

## ДИНАМИКА РАЗОБЩАЮЩЕГО БЕЛКА UCP1 В ЖИРОВЫХ ТКАНЯХ АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ ICR В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2023 г. А. В. Якуненок<sup>1,\*</sup>, Е. И. Елсукова<sup>1</sup>, И. О. Наточий<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева, Красноярск, Россия

\*e-mail: avy0905@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.03.2023 г.

После доработки 16.05.2023 г.

Принята к публикации 29.05.2023 г.

Разобщающий белок UCP1 в митохондриях бурых и бежевых адипоцитов обеспечивает продукцию тепла за счет разобщения процессов дыхания и окислительного фосфорилирования. Факты положительного влияния присутствия в жировых депо адипоцитов с экспрессией белка UCP1 на показатели метаболического здоровья организма стимулируют интерес к изучению возрастной динамики белка UCP1. Имеющиеся сведения немногочисленны, в основном получены для предрасположенной к ожирению линии мышей C57Bl/6J и охватывают либо ранний, либо поздний онтогенез. В нашей работе впервые получены данные об экспрессии белка UCP1 в жировых тканях аутбредных мышей ICR в период от окончания грудного вскармливания до старости. Пробы межлопаточной бурой жировой ткани, паховой и окологонадной белой жировой ткани получены у мышей в возрасте 20 сут, 1,5, 6 и 18 мес. Уровни экспрессии белка UCP1 оценивали с помощью вестерн-блоттинга. В паховом депо относительная экспрессия белка UCP1 снижалась в 2 раза между 20-суточным и 1,5-месячным возрастом; у мышей старше 1,5 мес полоса UCP1 на блотах не определялась. В окологонадном депо белок UCP1 обнаружен только в 30% проб 1,5- и 6-месячных мышей, величина относительной экспрессии была на порядок ниже по сравнению с паховым депо. В бурой жировой ткани статистически значимые изменения экспрессии белка UCP1 не выявлены. Обсуждается физиологическая роль популяции UCP1-экспрессирующих клеток в окологонадном депо, а также возможная связь сроков и темпов снижения экспрессии UCP1 в период роста и созревания репродуктивной функции с активацией липогенеза в паховой жировой ткани.

*Ключевые слова:* разобщающий белок, относительная экспрессия, онтогенез, бурая и белая жировые ткани

DOI: 10.31857/S0044452923040083, EDN: YYFQFT

### ВВЕДЕНИЕ

Разобщающий белок 1 (uncoupling protein 1 – UCP1) во внутренней мембране митохондрий адипоцитов бурой жировой ткани (БЖТ) и бежевых адипоцитов осуществляет транспорт  $H^+$  из межмембранного пространства в матрикс, разобщая окислительное фосфорилирование и дыхание, продуцируя тепло [1, 2]. Бурая жировая ткань – специализированный термогенный орган млекопитающих с высокой мощностью теплообразования, увеличивающейся при холодовой адаптации [1, 2]. К бежевым адипоцитам относят жировые клетки с экспрессией белка UCP1, дифференцирующиеся от клеточных предшественников, отличных от предшественников бурых адипоцитов, и локализованные вне бурого жира [3]. Сохраняющиеся в термонейтральных условиях в виде небольших клеточных вкраплений бежевые адипоциты подкожной [4, 5] и ретроперитонеальной

жировой ткани [6] при холодовой адаптации быстро увеличивают свою численность, уровни мРНК и белка UCP1. Активация бежевого адипогенеза сопровождается потемнением жировой ткани и в англоязычной литературе получило название browning. По выраженности холод-индуцированной экспрессии гена и белка UCP1 подкожную паховую жировую ткань (ПБелЖТ) иногда относят к бежевой жировой ткани, а окружающую семенники окологонадную жировую ткань (ГБелЖТ) самцов относят к типично белой жировой ткани [7]. В последние годы интерес к бежевым адипоцитам стимулируется обнаружением отрицательной связи между экспрессией UCP1 в жировых депо и накоплением в них гипертрофированных с низкой метаболической активностью жировых клеток, развитием хронического воспалительного процесса, резистентностью к инсулину, дислипидемией [8–12]. Причем, как показано в ряде работ [13–16],

частота и сроки развития этих метаболических нарушений определяются особенностями протекания раннего онтогенеза. Поэтому представляет интерес изучение динамики UCP1 в жировых тканях в широком возрастном диапазоне. Сведения об уровнях мРНК и белка UCP1 в основном получены на линии мышей C57Bl/6J. Значительное снижение мРНК UCP1 в паховом депо регистрировалось после полового созревания и затем в пожилом возрасте одновременно с появлением симптомов гипергликемии [17–19]. В межлопаточной бурой жировой ткани (БЖТ) уровни мРНК UCP1 либо не изменялись [17, 19], либо у старых животных на втором году жизни наблюдали снижение этого показателя [19, 20]. Однако изменения уровней мРНК и самого белка UCP1 не всегда однонаправлены [21, 22]. Сведения о динамике белка UCP1 в одних исследованиях приведены для раннего онтогенеза [15, 16, 18, 23]; в других работах, наоборот, экспрессию белка UCP1 изучали от зрелого до пожилого возраста [22, 24]. Хотя в целом из этих работ следует, что экспрессия белка UCP1 в паховой ЖТ и при стандартных условиях и при холодовой стимуляции снижается; сроки, темпы, масштабы этого онтогенетического снижения варьируют по данным разных авторов [15, 18, 22–24]. Еще менее однозначны сведения для БЖТ и ГБелЖТ [20, 23]. Почти нет работ, где бы одновременно фиксировалась возрастная динамика UCP1 в типичной бурой, типичной белой и бежевой жировых тканях для комплексной оценки термогенного потенциала всех трех типов жировой ткани, выявления и анализа возможных компенсаторных реакций. Ранее компенсаторную активацию бежевого адипогенеза наблюдали у мышей с генетической абляцией рецептора BMPRIA, вызывающей нарушения термогенеза в буром жире [25].

Таким образом, имеющиеся сведения о влиянии возраста на экспрессию разобщающего белка UCP1 в жировых тканях даже у мышей одной линии разрозненны и не сопоставимы. Поэтому целью нашей работы было изучение возрастной динамики белка UCP1 в бурой жировой ткани, в подкожном и абдоминальном жировых депо аутбредных мышей ICR от окончания грудного вскармливания до старости.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Экспериментальные животные.* Исследование выполнено на самцах аутбредных мышей линии ICR (Institute of Cancer Research), полученных из питомника ГНЦ ВБ “Вектор” (Новосибирск) в возрасте 1.5 мес. Все животные находились при температуре 23–25°C и имели свободный доступ к сбалансированному гранулированному корму “БиоПро” (Новосибирск) и воде. Вывод животных из эксперимента производился путем декапитации по четырем возрастным точкам: 20 сут ( $n = 18$ ),

1.5 мес ( $n = 10$ ), 6 мес ( $n = 7$ ), 18 мес ( $n = 3$ ). 20-суточные мыши получены в лаборатории скрещиванием 2.5-месячных мышей ICR. К 20 сут все молодые мыши перешли к питанию стандартным кормом и были отсажены от самок. БЖТ, ПБелЖТ и ГБелЖТ экстирпировали сразу после декапитации животных. У 20-суточных мышей выделяли только БЖТ и ПбелЖТ, так как визуально ГбелЖТ не определялась в этом возрасте. Несколько проб бурого и подкожного белого жира 20-суточных мышей объединяли ввиду малого количества тканей для анализа. Образцы тканей хранились в жидком азоте до начала экспериментальных процедур.

*Определение общего белка в пробах тканей.* Ткани гомогенизировали в буфере, содержащем 10 mM Tris-HCl с 1 mM EDTA, pH = 7.2, с добавлением 1 mM фенилметилсульфонил фторида (PMSF, “SigmaAldrich”, США). Соотношение ткани и буфера для МБЖТ составляло 30–50 мг в 0.5 мл, для ПБелЖТ и ГБелЖТ 100–150 мг в 0.5 мл. Содержание белка в гомогенатах определяли по методу Лоури [26] после их солиubilизации добавлением до конечных концентраций 1% SDS и 0.44N NaOH. Содержание общего белка в ткани рассчитывали в мкг/мг.

*Вестерн-блоттинг.* Гомогенаты тканей инкубировали с 10% SDS, центрифугировали при 9000 g × 15 мин (14°C), из супернатантов готовили пробы для электрофореза. Электрофорез в буферной системе Лэммли [27] в 12.5%-ном полиакриламидном геле проводился в камере “Mini-Protean” (“Bio-Rad”, США), нагрузка на трек составляла 20–25 мкг белка. В качестве стандартов молекулярной массы белка использовались окрашенные маркеры “Spectra Multicolor Broad Range Protein Ladder” (“Thermo Fisher Scientific”, США). Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану (0.2 мкм, “Bio-Rad”, США) проводился методом мокрого переноса в буфере, содержащем 25 mM Tris-HCl, 192 mM глицин, 10% этанола (v/v), при постоянном напряжении 30 В в течение часа. Эффективность переноса контролировалась окраской мембраны Ponceau S. После обесцвечивания мембрана блокировалась в буфере TBST, содержащем 150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 0.05% Tween-20 и 5% БСА, pH = 7.5. Первичные антитела кролика к UCP1 (ab10983) и β-тубулину (ab6046), а также вторичные антитела козы против IgG кролика (ab6722), конъюгированные с щелочной фосфатазой, приобретены в компании “Abcam” (США). β-Тубулин использовался в качестве контроля при оценке относительной экспрессии. Разведение препаратов антител производили в соответствии с протоколами от производителя в буфере TBST с 5% БСА. Инкубацию мембран с первичными антителами производили в течение часа при комнатной температуре, затем отмывали TBST 3 × 5 мин. Инкубацию со вторичными антителами делали по той же схеме. После инкубации проявление бэндов на

мембране осуществляли с помощью раствора BCIP/NBT (“SERVA Electrophoresis GmbH”, Германия). Анализ мембраны проводили в программе ImageJ 1.8.0.

**Статистический анализ.** Анализ и визуализация данных проведены с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.2.1. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  sd. Сравнение двух средних проводили с помощью критерия Манна–Уитни. Для сравнения трех и более групп использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса, при наличии значимых различий проводился *post-hoc* тест Данна. Статистически значимыми считали отличия при уровне значимости  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Использованные в работе группы мышей соответствовали периодам окончания вскармливания и выходу из гнезда (20 сут), половому созреванию (1.5 мес), половозрелому возрасту (6 мес), старости (18 мес). У 20-суточных мышей межлопаточный бурый жир и паховый белый жир имели характерную для этих тканей локализацию и морфологию; абдоминальное депо жировой ткани практически отсутствовало. Все три изучаемые жировые ткани были хорошо выражены у 1.5-месячных мышей. На протяжении не менее 6 мес рост жировых депо опережал темпы роста тела, так как и абсолютная, и относительная масса жировых депо непрерывно увеличивались и достигали максимальных значений у 6-месячных мышей (рис. 1а-с, h, i). Особенно значительные темпы роста регистрировались в ГБелЖТ, вес которой от 1.5 до 6 мес возрастал более чем в 6 раз, а относительная масса в 2.8 раза ( $n = 10, n = 7, p < 0.01, \text{post-hoc}$  тест Данна, рис. 1с, f). В этот же период абсолютная и относительная масса ПБелЖТ увеличивалась только в 3.8 и в 1.66 раза соответственно ( $p = 0.0551$  для относительной массы, тест Краскела–Уоллиса, рис. 1b, e). Рост жировых депо сопровождался снижением содержания общего белка в ткани, что указывает на активный липогенез и депонирование триглицеридов. Общий белок в ГБелЖТ у 6-месячных мышей снижался в два раза относительно 1.5-месячных ( $n = 7, n = 10, p < 0.05, \text{post-hoc}$  тест Данна, рис. 1i). В ПБелЖТ общий белок снижался более чем в два раза в период от 20 сут до 6 мес ( $n = 5, n = 7, p < 0.01, \text{post-hoc}$  тест Данна, рис. 1h). Как и ожидалось, рост БЖТ, наоборот, отставал от роста тела, по крайней мере, в первые месяцы жизни. Относительная масса БЖТ в период от 20 сут до 1.5 мес снижалась в 2 раза ( $n = 18, n = 10, p < 0.0001, \text{post-hoc}$  тест Данна, рис. 1d) и в дальнейшем не изменялась. Как и в депо белой жировой ткани, в БЖТ содержание общего белка у 6-мес мышей было в 2 раза ниже по сравнению с 1.5-месячными животными ( $n = 7, n = 10, p < 0.01, \text{post-hoc}$  тест

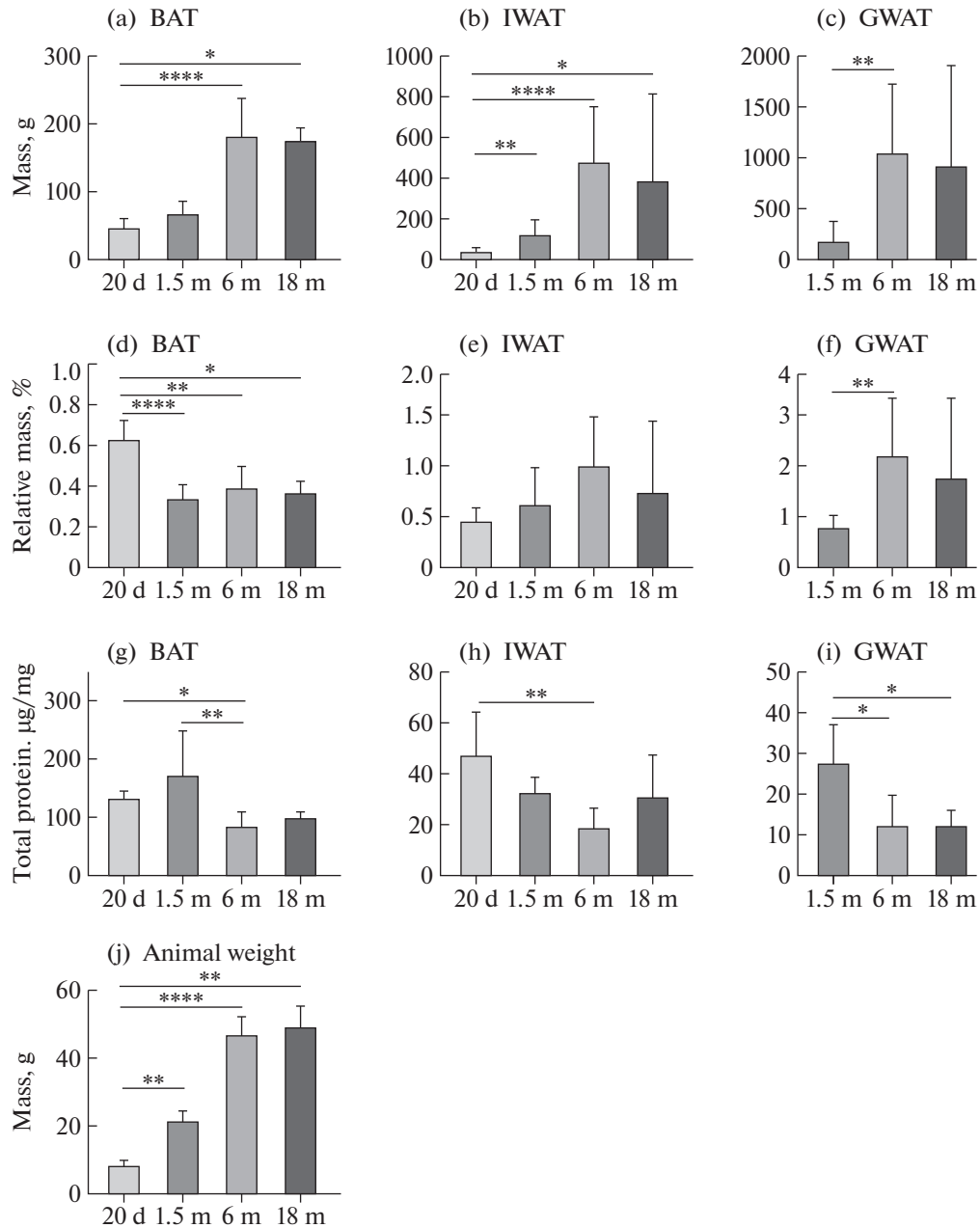
Данна, рис. 1g). У 18-месячных старых мышей масса тела, масса БЖТ и обоих жировых депо не отличались от 6-месячных животных (рис. 1j). В паховом депо старых мышей среднее значение тканевого белка увеличивалось на 67% по сравнению с 6-месячными мышами, но это увеличение не было статистически значимым (рис. 1h). Таким образом, динамика показателей массы тела и жировых тканей в раннем постнатальном онтогенезе близка к описанной для инбредных линий мышей [18, 24, 28].

Показатель относительной экспрессии белка UCP1 в БЖТ проявлял тенденцию к небольшому снижению в период от выхода из гнезда до 1.5-месячного возраста, затем медленно увеличивался вплоть до 18-месячного возраста, однако эти изменения не были статистически значимы. В ПБелЖТ белок UCP1 присутствовал во всех пробах 20-суточных и 1.5-месячных мышей и не был идентифицирован ни в одной из проб 6- и 18-месячных животных. Показатель относительной экспрессии UCP1 в ПБелЖТ 20-суточных животных составлял примерно 50% от значения в БЖТ. У 1.5-месячных мышей относительная экспрессия UCP1 снижалась примерно в 3 раза по сравнению с 20-суточными мышами ( $n = 5, n = 3, p < 0.05, \text{критерий}$  Манна–Уитни). В ГБелЖТ выявлены следовые количества белка UCP1 в одной из трех проб у 1.5-месячных мышей и в одной из 4 проб 6-месячных мышей. Рассчитанные для этих полос значения относительной экспрессии UCP1 были на порядок ниже значений в ПБелЖТ 1.5-месячных мышей (рис. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, для мышей ICR характерно раннее снижение экспрессии белка UCP1 в паховом депо, при этом в БЖТ уровень экспрессии UCP1 не только не снижался, а даже наблюдалась тенденция к ее увеличению. В работах с линией C57Bl/6J изменения в БЖТ и паховом депо при старении хотя и в разной степени выражены, но обычно однонаправлены [20, 24]. В ГБелЖТ наших животных белок UCP1 определялся даже у половозрелых мышей, но не во всех, а только в 25–30% проб и не детектировался у старых мышей. Разница в величине относительной экспрессии UCP1 между ПБелЖТ и пробами ГбелЖТ с UCP1 была близка к различию уровней UCP1 между этими жировыми депо у мышей линии C57Bl/6J [18]; сроки прекращения экспрессии белка UCP1 близки к данным в работе [24].

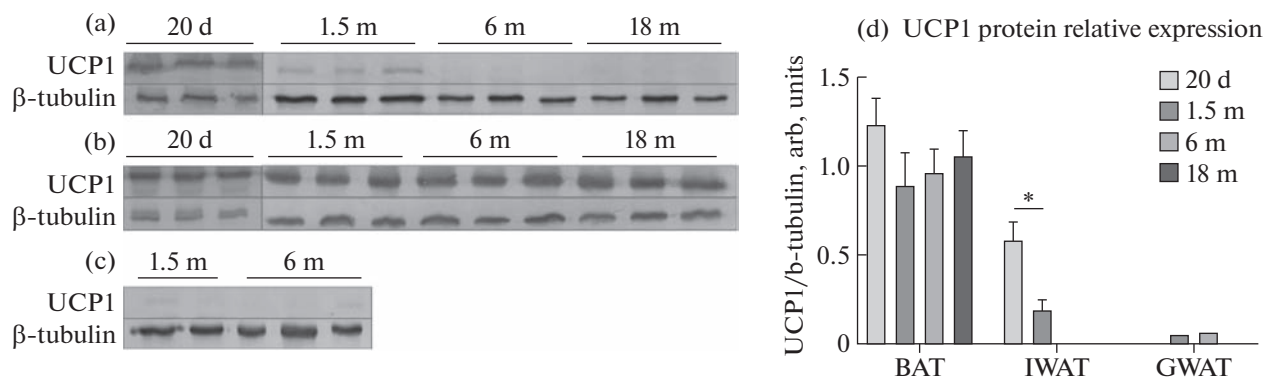
Полученным в нашей и других работах данным можно дать следующую интерпретацию. Максимальная экспрессия UCP1 и в буром, и в паховом жире мышей в ранние сроки после выхода из гнезда обеспечивает требуемый для температурного гомеостаза термогенез. Потребность в нем снижается по мере роста тела, развития шерстного покрова,



**Рис. 1.** Масса тела, масса основных скопления бурой и белой жировой ткани, содержание в них общего белка. (a–c) – абсолютная масса, мг; (d–f) – относительная масса, %; (g–i) – содержание общего белка, мкг/мг; (j) – масса животных, г. BAT – БЖТ, IWAT – ПбелЖТ, GWAT – ГбелЖТ; 20 d, 1.5 m, 6, 18 m – 20 сут, 1.5, 6, 18 мес; Средние значения  $\pm$  sd; \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\*\* –  $p < 0.0001$ ; post-hoc тест Данна.

развития скелетной мускулатуры, роста подвижности, соответственно снижаются темпы роста бурого жира, экспрессия в нем и в ПБелЖТ UCP1, расширяются возможности больше распределить энергосубстратов на рост основных жировых депо и липогенез в них и в БЖТ. В подкожном депо прекращение экспрессии UCP1 способствует его функции долгосрочного депонирования триглицеридов. Поддерживаемая у некоторых мышей в окологонадной жировой ткани малочисленная по-

пуляция клеток с UCP1, возможно, представляет эволюционно закрепленный резерв для быстрого включения в них термогенеза, предотвращения необратимых повреждений репродуктивной функции при угрозе гипотермии и сохранении популяции животных. В связи с этим предположением отметим, что процессы трансдифференцировки белых в бежевые адипоциты с увеличением мРНК UCP1 в подкожном депо разворачиваются в течение нескольких суток [29]. Соответственно с угасанием



**Рис. 2.** Относительная экспрессия белка UCP1. (a) – репрезентативный иммуноблот IWAT/ПБелЖТ, (b) – репрезентативный иммуноблот VAT/БЖТ, (c) – репрезентативный иммуноблот GWAT/ГБелЖТ, (d) – значения относительной экспрессии, а.у./у.е.; 20 d, 1.5, 6, 18 m – 20 сут, 1.5, 6, 18 мес; средние значения  $\pm$  sd; \* –  $p < 0.05$ ; критерий Манна–Уитни.

репродуктивной функции исчезает необходимость поддерживать клетки с UCP1. Присутствие белка UCP1 в ГБелЖТ не у всех животных дает возможность сопоставить в дальнейшем экспрессию UCP1 в этом депо с обменными, поведенческими и другими показателями.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При проведении исследования руководствовались Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы (Е.И.Е., А.В.Я.), планирование и проведение эксперимента (А.В.Я., И.О.Н.), сбор, обработка, анализ и визуализация данных (А.В.Я.), написание и редактирование текста (Е.И.Е., А.В.Я.).

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность к.б.н., доценту кафедры ФЕН НГУ П.Н. Меньшанову за содержательную консультацию по вестерн-блоттингу.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kajimura S, Saito M* (2014) A new era in brown adipose tissue biology: molecular control of brown fat development and energy homeostasis. *Ann Rev Physiol* 76:225–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170252>
- Gaspar RC, Pauli JR, Shulman GI, Muñoz VR* (2021) An update on brown adipose tissue biology: a discussion of recent findings. *Am J Physiol-Endocrinol Metabol* 320: E488–E495. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00310.2020>
- Rosenwald M, Wolfrum C* (2014) The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte* 3:4–9. <https://doi.org/10.4161/adip.26232>
- Shabalina IG, Petrovic N, de Jong JM, Kalinovich AV, Cannon B, Nedergaard J* (2013) UCP1 in brite/beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic. *Cell reports* 5:1196–1203. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.10.044>
- Okamatsu-Ogura Y, Fukano K, Tsubota A, Uozumi A, Terao A, Kimura K, Saito M* (2013) Thermogenic ability of uncoupling protein 1 in beige adipocytes in mice. *PLoS One* 8: e84229. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084229>
- Xue B, Rim J-S, Hogan JC, Coulter AA, Koza RA, Kozak LP* (2007) Genetic variability affects the development of brown adipocytes in white fat but not in interscapular brown fat. *J Lipid Res* 48:41–51. <https://doi.org/10.1194/jlr.M600287-JLR200>
- Waldén TB, Hansen IR, Timmons JA, Cannon B, Nedergaard J* (2012) Recruited vs. nonrecruited molecular signatures of brown, “brite,” and white adipose tissues. *Am J Physiol-Endocrinol Metabol* 302: E19–E31. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00249.2011>
- Cohen P, Levy JD, Zhang Y, Frontini A, Kolodin DP, Svensson KJ, Lo JC, Zeng X, Ye L, Khandekar MJ* (2014) Ablation of PRDM16 and beige adipose causes metabolic dysfunction and a subcutaneous to visceral fat switch. *Cell* 156:304–316. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.021>
- Poher A-L, Veyrat-Durebex C, Altirriba J, Montet X, Colin DJ, Caillon A, Lyautey J, Rohner-Jeanrenaud F* (2015) Ectopic UCP1 overexpression in white adipose tissue improves insulin sensitivity in Lou/C rats, a model of obesity resistance. *Diabetes* 64:3700–3712. <https://doi.org/10.2337/db15-0210>
- Lim J, Park HS, Kim J, Jang YJ, Kim J-H, Lee Y, Heo Y* (2020) Depot-specific UCP1 expression in human white adipose tissue and its association with obesity-related

- markers. *Int J Obesity* 44:697–706.  
<https://doi.org/10.1038/s41366-020-0528-4>
11. *Mishra BK, Madhu SV, Aslam M, Agarwal V, Banerjee BD* (2021) Adipose tissue expression of UCP1 and PRDM16 genes and their association with postprandial triglyceride metabolism and glucose intolerance. *Diab Res Clin Pract* 182:109115.  
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109115>
  12. *Yuko O-O, Saito M* (2021) Brown fat as a regulator of systemic metabolism beyond thermogenesis. *Diabet Metabol J* 45:840–852.  
<https://doi.org/10.4093/dmj.2020.0291>
  13. *Kozak LP, Koza RA, Anunciado-Koza R, Mendoza T, Newman S* (2012) Inherent plasticity of brown adipogenesis in white fat of mice allows for recovery from effects of post-natal malnutrition. *PLoS One* 7: e30392.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030392>
  14. *Liang X, Yang Q, Zhang L, Maricelli JW, Rodgers BD, Zhu M-J, Du M* (2016) Maternal high-fat diet during lactation impairs thermogenic function of brown adipose tissue in offspring mice. *Sci Rep* 6:34345.  
<https://doi.org/10.1038/srep34345>
  15. *Chabowska-Kita A, Trabczynska A, Korytko A, Kaczmarek MM, Kozak LP* (2015) Low ambient temperature during early postnatal development fails to cause a permanent induction of brown adipocytes. *The FASEB J* 29:3238–3252.  
<https://doi.org/10.1096/fj.15-271395>
  16. *Bruder J, Fromme T* (2022) Global adipose tissue remodeling during the first month of postnatal life in mice. *Front Endocrinol* 13:849877.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2022.849877>
  17. *Rogers NH, Landa A, Park S, Smith RG* (2012) Aging leads to a programmed loss of brown adipocytes in murine subcutaneous white adipose tissue. *Aging Cell* 11:1074–1083.  
<https://doi.org/10.1111/acel.12010>
  18. *Kodde A, Engels E, Oosting A, Van Limpt K, Van der Beek EM, Keijzer J* (2019) Maturation of white adipose tissue function in C57bl/6j mice from weaning to young adulthood. *Front Physiol* 10:836.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00836>
  19. *Sellayah D, Sikder D* (2014) Orexin restores aging-related brown adipose tissue dysfunction in male mice. *Endocrinol* 155:485–501.  
<https://doi.org/10.1210/en.2013-1629>
  20. *Pan X-X, Yao K-L, Yang Y-F, Ge Q, Zhang R, Gao P-J, Ruan C-C, Wu F* (2021) Senescent T cell induces brown adipose tissue “whitening” via secreting IFN- $\gamma$ . *Front Cell Devel Biol* 9:637424.  
<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.637424>
  21. *Nedergaard J, Cannon B* (2013) UCP1 mRNA does not produce heat. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Cell Biol Lipids* 1831:943–949.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbali.2013.01.009>
  22. *Shin W, Okamatsu-Ogura Y, Machida K, Tsubota A, Nio-Kobayashi J, Kimura K* (2017) Impaired adrenergic agonist-dependent beige adipocyte induction in aged mice. *Obesity* 25:417–423.  
<https://doi.org/10.1002/oby.21727>
  23. *Berry DC, Jiang Y, Arpke RW, Close EL, Uchida A, Reading D, Berglund ED, Kyba M, Graff JM* (2017) Cellular aging contributes to failure of cold-induced beige adipocyte formation in old mice and humans. *Cell Metabol* 25:166–181.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.10.023>
  24. *Sheng Y, Xia F, Chen L, Lv Y, Lv S, Yu J, Liu J, Ding G* (2021) Differential responses of white adipose tissue and brown adipose tissue to calorie restriction during aging. *J Gerontol: Ser A* 76:393–399.  
<https://doi.org/10.1093/gerona/glaa070>
  25. *Schulz TJ, Huang P, Huang TL, Xue R, McDougall LE, Townsend KL, Cypess AM, Mishina Y, Gussoni E, Tseng Y-H* (2013) Brown-fat paucity due to impaired BMP signaling induces compensatory browning of white fat. *Nature* 495:379–383.  
<https://doi.org/10.1038/nature11943>
  26. *Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ* (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265–275.
  27. *Cleveland DW, Fischer SG, Kirschner MW, Laemmli UK* (1977) Peptide mapping by limited proteolysis in sodium dodecyl sulfate and analysis by gel electrophoresis. *J Biol Chem* 252:1102–1106.  
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)75212-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)75212-0)
  28. *Negron SG, Ercan-Sencicek AG, Freed J, Walters M, Lin Z* (2020) Both proliferation and lipogenesis of brown adipocytes contribute to postnatal brown adipose tissue growth in mice. *Sci Rep* 10:1–11.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-77362-x>
  29. *Barbatelli G, Murano I, Madsen L, Hao Q, Jimenez M, Kristiansen K, Giacobino JP, De Matteis R, Cinti S* (2010) The emergence of cold-induced brown adipocytes in mouse white fat depots is determined predominantly by white to brown adipocyte transdifferentiation. *Am J Physiol-Endocrinol Metabol* 298: E1244–E1253.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00600.200>

## UNCOUPLING PROTEIN UCP1 EXPRESSION DYNAMICS IN ADIPOSE TISSUES OF THE OUTBRED ICR MICE IN POSTNATAL ONTOGENESIS

A. V. Yakunenkov<sup>a, #</sup>, E. I. Elsukova<sup>a</sup>, and I. O. Natochy<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Krasnoyarsk state pedagogical university named after V.P. Astafiev, Krasnoyarsk, Russia

<sup>#</sup>e-mail: avy0905@yandex.ru

Uncoupling protein (UCP1) uncouples mitochondrial respiration from ATP synthesis, resulting in heat production in brown and beige adipocytes. The presence of adipocytes with UCP1 expression in fat depots has been shown to promote metabolic health and provide protection against metabolic disorders. It stimulates interest in

studying the age dynamics of UCP1 expression. There are few data available, mainly obtained on the C57Bl/6J mouse line predisposed to obesity and cover either early or late ontogenesis. In our study, for the first time, the expression of the UCP1 protein in the adipose tissues of male ICR mice was studied from the weaning to old age. Interscapular brown adipose tissue (BAT), inguinal and perigonadal white adipose tissue (IWAT and GWAT) of 20-day, 1.5, 6, 18 months mice were collected. UCP1 levels were detected by western-blotting. IWAT UCP1 expression decreased by 2 times between 20 days and 1.5 months. No UCP1 bands on blots from mice older than 1.5 months were observed. In gonadal depot UCP1 was detected only in 30% of the samples from 1.5- and 6-months old mice, and UCP1 expression level was ten times lower in compare to inguinal depot. No statistically significant changes in UCP1 protein expression were detected in brown adipose tissue. The physiological role of UCP1-expressing cells in GWAT is discussed, as well as a possible relationship between the timing and rate of UCP1 expression decrease during the growth and maturation of reproductive function with the activation of lipogenesis in inguinal adipose tissue.

*Keywords:* uncoupling protein, relative expression, age dynamics, brown and white adipose tissues