогенных жировых тканей в адаптивных стратегиях мышей и полевок.

Термогенная активация UCP1-позитивных адипоцитов в депо белого жира в лабораторном эксперименте сдерживает энергодепонирование и гипертрофию белых адипоцитов [35, 76, 94]. Сравнительный анализ содержания ДНК в паховом жире восточноазиатской мыши и лабораторных мышей указывает на уменьшенный средний клеточный размер в жировых депо природных мышей. Наряду с термогенной активацией белого жира, у свободнообитающих животных низкая калорийность природных кормов, укорочение времени питания из-за присутствия хищников, пресс паразитов, по-видимому, также вносят вклад в выраженную редукцию депо белого жира, в сдерживание роста адипоцитов до «критического размера», запускающего клеточную гибель и развитие инсулинорезистентности [39, 52, 108]. Таким образом, животные из природных популяций дополнительно к лабораторным линиям являются интересными и информативными объектами в сравнительной и экологической физиологии энергообмена и терморегуляции.

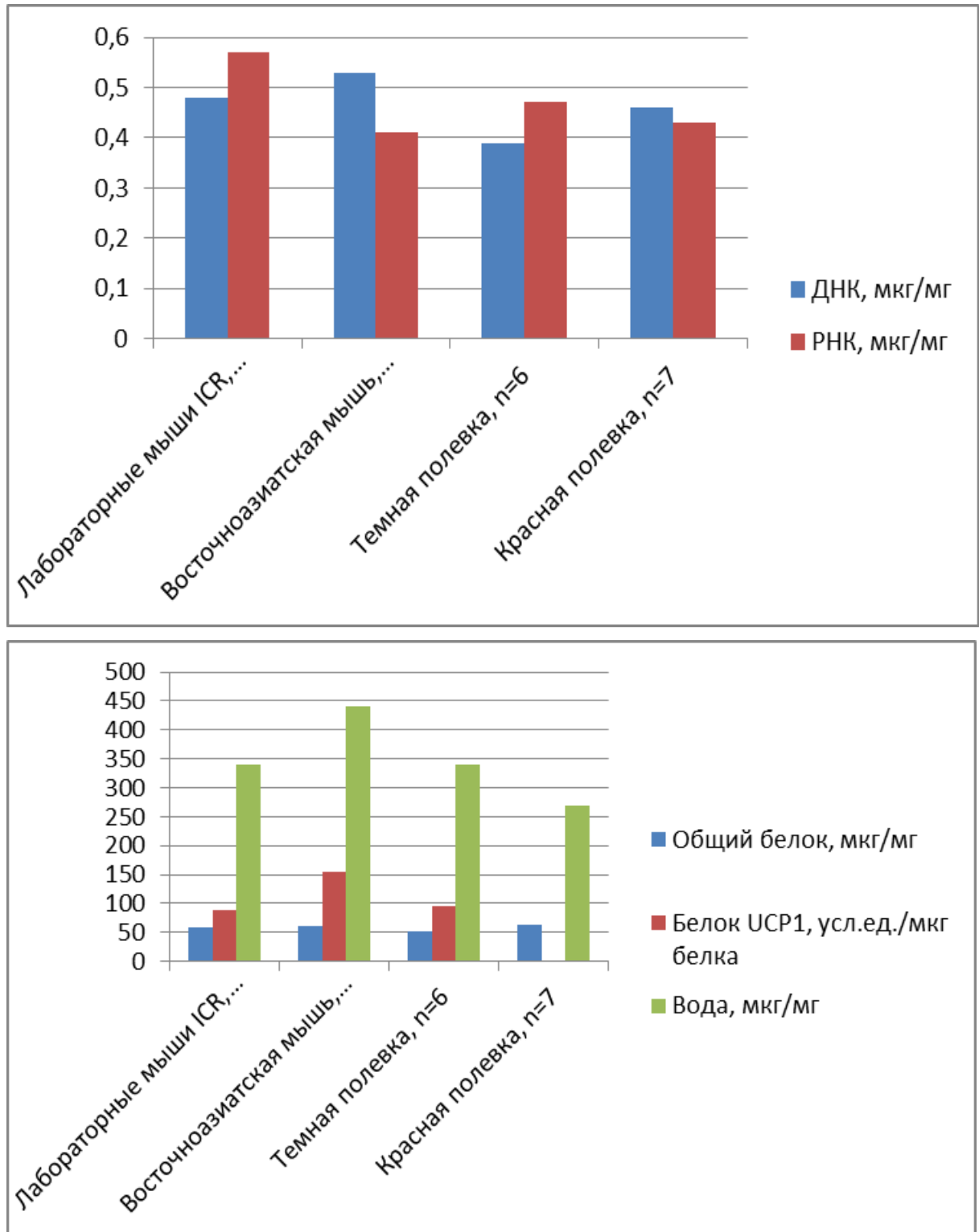


Рис.11. Биохимические показатели межлопаточного бурого жира лабораторных мышей и свободнообитающих грызунов

2.1.9. Современные проблемы сравнительной и эволюционной физиологии энергообмена

Как уже было ранее сказано, главным функциональным звеном, участвующим в факультативном термогенезе организма млекопитающего, является бурая жировая ткань (БЖТ). Бурые адипоциты мельче белых, неправильной формы, с большим количеством мелких липидных капель и митохондрий. Освобождающиеся при липолизе жирные кислоты используются в них для термогенеза.

Самое удивительное открытие последних лет - экспрессия белка UCP1 у млекопитающих вне бурого жира. МРНК и сам белок были обнаружены в митохондриях другой линии жировых клеток, которые не относят ни к бурым, ни к белым адипоцитам [4, 5]. Эти клетки, получившие название бежевых адипоцитов, диффузно рассеяны во всех жировых депо [4, 5, 6], а также коже [7, 8], стенке кровеносных сосудов и сердце [9], костном мозге [10, 36], тимусе [11], молочной железе [12, 38, 104]. Судя по экспрессии в них кроме гена UCP1 также генов других участвующих в термогенезе белков, бежевые адипоциты потенциально способны усиливать термогенез в ответ на холодовые стимулы [4, 5, 13]. Однако низкое содержание этих клеток в тканях, сниженное в них самих по сравнению с бурыми адипоцитами количество митохондрий [5, 6] затрудняют оценку их термогенеза, выяснение механизмов его регуляции. Активация термогенеза в бежевых адипоцитах при адаптации животных к холоду отмечена только в единичных работах в подкожном жировом депо [14, 15]. В любом случае понятно, что они не могут быть физиологически значимыми для обеспечения температурного гомеостаза на уровне всего организма.

Поэтому обоснованно высказываются предположения о нетермогенных функциях UCP1 в этих клетках, например, об его участии в защите адипоцитов от окислительного стресса [16, 17]. Однако данное предположение и имеющиеся другие [18] ставят больше вопросов, чем разъясняют ситуацию. По локализации в организме можно выделить бежевые адипоциты подкожного жирового депо,

висцеральных жировых депо, костного мозга и тимуса, кожи, опухолевых новообразований.

В подкожном жировом депо бежевые адипоциты появляются при действии холодовых и других стимулов, активирующих термогенез бурого жира. Суммарная термогенная мощность митохондрий адипоцитов пахового жира у адаптированных к холоду мышей составляет 10-30% от этого показателя в межлопаточном буром жире [15, 69]. Предполагают, что холод-индуцированное теплообразование бежевых адипоцитов в самом крупном паховом скоплении подкожного жира представляет весомую добавку к термогенезу бурого жира, и, вероятно, важно для подогрева вен, собирающих кровь из кожи и мышц нижних конечностей.

В абдоминальном жировом депо (мезентериальное, ретроперитонеальное и окологонадное (околосеменниковое и околяичниковое) скопления жировой ткани) регистрируются следовые количества мРНК UCP1 даже при стандартных режимах холодовой адаптации животных (-4 - +4 °C) не всегда определяется даже на уровне мРНК [5, 13, 14, 41]. Предполагают, что появление этих клеток стимулируется не норадреналином как в буром и бежевом подкожном жире, а секретируемыми макрофагами цитокинами. [5, 37]. Особенно интригующим является факт появления белка UCP1 в абдоминальной жировой ткани при адаптациях мышей к продолжительной умеренной пищевой рестрикции [43], а также положительная связь между этими клетками и общей клеточностью ткани [45, 60, 105].

Другая группа бежевых адипоцитов представлена в жировой ткани, присутствующей в сердце и в стенке крупных артерий грудной и брюшной полостей [9, 80]. Следует отметить, что их термогенный потенциал - один из самых высоких при сравнении с бежевыми клетками из других источников [29, 78]. Возможно, термогенез бежевых адипоцитов эпикарда поддерживает оптимальный температурный режим для локализованных здесь клеток-предшественников кардиомиоцитов. Периваскулярные бежевые адипоциты

покрывают наружную поверхность крупных сосудов. При холодной адаптации мышцей их содержание увеличивается. Хотя термогенез в них существенно ниже чем буром жире, он может быть значим для ближайшего клеточного микроокружения, в том числе для резидентных предшественников эндотелиоцитов, которые располагаются как раз под наружной оболочкой сосудистой стенки [50, 83, 90].

Повышенные уровни мРНК UCP1 и сам белок UCP1 определялись в красном костном мозге позвонков [52, 117]. Причем присутствие бежевых адипоцитов в костном мозге является необходимым условием нормального роста и развития колоний кроветворных клеток при его трансплантации летально облученным животным [53,96]. Костномозговые бежевые адипоциты, могут быть полезны для процессов роста и ремоделирования костных тканей. Детальные исследования клеточных популяций молочных желез и их динамики у беременных, лактирующих и завершивших лактацию мышцей показали легкость трансдифференцировок между адипоцитами белой, бежевой и бурой линий и миоэпителиальными клетками [56, 57]. В экспериментальных и клинических исследованиях сообщалось также о значительном увеличении содержания транскриптов и белка UCP1 вблизи и в очагах опухолевого роста в молочной железе [58, 110].

Белок UCP1 обнаружен в кератиноцитах гранулярного слоя эпидермиса, клетках потовых и сальных желез, волосяных фолликулов [8, 100]. Термогенные свойства клеток кожи с экспрессией гена UCP1 остаются пока практически не изученными.

Для выяснения возможной роли бежевых адипоцитов в процессах клеточно-тканевого гомеостаза требуются динамические исследования с регистрацией и сопоставлением экспрессии гена UCP1, внутриорганных флуктуаций температуры и процессов тканевого ремоделирования. Наибольшую методическую сложность представляет измерение в структурах ядра тела небольших температурных градиентов. Поэтому перспективными моделями

могут быть некоторые патологические процессы, сопровождающиеся массовым появлением бежевых адипоцитов [54, 58, 59]. Исследования роли этих клеток в механизмах нормальной репаративной или патологической регенерации тканей после крупных травм, в патогенезе опухолевого роста, безусловно, кроме фундаментального значения имеет важный практический аспект. Особый интерес для ответа на вопрос о функциях этих клеток представляет выяснение их эволюционного происхождения, их возможные связи с архетипичной жировой тканью сумчатых животных.

Другими актуальными проблемами современной биоэнергетики является выяснение механизмов регуляции торпидных состояний у животных, сигнальные пути, генные сети, обеспечивающие переключение стационарных состояний энергообмена в зависимости от фотопериода, достаточности кормов, комплексных сезонных влияний. Причины ограничения проявления торпидности у мелких млекопитающих, возможности ее инициирования у человека с медицинскими целями, а также для продолжительных космических путешествий. В рамках этой же проблемы интересно выяснить функциональные связи центров терморегуляции с центрами потребления пищи в латеральном и вентромедиальном гипоталамусе.

Фундаментальная проблема эволюционной физиологии — роль сарколипин-зависимого термогенеза как дополнительного источника тепла у рептилий и птиц, причины редукции *UCP1* гена в эволюционной линии, ведущей к птицам, соотношение сарколипин-зависимого термогенеза с *UCP1* зависимым термогенезом у млекопитающих.

2.2. ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Раздел 1. Общая структура энергообмена животных

(задания повышенной сложности помечены - *)

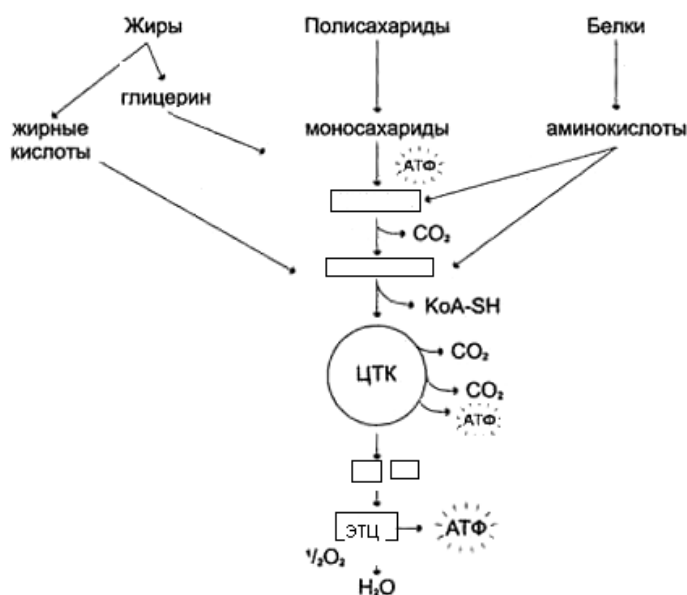
Химические реакции в организме подчиняются законам термодинамики.

Согласно первому закону общая энергия системы (ΔE) не меняется.

Согласно второму закону процессы протекают самопроизвольно, если растёт неупорядоченность (энтропия S) системы, а энергия, которую можно использовать для совершения полезной работы при постоянной температуре и давлении (ΔG свободная энергия) уменьшается. $\Delta G = \Delta E - T\Delta S$.

1. Запишите уравнение гидролиза АТФ (с помощью химических формул). С каким знаком записывается происходящее в ходе этой реакции изменение свободной энергии ($-\Delta G$ или $+\Delta G$) ?

2. Замените на схеме катаболизма общие термины «полисахариды» и «моносахариды» названиями углеводов, характерных для животной клетки. Вставьте вместо пропусков ключевые соединения. Под схемой запишите их формулы. Рядом с АТФ подпишите каким способом она синтезировалась (сф – субстратное фосфорилирование; оф – окислительное фосфорилирование)



3. В реакциях митохондриального окислительного катаболизма происходит последовательная передача электронов на

- А. НАД – дыхательные комплексы ЭТЦ - кислород
- Б. НАДФ – дыхательные комплексы ЭТЦ – кислород
- В. НАД – дыхательные комплексы – НАДФ
- Г. Вода – реакционный центр фотосистемы - НАДФ

4. Последовательность реакций в ЭТЦ определяется

- А. строением окисляемого субстрата
- Б. окислительно-восстановительными потенциалами компонентов ЭТЦ
- В. локализацией ферментов в митохондриальной мембране
- Г. прочностью связи апоферментов с коферментами

5. При работе цепей переноса электронов рН в пространстве между наружной и внутренней мембранами митохондрии

- А. Снижается
- Б. Повышается
- В. Не изменяется
- Г. Испытывает периодические колебания

6. При полном окислении одной молекулы молочной кислоты синтезируется макроэргических связей

- А. 4
- Б. 16
- В. 36
- Г. 38

*7. В суспензию митохондрий добавили цитрат и АДФ. Скорость окисления измеряли по поглощению O_2 . Через некоторое время реакция прекратилась. Чтобы она возобновилась нужно добавить:

- А. АТФ
- Б. НАДН
- В. ФАДН₂
- Г. АДФ

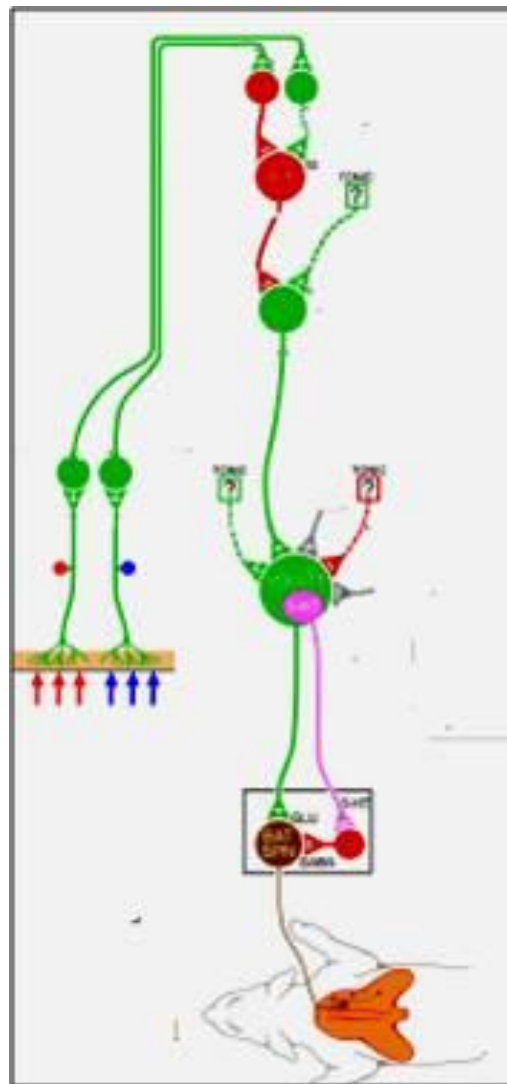
*8. Добавление к митохондриям олигомицина приводит к снижению как переноса электронов от НАДН на O , так и скорости образования АТФ. Последующее добавление ДНФ приводит к увеличению скорости переноса электронов без сопутствующего изменения скорости образования АТФ. Олигомицин ингибирует

- А. Первый дыхательный комплекс
- Б. Цитохромоксидаза
- В. АТФ-синтетаза
- Г. Разобщающий белок

9. Лабораторная работа. Определение интенсивности энергообмена у лабораторной мыши и лягушки выполнение работы №15 «Определение скорости потребления кислорода лабораторными грызунами в метаболиметре проточного типа» в практикуме[3].

Разделы 3-4. Терморегуляция. Терморецепторы

Рассмотрите схему нервных центров, регулирующих термогенез в бурой жировой ткани. Найдите на схеме кожные терморецепторы, нейроны установочной точки, нейроны сенсомоторной интеграции, нейроны-интеграторы 2 порядка, преганглионарные нейроны. Укажите их анатомическую локализацию.



Раздел 5. Эффекторы терморегуляции. Специализированные механизмы теплопродукции и теплоотдачи

Установите соответствие между приведенными в левом столбце примерами факультативного термогенеза и молекулярными механизмами в правом столбце:

Мышечная дрожь	Разобщение гидролиза АТФ и транспорта кальция в саркоплазматический ретикулум
Теплообразование в бурой жировой ткани	Разобщение гидролиза АТФ и цикла поперечного мостика
Са-зависимый термогенез в мышцах	Рассеивание энергии электрохимического градиента протонов водорода в ЭТЦ

Раздел 6. Температурные адаптации животных. Жизнь при экстремальных температурах. Гетеротермия.

1. В регуляции адаптации к низким температурам участвуют гормоны

- А. тироксин
- Б. инсулин
- В. глюкагон
- Г. альдостерон

2. Тиреоидные гормоны стимулируют энергообмен и теплообразование, выступая в качестве факторов транскрипции генов

- А. митохондриальных белков
- Б. синтетазы жирных кислот
- В. гликогенсинтетазы
- Г альбумина

3. Выберите правильные ответы. Относительное содержание бурой жировой ткани выше у

А. пищухи по сравнению с полевой мышью

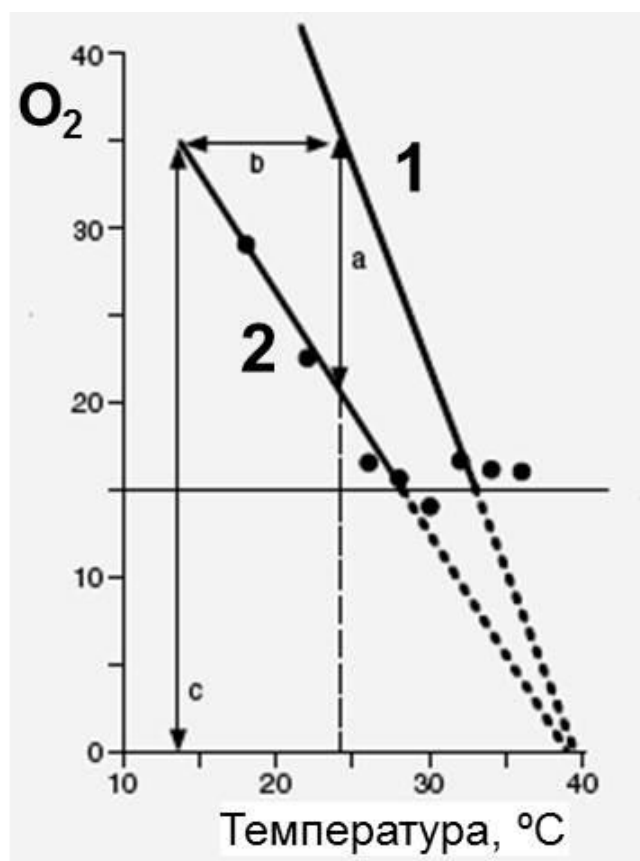
Б. суслика по сравнению с крысой

В. свиньи по сравнению с овцой

Г. домовой мыши по сравнению с кошкой

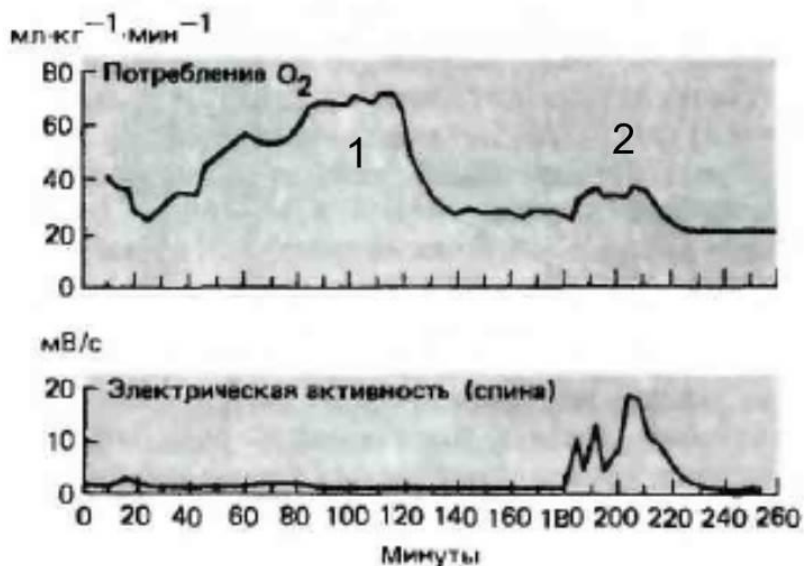
1. Только В 2. только Г 3. А и Б 4. Б и Г

*4. На рисунке представлены зависимости скорости потребления O_2 от температуры для двух животных одного вида, пола, возраста с одинаковой массой тела. Какая из двух прямых указывает на лучшее развитие мехового покрова?

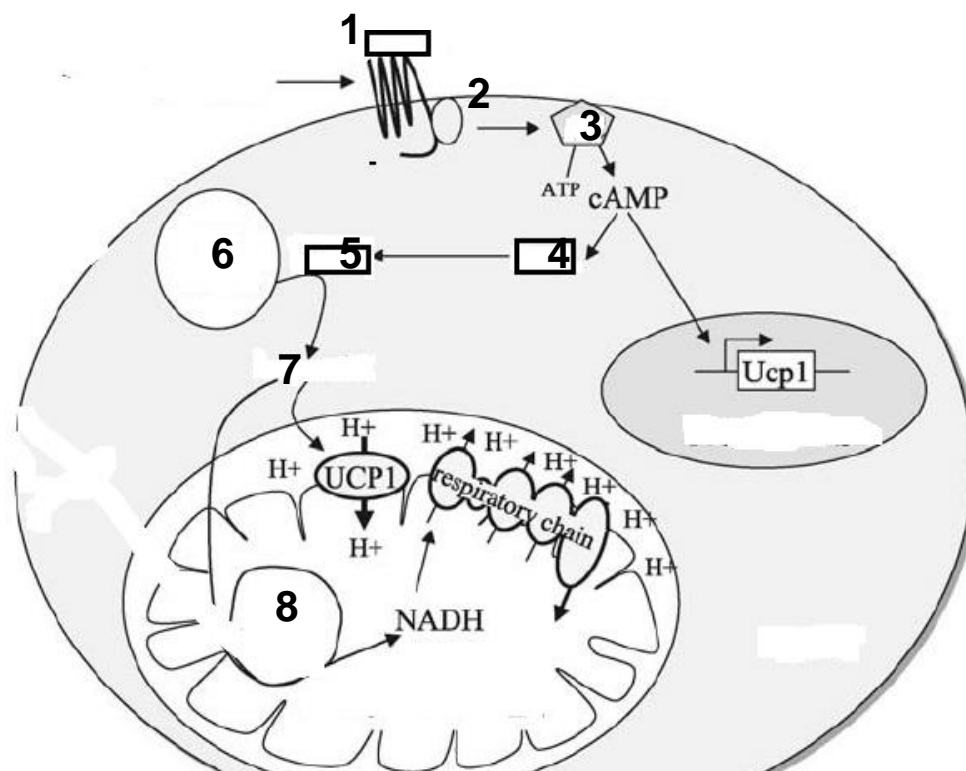


Раздел 7. Механизмы термогенеза бурой жировой ткани.

1. Какие процессы отражают цифры 1 и 2 на кривой скорости потребления кислорода пищухой при снижении температуры в респирометрической камере



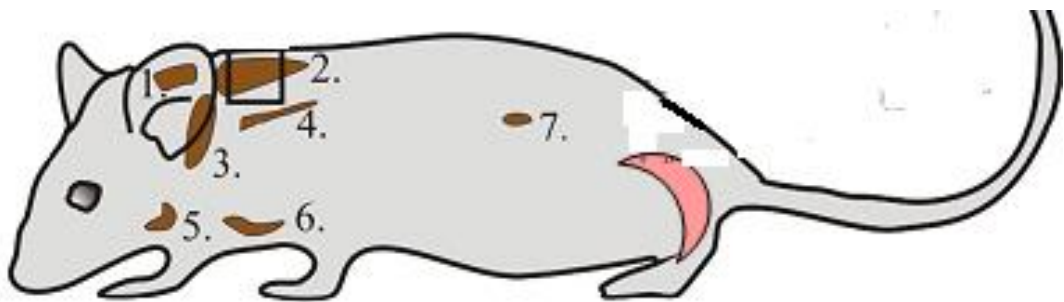
2. Вставьте вместо цифр названия элементов сигнального пути и связанных с термогенезом метаболических путей, активируемых норадреналином в буром адипоците



3. Лабораторная работа. Анатомо-морфологический анализ бурой жировой ткани мышей, адаптированных к разным температурам среды. Выполнение работы №1 «Анатомио-морфологические особенности жировых тканей лабораторных и свободнообитающих грызунов» в практикуме [3].

Раздел 8. Бурая жировая ткань современных млекопитающих на примере мышевидных грызунов из природных популяций Средней Сибири (по результатам собственных исследований)

1. Перерисуйте основные скопления бурой жировой ткани грызунов, дайте им правильные названия, укажите самое крупное у грызунов скопление бежевой жировой ткани.



Глава 3. АПРОБАЦИЯ МАТЕРИАЛОВ КУРСА.

Результаты исследования были апробированы на студентах Факультета биологии, географии и химии, КГПУ им. В.П. Астафьева, обучающихся по программе бакалавриата 43.03.05 «Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки)». Направленность (профиль) образовательной программы - биология и химия. Реализация происходила в рамках курсов «Физиология человека и животных с основами функциональной анатомии» и «Избранные главы физиологии». В ходе апробации были проведены: одно лекционное занятие по разделу «Общая структура энергообмена животных», семинар и контрольная работа с решением задач по заданной тематике, а также семинар с решением тестовых заданий по теме «Эволюция механизмов термогенеза у позвоночных животных».

Для проведения учебных занятий, помимо классических учебных аудиторий, использовалась лаборатория физиологии и биохимии энергообмена ФБГХ КГПУ.

В ходе лекции студенты ознакомились с общими положениями биотермодинамики и физиологии энергообмена. Обсуждалось понимание путей и механизмов трансформации энергии в живых клетках, использование термодинамических функций для оценки направления биохимического процесса. При рассмотрении общих положений физиологии энергообмена большее внимание уделялось молекулярно-клеточному уровню.

Данный лекционный материал является фундаментом для объяснения в дальнейшем высокой облигатной теплопродукции гомойотермов, для понимания механизмов факультативного термогенеза в бурой жировой ткани млекопитающих.

В ходе семинарских занятий рассмотрены механизмы окислительного фосфорилирования в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ), что является фундаментом для объяснения в дальнейшем высокой облигатной теплопродукции гомойотермов, а также для понимания механизмов

факультативного термогенеза в бурой жировой ткани млекопитающих. Разбиралась цепь превращений энергии от энергии химических связей окисляемых субстратов до энергии электрохимического потенциала протонов водорода на внутренней мембране митохондрии.

Обсуждались вопросы применения полученной информации для решения современных проблем медицины, таких как метаболический синдром, ожирение и т.д.

Методические рекомендации при работе над конспектом лекций и для подготовки к семинарским занятиям.

В ходе лекционных занятий вести конспектирование учебного материала. Обращать внимание на категории, формулировки, раскрывающие содержание тех или иных явлений и процессов, научные выводы и практические рекомендации. Желательно оставить в рабочих конспектах поля, на которых делать пометки из рекомендованной литературы, дополняющие материал прослушанной лекции, а также подчеркивающие особую важность тех или иных теоретических положений. Задавать преподавателю уточняющие вопросы с целью уяснения теоретических положений, разрешения спорных ситуаций. В ходе подготовки к семинарам изучить основную литературу, ознакомиться с дополнительной литературой, новыми публикациями в периодических изданиях: журналах, газетах и т.д. При этом учесть рекомендации преподавателя и требования учебной программы. Подготовить тезисы по всем учебным вопросам, выносимым на семинар. В ходе семинара каждый студент опирается на свои конспекты, сделанные на лекции, собственные выписки из учебников, первоисточников, статей, другой научной литературы. Своевременное и качественное выполнение самостоятельной работы базируется на соблюдении настоящих рекомендаций и изучении рекомендованной литературы.

ВЫВОДЫ

1. Курс «Сравнительная и эволюционная физиология энергообмена и терморегуляции» включает 9 крупных разделов, содержание которых отражает молекулярные механизмы и эволюционное появление тахиметаболизма, появление у позвоночных и совершенствование специализированных механизмов термогенеза от локального подогрева отдельных структур до терморегуляторного термогенеза млекопитающих и птиц, сравнительно-видовые особенности функционирования терморегуляции.

2. Текстовый материал представлен в виде лекций и семинарских занятий. Иллюстративный материал в основном представлен схемами, рисунками и таблицами. Оценочные средства включают в себя решение тестовых заданий и задач.

3. В рамках курса «Физиология человека и животных с основами функциональной анатомии» проведен семинар и контрольная с решением задач по общей физиологии энергообмена; в рамках курса «Избранные главы физиологии» проведен семинар «Эволюция механизмов термогенеза у позвоночных животных» с решением тестовых заданий. Составлены методические рекомендации при работе над конспектом лекций и семинарских занятий, представленных в данном курсе.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1) Елсукова, Е. И. Морфология бурой жировой ткани у самок узкочерепной полевки (*Microtus gregalis*) в природной популяции / Е. И. Елсукова, Е.В. Екимов, О.В. Мизонова, Е.Ю. Екимова // Зоологический журнал. - 2010. - Т.89. - С.620-624.
- 2) Елсукова, Е.И. Новый тип термогенных адипоцитов: происхождение, свойства, функции / Е.И. Елсукова, Л.Н. Медведев // В мире научных открытий. – 2016. – №8. – С.97-126.
- 3) Елсукова Е.И. Руководство к лабораторно-практическим занятиям по физиологии человека и животных: учебное пособие / Краснояр. гос. пед. ун-т им. В.П. Астафьева. – Красноярск, 2015. – 252 с.
- 4) Иванов, К.П. Современные медицинские проблемы энергообмена человека / К.П. Иванов // Вестник РАМН. 2013. Т.68. DOI: <http://dx.doi.org/10.15690/vramn.v68i6.674>
- 5) Кондратенко Ю. У животных, впадающих в спячку, нервные клетки обогреваются белком термогенином. / Ю. Кондратенко // http://elementy.ru/novosti_nauki/432400/
- 6) Медведев, Л. Н. Бурая жировая ткань: молекулярно – клеточные основы регулируемого термогенеза. / Л.Н. Медведев, Е.И. Елсукова // Красноярск: Изд – во «Амальгама» - 2002. – 528 с.
- 7) Мизонова, О. В. Энергообмен и биохимические особенности жировых тканей мышц линии ICR в условиях продолжительного ограничения питания. / О.В. Мизонова, Е.И. Елсукова, Л.Н. Медведев // Бюл. экспер. биол. и мед. - 2013. - Т.155, № 6. - С.706-709.
- 8) Резник, Н. Любовный жар миноги / Н. Резник // [Электронный ресурс]. URL: http://elementy.ru/nauchno-populyarnaya_biblioteka/432092
- 9) Сафронов, В.М. Адаптивные особенности терморегуляции и поддержания энергетического баланса у мышевидных грызунов / А. Сафронов // Вестник ТГУ. – 2009. - №4. С. 47-61.

10) Стасевич К. Жир белый, бурый, бежевый / К. Стасевич // Наука и жизнь. - 2014. - №11. С. 20-26.

11) Терешина Е.В. Возрастная дисфункция жировой ткани / Терешина Е.В.// Геронтология и гериатрия. – 2010. - Вып. 5 . - С. 98-101.

12) Трудолюбова, М.Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 313–316.

13) Adams, A. E., Carroll, A. M., Fallon, P. G. and Porter, R. K. (2008a). Mitochondrial uncoupling protein 1 expression in thymocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 772-776.

14) Adams, A. E., Hanrahan, O., Nolan, D. N., Voorheis, H. P., Fallon, P. and Porter, R. K. (2008b). Images of mitochondrial UCP 1 in mouse thymocytes using confocal microscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 115-117.

15) Affourtit, C., Quinlan, C. L. and Brand, M. D. (2012). Measurement of proton leak and electron leak in isolated mitochondria. *Methods Mol. Biol.* 810, 165-182.

16) Aquila, H., Link, T. A. and Klingenberg, M. (1985). The uncoupling protein from brown fat mitochondria is related to the mitochondrial ADP/ATP carrier. Analysis of sequence homologies and of folding of the protein in the membrane. *EMBO J.* 4, 2369-2376.

17) Aydin, J., Shabalina, I. G., Place, N., Reiken, S., Zhang, S.-J., Bellinger, A. M., Nedergaard, J., Cannon, B., Marks, A. R., Bruton, J. D. et al. (2008). Nonshivering thermogenesis protects against defective calcium handling in muscle. *FASEB J.* 22, 3919-3924.

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

- 19) Ballinger, M. A., Hess, C., Napolitano, M. W., Bjork, J. A. and Andrews, M. T. (2016). Seasonal changes in brown adipose tissue mitochondria in a mammalian hibernator: from gene expression to function. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 311, R325-R336.
- 20) Bartelt, A. and Heeren, J. (2014). Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat. Rev. Endocrinol.* 10, 24-36.
- 21) Bartness, T. J., Vaughan, C. H. and Song, C. K. (2010). Sympathetic and sensory innervation of brown adipose tissue. *Int. J. Obesity* 34, S36-S42.
- 22) Berg, F., Gustafson, U. and Andersson, L. (2006). The uncoupling protein 1 gene (UCP1) is disrupted in the pig lineage: a genetic explanation for poor thermoregulation in piglets. *PLoS Genet.* 2, 1178-1181.
- 23) Boeuf, S., Klingenspor, M., Van Hal, N. L., Schneider, T., Keijer, J. and Klaus, S. (2001). Differential gene expression in white and brown preadipocytes. *Physiol. Genomics* 7, 15-25.
- 24) Bonda-Ostaszewska, E. Seasonal and photoperiodic effects on lipid droplet size and lipid peroxidation in the brown adipose tissue of bank voles (*Myodes glareolus*) / E. Bonda-Ostaszewska, T. Wtostowski, A. Krasowska, P. Kozlowski // *Acta theriol.* -2012. - Vol.57. – P. 289-294
- 25) Bonet, M. L., Oliver, P. and Palou, A. (2013). Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. *Bba-Mol. Cell Biol. L* 1831, 969-985.
- 26) Boss, O., Samec, S., Paoloni-Giacobino, A., Rossier, C., Dulloo, A., Seydoux, J., Muzzin, P. and Giacobino, J.-P. (1997). Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett.* 408, 39-42.
- 27) Bouillaud, F., Weissenbach, J. and Ricquier, D. (1986). Complete cDNA-derived amino acid sequence of rat brown fat uncoupling protein. *J. Biol. Chem.* 261, 1487-1490.

- 28) Cadenas, S., Buckingham, J. A., Samec, S., Seydoux, J., Din, N., Dulloo, A. G. and Brand, M. D. (1999). UCP2 and UCP3 rise in starved rat skeletal muscle but mitochondrial proton conductance is unchanged. *FEBS Lett.* 462, 257-260.
- 29) Cadenas, S., Echtay, K. S., Harper, J. A., Jekabsons, M. B., Buckingham, J. A., Grau, E., Abuin, A., Chapman, H., Clapham, J. C. and Brand, M. D. (2002). The basal proton conductance of skeletal muscle mitochondria from transgenic mice overexpressing or lacking uncoupling protein-3. *J. Biol. Chem.* 277, 2773-2778.
- 30) Cannon, B. and Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.* 84, 277-359.
- 31) Carroll, A. M., Haines, L. R., Pearson, T.W., Brennan, C., Breen, E. P. and Porter, R. K. (2004). Immunodetection of UCP1 in rat thymocytes. *Biochem. Soc. Trans.* 32, 1066-1067.
- 32) Carroll, A. M., Haines, L. R., Pearson, T.W., Fallon, P. G., Walsh, C. M., Brennan, C. M., Breen, E. P. and Porter, R. K. (2005). Identification of a functioning mitochondrial uncoupling protein 1 in thymus. *J. Biol. Chem.* 280, 15534-15543.
- 33) Cinti, S. The adipose organ at a glance. // *Disease Models Mechanisms.* – 2012. - Vol. 5. - P. 588-594.
- 34) Crichton, P. G., Lee, Y. and Kunji, E. R. S. (2017). The molecular features of uncoupling protein 1 support a conventional mitochondrial carrier-like mechanism. *Biochimie* 134, 35-50.
- 35) Divakaruni, A. S. and Brand, M. D. (2011). The regulation and physiology of mitochondrial proton leak. *Physiology* 26, 192-205.
- 36) Divakaruni, A. S., Paradyse, A., Ferrick, D. A., Murphy, A. N. and Jastroch, M. (2014). Analysis and interpretation of microplate-based oxygen consumption and pH data. *Methods Enzymol.* 547, 309-354.
- 37) Elsukova, E.I. Physiological features of perigonadal adipose tissue containing uncoupling protein UCP1 in ICR mice. / E.I. Elsukova, L.N. Medvedev, O.V. Mizonova // *Bull. Exp. Bio. Med.* - 2016. - Vol. 161. - P. 347-350.

38) Emre, Y., Hurtaud, C., Ricquier, D., Bouillaud, F., Hughes, J. and Criscuolo, F. (2007). Avian UCP: The killjoy in the evolution of the mitochondrial uncoupling proteins. *J. Mol. Evol.* 65, 392-402.

39) Enerback, S., Jacobsson, A., Simpson, E. M., Guerra, C., Yamashita, H., Harper, M. E. and Kozak, L. P. (1997). Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. *Nature* 387, 90-94.

40) Feldmann, H. M., Golozoubova, V., Cannon, B. and Nedergaard, J. (2009). UCP1 Ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. *Cell Metab.* 9, 203-209.

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

42) Fleury, C., Neverova, M., Collins, S., Raimbault, S., Champigny, O., Levi Meyrueis, C., Bouillaud, F., Seldin, M. F., Surwit, R. S., Ricquier, D. et al. (1997). Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat. Genet.* 15, 269-272.

43) Gaudry, M. J. and Campbell, K. L. (2017). Evolution of UCP1 transcriptional regulatory elements across the mammalian phylogeny. *Front. Physiol.* 8, 670.

44) Gaudry, M. J., Jastroch, M., Treberg, J. R., Hofreiter, M., Paijmans, J. L. A., Starrett, J., Wales, N., Signore, A. V., Springer, M. S. and Campbell, K. L. (2017). Inactivation of thermogenic UCP1 as a historical contingency in multiple placental mammal clades. *Sci. Adv.* 3, e1602878.

45) Gesner, C. (1551). *Conradi gesneri medici tigurini historiae animalium: Lib 1 – de quadrupedibus viviparis* (Zü rich), 842.

46) Gimeno, R. E., Dembski, M., Weng, X., Deng, N. H., Shyjan, A.W., Gimeno, C. J., Iris, F., Ellis, S. J., Woolf, E. A. and Tartaglia, L. A. (1997). Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog-A potential molecular mediator of human thermogenesis. *Diabetes* 46, 900-906.

47) Golozoubova, V., Hohtola, E., Matthias, A., Jacobsson, A., Cannon, B. and

Nedergaard, J. (2001). Only UCP1 can mediate adaptive nonshivering thermogenesis in the cold. *FASEB J.* 15, 2048-2050.

48) Grabek, K. R., Diniz Behn, C., Barsh, G. S., Hesselberth, J. R. and Martin, S. L. (2015). Enhanced stability and polyadenylation of select mRNAs support rapid thermogenesis in the brown fat of a hibernator. *Elife* 4.

49) Granneman, J. G., Burnazi, M., Zhu, Z. and Schwamb, L. A. (2003). White adipose tissue contributes to UCP1-independent thermogenesis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285, E1230-E1236.

50) Guerra, C., Koza, R. A., Yamashita, H., Walsh, K. and Kozak, L. P. (1998). Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity. *J. Clin. Invest.* 102, 412-420.

51) Hampton, M., Melvin, R. G. and Andrews, M. T. (2013). Transcriptomic analysis of brown adipose tissue across the physiological extremes of natural hibernation. *PLoS ONE* 8, e85157.

52) Hayward, J. S. and Lisson, P. A. (1992). Evolution of brown fat: its absence in marsupials and monotremes. *Can. J. Zool.* 70, 171-179.

53) Heaton, G. M., Wagenvoord, R. J., Kemp, A. and Nicholls, D. G. (1978). Brown adipose-tissue mitochondria: photoaffinity labelling of the regulatory site of energy dissipation. *Eur. J. Biochem.* 82, 515-521.

54) Heldmaier, G. (1971). Zitterfreie Wärmebildung und Körpergröße bei Säugetieren. *Z. Vergl. Physiol.* 73, 222-247.

55) Heldmaier, G. and Hoffmann, K. (1974). Melatonin stimulates growth of brown adipose tissue. *Nature* 247, 224-225.

56) Hou, L., Shi, J., Cao, L., Xu, G., Hu, C. and Wang, C. (2017). Pig has no uncoupling protein 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 487, 795-800.

57) Hughes, D. A., Jastroch, M., Stoneking, M. and Klingenspor, M. (2009). Molecular evolution of UCP1 and the evolutionary history of mammalian non-shivering thermogenesis. *BMC Evol. Biol.* 9, 4.

- 58) Ishibashi, J. and Seale, P. (2010). Beige can be slimming. *Science* 328, 1113-1114.
- 59) Jastroch, M. (2017). Uncoupling protein 1 controls reactive oxygen species in brown adipose tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114, 7744-7746.
- 60) Jastroch, M. and Andersson, L. (2015). When pigs fly, UCP1 makes heat. *Mol. Metab.* 4, 359-362.
- 61) Jastroch, M., Wuertz, S., Kloas, W. and Klingenspor, M. (2005). Uncoupling protein 1 in fish uncovers an ancient evolutionary history of mammalian non-shivering thermogenesis. *Physiol. Genomics* 22, 150-156.
- 62) Jastroch, M., Withers, K.W., Taudien, S., Frappell, P. B., Helwig, M., Fromme, T., Hirschberg, V., Heldmaier, G., McAllan, B. M., Firth, B. T. et al. (2008). Marsupial uncoupling protein 1 sheds light on the evolution of mammalian non-shivering thermogenesis. *Physiol. Genomics* 32, 161-169.
- 63) Keipert, S. and Jastroch, M. (2014). Brite/beige fat and UCP1-is it thermogenesis? *Bba-Bioenergetics* 1837, 1075-1082.
- 64) Keipert, S. Brite/beige fat and UCP1 – is it thermogenesis? /S. Keipert, M. Jastroch // *Biochim. Biophys. Acta.* - 2014. - Vol. 1837. - P. 1075-1082.
- 65) Keipert, S., Kutschke, M., Lamp, D., Brachthäuser, L., Neff, F., Meyer, C. W., Oelkrug, R., Kharitonov, A. and Jastroch, M. (2015). Genetic disruption of uncoupling protein 1 in mice renders brown adipose tissue a significant source of FGF21 secretion. *Mol. Metab.* 4, 537-542.
- 66) Keipert, S., Kutschke, M., Ost, M., Schwarzmayer, T., van Schothorst, E. M., Lamp, D., Brachthäuser, L., Hamp, I., Mazibuko, S. E., Hartwig, S. et al. (2017). Long-term cold adaptation does not require FGF21 or UCP1. *Cell Metab.* 26, 437-446.
- 67) Klaus, S. Seasonal acclimation of bank voles and wood mice: nonshivering thermogenesis and thermogenic properties of brown adipose tissue mitochondria. / S. Klaus, G. Heldmaier, D. Ricquier // *J Comp Physiol B.* – 1988. – Vol. 158. – P. 157-164.

68) Klingenberg, M., Echtay, K. S., Bienengraeber, M., Winkler, E. and Huang, S. G. (1999). Structure-function relationship in UCP1. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 23 Suppl. 6, S24-S29.

69) Klingenspor, M. (2003). Cold-induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis. *Exp. Physiol.* 88, 141-148.

70) Kontani, Y., Wang, Y., Kimura, K., Inokuma, K.-I., Saito, M., Suzuki-Miura, T., Wang, Z., Sato, Y., Mori, N. and Yamashita, H. (2005). UCP1 deficiency increases susceptibility to diet-induced obesity with age. *Aging Cell* 4, 147-155.

71) Kozak, L.P. Brown fat thermogenesis and body weight regulation in mice: relevance to humans / L.P. Kozak, R. Koza, R. Anunciado-Koza // *International J Obesity.* - 2010. – Vol.34. – P. 523-527.

72) Levesque, D. L. and Lovegrove, B. G. (2014). Increased homeothermy during reproduction in a basal placental mammal. *J. Exp. Biol.* 217, 1535-1542.

73) Levesque, D. L., Lobban, K. D. and Lovegrove, B. G. (2014). Effects of reproductive status and high ambient temperatures on the body temperature of a free-ranging basoendotherm. *J. Comp. Physiol. B* 184, 1041-1053.

74) Li, Q. Cold adaptive thermogenesis in small mammals from different geographical zones of China / Q.Li, R.Sun, C.Huang, Z.Wang, X.Liu, J. Hou, J.Liu, L.Cai, N.Li, S.Zhang, Y.Wang // *Comparative Biochemistry and physiology.* – 2001. Vol.129. P. 949-961.

75) Li, Y. White, brite, and brown adipocytes: the evolution and heater organ in mammals / Y. Li, D. Lasar, T. Fromme, M. Klingenspor // *Canadian J. Zoology.* – 2014. – Vol.92. P.615-626.

76) Lin, J., Cao, C., Tao, C., Ye, R., Dong, M., Zheng, Q., Wang, C., Jiang, X., Qin, G., Yan, C. et al. (2017). Cold adaptation in pigs depends on UCP3 in beige adipocytes. *J. Mol. Cell Biol.* 9, 364-375.

77) Liu, J. Thermogenic properties in three rodent species from Northeastern China in summer. / J.Liu, R. Sun, D-H. Wang // *J Thermal biology.* 2006. Vol.31. P.172-176.

- 78) Liu, L., Zhang, J., Rheindt, F. E., Lei, F., Qu, Y., Wang, Y., Zhang, Y., Sullivan, C., Nie, W., Wang, J. et al. (2017). Genomic evidence reveals a radiation of placental mammals uninterrupted by the KPg boundary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114, E7282-E7290.
- 79) Liu, X. T., Rossmeisl, M., McClaine, J. and Kozak, L. P. (2003). Paradoxical resistance to diet-induced obesity in UCP1-deficient mice. *J. Clin. Invest.* 111, 759-759.
- 80) Loudon, A., Rothwell, N. and Stock, M. (1985). Brown fat, thermogenesis and physiological birth in a marsupial. *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* 81, 815-819.
- 81) Lovegrove, B. G., Lobban, K. D. and Levesque, D. L. (2014). Mammal survival at the Cretaceous-Palaeogene boundary: metabolic homeostasis in prolonged tropical hibernation in tenrecs. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 281.
- 82) McDevitt R.M., Long photophase is not a sufficient stimulus to reduce thermogenic capacity in winter-acclimatized short-tailed field voles (*Microtus agrestis*) during long-term cold acclimation / R.M. McDevitt, J.R. Speakman // *J. Comp. Physiol. B.* – 1994. – Vol.164. P.159-164.
- 83) Meredith, R. W., Janecka, J. E., Gatesy, J., Ryder, O. A., Fisher, C. A., Teeling, E. C., Goodbla, A., Eizirik, E., Simao, T. L. L., Stadler, T. et al. (2011). Impacts of the cretaceous terrestrial revolution and KPg extinction on mammal diversification. *Science* 334, 521-524.
- 84) Meyer, C. W., Willershauser, M., Jastroch, M., Rourke, B. C., Fromme, T., Oelkrug, R., Heldmaier, G. and Klingenspor, M. (2010). Adaptive thermogenesis and thermal conductance in wild-type and UCP1-KO mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 299, R1396-R1406.
- 85) Mzilikazi, N., Jastroch, M., Meyer, C. W. and Klingenspor, M. (2007). The molecular and biochemical basis of nonshivering thermogenesis in an African endemic mammal, *Elephantulus myurus*. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 293, R2120-R2127.

86) Nedergaard, J. The browning of white adipose tissue: some burning issues. / J. Nedergaard, B. Cannon // *Cell Metab.* - 2014. - Vol. 20. - P. 396-407.

87) Nedergaard, J., Bengtsson, T. and Cannon, B. (2007). Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293, E444-E452.

88) Nicol, S. C., Pavlides, D. and Andersen, N. A. (1997). Nonshivering thermogenesis in marsupials: absence of thermogenic response to beta 3- adrenergic agonists. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 117, 399-405.

89) O'Leary, M. A., Bloch, J. I., Flynn, J. J., Gaudin, T. J., Giallombardo, A., Giannini, N. P., Goldberg, S. L., Kraatz, B. P., Luo, Z.-X., Meng, J. et al. (2013). The placental mammal ancestor and the post-K-Pg radiation of placentals. *Science* 339, 662-667.

90) Oelkrug, R. Brown fat in a protoendothermic mammal fuels eutherian evolution. / R. Oelkrug, N. Goetze, C. Exner, Y. Lee, G.K. Ganjam, M. Kutschke, S. Muller, S. Stohr, M.H. Tscho, P.G. Crichton, G. Heldmaier, M. Jastroch, C. Meyer // *Nat. Commun.* - 2013. - Vol. 4. - doi: 10.1038/ncomms3140

91) Oelkrug, R., Exner, N. G. C., Exner, C., Lee, Y., Ganjam, G. K., Kutschke, M., Muller, S., Stohr, S., Tschop, M. H., Crichton, P. G. et al. (2013). Brown fat in a protoendothermic mammal fuels eutherian evolution. *Nat. Commun.* 4, 2140.

92) Oelkrug, R., Heldmaier, G. and Meyer, C. W. (2011). Torpor patterns, arousal rates, and temporal organization of torpor entry in wildtype and UCP1-ablated mice. *J. Comp. Physiol. B* 181, 137-145.

93) Oelkrug, R., Polymeropoulos, E. T. and Jastroch, M. (2015). Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance. *J. Comp. Physiol. B* 185, 587-606.

94) Pebay-Peyroula, E., Dahout-Gonzalez, C., Kahn, R., Trézéguet, V., Lauquin, G. J.-M. and Brandolin, R. (2003). Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside. *Nature* 426, 39-44.

95) Perrot-Sinal, T.S. Plasma testosterone levels are related to various aspects of locomotor activity in wild-caught male meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). / T.S. Perrot-Sinal, D. Innes, M. Kavaliers, K.P. Ossenkopp // *Physiol. Behav.* - 1998. - Vol. 64. - P. 31-36.

96) Petrovic, N., Walden, T. B., Shabalina, I. G., Timmons, J. A., Cannon, B. and Nedergaard, J. (2010). Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J. Biol. Chem.* 285, 7153-7164.

97) Polymeropoulos, E. T., Jastroch, M. and Frappell, P. B. (2012). Absence of adaptive nonshivering thermogenesis in a marsupial, the fat-tailed dunnart (*Sminthopsis crassicaudata*). *J. Comp. Physiol. B* 182, 393-401.

98) Poppitt, S. D., Speakman, J. R. and Racey, P. A. (1994). Energetics of reproduction in the lesser hedgehog tenrec, *Echinops telfairi* (Martin). *Physiol. Zool.* 67, 976-944.

99) Rasmussen, A. T. (1923). The so-called hibernating gland. *J. Morphol.* 38, 147-205.

100) Ricquier, D. and Kader, J.-C. (1976). Mitochondrial protein alteration in active brown fat: a sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoretic study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 73, 577-583.

101) Rose, R. W., West, A. K., Ye, J. M., McCormick, G. H. and Colquhoun, E. Q. (1999). Nonshivering thermogenesis in a marsupial (the tasmanian bettong *Bettongia gaimardi*) is not attributable to brown adipose tissue. *Physiol. Biochem. Zool.* 72, 699-704.

102) Rosen, E.D., What we talk about when we talk about fat? / E.D. Rosen, B.M. Spiegelman B.M. // *Cell* – 2014 - Vol. 156. - P. 20-44.

103) Rousset, S., Alves-Guerra, M. C., Mozo, J., Miroux, B., Cassard-Doulcier, A. M., Bouillaud, F. and Ricquier, D. (2004). The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes* 53 Suppl. 1, S130-S135.

104) Rousset, S., Alves-Guerra, M.-C., Ouadghiri-Bencherif, S., Kozak, L. P., Miroux, B., Richard, D., Bouillaud, F., Ricquier, D. and Cassard-Doulcier, A.-M. (2003). Uncoupling protein 2, but not uncoupling protein 1, is expressed in the female mouse reproductive tract. *J. Biol. Chem.* 278, 45843-45847.

105) Rowlatt, U., Mrosovsky, N. and English, A. (1971). A comparative survey of brown fat in the neck and axilla of mammals at birth. *Biol. Neonate* 17, 53-83.
Schwartz, T. S., Murray, S. and Seebacher, F. (2008). Novel reptilian uncoupling proteins: molecular evolution and gene expression during cold acclimation. *Proc. Biol. Sci.* 275, 979-985.

106) Seale, P., Bjork, B., Yang, W. L., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S. H., Scimè, A., Devarakonda, S., Conroe, H. M., Erdjument-Bromage, H. et al. (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature* 454, U961-U927.

107) Shabalina, I. G., Petrovic, N., de Jong, J. M. A., Kalinovich, A. V., Cannon, B. and Nedergaard, J. (2013). UCP1 in brite/beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic. *Cell Rep.* 5, 1196-1203.

108) Shore, A., Emes, R. D., Wessely, F., Kemp, P., Cillo, C., D'Armiento, M., Hoggard, N. and Lomax, M. A. (2012). A comparative approach to understanding tissue-specific expression of uncoupling protein 1 expression in adipose tissue. *Front. Genet.* 3, 304.

109) Smith, R. (1961). Thermogenic activity of the hibernating gland in the coldacclimated rat. *Physiologist* 4, 113.

110) Smith, R. E. and Horwitz, B. A. (1969). Brown fat and thermogenesis. *Physiol. Rev.* 49, 330-425.

111) Stier, A., Bize, P., Hbold, C., Bouillaud, F., Massemin, S. and Criscuolo, F. (2014). Mitochondrial uncoupling prevents cold-induced oxidative stress: a case study using UCP1 knockout mice. *J. Exp. Biol.* 217, 624-630.

112) Trzcionka, M., Withers, K. W., Klingenspor, M. and Jastroch, M. (2008). The effects of fasting and cold exposure on metabolic rate and mitochondrial proton

leak in liver and skeletal muscle of an amphibian, the cane toad *Bufo marinus*. *J. Exp. Biol.* 211, 1911-1918.

113) Ukropec, J., Anunciado, R. P., Ravussin, Y., Hulver, M. W. and Kozak, L. P. (2006). UCP1-independent thermogenesis in white adipose tissue of coldacclimated *Ucp1(-/-)* mice. *J. Biol. Chem.* 281, 31894-31908.

114) Vaughan, T., Ryan, J. and Czaplewski, N. (2000). *Mammalogy*, 4th edn. Philadelphia: Saunders College Publishing.

115) Wang, J. Seasonal regulations of energetics, serum concentrations of leptin, and uncoupling protein content of brown adipose tissue in root voles (*Microtus oeconomus*) from the Qinghai-Tibetan plateau / J. Wang, Y. Zhang, D. Wang // *J. Comp. Physiol. B.* – 2006. – Vol. 6. – P.240-249.

116) Wang, Y. The great roundleaf bat (*Hipposideros armiger*) as a good model for cold-induced browning of intra-abdominal white adipose tissue. / Y. Wang, T. Zhu, S. Ke, N. Fang, D. Irwin, M. Lei, J. Zhang, H. Shi, S. Zhang, Z. Wang // *Plos One.* - 2014. - Vol. 9: e112495. doi: 10.1371/journal.pone.0112495.

117) Wu, J. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown. / J. Wu, P. Cohen, B. M. Spiegelman // *Genes Dev.* - 2013. - Vol. 27. - P. 234-250.

118) Wu, J., Cohen, P. and Spiegelman, B. M. (2013). Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes Dev.* 27, 234-250.

119) Xue, B., Rim, J.-S., Hogan, J. C., Coulter, A. A., Koza, R. A. and Kozak, L. P. (2007). Genetic variability affects the development of brown adipocytes in white fat but not in interscapular brown fat. *J. Lipid Res.* 48, 41-51.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение А

Эволюция механизмов факультативного термогенеза, основанного на митохондриальном разобщении

Evolution of signs of facultative thermogenesis based on mitochondrial dissociation

Н.А. Гурков

N.A. Gurkov

Научный руководитель Е. И. Елсукова канд. биол. наук, доцент

Scientific adviser **E.I. Elsukova** Candidate of Biological Sciences, Associate

Professor

Бурая жировая ткань, разобщающий белок, термогенез, сравнительная физиология, эволюция.

Эволюционные аспекты физиологии энергообмена и терморегуляции бурой жировой ткани (БЖТ) в настоящее время достаточно мало изучены. Роль же эволюции в формировании пойкилотермии и гомойотермии, а также различных механизмов обогрева организма имеет огромную важность, для понимания развития и функционирования данных процессов.

Brown adipose tissue, uncoupling protein, thermogenesis, comparative physiology, evolution.

The evolutionary aspects of the physiology of energy metabolism and thermoregulation of brown adipose tissue (BAT) are currently insufficiently studied. The role of evolution in the formation of poikilothermy and homoiothermy, as well as various mechanisms of heating the body is of great importance for understanding the development and functioning of these processes.

Эндогенное производство тепла является одним из самых захватывающих эволюционных достижений природы и обеспечивает увеличение скорости метаболизма, активности, размножения, функционирования мозга и многих других процессов, которые не зависят от температуры окружающей среды.

Эндотермия независимо развивалась в различных группах животных, но только млекопитающие имеют бурый жир - специализированный орган, который позволяет им генерировать тепло для поддержания постоянной высокой температуры тела [8,70,91]. В отличие от типичной белой жировой ткани (БелЖТ), которая в основном накапливает питательные вещества в виде крупных капель, большое количество клеток БЖТ обеспечивает более легкий и быстрый процесс расщепления и окисления липидов [3]. Высокая митохондриальная масса в бурых адипоцитах, обеспечивает высокую выработку энергии от окисления липидов и глюкозы; митохондриальный разобщающий белок 1 (UCP1) используется для быстрого рассеивания этой энергии в виде тепла вместо синтеза АТФ. UCP1 у млекопитающих, по-видимому, в основном экспрессируется в различных местах БЖТ и индуцируется в БелЖТ при различных физиологических стрессовых состояниях, включая воздействие холода [2]. Эти UCP1-позитивные клетки с буроподобными функциональными признаками [9] были названы бежевой жировой тканью [4,1].

Вследствие повторного открытия БЖТ у взрослых людей [6], теперь она стала центром медицинских исследований на людях, которые сталкиваются с глобальной эпидемией метаболического синдрома. Исследователи надеются, что активность UCP1 и БЖТ можно использовать для лечения ожирения и его сопутствующих заболеваний, таких как диабет, и сейчас это является основным направлением исследований бурой жировой ткани [1].

Отслеживание эволюции UCP1 и БЖТ с использованием сравнительных подходов позволило исследователям определить, когда эволюционировали БЖТ и UCP1. Выявление причин эволюции термогенных жировых тканей помогает понять механизм генетического и метаболического программирования, тем самым выясняя, что было реализовано в ходе эволюции, чтобы обеспечить термогенез.

В ходе исследований обнаружилось присутствие UCP1 у костистых рыб и, таким образом можно сделать выводы, что UCP1 должен присутствовать до

момента расхождения позвоночных и лопастных позвоночных животных[5]. В последующих исследованиях сообщалось об экспрессии ортолога UCP1 у амфибий, и было показано, что ген UCP1 был уничтожен в линии Sauropsida, включающей рептилий и птиц[10]. В монотремной линии ген UCP1 был обнаружен в геномных базах утконоса. Недавно в проектах секвенирования РНК утконоса (*Ornithorhynchus anatinus*) была выявлена интактная рибонуклеиновая кислота (мРНК) UCP1, что демонстрирует присутствие экспрессии гена UCP1 в монотремах [3].

UCP1 экспрессируется в сумчатой линии у представителей фауны Австралии и Южной Америки. Интересно, что существуют различия в регуляции экспрессии UCP1, по крайней мере, у австралийских сумчатых. Хотя воздействие холода запускает экспрессию UCP1 у *S. crassicaudata*, мРНК UCP1 не обнаруживается у взрослого, подвергшегося воздействию холода. Несмотря на то, что индуцированные холодом уровни мРНК UCP1 у *S. crassicaudata* предполагают некоторую функцию адаптивного несократительного термогенеза, метаболический ответ на норадреналин, который сообщает об активности БЖТ, не выявил адаптации к холоду [7]. Как сумчатые выделяют тепло и играет ли для них роль БЖТ, остается нерешенным.

Хотя экспрессия UCP1 у млекопитающих, по-видимому, специфична для бурой и бежевой жировых тканей, имеются некоторые сообщения об экспрессии UCP1 в тимусе мышей и крыс [6]. Направление экспрессии гена UCP1 в жировую ткань должно развиваться до дивергенции сумчатых и плацентарных, но после дивергенции амфибий. Австралийские и южноамериканские сумчатые проявляют жировую специфическую экспрессию, тогда как мРНК UCP1 не обнаружена в жировых отложениях костистых рыб или земноводных [5,49]. У карповых экспрессия UCP1 проявляется в печени, в почках и в головном мозге. Холодная вода снижает уровень мРНК UCP1 в печени, тогда как уровни мРНК UCP1 в головном мозге повышаются, что указывает на серьезные изменения в

регуляции транскрипции UCP1 в ходе эволюции от экзотермических позвоночных к млекопитающим.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Bartelt, A. and Heeren, J. (2014). Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat. Rev. Endocrinol.* 10, 24-36.
- 2) Bonet, M. L., Oliver, P. and Palou, A. (2013). Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. *Bba-Mol. Cell Biol. L* 1831, 969-985.
- 3) Golozoubova, V., Hohtola, E., Matthias, A., Jacobsson, A., Cannon, B. and Nedergaard, J. (2001). Only UCP1 can mediate adaptive nonshivering thermogenesis in the cold. *FASEB J.* 15, 2048-2050.
- 4) Ishibashi, J. and Seale, P. (2010). Beige can be slimming. *Science* 328, 1113-1114.
- 5) Jastroch, M., Wuertz, S., Kloas, W. and Klingenspor, M. (2005). Uncoupling protein 1 in fish uncovers an ancient evolutionary history of mammalian nonshivering thermogenesis. *Physiol. Genomics* 22, 150-156.
- 6) Nedergaard, J., Bengtsson, T. and Cannon, B. (2007). Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293, E444-E452.
- 7) Polymeropoulos, E. T., Jastroch, M. and Frappell, P. B. (2012). Absence of adaptive nonshivering thermogenesis in a marsupial, the fat-tailed dunnart (*Sminthopsis crassicaudata*). *J. Comp. Physiol. B* 182, 393-401.
- 8) Rousset, S., Alves-Guerra, M. C., Mozo, J., Miroux, B., Cassard-Doulcier, A. M., Bouillaud, F. and Ricquier, D. (2004). The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes* 53 Suppl. 1, S130-S135.
- 9) Shabalina, I. G., Petrovic, N., de Jong, J. M. A., Kalinovich, A. V., Cannon, B. and Nedergaard, J. (2013). UCP1 in brite/beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic. *Cell Rep.* 5, 1196-1203.

10) Schwartz, T. S., Murray, S. and Seebacher, F. (2008). Novel reptilian uncoupling proteins: molecular evolution and gene expression during cold acclimation. *Proc. Biol. Sci.* 275, 979-985.

Приложение Б
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАНИПУЛЯЦИИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ
МЕХАНИЗМОВ АДИПОГЕНЕЗА

Гурков Н.А.

КГПУ им. В.П. Астафьева e-mail: nkitosgurkov@mail.ru

Научный руководитель: Елсукова Е.И., к.б.н. доцент кафедры биологии и
экологии КГПУ им. В.П. Астафьева

Ключевые слова: нокаут и нокдаун генов, белая и бурая жировые ткани, бежевые адипоциты, термогенез.

Адипогенез и механизмы его регуляции – один из центральных вопросов современной фундаментальной физиологии и прикладных биомедицинских исследований. Значительный прогресс в понимании этих механизмов достигнут с помощью подходов, включающих генетические манипуляции – нокаут и нокдаун генов, продукты которых предполагаются в качестве ключевых дифференцировочных и транскрипционных факторов. В предлагаемой работе обсуждаются некоторые значимые результаты в данной области исследований.

Gurkov N.A.

KSPU named after V.P. Astafiev e-mail: nkitosgurkov@mail.ru

Scientific adviser: Elskova E.I., c.b.s. Associate Professor of the Department of
Biology and Ecology KSPU named after V.P. Astafiev

METHODS OF KNOCKOUTS OF VARIOUS GENES TO ACTIVATE BEIGE ADIPOCYTES

Key words: gene knockout, gene knockdown white and brown adipose tissues, beige adipocytes, thermogenesis.

Adipogenesis and mechanisms of its regulation is one of the central issues of modern fundamental physiology and applied biomedical research. Significant progress has been made in understanding these mechanisms through approaches that include genetic manipulation – the knockout and knockdown of genes whose products are thought to be key differentiating and transcribing factors. In this paper, we discuss some relevant results in this field of study.

Прошло уже более 10-ти лет как были обнаружены методами позитронно-эмиссионной томографии и молекулярного зондирования скопления термогенно-компетентной бурой и бежевой жировых тканей (БЖТ и БежЖТ) у взрослого человека [4]. На сегодняшний день основные сведения о термогенных жировых тканях у крупных млекопитающих получены именно у человека. Тем не менее, их суммарная термогенная активность даже при холодовых воздействиях остается низкой, судя по данным калориметрии. Можно ли активировать БЖТ и БежЖТ у человека в зрелом возрасте? – вопрос, представляющий не только фундаментальный, но и практический интерес. На сегодняшний день наиболее распространенным подходом к изучению механизмов реактивации БЖТ являются генетические манипуляции, среди которых доминируют нокаут и нокдаун генов, продукты которых вовлечены в регуляцию транскрипции ростовых и дифференцировочных факторов адипогенеза. Целью данной работы является анализ результатов исследований термогенных жировых тканей с использованием метода генетического нокаута.

Сущность метода заключается в удалении и вывода из рабочего состояния определенного гена. Таким образом, получают организм, «нокаутный» по неработающим генам.

В отличие от этого метода – генетический нокдаун позволяет снизить экспрессию одного или нескольких генов при помощи изменения соответствующей последовательности нуклеотидов, либо при помощи короткого олигонуклеотида, комплементарного соответствующей молекуле мРНК.

В большинстве этих экспериментов выявлено существенное влияние изучаемых генов на энергетический баланс жировой ткани у грызунов.

Другой белок, обсуждаемый в качестве возможного терапевтического метода воздействия для активации функции БЖТ, является одним из элементов внутриклеточного каскада передачи сигнала от р62 (нуклеопорин 62) [6]. Когда данный ген был специально нокаутирован в адипоцитах, наблюдалось значительное снижение экспрессии разобщающего белка UCP1 в бурых и бежевых депо. И наоборот, в линии *Muf+* предшественников нокдаун фосфатазы и тензинового гомолога (PTEN), который отрицательно регулирует активность фосфатидилинозитола 3 - киназы, приводит к увеличению бурых и белых адипоцитов [6]. Это говорит о том, что оба типа клеток имеют происхождение *Muf+*, но без воздействия каких – либо внешних факторов липогенный путь развития в них ограничен.

TRIP-Br2 является еще одним новым фактором, который, как было показано, положительно связан с развитием белой жировой ткани, хотя эта связь гораздо более сильно выражена у мужчин, чем у женщин [6]. Исследования, в которых производился нокдаун TRIP-Br2 у грызунов, продемонстрировали стимулирующий эффект на БЖТ.

Эти и многие другие генетические манипуляции выполнены пока на лабораторных мышах, функционирование жировых тканей у которых существенно отличается от человека, других крупных млекопитающих. В связи с этим поднимается вопрос о более валидных лабораторных моделях, в частности о перспективах использования овцы в качестве лабораторной модели человека [7]. Полученные даже на грызунах результаты пока не получили

всестороннего анализа, который должен включать наблюдение за состоянием не только жировых тканей и метаболических показателей крови, но и других функциональных систем, регистрацию продолжительности жизни и определение причин смерти. Тем не менее, по мере установления сопоставимых неинвазивных и безопасных методов индукции термогенных адипоцитов, возможен значительный прогресс при изучении взаимодействия генотипа, возраста, рациона питания и окружающей среды [5].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. J. Whittle, S. Carobbio, L. Martins et al., “BMP8B increases brown adipose tissue thermogenesis through both central and peripheral actions,” *Cell*, vol. 149, pp. 871–885, 2012.
2. A. L Basse, K. Dixen, R. Yadav, M. P Tygesen, K. Qvortrup, K. Kristiansen, B. Quistorff, R. Gupta, J. Wang and J. B Hansen., “Global gene expression profiling of brown to white adipose tissue transformation in sheep reveals novel transcriptional components linked to adipose remodeling,” *BMC*, vol. 16, pp. 1-19. 2015.
3. C. W. Liew, J. Boucher, J. K. Cheong et al., “Ablation of TRIPBr2, a regulator of fat lipolysis, thermogenesis and oxidative metabolism, prevents diet-induced obesity and insulin resistance,” *Nature Medicine*, vol. 19, pp. 217–226, 2013.
4. G. H. Vijgen, N. D. Bouvy, G. J. Teule et al., “Increase in brown adipose tissue activity after weight loss in morbidly obese subjects,” *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 97, pp. 1229–1233, 2012.
5. J. Sanchez-Gurmaches, C. M. Hung, C. A. Sparks, Y. Tang, H. Li, and D. A. Guertin, “PTEN loss in the Myf5 lineage redistributes body fat and reveals subsets of white adipocytes that arise from Myf5 precursors,” *Cell Metabolism*, vol. 16, pp. 348–362, 2012.
6. M. E. Symonds and H. Budge, “How promising is thermal imaging in the quest to combat obesity?” *Imaging in Medicine*, vol. 4, pp. 589–591, 2012.

7. T. D. Muller, S. J. Lee, M. Jastroch et al., “P62 Links betaadrenergic input to mitochondrial function and thermogenesis,” *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 123, pp. 469–478, 2013.

Приложение В.

Исследовательская работа как наиболее доступный и рабочий метод повышения научной мотивации обучающихся в сфере естественнонаучного образования.

Research work as the most accessible and working method of increasing the scientific motivation of students in the field of natural science education.

Н.А. Гурков

N.A. Gurkov

Научный руководитель: Елсукова Елена Ивановна, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и методики обучения биологии

Research supervisor: Elsukova Elena Ivanovna, associate professor of human physiology and technique of training of biology

Ключевые слова: Физиология, морфология, белая жировая ткань, бурая жировая ткань, свободнообитающие грызуны, лабораторные мыши, препарирование.

Physiology, morphology, white adipose tissue, brown adipose tissue, free-roaming rodents, laboratory mice, dissection.

Аннотация: в статье обсуждается актуальность и необходимость самостоятельной работы обучающихся и их непосредственное участие в лабораторном эксперименте для повышения научного интереса к естественнонаучному образованию.

In the article discusses the relevance and necessity of independent work of students and their direct participation at the laboratory experiment to increase the scientific interest in natural science education.

Исследовательская деятельность учащихся в данный момент достаточно актуальна в современной педагогике, так как позволяет развивать УУД учеников[1,3]. Главной целью исследования является развитие личности

учащегося, его творческих способностей, а также освоение новых видов деятельности в любой культурной сфере[2]. В результате исследовательской деятельности происходит активизация личностной позиции учащегося на основе самостоятельно приобретенных знаниях, развитие исследовательского типа мышления.

В 2016-2017 учебном году на базе ФБГХ началась реализация проекта по погружению старшеклассников, ориентированных к углубленному изучению дисциплин естественно-научного цикла в научную среду. Школьники 10 «С» класса лицея №1 г. Красноярска прикреплялись к научным руководителям из числа сотрудников и студентов факультета и еженедельно в течение одного дня занимались выполнением предложенных им научно-исследовательских проектов. В рамках проекта «Сравнительная физиология жировых тканей» работала ученица Козлова М.А.

Пояснительная записка к исследовательской работе учащейся Козловой М.А. «Сравнительная характеристика жировых тканей грызунов из природных популяций и лабораторных мышей»

Работа выполнена на базе лаборатории биохимии и физиологии энергообмена КГПУ им. В.П. Астафьева и является частью совместного научно-исследовательского проекта КГПУ и КрасГМУ. Жировые ткани получали от лабораторных мышей линии ICR и от отловленных в окрестностях Красноярска грызунов, относящихся к родам: серые полевки (*Microtus*), лесные полевки (*Cletrionomys*), лесные и полевые мыши (*Apodemus*), домовые мыши (*Mus musculus*).

Целью работы было анатомо-морфологическая характеристика жировых тканей свободнообитающих грызунов в сравнении с лабораторными мышами.

Цель реализовалась через следующие задачи:

- 1. Подготовка аналитического обзора литературы по теме проекта**
- 2. Освоение методов выделения и анатомо-морфологической характеристики БЖТ и БелЖТ**

Основные этапы эксперимента

- 1) Подготовка вивария на базе ФБГХ КГПУ им. В.П. Астафьева и создание всех необходимых условий для содержания лабораторных мышей, а также отлов свободнообитающих грызунов.
- 2) Освоение методики проведения лабораторного эксперимента
- 3) Подготовка оборудования, затем препарирование и последующее извлечение необходимых жировых скоплений для оценки морфо – функционального состояния ткани и дальнейших потенциальных исследований.
- 4) Подведение итогов и формирование конечных выводов.

Анализ работы обучающегося

На протяжении всего эксперимента Мария проявляла большой интерес к работе лаборатории, кроме задач, поставленных перед нею в связи с выполнением проекта, ухаживала за экспериментальными животными. Девочка очень инициативна, самостоятельно освоила методику оценки общей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности мышей в тесте «открытое поле», надеется продолжить исследовательскую работу в лаборатории в следующем учебном году.

Запланированный эксперимент выполнен ею полностью. Методику препарирования освоила легко, провела анализ полученных результатов. Проявила самостоятельность в подготовке доклада и презентации к нему. По итогам проекта на конференции «Молодежь и наука» ее работа вызвала очень

большой резонанс. Было задано много вопросов по теме доклада, на которые Мария с легкостью дала ответ.

Таким образом, четкое планирование работы по проекту, составление инструкций к эксперименту позволило школьнице легко справиться с задачами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1) Ермилин, А.И. Культурные и педагогические ресурсы тьюторства в дополнительном научном образовании школьников / А.И. Ермилин, Е.В. Ермилина // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 3.; URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=13277>

2) Кельсина, А.С. Исследовательская деятельность школьников как одно из основных направлений работы научно-образовательного центра ИСЭРТ РАН /А.С. Кельсина // Современные научные исследования и инновации. - 2012. № 5 [Электронный ресурс]. URL: <http://web.snauka.ru/issues/2012/05/>

3) Семенов, С.Е. Исследовательская деятельность школьников в лучших школах мира и России / С. Семенов // <http://chem-teacher.ru/?p=2174>