

**СОВЕТ МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ ФЕДЕРАЛЬНОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
ГОСУДАРСТВЕННОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ -  
ИНСТИТУТА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ  
НАУК/COUNCIL OF THE YOUNG SCIENTISTS AND SPECIALISTS OF THE STATE  
SCIENTIFIC CENTER OF THE RUSSIAN FEDERATION INSTITUTE FOR BIOMEDICAL  
PROBLEMS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES**



**XVII Конференция молодых учёных, специалистов и студентов,  
посвящённая 100-летию со дня рождения академика О.Г. Газенко/  
«XVII Conference of Young Scientists, Specialists and Students»  
dedicated to the 100th anniversary of the birth of academician  
O.G. Gzenko**



**17 апреля 2018, Москва/April 17 2018, Moscow.**

**XVII Конференция молодых учёных, специалистов и студентов», посвящённая 100-летию со дня рождения академика О.Г. Газенко/«XVII Conference of Young Scientists, Specialists and Students» dedicated to the 100th anniversary of the birth of academician O.G. Gzenko.**

**Материалы конференции. — М.: Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, 2018. — 140с./Materials of the Conference. М.: State scientific center of the Russian Federation Institute for the bio-medical problems of the Russian Academy of sciences, 2018-140p.**

Сборник материалов XVII Конференции молодых учёных, специалистов и студентов», посвящённой 100-летию со дня рождения академика О.Г. Газенко (17 апреля 2018г., Москва), содержит результаты работ молодых учёных, аспирантов и студентов по медико-биологическим проблемам космических полётов, физиологии человека и животных, экологической и экстремальной медицине, психофизиологии, гравитационной физиологии, клеточной биологии, радиобиологии и спортивной медицине./Proceedings of the XVII Conference of young scientists, specialists and students " dedicated to the 100th anniversary of academician O.G. Gzenko (April 17 2018, Moscow), contains the results of the work of young scientists, postgraduates and students on medical and biological problems of space flight, human and animal physiology, environmental and extreme medicine, psychophysiology, gravitational physiology, cell biology, radiobiology and sports medicine.

Все материалы размещены в сборнике в алфавитном порядке/All materials are placed in the book of abstracts in alphabetical order.

Сборник будет полезен широкому кругу специалистов, аспирантам и студентам./The book of abstracts will be useful to a wide range of specialists, postgraduates and students.

©Федеральное Государственное бюджетное учреждение  
науки Государственный научный центр Российской  
Федерации – Институт медико-биологических проблем  
Российской академии наук  
ISBN-9785902119456

## **ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ/ORGANIZING COMMITTEE**

### **Председатель/chairman:**

Пономарёв С.А., к.м.н./Ponomarev S.A.,Ph.D

### **Заместитель председателя/deputy chairman:**

Журавлёва Т.В./Zhuravleva T.V.

### **Члены комитета/committee members:**

Горностаева А.Н., к.б.н./Gornostaeva A.N.,Ph.D.

Белоцкий М.М./Belotskiy M.M.

Иванов О.Г./Ivanov O.G.

Калинин С.А., к.б.н./Kalinin S.A., Ph.D.

Сальников А.В./Salnikov A.V.

Олег Георгиевич Газенко родился 12 декабря 1918 года. Его отец Георгий Григорьевич - врач-биохимик, оказал значительное влияние на формирование у сына интереса к науке. В 1941 году Олег Георгиевич с отличием окончил военный факультет 2-ого Московского медицинского института и вместе со всем выпуском ушел на фронт. Всю Великую Отечественную войну прослужил начальником батальонного госпиталя 15-й воздушной армии. В 1946-1947 годах работал под руководством выдающегося физиолога академика Л.А. Орбели и профессора М.П. Бресткина в лаборатории авиационной медицины кафедры физиологии Военно-медицинской академии.

В 1947 году Олег Георгиевич перешел на работу в Институт авиационной медицины Министерства обороны, в котором прошел путь от научного сотрудника до заместителя начальника Института по научной работе. С 1955 года в Институте авиационной медицины Министерства обороны О.Г. Газенко стал активно заниматься медико-биологическими исследованиями при полетах ракет в верхние слои атмосферы и в орбитальных полетах на возвращаемых кораблях-спутниках, а также при наземном моделировании факторов космического полета. Под руководством О.Г. Газенко, были получены важные данные, которые позволили обосновать возможность полета в космос человека. О.Г. Газенко был непосредственным участником подготовки и проведения исторического космического полета Ю.А. Гагарина 12 апреля 1961 года. В 1961 году, сразу после успешного полета Юрия Гагарина, О.Г. Газенко присвоено звание доктора медицинских наук за медико-биологическое обеспечение космических полетов.

С 1969 года Олег Георгиевич продолжил свою деятельность в Институте медико-биологических проблем, который он возглавлял до 1988 г. В этот период наиболее ярко проявились научные и организаторские способности О.Г. Газенко, которые позволили ему успешно руководить работами по созданию и совершенствованию надежной системы медицинского обеспечения и медицинской безопасности космических полетов. Благодаря усилиям О.Г. Газенко была создана отечественная и международная научная кооперация в области космической биологии и медицины, которая доказала свою эффективность и продолжает успешно развиваться. По его инициативе в ИМБП была проведена серия экспериментов по моделированию воздействия невесомости, что способствовало глубокому изучению состояния организма человека в этих условиях, а также отработке и совершенствованию различных методов и средств профилактики. Принципы, заложенные в основу системы профилактики при длительных полетах, были определяющими при создании системы медицинского обеспечения на орбитальных станциях «Мир» и на Международной космической станции. В одном из своих последних интервью Олег Георгиевич сказал: «Я глубоко убежден в том, что освоение космоса — один из магистральных путей дальнейшего развития человеческой цивилизации».

*Директор ГНЦ РФ-ИМБП РАН, академик РАН О.И. Орлов*

Oleg Georgievich Gazenko was born on December 12, 1918. His father George G.-biochemist, one of the veterans Of the Institute of aviation medicine in Moscow, had a significant impact on the formation of his son's interest in science. In 1941 Oleg Georgievich graduated with honors from the military faculty of the 2nd Moscow medical Institute and together with all issue went to the front. All the Great Patriotic war served as the battalion chief of hospital 15-th air army. In the years 1946-1947 he worked under the guidance of an outstanding physiologist academician L. A. Orbeli and Professor M. P. Brestchina in the laboratory of aviation medicine of the Department of physiology of the Military medical Academy.

In 1947, Oleg Georgievich moved to the Institute of aviation medicine of the Ministry of defense, where he worked from a researcher to the Deputy head of the Institute for research. Since 1955 in the Institute of aviation medicine of the Ministry of defence O. Gazenko has been actively engaged in biomedical research under the flight of missiles in the upper atmosphere and in the orbital flight on the return ships, satellites and ground simulation of space flight factors. Under the leadership of O.G. Gazenko, important data were obtained, which allowed to justify the possibility of flying into space. O. Gazenko was a direct participant in the preparation and conduct of the historical space flight of Yuri Gagarin on 12 April 1961. In 1961, right after the successful flight of Yuri Gagarin, O.G. Gazenko became a doctor of science for medical and biological support of space flights.

In 1969 Oleg Georgievich continued his work at the Institute of biomedical problems, which he headed until 1988. During this period, O. G. Gazenko's scientific and organizational abilities were most clearly manifested, which allowed him to successfully lead the work on the creation and improvement of a reliable system of medical support and medical safety of space flights. Thanks to the efforts of O. G. Gazenko, national and international scientific cooperation in the field of space biology and medicine was established, which proved its effectiveness and continues to develop successfully. On his initiative, IBMP carried out a series of experiments to simulate the effects of weightlessness, which contributed to a deep study of the state of the human body in these conditions, as well as the development and improvement of various methods and means of prevention. The principles laid down in the framework of the long-duration flight prevention system were decisive in establishing the medical support system at the Mir and PA orbital Stations of the International space station. In one of his recent interviews, he said: "I am deeply convinced that space exploration is one of the main ways of further development of human civilization."

*Director of SSC RF-IBMP RAS, academician of the RAS O.I. Orlov*

## СОДЕРЖАНИЕ

### Contents

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Программа конференции</b> .....   | <b>12</b> |
| <b>1. Liemersdorf, C., Lichterfeld, Y., Frett, T. and Hemmersbach, R.</b><br>Neurospace – neuronal regeneration induced by exposure to hypergravity.....   | <b>20</b> |
| <b>2. Амирова Л.Е., Осецкий Н.Ю., Китов В.В., Рукавишников И.В.</b><br>Нейромышечные и сердечно-сосудистые нарушения при ортостатической и позной неустойчивости, обусловливаемые микрогравитацией<br>Amirova L.E., Osetskiy N.Y., Kitov V.V., Rukavishnikov I.V.<br>Neuromuscular and cardiovascular disorders in orthostatic and postural instability, conditioned by microgravity.....  | <b>21</b> |
| <b>3. Анисимов Н.А.</b><br>Показатели метаболизма в эритроцитах и эффективность переноса кислорода у космонавтов после длительных космических полетов<br>Anisimov N.A.<br>Parameters of metabolism in red blood cells and the oxygen transfer efficiency in cosmonauts after long duration space flights.....  | <b>24</b> |
| <b>4. Бобылёва П.И.</b><br>Гетерогенность мультипотентных мезенхимных стромальных клеток и особенности их функциональной активности<br>Bobyleva P.I.<br>The heterogeneity of multipotent mesenchymal stromal cells and their functional activity.....  | <b>27</b> |
| <b>5. Бобылёва П.И., Алексеева О.Ю.</b><br>Влияние длительности гипоксической экспозиции на фенотип моноцит-производных макрофагов при сокультивировании с мезенхимальными стромальными клетками<br>Bobyleva P.I., Alekseeva O.Y.<br>Influence of the duration of hypoxic exposure on the phenotype of monocyte-derived macrophages in co-culture with mesenchymal stromal cells.....  | <b>29</b> |
| <b>6. Боков Р.О., Лысенко Е.А., Курочкина Н.С., Попов Д.В.</b><br>Транскрипционные механизмы, регулирующие содержание митохондриальных ферментов и транскрипционных регуляторов в скелетной мышце человека<br>Bokov O.R., Lysenko E.A., Kurochkina N.S., Popov D.V.<br>Transcription regulation of the content of mitochondrial enzymes and transcription regulators in the human skeletal muscle.....   | <b>31</b> |
| <b>7. Брыков В.И., Семенов Ю.С., Рукавишников И.В., Савеко А.А., Осецкий Н.Ю., Китов В.В.</b><br>Электромиографические характеристики активности мышц голени у человека при выполнении ходьбы и бега в условиях космического полета<br>Brykov V.I., Semenov Yu.S., Rukavishnikov I.V., Saveko A.A., Osetskiy N.Yu., Kitov V.V.<br>Electromyographic characteristics of human muscles activity during walking and running under conditions of space flight..... | <b>33</b> |
| <b>8. Горностаева А.Н., Бобылёва П.И.</b><br>Факторы, модулирующие иммуносупрессивную активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток <i>in vitro</i><br>Gornostaeva A.N., Bobyleva P.I.<br>Factors, that modulate immunosuppressive activity msc <i>in vitro</i> .....   | <b>35</b> |
| <b>9. Грушина О.А.</b><br>Сравнительные исследования строения глаза у рыб <i>danio rerio</i> , находившихся в условиях микрогравитации и лабораторного контроля.<br>Grushina O.A.<br>A comparative study of <i>danio rerio</i> fish eye structure in microgravity and laboratory testing.....  | <b>38</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>10. Ездакова М.И., Жидкова О.О.</b>   |           |
| Уровень кислорода как фактор модуляции ангиогенного потенциала мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток   |           |
| Ez dakova M.I., Zhidkova O.O.  |           |
| Oxygen level as a modifier of the angiogenic potential of multipotent mesenchymal stromal cells.....   | <b>41</b> |
| <b>11. Живодерников И.В., Ратушный А.Ю.</b>  |           |
| Влияние эффектов микрогравитации на экспрессию молекул адгезии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток invitro   |           |
| Zhivodernikov I.V., Ratushnyi A.U.   |           |
| The influence of microgravitation effects on adhesion molecules expression of multipotent mesenchymal stromal cells in vitro.....  | <b>44</b> |
| <b>12. Жидкова О.В.</b>  |           |
| Модуляция функциональных свойств мезенхимальных стромальных предшественников при взаимодействии с эндотелиальными клетками   |           |
| Zhidkova O.V.  |           |
| The functional properties of mesenchymal stromal precursors are modulated by the interaction with endothelial cells.....   | <b>47</b> |
| <b>13. Журавлева Т.В.</b>  |           |
| Психологические и клинико-биохимические аспекты адаптации здоровых лиц к условиям изоляции в гермообъекте  |           |
| Zhuravleva T.V.  |           |
| Psychological and clinical-biochemical aspects of adaptation of healthy persons to confinement conditions in hermetic object.....  | <b>50</b> |
| <b>14. Каюнова С.М.</b>  |           |
| Влияние 17-суточной изоляции в гермообъекте с кратковременной депривацией сна на субпопуляционный состав лейкоцитов  |           |
| Kayunova S.M.  |           |
| Influence of 17-daily isolation with short-term sleep deprivation on the leukocyte subsets.....  | <b>54</b> |
| <b>15. Ковинский А.А.</b>  |           |
| Уровень физической подготовленности космических туристов к выполнению космического полета на предполетном этапе подготовки   |           |
| Kovinskiy A.A.   |           |
| The level of physical readiness of space tourists to perform space flight in the pre-flight stage of preparation.....  | <b>57</b> |
| <b>16. Лагерева Е.А., Горшкова А.А.</b> Влияние антиортостатической гипокинезии на жажду и солевой аппетит у мышей   |           |
| Lagereva E.A., Gorshkova A.A.  |           |
| Effect of anti-orthostatic hypokinesia on saline and water appetite in mice.....   | <b>59</b> |
| <b>17. Лашуков П.В., Царьков Д.С.</b>  |           |
| Санитарно-химические исследования полимерных композитных материалов на основе углеродной ткани и связующего энфб для использования в обитаемых отсеках перспективных космических кораблей. |           |
| Lashukov P.V., Tsarkov D.S.  |           |
| Sanitary and chemical research of polymer composite materials based on carbon fabric and enfb binder for use in the living compartments into future spacecraft.....                        | <b>61</b> |
| <b>18. Леднев Е.М., Кравченко И.В., Фуралев В.А., Лысенко Е.А., Попов Д.В.</b>   |           |
| Лейцин-зависимая активация экспрессии гена igf1 и igf1-зависимых генов в человеческих миобластах   |           |
| Lednev E.M., Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Lysenko E.A., Popov, D.V.   |           |
| Activation of igf1 and igf1-dependent genes in human myoblasts by leucin.....  | <b>63</b> |

- 19. Литвин Е.Д.**  
 Продуктивные качества японских перепелов при разных спектрах освещения  
 Litvin E.D.  
 The productive qualities of the japanese quails using light in various spectra.....65
- 20. Маркина Е.А.**  
 Состояние холестерина обмена у участников эксперимента с изоляцией в гермообъеме “СИРИУС 17”  
 Markina E.A.  
 The state of cholesterol metabolism in participants of the experiment with isolation in hermetic chamber “SIRIUS 17”.....68
- 21. Матвеева Д.К., Живодерников И.В.**  
 Характеристика фибриллярных компонентов внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) invitro  
 Matveeva D.K., Zhivodernikov I.V.  
 The characteristics of fibrillar extracellular matrix of multipotent mesenchymal stromal cells in vitro.....71
- 22. Махновский П.А., Лысенко Е.А., Курочкина Н.С., Попов Д.В.**  
 Влияние аэробной тренировки на базальный транскриптом скелетной мышцы человека  
 Makhnovskii P, A., Lysenko E, A., Kurochkina N, A., Popov D.V.  
 Effect aerobic training on basal transcriptome in human skeletal muscle.....73
- 23. Мочалова Е.П., Белова С.П.**  
 Роль транскрипционного фактора миогенина и гистондеацетилаз 4/5 в регуляции экспрессии E3-лигаз MuRF1 и MAFbx при функциональной разгрузке m. soleus крысы  
 E.P. Mochalova, S.P. Belova, T.L. Nemirovskaya  
 The role of myogenin and class II HDACs in the regulation of E3-ligases MuRF-1 and MAFbx expression in rat soleus at the early stage of disuse atrophy.....74
- 24. Негуляев В.О.** Исследование барорефлекторной регуляции сердечного ритма с помощью индекса фазовой синхронизации артериального давления и пульсового интервала у лабораторных животных и человека  
 Negulyaev V.O. The study of cardiac rhythm baroreflex control using the phase synchronization index of arterial pressure and pulse interval in laboratory animals and humans.....76
- 25. Ниязов А.Р., Рукавишников И.В., Федяй С.О.**  
 Исследование показателей болевой чувствительности на фоне изоляции в гермообъеме  
 Niiazov A.R., Rukavishnikov I.V., Fedyay S.O.  
 Investigation of pain sensitivity indicators during isolation.....79
- 26. Ниязов А.Р., Гимадиев Р.Р., Федяй С.О.**  
 Нуклеиновые кислоты как маркеры метаболических нарушений у человека в условиях изоляции в гермообъеме  
 Niiazov A.R., Gimadiev R.R., Fedyay S.O.  
 Nucleic acids as markers of metabolic disorders in human in the conditions of isolation.....80
- 27. Онучина М.Р., Артамонов А.А., Карташова М.К.**  
 Проблема моделирования гипомагнитного поля и электромагнитного фона окружающей среды  
 Onuchina M.R., Artamonov A.A., Kartashova M.K.  
 The problem of modeling hypomagnetic field and electromagnetic background of environment...82
- 28. Онучина М.Р., Артамонов А.А., Земнов К.Е., Чащин Е.Д.**  
 Численная модель для расчёта радиационной обстановки в атмосфере земли  
 Onuchina M.R., Artamonov A.A., Zemnov K.E., Chaschin E.D.  
 The numerical model for calculations of the radiation conditions of the earth’s atmosphere.....83
- 29. Орлова Е. А.**  
 Особенности взаимовлияния показателей центральной гемодинамики при мышечных сокращениях с различной интенсивностью и частотой



|   |     |
|---|-----|
| Orlova E.A.<br>Characteristics of interaction between parameters of central hemodynamics during muscle contractions with different intensity and frequency.....   | 84  |
| <b>30. Осецкий Н.Ю., Китов В.В., Соснина И.С., Лысова Н.Ю., Амирова Л.Е., Розенберг М., Рукавишников И.В.</b><br>Изменения характеристик произвольных движений после длительных космических полетов<br>Osetskij N.Y., Kitov V.V., Sosnina I.S., Lysova N.Yu., Amirova L.E., Rosenberg M., I.V.<br>Rukavishnikov I.V.<br>Changes in the characteristics of voluntary movements after long term space flights.....  | 86  |
| <b>31. Очков О.А.</b><br>Разработка измерительного стенда для адаптивной оптимизации светодиодного освещения растений в космической оранжерее<br>Ochkov O.A.<br>Development of a measuring bench for adaptive optimization of led lighting of plants in a space greenhouse.....   | 88  |
| <b>32. Памова А.П.</b><br>Центральная и периферическая гемодинамика человека в ходе изоляционного эксперимента «Сириус-17»<br>Pamova A.P.<br>Human central and peripheral hemodynamics during isolation experiment “Sirius – 17”.....   | 91  |
| <b>33. Парамонова И., Шарло К.А., Вильчинская Н.А.</b><br>Изучение влияния механической стимуляции опорных афферентов камбаловидной мышцы крыс на трафик hdac5 и экспрессию e3-убиквитинлигаз на ранних этапах моделируемой гравитационной разгрузки.<br>Paramonova I. I. Sharlo K. A. Vilchinskaya N.A.<br>An influence of plantar mechanical stimulation on a soleus muscle hdac5 traffic and e3-ubiquitin ligase expression at the early stages of mechanical unloading.....   | 94  |
| <b>34. Прокопович Л.С.</b><br>3D конусно-лучевая компьютерная томография черепно-лицевого скелета, как метод отбора и ежегодного обследования лиц опасных профессий врачом-стоматологом.<br>Prokorovich Lyalya, M.D.<br>3D cone-beam computer tomography of the craniofacial skeleton as dental selection method and annual maxillo-facial assessment of human intelligence operators and high threats personnel under conditions of increased or lowered pressure of the surrounding gas or water environment, zero gravity, overloads and other extremes..... | 96  |
| <b>35. Пугачёв Е.И., Нефёдова И.Ф., Рязанова Т.К.</b><br>Возможности использования биологической модели на основе 3d-носителя лиопласт и культуры хондробластов в космических исследованиях и регенеративной медицине<br>Pugachev E., Nefedova I., Ryazanova T.<br>Perspectives for practical application of the biological 3d carrier-based model (lyoplast®) and chondroblast culture in spase research and regenerative medicine.....  | 100 |
| <b>36. Ратушный А.Ю.</b><br>Ассоциированный со старением секреторный фенотип мезенхимальных стромальных клеток<br>Ratushnyu A.<br>Senescence associated secretory phenotype of mesenchymal stromal cells.....   | 102 |
| <b>37. Савеко А.А., Рукавишников И.В., Осецкий Н.Ю., Брыков В.И., Рязанский С.Н.</b><br>Индивидуальные особенности локомоторной стратегии ходьбы и бега в ходе длительных космических полётов<br>Saveko A.A., Rukavishnikov I.V., Osetskij N.Y., Brykov V.I., Ryazansky S.N.<br>Individual specific features of the locomotor strategy of walking and running in the course of long-term space flights.....   | 104 |
| <b>38. Сервули Е.А.</b>   |     |

|   |     |
|---|-----|
| Анализ изменений костного статуса участников эксперимента «СИРИУС 2017»<br>Servuly E.A.<br>Analysis participants's bone status in experiment «SIRIUS 2017».....   | 106 |
| <b>39. Соснина И.С., Зеленский К.А.</b><br>Исследование характеристик точностных движений рук в условиях безопорности<br>Sosnina I.S., Zelensky K.A.<br>Investigation of hand accuracy movement under the conditions of supportlessness.....  | 109 |
| <b>40. Суполкина Н.С., Швед Д.М.</b><br>Влияние факторов изоляции на коммуникативное поведение экипажа (предварительные<br>результаты эксперимента СИРИУС-17)<br>Supolkina N.S., Shved D.M.<br>Effects of isolation on the crew communicative behavior (the preliminary results of the SIRIUS-17<br>experiment).....  | 111 |
| <b>41. Счастливец Д.В.</b><br>Динамика нейрофизиологических реакций и психофизиологические особенности оператора<br>в условиях изоляции<br>Schastlivtseva D.V.<br>Human dynamics of neurophysiological reactions and psychophysiological features in isolation.....   | 113 |
| <b>42. Тыганов С.А, Мирзоев Т.М., Рожков С.В.</b><br>Воздействие опорной стимуляции на анаболический ответ после эксцентрической нагрузки<br>ex vivo в камбаловидной мышце крысы на фоне функциональной разгрузки<br>TyganovS.A., MirzoevT.M., RozhkovS.V.<br>Effects of plantar mechanical stimulation during hindlimb unloading to eccentric contractions on<br>anabolic response in rat soleus.....            | 116 |
| <b>43. Федяй С.О., Бурлак Е.Ю., Круглова А.В.</b><br>Особенности мониторинга суточной двигательной активности в гермообъекте<br>Fedyay S., Burlak E., Kruglova A.<br>Monitoring features of the daily human motor activity in isolation chamber.....  | 118 |
| <b>44. Царьков Д.С.</b><br>Летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе здорового человека при<br>моделировании невесомости («СУХАЯ» ИММЕРСИЯ)<br>Tsarkov D.S.<br>Volatile organic compounds in healthy human's breath during simulation of weightlessness ("DRY"<br>IMMERSION).....  | 121 |
| <b>45. Черногор Р.В.</b><br>Оценка эффективности использования специализированного программного обеспечения для<br>ориентирования в средствах и методах оказания медицинской помощи в гермозамкнутом<br>объекте<br>Chernogorov R.V.<br>Evaluation of the effectiveness of using specialized software for orientation in the means and<br>methods of medical care in hermetically closed object.....               | 124 |
| <b>46. Чистоходова С.А.</b><br>Динамика стероидогенеза и концентрации в крови основных субстратов энергообмена как<br>звенья стратегии адаптации к измененной среде обитания<br>ChistokhodovaS.A.<br>Dynamics of steroidogenesis and blood concentrations of the basic substrates of energy metabolism<br>as the units of a strategy of adaptation to the changed environment.....                                | 127 |
| <b>47. Шеков И.С., Кишкун А.А.</b> Испытательная и экспериментальная база лаборатории<br>космических систем образовательного центра «СИРИУС» на примере квалификационных<br>испытаний наноспутника «SIRIUSSAT-1U»<br>Shekov I.S., Kishkun A.A. Testing and experimental base of laboratory of space systems of<br>educational center «SIRIUS» on the example of qualification tests of nano-satellite "SIRIUSSAT- |     |

|   |     |
|---|-----|
| 1U".....  | 131 |
| <b>48. Шишкин Н.В., Китов В.В., Шигуева Т.А.</b>                                      |     |
| Постуральная устойчивость космонавтов после длительных космических полетов            |     |
| Shishkin N.V., Kitov V.V., Shiguyeva T.A.   |     |
| Postural stability of cosmonauts after long space flights.....                        | 133 |
| <b>49. Якубец Д.А., Рудимов Е.Г., Князев Е.Н.</b>                                     |     |
| Анализ транскриптома эндотелиальных клеток, выделенных из пупочной вены человека в    |     |
| условиях моделированной микрогравитации   |     |
| Yakubets D.A., Rudimov E.G., Knjazev E.N.   |     |
| Transcriptome analysis of human umbilical cord blood endotelial cells under simulated |     |
| microgravity.....   | 137 |

**ПРОГРАММА КОНФЕРЕНЦИИ/CONFERENCE PROGRAM**

**17 апреля 2018 г./April 17, 2018**

|   |  |                               |
|---|--|-------------------------------|
|   | Регистрация участников/registration<br>Открытие конференции/conference opening<br>Вступительное слово – директор ГНЦ РФ-ИМБП РАН, академик<br><i>Орлов О.И./Greetings from the IBMP director academician O.I. Orlov</i>  | 9:00 – 10:00<br>10:00 – 10:15 |
|   | Научный руководитель ГНЦ РФ-ИМБП РАН, советник РАН, академик РАН <i>А.И. Григорьев. Лекция. “Олег Георгиевич Газенко - учёный, мыслитель, человек”./IBMP scientific advisor, RAS adviser academician A.I. Grigoriev. Lecture. “Oleg G. Gazenko-scientist, philosopher, man”.</i>   | 10:20 – 10:45                 |
| <b>ПЕРЕРЫВ/BREAK</b>  |  |                               |
| Председатели: д.б.н., профессор Б.С. Шенкман, к.м.н. А.А. Маркин,<br>к.б.н. Н.Ю. Лысова/co-chairmans professor PhD, DSc., B.S. Shenkman, Ph.D. A.A. Markin,<br>Ph.D. N.Y. Lysova<br>Аудитория №318/Room 318 |  |                               |
| 1   | РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА МИОГЕНИНА И<br>ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ 4/5 В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ Е3-ЛИГАЗ<br>MURF1 И MAFBX ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ М. SOLEUS<br>КРЫСЫ<br><u>Мочалова Е.П., Белова С.П</u><br>THE ROLE OF MYOGENIN AND CLASS II HDACS IN THE<br>REGULATION OF E3-LIGASES MURF-1 AND MAFBX EXPRESSION IN<br>RAT SOLEUS AT THE EARLY STAGE OF DISUSE ATROPHY<br><u>E.P. Mochalova, S.P. Belova, T.L. Nemirovskaya</u>   | 11:00 – 11:10                 |
| 2   | ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕХАНИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ<br>ОПОРНЫХ АФФЕРЕНТОВ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫС НА<br>ТРАФИК HDAC5 И ЭКСПРЕССИЮ Е3-УБИКВИТИНЛИГАЗ НА<br>РАННИХ ЭТАПАХ МОДЕЛИРУЕМОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ<br>РАЗГРУЗКИ<br><u>Парамонова И., Шарло К.А., Вильчинская Н.А.</u><br>AN INFLUENCE OF PLANTAR MECHANICAL STIMULATION ON A<br>SOLEUS MUSCLE HDAC5 TRAFFIC AND E3-UBIQUITIN LIGASE<br>EXPRESSION AT THE EARLY STAGES OF MECHANICAL UNLOADING<br><u>Paramonova I. I. Sharlo K. A. Vilchinskaya N.A.</u> | 11:15 – 11:25                 |
| 3   | ВОЗДЕЙСТВИЕ ОПОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА АНАБОЛИЧЕСКИЙ<br>ОТВЕТ ПОСЛЕ ЭКСЦЕНТРИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ EX VIVO В<br>КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЕ КРЫСЫ НА ФОНЕ<br>ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ<br><u>Тыганов С.А., Мирзоев Т.М., Рожков С.В.,</u><br>EFFECTS OF PLANTAR MECHANICAL STIMULATION DURING<br>HINDLIMB UNLOADING TO ECCENTRIC CONTRACTIONS ON<br>ANABOLIC RESPONSE IN RAT SOLEUS<br><u>Tyganov S.A., Mirzoev T.M., Rozhkov S.V.</u>   | 11:30 – 11:40                 |
| 4   | ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА В ЭРИТРОЦИТАХ И<br>ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРЕНОСА КИСЛОРОДА У КОСМОНАВТОВ<br>ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ<br><u>Анисимов Н.А.</u><br>PARAMETERS OF METABOLISM IN RED BLOOD CELLS AND THE<br>OXYGEN TRANSFER EFFICIENCY IN COSMONAUTS AFTER LONG<br>DURATION SPACE FLIGHTS<br><u>Anisimov N.A.</u>   | 11:45 – 11:55                 |

|                      |   |               |
|----------------------|---|---------------|
| 5                    | СОСТОЯНИЕ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО ОБМЕНА У УЧАСТНИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТА С ИЗОЛЯЦИЕЙ В ГЕРОМООБЪЕМЕ “СИРИУС 17”<br><u>Маркина Е.А.</u><br>THE STATE OF CHOLESTEROL METABOLISM IN PARTICIPANTS OF THE EXPERIMENT WITH ISOLATION IN HERMETIC CHAMBER “SIRIUS 17”<br><u>Markina E.A.</u>   | 12:00 – 12:10 |
| 6                    | ЦЕНТРАЛЬНАЯ И ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ ГЕМОДИНАМИКА ЧЕЛОВЕКА В ХОДЕ ИЗОЛЯЦИОННОГО ЭКСПЕРИМЕНТА «СИРИУС-17»<br><u>Памова А.П.</u><br>HUMAN CENTRAL AND PERIPHERAL HEMODYNAMICS DURING ISOLATION EXPERIMENT “SIRIUS – 17”<br><u>Pamova A.P.</u>   | 12:15 – 12:25 |
| 7                    | СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРОЕНИЯ ГЛАЗА У РЫБ DANIORERIO, НАХОДИВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ<br><u>Грушина О.А.</u><br>A COMPARATIVE STUDY OF DANIO RERIO FISH EYE STRUCTURE IN MICROGRAVITY AND LABORATORY TESTING<br><u>Grushina O.A.</u>   | 12:30 – 12:40 |
| 8                    | ДИНАМИКА СТЕРОИДОГЕНЕЗА И КОНЦЕНТРАЦИИ В КРОВИ ОСНОВНЫХ СУБСТРАТОВ ЭНЕРГООБМЕНА КАК ЗВЕНЬЯ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ К ИЗМЕНЕННОЙ СРЕДЕ ОБИТАНИЯ<br><u>Чистоходова С.А.</u><br>DYNAMICS OF STEROIDOGENESIS AND BLOOD CONCENTRATIONS OF THE BASIC SUBSTRATES OF ENERGY METABOLISM AS THE UNITS OF A STRATEGY OF ADAPTATION TO THE CHANGED ENVIRONMENT<br><u>Chistokhodova S.A.</u> | 12:45 – 12:55 |
| 9                    | ВЛИЯНИЕ 17-СУТОЧНОЙ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ С КРАТКОВРЕМЕННОЙ ДЕПРИВАЦИЕЙ СНА НА КЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА<br><u>Каюнова С.М.</u><br>INFLUENCE OF 17-DAILY ISOLATION WITH SHORT-TERM SLEEP DEPRIVATION ON THE LEUKOCYTE SUBSETS<br><u>Kayunova S.M.</u>   | 13:00 – 13:10 |
| 10                   | АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ КОСТНОГО СТАТУСА УЧАСТНИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТА «СИРИУС 2017»<br><u>Сервули Е.А.</u><br>ANALYSIS PARTICRANTS’S BONE STATUS IN EXPERIMENT «SIRIUS 2017»<br><u>Servuly E.A.</u>   | 13:15 -13:25  |
| <b>ПЕРЕРЫВ/BREAK</b> |   |               |
| 11                   | ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОВЛИЯНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ МЫШЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЯХ С РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТЬЮ И ЧАСТОТОЙ<br><u>Орлова Е.А.</u><br>HARACTERISTICS OF INTERACTION BETWEEN ARAMETERS OF CENTRAL HEMODYNAMICS DURING MUSCLECONTRACTIONS WITH DIFFERENT INTENSITY AND FREQUENCY<br><u>Orlova E.A.</u>   | 13:55-14:05   |

|    |  |               |
|----|--|---------------|
| 12 | <p><b>НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ КАК МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕМЕ</b><br/> <u>Ниязов А.Р., Гимадиев Р.Р., Федяй С.О.</u><br/> <b>NUCLEIC ACIDS AS MARKERS OF METABOLIC DISORDERS IN HUMAN IN THE CONDITIONS OF ISOLATION</b><br/> <u>Niiazov A.R., Gimadiev R.R., Fedayay S.O.</u></p>   | 14:10 – 14:20 |
| 13 | <p><b>ОСОБЕННОСТИ МОНИТОРИНГА СУТОЧНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ</b><br/> <u>Федяй С.О., Бурлак Е.Ю., Круглова А.В.</u><br/> <b>MONITORING FEATURES OF THE DAILY HUMAN MOTOR ACTIVITY IN ISOLATION CHAMBER</b><br/> <u>Fedyay S., Burlak E., Kruglova A.</u></p>  | 14:25 – 14:35 |
| 14 | <p><b>ИССЛЕДОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ТОЧНОСТНЫХ ДВИЖЕНИЙ РУК В УСЛОВИЯХ БЕЗОПОРНОСТИ</b><br/> <u>Соснина И.С., Зеленский К.А.</u><br/> <b>INVESTIGATION OF HAND ACCURACY MOVEMENT UNDER THE CONDITIONS OF SUPPORTLESSNESS</b><br/> <u>Sosnina I.S., Zelensky K.A.</u></p>  | 14:40 – 14:50 |
| 15 | <p><b>ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ МЫШЦ ГОЛЕНИ У ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ХОДЬБЫ И БЕГА В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА</b><br/> <u>Брыков В.И., Семенов Ю.С., Рукавишников И.В., Савеко А.А., Осецкий Н.Ю., Китов В.В.</u><br/> <b>ELECTROMYOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF HUMAN MUSCLES ACTIVITY DURING WALKING AND RUNNING UNDER CONDITIONS OF SPACE FLIGHT</b><br/> <u>Brykov V.I., Semenov Yu.S., Rukavishnikov I.V., Saveko A.A., Osetskiy N.Yu., Kitov V.V.</u></p> | 14:55 -15:05  |
| 16 | <p><b>ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛОКОМОТОРНОЙ СТРАТЕГИИ ХОДЬБЫ И БЕГА В ХОДЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЁТОВ</b><br/> <u>Савеко А.А., Рукавишников И.В., Осецкий Н.Ю., Брыков В.И., Рязанский С.Н.</u><br/> <b>INDIVIDUAL SPECIFIC FEATURES OF THE LOCOMOTOR STRATEGY OF WALKING AND RUNNING IN THE COURSE OF LONG-TERM SPACE FLIGHTS</b><br/> <u>Saveko A.A., Rukavishnikov I.V., Osetskiy N.Y., Brykov V.I., Ryazansky S.N.</u></p>   | 15:10 -15:20  |
| 17 | <p><b>НЕЙРОМЫШЕЧНЫЕ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ОРТОСТАТИЧЕСКОЙ И ПОЗНОЙ НЕУСТОЙЧИВОСТИ, ОБУСЛОВЛИВАЕМЫЕ МИКРОГРАВИТАЦИЕЙ</b><br/> <u>Амирова Л.Е., Осецкий Н.Ю., Китов В.В., Рукавишников И.В.</u><br/> <b>NEUROMUSCULAR AND CARDIOVASCULAR DISORDERS IN ORTHOSTATIC AND POSTURAL INSTABILITY, CONDITIONED BY MICROGRAVITY</b><br/> <u>Amirova L.E., Osetskiy N.Y., Kitov V.V., Rukavishnikov I.V.</u></p>  | 15:25 – 15:35 |
| 18 | <p><b>ПОСТУРАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ</b><br/> <u>Шишкин Н.В., Китов В.В., Шигуева Т.А.</u><br/> <b>POSTURAL STABILITY OF COSMONAUTS AFTER LONG SPACE FLIGHTS</b><br/> <u>Shishkin N.V., Kitov V.V., Shiguyeva T.A.</u></p>   | 15:40 -15:50  |

|   |   |               |
|---|---|---------------|
| 19  | <p><b>ИЗМЕНЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК ПРОИЗВОЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ</b><br/> <u>Осецкий Н.Ю., Китов В.В., Соснина И.С., Лысова Н.Ю., Амирова Л.Е., Розенберг М., Рукавишников И.В.</u><br/> <b>CHANGES IN THE CHARACTERISTICS OF VOLUNTARY MOVEMENTS AFTER LONG TERM SPACE FLIGHTS</b><br/> <u>Osetskiy N.Y., Kitov V.V., Sosnina I.S., Lysova N.Yu., Amirova L.E., Rosenberg M., Rukavishnikov I.V.</u></p> | 15:55-16:05   |
| 20  | <p><b>ВЛИЯНИЕ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ НА ЖАЖДУ И СОЛЕВОЙ АППЕТИТ У МЫШЕЙ</b><br/> <u>Лагерева Е.А., Горшкова А.А.</u><br/> <b>EFFECT OF ANTI-ORTHOSTATIC HYPOKINESIA ON SALINE AND WATER APPETITE IN MICE</b><br/> <u>Lagereva E.A., Gorshkova A.A.</u></p>   | 16:25 – 16:35 |
| 21  | <p><b>ИССЛЕДОВАНИЕ БАРОРЕФЛЕКТОРНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА С ПОМОЩЬЮ ИНДЕКСА ФАЗОВОЙ СИНХРОНИЗАЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И ПУЛЬСОВОГО ИНТЕРВАЛА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА</b><br/> <u>Негуляев В.О.</u><br/> <b>THE STUDY OF CARDIAC RHYTHM BAROREFLEX CONTROL USING THE PHASE SYNCHRONIZATION INDEX OF ARTERIAL PRESSURE AND PULSE INTERVAL IN LABORATORY ANIMALS AND HUMANS</b><br/> <u>Negulyaev V.O.</u></p>    | 16:40-16:50   |
| <p><b>Председатели: д.б.н. Е.Р. Андреева, к.б.н. Е.А. Лысенко, к.б.н. Д.В. Попов /PhD E.R. Andreeva, PhD D.V. Popov, PhD E.A. Lysenko</b><br/> <b>Аудитория №416/Room№416</b></p> |   |               |
| 1   | <p><b>ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ЭКСПОЗИЦИИ НА ФЕНОТИП МОНОЦИТ-ПРОИЗВОДНЫХ МАКРОФАГОВ ПРИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ</b><br/> <u>Бобылёва П.И., Алексеева О.Ю.</u><br/> <b>INFLUENCE OF THE DURATION OF HYPOXIC EXPOSURE ON THE PHENOTYPE OF MONOCYTE-DERIVED MACROPHAGES IN CO-CULTURE WITH MESENCHYMAL STROMAL CELLS</b><br/> <u>Bobyleva P.I., Alekseeva O.Y.</u></p>                   | 11:15 - 11:25 |
| 2   | <p><b>ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ОСОБЕННОСТИ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ</b><br/> <u>Бобылёва П.И.</u><br/> <b>THE HETEROGENEITY OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS AND THEIR FUNCTIONAL ACTIVITY</b><br/> <u>Bobyleva P.I.</u></p>   | 11:30 – 11:40 |
| 3   | <p><b>АССОЦИИРОВАННЫЙ СО СТАРЕНИЕМ СЕКРЕТОРНЫЙ ФЕНОТИП МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК</b><br/> <u>Ратушный А.Ю.</u><br/> <b>SENESCENCE ASSOCIATED SECRETORY PHENOTYPE OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS</b><br/> <u>Ratushnyy A.</u></p>  | 11:45 – 11:55 |

|                      |  |               |
|----------------------|--|---------------|
| 4                    | <b>ФАКТОРЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ ИММУНОСУПРЕССИВНУЮ АКТИВНОСТЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК INVITRO</b><br><u>Горностаева А.Н., Бобылёва П.И.</u><br><b>FACTORS, THAT MODULATE IMMUNOSUPPRESSIVE ACTIVITY MSC IN VITRO</b><br><u>Gornostaeva A.N., Bobyleva P.I.</u>  | 12:00 – 12:10 |
| 5                    | <b>МОДУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ</b><br><u>Жидкова О.В.</u><br><b>THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF MESENCHYMAL STROMAL PRECURSORS ARE MODULATED BY THE INTERACTION WITH ENDOTHELIAL CELLS</b><br><u>Zhidkova O.V.</u>   | 12:15 -12:25  |
| 6                    | <b>УРОВЕНЬ КИСЛОРОДА КАК ФАКТОР МОДУЛЯЦИИ АНГИОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК</b><br><u>Ездакова М.И., Жидкова О.О.</u><br><b>OXYGEN LEVEL AS A MODIFIER OF THE ANGIOGENIC POTENTIAL OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS</b><br><u>Ezdakova M.I., Zhidkova O.O.</u>   | 12:30 -12:40  |
| 7                    | <b>ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРИЛЛЯРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (ММСК) INVITRO</b><br><u>Матвеева Д.К., Живодерников И.В.</u><br><b>THE CHARACTERISTICS OF FIBRILLAR EXTRACELLULAR MATRIX OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN VITRO</b><br><u>Matveeva D.K., Zhivodernikov I.V.</u>          | 12:45 -12:55  |
| <b>ПЕРЕРЫВ/BREAK</b> |  |               |
| 8                    | <b>ЛЕЙЦИН-ЗАВИСИМАЯ АКТИВАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА IGF1 И IGF1-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ В ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ МИОБЛАСТАХ</b><br><u>Леднев Е.М., Кравченко И.В., Фуралев В.А., Лысенко Е.А., Попов Д.В.</u><br><b>ACTIVATION OF IGF1 AND IGF1-DEPENDENT GENES IN HUMAN MYOBLASTS BY LEUCIN</b><br><u>Lednev E.M., Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Lysenko E.A., Popov D.V.</u> | 13:25 -13:35  |
| 9                    | <b>АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПУПОЧНОЙ ВЕНЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАННОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ</b><br><u>Якубец Д.А., Рудимов Е.Г., Князев Е.Н.</u><br><b>TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF HUMAN UMBILICAL CORD BLOOD ENDOTHELIAL CELLS UNDER SIMULATED MICROGRAVITY</b><br><u>Yakubets D.A., Rudimov E.G., Knjazev E.N.</u>     | 13:40 – 13:50 |
| 10                   | <b>ВЛИЯНИЕ АЭРОБНОЙ ТРЕНИРОВКИ НА БАЗАЛЬНЫЙ ТРАНСКРИПТОМ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ ЧЕЛОВЕКА</b><br><u>Махновский П.А., Лысенко Е.А., Курочкина Н.С., Попов Д.В.</u><br><b>EFFECT AEROBIC TRAINING ON BASAL TRANSCRIPTOME IN HUMAN SKELETAL MUSCLE</b><br><u>Makhnovskii P. A., Lysenko E, A., Kurochkina N. A., Popov D.V.</u>                                     | 13:55 -14:05  |



|  |  |               |
|--|--|---------------|
| 11   | <p><b>ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ СОДЕРЖАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ТРАНСКРИПЦИОННЫХ РЕГУЛЯТОРОВ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА</b></p> <p><u>Боков Р.О., Лысенко Е.А., Курочкина Н.С., Попов Д.В.</u><br/> <b>TRANSCRIPTION REGULATION OF THE CONTENT OF MITOCHONDRIAL ENZYMES AND TRANSCRIPTION REGULATORS IN THE HUMAN SKELETAL MUSCLE</b></p> <p><u>Bokov R.O., Lysenko E.A., Kurochkina N.S., Popov D.V.</u></p>   | 14:10 -14:20  |
| 12   | <p><b>ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ 3D-НОСИТЕЛЯ ЛИОПЛАСТ И КУЛЬТУРЫ ХОНДРОБЛАСТОВ В КОСМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ</b></p> <p><u>Пугачёв Е.И., Нефёдова И.Ф., Рязанова Т.К.</u><br/> <b>PERSPECTIVES FOR PRACTICAL APPLICATION OF THE BIOLOGICAL 3D CARRIER-BASED MODEL (LYOPLAST®) AND CHONDROBLAST CULTURE IN SPACE RESEARCH AND REGENERATIVE MEDICINE</b></p> <p><u>Pugachev E., Nefedova I., Ryazanova T.</u></p>  | 14:25 – 14:35 |
| 13   | <p><b>ВЛИЯНИЕ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ НА ЭКСПРЕССИЮ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК INVITRO</b></p> <p><u>Живодерников И.В., Ратушный А.Ю.</u><br/> <b>THE INFLUENCE OF MICROGRAVITATION EFFECTS ON ADHESION MOLECULES EXPRESSION OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN VITRO</b></p> <p><u>Zhivodernikov I.V., Ratushnyi A.U.</u></p>  | 14:40 -14:50  |
| 14   | <p><b>NEUROSPACE – NEURONAL REGENERATION INDUCED BY EXPOSURE TO HYPERGRAVITY</b></p> <p><u>Liemersdorf, C., Lichterfeld, Y., Frett, T. and Hemmersbach, R.</u></p>   | 14:55 -15:05  |
| <p><b>Председатели: д.б.н. М.А. Левинских, к.ф.-м.н. В.А. Шуршаков, к.м.н. Д.М. Швед/<br/>         PhD, DSc M.A. Levinskih, PhD D.M. Shved, PhD V.A. Shurshakov</b></p> <p><b>Аудитория №218/Room №218</b></p> |  |               |
| 1  | <p><b>3D КОНУСНО-ЛУЧЕВАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ ЧЕРЕПНО-ЛИЦЕВОГО СКЕЛЕТА КАК МЕТОД ОТБОРА И ЕЖЕГОДНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ЛИЦ ОПАСНЫХ ПРОФЕССИЙ ВРАЧОМ-СТОМАТОЛОГОМ</b></p> <p><u>Прокопович Л.С.</u><br/> <b>3D CONE-BEAM COMPUTER TOMOGRAPHY OF THE CRANIOFACIAL SKELETON AS DENTAL SELECTION METHOD AND ANNUAL MAXILLO-FACIAL ASSESSMENT OF HUMAN INTELLIGENCE OPERATORS AND HIGH THREATS PERSONNEL UNDER CONDITIONS OF INCREASED OR LOWERED PRESSURE OF THE SURROUNDING GAS OR WATER ENVIRONMENT, ZERO GRAVITY, OVERLOADS AND OTHER EXTREMES</b></p> <p><u>Prokopovich Lyalva, M.D.</u></p> | 11:00 -11:10  |
| 2  | <p><b>ЧИСЛЕННАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ РАСЧЁТА РАДИАЦИОННОЙ ОБСТАНОВКИ В АТМОСФЕРЕ ЗЕМЛИ</b></p> <p><u>Онучина М.Р., Артамонов А.А., Земнов К.Е., Чашин Е.Д.</u><br/> <b>THE NUMERICAL MODEL FOR CALCULATIONS OF THE RADIATION CONDITIONS OF THE EARTH'S ATMOSPHERE</b></p> <p><u>Onuchina M.R., Artamonov A.A., Zemnov K.E., Chaschin E.D.</u></p>  | 11:15-11:25   |

|                      |   |               |
|----------------------|---|---------------|
| 3                    | <p><b>ПРОБЛЕМА МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОМАГНИТНОГО ПОЛЯ И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ФОНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ</b><br/> <u>Онучина М.Р., Артамонов А.А., Карташова М.К.</u><br/> <b>THE PROBLEM OF MODELING HYPOMAGNETIC FIELD AND ELECTROMAGNETIC BACKGROUND OF ENVIRONMENT</b><br/> <u>Onuchina M.R., Artamonov A.A., Kartashova M.K.</u></p>   | 11:30 -11:40  |
| 4                    | <p><b>ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ К УСЛОВИЯМ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ</b><br/> <u>Журавлева Т.В.</u><br/> <b>PSYCHOLOGICAL AND CLINICAL-BIOCHEMICAL ASPECTS OF ADAPTATION OF HEALTHY PERSONS TO CONFINEMENT CONDITIONS IN HERMETIC OBJECT</b><br/> <u>Zhuravleva T.V.</u></p>   | 11:45 -11:55  |
| 5                    | <p><b>РАЗРАБОТКА ИЗМЕРИТЕЛЬНОГО СТЕНДА ДЛЯ АДАПТИВНОЙ ОПТИМИЗАЦИИ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ РАСТЕНИЙ В КОСМИЧЕСКОЙ ОРАНЖЕРЕЕ</b><br/> <u>Очков О.А.</u><br/> <b>DEVELOPMENT OF A MEASURING BENCH FOR ADAPTIVE OPTIMIZATION OF LED LIGHTING OF PLANTS IN A SPACE GREENHOUSE</b><br/> <u>Ochkov O.A.</u></p>  | 12:00 - 12:10 |
| 6                    | <p><b>ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ЯПОНСКИХ ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ РАЗНЫХ СПЕКТРАХ ОСВЕЩЕНИЯ</b><br/> <u>Литвин Е.Д.</u><br/> <b>THE PRODUCTIVE QUALITIES OF THE JAPANESE QUAILS USING LIGHT IN VARIOUS SPECTRA</b><br/> <u>Litvin E.D.</u></p>   | 12:15 – 12:25 |
| 7                    | <p><b>ДИНАМИКА НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОПЕРАТОРА В УСЛОВИЯХ ИЗОЛЯЦИИ</b><br/> <u>Счастливец Д.В.</u><br/> <b>HUMAN DYNAMICS OF NEUROPHYSIOLOGICAL REACTIONS AND PSYCHOPHYSIOLOGICAL FEATURES IN ISOLATION</b><br/> <u>Schastlivtseva D.V.</u></p>  | 12:30 -12:40  |
| 8                    | <p><b>ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ИЗОЛЯЦИИ НА КОММУНИКАТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ЭКИПАЖА (ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА СИРИУС-17)</b><br/> <u>Суполкина Н.С., Швед Д.М.</u><br/> <b>EFFECTS OF ISOLATION ON THE CREW COMMUNICATIVE BEHAVIOR (THE PRELIMINARY RESULTS OF THE SIRIUS-17 EXPERIMENT)</b><br/> <u>Supolkina N.S., Shved D.M.</u></p>   | 12:45 – 12:55 |
| <b>ПЕРЕРЫВ/BREAK</b> |   |               |
| 9                    | <p><b>САНИТАРНО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНОЙ ТКАНИ И СВЯЗУЮЩЕГО ЭНФБ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ОБИТАЕМЫХ ОТСЕКАХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КОСМИЧЕСКИХ КОРАБЛЕЙ</b><br/> <u>Лашуков П.В., Царьков Д.С.</u><br/> <b>SANITARY AND CHEMICAL RESEARCH OF POLYMER COMPOSITE MATERIALS BASED ON CARBON FABRIC AND ENFB BINDER FOR USE IN THE LIVING COMPARTMENTS INTO FUTURE SPACECRAFT</b><br/> <u>Lashukov P.V., Tsarkov D.S.</u></p> | 13:25-13:35   |

|    |   |               |
|----|---|---------------|
| 10 | <p>ЛЕТУЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ НЕВЕСОМОСТИ («СУХАЯ» ИММЕРСИЯ)<br/> <u>Царьков Д.С.</u><br/> VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN HEALTHY HUMAN'S BREATH DURING SIMULATION OF WEIGHTLESSNESS ("DRY" IMMERSION)<br/> <u>Tsarkov D.S.</u></p>   | 13:40 -13:50  |
| 11 | <p>ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НА ФОНЕ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕМЕ<br/> <u>Ниязов А.Р., Рукавишников И.В., Федяй С.О.</u><br/> INVESTIGATION OF PAIN SENSITIVITY INDICATORS DURING ISOLATION<br/> <u>Niiazov A.R., Rukavishnikov I.V., Fedvay S.O.</u></p>   | 13:55 – 14:05 |
| 12 | <p>ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛЯ ОРИЕНТИРОВАНИЯ В СРЕДСТВАХ И МЕТОДАХ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В ГЕРМОЗАМКНУТОМ ОБЪЕКТЕ<br/> <u>Черногоров Р.В.</u><br/> EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF USING SPECIALIZED SOFTWARE FOR ORIENTATION IN THE MEANS AND METHODS OF MEDICAL CARE IN HERMETICALLY CLOSED OBJECT<br/> <u>Chernogorov R.V.</u></p>                           | 14:10-14:20   |
| 13 | <p>УРОВЕНЬ ФИЗИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ КОСМИЧЕСКИХ ТУРИСТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА ПРЕПОЛЕТНОМ ЭТАПЕ ПОДГОТОВКИ<br/> <u>Ковинский А.А.</u><br/> THE LEVEL OF PHYSICAL READINESS OF SPACE TOURISTS TO PERFORM SPACE FLIGHT IN THE PRE-FLIGHT STAGE OF PREPARATION<br/> <u>Kovinskiy A.A.</u></p>  | 14:25 -14:35  |
| 14 | <p>ИСПЫТАТЕЛЬНАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БАЗА ЛАБОРАТОРИИ КОСМИЧЕСКИХ СИСТЕМ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ЦЕНТРА «СИРИУС» НА ПРИМЕРЕ КВАЛИФИКАЦИОННЫХ ИСПЫТАНИЙ НАНОСПУТНИКА «SIRIUSSAT-1U»<br/> <u>Шеков И.С., Кишкун А.А.</u><br/> TESTING AND EXPERIMENTAL BASE OF LABORATORY OF SPACE SYSTEMS OF EDUCATIONAL CENTER "SIRIUS" ON THE EXAMPLE OF QUALIFICATION TESTS OF NANO-SATELLITE "SIRIUSSAT-1U"<br/> <u>Shekov I.S., Kishkun A.A.</u></p> | 14:40-14:45   |
|    | <p>Подведение итогов конференции, награждение победителей/Summing up the conference, awarding the winners</p>   | 17:00 – 17:45 |

## NEUROSPACE – NEURONAL REGENERATION INDUCED BY EXPOSURE TO HYPERGRAVITY

*Liemersdorf, C., Lichterfeld, Y., Frett, T. and Hemmersbach, R.*

German Aerospace Center DLR, Institute of Aerospace Medicine, Division of Gravitational Biology, Cologne, Germany

Neuronal activity is the key modulator of nearly every aspect of behavior. Cognition, learning and memory as well as motion tasks are based on by neuronal transmission. Alterations or even disruptions of the transmission of synaptic signals are the main cause of many neurological disorders.

A fundamental concern in the treatment of most neuropathologies is the re-integration of synaptic inputs to previously impaired neuronal networks that were affected e.g. by spinal cord injury, head trauma, epileptic seizures, tumorous tissue or other types of lesions to the nervous system.

The regeneration of injured neuronal fibers is nearly completely inhibited by the scar tissue that forms upon damage to the surrounding tissue. Especially scar tissue formed in consequence to spinal cord injuries plays a very decisive role in preventing axonal growth past the scar formation. Therefore regeneration of axonal projections through the lesion site is nearly impossible resulting in sustained damage of the tissue and consequently in impairments in brain functions including complete and persistent paralysis.

The novel prospect includes increased gravity (hypergravity) as an innovative and potentially highly influential measure to artificially stabilize cytoskeletal components of neural cells, enabling them to counteract the restricted process of neurite outgrowth and therefore enhance axon regeneration and re-integration in traumatized networks following nervous tissue injuries.

To better understand the regeneration of nervous tissue, primary murine hippocampal neurons are used as a model closely related to human neural tissue. The influential role of increased gravity on neuronal development will be investigated by analyses of the different developmental stages, including neuritogenesis, neuronal polarization and further in maturation processes like synaptogenesis or synaptic integration in neural networks. Each of these developmental steps could play a role at a certain level in neuronal regeneration in vivo.

Previous studies have shown an effect of hypergravity to include an enhanced protrusive phenotype (Rösner et al., 2006). Indeed, exposure of primary neurons to hypergravity conditions (2g) induced an increased number of neurites (about 30%) and higher elongation rates (about 20%) compared to control cells at normal 1g gravity conditions. At later stages of development mature synaptic contacts were formed under hypergravity conditions. In addition, the formation of glial scar tissues could be inhibited by exposure to hypergravity as well. These observations are consistent with an increase in the tubulin- and a decrease in the actin-network.

A potentially very important finding was that primary cultured astrocytes, the major cell type involved in glial scar formations, showed decreased lamellipodial protrusions and a deficit in cell spreading due to exposure to hypergravity conditions consistent with migratory impairments. Migratory impairments of astrocytes could aid to the induction of the regenerative potential of neuronal projections, since an inhibition of the glial scar formation would counteract the restrictive environment of the glial scar enabling axons to grow past the lesion and scar site of the injured tissue.

Our results indicate hypergravity as an innovative measure to artificially stabilize cytoskeletal components of neuronal cells, enabling them to counteract the restricted process of neurite outgrowth and therefore enhance axon regeneration in previously traumatized networks. These potentially beneficial effects of hypergravity on neuronal regeneration could further be transferred to novel treatments for human patients e.g. following a spinal cord injury or trauma.

## НЕЙРОМЫШЕЧНЫЕ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ОРТОСТАТИЧЕСКОЙ И ПОЗНОЙ НЕУСТОЙЧИВОСТИ, ОБУСЛОВЛИВАЕМЫЕ МИКРОГРАВИТАЦИЕЙ

*Амирова Л.Е., Осецкий Н.Ю., Китов В.В., Рукавишников И.В.*  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Нарушения позной устойчивости являются закономерным следствием космических полетов (КП). Столь же закономерными после полета являются нарушения ортостатической устойчивости. Одним из факторов, играющим важную роль в поддержании как ортостатической, так и позной устойчивости, является мышечный тонус. Показано, что снижение мышечного тонуса, развивающееся в первые же минуты действия невесомости, вносит существенный вклад в развитие как одного, так и другого феномена. Так, по данным Г.А. Фоминой, временные характеристики изменений просвета венозного русла нижних конечностей при переходе к сниженной весомости совпадают с таковыми изменениями мышечного тонуса. Резкое снижение тонуса, обусловливаемое в невесомости дезактивацией позной мускулатуры, вносит существенный вклад также в развитие позных нарушений, наблюдающихся в ранние сроки после воздействия моделируемой невесомости. В то же время определенный вклад в нарушения ортостатической устойчивости вносят и изменения механизмов регуляции сосудистого тонуса. Исследованиям влияния микрогравитации на деятельность сердечно-сосудистой, нейромышечной и постуральной систем посвящен ряд работ, однако роль и место нейромышечных и сосудистых нарушений в развитии ортостатической и позной неустойчивости до настоящего времени остаются предметом изучения. В связи со сказанным представлялось важным исследовать у человека изменения нейромышечных и сердечно-сосудистых характеристик и их взаимосвязь при нарушениях ортостатической и позной устойчивости, обусловливаемых пребыванием в условиях реальной невесомости и наземного моделирования микрогравитации.

**Материалы и методы.** Исследования были проведены на здоровых испытуемых-добровольцах: 10 космонавтов со средней длительностью космических полетов  $168 \pm 22$  суток и 46 испытуемых, участников модельных экспериментов в условиях антиортостатической гипокинезии (АНОГ) и «сухой» иммерсии (СИ).

Для оценки ортостатической устойчивости и гемодинамических характеристик космонавтов применяли активную ортостатическую пробу за тридцать суток до КП, в первый час после его завершения и на 4-е, 7-е и 12-е сутки периода восстановления. Проба представляла принятие вертикальной стойки из положения лежа на животе с последующей стойкой с открытыми глазами длительностью 3,5 минуты, в течение которых проводили регистрацию артериального давления (Portapres, Нидерланды) с последующим расчетом гемодинамических параметров. В наземных сериях экспериментов проводилась пассивная ортостатическая проба ( $80^\circ$ ) с отрицательным давлением на нижнюю половину тела. Регистрируемые параметры и их обработка были аналогичны полетной группе.

До и после КП определяли постурографические характеристики вертикальной стойки космонавта. Обследования проводили одновременно с активной ортостатической пробой. При обработке записи анализировали амплитуду колебаний центра давления (ЦД) во фронтальной и сагиттальной плоскостях и среднюю скорость перемещения ЦД.

Оценку мышечного тонуса проводили методом миотометрии. Сенсор прибора «MytononPRO» (Myoton AS, Эстония) осуществляет 5 коротких ударов стабильной силы (0,4 Н) и длительности (15мс). Встроенный акселерометр фиксирует затухающие колебания и производит расчет параметров ответа ткани.

**Результаты.** В фоновых исследованиях космонавтов 3,5-минутная активная ортостатическая проба не вызывала затруднений. В первый час после завершения длительного космического полета все 7 выполнявших ортопробу космонавтов успешно ее завершили. Однако после ее проведения 3 космонавта отказались от дальнейших

тестирований в связи с сильным недомоганием, вызванным ее выполнением, даже при условии проведения пробы в противоперегрузочном костюме «Кентавр». На четвертые, седьмые и двенадцатые сутки после завершения КП все космонавты успешно завершали выполнение ортопробы и батареи последующих сенсомоторных тестов без применения костюма «Кентавр». Для анализа времени ортостатической устойчивости в модельных экспериментах до начала и сразу же после завершения воздействий использовали 15-минутную 80° ортостатическую пробу с последующим созданием ОДНТ, максимальная длительность которой составляла до 39 минут. Время переносимости пробы составляло в среднем  $27,9 \pm 8,2$  мин до воздействия АНОГ и  $27,1 \pm 4,2$  мин до 3-суточной СИ. Сразу же после завершения воздействий регистрировалось закономерное снижение времени ортостатической устойчивости, выраженное сильнее после 3-суточной иммерсии (-68%), чем после 21-суточной АНОГ (-49%). Гемодинамические показатели, обеспечивающие ортостатическую устойчивость при вертикальной стойке, в нашем исследовании также выражено изменялись. Сразу же после завершения длительных космических полетов регистрировалось снижение систолического (на 17%) и диастолического давления (на 10%), ударного объема (на 22%), общего периферического сопротивления сосудов (на 20%) и увеличение частоты сердечных сокращений (на 26%).

До полета средние значения амплитуды колебаний ЦД во фронтальной и сагиттальной плоскостях при поддержании вертикальной стойки в течение 3,5 минут с открытыми глазами составляли  $7,3 \pm 2,0$  мм и  $50,5 \pm 10,2$  мм, соответственно. Значения средней скорости перемещения ЦД составляли  $0,46 \pm 0,22$  мм/с. После завершения длительного КП у космонавтов наблюдалось многократное увеличение амплитуды колебаний ЦД, до 800% во фронтальной и до 1080% – в сагиттальной. Средняя скорость перемещения ЦД достигала до 1350% от фоновых значений. Нормализация параметров наблюдалась лишь на двенадцатые послеполётные сутки.

Мышечный тонус камбаловидной мышцы голени до воздействия СИ составлял  $17,9 \pm 2,5$  Гц. В первые сутки иммерсионного регистрировалось его снижение на 4,5%, достигающее пика на третьи сутки СИ - 11,3%. Несмотря на умеренное количественное снижение тонуса в нашем исследовании, выявлена отрицательная корреляция между средней скоростью перемещения центра давления при вертикальной стойке с открытыми глазами и тонусом камбаловидной мышцы голени ( $r^2=0,61$ ), не выявляемая в фоновом обследовании ( $r^2=0,02$ ). Корреляционный анализ между частотой сердечных сокращений и тонусом камбаловидной мышцы показал слабую взаимосвязь, а корреляционный анализ между средней скоростью перемещения ЦД и частотой сердечных сокращений не выявил ее.

**Заключение.** Таким образом, изменения, регистрируемые после обоих модельных экспериментов, были сопоставимы, однако более короткое время иммерсионного воздействия свидетельствует о его семикратно большей интенсивности. По-видимому, опорная информация важна как для ортостатической, так и для поструральной устойчивости, поскольку при их отсутствии запускаются альтернативные механизмы управления позой и сердечно-сосудистой системой. Слабая взаимосвязь параметров тонуса поструральной мускулатуры и частоты сердечных сокращений как до, так и после гравитационной разгрузки, вероятно указывает на независимость работы механизмов двух исследуемых систем во время поддержания вертикальной стойки. Возможными путями влияния нейромышечной системы на сердечно-сосудистую являются венозная податливость и вено-артериальный рефлекс. Взаимосвязь между параметрами тонуса поструральной мускулатуры и поструральной устойчивостью, выявляемая после гравитационной разгрузки, не обнаруживаемая в фоновом обследовании, обуславливается гравитационной атонией и нарушениями сосудистого тонуса.

Исследование поддержано Российской академией наук (тема 63.1).

# NEUROMUSCULAR AND CARDIOVASCULAR DISORDERS IN ORTHOSTATIC AND POSTURAL INSTABILITY, CONDITIONED BY MICROGRAVITY

*Amirova L.E., Osetskiy N.Y., Kitov V.V, Rukavishnikov I.V.*  
SSC RF - IBMP RAS, Moscow

Disorders of postural stability are a natural consequence of space flights (SF). Orthostatic stability disorders are also regularly observed after the flight. One of the factors that play a significant role in maintaining both orthostatic and postural stability is the muscle tone. It is shown that the decrease of the muscle tone, that develops in the first minutes of the exposure to weightlessness, makes a substantial contribution to the development of both of the aforementioned phenomenon. So, according to G.A. Fomina, the temporal characteristics of changes in the clearance of the venous channel of the lower extremities in the transition to reduced weight coincide with those changes in muscle tone. A severe decrease in tone, conditioned in the weightlessness by deactivation of the posture muscles, also significantly contributes to the development of postural disturbances observed in the early periods after the exposure to simulated weightlessness. At the same time, a certain contribution to the disturbances of orthostatic stability is introduced by the changes in the mechanisms of regulation of vascular tone. While studies of the effects of microgravity on the activity of the cardiovascular, neuromuscular and postural systems have been a subject to a number of works, the role and the place of neuromuscular and vascular disorders in the development of orthostatic and postural instability have so far been the subject of thorough study. In connection with what has been said, it seemed important to investigate the changes in neuromuscular and cardiovascular characteristics in humans and their relationship in the disturbances of orthostatic and postural stability, caused by exposure to the conditions of weightlessness and onground models.

**Materials and methods.** The studies were carried out on healthy volunteer subjects: 10 cosmonauts with an average space flights duration of  $168 \pm 22$  days and 46 subjects, participants in model experiments of  $-6^\circ$  head down bed rest (HDBR) and dry immersion (DI).

To assess the orthostatic stability and cardiovascular characteristics of the cosmonauts, an active orthostatic test was used with sessions on thirty days before the SF, within the first hour after its completion, and on the 4th, 7th and 12th days of the recovery period. The test consisted of taking a vertical stance from the prone position, followed by a 3.5-minute open-eye stand, during which the blood pressure was recorded (Portapres, The Netherlands), followed by calculation of hemodynamic parameters. In the ground series of experiments, a passive orthostatic test ( $80^\circ$ ) was conducted with negative pressure on the lower half of the body. The recorded parameters and their processing were similar to that of the cosmonauts.

Before and after the SF, the postural characteristics of the cosmonaut's vertical stance were determined. The examinations were carried out simultaneously with an active orthostatic test. During the processing of the record, the amplitude of the oscillations of the center of pressure (CP) in the frontal and sagittal planes and the average velocity of the CP displacement were analyzed.

The evaluation of muscle tone was carried out using the method of myotonometry. The sensor of the MytononPRO device (Myoton AS, Estonia) carries out 5 short strokes of a stable force (0.4 N) and duration (15 ms). The built-in accelerometer captures damped oscillations and calculates the response parameters of the tissue.

**Results.** In background studies of cosmonauts, a 3.5-minute active orthostatic test did not cause any difficulties. In the first hour after the end of a long-term space flight the 7 cosmonauts who performed orthostatic test successfully completed it. However, after its completion, 3 cosmonauts refused to continue further testing due to a severe discomfort caused by its performance, although the test was carried out wearing the "Centaur" suit. On the fourth, seventh and twelfth days after the completion of the SF, all of the cosmonauts successfully completed the orthostatic test and the battery of subsequent sensorimotor tests without the use of the "Centaur" suit. To analyze the time of orthostatic stability in model experiments, a 15-minute  $80^\circ$  orthostatic

test was used before and immediately after the completion of the effects, followed by the creation of LBNP, the maximum duration of which was 39 minutes. The tolerance time of the test was averagely  $27.9 \pm 8.2$  minutes before exposure to HDBR and  $27.1 \pm 4.2$  min – before exposure to 3-day DI. Immediately after the completion of the exposure, a regular decrease in the time of orthostatic stability was recorded, expressed more severe after a 3-day immersion (-68%) than after a 21-day HDBR (-49%). Hemodynamic parameters that provide orthostatic stability during vertical stance, also significantly changed in our study. Immediately after the completion of long-term space flights, a decrease in systolic (by 17%) and diastolic pressure (by 10%), stroke volume (by 22%), total peripheral vascular resistance (by 20%) and an increase in the heart rate (by 26%) were recorded.

Prior to the flight, the average values of the CP amplitude in the frontal and sagittal planes, while maintaining a vertical stance for 3.5 minutes with the eyes open, were  $7.3 \pm 2.0$  mm and  $50.5 \pm 10.2$  mm, respectively. The values of the average velocity of movement of the PC were  $0.46 \pm 0.22$  mm/s. After the end of the long-term SF, cosmonauts observed a multiple increase in the amplitude of PC oscillations, up to 800% in the frontal and up to 1080% in the sagittal plane. The average velocity of PC displacement reached up to 1350% of the background values. Normalization of parameters was observed only on the twelfth post-flight day. The muscular tone of the soleus muscle before exposure to DI was  $17.9 \pm 2.5$  Hz. On the first day of immersion, its decrease by 4.5% was registered, reaching a peak on the third day of DI - 11.3%. Despite a moderate quantitative decrease of the tone in our study, a negative correlation was found between the average rate of displacement of the center of pressure during vertical stance with eyes open and tone of soleus muscle ( $r^2 = 0.61$ ), not detectable in the background examination ( $r^2 = 0.02$ ). The correlation analysis between the heart rate and the tone of the soleus muscle showed a weak correlation, and the correlation analysis between the average speed of CP displacement and the heart rate did not reveal any significant relationships.

**Conclusion.** Thus, the changes recorded after both model experiments were comparable, but a shorter immersion time indicates its sevenfold greater intensity. Presumably, the support afferent information is important for orthostatic and postural stability, since in its absence alternative mechanisms for controlling the posture and cardiovascular system are launched. The weak relationship between the parameters of the tone of the postural muscles and the heart rate both before and after the gravitational unload probably indicates the independence of the work of the both systems mechanisms under investigation in maintaining the vertical posture. Venous compliance and vein-arterial reflex are the possible ways of the neuromuscular system influence on the cardiovascular system. The relationship between the parameters of the postural muscular tone and postural stability, revealed after gravitational unload, not detectable in the background survey, occurs due to gravitational atony and vascular tone disorders.

The study was supported by the Russian Academy of Sciences (subject 63.1)

## **ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА В ЭРИТРОЦИТАХ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРЕНОСА КИСЛОРОДА У КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ**

*Анисимов Н.А.*

ГНЦ РФ ИМБП РАН, г.Москва

Ранее было показано, что факторы длительного космического полета (ДКП) вызывают комплексные изменения в эритроцитах космонавтов - снижение их количества, содержания гемоглобина, обратимое увеличение числа трансформированных эритроцитов, сдвиги в структурно-функциональном состоянии клетки. В условиях ДКП и после его завершения выявлены обратимые изменения липидного состава плазматической мембраны, приводящие к увеличению ее микровязкости. (Иванова.С.М, 2002, Иванова С.М., Моруков Б.В., Максимов Г.В., 2011.). Из литературных данных (Максимов Г.В. и соавт. 2000, Rodnenkov et al O.V. 2005,



LunevaetalO.G. 2007) следует, что наблюдаемые в нейронах мозга, клетках периферических нервов, мышечных клетках сердца и сосудов сдвиги формы, объема клеток, а также вязкости и проницаемости плазматической мембраны сопровождаются изменением эффективности переноса кислорода, что приводит к развитию клеточной гипоксии

Предварительные исследования, проведенные совместно с сотрудниками МГУ им. М.В.Ломоносова (кафедра биофизик биологического факультета) выявили изменения в конформации гемопорфиринов гемоглобина и в снижении способности гемоглобина связывать кислород у космонавтов после завершения ДКП, что может быть одним из факторов возникновения тканевой гипоксии. (Grigoriev A.I.etal., 2004, Morukov B.V., Ivanova S.M., et al, 2006).

Целью данной работы явилось исследование морфологической картины красной крови, показателей внутриклеточного обмена эритроцитов и состояния гемопорфиринов гемоглобина. Исследовали показатели энергообразующей системы в эритроцитах – содержание аденозинтрифосфата (АТФ), лактата, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), и восстановительной - содержание восстановленного глутатиона, активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ). Об эффективности переноса гемоглобином кислорода судили по содержанию оксигемоглобина и способности гемоглобина отдавать кислород.

Исследуемые показатели определяли за месяц до ДКП, а также на первые и седьмые сутки после его завершения.

При исследовании морфологической картины крови было выявлено достоверное уменьшение изучаемых показателей на 7-е сутки после ДКП.

На 1-е сутки после ДКП было отмечено достоверное снижение уровня АТФ. Отсутствие изменений в интенсивности основного энергообразующего процесса, гликолиза, обнаруженное ранее у космонавтов после завершения ДКП, и неизменность активности ЛДГ, выявленное в данном исследовании, позволило сделать заключение, что наблюдаемое уменьшение уровня АТФ может быть обусловлено повышенным расходом этого метаболита на уровне мембраны (изменение активности транспортных АТФ-аз, фосфорилирование белковых и липидных фракций).

Выявленное на 1-е сутки после ДКП повышение содержания лактата указывает на превалирование анаэробных процессов в организме.

Не было обнаружено достоверных изменений в содержании восстановленного глутатиона и активности Г6ФДГ. В тоже время на 1-е сутки после ДКП наблюдали индивидуальные изменения, выражавшиеся в снижении содержания восстановленного глутатиона и повышении активности Г6ФДГ, указывающие на возможную активацию процессов липоперекисления.

При исследовании показателей, характеризующих эффективность переноса кислорода гемоглобином на 1-е сутки после ДКП, была отмечена лишь тенденция к повышению содержания оксигемоглобина и снижению сродства гемоглобина к кислороду. На 7-е сутки величины исследуемых показателей находились в пределах нормальных величин.

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют об изменениях в морфологической картине красной крови и структурно-функциональном состоянии эритроцитов, что характерно для изменений, наблюдаемых у космонавтов, совершивших ДКП на станции “МИР” и Международной космической станции. Отсутствие существенных изменений в содержании оксигемоглобина и сродства гемоглобина к кислороду, возможно, свидетельствует о нормальной эффективности переноса кислорода гемоглобином у обследуемых космонавтов.

# PARAMETERS OF METABOLISM IN RED BLOOD CELLS AND THE OXYGEN TRANSFER EFFICIENCY IN COSMONAUTS AFTER LONG DURATION SPACE FLIGHTS

*Anisimov N.A.*

SSC RF IMBP RAS, Moscow, Russia

Earlier it was shown that the factors of prolonged space flight (PSF) cause complex changes in the erythrocytes of astronauts - a reduction in their number, hemoglobin content, a reversible increase in the number of transformed erythrocytes, shifts in the structural and functional state of the cell. Under the conditions of PSF and after its completion, reversible changes in the lipid composition of the plasma membrane were revealed, leading to an increase in its microviscosity (Ivanova S.M., 2002, Ivanova S.M., Morukov B.V., Maksimov G.V., 2001). From the literature (Maksimov G.V. et al. 2000, Rodnenkov et al. O.V. 2005, Luneva et al. O.G. 2007) it follows that the changes in the shape, volume of cells, viscosity and permeability of the plasma membrane observed in the neurons of the brain, peripheral nerve cells, muscle cells and vessels of the heart are accompanied by changes in the efficiency of oxygen transfer, which leads to the development of cellular hypoxia.

Preliminary studies conducted in conjunction with the staff of Moscow State University M.V. Lomonosov (Department of Biophysics, Faculty of Biology) revealed changes in the conformation of hemoporphyrins and hemoglobin in the ability of hemoglobin to bind oxygen in cosmonauts after PSF termination, which may be one of the factors responsible for the onset of tissue hypoxia. (Grigoriev A.I. et al., 2004, Morukov B.V., Ivanova S.M., et al, 2006).

The purpose of this work was the study of the morphological pattern of red blood, indicators of intracellular metabolism of erythrocytes and the state of hemoglobin hemoporphyrins. The parameters of the energy-producing system in erythrocytes - the content of adenosine triphosphate (ATP), lactate, lactate dehydrogenase (LDH) activity, and the reducing - content of reduced glutathione, glucose-6-phosphate dehydrogenase activity (G6PDG) were studied. The effectiveness of hemoglobin transfer of oxygen was evaluated by the content of oxyhemoglobin and the ability of hemoglobin to give off oxygen.

The studied indices were determined a month before the PSF, as well as on the first and seventh day after its completion.

The study of blood morphological pattern revealed a significant decrease in the studied parameters on the 7th day after PSF.

On the 1st day after the PSF, there was a significant decrease in ATP levels. The absence of changes in the intensity of the main energy-forming process, glycolysis, previously found in cosmonauts after the completion of the PSF, and the invariance of LDG activity, revealed in this study, led to the conclusion that the observed decrease in ATP level may be due to increased expenditure of this metabolite at the membrane level (changes in the activity of transport ATP-ases, phosphorylation of membrane protein and lipid fractions).

Revealed on the 1st day after PSF increase in lactate indicates the prevalence of anaerobic processes in the body.

There were no significant changes in the content of reduced glutathione and G6PDG activity. At the same time, on the 1st day after the PSF, individual changes were observed, expressed in a decrease in the content of reduced glutathione and an increase in the activity of G6FDG, indicating the possible activation of lipoperoxidation processes.

In the study of indices characterizing the efficiency of oxygen transfer by hemoglobin on the 1st day after PSF, there was only a tendency to increase the content of oxyhemoglobin and reduce the affinity of hemoglobin to oxygen. On the 7th day the values of the studied parameters were within normal values.

The data obtained in this study indicate changes in the morphological pattern of red blood and the structural and functional state of erythrocytes, which is characteristic of the changes observed in

cosmonauts who committed PSF at MIR station and the International Space Station. The absence of significant changes in the content of oxyhemoglobin and the affinity of hemoglobin for oxygen may indicate a normal efficiency of oxygen transfer by hemoglobin in the surveyed cosmonauts.

## **ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ОСОБЕННОСТИ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ**

*Бобылёва П.И.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

К текущему моменту результаты ряда успешных доклинических и клинических испытаний показали эффективность применения мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) в терапии различных заболеваний и для восстановления повреждённых тканей. Их регенеративный потенциал обусловлен трофическим и регуляторным действием продуцируемых ими паракринных факторов, способствующих процессам репарации. Важной особенностью МСК является их способность регулировать активность различных звеньев как врождённого, так и адаптивного иммунитета, что может найти применение при лечении аутоиммунных заболеваний и в случае трансплантации органов. Клиническое использование МСК подразумевает трансплантацию непроцессированного клеточного материала, а также введение пациенту клеток после предварительной экспансии *in vitro*.

Применение МСК в клинической практике требует стандартизации клеточного материала. Однако при использовании МСК возникает проблема, связанная с неоднородностью клеточной популяции, и как следствие, становится затруднительно предсказать, каким образом при экспансии МСК и дополнительном воздействии привнесённых регуляторных факторов будет изменяться динамика роста и функциональная активность клеток. Вариации свойств наблюдаются как внутри одной популяции, так и между популяциями МСК, полученными от разных доноров. Изначальная гетерогенность МСК и использование для подготовки клеток различных протоколов, по крайней мере, отчасти могут объяснить имеющиеся различия результатов клинических исследований.

На текущий момент исследования, посвящённые МСК, затрагивают, в основном, аспекты, связанные с применением их трофических и иммунорегуляторных свойств для терапевтических целей. В то же время, практически не изучены молекулярные механизмы, которые лежат в основе самообновления и определения судьбы клеток-предшественников. Недавно была обнаружена зависимость между метаболической и функциональной активностями МСК. Так, по окислительному статусу Bertoloetal. выделили среди исследованных МСК 2 группы: 1. клетки с исходно низким уровнем АФК, характеризующиеся большей пролиферативной и колониеобразующей активностью и большим потенциалом экспансии; 2. клетки с исходно высоким уровнем АФК, характеризующиеся меньшей пролиферативной и колониеобразующей активностью и меньшим потенциалом экспансии. В нашей лаборатории были получены данные, свидетельствующие о связи уровня АФК и регуляции свойств МСК при реализации иммуносупрессивной активности. Оказалось, что МСК с исходно высоким уровнем АФК более подвержены цитотоксическому действию активированных аллогенных мононуклеаров периферической крови при взаимодействии *in vitro*. Это наблюдение подчёркивает важность подбора доноров, а также унификации методов получения и подготовки клеточного материала, который в дальнейшем предполагается использовать для клинических целей.

Таким образом, для повышения продуктивности клинических методик, задействующих МСК, необходимо понимание происхождения гетерогенности внутри популяции МСК и донор-зависимых различий МСК, а также разработка подходов для

формирования более гомогенной популяции, обладающей наиболее подходящими характеристиками для терапевтического применения.

*Работа выполнена при поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-2976.2018.4*

## **THE HETEROGENEITY OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS AND THEIR FUNCTIONAL ACTIVITY**

***Bobyleva P.I.***

Institute of Biomedical Problems, RAS, Moscow

To date, the results of a number of successful preclinical and clinical trials have shown the effectiveness of multipotent mesenchymal stromal cells (MSC) for treatment of different conditions and for recovery of injured tissues. Their regenerative potential is being implemented due to trophic and regulatory effects of the paracrine factors contributing to the processes of repair. An important feature of MSC is the ability to regulate the activity of various members of both innate and adaptive immunity, which could be applied for the treatment of autoimmune diseases and in the case of organ transplantation. Clinical use of MSC implies the transplantation of the unprocessed cellular material, as well as cells after preliminary expansion *in vitro*.

The use of MSC in clinical practice requires the standardization of cellular material. However, when using MSC the problem emerges associated with the heterogeneity of the cell population, and as a consequence, it becomes difficult to predict how the growth dynamics and functional activity of the cells will change during the expansion of MSC and the addition of regulatory factors. Variations in properties are observed both within a single population and between populations of MSC obtained from different donors. The initial heterogeneity of MSC and the use of various protocols of cells' preparation can explain the differences in results of clinical trials at least in part.

Currently the studies on MSC consider mainly the aspects related to the application of their trophic and immunoregulatory properties for therapeutic purposes. At the same time, molecular mechanisms underlying self-renewal and the determination of the fate of progenitor cells are practically not studied. Recently, a relationship was found between the metabolic and functional activity of MSC. Based on the oxidative state of cells Bertolo et al. divided all studied MSC into 2 groups: 1. cells with initial low level of ROS, characterized by higher proliferative and colony-forming activity and greater expansion potential; 2. cells with initially high level of ROS, characterized by lower proliferative, colony-forming activity, and expansion potential. Data obtained in our laboratory provide an evidence of the relationship between the level of ROS and the regulation of MSC properties during the immunosuppression. It turned out that MSC with initial high ROS level was more prone to cytotoxic action of activated allogeneic peripheral blood mononuclear cells upon interaction *in vitro*. This observation underscores the importance of selection of donors, as well as the unification of methods for obtaining and preparing cellular material for further clinical application.

Thus, in order to increase the efficiency of clinical techniques involving MSC, it is necessary to understand the origin of heterogeneity within the MSC population and the donor-specific differences in MSC, and to develop approaches to obtain a more homogeneous population with the most suitable characteristics for therapeutic use.

*The work was supported by the Grant of the President of Russian Federation МК-2976.2018.*

# ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ЭКСПОЗИЦИИ НА ФЕНОТИП МОНОЦИТ-ПРОИЗВОДНЫХ МАКРОФАГОВ ПРИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

*Бобылева П.И., Алексеева О.Ю.*

*Научный руководитель: д.б.н. Андреева Е.Р.*

ГНЦ РФ-ИМБП РАН, г. Москва

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются одним из наиболее перспективных объектов в регенеративной медицине и клеточной терапии заболеваний человека. МСК вызывают большой научный интерес в связи с появлением все новых данных об их участии в обеспечении гомеостаза в тканях и репаративном ремоделировании. В поврежденной ткани взаимодействие стромального и клеточного компонентов происходит в условиях провоспалительной активации и гипоксии, что играет важную роль в репарации поврежденного участка.

В процессе регенерации клетки (иммунные, стромальные, эндотелиальные и другие) взаимодействуют друг с другом как за счет образования межклеточных контактов и контактов с внеклеточным матриксом, так и через трофические факторы. Причем характер микроокружения, создаваемый иммунными клетками, во многом определяет дальнейший ход репаративного ремоделирования.

МСК и моноцит-производные макрофаги (МН/МФ) – клеточные элементы, которые представлены практически во всех тканях в организме. МСК представляют собой клеточную популяцию, способную, с одной стороны, к самообновлению, а с другой – обеспечивающую формирование более коммитированных клеточных элементов тканей мезенхимального происхождения. В то время, как макрофаги являются высокоспециализированными клетками, способными к фагоцитозу, и участвующими в реакциях врожденного иммунитета, поддержании тканевого гомеостаза и вовлеченные в ремоделирование тканей при повреждении. Активное исследование МСК и МН/МФ показало, что общим для них является фенотипическая пластичность и высокая секреторная активность, обеспечивающая их участие в физиологической и репаративной перестройке тканей. Адаптация МН/МФ и МСК к микроокружению сопровождается значительным изменением их метаболической и функциональной активности – дивергентной «поляризацией».

Особое внимание в этом контексте привлекает изучение взаимодействия этих клеток, формирующее микроокружение.

Целью данной работы является изучение влияния длительности гипоксической экспозиции на фенотип моноцит-производных макрофагов при сокультивировании с мезенхимальными стромальными клетками.

Для этого проводили сокультивирование МН/МФ, выделенных из фракции мононуклеаров периферической крови человека, и МСК из жировой ткани человека в стандартных условиях (5% CO<sub>2</sub>, 37°C) в течение 6 дней – период, за который происходило созревание МН/МФ, после чего клетки подвергались короткому (24 ч) либо длительному (72 ч) гипоксическому воздействию (1% O<sub>2</sub>). В МН/МФ из исходной популяции и после культивирования методом проточной цитометрии были проанализированы экспрессия антигенов, характеризующих созревание (CD11b, CD68), провоспалительную активацию (CD80, CD86, HLA-DR) и поляризацию в M2 (антивоспалительный) фенотип (CD163, CD206), а также жизнеспособность.

В присутствии МСК созревание МН/МФ не отменялось, при этом клетки проявляли признаки M2 поляризации. В результате как контактного, так и паракринного взаимодействия с МСК снижалась экспрессия антигенов, связанных с провоспалительной активацией. Короткий гипоксический стресс (24 часа, 1% O<sub>2</sub>) потенцировал эффекты МСК, при прямом контакте с МН/МФ, что приводило к дальнейшему снижению экспрессии

молекул, опосредующих провоспалительную активацию, и к повышению уровня молекул, характерных для M2 фенотипа. МСК эффективно поддерживали жизнеспособность МН/МФ в условиях гипоксического стресса.

Увеличение длительности гипоксической экспозиции до 72 часов сопровождалось менее выраженным проявлением признаков M2 поляризации МН/МФ в присутствии МСК и более значимым подавлением экспрессии молекул, участвующих в провоспалительной активации. Непосредственный контакт с МСК нивелировал цитотоксический эффект длительного гипоксического культивирования МН/МФ, в то же время паракринное взаимодействие было менее эффективным для поддержания жизнеспособности МН/МФ.

Таким образом, в присутствии МСК гипоксический стресс индуцирует противовоспалительный характер изменения фенотипа МН/МФ. В зависимости от длительности гипоксического воздействия изменяется соотношение про/антивоспалительных молекул в профиле экспрессии МН/МФ, что может определять характер их участия в развитии воспалительной реакции.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-04-00942*

## **INFLUENCE OF THE DURATION OF HYPOXIC EXPOSURE ON THE PHENOTYPE OF MONOCYTE-DERIVED MACROPHAGES IN CO-CULTURE WITH MESENCHYMAL STROMAL CELLS**

*Bobyleva P.I., Alekseeva O.Y.*

**Scientific supervisor: Andreeva E.R.**

Institute of Bio-Medical Problems of Russian Academy of Science, Moscow

Multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) are one of the most promising tools in regenerative medicine and cell therapy of human diseases. MSCs are of great scientific interest due to the an increase of data on their participation in supporting tissue homeostasis and reparative remodeling. The interaction of stromal and cellular components in damaged tissue occurs under conditions of pro-inflammatory activation and hypoxia, which plays an important role in the repair of the damaged site.

In the process of regeneration, cells (immune, stromal, endothelial, etc.) interact with each other both through the formation of intercellular contacts and contacts with the extracellular matrix, and through trophic mediators. The involved cells provide a specific features of the microenvironment governing the reparative remodeling.

MSCs and monocyte-derived macrophages (MN/MPhs) are cellular elements that present in virtually all tissues of the body. MSC population is capable of self-renewal and provide the formation of more committed cellular elements of mesenchymal origin. At the same time, macrophages are highly specialized phagocytes and are involved in innate immunity, maintenance of tissue homeostasis and tissue remodeling in case of damage. Recent studies proved that phenotypic plasticity and high secretory activity are common for both populations that ensures participation of MSC and MN/MPhs in physiological and reparative tissue rearrangements. Adaptation of MN/MPhs and MSC to the microenvironment is accompanied by a significant change in their metabolic and functional activity - divergent "polarization". Therefore, further studies of the interaction of those cells, that are capable to orchestrate microenvironment look promising within the context of reparative tissue remodeling.

The goal of this research was to study time-dependent effects of short-term exposure to hypoxia on the phenotype of MN/MPhs during co-culture with MSCs. For this purpose, we used MN/MPhs that were isolated from the mononuclear fraction of human peripheral blood and MSCs from human adipose tissue. Co-culture was carried out under standard conditions (5% CO<sub>2</sub>, 37 ° C) for 6 days, needed for the MN/MPhs to mature. After that MN/MPhs and mesenchymal stromal cells were exposed to a relatively short (24 h) or prolonged (72 h)

hypoxia (1% O<sub>2</sub>). Flow cytometry was applied to analyze viability and phenotype of MN/MPhs. For that purpose, antigens that characterize maturation (CD11b, CD68), pro-inflammatory activation of M1 cells (CD80, CD86, HLA-DR) and polarization of M2 (anti-inflammatory) cells phenotype (CD163, CD206) were detected.

In the presence of MSCs, the maturation of MN/MPhs was not abolished, and the cells exhibited signs of M2 polarization. The expression of antigens associated with pro-inflammatory activation decreased upon both contact and paracrine interaction with MSCs. Short-time exposure hypoxia (24 hours, 1% O<sub>2</sub>) of direct co-culture MSCs with MN/MPhs, potentiated the effects of MSCs that led to a further decrease in the expression of molecules mediating pro-inflammatory activation and to an increase in the levels of molecules characteristic of the M2 phenotype. Under conditions of hypoxic stress MSCs effectively maintained the viability of MN/MPhs.

An increase of hypoxic exposure the duration up to 72 hours was accompanied by a less pronounced manifestation of M2 polarization of MN/MPhs in MSC co-culture. 72 hours hypoxia led to a more significant suppression of the expression of molecules participating in pro-inflammatory activation. Direct contact with MSCs neutralized cytotoxic effect of prolonged hypoxia during co-culture with MN/MPhs. Paracrine interaction was less effective for maintaining the viability of MN/MPhs.

Thus, in the presence of MSCs, hypoxic stress stimulated to anti-inflammatory changes in the MN/MPhs phenotype. The ratio of pro/anti-inflammatory molecules in the MN/MPhs expression profile was dependent on the duration of hypoxic exposure. This therefore may determine the path of their participation in the development of the inflammatory reaction.  
*The work was supported by the RFFI grant 17-04-00942*

## **ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ СОДЕРЖАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ТРАНСКРИПЦИОННЫХ РЕГУЛЯТОРОВ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА**

***Боков Р.О., Лысенко Е.А., Курочкина Н.С., Попов Д.В.***

ГНЦРФ-ИМБП РАН, Москва

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

При многократном воздействии на мышечную клетку стрессирующих факторов (физические нагрузки) происходят адаптационные сдвиги, связанные с изменением содержания специфических белков. Предполагается, что механизмы, ответственные за эти изменения, могут различаться у белков, выполняющих различные функции. Цель работы – изучить на уровне транскрипции механизмы, регулирующие увеличение содержания митохондриальных ферментов и транскрипционных регуляторов в скелетной мышце человека.

Из скелетных мышц человека возможно многократное прижизненное взятие биопсийных проб ткани. Это дает уникальную возможность оценивать изменения содержания белков и экспрессию генов до и после регулярных физических нагрузок (тренировок), а также после острого стрессорного воздействия (однократное физическое упражнение). Десять молодых нетренированных мужчин в течение 1 ч выполняли разгибание одной ноги в коленном суставе с нагрузкой умеренной интенсивности. Биопсические образцы из *m. vastus lateralis* брали до, через 1 ч и 4 ч после выполнения теста. Этот тест был повторен после аэробной тренировки на велоэргометре (5/нед, 8 нед). Для оценки изменений содержания транскрипционных регуляторов и белков, входящих в состав митохондриальных дыхательных ферментов, после регулярных стрессорных воздействий (8-нед тренировки) использовался метод Вестерн-блот. Для оценки изменения экспрессии генов после тренировки и для оценки экспрессии генов после однократного физического упражнения был

использован метод ПЦР в реальном времени.

В покое после 8-недельной аэробной тренировки содержание белков (NDUFB8, SDHB, UQCRC2, MT-CO1, ATP5A1), входящих в состав митохондриальных дыхательных ферментов, значимо увеличилось (на 35–162%,  $p < 0,05$ ). При этом не было обнаружено значимых изменений экспрессии генов, кодирующих данные белки, как в покое, так и после однократного упражнения (как в нетренированной, так и в тренированной мышце). Значимое увеличение содержания транскрипционных регуляторов после 8-нед тренировки было обнаружено для белков CRT2 (на 60%,  $p < 0,05$ ), NR4A3 (на 100%,  $p < 0,05$ ) и TFAM (на 20%,  $p < 0,06$ ). При этом после однократной нагрузки экспрессия генов *NR4A3* и *TFAM* значимо ( $p < 0,05$ ) возросла, как в нетренированной, так и в тренированной мышце. Для других транскрипционных регуляторов (*PGC1 $\alpha$* , *ESRRG*) также наблюдалось увеличение экспрессии их генов в ответ на однократное упражнение, но при этом не было найдено увеличения содержания их белков после 8-нед тренировки, что может быть связано с высокой скоростью их протеолиза.

Таким образом, вызванное 8-нед тренировкой увеличение содержания митохондриальных ферментов не связано с изменением экспрессии генов в покое и в ответ на однократную нагрузку. Напротив, вызванное 8-нед тренировкой увеличение содержания некоторых транскрипционных белков-регуляторов связано с активацией экспрессии их мРНК после однократной нагрузки.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 14-15-00768).

## **TRANSCRIPTION REGULATION OF THE CONTENT OF MITOCHONDRIAL ENZYMES AND TRANSCRIPTION REGULATORS IN THE HUMAN SKELETAL MUSCLE**

*Bokov R.O., Lysenko E.A., Kurochkina N.S., Popov D.V.*

Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow

Lomonosov Moscow State University, Moscow

When stress factors (physical exercises) are regularly applied to the muscle cell, the adaptive changes in the content of specific proteins occur. We assume that the mechanisms responsible for these changes may differ for proteins with various functions. The aim of our work is to study at the transcription level the mechanisms regulating the training-induced increase of mitochondrial enzymes and transcriptional regulators content in the human skeletal muscle.

Multiple biopsy sampling from human skeletal muscles provides an unique opportunity to assess changes in proteins content and genes expression before and after regularly applied stress (exercise training), as well as after acute stress (single exercise). Ten young untrained males performed the one-legged moderate intensity knee-extension for 1 h. Biopsies from *m. vastus lateralis* were taken prior to, at 1 h, and 4 h after the exercise. This test was repeated after aerobic training on the cycling ergometer (5/week, 8 weeks). The changes in the content of transcriptional regulators and OXPHOS proteins after 8-wk training were evaluated by Western blot. To evaluate the changes in gene expression after training and after a single exercise qPCR was used.

After 8-wk training, the content of OXPHOS proteins at rest (NDUFB8, SDHB, UQCRC2, MT-CO1, ATP5A1) increased (by 35-162%,  $p < 0,05$ ). There were no changes in the expression of genes encoding these proteins at rest and after a single exercise (both before and after 8-wk training). An increase in the content of transcriptional regulators was found after 8-wk training for CRT2 (60%,  $p < 0,05$ ), NR4A3 (100%,  $p < 0,05$ ) and TFAM (20%,  $p < 0,06$ ). At the same time, the expression of the *NR4A3* and *TFAM* genes increased ( $p < 0,05$ ) after a single exercise, both before and after 8-wk training. An increase in the expression of genes in response to a single exercise was also observed for other transcriptional regulators (*PGC-1 $\alpha$* , *ESRRG*), but there were no increase in the content of their proteins after 8-wk training, which may be due to the high proteolysis rate.



In conclusion, 8-wk training-induced increase in the content of OXPHOS proteins is not associated with changes in their gene expression at rest and after a single exercise. On the contrary, the training-induced increase in the content of some transcriptional regulators is associated with the activation of their mRNA expression after a single exercise.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 14-15-00768).

## **ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ МЫШЦ ГОЛЕНИ У ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ХОДЬБЫ И БЕГА В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА**

*Брыков В.И., Семенов Ю.С., Рукавишников И.В., Савеко А.А., Осецкий Н.Ю., Китов В.В.*

ГНЦ РФ-ИМБП РАН, г. Москва

Организм человека при пребывании в космическом полёте подвергается ряду изменений, среди которых наиболее выраженными являются изменения в сенсомоторной системе, в частности – мышечной периферии и системе управления движениями (Григорьева Л.С. с соавт. 1983; Козловская И.Б. 1983-2008). После завершения как коротких, так и длительных космических полетов (КП), непосредственно после приземления обнаруживаются изменения кинематики локомоций (Киренская А.В., Козловская И.Б., Сирота М.Г. 1986; Козловская И. Б. и др. 1979), регистрируются нарушения локомоторных функций у космонавтов (Мельник К.А. с соавт. 2003; Шпаков А.В. с соавт. 2008). Для установления вклада факторов космического полета в формирование локомоторных нарушений и возможности их коррекции представлялось рациональным исследовать характеристики локомоций, выполняемых в невесомости на бегущей дорожке.

Исследование проведено в рамках космического эксперимента «Мотокард», выполняющегося при участии российских членов экипажей на борту Международной космической станции (МКС). В эксперименте приняли участие 17 членов экипажей МКС, длительность полетов которых составляла от 5 до 12 месяцев. До начала КП и после его завершения проводилось по две сессии эксперимента. В ходе КП исследования проводились в конце каждого месяца полета. В каждом исследовании выполнялся ступенчатый локомоторный тест в двух режимах работы беговой дорожки: в пассивном, при котором полотно проталкивалось силой ног космонавта, и активном режиме, при котором полотно приводилось в движение электроприводами. Осуществляемая космонавтами локомоторная тренировка состояла из 5 этапов: разминочной ходьбы, медленного, среднего и быстрого бега и заминочной ходьбы. Скорость ходьбы/бега космонавты выбирали самостоятельно, по самочувствию, циклограмма содержала только ориентировочные значения. Аксиальная нагрузка при беге в условиях невесомости обеспечивается специальным тренировочно-нагрузочным костюмом, подсоединенным карабинами к системе притяга, который обеспечивает контакт с беговой дорожкой и создает нагрузку на теле оператора равную, как правило, 50-70% от наземного веса космонавта.

При выполнении теста регистрировали скорость ходьбы и бега, пройденную дистанцию, частоту сердечных сокращений и электромиографическую активность латеральной головки четырёхглавой мышцы бедра и 3-х мышц голени: медиальной головки икроножной мышцы, камбаловидной и передней большеберцовой мышц. Рассчитывается интегральная миограмма: по исходным записям с удаленной постоянной составляющей вычисляется временной ряд абсолютных значений напряжения, затем производится сглаживание с помощью скользящего среднего с окном 15 мс. С помощью найденных границ пачек по интегрированной миограмме для каждой пачки вычисляется: максимальное значение напряжения – амплитуда; площадь под кривой абсолютных значений напряжения от времени – площадь пачки; длительность пачки; период следования пачек для каждой пары найденных пачек, по нему вычисляется обратная величина - частота следования пачек.

Анализ электромиографической активности мышц голени показал, что как в земных условиях, так и в ходе полетных сессий эксперимента при выполнении локомоций в пассивном режиме бегущей дорожки амплитуда электромиографической пачечной активности была выше, чем при локомоциях в режиме активном для всех исследуемых мышц, кроме *m. Tibialis*. Рассмотрение нормированной амплитуды ЭМГ (внесение поправки на величину весовой нагрузки – притяг) показало, что ЭМГ-стоимость локомоций в ходе полета по сравнению с фоновыми исследованиями существенно увеличивается во всех исследуемых мышцах. Дальнейший анализ данных представляется значимым для корректировки режимов локомоторных тренировок в продолжительных космических экспедициях и улучшения реабилитационных подходов к нарушениям опорно-двигательного аппарата после КП.

Исследование поддержано государственной корпорацией «Роскосмос».

## **ELECTROMYOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF HUMAN MUSCLES ACTIVITY DURING WALKING AND RUNNING UNDER CONDITIONS OF SPACE FLIGHT**

*Brykov V.I., Semenov Yu.S., Rukavishnikov I.V., Saveko A.A., Osetskiy N.Yu., Kitov V.V.*  
RF SSC – Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow

The human body undergoes a number of changes while staying in space flight, among which the most pronounced are changes in the sensorimotor system, in particular - the muscular periphery and the system of movement control (Grigorieva LS, co-author 1983, Kozlovskaya IB 1983-2008) . After completion of both short and long space flights (SF), immediately after landing, changes in the kinematics of locomotion are detected (Kirenskaya AV, Kozlovskaya IB, Sirota MG 1986 Kozlovskaya IB et al 1979 ), alterations of locomotor functions in cosmonauts were revealed (Melnik KA, et al., 2003; Shpakov AV, et al., 2008). To establish the contribution of space flight factors to the formation of locomotor disorders and the possibility of their correction, it seemed rational to investigate the characteristics of locomotions performed in weightlessness on a treadmill.

The study was carried out in the framework of the space experiment "Motocard", performed with the participation of Russian crew members aboard the International Space Station (ISS). 17 ISS crew members took part in the experiment, the duration of space flight was 5 to 12 months. Before the beginning of the (SF) and after its completion, two sessions of the experiment were conducted. During the (SF), investigations were conducted at the end of each month of the flight. In each study, a locomotor test was carried out in two modes of treadmill working: in the passive mode, where the treadmill surface was pushed by the strength of the cosmonauts feet, and the active mode in which the surface was driven by electric drives. The cosmonauts' locomotor training consisted of 5 stages: warm-up walking, slow, medium and fast running and final walking. The cosmonauts chose the walking / running speed independently, according to the state of health, the cyclogram contained only recommended values. The axial load during running in zero-gravity conditions is provided by a special training-loaded suit, attached to BD-2 system by special bungees, which provides contact with the treadmill and creates a load on the body of the operator, which is usually 50-70% of the terrestrial weight of the cosmonaut.

During the test, the walking and running speed, distance traveled, heart rate and electromyographic activity of the lateral head of *m. quadriceps femoris* and 3 muscles of the calf were recorded: the medial head of *gastrocnemius* muscle, *soleus* and *anterior tibialis* muscle. The integral myogram (EMG) is calculated: from the initial records with the remote constant component, the time series of the absolute values of the voltage is calculated, then the smoothing is performed using a moving average with a window of 15 ms. With the help of the found borders of the packets for the integrated myogram, the following is calculated for each burst: the peak amplitude; the area under the curve of the absolute values of the voltage versus time (the area of the burst); the duration and frequency of the burst.

The analysis of the shin and hip muscles electromyographic activity showed that, both under

terrestrial conditions and during flight experiment sessions, when carrying out locomotions in the passive mode of treadmill, the amplitude of electromyographic burst activity was higher than for locomotions in the active mode of treadmill in all the muscles under study except m. tibialis. Examination of the normalized EMG amplitude (taking into account the weight of the cosmonaut on Earth and the value of axial loading in SF) showed that the EMG cost of locomotion in flight compared with background studies increases significantly in all the muscles under study. Further analysis of data seems to be significant for correcting the regimes of locomotor training in long space expeditions and improving rehabilitation approaches to musculoskeletal disorders after SF.

The study is supported by the state corporation «Roscosmos».

## **ФАКТОРЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ ИММУНОСУПРЕССИВНУЮ АКТИВНОСТЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК *INVITRO***

*Горностаева А.Н., Бобылева П.И.*  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

МСК (мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки) представляют большой интерес для исследователей благодаря таким уникальным свойствам как высокая паракринная и пролиферативная активность, способность к мультилинейной дифференцировке. Их низкая иммуногенность в сочетании с иммуномодуляторными свойствами делает возможным применение аллогенных МСК. Однако, несмотря на то, что иммуномодуляторный потенциал МСК активно изучается, имеющиеся данные достаточно разнородны. Анализ литературных данных показал, что исход взаимодействия МСК и иммунцитов в значительной степени зависит от экспериментальных условий, а также от состояния самих клеток.

**МСК.** К настоящему моменту убедительно показано, что иммуномодуляторные эффекты стромальных клеток из разных тканей могут отличаться (Carrade Holt D.D. et al., 2014). МСК способны модулировать ответ как аутологичных, так и аллогенных иммунцитов. В некоторых экспериментальных моделях аллогенные МСК более эффективно подавляют пролиферативную активность ЕК, чем аутологичные (Maccario R. et al., 2005). Существуют определенные различия в реализации эффектов в зависимости от видовой принадлежности стромальных клеток. Установлено, что у мышей супрессия реализуется посредством NO, в то время как для человека и всех изученных видов животных показан ИДО-зависимый механизм (Kim D.S. et al., 2014).

Иммуносупрессивный эффект МСК, находящихся в разных фазах роста, отличается: в состоянии монослоя они подавляют пролиферацию лимфоцитов эффективнее. Это связано с тем, что растущие МСК экспрессируют в основном гены отвечающие за пролиферацию, клеточный цикл и тд., а экспрессия белков, связанных с реализацией провоспалительных свойств, находится на высоком уровне у МСК достигших 90% монослоя (Kim D.S. et al., 2014).

Еще одним фактором, влияющим на супрессивные свойства МСК, является количество пассажей *in vitro*. Показано, что свежeweделенные стромальные предшественники не проявляют супрессивных свойств, в то время как МСК 1-4 пассажей обладают выраженным иммуномодуляторным эффектом, далее, с увеличением пассажа, иммуносупрессивный потенциал МСК снижается (McIntosh K. et al., 2006, Lin C.S. et al., 2012).

Важным фактором, способным влиять на иммуномодуляторные свойства МСК, является степень их коммитированности. Le Blanc с соавторами показали, что после индукции дифференцировки в остео-, адипо- и хондрогенном направлении МСК подавляют пролиферативный ответ лимфоцитов так же эффективно как и в недифференцированном состоянии (Le Blanc K. et al., 2003). Для эффективной иммуносупрессии необходима провоспалительная индукция МСК, которая происходит при «диалоге» с активированными

иммунными клетками. Выделяемый иммунными клетками TNF- $\alpha$  стимулирует синтез ПГЕ<sub>2</sub>, а IFN- $\gamma$  – ИДО, которые являются ключевыми медиаторами, задействованными в иммуносупрессии. Праймированные *invitro* МСК обладают гораздо более выраженными иммуномодуляторными свойствами (Krampera M. et al., 2006).

**Иммуноциты.** От выбора стимулятора лимфоцитов, может зависеть выраженность иммуносупрессивных свойств МСК. Так, после взаимодействия с МСК продукция IFN- $\gamma$  лимфоцитами, активированными в СКЛ, ФГА и КонА уменьшалась, а стимулированными антителами ( $\alpha$ CD3/ $\alpha$ CD28) - увеличивалась (Prasanna S.J. et al., 2010; Kronsteiner B. et al., 2011). При активации CD3/CD28 апоптоз Т-клеток существенно увеличивался после сокультивирования с МСК, в то время как среди лимфоцитов, активированных митогенами КонА и ФГА, не было изменения доли апоптотических клеток. (Park M.J. et al., 2011, Горностаева А.Н. и др., 2011, 2013).

**Условия взаимодействия.** Важным фактором, от которого зависит выраженность иммуномодуляторного эффекта МСК, является соотношение МСК/иммуноциты и время взаимодействия. Супрессивные свойства МСК усиливаются прямо пропорционально их доле в сокультуре и длительности взаимодействия (Cappellesso-Fleury S. et al., 2010). Хотя супрессивные свойства МСК могут реализовываться только через растворимые факторы, для более полного проявления необходимы прямые клеточные контакты (Suva D. et al., 2008).

В нашей лаборатории основное внимание уделяется изучению роли кислорода, как фактора микроокружения, влияние которого на иммуномодуляторные свойства МСК практически не исследовано. Мы выявили, что при пониженном содержании кислорода подавление пролиферации и противовоспалительный сдвиг цитокинового профиля усиливается. ОТ ПЦР показал, что при взаимодействии в гипоксии в Т-клетках существенно возрастает транскрипционная активность генов, участвующих в подавлении иммунного ответа (*Foxp3*, *IL10*, *TGF $\beta$* , *PDCD1* и др). Основываясь на этих данных, мы полагаем, что в эффекте усиления иммуносупрессивного потенциала МСК в гипоксии задействован путь PD1, активация которого приводит к блокировке клеточный цикла в G0/G1 фазе. Дальнейшее изучение позволит выявить механизмы реализации иммуносупрессии МСК при пониженном содержании кислорода.

Таким образом, факторы тканевого микроокружения оказывают существенное влияние на реализацию иммуномодуляторных свойств МСК. Дальнейший анализ молекулярных механизмов взаимодействия стромальных предшественников и иммунных клеток необходим для более эффективного использования иммуносупрессивного потенциала МСК в клеточной терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-015-00461 А

## FACTORS, THAT MODULATE IMMUNOSUPPRESSIVE ACTIVITY MSC IN VITRO

*Gornostaeva A.N., Bobyleva P.I.*

IBMP, Moscow

Multipotent mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) are of great interest to researchers due to the unique properties, such as enhanced proliferation, paracrine activity and multilineage differentiation. Their non-immunogenicity, in combination with immunomodulatory properties, opens up the opportunity for the allogeneic application of MSCs. The MSC immunomodulatory capacity is currently being actively studied *in vitro* using various experimental designs. However, the results are not univocal ever. It was found that the outcome of the stromal/immune cell interaction depends on experimental conditions and on the state of the cells themselves.

**MSC.** To date, it has been clearly demonstrated that immunomodulatory effects of MSCs from different tissue are not similar (Carrade Holt D.D. et al., 2014). MSCs are able to modulate the activity of both autologous and allogeneic immune cells. In some experimental models allogeneic MSCs inhibited NK cells proliferation more effectively than autologous (Maccario R. et al., 2005).

Realization of immunomodulatory effects is species-dependent. It's revealed, that the immunosuppression of rodent MSCs involved NO, while IDO-mediated suppression was demonstrated in all other examined species including humans (Kim D.S. et al, 2014).

The immunosuppressive effect of *in vitro* expanded MSCs is dependent on growth phase. Actively growing (log phase) MSCs suppress proliferation of lymphocytes more effectively. This is due to the fact that growing MSCs expressed genes responsible for proliferation, cell cycle, etc., while the expression of proteins associated with the implementation of pro-inflammatory properties is high in MSCs that reached a 90% monolayer (Kim D.S. et al., 2014).

Another crucial factor for MSC suppression is a number of passages *in vitro*. It has been shown that freshly isolated stromal progenitors do not manifest suppressive properties, while MSCs of 1-4 passages have a pronounced immunomodulatory effect. Further, with an increase in passage, the immunosuppressive potential of MSCs is decreased (McIntosh K. et al., 2006, Lin C.S. et al., 2012).

The commitment is an important factor that may determine the immunomodulatory potential of MSCs. Le Blanc et al. showed that after induction into osteo-, adipo- or chondrogenic directions, MSCs retained the ability to suppress the proliferative response of lymphocytes as effectively as they did in the non-differentiated state (Le Blanc K. et al., 2003). For effective immunosuppression, proinflammatory induction of MSC is required, which occurs during a "dialogue" with activated immune cells. TNF- $\alpha$  secreted by immunocytes stimulates the synthesis of PGE<sub>2</sub>, and IFN- $\gamma$  - IDO, which are the key mediators involved in immunosuppression. MSCs primed *in vitro* have much more pronounced immunomodulatory properties (Krampera M. et al., 2006).

**Immunocytes.** The choice of a stimulator is critical, as MSC immunomodulatory effects may depend on the nature of the activating agent. For instance, the IFN- $\gamma$  production by PHA-, ConA- or MLR-activated lymphocytes after interaction with MSCs was low, on the contrary, by  $\alpha$ CD3/ $\alpha$ CD28-stimulated – was increased (Prasanna S.J. et al., 2010; Kronsteiner B. et al., 2011). In the co-culture with MSCs, the CD3/CD28-activated T-cells demonstrated a significant increase in apoptotic cells, at the same time, the share of apoptotic cells did not change among ConA and PHA-stimulating lymphocytes (Park M.J. et al., 2011, Горностаева А.Н. и др., 2011, 2013).

**Conditions of interaction.** The MSCs/ immune cells ratio and duration of interaction are an important factors defining the efficiency of MSC-mediated immunosuppression. The suppressive effects of MSCs have been demonstrated to be directly proportional to the MSC number in culture and duration of interaction (Cappellesso-Fleury S. et al., 2010).

Despite of the immunomodulatory properties of MSCs can be realized only via soluble factors, direct cellular contacts require for more pronounced manifestations (Suva D. et al., 2008).

Our laboratory is focusing on the role of oxygen as microenvironmental factor. Its effect on the immunomodulatory properties of MSCs is almost not investigated. We found that inhibition of proliferation and anti-inflammatory shift of the cytokine profile is enhanced under hypoxic conditions (5% O<sub>2</sub>). RT PCR analysis revealed an up-regulation of T-cells genes associated immune response suppression (*Foxp3*, *IL10*, *TGF $\beta$* , *PDCD1*, etc) after interaction with MSC under hypoxia. Based on above, we suppose, that the PD1 pathway could be implicated in enhancement of MSC immunosuppressive potential at hypoxia. It's activation leads to a blockage of the cell cycle in the G0/G1 phase. Further study will reveal the mechanisms for the implementation of MSC immunosuppression under reduced oxygen level.

Thus, the microenvironmental factors have a significant effect on the realization of the MSC immunomodulation. Further analysis of the molecular mechanisms of the interaction of stromal progenitors and immune cells is necessary for more effective application of the immunosuppressive potential of MSCs in cell therapy.

The work was supported by grant RFBR 18-015-00461

## СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРОЕНИЯ ГЛАЗА У РЫБ *Danio rerio*, НАХОДИВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ.

Грушина О.А.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Длительные космические экспедиции требуют для экипажа создания систем жизнеобеспечения, включающих в свой состав различные автотрофные и гетеротрофные организмы, способные обеспечить человека питанием. В качестве гетеротрофного звена биологической системы жизнеобеспечения (БСЖО) рассматриваются различные животные организмы, в том числе и рыбы. Включение рыб в состав БСЖО невозможно без всестороннего исследования влияния факторов космического полета на их морфо-физиологическое состояние.

Объектом исследований являлись взрослые рыбы *Danio rerio*, пресноводные лучепёрые рыбы семейства карповых (Сургинidae), наиболее изученный модельный объект среди рыб.

Целью работы было исследование влияния условий космического полета на строение глаза у рыбы *Danio rerio*.

Подготовленные для проведения гистологического исследований препараты рыб были переданы в ГНЦ РФ-ИМБП РАН в соответствии с Соглашением между Японским аэрокосмическим исследовательским агентством (JAXA) и Федеральным космическим агентством (Роскосмос), от 5 июля 2012 г. Эксперимент проходил на борту Международной космической станции (МКС), где в течение 36 суток в специально разработанном аквариуме содержалось 18 взрослых рыб. По окончании космического эксперимента рыбы были зафиксированы на борту в 4% параформальдегиде на фосфатном буфере (рН 7,2). Зафиксированный биоматериал был доставлен на Землю. Контролем служили рыбы, содержащиеся в аквариуме полетного типа в лабораторных условиях на Земле. Зафиксированные рыбы из полетной и контрольной групп были залиты парафином. С парафиновых блоков сделали тотальные поперечные срезы рыб толщиной в 5-7 мкм (μ). Каждый пятый препарат окрашивали гематоксилин-эозином по методу Караччи. Изучение и фотографирование препаратов проводили на световом уровне с помощью микроскопа «Unilus-12» (Япония) и камеры Levenhuk<sup>®</sup>C 800.

Рыбы воспринимают большое количество сигналов из внешней среды, и для восприятия их рыба имеет высокоспециализированную сенсорную систему, которая обладает высокой чувствительностью. Сенсорная система включает в себя рецепторный аппарат – глаз, которому принадлежит особая роль. Среда обитания наложила отпечаток на функции и морфологию глаза рыбы. Поэтому, нахождение рыбы в необычных условиях, а именно, в отсутствии земной гравитации, может оказать определенное воздействие и орган зрения.

Строение глаз рыбы *Danio rerio*, имеет те же общие структуры, что и у высших позвоночных. На гистологических препаратах лабораторного контроля видно, что глаза рыб состоят из 3 оболочек: фиброзной, сосудистой и сетчатой. Дополнительные компоненты глазного яблока - водянистые камеры, стекловидное тело и хрусталик. Фиброзная оболочка образована соединительной тканью, делится на заднюю часть - склеру и переднюю часть – роговицу. Сетчатый слой состоит из 10 отчетливых слоев. Наружный пигментный слой у рыбы *Danio rerio* широкий и цитоплазма отростчатых клеток пигментного эпителия густо заполнена пигментом - меланином. Ядра рецепторных (палочек и колбочек), биполярных расположены в несколько рядов. Темнобазофильные округлые ядра ганглиозного слоя лежат односторонне с образованием небольших скоплений на отдельных участках внутреннего отдела сетчатки. Пучки нервных волокон, сформированных из аксонов ганглиозных клеток, принимающих импульсы от нижележащих рецепторных и биполярных клеток, образуют зрительный нерв, выходящий из глазного яблока в области слепого пятна. Аксоны глиальных

клеток, расположенных в ганглиозном слое образуют внутреннюю пограничную мембрану, отделяющую сетчатку от стекловидного тела.

Хрусталик глаза прозрачный, выдается в водянистую камеру почти до роговицы. Ткань хрусталика состоит из вытянутых безъядерных волокон окруженных плотной капсулой. Передняя часть хрусталика выстлана однослойным плоским эпителием. Клетки хрусталика, обращенные к камере стекловидного тела, вытянуты. На отдельных гистологических препаратах волокна имеют вид продольных светлых и более темных эозинофильноокрашенных участков.

Стекловидное тело представляет собой массу прозрачного студнеобразного, аморфного межклеточного вещества, которое ограничено внутренней пограничной мембраной сетчатки, хрусталиком и радужной оболочкой. Стекловидное тело фиксирует хрусталик и способствует растяжению и прилеганию внутренних слоев сетчатки к пигментному слою. Стекловидная влага играет важную роль в метаболизме сетчатки. Вместе с водянистой влагой камер стекловидное тело поддерживает внутриглазное давление. Известно, что зрительная аккомодация у рыб *Danio rerio*, как у всех карповых, совершается путем удлинения хрусталика вперед или назад, приближаясь к роговице или удаляясь от нее.

Гистологические исследования препаратов глаз рыбы *Danio rerio* из полетной группы выявило двухстороннее уменьшения объема стекловидного тела, что выразилось в сужении жидкостной полости глазного яблока, складчатости сетчатки, структурных изменениях хрусталика и внутренних слоев сетчатки. Хрусталик в передней части тесно прилегает к роговице, задняя поверхность прижата к сетчатке с образованием прогибов ее слоев. На участках давления хрусталика и прогибов наблюдается либо увеличение размеров ядер ганглиозного слоя, либо ядра приобретают овальную форму с ослаблением базофильности, или они лизированы. У одной рыбы из опытной группы обнаружены, резко выраженные изменения, характеризующиеся сжатием не только внутренней мембраны, оптических волокон и ганглиозного слоя, но и уплощением плексиформных слоев вплоть до наружного ядерного слоя, состоящего из ядер палочек и колбочек. Хрусталик у этой рыбы прозрачный, однако, в отдельных волокнах обнаружены мелкие вакуоли и продольные складки на границе с волокнистым слоем капсулы. Наблюдается также потеря упругости капсулы хрусталика, что проявилось в образовании «волнистости» наружной капсулы. В области радужки отмечено наличие стаза и малокровие капилляров хороида, участвующих в образовании водянистой жидкости. В соединительном слое сосудистой оболочки этой области видны зерна черного пигмента, что не наблюдается в глазах рыбок контрольной группы.

Таким образом, при исследовании глаз рыб *Danio rerio* из полетной группы выявлены признаки снижения объема стекловидного тела, что привело к уменьшению полости задней камеры, очаговые изменения структуры внутренних слоев сетчатки, образованию складок сетчатки; вакуолизации и сморщивание хрусталиковых волокон, изменению контуров капсулы хрусталика. Снижение объема стекловидного тела влечет за собой падение внутриглазного давления и нарушению метаболизма сетчатки. Сжатие хрусталиком сетчатки в том числе нервных волокон влечет за собой нарушение передачи импульсов от рецепторных клеток (колбочек и палочек) в зрительные доли среднего мозга.

Причиной подобных нарушений в структуре глаз рыб из полетной группы скорее всего являются снижение уровня поступления диализата плазмы крови из артериальных капилляров хороида за счет падения гидростатического давления в них, или уменьшение секреции водянистой влаги эпителиальными клетками в области радужки, что привело к изменению количества и качества жидкостной влаги, особенно в стекловидном теле.

## **A COMPARATIVE STUDY OF DANIO RERIO FISH EYE STRUCTURE IN MICROGRAVITY AND LABORATORY TESTING.**

*Grushina O.A.*

State Scientific Center of Russian Federation, Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow.

Long-term space expeditions require crew to create a life support system comprising of various autotrophic and heterotrophic organisms, capable of providing human nutrition. Various animal organisms, including fish, are considered to be heterotrophic link of BLSS (biological life support systems). The inclusion of fish in the BLSS composition is impossible without a comprehensive study of the space flight factors influence on their morpho-physiological state. The object of research was adult fish *Danio rerio*, which belongs to the species of freshwater ray-finned fish of the carp family (Cyprinidae), and is the most studied model among all fish.

The aim of the work was to study the influence of space flight conditions on the eye structure of *Danio rerio* fish.

Fixation material for the fish histological studies were transferred to the Russian specialists of SSC RF-IBMP RAS in accordance with the Agreement between the Japanese aerospace research Agency (JAXA) and Russian Federal space Agency (Roscosmos), dated July 5, 2012. The experiment took place on the International Space Station (ISS) where 18 adult fish were kept in a specially designed container for 36 days. At the end of the research fish were fixed on board in 4% paraformaldehyde on phosphate buffer (pH 7.2). The fixed material was delivered to earth. Fish contained in the flight type aquarium in laboratory conditions on Earth served as control, also fixed in 4% paraformaldehyde in phosphate buffer (pH 7.2). The obtained samples (one in five) were stained with hematoxylin-eosin by the Karachchi method. The study and photography of obtained material were carried out at the light level using "Unilus-12" (Japan) microscope and Levenhuk R C 800 camera.

Fish perceive a large number of signals from the environment, and to perceive them fish has a highly specialized sensor system, which has a high sensitivity. The sensor system includes a receptor apparatus – the eye, which has a special role. Habitat left its mark on the morphology functions of the fish's eye. Therefore, living fish in unusual conditions, namely, in the absence of earth gravity, can have a certain impact on the organ.

The structure of *Danio-rerio* fish eyes is the same as all higher vertebrates have. On histological samples compared with laboratory control it is visible that the small fishes' eye consists of 3 components: fibrous, vascular and mesh. Additional components of the eyeball are aqueous chamber, vitreous body and lens. The fibrous membrane is formed by connective tissue, divided into the rear part - the sclera and the front part – the cornea. The mesh layer consists of 10 distinct layers. The outer wide pigment layer of *Danio rerio* fish is wide and the cytoplasm of the pigment epithelial cells are densely filled with pigment - melanin. The core of the receptor (rods and cones), bipolar cells are located in several rows. The dark-basophilic rounded nuclei of the ganglion layer lie one-row with the formation of small clusters in certain areas of the internal retina. Bundles of nerve fibers formed from axons of ganglion cells, receiving impulses from underlying receptor and bipolar cells, form the optic nerve, coming out of the eyeball in the blind spot. Axons of glial cells located in the ganglion layer form an internal boundary membrane separating the retina from the vitreous body.

The eye lens is transparent, pushed out in the watery chamber almost to the cornea. The lens tissue consists of elongated nuclear-free fibers surrounded by a dense capsule. The anterior part of the lens is lined with a single-layer flat epithelium. The lens cells facing the vitreous chamber are elongated. In separate histological samples fibers have the form of longitudinal light and darker eosinophilic-colored areas.

Vitreous body is a mass of transparent gelatinous, amorphous intercellular substance, which is



separated by the internal boundary membrane of the retina, lens and iris. The vitreous body fixes the lens and promotes stretching and adhesion of the inner layers of the retina to the pigment layer. Vitreous moisture plays an important role in the retina metabolism. Together with the chambers watery moisture, the vitreous body maintains intraocular pressure. It is known that visual accommodation of *Danio rerio* fish, as, of all, Cyprinidae, is performed by lengthening the lens forward or backward, approaching the cornea or moving away from it.

Histological studies of *Danio rerio* fish eye samples, compared with the flight group revealed a bilateral reduction in the volume of the vitreous body, which resulted in a narrowing of the liquid cavity of the eyeball, retinal folding, structural changes of the lens and the inner layers of retina. The lens in the front part is closely attached to the cornea, the back surface is pressed to the retina to form deflections of its layers. In areas of lens pressure and deflection an increased nuclei size of the ganglion layer can be observed, also nuclei can acquire an oval shape with the weakening of basophilic characteristics, or they are lysed. Changes were found in one fish from the flight group, they were characterized not only by compression of the inner membrane, optical fibers and ganglion layer, but also the flattening of the plexiform layers up to the outer nuclear layer consisting of the nuclei of rods and cones. Lens in this fish group was transparent, however, in some fibers found small vacuoles and longitudinal folds on the border with a fibrous layer of the capsule were found. There is also a loss of elasticity of the lens capsule, which manifested itself in the formation of "waviness" of the outer capsule. In the iris region, the presence of stasis and anemia of choroid capillaries involved in the formation of a watery liquid was noted. In the connective layer of the vascular membrane of this area, the grains of black pigment are visible, which is not observed in the eyes of the fish of the control group.

Thus, the study of *Danio rerio* fish eyes in comparison with the flight group revealed signs of a decrease in the volume of the vitreous body, which led to a decrease in the cavity volume of the posterior chamber, focal changes in the structure of the internal layers of the retina, the formation of retinal folds; vacuolization and wrinkling of the lens fibers. Decrease of the vitreous body leads to drop of intraocular pressure and distortion of the retina metabolism. Compression of the retina by the lens, including nerve fibers, leads to transmission disorder of impulses from the receptor cells (rods and sticks) to the visual lobes of the middle brain.

The reason for such distortion of fish eyes structure of the flight group is likely to be connected with the decrease blood level dialysate from arterial capillaries of the choroid due to the drop in hydrostatic pressure in them, or the decrease in the secretion of watery moisture by epithelial cells in the iris region, which led to the change in the amount and quality of liquid moisture, especially in the vitreous body.

## **УРОВЕНЬ КИСЛОРОДА КАК ФАКТОР МОДУЛЯЦИИ АНГИОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК**

*Ездакова М.И., Жидкова О.О.*

Научные руководители: Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б.  
ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

В настоящее время перспективным направлением в клеточной терапии, является применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (МСК), с целью восстановления структурных и функциональных нарушений тканей и (или) органов при лечении различных заболеваний, в том числе связанных с ангиогенезом. Наиболее важные терапевтические эффекты при трансплантации МСК обеспечиваются в первую очередь за счет продукции паракринных медиаторов (Madonna et al., 2009; Bailey et al., 2010; Gimble et al., 2011). Эти клетки секретируют многочисленные цитокины и ростовые факторы, стимулирующие ангиогенез, ответственные за пролиферацию и ремоделирование внеклеточного матрикса, включая VEGF, HGF, PDGF, FGF, ИЛ-6 (Парфенова и др., 2006;

Трактуев и др., 2006; Rubina et al., 2009; Locke et al., 2011; Gneccchi et al., 2016; Hodgkinson et al., 2016). Значительное количество экспериментальных работ посвящено изучению ангиогенного потенциала МСК, выделенных из разных тканей (Ефименко и др., 2010; Шахпазян и др., 2012; Madonna, 2009; Bailey, 2010; Gimble, 2011). Установлено, что для проявления паракринной активности существенное значение имеют условия микроокружения. Особое внимание стоит уделить уровню кислорода, этот фактор, является одним из важнейших определяющих функциональное состояние клеток, в том числе стволовых и прогениторных. В тканевых нишах МСК концентрация кислорода не превышает 7%, таким образом клетки *in vivo* существуют в условиях «физиологической» гипоксии (Буравкова и др., 2012; Fehrer et al., 2007; Holzwarth et al., 2010; Mohyeldin et al., 2010). Следовательно, культивирование в таких условиях является более физиологичным, чем в условиях нормоксии (когда содержание кислорода составляет 20% и соответствует атмосферному). В ряде экспериментов показано влияние пониженного содержания кислорода на морфофункциональные показатели МСК, в том числе и на паракринную активность (Буравкова и др., 2009; Рылова и Буравкова, 2013; Potier, 2007; Hu, 2008; Estrada et al., 2012; Wei et al., 2012; Chen et al., 2014; Ciapetti et al., 2016). Считается, что низкий уровень кислорода может также являться сигналом и для повышения продукции факторов роста, стимулирующих ангиогенез. Эффекты гипоксии на продукцию растворимых медиаторов чаще всего изучают после короткого гипоксического прекоондиционирования, на фоне сывороточной депривации, то есть речь идет не только о гипоксическом воздействии, но и о влиянии резкого уменьшения концентрации факторов роста, что вызывает транскрипцию и трансляцию факторов роста, хемокинов и противовоспалительных цитокинов (Lee et al., 2010; Chako et al., 2010; Рубина и др., 2010; Busletta et al., 2011). Установлено, что в таких условиях происходит координированное изменение экспрессии генов в МСК: содержание мРНК проангиогенных факторов, включая VEGF, PlGF, HGF, bFGF, PDGF-BB и TGF- $\beta$ , возрастает в 2–4 раза, а мРНК антиангиогенных факторов, таких, как PAI-1, ангиостатин и тромбоспондин, снижается более чем в 2 раза (Rubina et al., 2009).

Для понимания фундаментальных механизмов, обеспечивающих терапевтические свойства МСК, в частности, их способность стимулировать сосудодообразование, необходимо исследование их ангиогенного потенциала в условиях тканевой концентрации кислорода.

В настоящей работе использовали МСК, выделенные из стромально-васкулярной фракции жировой ткани человека и постоянно культивируемые при 20% O<sub>2</sub> и 5% O<sub>2</sub>. Экспрессию ряда генов, связанных с ангиогенезом, исследовали методом ПЦР в реальном времени. Концентрацию цитокинов в кондиционированной среде (КС), определяли с помощью иммуноферментного анализа. Влияние КС от МСК на рост кровеносных сосудов *in vitro* оценивали по эффектам на ненаправленную миграцию эндотелиальных клеток (ЭК) в модели механического повреждения монослоя и по образованию капилляроподобных структур в 3D–модели базальной мембраны (Матригель). Оценку ангиогенной активности КС *ex vivo* проводили на модели формирования сосудистой сети в хориоаллантоисной оболочке (ХАО) эмбрионов японского перепела (*Coturnix coturnix japonica*).

По сравнению с МСК, культивируемых при 20% O<sub>2</sub>, у МСК в условиях тканевой концентрации кислорода, обнаружено увеличение экспрессии генов, участвующих в сосудодообразовании: *VEGF-A*, *ANGPTL2*, *PDGF*, *FGF*, *TGF*, *MCP-1*. Анализ паракринного профиля МСК, выявил увеличение концентрации VEGF и IL-6 относительно МСК в нормоксических условиях. Достоверных различий в продукции MCP-1 и IL-8 обнаружено не было. КС от МСК в гипоксических условиях стимулировала миграцию ЭК *in vitro* и формирование этими клетками капилляроподобных структур в Матригеле. Кроме того, паракринные факторы КС обеспечивали прирост количества сосудов в ХАО *ex vivo* (достоверно в 1,5 раза), по сравнению с КС от МСК культивируемых при стандартной лабораторной концентрации кислорода (20%).

Таким образом, постоянное культивирование МСК в условиях «физиологической гипоксии» приводит к возрастанию активности экспрессии генов, участвующих в

сосудообразовании, что обеспечивает увеличение концентрации проангиогенных медиаторов в КС, и ангиогенного потенциала МСК *invitro* и *exvivo*. Эти результаты могут представлять значительный интерес для нужд клеточной терапии и регенеративной медицины.

*Работа выполнена при поддержке гранта Программы научных исследований Президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий»*

## **OXYGEN LEVEL AS A MODIFIER OF THE ANGIOGENIC POTENTIAL OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS**

***Ez dakova M.I., Zhidkova O.O.***

Research supervisor: Andreeva E.R., Buravkova L.B.

Institute for Biomedical Problems of RAS, Moscow

At nowadays, the application of multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) to restore functional damages of tissues and organs including those associated with angiogenesis is promising direction in the cell therapy. The most important therapeutic effects of MSC transplantation is provided primarily through the production of paracrine mediators (Madonna et al., 2009; Bailey et al., 2010; Gimble et al., 2011). These cells secrete numerous cytokines and growth factors to stimulate angiogenesis, proliferation and remodeling of the extracellular matrix, including VEGF, HGF, PDGF, FGF, IL-6 (Parfenova et al., 2006; Tractuyev et al., 2006; Rubina et al., 2009; Locke et al., 2011; Gnecci et al., 2016; Hodgkinson et al., 2016). A significant number of researches are devoted to the examination of the angiogenic potential of MSCs from different tissues (Efimenko et al., 2010; Shahpazyan et al., 2012; Madonna, 2009; Bailey, 2010; Gimble, 2011). It was demonstrated that microenvironmental conditions are essential for the manifestation of paracrine. The oxygen level is one of the most important one determining functional state of cells, including stem and progenitors. The oxygen concentration does not exceed 7% in the tissue niches of MSCs, thus cells are residing under "physiological" hypoxia conditions *in vivo* (Buravkova et al., 2012, Fehrer et al., 2007, Holzwarth et al., 2010, Mohyeldin et al. 2010). Consequently, the cultivation under such conditions is more physiological than at normoxia conditions (when the oxygen content is 20% and corresponds to atmospheric oxygen). In a number of experiments, the effect of a reduced oxygen on the morphology and functions of MSCs, including paracrine activity, has been shown (Buravkova et al., 2009; Rylova and Buravkova, 2013; Potier, 2007; Hu 2008; Estrada et al., 2012; al., 2012; Chen et al., 2014; Ciapetti et al., 2016). A low oxygen level can also be a signal to increasing production of growth factors stimulating angiogenesis. The effects of hypoxia on the production of mediators are most often studied after short-term hypoxic preconditioning combined with serum deprivation. So far, it is not only a hypoxic effect but limitation of growth factors as well, which causes transcriptional and translational of various bioactive molecules (Lee et al., 2010, Chako et al., 2010; Rubina et al., 2010; Busletta et al., 2011). Coordinated changes in MSC gene expression took place under above conditions: mRNA of proangiogenic factors, including VEGF, PlGF, HGF, bFGF, PDGF-BV and TGF- $\beta$ , were 2-4 times upregulated, while mRNA of antiangiogenic factors ( PAI-1, angiostatin and thrombospondin) were more than 2 times downregulated (Rubina et al., 2009).

To clarify the the fundamental mechanisms of MSC therapeutic effects, in particular, their ability to promote vessel growth, it is necessary to study their angiogenic potential under tissue oxygen concentration.

MSCs were isolated from human adipose tissue and constantly maintained at 20% and 5% of oxygen. The expression of genes associated with angiogenesis was analysed by real-time PCR. The concentration of cytokines in the conditioned medium (CM) was determined by enzyme immunoassay method. The effect of MSC conditioned medium (CM) on the growth of blood vessels *in vitro* was evaluated in wound healing assay ( non-directional migration of endothelial cells (EC)) and by the formation of capillary-like structures in the 3D-model of the basal membrane (Matrigel). The angiogenic activity of CM *ex vivo* was assessed in the model of the

formation of a vascular tree in the chorioallantoic membrane (CAM) of Japanese quail embryo (*Coturnix coturnix japonica*).

The upregulation of MSC genes involved in angiogenesis (VEGF-A, ANGPTL2, PDGF, FGF, TGF, MCP-1) was observed under in tissue oxygen concentration. Analysis of paracrine profile of MSC revealed an increase in the concentration of VEGF and IL-6 compared to MSC under normal conditions. There were no significant differences in the production of MCP-1 and IL-8. CM from MSC stimulated the migration of EC *in vitro* and the formation of capillary-like structures in Matrigel under hypoxic conditions. In addition, paracrine factors of CM provided an increase in the number of vessels in CAM *ex vivo* ( $p < 0,05$ ), compared with CM from MSC cultured at a standard laboratory oxygen (20%).

Thus, the cultivation of MSC at "physiological hypoxia" leads to an upregulation of proangiogenic genes providing an increase in the concentration of proangiogenic mediators in CM, and elevation of angiogenic potential of MSC *in vitro* and *ex vivo*. These results may be of considerable interest for the needs of cellular therapy and regenerative medicine.

*The work was supported by a grant from the Program of Scientific Research of the Presidium of the Russian Academy of Sciences "Fundamental research for biomedical technology"*

## **ВЛИЯНИЕ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ НА ЭКСПРЕССИЮ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК INVITRO**

***Живодерников И.В., Ратушный А.Ю.***

***Научный руководитель: д.м.н., проф., член-корр. РАН Буравкова Л. Б.***

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Микрогравитация является одним из факторов космического полёта, оказывающим значительное воздействие на организм человека, эффекты которого прослеживаются на всех уровнях – от систем органов до отдельных клеток и органелл. Пребывание в невесомости меняет структуру костной ткани из-за нарушения её физиологического ремоделирования – преобладания резорбции над регенерацией, особенно выраженного при длительных полётах. Выделяют несколько эффектов микрогравитации, действующих на костную ткань – дефицит механической стимуляции вследствие отсутствия опоры, перераспределение жидкостных сред организма в краниальном направлении из-за неадекватного функционирования в условиях невесомости механизмов гемодинамики, а также гравитационную чувствительность клеток, образующих костную ткань.

Согласно механохимической гипотезе, молекулы клеточной адгезии, межклеточный матрикс и цитоскелет являются структурами, опосредующими механо- и гравичувствительность клеток. Возникающие в матриксе напряжения деформации могут передавать сигналы через связанные с ним молекулы адгезии внутриклеточным посредникам, вызывая соответствующую реакцию. Как известно, молекулы адгезии кроме функции прикрепления выполняют роль передатчиков химических сигналов. Эти две функции перекрёстно взаимосвязаны, реализуясь за счёт изменения конформации молекулы. Таким образом, один из факторов – механический или химический, действуя на конформацию молекулы адгезии, потенцирует действие другого фактора. Внутриклеточные органеллы, в свою очередь, могут в зависимости от вектора и силы гравитации передавать через цитоскелет механические сигналы на молекулы адгезии и якорные белки, изменяя их конформацию, а следовательно, способность к передаче химических сигналов.

В частности, CD105 является элементом рецептора TGF, посредника сигнального пути, индуцирующего транскрипцию гена RUNX2, который, в свою очередь, имеет важное значение в регуляции процессов дифференцировки и пролиферации остеобластов. CD44

выступает в роли рецептора остеопонтинина, коллагена, матриксных металлопротеиназ, гиалуроновой кислоты и участвует в процессах межклеточного взаимодействия, адгезии и миграции. Субъединицы  $\alpha 4$  и  $\alpha 5$  интегрина (CD49d и CD49e, соответственно) способны взаимодействовать с  $\beta 1$  и  $\beta 7$  субъединицами с образованием гетеродимерных белков  $\alpha 4\beta 1$ ,  $\alpha 4\beta 7$  и  $\alpha 5\beta 1$ , которые являются одними из основных рецепторов фибронектина и вовлечены в процессы адгезии к внеклеточному матриксу. CD51-61 представляет собой рецептор витронектина, который опосредует адгезию к внеклеточному матриксу через RGD мотивы, а также участвует в трансдукции сигналов и межклеточном взаимодействии.

Существуют данные, согласно которым фосфорилированная киназа фокальной адгезии (ФАК) может ослаблять сигнал от рецептора паратгормона, который ускоряет резорбцию посредством активации остеокластов, а Wnt/ $\beta$ -катенин сигнального пути играет роль в регуляции развития и функции остеобластов, в формировании костного скелета и его прочности, достижения необходимого уровня костной массы. Исходя из этого, важно понимать, как условия микрогравитации влияют на молекулы адгезии клеток-предшественников костной ткани. Мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) являются механочувствительными клетками, способными воспринимать гравитационные стимулы, а также клетками-предшественниками тканей мезенхимального происхождения, в том числе и костной. Поэтому именно они были выбраны в качестве объекта экспериментов, в которых изучали воздействие микрогравитации на экспрессию молекул адгезии ММСК.

Для выполнения этой задачи были использованы выделенные из жировой ткани ММСК, которые культивировали в среде  $\alpha$ -MEM, содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки, 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина. Полученные клетки имели иммунофенотип CD90+, CD73+, CD105+, CD45-. Исследования проводились в экспериментальных сериях: статический контроль (К), динамический контроль (ДК), необходимый для анализа вклада перемешивания среды (флакон помещали на шейкер), и моделирования эффектов микрогравитации, когда флакон помещали на платформу RPM (RandomPositioningMachine). Для изучения экспрессии молекул клеточной адгезии проводили окрашивание на соответствующие антигены коммерческими флуоресцентными антителами (BD Biosciences, США) и анализировали среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ). Оценивали уровень экспрессии молекул межклеточной адгезии - ICAM-1, HСAM (CD54 и CD44, соответственно), и субъединиц интегринов  $\alpha 4$  (CD49d),  $\alpha 5$  (CD49e),  $\alpha V/\beta 3$  (CD51-61) с использованием проточной цитофлуориметрии на приборе Accuri C6 (BD Biosciences, США).

После 10-дневной экспозиции на RPM была выявлена тенденция к снижению СИФ по маркерам CD90, CD73 и CD105, в культурах, экспонированных на RPM по сравнению с культурами, находящимися в статичных условиях, что может указывать на снижение экспрессии данных антигенов на поверхности клеточной мембраны. Средняя жизнеспособность ММСК оставалась стабильной и составляла от 96% до 98%. Ранее мы показали снижение в экспрессии ICAM-1 и HСAM при 96-часовой экспозиции на RPM (Ратушный и др., 2017). При 10-дневной экспозиции значительных различий в экспрессии ICAM-1, HСAM (CD54 и CD44, соответственно), а также HLA-ABC и CD29 по сравнению с контрольными значениями не было выявлено. Такое нивелирование эффекта могло быть вызвано механизмами адаптации на более длительном сроке. Также показана тенденция к снижению экспрессии субъединиц интегринов CD49a (VLA-1), CD49b (VLA-2). Такое незначительное отличие в экспрессии поверхностных маркеров по сравнению с 96-часовой экспозицией может указывать на адаптацию ММСК к условиям микрогравитации за 10-суточный период.

Таким образом, длительное моделирование эффектов микрогравитации не приводит к выраженным изменениям экспрессии молекул межклеточного взаимодействия и интегринов, что позволяет прогениторным клеткам сохранять контакты с другими клетками и межклеточным матриксом.

*Работа выполнена при частичной поддержке программы фундаментальных исследований.*

## **THE INFLUENCE OF MICROGRAVITATION EFFECTS ON ADHESIA MOLECULES EXPRESSION OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN VITRO**

**Zhivodernikov I. V., Ratushnyi A. U.**  
**Scientific supervisor – Buravkova L. B.**  
Institute of Biomedical Problems, Moscow

Microgravity is one of the space flight factors that has a significant impact on the human body and its effects can be traced at all levels - from organ systems to individual cells and organelles. The weightlessness changes bone tissue structure due to a disruption physiological remodeling - the predominance of resorption over regeneration, especially pronounced during long flights. There are several effects of microgravity on bone tissue - the deficit of mechanical stimulation due to the lack of gravity, the redistribution of body fluids in the cranial direction due to inadequate functioning of hemodynamic mechanisms in conditions of zero gravity, and also the gravitational sensitivity of cells forming bone tissue.

According to the mechanochemical hypothesis, the cell adhesion molecules, the intercellular matrix and the cytoskeleton are the structures mediating the mechano- and gravity sensitivity of cells. The strains arising in the matrix can transmit signals through associated adhesion molecules to intracellular intermediaries, causing a corresponding reaction. As is known, adhesion molecules act as transmitters of chemical signals in addition to the attachment function. These two functions are cross-linked, realized by changing the conformation of the molecule. Thus, one of the factors - mechanical or chemical, acting on adhesion molecule conformation, potentiates the effect of another factor. In turn, intracellular organelles depending on the vector and the force of gravity, transmit through the cytoskeleton mechanical signals to adhesion molecules and anchor proteins, changing its conformation, and hence the ability to transmit chemical signals.

In particular, CD105 is an element of the TGF receptor mediating the signaling pathway that induces the transcription of the RUNX2 gene, which in turn is important in regulating the processes of osteoblast differentiation and proliferation. CD44 acts as a receptor for osteopontin, collagen, matrix metalloproteinases, hyaluronic acid, and participates in intercellular interaction, adhesion and migration. The  $\alpha 4$  and  $\alpha 5$  integrin subunits (CD49d and CD49e, respectively) are able to interact with the  $\beta 1$  and  $\beta 7$  subunits to form the heterodimeric proteins  $\alpha 4\beta 1$ ,  $\alpha 4\beta 7$  and  $\alpha 5\beta 1$ , which are one of the main fibronectin receptors and are involved in adhesion processes to the extracellular matrix. CD51-61 is a vitronectin receptor that mediates adhesion to the extracellular matrix through RGD motifs, and also participates in transduction of signals and intercellular interaction. There is evidence that phosphorylated focal adhesion kinase (FAK) can weaken the signal from the parathyroid hormone receptor, which accelerates resorption by activating osteoclasts, and the Wnt /  $\beta$ -catenin signaling pathway plays a role in regulating the development and function of osteoblasts, in the formation of bone skeleton and its strength, reaching the required level of bone mass. Therefore, it is important to understand how microgravity conditions affect the adhesion molecules of bone progenitor cells. Mesenchymal stromal cells (MMSC) are mechanosensitive cells capable of perceiving gravitational stimuli, as well as precursor cells of mesenchymal tissue, including bone tissue. Accordingly, they were chosen as the object of experiments, in which the influence of microgravity on adhesion molecules expression of MMSC was studied.

To accomplish this task, adipose-derived stromal cells was cultured in  $\alpha$ -MEM medium containing 10% fetal bovine serum, 50 U / ml penicillin, 50  $\mu$ g / ml streptomycin. The cells had the immunophenotype CD90 +, CD73 +, CD105 +, CD45-. The studies were carried out in the experimental series: static control (K), dynamic control (DK), necessary for analyzing the contribution of medium mixing (the vial was placed on the shaker), and modeling the effects of microgravity when the vial was placed on the RPM (Random Positioning Machine) platform. To study the expression of cell adhesion molecules, staining of the corresponding antigens with

commercial fluorescent antibodies (BD Biosciences, USA) was performed and medium fluorescence intensity (MFI) was analyzed. The level of expression of intercellular adhesion molecules - ICAM-1, HCAM (CD54 and CD44, respectively), and integrin subunits  $\alpha 4$  (CD49d),  $\alpha 5$  (CD49e),  $\alpha V / \beta 3$  (CD51-61) was measured using flow cytometry on Accuri C6 BD Biosciences, USA).

After a 10-day exposure to RPM, there was a tendency for MFI to decrease in CD90, CD73 and CD105 markers in cultures exposed to RPM compared to cultures under static conditions, it may indicate a decrease in the expression of these antigens on the surface of the cell membrane. The average viability of the MMSK remained stable and ranged from 96% to 98%. Previously, we showed a decrease in the expression of ICAM-1 and HCAM at a 96-hour exposure to RPM (Ratushnyi et al, 2017). At 10-day exposure, significant differences in the expression of ICAM-1, HCAM (CD54 and CD44, respectively), as well as HLA-ABC and CD29, were not detected compared to control values. Such leveling of the effect could be caused by adaptation mechanisms over a longer period. There is also a trend towards a decrease in the expression of integrin subunits CD49a (VLA-1), CD49b (VLA-2). This insignificant difference in the expression of surface markers in comparison with the 96-hour exposure may indicate the adaptation of MMSK to microgravity conditions over a 10-day period.

Thus, long-term modeling of microgravity effects does not lead to pronounced changes in the expression of intercellular interaction molecules and integrins, which allows progenitor cells to maintain contact with other cells and the intercellular matrix.

*The work was carried out with the partial support of the fundamental research program of the IBMP RAS.*

## **МОДУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ**

*Жидкова О.В.*

*Научный руководитель: Буравкова Л.Б.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) все чаще применяются в регенеративной терапии. При введении в системный кровоток стромальные клетки взаимодействуют с эндотелиальными клетками (ЭК), что может модифицировать свойства обоих типов клеток. Однако до сих пор остается нерешенным вопрос о том, могут ли ЭК модулировать репаративный потенциал МСК.

Активное использование в регенеративной медицине аутологичных и аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток обусловлено их участием в репаративном ремоделировании за счет продукции биологически активных медиаторов и иммуномодулирующих свойств (Caplan et al., 2011; Kalinina et al., 2011; Dimarino et al., 2013; Marquez-Curtis et al., 2015). Для достижения терапевтического эффекта МСК вводят системно, локально (интраоргано) или трансплантируют на различных органических и неорганических носителях (Leibacheretal., 2016). Возможность целевой доставки МСК в поврежденную ткань тесно связана с их биологическими свойствами. Эти клетки способны мигрировать в поврежденную ткань из просвета сосуда по градиенту соответствующих хемокинов и цитокинов (Nitzsche et al., 2017). Направленная миграция МСК (хоуминг) представляет собой многоступенчатый процесс, включающий адгезию к эндотелиальным клеткам и последующую трансэндотелиальный переход в ткань (Sohnietal., 2013; Leibacheretal., 2016; Nitzsche et al., 2017). В процессе хоуминга МСК взаимодействуют с ЭК с помощью поверхностных молекул адгезии (Henschler et al., 2008; Chamberlain et al., 2011). Эндотелиальные клетки сосудов в области повреждения подвергаются действию различных

провоспалительных цитокинов (ФНО-альфа, ИФН-гамма, интерлейкины и др.), секретируемых иммунными клетками. При действии провоспалительных цитокинов ЭК переходят в активированное состояние и продуцируют различные хемокины, которые стимулируют хемотаксис МСК (Daneseetal., 2007; Teoetal., 2012). Таким образом МСК при переходе из сосудистого русла в ткань взаимодействуют с ЭК не только путем прямого межклеточного контакта, но и с помощью паракринной регуляции. Все воздействия, которым подвергаются МСК на своем пути в ткань могут повлиять на их регенеративный потенциал. Изучение влияния различных факторов микроокружения на МСК является важной задачей клеточной физиологии и регенеративной медицины. Много внимания уделяется изучению влияния молекулярных факторов микроокружения (концентрация  $O_2$ , цитокины и др.) на биологические свойства МСК (Yamomotoetal., 2013; Choietal., 2014; Buravkovaetal., 2014). В то же время влияние клеточных компонентов микроокружения в регуляции функций МСК изучено в меньшей степени.

Поскольку ЭК являются ключевым компонентом периваскулярной тканевой ниши МСК, взаимодействие этих клеток представляет значительный интерес с точки зрения клеточной физиологии. Моделирование межклеточного взаимодействия *invitro* позволяет исследовать эффекты на МСК в сочетании с различными факторами микроокружения (гипоксия, провоспалительные цитокины и др.).

В литературе есть указания, что взаимодействие с ЭК может модулировать пролиферативный, дифференцировочный потенциал, а также подвижность и способность МСК секретировать белки внеклеточного матрикса (Bidarra etal., 2011; Lin etal., 2014; Merfeld-Claussetal., 2014; Choi etal., 2016). Однако, данные о влиянии длительного сокультивирования с ЭК на пролиферативный потенциал МСК *invitro* противоречивы. Показано, что стимуляция пролиферации происходит при контактном взаимодействии с ЭК при депривации факторов роста, а также при исходно низкой плотности посадки МСК. При высокой плотности посадки и нормальной концентрации факторов роста такого эффекта не наблюдается (Bidarra etal., 2011; Steiner etal., 2012; Lin etal., 2014).

Выявлено изменение транскрипционного профиля МСК после сокультивирования с ЭК от 2 до 15 дней, но перечень исследуемых генов отличается в различных работах. В частности, показаны транскрипционные изменения генов-регуляторов миогенной дифференцировки (миокардин, гладкомышечный актин, кальпонин, трансформирующий фактор роста  $\beta$ ) и остеогенной дифференцировки (щелочная фосфатаза, костный морфогенетический белок, костный сиалопротеин, коллаген 1, транскрипционный фактор *RUNX2*). Однако, транскрипционные изменения не сопровождались появлением функционального фенотипа гладкомышечных клеток или остеобластов (Bidarraetal., 2011; Merfeld-Claussetal., 2014; Lietal., 2015). Более того, МСК после длительного сокультивирования с ЭК сохраняли способность к адипогенной и хондрогенной дифференцировке (Linetal., 2014), что говорит о сохранении мультипотентного потенциала.

Хорошо известно, что МСК обладают ангиогенными свойствами за счет продукции факторов роста, стимулирующих формирование и стабилизацию сосудистой сети эндотелиальными клетками. Так, секретируемые факторы VEGF, ИЛ6, ИЛ8 и др. стимулируют пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток (Xuetal., 2017). При этом вдоль новообразованных капилляров происходит накопление тяжелой внеклеточного матрикса, продуцируемого МСК, за счет чего осуществляется стабилизация сосудистой сети (Merfeld-Claussetal., 2010). Показано, что при взаимодействии с ЭК МСК увеличивают продукцию белков внеклеточного матрикса, необходимых для ангиогенеза (Merfeld-Claussetal., 2014).

ЭК также способны модулировать миграционную активность МСК. Миграция МСК реализуется за счет секреции ферментов, деградирующих внеклеточный матрикс (металлопротеиназы), их ингибиторов и рецепторов к хемокинам, по градиенту которых происходит движение клеток. ЭК паракринно вызывают увеличение продукции металлопротеиназы 2 и снижение экспрессии белка интегрин альфа 4 в МСК, что приводит к увеличению их подвижности (Choi etal., 2016).



Таким образом, имеющиеся экспериментальные данные позволяют предположить, что ЭК модулируют активность стромальных предшественников при прямом межклеточном взаимодействии и путем паракриной регуляции, изменяя пролиферативный, дифференцировочный, миграционный, ангиогенный потенциал МСК. Возможно, эти эффекты могут определить пути реализации репаративного потенциала МСК при использовании для нужд клеточной терапии и регенеративной медицины.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №16-15-10407.

## **THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF MESENCHYMAL STROMAL PRECURSORS ARE MODULATED BY THE INTERACTION WITH ENDOTHELIAL CELLS**

*Zhidkova O.V.*

*Supervisor: Buravkova L.B.*

Institute of Biomedical Problems RAS, Moscow

Multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) are increasingly being used in regenerative therapy. The interaction of MSCs with endothelial cells (ECs) after injection into the bloodstream could modify the properties of both cell types. Meanwhile it is still not fully explored whether ECs could affect the reparative potential of MSCs and what is the role of ECs activation in above effects.

Stromal precursors are considered to participate in reparative remodeling due to the production of biologically active mediators and immunomodulating properties (Caplan et al., 2011; Kalinina et al., 2011; Dimarino et al., 2013; Marquez -Curtis et al., 2015). Both autologous and allogeneic MSCs are actively used in regenerative medicine. Several ways of MSC transplantation could be used for therapeutic application: systemic (into the bloodstream), local (to the target organ), and as tissue-engineering constructs (Leibacher et al., 2016). The possibility of targeted delivery of MSCs to the damaged tissue is closely related to their biological properties. These cells possess the ability to migrate to (home in) damaged tissue from the vessels along the gradient of the chemokines and cytokines (Nitzsche et al., 2017). Homing is a multistage process involving adhesion to endothelial cells and subsequent transendothelial migration (Sohni et al., 2013, Leibacher et al., 2016, Nitzsche et al., 2017). MSC interact with EC by surface adhesion molecules, when transmigrate (Henschler et al., 2008, Chamberlain et al., 2011). Various pro-inflammatory cytokines (TNF-alpha, IFN-gamma, interleukins, etc.), secreted by immune cells, activate vascular endothelial cells in the area of damage. Activated EC produce various chemokines that stimulate MSC chemotaxis (Danese et al., 2007, Teo et al., 2012). When migrating from the vessel to the tissue, MSC interact with the EC both by direct cell-to-cell contact and through paracrine regulation. These interactions could affect regenerative potential of MSCs on their way to the tissue. The analysis of the influence of various microenvironmental factors on MSC is an important issue of cellular physiology and regenerative medicine. Many studies examined the influence of molecular microenvironmental factors (O<sub>2</sub> concentration, cytokines, etc.) on the biological properties of MSCs (Yamamoto et al., 2013; Choi et al., 2014; Buravkova et al., 2014). However, the influence of the cellular microenvironmental components on MSC functions has been studied to a lesser extent.

MSC-endothelial interaction is of considerable interest for cell physiology, because ECs are a principal component of the perivascular niche. In vitro modeling allows to examine the effects of intercellular interaction on MSCs, combined with various microenvironmental factors (hypoxia, proinflammatory cytokines, etc.).

Some publications indicate, that interaction with ECs could modify the MSC proliferation, differentiation potential, motility and secretion of extracellular matrix proteins as well (Bidarra et al., 2011; Lin et al., 2014; Merfeld-Clauss et al., 2014; Choi et al., 2016). However, the data on the effects of prolonged co-cultivation with EC on MSC proliferation in vitro are controversial. It was shown, that MSC proliferation increased during co-cultivation with ECs under growth factor deprivation, as well as at initially low cell plating density. This effect was not observed under

normal growth factors concentration and at a high cell plating density (Bidarra et al., 2011, Steiner et al., 2012, Lin et al., 2014).

A change in the transcriptional profile of MSCs after 2 to 15 days co-cultivation with ECs has been revealed, but the list of investigated genes varied between experiments. In particular, transcription of myogenic differentiation regulatory genes (myocardin, smooth muscle actin, calponin, transforming growth factor  $\beta$ ) and osteogenic differentiation regulatory genes (alkaline phosphatase, bone morphogenetic protein, bone sialoprotein, collagen 1, transcription factor RUNX2) was changed. Besides transcriptional changes, stromal precursors did not acquire functional phenotype of smooth muscle cells or osteoblasts. Moreover, precursor cells retained the ability for adipogenic and chondrogenic differentiation after long-term co-cultivation with ECs (Lin et al., 2014), which indicated the maintenance of their multipotent state.

It is well known that MSCs possess angiogenic properties. Stromal cells produce growth factors, which induce endothelial cells to form and stabilize the vascular network. Thus, secreted VEGF, IL6, IL8, etc. stimulated the proliferation and migration of endothelial cells (Xu et al., 2017). At the same time, MSCs produced extracellular matrix proteins, which accumulate along the newly formed capillaries, stabilizing the vascular network (Merfeld-Clauss et al., 2010). Furthermore, upon EC-MSc interaction, it was shown an increased production of extracellular matrix proteins required for angiogenesis (Merfeld-Clauss et al., 2014).

EC also could modulate MSC motility. MSC migrate, secreting enzymes for extracellular matrix degradation (metalloproteinases), their inhibitors and receptors to chemokines, which create gradient for cell movement. Paracrine action of ECs caused an increase in metalloproteinase 2 production and a decrease in integrin alpha 4 expression in MSCs, which enhanced cell migration rate (Choi et al., 2016).

Thus, the existing experimental data suggest that the EC modulate the proliferation, differentiation, migration, angiogenic potential of MSC by direct cell-to-cell interaction and by paracrine regulation. These effects probably could determine the pattern of MSC realization in cell therapy and regenerative medicine.

This work is supported by RSCF grant 16-15-10407.

## **ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ К УСЛОВИЯМ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ**

*Журавлева Т.В.*

*Научный руководитель - Ничипорук И.А., к.м.н.*

*ГНЦ РФ - ИМБП РАН, Москва*

В аспекте стратегического планирования межпланетных экспедиций обеспечение активности и работоспособности космонавтов должно осуществляться на новом качественном уровне с учетом биопсихосоциальной парадигмы психического здоровья. Возникновение в длительном полете психологических проблем, несомненно, способно оказывать негативное воздействие на физиологическое состояние организма в целом и его сенсорных систем в частности, что может приводить к сбоям в операторской деятельности и, как следствие, к угрозам жизни и здоровью участников межпланетных экспедиций (CananJ.W., 2013).

Междисциплинарный многомерный подход к изучению адаптационных возможностей человека в моделируемых условиях искусственной среды обитания позволит получить ответы на вопросы об оптимальной численности экипажа, гендерной принадлежности, эргономике, необходимых режимах профилактических мероприятий в предстоящих межпланетных полетах. Цель исследования - изучение психологических и метаболических аспектов адаптации участников эксперимента "Сириус-17" к условиям 17-суточной изоляции в гермообъекте.

## **Объекты, материалы и методы исследования**

В исследовании участвовали 6 испытуемых-добровольцев (3 мужчины в возрасте от 33 до 43 лет и 3 женщины в возрасте от 27 до 37 лет), прошедших медицинский и психологический отбор и подписавших Информированное согласие. Протокол эксперимента был утвержден комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ - ИМБП РАН. Взятие крови для биохимических анализов проводилось утром, натощак, за 7 суток до начала эксперимента, на 7-е и 14-е сутки изоляции, а также на 2-е и 7-е сутки после ее окончания. В сыворотке крови испытуемых с помощью стандартных коммерческих наборов реагентов определяли значения 45 биохимических показателей. Измерения проводили на биохимическом автоматическом анализаторе "TargaBT 3000" фирмы "BiotechnikaInstruments" (Италия), биохимическом анализаторе "Clima 15" фирмы "RAL" (Испания) и анализаторе электролитов "EasyLiteNa/K/Ca/pH" фирмы "Medica" (США).

Психологическое тестирование прошли 5 испытуемых, первичное проводилось за 7 суток до начала эксперимента, повторное - на следующие сутки после его окончания. Членам экипажа "Сириус-17" для письменного заполнения предлагались следующие методики: "Шкала психологического стресса", адаптированная Н.Е. Водопьяновой (Водопьянова Н.Е., 2009) русскоязычная версия теста "PsychologicalStressMeasurement (PSM-25)" (LemyreL., TessierR., FillionL., 1991); шкала "Душевная боль", адаптированная Т.В. Журавлевой с соавторами (Журавлева Т.В., Чистопольская К.А., Ениколопов С.Н., 2016), русскоязычная версия теста "ThePsychacheScale" (HoldenR.R., MehtaK. et al., 2001); многоуровневый личностный опросник (МЛО) "Адаптивность" А.Г. Маклакова и С.В. Чермянина (Берг Т.Н., 2005); опросник "Стратегии преодоления стрессовых ситуаций" - адаптированная Н.Е. Водопьяновой и Е.С. Старченковой (Водопьянова Н.Е., 2009) русскоязычная версия теста "StrategicApproachtoCopingScale (SACS)" (HobfollS.E., DunahooC. L. et al., 1993); симптоматический опросник "Самочувствие в экстремальных условиях" А. Волкова и Н.Е. Водопьяновой (Водопьянова Н.Е., 2009); методика "Дифференциальная оценка состояний сниженной работоспособности" - адаптированная А. Б. Леоновой и С. Б. Величковской (Водопьянова Н.Е., 2009), русскоязычная версия теста "Ermuedung-Monotonie-Saetting-Stress (BMSII)" (PlathH. E., RichterP., 1984). Для статистической обработки данных использовали пакет прикладных программ StatisticaforWindows, версия 6.0. Вычисляли медиану (Me), нижнюю и верхнюю границы интерквартильных отрезков (LQr, UQr). Достоверность различий между результатами первичного и повторного тестирований определяли с помощью критерия Вилкоксона. Взаимосвязь между психологическими и биохимическими показателями, измеренными на следующие сутки после окончания эксперимента, оценивали с помощью коэффициента корреляции Пирсона.

## **Результаты исследования**

Анализ данных психологических тестирований начинали с обработки результатов шкалы "Достоверность результатов исследования" многоуровневого личностного опросника "Адаптивность". Все испытуемые набрали по данной шкале от 1 до 4 баллов и при первичном, и при повторном тестировании. При количестве баллов менее 10 результаты могут считаться объективными (Берг Т.Н., 2005). Следует отметить, что по шкалам тестов "Душевная боль", "Стратегии преодоления стрессовых ситуаций" и "Самочувствие в экстремальных условиях" достоверных различий между оценками первичного и повторного тестирований не выявлено. Что касается "Шкалы психологического стресса", то измеряемый ею интегральный показатель психической напряженности (ИППН) у испытуемых увеличился после эксперимента более чем в 1,5 раза ( $p < 0.05$ ). О том, что члены экипажа "Сириус-17" испытывали стресс, свидетельствуют и результаты тестирования по методике "Дифференциальная оценка состояний сниженной работоспособности". Индекс стресса (ИС), измеряемый одной из шкал вышеназванного теста, увеличился после эксперимента в 1,3 раза ( $p < 0.05$ ). Кроме того, по результатам тестирования с помощью МЛО "Адаптивность" выявлено снижение в 1,2 раза ( $p < 0.05$ ) нервно-психической устойчивости (НПУ). Однако при этом личностный адаптивный потенциал, составной частью которого является НПУ, не

изменился.

Баллы НПУ, ИС и ИППН на 2-е сутки восстановительного периода положительно коррелировали с концентрацией в крови свободных жирных кислот ( $r=0.912$ ,  $p<0.05$ ;  $r=0.963$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.986$ ,  $p<0.01$  соответственно), концентрацией  $\beta$ -гидроксибутирата ( $r=0.888$ ,  $p<0.05$ ;  $r=0.989$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.943$ ,  $p<0.05$  соответственно), концентрацией высокочувствительного С-реактивного белка ( $r=0.953$ ,  $p<0.05$ ;  $r=0.964$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.885$ ,  $p<0.05$  соответственно) и активностью  $\alpha$ -амилазы ( $r=0.940$ ,  $p<0.05$ ;  $r=0.969$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.882$ ,  $p<0.05$  соответственно). С концентрацией калия в крови баллы всех трех вышеназванных шкал коррелировали отрицательно ( $r= -0.906$ ,  $p<0.05$ ;  $r= -0.890$ ,  $p<0.05$ ;  $r= -0.888$ ,  $p<0.05$  соответственно). Баллы НПУ, кроме того, положительно коррелировали с концентрацией холестерина липопротеидов высокой плотности ( $r=0.886$ ,  $p<0.05$ ) и концентрацией аполипопротеина А1 ( $r=0.893$ ,  $p<0.05$ ). Выявленные корреляционные связи между психологическими и биохимическими показателями так же подтверждают наличие стресса у испытуемых, поскольку известно, что при стрессе под влиянием катехоламинов повышается концентрация в крови медиаторов ответа острой фазы, воздействие глюкокортикоидов активизирует процессы гликолиза и глюконеогенеза, происходит высвобождение из жировых депо липидных энергетических субстанций, в крови повышается концентрация транспортных форм холестерина (Порядин Г.В., 2009), под воздействием минералокортикоидов усиливается экскреция калия с мочой (Постников А.А., 2006). Иными словами, происходят изменения именно тех субстратов и продуктов метаболизма, корреляции которых с оцениваемыми психологическими показателями нами обнаружены.

#### **Выводы**

У участников эксперимента "Сириус-17" выявлено повышение психологических и биохимических маркеров стресса. Стресс умеренно выражен, адекватно компенсируется организмом и не требует коррекции специалистами. Личностный адаптивный потенциал каждого из членов экипажа отражает высокий уровень приспособления к моделируемым условиям среды обитания с сохранением здоровья, работоспособности и навыков эффективных решений поставленных задач.

## **PSYCHOLOGICAL AND CLINICAL-BIOCHEMICAL ASPECTS OF ADAPTATION OF HEALTHY PERSONS TO CONFINEMENT CONDITIONS IN HERMETIC OBJECT**

*Zhuravleva T.V.*

*Scientific advisor-Nichiporuk I.A.*

SRC RF - IBMP RAS, Moscow

In aspect of a strategic planning of interplanetary expeditions a maintenance of activity and working capacity of cosmonauts should be carried out at new qualitative level taking into account a biopsychosocial paradigm of a mental health. Occurrence in long-term flight of psychological problems, undoubtedly, is capable to have negative influence on a physiological condition of whole organism and its sensory systems in particular, that can lead to failures in operator activity and, as consequence, threats to life and health of participants of interplanetary expeditions (Canan J.W., 2013).

The interdisciplinary multidimensional approach to studying of adaptable possibilities of a person in simulated conditions of an artificial inhabitancy will allow receiving answers to questions about optimal quantitative and gender membership of crew, the ergonomics, and necessary modes of preventive actions in forthcoming interplanetary flights.

A study of psychological and metabolic aspects of adaptation of participants of experiment "Sirius-17" to conditions of 17-day isolation in hermetic object was the goal of research.

#### **Objects, materials and research methods**

6 subjects-volunteers (3 men aged 33-43 years and 3 women aged 27-37 years) who have participated in research, previously had passed medical both psychological selection and had signed

the Informed consent. The program of experiment was confirmed by the commission on biomedical ethics of SRC RF IBMP of the Russian Academy of Sciences.

The withdrawal of blood for biochemical analyses was done in the morning, on an empty stomach, 7 days before the beginning of experiment, on 7-th and 14-th days of confinement, and on 2 and 7 days after its end. The levels of 45 biochemical parameters in blood serum of volunteers were determined by means of standard commercial sets of reagents. Measurements were done by use of the biochemical automatic analyzer "Targa BT 3000 of "Biotechnika Instruments company" (Italy), the biochemical analyzer "Clima 15" "RAL" company (Spain) and the analyzer of electrolytes "EasyLite Na/K/Ca/pH" "Medica Co." (USA).

5 volunteers have passed psychological testing - initial 7 days before the beginning of experiment, repeated - next day after its termination. The following questionnaires were offered to crew-members of "Sirius-17" for written filling: "Scale of psychological stress", adapted by N.E. Vodopjanova (Vodopjanova N.E., 2009); the Russian version of the test "Psychological Stress Measurement (PSM-25)" (Lemyre L., Tessier R., Fillion L., 1991); a scale "The mental anguish", adapted by T.V. Zhuravleva with co-authors (Zhuravleva T.V., Chistopolskaja K.A., Enikoplov S.N., 2016); the Russian version of the test "The Psychache Scale" (Holden R.R., Mehta K. et al., 2001); a multilevel personal questionnaire (MPQ) of A.G. Maklakova and S.V. Chermjanina "Adaptability" (Berg T.N., 2005); a questionnaire "Strategy of overcoming of stressful situations" - adapted by N.E. Vodopjanova and by E.S. Starchenkova (Vodopjanova N.E., 2009); the Russian version of the test "Strategic Approach to Coping Scale (SACS)" (Hobfoll S. E., Dunahoo C. L. et al., 1993); the symptomatic questionnaire "State of health in extreme conditions" of A. Volkov and N.E. Vodopjanova (Vodopjanova N.E., 2009); test "The differential estimation of conditions of the lowered working capacity" – adapted by A.B. Leonova and S.B. Velichkovskaya (Vodopjanova N.E., 2009); the Russian version of the test "Ermuedung-Monotonie-Saetting-Stress (BMSII)" (Plath H. E., Richter P., 1984).

The package of applied programs Statistica for Windows, version 6.0 was used for statistical data processing. Medians (Me), the low and high borders of interquartile intervals (LQr, UQr) were calculated. Significance of distinctions between results of primary and repeated tests was defined by means of Wilcoxon Matched Pairs Test. Interrelation between the psychological and biochemical indicators measured on the next day after the termination of experiment was assessed by means of Pearson's correlation.

### **Results of research**

The analysis of the given psychological tests has been begun with processing of results of a scale "Reliability of results of research" of multilevel personal questionnaire "Adaptability". All volunteers have got within the given scale from 1 to 4 points both at primary, and at repeated testing. At quantity of points less than 10 the results can be considered as objective (Berg T.N., 2005). It is necessary to note, that in scales of tests "Mental anguish", "Strategy of overcoming of stressful situations" and "The State of health in extreme conditions" significant distinctions between estimations of primary and repeated tests were not revealed. As to "The Scale of psychological stress" the integrated indicator of mental tension (IIMT) measured by it was increased in volunteers after experiment more than at 1,5 times ( $p < 0.05$ ). The results of test "The Differential estimation of conditions of the lowered working capacity" also testify that crewmembers of "Sirius-17" have experienced stress. The stress index (SI), measured by one of scales of the above-named test, has been increased after experiment at 1,3 times ( $p < 0.05$ ). Besides, the decrease at 1,2 times ( $p < 0.05$ ) of neuropsychological stability (NPS) was found by results of test MPQ "Adaptability" while the personal adaptive potential (which component is NPS) has been not changed.

Values of NPS, SI and IIMT on the second day of the readaptation period positively correlated with blood concentrations of free fatty acids ( $r = 0.912$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.963$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.986$ ,  $p < 0.01$ , respectively),  $\beta$ -hydroxybutirate ( $r = 0.888$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.989$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.943$ ,  $p < 0.05$ , respectively), high-sensitive C-reactive protein ( $r = 0.953$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.964$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.885$ ,  $p < 0.05$ , respectively) and with activity of  $\alpha$ -amylase ( $r = 0.940$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.969$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.882$ ,  $p < 0.05$ ,

respectively). All three above-named scales negatively correlated with blood potassium concentration ( $r = -0.906$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = -0.890$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = -0.888$ ,  $p < 0.05$ , respectively). Points of NPS, besides, positively correlated with cholesterol high-density lipoproteins' concentration ( $r = 0.886$ ,  $p < 0.05$ ) and with apolipoprotein A1 concentration ( $r = 0.893$ ,  $p < 0.05$ ). The revealed correlations between psychological and biochemical parameters also confirm the presence of stress in volunteers as it is well-known, that in stress - blood concentrations of transmitters of acute phase answer are raised under the influence of catecholamines, processes of glycolysis and gluconeogenesis are activated by impact of glucocorticoids, there is a liberation from fatty depots of lipid high-energy substances, blood concentration of transport forms of cholesterol is raised (Poryadin G. V, 2009), urine potassium excretion under the influence of mineralocorticoids goes up (Postnikov A.A., 2006), i.e. changes of those substrata and products of metabolism occur, which correlations with estimated psychological indicators are exactly found out by us.

### **Summary**

The increase of psychological and biochemical markers of stress at participants of experiment "Sirius-17" is revealed. The stress is moderately expressed, adequately compensated by organism and does not demand correction by experts. The personal adaptive potential of each crewmember reflects high level of the adaptation to simulated conditions of inhabitancy with preservation of health, working capacity and skills of effective decisions of assigned tasks.

## **ВЛИЯНИЕ 17-СУТОЧНОЙ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ С КРАТКОВРЕМЕННОЙ ДЕПРИВАЦИЕЙ СНА НА КЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА**

*Каюнова С.М.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

**Научный руководитель: к.м.н. Пономарёв С.А.**

Как известно, иммунная система проявляет высокую степень пластичности и адаптивности. В рамках международного эксперимента «SIRIUS-2017» проводились исследования по оценке влияния 17-суточной изоляции в гермообъекте с кратковременной депривацией сна и повышенной психоэмоциональной нагрузкой на систему врождённого и адаптивного иммунитета. Работа проводилась на материалах крови 6 добровольцев-испытателей (3 женщин и 3 мужчин), взятой в фоновом периоде до начала эксперимента, во время депривации сна на 15-сутки пребывания в гермообъекте и на 1-е сутки после завершения 17-суточного пребывания в гермообъекте. С помощью метода проточной цитофлуориметрии было проведено определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, а именно Т-клеток памяти (CD4+CD45RA+, CD4+CD45RO+), клеток Т-хелперов (CD4+), моноцитов и гранулоцитов, несущих образ-распознающие Toll-like рецепторы (TLR1-9), а также естественных киллеров ЕК-клеток (CD3-CD16+/CD56+). Кроме того, параллельно были получены данные об абсолютном и относительном содержании популяций лейкоцитов в периферической крови, стабилизированной ЭДТА. Статистическая оценка проводилась по методу парного сравнения средних по критерию Вилкоксона.

Анализ содержания в периферической крови клеток моноцитарного, гранулоцитарного и лимфоцитарного рядов не выявил статистически достоверных отличий значений, полученных во время и после изоляции, и фоновых показателей.

Ключевую роль в запуске системы врождённого иммунитета при контакте организма с внешними и внутренними патогенами играют консервативные TLR, передающие сигнал внутрь клетки, вызывая в конечном итоге изменение профиля экспрессии генов и запуск реакции воспаления. Данные, полученные по результатам кратковременной депривации сна в условиях 17-суточной изоляции в гермообъекте, не выявили статистически значимых изменений в количестве моноцитов и гранулоцитов, несущих на своей поверхности TLR 1-9. Однако на 1 сутки после выхода из гермообъекта у испытуемых наблюдалось снижение числа

моноцитов, экспрессирующих мембранные TLR 4, 5, 6 и внутриклеточные TLR 3, 8, 9, а также гранулоцитов экспрессирующих мембранные TLR 1, 2, 4, 5, 6 и внутриклеточные TLR 3, 8, 9. Опираясь на полученные данные, можно предположить, что пребывание в изоляции в гермообъекте в комплексе с депривацией сна оказывает негативное влияние на систему врождённого иммунитета, а именно на этап распознавания патогенов и запуска первичного иммунного ответа.

Одним из первых этапов реакции организма на внешнюю угрозу, будь то бактериальные патогены (граммположительные, грамотрицательные или внутриклеточные), вирусы или простейшие, является активация системы естественной цитотоксичности, основным клеточным фактором которой являются клетки естественные киллеры (ЕК-клетки), проявляющие цитотоксическую активность против опухолевых и инфицированных патогеном клеток. Анализ полученных данных показывает достоверно значимое снижение относительного содержания ЕК-клеток (CD3-CD16+ /CD56+), а также TNK-клеток (CD3+CD16+ /CD56+), обладающих свойствами Т- и ЕК-клеток в периферической крови испытуемых на 1 сутки после завершения пребывания в гермообъекте по сравнению с фоновыми показателями. Однако незначительное снижение показателей относительного и абсолютного содержания ЕК и TNK-клеток по отношению к фоновым значениям наблюдалось на всех этапах эксперимента. Подобные результаты могут свидетельствовать о нарушениях в системе естественной цитотоксичности под воздействием комплекса факторов, включающих изоляцию в гермообъекте и кратковременную депривацию сна.

На более поздних этапах запускается специфический иммунный ответ, ассоциированный с активацией адаптивного иммунитета, клеточные факторы которого представлены популяциями Т- и В-лимфоцитов. Запускаемый Т-хелперными клетками, адаптивный иммунный ответ развивается по клеточному (Т-киллеры) и гуморальному (В-клетки) пути, приводя в итоге к формированию клеток памяти и длительному поддержанию защитного титра специфических антител в биологических жидкостях организма. В результате 17-суточной изоляции у добровольцев-испытуемых не было выявлено существенных изменений в содержании CD19+ В-клеток и CD3+Т-клеток по относительным и абсолютным значениям. Анализ содержания наивных Т-клеток (CD4+CD45RA+), а также Т-клеток памяти (CD4+CD45RO+) также не выявил статистически достоверных изменений в ходе эксперимента. Таким образом, можно говорить о том, что, несмотря на индивидуальную вариабельность, 17-суточная изоляция в гермообъекте с кратковременной депривацией сна не оказывает существенного влияния на систему адаптивного иммунитета.

Таким образом, приведённые выше данные свидетельствуют о том, что в период ранней адаптации иммунной системы к комплексу факторов, ассоциированных с 17-суточной изоляцией в гермообъекте с кратковременной депривацией сна и повышенной психоэмоциональной нагрузкой, происходят изменения в системе врождённого иммунитета, реализуемые через профиль TLR и систему естественной цитотоксичности. Система адаптивного иммунитета в данных условиях существенных перестроек не демонстрирует.

## **INFLUENCE OF 17-DAILY ISOLATION WITH SHORT-TERM SLEEP DEPRIVATION ON THE CELLULAR FACTORS OF THE HUMAN IMMUNE SYSTEM**

*Kayunova S.M.*

IBMP RAS, Moscow

**Scientific adviser: Ph.D. Ponomarev S.A**

As known, the immune system exhibits a high degree of plasticity and adaptability. Within the framework of the international experiment "SIRIUS-2017", studies were conducted to assess the effect of 17-day isolation with short-term sleep deprivation and increased psycho-emotional effect on the system of innate and adaptive immunity. The study was carried out on the blood materials of 6 volunteers (3 women and 3 men) taken in the background before the experiment, during sleep

deprivation on the 15th day of isolation and on the 1st day after experiment completion. With the help of the flow cytometry method, the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes was determined: memory T-cells (CD4 + CD45RA +, CD4 + CD45RO +), T-helper cells (CD4 +), monocytes and granulocytes having image-recognition Toll-like receptors (TLR1-9), as well as natural killer cells (NK cells) (CD3-CD16 + / CD56 +). In addition, data on the absolute and relative content of leukocyte subsets in peripheral blood stabilized by EDTA were obtained. The statistical estimation was carried out by the method of pairwise comparison of means by the Wilcoxon test.

Analysis of the content of monocytes, granulocytes and lymphocytes in peripheral blood revealed no statistically significant differences between the values obtained during and after isolation and background indices.

A key role in innate immunity activation upon contacts with external and internal pathogens is played by conservative TLRs, which transmit the signal inside the cell, eventually resulting in a change in the gene expression profile and the initiation of the inflammation reaction. The data obtained from the results of short-term sleep deprivation in the conditions of 17-day isolation did not reveal statistically significant changes in the number of monocytes and granulocytes with TLR 1-9 on their surface. However, on the 1 day after the exit from the isolation volunteers had a decrease in the number of monocytes expressing membrane TLR- 4, 5, 6 and intracellular TLR- 3, 8, 9, as well as granulocytes expressing membrane TLR- 1, 2, 4, 5, 6 and intracellular TLR- 3, 8, 9. Based on this data, it can be assumed that staying in isolation in combination with deprivation of sleep has a negative impact on the system of innate immunity, specifically on the recognition of pathogens and the initiation of a primary immune response.

One of the first stages of the body's reaction to an external threat, whether bacterial pathogens (gram-positive, gram-negative or intracellular), viruses or protozoa, is the activation of a system of natural cytotoxicity, the main cellular factor of which are natural killer cells (NK cells) that exhibit cytotoxic activity against tumor and pathogen-infected cells. Analysis of the obtained data demonstrates a statistically significant decrease in the relative content of NK cells (CD3-CD16 + / CD56 +), as well as TNK-cells (CD3 + CD16 + / CD56 +), which have properties T- and NK-cells, in the peripheral blood of the volunteers on the 1 day after the exit from the isolation in comparison with background indices. However, a slight decrease in the relative and absolute values of NK and TNK-cells quantity to baseline values was observed at all stages of the experiment. Similar results may indicate negative changes in the system of natural cytotoxicity under the influence of a complex of factors, including isolation in the and short-term sleep deprivation.

At later stages, a specific immune response is triggered, associated with activation of adaptive immunity, the cellular factors of which are represented by subsets of T- and B-lymphocytes. Triggered by T-helper cells, the adaptive immune response develops along the cellular (T-killers) and humoral (B-cell) pathways, resulting in the formation of memory cells and the prolonged maintenance of the protective titer of specific antibodies in body fluids. As a result of 17-day isolation in volunteers, there were no significant changes in the content of CD19 + B cells and CD3 + T cells by relative and absolute values. Analysis of naive T cells (CD4 + CD45RA +) and memory T cells (CD4 + CD45RO +) also revealed no statistically significant changes during the experiment. Thus, we can say that, despite the individual variability, 17-day isolation with short-term sleep deprivation does not significantly affect the system of adaptive immunity.

In this way, the obtained data indicate that during the early adaptation of the immune system to the complex of factors associated with 17-day isolation with short-term sleep deprivation and increased psychoemotional stress, changes occur in the system of innate immunity, realized through the profile of TLR and a system of natural cytotoxicity. The system of adaptive immunity under these conditions does not demonstrate significant rearrangements.



# УРОВЕНЬ ФИЗИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ КОСМИЧЕСКИХ ТУРИСТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА ПРЕДПОЛЕТНОМ ЭТАПЕ ПОДГОТОВКИ

**Ковинский А.А.**

ФГБУ «НИИ ЦПК имени Ю.А. Гагарина»,  
Звёздный городок, Россия

**Ключевые слова:** космос, туризм, космический туризм, Россия, космонавты, МКС, космические аппараты, космический турист, физическая подготовка.

За 18 лет пилотируемых полетов на Международной космической станции (МКС) десятью непрофессиональными космонавтами – участниками космических полетов выполнено одиннадцать полетов на российских пилотируемых космических аппаратах (ПКА). В мировой практике развитие космического туризма представлено проектами пилотируемых кораблей нового поколения. Таким образом, через несколько лет космический туризм будет популярной отраслью в мире, но для того чтобы совершить космический полет нужно обладать определенным запасом «прочности», то есть организм должен быть физически подготовлен к перегрузкам, невесомости и другим факторам. Поставлена цель разработать оптимальное сочетание общей и специальной физической подготовки для космических туристов в России и мире для совершения космического полета на различных ПКА.

После развала СССР и практически полного прекращения финансирования космической отрасли в России «выжили» и стали постепенно последние 10-15 лет развиваться только те предприятия космической отрасли, которые были конкурентоспособны, и деятельность которых могла иметь прикладное применение. Это создало условия, в том числе и, для появления коммерческих космических проектов. Космический туризм может приносить и уже приносит неплохие средства «космическим» странам [1].

Таким образом, актуальность исследований обусловлена появлением в разных странах космических туристов (возраст которых колеблется от 20 до 65 лет), которые должны быть подготовлены к различной культурно-познавательной, научной и другой деятельности самое главное, обеспечению безопасности жизнедеятельности, противодействию неблагоприятных факторов космического полета и возможным его последствиям.

Анализ и обобщение литературных данных космического туризма свидетельствует, что в мировой практике развитие космического туризма представлены проекты пилотируемых кораблей нового поколения: пилотируемый корабль нового поколения «Федерация» (Россия), многофункциональный пилотируемый корабль «Orion» (США), частные космические корабли: Starliner (CST-100) компании Boeing, «Dragon» компании SpaceX, «DreamChaser» от Sierra Nevada Corporation, «New Shepard» компании Blue Origin. Особое внимание уделено проектам суборбитальных кораблей, в частности созданию ракетопланов «SpaceShipTwo» и носителя «WhiteKnightTwo» компании Virgin Galactic [2].

В данное время в США космический туризм считается самой динамично развивающейся частью космической отрасли. Частные корпорации вкладывают огромные деньги в разработку собственных ракет-носителей, суборбитальных и орбитальных космических кораблей, даже орбитальных гостиных для длительного пребывания туристов на орбите. Создается и наземная туристическая инфраструктура, уже построен первый в мире космопорт «America». Планируется создание сети космопортов по всему миру, что позволит с использованием суборбитальных космолайнеров уже в ближайшие десятилетия увеличить количество людей, побывавших в космосе в сотни раз.

Развитие космического туризма в будущем невозможно без создания разветвленной инфраструктуры космической индустрии туризма.

Проблема также актуализируется тем, что существующая программа жизнеобеспечения космонавтов, а также результаты подготовки к полетам в ЦПК имени Ю.А. Гагарина к выполнению космических полетов непрофессиональными космонавтами на МКС могут быть использованы для подготовки космических туристов по другим коммерческим программам.

В целом, по результатам исследований определено:

– у космического туриста в первую очередь должна быть заинтересованность, мотивированность к полету, то есть нужно больше популяризировать и развивать космический туризм, но на данный момент о полетах, подготовке и других аспектах знают не многие;

– во время физической подготовки на предполетном этапе нужно в первую очередь поддерживать и развивать физические качества, способности такие как: статическая выносливость; двигательно-координационные способности, ловкость (сохранить равновесие; способность выполнять точные движения в т.ч. дифференцировать усилия; умение расслабляться, экономично выполнять движения, преодолевать мышечную напряжённость);

– все остальные физические качества, способности тоже нужно поддерживать и развивать на должном для «отличного» физического состояния уровня, так как без специальной и общей физической подготовки личности невозможно адаптироваться к космическим перегрузкам, невесомости, чувству тяжести и многим другим факторам.

## **THE LEVEL OF PHYSICAL READINESS OF SPACE TOURISTS TO PERFORM SPACE FLIGHT IN THE PRE-FLIGHT STAGE OF PREPARATION**

**Kovinskiy A.A.**

Federal State Organization “YU.A. Gagarin Research & Test Cosmonaut Training Center”  
Starcity, Russia

**Key words:** space, tourism, space tourism, Russia, cosmonauts, ISS, space vehicles, space tourist, physical training.

During the 18 years of manned flights on the International Space Station (ISS), ten non-professional cosmonauts-participants in space flights carried out eleven flights on Russian manned space crafts. In the world practice, the development of space tourism is represented by the projects of manned spacecrafts of the new generation. Thus, in a few years space tourism will be a popular industry in the world, but in order to accomplish a space flight one must have a certain margin of "strength", that is, the body must be physically prepared for overloads, weightlessness and other factors. The goal is to develop an optimal combination of general and special physical training for space tourists in Russia and the world to make space flight on various manned spacecrafts.

After the collapse of the USSR and the almost complete cessation of funding for the space industry, only those space industry enterprises that were competitive and whose activities could have applied have gradually "survived" in Russia over the last 10-15 years. This created conditions, including, for the emergence of commercial space projects. Space tourism can bring and already brings good funds to "space" countries [1].

Thus, the relevance of research is due to the emergence in different countries of space travel (whose age ranges from 20 to 65 years), which must be prepared for various cultural, educational, scientific and other activities, most importantly, ensuring life safety, counteracting unfavorable factors of space flight and possible its consequences.

Analysis and generalization of literary data of space tourism shows that in the world practice the development of space tourism presents the projects of manned new-generation vehicles: the new-generation manned space vehicle Federation (Russia), the multipurpose manned vehicle Orion (USA), private spacevehicles: Starliner CST-100) of Boeing, Dragon's company SpaceX, Dream Chaser from Sierra Nevada Corporation, New Shepard of Blue Origin. Particular attention is paid to the projects of

suborbital vehicles, in particular the creation of rockets "SpaceShipTwo" and carrier "WhiteKnightTwo" of VirginGalactic [2].

Currently in the US, space tourism is considered the most dynamically developing part of the space industry. Private corporations invest huge amounts of money in developing their own carrier rockets, suborbital and orbital vehicles, even orbital hotels for long stay of tourists in orbit. The ground tourist infrastructure is being created, the first in the world spaceport "America" has already been built. It is planned to create a network of spaceports around the world, which will make it possible to increase the number of people who have been in space hundreds of times using suborbital space vehicles in the coming decades.

The development of space tourism in the future is impossible without the creation of an extensive infrastructure of the space tourism industry.

The problem is also actualized by the fact that the existing life support program for astronauts, as well as the results of preparations for flights to the CTC named after Yu.A. Gagarin to perform space flights by non-professional cosmonauts on the ISS can be used to prepare space tourists for other commercial programs.

In general, according to the results of the research, it was determined:

- a space tourist should first of all be interested in, motivated to fly, that is, it is necessary to promote and develop space tourism more, but at the moment few people know about flights, training and other aspects;

- during physical training in the pre-flight stage, it is necessary first of all to maintain and develop physical qualities, abilities such as: static endurance; motor coordination abilities, dexterity (keep balance, ability to perform precise movements including differentiate effort, ability to relax, economically perform movements, overcome muscle tension).

all other physical qualities and abilities should also be maintained and developed at the proper level for the "excellent" physical state of the level, since without special and general physical preparation of the individual it is impossible to adapt to cosmic overloads, weightlessness, feeling of heaviness and many other factors.

## **ВЛИЯНИЕ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ НА ЖАЖДУ И СОЛЕВОЙ АППЕТИТ У МЫШЕЙ**

**Лагерева Е.А.<sup>1</sup>, Горшкова А.А.<sup>2</sup>**

1 – ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, 2 – МГУ им. Ломоносова, Москва

Адаптация сердечно-сосудистой системы человека к микрогравитации, инициируется перераспределением жидкости в верхнюю часть тела из нижней при исчезновении гидростатического градиента давления. Гидростатический градиент давления у мышей практически не выражен, однако реакции сердечно-сосудистой системы мышей в космическом полете и в послеполетный период схожи с изменениями у людей. Этот факт указывает на важность независимых от размеров тела факторов в адаптации сердечно-сосудистой системы млекопитающих к микрогравитации. Одним из таких относительно независимых от размера тела механизмов может являться водно-солевой обмен, в частности, находящийся под центральным нейро-гуморальным контролем водно-солевой аппетит и всасывание воды и электролитов в кишечнике. Изменения гемодинамики, наблюдающиеся при воздействии факторов космического полета, могут также вносить вклад в функциональные изменения кишечника, и наоборот, так как примерно четверть сердечного выброса поступает в чревную область. Можно предположить, что в перестройке водно-солевого обмена в условиях космического полета может участвовать в том числе и желудочно-кишечный тракт, как единственный путь поступления воды и солей в организм. С целью оценки вклада желудочно-кишечного тракта в изменения водно-солевого обмена в условиях, моделирующих воздействие микрогравитации, мы решили исследовать изменения водно-солевого аппетита у мышей при антиортостатическом вывешивании.

Самцов мышей линии BALB/c подвергали антиортостатическому вывешиванию (Ferreira J.A. et al, 2011).Использовали две группы контрольных мышей: 1) «прикрепленные», и 2) содержащиеся изолированно в клетках для вывешивания (N=12 в группе). Регистрацию фоновых показателей проводили в течение 6 суток адаптации к условиям эксперимента, а затем регистрировали потребление воды и 0.9% раствора NaCl в условиях свободного выбора в течение 14 суток воздействия и 7 суток восстановления, во время эксперимента оценивали ряд морфометрических и гематологических параметров.

Обнаружили, что суммарный объем потребляемой жидкости у вывешенных животных в первые 4 суток вывешивания снижался на 20-30%, а в дальнейшем не отличался от потребления у контрольных мышей. В период восстановления этот показатель возрастал на 50-60%. Потребление NaCl у мышей обеих контрольных групп постепенно возрастало, достигая  $\approx 150\%$  от фонового значения на 21е сутки, а у вывешенных – оставалось неизменным в течение всего периода вывешивания и снижалось в период восстановления. Потребление корма ( $\approx 150$  г/кг/сут), второго источника натрия, было одинаковым у животных всех групп и не менялось в течение всего периода вывешивания и восстановления. Изменения массы тела и внутренних органов, а также гематологические показатели были типичны для модели антиортостатической гипокинезии (Попова А.С. и др., 2017). Следует отметить существенное снижение массы семенников у вывешенных животных ( $F(2,15) = 1,313$ ;  $P = 0,2982$ ) по сравнению с контрольными животными, что указывает на возможное снижение уровня тестостерона. По ключевым параметрам различия между прикрепленными и изолированными животными отсутствовали, что свидетельствует о незначительном влиянии обусловленного прикреплением стресса на регистрируемые показатели.

Снижение солевого аппетита у мышей, как один из адаптационных процессов, при воздействии антиортостатической гипокинезии и восстановлении после, свидетельствует об изменениях его нейро-гуморальной регуляции и хорошо соотносится с данными, полученными на более крупных животных (Larina I.M. et al, 2013). В наших дальнейших исследованиях будет выяснено, лежат ли изменения морфофункционального состояния кишечника в основе зарегистрированного нами впервые изменения водно-солевого аппетита у «вывешенных» мышей.

## **EFFECT OF ANTI-ORTHOSTATIC HYPOKINESIA ON SALINE AND WATER APPETITE IN MICE**

**Lagereva E.A.<sup>1</sup>, Gorshkova A.A.<sup>2</sup>**

1 – SRC RF Institute of Biomedical Problems RAS, 2 – M.V. Lomonosov Moscow State University

Cardiovascular system adaptation of human to microgravity is known to be initiated by redistribution of fluid from the lower part of the body to the upper, caused by the disappearance of the hydrostatic pressure gradient. Hydrostatic pressure gradient in mice is negligible, but cardiovascular system reactions in mice during microgravity and in post-microgravity conditions are similar to those in humans. This fact indicates the importance of factors which is not affected by body size in the mammalian cardiovascular system adaptation to microgravity. One of these factors can be water-salt metabolism, and particularly water-salt appetite and the absorption of water and electrolytes in the intestine, which is under central neuro-humoral control. Hemodynamic changes observed during space flight can also contribute to functional changes in the intestine, and vice versa, intestine can affect changes in cardiovascular system, since the visceral region may require up to a quarter of the cardiac output. It can be assumed that the intestine can play a great role in electrolyte balance changes under the microgravity conditions, as it is a single way to get water and electrolytes into the body. In order to assess the contribution of the intestine in electrolyte balance changes under the conditions of simulated microgravity, it was decided to investigate the water and sodium appetite in mice in the model of anti-orthostatic hypokinesia.

Male BALB/c mice were subjected to hindlimb unloading (Ferreira J.A. et al, 2011). Two

control groups were used – attached mice (attachment was the same as in unloaded mice), and isolated mice (without attachment and unloading). All mice were housed in the same cages, n=12 in group. Background parameters were registered for 6 days during the adaptation period. Then the water and saline (0.9% NaCl) consumption were registered for 14 days followed by 7 days of recovery period. A number of morphometric and hematological parameters were evaluated during the experiment.

It was found that the total volume of consumed liquid in hindlimb unloaded mice decreased by 20-30% in the first 4 days of unloading, and hereinafter wasn't different from the consumption of control mice. During the recovery period this value has increased by 50-60%. Saline consumption in control mice of both groups increased, reaching  $\approx 150\%$  of the background values to the day 21. In unloaded mice saline consumption was unchanged during the entire period of the unloading and decreased in the recovery period. Chow consumption ( $\approx 150$  g/kg/day), as the other source of sodium, was the same in the animals of all groups and didn't change during the whole period of unloading out and recovery. Body mass and organs weight as well as hematological parameters were typical for mice in HLU model (Popova A. S. et al., 2017). It should be noted a significant decrease in testes weight in hindlimb unloaded mice ( $F(2,15) = 1,313$ ;  $P = 0,2982$ ) compared with control animals, indicating a possible decrease in testosterone levels. There were no crucial differences in the key parameters between attached and isolated animals, indicating a slight effect of the stress caused by the attachment on the observed parameters.

Reduced sodium appetite in mice as one of the adaptation processes, indicates alterations of neurohumoral regulation and correlates well with data obtained on larger animals and humans under the influence of antiorthostatic hypokinesia and in the recovery period (Larina I. M. et al, 2013). In our further researches it will be found out, whether changes of morphological and functional conditions of intestine could be the basis of the of water-salt appetite change registered by us for the first time at hindlimb unloaded mice.

## **САНИТАРНО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНОЙ ТКАНИ И СВЯЗУЮЩЕГО ЭНФБ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ОБИТАЕМЫХ ОТСЕКАХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КОСМИЧЕСКИХ КОРАБЛЕЙ.**

*Лашуков П.В., Царьков Д.С.*  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

При проектировании перспективных пилотируемых космических аппаратов (ПКА), ориентированных на межпланетные полеты, приоритетное внимание уделяется снижению веса изделий за счет расширения доли полимерных материалов, используемых в конструкциях и оборудовании кораблей, отличающихся высокой износостойкостью, низкой плотностью, устойчивостью к воздействию агрессивных сред, по удельным показателям прочности и жесткости, превосходящих все широко используемые конструкционные полимерные и металлические материалы. К числу таких перспективных материалов относятся полимерные композиционные материалы (ПКМ), внедрение которых требует санитарно-химической и гигиенической оценки направленной на снижения риска здоровью экипажа.

В процессе эксплуатации и при старении полимерной матрицы (ПМ) выделяют высокотоксичные летучие органические соединения (ЛОС) различных классов опасности, и их пригодность регламентируется нормативными требованиями предельно допустимых концентраций (ПДК).

Цель данного исследования - оценить состав химических веществ в газовой выделении из ПКМ и определить динамику изменения состава газовой выделении из исследуемых материалов при старении на соответствие нормативных требований ГОСТ Р 50804-95.

Метод ускоренного климатического старения включает воздействие на ПМ климатических факторов, которые приводят к физическим и химическим преобразованиям в ПКМ. Количественный и качественный состав выделяющихся ЛОС, которые являются продуктами физико-химической деструкции полимеров, является одним из параметров, позволяющий оценить состояние рабочих характеристик материала и возможность его использования в ПКА в процессе эксплуатации.

Санитарно-химическими исследованиями установлено, что концентрации идентифицированных веществ, в составе газовой выделений из исследованных углепластиков были на один, два и три порядка ниже значений предельно допустимых концентраций. Чрезвычайно токсичных химических соединений не обнаружено. При увеличении воздействия температуры до 90-100 °С наблюдается увеличение количественного состава компонентов газовой выделений, однако качественный состав не изменяется и аналогичен веществам, выделяемым при воздействии температуры 40°С с длительностью экспозиции до 14 суток.

Исследования показали, что Состав газовой выделений определяется полимерным составом связующего. Однако концентрации этих веществ, зависят от насыщенности связующего в ПКМ и, следовательно, будет влиять на допустимые объемы использования этих материалов в обитаемых отсеках ПКА.

Это положение подтверждается исследованиями, в которых показано, что ПКМ изготовленные на одной углеродной ленте, но с разными видами связующего, отличаются по химическому составу компонентов газовой выделений. Так, при использовании модифицированного эпоксидно-полисульфонового связующего, в составе газовой выделений идентифицируется в 3 раза больше веществ, в отличие от материалов со связующим на основе модифицированных эпоксидных смол. Это обстоятельство важно учитывать при решении возможности использования ПКМ в обитаемых отсеках ПКА по гигиеническим показателям. Исследования, показали, что, 10-летнее старение исследованных ПКМ не сопровождается появлением высокотоксичных летучих органических соединений, характерных для деструкции связующего.

## **SANITARY AND CHEMICAL RESEARCH OF POLYMER COMPOSITE MATERIALS BASED ON CARBON FABRIC AND ENFB BINDER FOR USE IN THE LIVING COMPARTMENTS INTO FUTURE SPACECRAFT.**

*Lashukov P.V., Tsarkov D.S.*  
SSC RF – IBMP RAS, Moscow

When designing advanced spacecraft oriented to interplanetary flights, special attention is paid to reducing the weight of products by increasing the proportion of polymeric materials used in the construction and equipment of ships characterized by high wear resistance, low density, resistance to aggressive media, specific strength and rigidity superior to all widely used structural polymeric and metallic materials. Such promising materials include polymer composite materials (PCM), implementation of which requires a sanitary, chemical and hygienic assessment aimed at reducing the risk to the health of the crew.

In the process of operation and aging of polymer matrix (PM) are released highly toxic volatile chemical compounds (VCCs) different classes of hazard, and their suitability is regulated by regulatory requirements.

The purpose of this study was Assessment of the composition in outgassing from PCM and determines dynamics of composition of outgassing from the investigated materials with aging for compliance with regulatory requirements GOST R 50804-95.

Climatic accelerated aging method comprises subjecting the PM climatic factors that lead to physical and chemical transformations in the PCM. Quantitative and Quality composition evolved

VCCs, which are products of physical and chemical degradation of the polymer is one of parameters for assessing the condition of working characteristics of the material and the possibility of its use in the spacecraft during use.

Sanitary and chemical research found that the concentration of the identified substances in the composition of the outgassing researched PCM were at one, two and three orders of magnitude below the values the maximum permissible concentration. Extremely toxic chemical compounds were not detected. With increasing exposure temperature up to 90 -100<sup>0</sup>C, an increase quantitative composition of outgassing components, but does not change the qualitative composition and similar substances are released when exposed to a temperature of 40<sup>0</sup>C with exposure duration of 14 days.

Research have shown that the composition of outgassing defines camping polymeric binder composition. However, the concentrations of these substances, depends on saturation binding in PCM and, therefore, has an influence on permissible volumes of use of these materials in the habitable compartments of the spacecraft.

This situation is confirmed by studies which demonstrated that PCM made on one carbon tape, but with a different type of binder, differ in chemical composition of gassing component. Thus, using a modified epoxy-polysulfone binder, in the outgassing is identified in 3 times more substances, in contrast to materials with a binder based on modified epoxy resins. This circumstance is important consider when deciding the possibility of using PCM in the living compartments of spacecraft for hygiene indicators. Studies have shown that 10 years she studied aging PCM not accompanying the advent of highly volatile organic compounds characteristic of binder degradation.

## **ЛЕЙЦИН-ЗАВИСИМАЯ АКТИВАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *IGF1* И IGF1-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ В ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ МИОБЛАСТАХ**

*Леднев Е.М., Кравченко И.В., Фуралев В.А., Лысенко Е.А., Попов Д.В.*

ГНЦ РФ-ИМБП РАН, г.Москва;  
ФГБУН «ФИЦ Биотехнологии РАН», г.Москва;  
ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова, г.Москва

У взрослого человека инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1) играет важную роль в регуляции гомеостаза соединительной, костной и мышечной тканей. Из экспериментов с участием грызунов (Pedroso J.A. et al., 2013; Teodoro G.F. et al., 2012; Pedrosa R.G. et al., 2013) известно, что прием лейцина приводит к увеличению содержания IGF1 на системном уровне. Целью данного исследования было изучить влияние лейцина на экспрессию гена *IGF1* и IGF1-зависимых генов в культуре человеческих миобластов. Известно, что в клеточных культурах HeLa, HEK293T и COS7 лейцин-зависимая активация комплекса mTORC1 может быть многократно усилена за счет прединкубации клеток с некоторыми аминокислотами, например, с аргинином (Dyachok J. et al., 2016). Мы предположили, что лейцин может активировать экспрессию гена *IGF1* и IGF1-зависимых генов в культуре человеческих миобластов, и это влияние может быть усилено за счет прединкубации миобластов с аргинином.

Миобласты были выделены из биопсической пробы, взятой из латеральной головки четырехглавой мышцы бедра (нетренированный молодой мужчина). Дифференциацию миобластов в миотубы (>70% содержания) инициировали сменой среды на DMEM с 2% содержанием лошадиной сыворотки (5-7 дней). В эксперименте 1 после старвации (раствор Кребса-Рингера, 1 ч) миотубы инкубировали в растворе Кребса-Рингера с аргинином (0,4 мМ, 30 мин), либо с лейцином (0,8 мМ, 30 мин), либо с аргинином, а затем с лейцином; в контрольном опыте клетки инкубировали в растворе Кребса-Рингера. Уровень фосфорилирования мишеней комплекса mTORC1 – 4EBP1<sup>Thr37/46</sup> и S6K1<sup>Thr389</sup> определяли с помощью Вестерн блота. В эксперименте 2 после старвации (раствор Кребса-Рингера, 20% человеческой плазмы, 1 ч) клетки инкубировались в среде с лейцином (0,8 мМ, 24 ч) или с

аргинином (0,4 мМ, 1 ч) и затем с лейцином (0,8 мМ, 24 ч); в контрольном опыте клетки продолжали инкубировать в растворе Кребса-Рингера с 20% содержанием плазмы (24 ч). Экспрессию гена *IGF1* и IGF1-зависимых генов *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *SREBF1*, *HMGCR*, *LOX* оценивали с помощью ПЦР в реальном времени.

Аргинин не повлиял на уровень фосфорилирования S6K1<sup>Thr389</sup>, тогда как лейцин увеличил его в 10 раз. Инкубация с аргинином и затем с лейцином увеличила этот показатель на несколько порядков. Аргинин также не оказал влияния на уровень фосфорилирования белка 4EBP1<sup>Thr37/46</sup>, тогда как лейцин привел к росту данного показателя в 3,5 раза, а последовательная инкубация с обеими аминокислотами увеличила его в 6 раз. Лейцин оказал слабое влияние на экспрессию *IGF1* и IGF1-зависимых генов. Однако инкубация миотуб в растворе с аргинином и затем с лейцином привела к росту экспрессии мРНК *IGF-1Ea* в 3 раза и *MGF* в 5,8 раз к увеличению экспрессии генов *COL1A1* в 3,6 раз, *COL5A1* в 1,4 раза, *SREBF1* в 1,4 раза, соответственно.

В нашей работе эффект двухступенчатой активации комплекса mTORC1 (сенситизация аргинином и последующая его активация лейцином) был показан на культуре миотуб человека. Аналогичные результаты были получены для лейцин-зависимой регуляции экспрессии генов: наиболее выраженная активация экспрессии гена *IGF1* и IGF1-зависимых генов наблюдалась при последовательной инкубации с аргинином и с лейцином. По-видимому, активация экспрессии гена *IGF1* и IGF1-зависимых генов, по аналогии с активацией комплекса mTORC1, может происходить в два этапа.

Работа выполнена в рамках Программы научных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» на 2018 – 2020 гг.

## ACTIVATION OF *IGF1* AND IGF1-DEPENDENT GENES IN HUMAN MYOBLASTS BY LEUCINE

*Lednev E.M., Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Lysenko E.A., Popov, D.V.*

IBMP of RAS, Moscow, Russia;

Research Center of Biotechnology RAS, Moscow, Russia;

FFM, Lomonosov MSU, Moscow, Russia

IGF1 plays an important role in the regulation of connective tissue, bone and muscle homeostasis in adults. Experiments in rodents demonstrated that leucine (Leu) intake increases the systemic IGF1 level (Teodoro G.F. et al., 2012; Pedrosa J.A. et al., 2013; Pedrosa R.G. et al., 2013). Studies in HeLa, HEK293T and COS7 cells revealed an obligate two-step mechanism of mTORC1 regulation: pre-activation (priming) by arginine (Arg) and then activation by Leu (Dyachok J. et al., 2016). The aim of our research was to investigate effect of Leu on expression of *IGF1* and IGF1-dependent genes in human myoblasts. We have assumed that Leu may regulate the gene expression in human myotubes, and this effect may be improved by pre-activation with Arg.

After starvation (1 h), myotubes were incubated with Arg (0,4 мМ, 30 min), or Leu (0,8 мМ, 30 min), or Arg and then Leu. The 4E-BP1<sup>Thr37/46</sup> and S6K1<sup>Thr389</sup> phosphorylation (targets of mTORC1) was evaluated by Western blot. In the second experiment, after starvation (1 h) myotubes were incubated with Leu (0,8 мМ, 24 h), or Arg (0,4 мМ, 24 h) and then Leu (24 h). Expression of *IGF1*, *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *SREBF1*, *HMGCR*, *LOX* genes was measured by qPCR.

Arg did not affect the S6K1<sup>Thr389</sup> or 4E-BP1<sup>Thr37/46</sup> phosphorylation, whereas Leu increased proteins phosphorylation (10-fold and 3,5-fold, respectively), but the most significant effect was related with consecutive Arg-Leu stimulation. Leu had little effect on the *IGF1* and IGF1-dependent genes expression. The consecutive Arg-Leu stimulation increased expression of *IGF-1Ea*, *MGF*, *COL1A1*, *COL5A1* and *SREBF1* (3-fold, 5,8-fold, 3,6-fold, 1,4-fold, and 1,4-fold, respectively).

Two-step mTORC1 activation by Arg and Leu in human myoblasts was shown. The same effect for leucine-stimulated gene expression was found: the consecutive Arg-Leu stimulation leads



to the most significant activation of genes expression. It means that expression of *IGF1* and IGF1-dependent genes is regulated by amino acids via a two-step mechanism.

The study was supported by the Science research program of RAS presidium «Fundamental research for biomedical technologies» for 2018-2020 yy.

## **ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ЯПОНСКИХ ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ РАЗНЫХ СПЕКТРАХ ОСВЕЩЕНИЯ**

*Литвин Е.Д.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

*В работе представлены результаты изучения влияния света различного спектра (желтый, синий, белый) на продуктивные качества японских перепелов (*Coturnix Coturnix Japonica*), как компонента биологических систем жизнеобеспечения (БСЖО).*

Целью работы было изучение воздействия желтого, синего, белого спектра света различной длины волны на яичную продуктивность, морфологические качества яиц и жизнеспособность птицы.

Одной из важнейших составляющих технологического процесса является освещение птичников.

Исследование влияния разных спектров освещения на продуктивность и физиологический статус японского перепела в настоящее время актуально, а задача разработки и выбора специальных источников излучения является первостепенной.

Эксперимент проводился на взрослых половозрелых перепелах. В возрасте 21 недели отобранные для эксперимента самки были поделены на три группы по 18 голов в каждой группе с различным спектром освещения:

1 гр. освещение желтым светом, длина волны  $570 <\lambda> 590$ ;

2 гр. освещение синим светом, длина волны  $450 <\lambda> 500$ ;

3 гр. контроль – широкого спектра.

Формировании групп в 3-недельном возрасте живая масса птиц во всех группах была примерно одинаковой, так как группы комплектовались птицей методом пар аналогов.

Длительность эксперимента составила около 8 месяцев.

По программе эксперимента за птицей велось наблюдение, осуществлялся ежемесячное взвешивание птицы, оценка яйценоскости, интенсивность яйцекладки, масса яйца и соотношение компонентов яйца.

*Результаты исследования.* За период исследований во всех группах сохранность перепелов была на высоком уровне. Таким образом, можно констатировать, что спектральный состав света не оказал влияния на жизнеспособность перепелов.

В возрастной период (21-32 недель) перепела уже закончили свой рост и развитие, и различия по живой массе могли быть связаны только с развитием органов размножения (яичника и яйцевода) и присутствием яйца в половых путях самки в момент взвешивания. Следует отметить, что живая масса перепелов контрольной группы во все возрастные периоды была выше живой массы самок опытных групп. Наибольшие различия наблюдались между перепелами контрольной группы и перепелами группы 2, где освещение перепелов было синим светом.

Ежедневный учет яйценоскости позволил получить данные о яичной продуктивности перепелов. С момента начала наблюдений (21-недельный возраст) во всех группах наблюдалось увеличение яйценоскости. Наибольшая яйценоскость у самок была в возрасте 21-25 недель в контрольной группе (группа 3) и во 2 группе (синий светофильтр). В возрасте 25-29 недель наибольшее количество яиц было получено от самок в группе 2, а в период 29-33 недели лучшими по яйценоскости оказались самки в группах 1 и 2. Анализируя данные по яйценоскости перепелов за весь период наблюдения (21-33 недели) можно увидеть, что

большая яйценоскость была у самок во 2 группе, содержащихся под воздействием света с использованием синего светофильтра.

Данные по интенсивности яйцекладки самок за период наблюдений во всех группах перепелов были на высоком уровне. Даже в период 21-25 недель самая низкая интенсивность яйцекладки в группе 1 была близка к 70%. При такой яйценоскости за год от несушки можно получить 253 яйца. Самая высокая интенсивность яйценоскости составляла 96,4% и наблюдалась в возрастной период 25-29 недель во второй группе, где перепела находились под воздействием света синего спектра.

Данные по качеству яиц, полученных от перепелов в возрасте 21 и 29 недель, имели одинаковую плотность и по качеству белка и желтка существенных различий по группам не обнаружено, индексы этих показателей были одинаковы.

Данные морфологического анализа яиц от перепелов 29-недельного возраста, показали, что по плотности, форме яиц, толщине скорлупы, относительной массе желтка и белка значительных изменений во всех группах не наблюдается.

Определенный интерес представляет развитие органов размножения у птиц, содержащихся при освещении светом разного спектра. Экспериментальные данные по развитию яичника и яйцевода у самок из контрольной и опытных групп, свидетельствуют о том, что размер яйцевода и его масса у самок из контрольной группы уступали перепелам опытных групп. Длина яйцевода у перепелов, находившихся под воздействием желтого и синего светофильтра, была практически одинаковой, тогда как контрольная группа несколько уступала по этому показателю.

Таким образом, полученные данные позволили сделать следующие выводы:

1. Использование для освещения взрослых самок перепелов желтого или синего светофильтра приводит к снижению живой массы птицы. Самки перепелов из контрольной группы превосходили по живой массе самок из опытных групп, соответственно, в контрольной группе - 233,3 – 215,0 г, в опытных группах - 224,5-188,3 г.

2. Наивысшая яйценоскость за три 4-недельных периода эксперимента была в группе перепелов, освещавшихся синим светом. На среднюю несушку за этот период было получено 71,1 яйцо, в группе с желтым светом – 67,0 и в контрольной группе – 68,3 яйца.

3. За счет большей яйценоскости и средней массы яиц от группы перепелов содержащихся с синим светом, на среднюю несушку было получено за три 4-недельных периода (84 дня)– 797,5 г яичной массы, от групп с желтым светом – 735,9 г и от контрольной группы – 776,0 г.

## **THE PRODUCTIVE QUALITIES OF THE JAPANESE QUAILS USING LIGHT IN VARIOUS SPECTRA**

*Litvin E.D.*

SSC RF - IBMP RAS, Moscow

The article presents the results of studying the effect of light in various spectra (yellow, blue and white) on the productive qualities of Japanese quails (*Coturnix Cotunix Japonica*) as a component of biological life support systems (BSGO).

The aim of the work was to study the effect of a yellow, blue, white light spectrum of different wavelengths on egg production and morphological quality of eggs and the viability of a bird.

One of the most important components of the technological process is lighting of poultry houses.

Investigation of the influence in different illumination spectra on the productivity and physiological status of the Japanese quail is currently relevant, and the main task of developing and selecting special radiation sources is very paramount.

The experiment was conducted on adult mature quails. At the age of 21 weeks, the females which selected for the experiment were divided into three groups of 18 animals in each group with a

different spectrum of illumination:

- 1gr. illumination with yellow light, wavelength 570 < $\lambda$ > 590;
- 2gr. illumination with blue light, wavelength 450 < $\lambda$ > 500;
- 3gr. control - a wide range.

Formation of groups at 3 weeks of age the live weight of birds in all groups was approximately the same, as the groups were equipped with a bird by the method of pairs of analogues.

The duration of the experiment was about 8 months.

According to the experimental program, the bird was monitored and monthly bird weighing, egg production evaluated, laying intensity, weight and components ratio of eggs were carried out. Results of the study. During the period of research in all groups, the safety of quails was at a high level. Thus, it can be stated that the spectral composition of light did not affect the viability of quails.

At the age of 21-32 weeks, the quail has already completed its growth, upgrowth and differences in live weight could only be related to the extension of the reproductive organs (ovary and oviduct) and the presence of the egg in the female genital tract at the time of weighing. It should be noted that the live weight of the quails of the control group in all age periods was higher than the live weight of the females of the experimental groups. The greatest differences were observed between the quail of the control group and quails of group 2, where the illumination of the quail was blue light.

Daily accounting of egg production allowed to obtain data on the egg productivity of quails. Since the beginning of observations (21-week-old age), an increase in egg production has been observed in all groups. The greatest egg lay in females was at the age of 21-25 weeks in the control group (group 3) and in the 2nd group (blue filter). At the age of 25-29 weeks, the greatest number of eggs was obtained from females in group 2, and in the period of 29-33 weeks the best in laying were the females in groups 1 and 2. Analyzing the data on the egg production of quail during the whole observation period (21-33 weeks) it can be seen that a large egg lay was in females in group 2, exposed to light using a blue filter.

The data on the intensity of oviposition of females during the observation period in all quail groups were at a high level. Even during the period of 21-25 weeks, the lowest egg-laying rate in group 1 was close to 70%. With such egg laying, it is possible to get 253 eggs per year from the hen. The highest intensity of egg production was 96.4% and was observed in the 25-29 week age group in the second group, where the quail was exposed to the light of the blue spectrum.

Data on the quality of eggs obtained from quails at the age of 21 and 29 weeks had the same density and no significant differences were observed in the quality of the protein and yolk in the group, the indices of these indices were the same.

The data of the morphological analysis of eggs from quails of the 29-week-old age showed that no significant changes are observed in all groups in density, shape of eggs, shell thickness, relative mass of yolk and protein in all groups.

Of particular interest is the development of reproductive organs in birds kept under illumination of different spectra. Experimental data on the development of the ovary and oviduct in females from the control and experimental groups, suggest that the size of the oviduct and its mass in females from the control group were inferior to quails of experimental groups. The length of the oviduct in the quails that were exposed to the yellow and blue filter was almost the same, while the control group was somewhat inferior in this indicator.

Thus, the obtained data allowed to draw the following conclusions:

1. The use of a quail of a yellow or blue filter to illuminate adult females results in a decrease in the live weight of the bird. Female quails from the control group exceeded the live weight of females from the experimental groups, respectively, in the control group - 233.3 - 215.0 g, in the experimental groups - 224.5-188.3 g.

2. The highest egg production in the three 4-week periods of the experiment was in a group of quails illuminated with blue light. The average layer for this period was 71.1 eggs, in the group with

yellow light - 67.0 and in the control group - 68.3 eggs.

3. Due to the greater egg-laying and the average weight of eggs from the group of quails contained with blue light, the average layer was obtained for three 4-week periods (84 days) - 797.5 g of egg mass, from groups with yellow light - 735.9 g and from the control group - 776.0 g.

## **СОСТОЯНИЕ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО ОБМЕНА У УЧАСТНИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТА С ИЗОЛЯЦИЕЙ В ГЕРМООБЪЕМЕ “СИРИУС 17”**

*Маркина Е.А.*

ГНЦ РФ ИМБП РАН, Москва

Длительное нахождение человека в условиях орбитального космического полета приводит к формированию нового уровня гомеостаза, оптимального для данной среды обитания и характеризующегося сдвигами различных звеньев метаболизма (Газенко О.Г., Егоров А.Д., 1984). В частности, отмечены изменения холестерина обмена, отражающие активацию атерогенетических процессов за счет неблагоприятного перераспределения фракций холестерина (Markin A., Strogonova L., Balashov O. et al., 1998). В то же время, повышение в крови концентрации холестерина и его атерогенных фракций коррелирует с заболеваемостью и смертностью от ишемической болезни сердца (Комиссаренко И.А., 2014). Сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной дисквалификации космонавтов и основной причиной их смерти (Мухамедиева Л.Н., Маркина Е.А., Журавлева О.А. и др., 2018).

Очевидно, что в остром периоде адаптации к условиям полета, метаболические реакции организма определяют дальнейшее состояние обмена веществ на протяжении экспедиции. Несмотря на это, наиболее ранние биохимические исследования, проводившиеся в рамках программы бортового медицинского контроля, были проведены только на 25-30 сутки орбитального полета (Ничипорук И.А., 2011; Маркин А.А., Журавлева О.А., Кузичкин Д.С., 2013). Нет сомнений, что детальное изучение метаболических реакций человека в остром периоде адаптации к условиям космического полета возможно только в наземных модельных экспериментах.

В экспериментах со 120-суточной антиортостатической гипокинезией, моделью, позволяющей воспроизвести физиологические эффекты действия невесомости (Коваленко Е.А., 1980), уже в конце первой недели воздействия у испытуемых обоего пола наблюдались неблагоприятные сдвиги холестерина обмена (Мухамедиева Л.Н., Маркина Е.А., Журавлева О.А. и др., 2018).

Модель с изоляцией в гермообъеме позволяет воспроизвести многие факторы космического полета, кроме невесомости, и смоделировать основные этапы экспедиции к Луне и Марсу (Stuster J., 2005). В экспериментах с изоляцией длительностью от 105 до 240 суток показано, что гиподинамия, влияние факторов гермообъема, таких как измененный газовый состав среды, давление, влажность, температура, являются причиной сдвигов обмена веществ сходных с теми, что наблюдаются в реальном космическом полете (Маркин А.А., Журавлева О.А., Моруков Б.В., 2010). Среди них наблюдаются изменения обмена холестерина с преобладанием содержания в крови атерогенных фракций липопротеидов.

У членов экипажа женского эксперимента с 8-суточной изоляцией в гермообъеме “Луна 2015”, обнаружены признаки изменений холестерина обмена [Маркин А.А., Журавлева О.А., Кузичкин Д.С., 2016].

С учетом результатов проведенных ранее исследований, изучение особенностей обмена холестерина при адаптации человека к условиям космического полета представляет несомненный интерес. Целью данной работы было изучение показателей холестерина обмена у испытуемых-добровольцев в динамике эксперимента с 17-суточной изоляцией в гермообъеме.

**Материалы и методы.** В эксперименте с 17-суточной изоляцией в гермообъеме, проведенном на базе наземного экспериментального комплекса Института медико-биологических проблем, обследовали экипаж, состоящий шести человек обоего пола возрасте от 27 до 43 лет. Взятие венозной крови проводилось утром, натощак за 7 суток до начала эксперимента, на 7 и 14 сутки изоляции, а также на 2 и 7 сутки периода восстановления (ПВ).

В сыворотке крови определяли концентрацию общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) и триглицеридов (ТГ) с использованием стандартных коммерческих наборов производства фирмы “DiaSys”, ФРГ. Концентрацию холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), а также величину индекса атерогенности (ИА) рассчитывали, используя значения вышеперечисленных показателей (Камышников В.С., 2009). Измерения проводили на биохимическом анализаторе “TargaBT 3000”, BiotecnicaInstruments, Италия. Статистическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики с применением критерия Уилкоксона (Реброва О.Ю., 2006).

**Результаты и обсуждение.** Значения медиан всех исследованных показателей находились внутри диапазона физиологической нормы, единой для мужчин и женщин (холестерин 2,8-5,2 ммоль/л; холестерин ЛПВП >0,91 ммоль/л; холестерин ЛПНП <4,0 ммоль/л; холестерин ЛПОНП 0,10-1,35 ммоль/л; триглицериды 0,55-2,30 ммоль/л; ИА 2,20-3,50 (HeilW., SchuckliesF., ZawtaV., 1994). В отдельных единичных случаях величины параметров холестеринного обмена выходили за границы референтных величин.

Значения концентраций холестерина в крови испытуемых на протяжении изоляции повышались на 7-13%, , однако все изменения были недостоверными. На 7 сутки ПВ повышение холестерина стало достоверно отличаться от фонового уровня, однако всего на 4%. Содержание холестерина ЛПВП сколько-нибудь заметно не отличалось от фонового, однако на вторые сутки ПВ стала проследиваться тенденция к его увеличению на 8%, а на седьмые – к достоверному повышению на 10%. Принимая во внимание динамику уровня общего холестерина, можно полагать, что увеличение содержания антиатерогенной фракции является компенсаторным.

Уровень атерогенной фракции холестерина – холестерина ЛПНП достоверно не менялся во все сроки обследования, однако находился в общем тренде предыдущих двух показателей: повышение в ходе изоляции и снижение в периоде восстановления. Аналогично изменялась концентрация двух других компонентов атерогенной фракции липидов – холестерина ЛПОНП и ТГ, но на седьмые сутки изоляции повышение составило 33% и сохранялось на этом уровне вплоть до 14 суток эксперимента. Известно, что увеличение содержания ТГ является одним из компонентов метаболической реакции организма на стрессовое воздействие достаточной силы (Камышников В.С., 2009) и связано с их мобилизацией из жировых депо. В динамике ПВ отмечался тренд к снижению значений этих двух показателей.

Динамика индекса атерогенности, как интегрального показателя, отражает тенденции, наблюдавшиеся в ходе эксперимента. К 14 суткам изоляции величина ИА имела тенденцию к возрастанию, а на 7 сутки ПВ его значение понижалось вплоть до фонового уровня.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что при моделировании космического полета путем изоляции испытуемых в гермообъеме, кратковременное воздействие продолжительностью до 17 суток не приводит к развитию сколько-нибудь значимых изменений холестеринного обмена. Для решения вопроса о характере метаболических реакций в острой стадии адаптации к условиям полета, по всей видимости, следует использовать модели, создающие перераспределение жидких сред организма и разгрузку антигравитационных мышц – “сухую” иммерсию (EpsteinM.,1976) и антиортостатическую гипокинезию (КоваленкоЕ.А., 1980).

# THE STATE OF CHOLESTEROL METABOLISM IN PARTICIPANTS OF THE EXPERIMENT WITH ISOLATION IN HERMETIC CHAMBER “SIRIUS 17”

*E.A. Markina*

SSC RF IMBP RAS, Moscow, Russia

Long-term presence of a person in conditions of orbital space flight leads to the formation of a new level of homeostasis, optimal for a given habitat and characterized by shifts in various parts of the metabolism (Gazenko O.G., Egorov A.D., 1984). In particular, changes in cholesterol metabolism, reflecting the activation of atherogenic processes due to unfavorable redistribution of cholesterol fractions, were noted (Markin A., Strogonova L., Balashov O. et al., 1998). At the same time, the increase in the concentration of cholesterol and its atherogenic fractions in the blood correlates with morbidity and mortality from coronary heart disease (Komissarenko I.A., 2014). Cardiovascular diseases are the leading cause of cosmonauts disqualification and the main cause of their death (Moukhamedieva L.N., Markina A.A., Zhuravleva O.A., 2018).

It is obvious that in the acute period of adaptation to flight conditions, metabolic reactions of the body determine the further state of metabolism during the expedition. Despite this, the earliest biochemical studies carried out under the on-board medical control program took place only for 25-30 days of orbital flight (Nichiporuk I.A., 2011; Markin A.A., Zhuravleva O.A., Kuzichkin D.S., 2013). There is no doubt that a detailed study of metabolic reactions in the acute period of adaptation to space flight conditions is only possible in ground-based simulation experiments.

In experiments with the 120-day antiorthostatic hypokinesia, as a model that can simulate the physiological effects of microgravity (Kovalenko E. A., 1980), at the end of the first week of exposure, the team of both sexes was observed unfavorable changes of cholesterol metabolism (Moukhamedieva L.N., Markina A.A., Zhuravleva O.A., 2018).

A model with isolation in a hermetic chamber allows to simulate many factors of space flight, except for weightlessness, and to recreate the main stages of the expedition to the Moon and Mars (Stuster J., 2005). In experiments with isolation lasting from 105 to 240 days, it is shown that hypodynamia, the influence of factors of hermetic volume, such as changed gas composition of the medium, pressure, humidity, temperature, are the cause of metabolic shifts similar to those observed in real space flight (Markin A.A., Zhuravleva O.A., Morukov B.V., 2010). Among them, there are changes in cholesterol metabolism with a predominance of blood levels of atherogenic fractions of lipoproteins.

The crew members of the women's experiment with 8-day isolation in the “Luna 2015”, found signs of changes in cholesterol metabolism (Markin A.A., Zhuravleva O.A., Kuzichkin D.S., 2016).

Taking into account the results of earlier studies, the study of the features of cholesterol metabolism in adapting humans to space flight conditions is of great interest. The aim of this work was to study the cholesterol metabolism in volunteers in the dynamics of the experiment with 17-day isolation in the hermetic chamber.

**Materials and methods.** In an experiment with 17-day isolation in the hermetic chamber, conducted on the basis of the Ground experimental complex of the Institute of biomedical problems, examined the crew consisting of six people of both sexes aged from 27 to 43 years. Capture of venous blood was carried out in the morning, on an empty stomach for 7 days prior to experiment, on 7 and 14 days of isolation, and also on 2 and 7 days of the recovery period (RP).

Serum concentrations of total cholesterol, high density lipoprotein (HDL) cholesterol, and triglycerides (TG) were determined using standard commercial kits manufactured by “DiaSys”, Germany. The concentration of low density lipoprotein (LDL) cholesterol, very low density lipoprotein (VLDL) cholesterol, and the value of the atherogenicity index (AI) were calculated using the values of the above indices (Kamuishnikov V.S., 2009).

**Results and discussion.** The median values of all the studied parameters were within the range of the physiological norm unified for men and women (cholesterol 2.8-5.2 mmol / L, HDL cholesterol > 0.91 mmol / L, LDL cholesterol <4.0 mmol / L, cholesterol VLDL 0.10-1.35 mmol / L,

triglycerides 0.55-2.30 mmol / l, and IA 2.20-3.50 (Heil W., Schucklies F., Zawta B., 1994). In single cases, the values of the parameters of the cholesterol metabolism exceeded the boundaries of the reference values.

The values of cholesterol concentrations in the blood of volunteers throughout the isolation increased by 7-13%, but all the changes were unreliable. On the 7th day of RP, the increase in cholesterol became significantly different from the background level, however, only 4%. The content of HDL cholesterol did not differ much from the background one, but on the second day of the RP, the tendency to increase it by 8%, and on the seventh - to a significant increase of 10%. Taking into account the dynamics of the total cholesterol level, it can be assumed that an increase in the content of the anti-atherogenic fraction is compensatory.

The level of the atherogenic fraction of cholesterol-LDL cholesterol did not change reliably during all periods of the examination, however it was in the general trend of the previous two indices: increase during isolation and decrease in the recovery period. Similarly, the concentration of the other two components of the atherogenic lipid fraction – LDL cholesterol and TG, but on the seventh day of isolation increased by 33% and remained at this level until 14 days of the experiment. It is known that the increase in TG content is one of the metabolic reaction components of the body to the stress effect of sufficient force (Kamyshnikov V. S., 2009) and is connected with their mobilization from fatty depots. The trend towards a decrease in the values of these two indices was observed in the dynamics of the RP.

Analyzing the obtained data, it can be concluded that when modeling a space flight by isolating volunteers in a hermetic volume, a short-term exposure of up to 17 days does not lead to the development of any significant changes in the cholesterol metabolism. For the solution of a question of the nature of metabolic reactions in an acute stage of adaptation to flight conditions, most likely, it is necessary to use the models creating redistribution of body fluids and unloading of anti-gravitational muscles – a "dry" immersion (Epstein M., 1976) and anti-orthostatic hypokinesia (Kovalenko E.A., 1980).

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРИЛЛЯРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (ММСК) INVITRO**

*Матвеева Д.К.1,2, Живодерников И.В.2*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия; 2 - Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

В настоящее время мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) широко изучаются как перспективный источник клеток для регенеративной медицины. Известно, что свойства ММСК напрямую зависят от факторов микроокружения, поддерживающих их способность к самообновлению, мультилинейному потенциалу дифференцировки и иммуногенным свойствам. Одним из важных компонентов стромально-васкулярной ниши ММСК является внеклеточный матрикс (ВКМ). Молекулы матрикса соединены в строго определенную трехмерную сеть, которая модулирует адгезию, миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживаемость клеток, а также функционирует как резервуар для факторов роста, делая их временно нерастворимыми. Стоит отметить, что ВКМ - это динамичная молекулярная структура, подвергающаяся постоянной реорганизации при взаимодействии с клеточными и неклеточными факторами микроокружения, среди которых важную роль играет уровень кислорода. Известно, что в организме клетки находятся при пониженном по сравнению с атмосферным содержанием кислорода – в «физиологической» гипоксии. Адаптация клеток к таким условиям происходит посредством различных молекулярных механизмов, регулирующих экспрессию генов, продукты которых участвуют в различных биологических процессах, в том числе и ремоделировании матрикса.

Для исследования компонентов фибриллярного внеклеточного матрикса ММСК из жировой ткани человека культивировали при физиологическом (5%) и для сравнения атмосферном (20%) уровне кислорода в стандартной концентрации клеток (5000/см<sup>2</sup>) - 3 недели и высокой (15000/см<sup>2</sup>) - 2 недели. Для стимулирования продукции компонентов матрикса добавляли в среду аскорбат натрия в концентрации 50 мкг/мл. Децеллюляризованные препараты внеклеточного матрикса ММСК получали с помощью обработки раствором детергента (0,5% Triton-X100 в PBS, содержащего 20 mM NH<sub>4</sub>OH) в 37 °C 5 мин. Для компонентов матрикса применяли методы гистологического окрашивания SiriusRed, иммуноцитохимии и сканирующей электронной микроскопии.

Предварительный анализ экспрессии матрикс-ассоциированных генов ММСК, культивируемых при различном содержании кислорода, показал значимые различия между двумя группами клеток. Однако микроскопически морфологические отличия внеклеточного матрикса были незначительными. Ультраструктурный анализ внеклеточного матрикса с помощью сканирующего электронного микроскопа на клеточных и децеллюляризованных препаратах позволил выявить сеть волокон матрикса, занимающего пространство между клетками и на их поверхности. В ходе иммуноцитохимического и гистологического анализа выявлены основные фибриллярные компоненты ВКМ - фибронектин и коллаген. Большая часть коллагена I типа локализуется внутриклеточно и при иммуноцитохимическом окрашивании выявляется точно в околоядерной зоне, тогда как фибронектин образует сеть пересекающихся длинных волокон, располагающихся во внеклеточном пространстве.

Таким образом, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, культивируемые в условиях физиологической гипоксии и при нормальном содержании кислорода, продуцируют хорошо выраженный фибриллярный внеклеточный матрикс. Это может представлять интерес с точки зрения изучения влияния матрикса ММСК на активность других типов клеток, а также может быть применимо в регенеративной медицине, как источник биосовместимых покрытий для получения скаффолдов.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН № 43П.

## **THE CHARACTERISTICS OF FIBRILLAR EXTRACELLULAR MATRIX OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN VITRO**

*Matveeva D.K.1,2, Zhivodernikov I.V.2*

1- Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; 2- IBMP RAS, Moscow, Russia

At present, multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) are extensively used as a perspective source of cells in regenerative medicine. It is known that the properties and functional activity of MMSCs are directly dependent on the microenvironment, supporting their ability to self-renewal, multilinear potential to differentiation and immunogenic qualities. Extracellular matrix (ECM) is an important component of the stromal-vascular niche of MMSCs. Matrix molecules form a strictly defined three-dimensional network that supports adhesion, migration, proliferation, differentiation and survival of cells, and also functions as a reservoir of growth factors making them temporarily insoluble. It is worth noting that the ECM is a dynamic molecular structure that undergoes a constant restructuring upon interaction with cellular and non-cellular factors of the microenvironment, among which an important role is played by the oxygen level. It has been established that stem cells for numerous organs are located in the regions with a reduced oxygen level relative to atmospheric in the «physiological» hypoxia. Adaptation of cells to such conditions occurs through various molecular mechanisms regulating the expression of genes, whose products are involved in various biological processes, including matrix remodeling.

In order to investigate components of fibrillar extracellular matrix human adipose tissue MMSC were cultivated under physiological (5%) and standard (20%) oxygen levels. Planting density was 5000/ cm<sup>2</sup> and 15000 cm<sup>2</sup> during 3 and 2 weeks, respectively. To stimulate a production of matrix components 50 ug/mL of sodium ascorbate was added in the medium. Decellularization was provided with 0,5% Triton-X100 in PBS containing 20 mM NH<sub>4</sub>OH at 37°C,



5 min. The characteristics and structure of matrix components were analyzed by conventional histology (Sirius Red), immunocytochemistry and scanning electron microscopy (SEM).

The data of the whole-genome array of ECM gene expression revealed a significant difference between MMSCs under different oxygen levels, while morphological differences were negligible. The SEM analysis of the extracellular matrix on intact and cell-free preparations revealed ECM fibrillar network that fills on MMSC surface and in the gaps between cells. The histological staining and immunocytochemistry helped to identify fibrillar components of ECM. The immunocytochemical analysis revealed that type I collagen was localized mostly intracellularly with fragmented fibers on cell surfaces, while fibronectin formed a network of intersected long fibres and was localized extracellularly.

Therefore, MMSCs, cultivated at «physiological» hypoxia as well as at standard laboratory oxygen levels, produce a significant amount of fibrillar ECM. The further analysis of MMSC matrix effects of other cell types at 'physiological' hypoxia is a promising area of research. Moreover, extracellular matrix is a perspective source for biocompatible materials scaffold coatings in regenerative medicine.

The research was supported in part with *Program №43* of the Presidium of the *Russian Academy of Science*.

## **ВЛИЯНИЕ АЭРОБНОЙ ТРЕНИРОВКИ НА БАЗАЛЬНЫЙ ТРАНСКРИПТОМ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ ЧЕЛОВЕКА**

*Махновский П.А.<sup>1,2</sup>, Лысенко Е.А.<sup>1,2</sup>, Курочкина Н.С.<sup>1</sup>, Попов Д.В.<sup>1,2</sup>*

1 ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

2 МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Регулярные упражнения (тренировка) вызывают изменение экспрессии специфических белков в скелетных мышцах, которые улучшают специфические физиологические функции. Адаптация к тренировке связана с кратковременными изменениями экспрессии генов после каждого упражнения. Однако тренировка может повлиять на экспрессию многих генов в базальном состоянии (через несколько дней после последней нагрузки). Важно отметить, что изменения в транскриптом скелетных мышц обычно оцениваются после однократного упражнения, в то время как влияние тренировки на изменение базального транскриптома не изучено. Целью нашего исследования было изучение влияния аэробной тренировки на изменения базального транскриптома в скелетной мышце человека. Транскриптом в базальных условиях оценивали до и после тренировки (8-недельная тренировка, 5 раз в нед., 1 ч в день) в биопсических пробах, взятых из наружной головки четырехглавой мышцы бедра (*m. vastuslateralis*) у 7 мужчин. Секвенирование РНК выполняли с помощью платформы NextSeq 500. Как и ожидалось, 8-недельная тренировка повысила аэробную работоспособность, скорость АДФ-зависимого митохондриального дыхания в мышечных волокнах и содержание белков, входящих в состав митохондриальных комплексов I – V. Наши предыдущие исследования показали, что однократное упражнение влияет на экспрессию нескольких сотен генов. Неожиданно, в данном исследовании, тренировка изменила экспрессию более чем 2000 генов в базальных условиях (через 48 часов после последнего упражнения), причем половина этих генов снизило свою экспрессию. Для генов, кодирующие митохондриальные белки, протеинкиназы и регуляторы транскрипции, обнаружено как снижение, так и повышение экспрессии, в то время как гены, кодирующие цитокины и факторы роста, были в основном активированы. При этом гены, увеличившие и снизившие экспрессию, были связаны с различными биологическими процессами. В заключение, адаптация мышц человека к аэробной тренировке ассоциируется не только с кратковременными изменениями экспрессии генов после каждого отдельного упражнения, но и с выраженными изменениями экспрессии генов в базальном состоянии.

Работа поддержана грантом РФ (14-15-00768).

## EFFECT OF AEROBIC TRAINING ON BASAL TRANSCRIPTOME IN HUMAN SKELETAL MUSCLE

*Makhnovskii P.A.*<sup>1,2</sup>, *Lysenko E.A.*<sup>1,2</sup>, *Kurochkina N.S.*<sup>1</sup>, *Popov D.V.*<sup>1,2</sup>,

1 Institute of Biomedical problems of the RAS, Moscow, Russia

2 Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Regular exercise (exercise training) leads to expression of specific proteins in skeletal muscle, which improve its physiological function. The adaptation to training is related to transitory changes in gene expression after each acute exercise. However, exercise training may affect the expression of many genes during the basal conditions (several days after the last exercise session). Importantly, exerciserelated changes in skeletal muscle transcriptome usually are evaluated before and after acute exercise, while training-induced transcriptome changes are not clear. The goal of our study was to investigate the effect of aerobic training on changes in the transcriptome in the basal conditions in human skeletal muscle. The transcriptome in the basal conditions was evaluated prior to and after exercise training (8 wk cycling training, 5/wk, 1 h/day) in biopsy samples from m. vastus lateralis of 7 males. RNA-seq was performed by NextSeq 500. As expected 8 wk training increased endurance performance, ADPstimulated mitochondrial respiration in muscle fibers, and content of proteins related to mitochondrial complexes I – V. Our previous studies showed that acute exercise affects the expression of several hundred genes. Surprisingly, here, exercise training changed the expression of 2000 genes in the basal conditions (48 h after the last exercise) and a half of these genes were downregulated. Many genes, encoding mitochondrial proteins, protein kinases, and transcriptional regulators, were both up- and down-regulated, while genes, encoding cytokines and growth factors, were mainly up-regulated. These up- and down-regulated genes were associated with different biological process. In conclusion, the adaptation of human muscles to aerobic training associates not only with the transitory changes in gene expression after each exercise session, but also with the marked changes in gene expression in the basal conditions.

This work was supported by the Russian Science Foundation (14-15-00768).

## РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА МИОГЕНИНА И ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ 4/5 В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ЕЗ-ЛИГАЗ MURF1 И MAFBХ ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ M. SOLEUS КРЫСЫ

*Мочалова Е.П., Белова С.П*

ГНЦ РФ — ИМБП РАН, Москва

e-mail: mochalova\_ekaterina@lenta.ru

Научный руководитель - Немировская Т.Л., д.б.н.

Функциональная разгрузка скелетных мышц приводит к их прогрессирующей атрофии. Катаболические процессы в мышце в значительной степени обусловлены работой убиквитин-протеасомной системы, основными компонентами которой являются ЕЗ-убиквитинлигазы, в частности MuRF1 и MAFbx [1]. Мы исследовали триггерные механизмы, запускающие экспрессию ЕЗ-лигаз при разгрузке мышц. Moresi с соавторами показали, что сигнальный каскад гистондеацетилаз 4 и 5 (HDAC 4 и 5) может регулировать экспрессию MuRF1 и MAFbx через активацию транскрипционного фактора миогенина при денервации [2]. Мы впервые исследовали вопрос, регулируют ли HDAC 4 и 5 экспрессию ЕЗ-лигаз на ранних этапах функциональной разгрузки мышц, и принимает ли транскрипционный фактор миогенин в этом участие. Для проверки этой гипотезы мы использовали модель вывешивания [3] и ингибировали HDAC 4/5 трихостатином А. 24 крысы Вистар были разделены на три группы по 8 крыс: контроль (С), 3х-дневное вывешивание с введением трихостатина А (HST), и вывешивание (HS) с плацебо. После 3 суток вывешивания в группе HST обнаружено существенное снижение содержания HDAC 4 в ядерной фракции (в отличие от группы HS) и

увеличение в цитоплазматической (относительно контроля ( $p < 0,05$ )). Напротив, уровень HDAC 5 в ядерной фракции HST гр. не отличался от гр. Контроля, тогда как в гр. HS он был существенно снижен ( $p < 0,05$ ). Уровень миогенина в группе HST не отличался от группы контроля, тогда в группе HS -значительно его превышал ( $p < 0,05$ ).

Экспрессия мРНК MAFbx в группе HST не отличалась от контроля, а в группе HS была существенно повышена ( $p < 0,05$ ). Экспрессия мРНК E3-лигазы MuRF1 была повышена в обеих вывешенных группах относительно группы контроля (вне зависимости от введения препарата). Вывод: Транскрипционный фактор миогенин на ранних сроках функциональной разгрузки мышц регулирует экспрессию E3-лигазы MAFbx. Ингибирование HDAC 4 и 5 не влияет на регуляцию экспрессии E3-лигазы MuRF1. Работа поддержана грантом РФФИ №17-04-01838

Источники и литература:

1. Bodine S.C., Baehr L.M. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitinligases MuRF1 and MAFbx/atrogin-1 // *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2014. № 307(6). P. 469-484.
2. Moresi V., Williams A.H., Meadows E. Myogenin and Class II HDACs Control Neurogenic Muscle Atrophy by Inducing E3 Ubiquitin Ligases // *Cell*. 2010. № 143. P.35-45
3. Morey-Holton E.R., Globus R.K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects // *J. Appl. Physiol.* 2002. No. 92. P.1367-1377.

### **THE ROLE OF MYOGENIN AND CLASS II HDACS IN THE REGULATION OF E3-LIGASES MURF-1 AND MAFBX EXPRESSION IN RAT SOLEUS AT THE EARLY STAGE OF DISUSE ATROPHY**

*Mochalova E.P., Belova S.P., Nemirovskaya T.L.*

Muscle unloading lead to its atrophy development. MuRF-1 and MAFbx E3-ligases expression is increasing under this condition. Moresi et al. have shown that the histone deacetylases 4 and 5 signaling cascade (HDAC4/5) may regulate the expression of MuRF1 and MAFbx through the myogenin activation in time of muscle's denervation. We hypothesized that the HDAC 4 and 5 may regulates of E3 ligases expression in the early stages of muscle unloading, and the myogenin may be involve in this process. We checked this hypothesis by trichostatin A (inhibitor of HDACs) administration in male Wistar rats in time of 3-day hindlimb suspension. 24 animals were divided into 3 groups (n=8 in each): C-control, HST-hindlimb suspension with Trichostatin A, or placebo (HS group) administration. HDAC4 content in soleus of HST group have decreased in nuclear fraction (in contrast to HS group) and increased in cytoplasmic fraction (vs control group ( $p < 0.05$ )).

On the contrary, nuclear content of HDAC 5 in the HST group didn't differ from those of Control group, while this parameter in HS group was found to be significantly reduced ( $p < 0.05$ ). Myogenin content in the HST group did not differ from that of the control group, while its amount in the HS group was significantly higher ( $p < 0.05$ ). As for E3-lygases expression, MAFbx level in the HST group did not differ from those of control, while in the HS group it was significantly increased ( $p < 0.05$ ). The expression of MuRF1 was increased in both suspended groups relative to the control ( $p < 0.05$ ). It could be concluded that myogenin regulates the expression of MAFbx E3 ligase in the early stages of unloading. Inhibition of HDAC 4 and 5 does not affect on the regulation of MuRF1 E3 ligase expression. This work was supported by RFBR (grant № 17-04-01838).

# ИССЛЕДОВАНИЕ БАРОРЕФЛЕКТОРНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА С ПОМОЩЬЮ ИНДЕКСА ФАЗОВОЙ СИНХРОНИЗАЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И ПУЛЬСОВОГО ИНТЕРВАЛА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

*Негуляев В.О.*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
Биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, Москва*

Изучение спонтанных колебаний артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений или пульсового интервала (ПИ) является актуальной задачей современной физиологии и медицины. Особый интерес представляют колебания, отражающие работу барорефлекса - одного из важнейших механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы. Сигналы от барорецепторов модулируют влияния автономной нервной системы на тонус сосудов и работу сердца, что приводит к компенсаторному изменению АД. Поскольку эта реакция развивается с некоторой задержкой, в барорефлекторном контуре возникают колебания, которые называют волнами Майера. Частота волн Майера у крыс составляет ~ 0,4 Гц, а у людей ~ 0,1 Гц.

В большинстве работ для сопоставления колебаний АД и ПИ используют методы спектрального и кросс-спектрального анализа и уделяют внимание, главным образом, анализу амплитудных характеристик колебаний. Вместе с тем известно, что фазовые показатели колебательной системы являются более чувствительными к внешним воздействиям, чем ее амплитудные характеристики, поэтому изучение именно фазовых соотношений показателей гемодинамики позволит понять тонкие особенности их регуляторного взаимовлияния. Для оценки фазовых соотношений АД и ПИ при кросс-спектральном анализе используют показатель когерентности. Кроме того, с этой целью может быть использован индекс фазовой синхронизации (ИФС), однако вопрос об информативности ИФС как показателя функционирования артериального барорефлекса пока изучен недостаточно.

Целью данной работы являлось экспериментальное обоснование использования ИФС АД и ПИ для оценки барорефлекторной регуляции сердечного ритма. Были поставлены следующие задачи: 1) сопоставить результаты оценки барорефлекторных колебаний с помощью ИФС и когерентности в стационарных условиях; 2) проследить динамику изменения взаимосвязи барорефлекторных колебаний во время переходных процессов; 3) оценить функционирование барорефлекса у людей, используя ИФС.

В экспериментах на крысах Вистар (n=25) регистрацию АД и ПИ проводили в бодрствующем состоянии с помощью вживленного в бедренную артерию катетера. Чтобы проследить динамику изменения барорефлекторных колебаний во время кровопотери, у крыс после фоновой записи забирали кровь (20 мл/кг в течение 30 минут) через катетер в сонной артерии. В экспериментах с участием молодых практически здоровых испытуемых-добровольцев (n=10) проводили непрерывное измерение АД (методом разгруженной артерии) и ЭКГ. После 15-минутной регистрации в положении лежа проводили пассивный ортостатический тест (переводили ортостол в положение 60° по отношению к горизонтальному) и проводили измерения еще в течение 15 минут.

Было показано, что ИФС информативно отражает фазовые соотношения АД и ПИ на частоте волн Майера. По экспериментальным записям АД и ПИ длительностью 20-30 минут были вычислены спектры ИФС для группы экспериментальных крыс, на которых был виден отчетливый пик на частоте ~ 0.4 Гц, в этой же частотной области наблюдался пик на спектре когерентности. Для сравнения результатов оценки взаимосвязи АД и ПИ с помощью ИФС и кросс-спектрального анализа мы сопоставили значения ИФС и когерентности. Оказалось, что эти показатели хорошо коррелируют между собой (коэффициент корреляции Пирсона

$r=0.920$ ,  $p<0.0001$ ), что говорит о применимости ИФС для оценки взаимосвязи барорефлекторных колебаний показателей гемодинамики.

Вместе с тем ИФС является более чувствительным методом оценки взаимосвязи колебаний показателей гемодинамики, чем когерентность. Чтобы доказать это, на записях АД и ПИ трех случайно выбранных крыс выделяли короткие интервалы, а именно – три интервала длительностью 1 минута (т.е. суммарная длительность анализируемой записи составляла 3 минуты). Для оценки когерентности колебаний АД и ПИ такая длительность записи оказалась недостаточной: вычислить значение когерентности было невозможно из-за большого количества шума. Однако при анализе даже такой короткой записи на спектрах ИФС был виден отчетливый пик на частоте 0.4 Гц, спектры не содержали шума, что позволяло определять значение ИФС в интересующем нас частотном диапазоне. Таким образом, с помощью ИФС, в отличие от когерентности, можно оценивать взаимосвязь барорефлекторных колебаний АД и ПИ на коротких интервалах записи.

Важно, что с использованием ИФС можно проследить динамику изменения взаимосвязи барорефлекторных колебаний АД и ПИ во время переходных процессов, что было показано в экспериментах с кровопотерей. В течение первых 10 минут кровопотери АД практически не изменялось, а ПИ заметно укорачивался, что говорит об активации барорефлекса; ИФС при этом значительно возрастал. При дальнейшей кровопотере барорефлекторных влияний было недостаточно для предотвращения падения АД, при этом наблюдалось снижение ИФС.

Кроме того, были проведены эксперименты на людях, в которых регистрировали АД и ЧСС в положении лежа и при ортостазе. Известно, что такое изменение положения тела приводит к изменению работы барорефлекса. Оказалось, что значение ИФС при ортостазе существенно выше, чем при горизонтальном положении тела, что отражает повышение барорефлекторной активности. Этот результат является еще одним подтверждением применимости ИФС для оценки взаимосвязи барорефлекторных колебаний показателей гемодинамики.

Таким образом, вычисление ИФС является информативным подходом к изучению взаимосвязи АД и ПИ в частотном диапазоне волн Майера, т.е. этот показатель может быть использован для оценки барорефлекторной регуляции сердечного ритма.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-04-01943).

# THE STUDY OF CARDIAC RHYTHM BAROREFLEX CONTROL USING THE PHASE SYNCHRONIZATION INDEX OF ARTERIAL PRESSURE AND PULSE INTERVAL IN LABORATORY ANIMALS AND HUMANS

*Negulyaev V.O.*

*M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Human and Animal Physiology, Moscow*

The study of spontaneous oscillations of arterial pressure (AP) and heart rate or pulse interval (PI) is an actual task of modern physiology and medicine. The oscillations that reflect the functioning of the arterial baroreflex, an important mechanism of cardiovascular control, are of primary interest. Signals generated by baroreceptors modulate the influences of autonomic nervous system on vascular tone and heart activity, which results in compensatory change of AP. Due to time delay in the control loop baroreflex activity results in the generation of oscillations (Mayer waves). The frequency of Mayer waves is ~ 0,4 Hz in rats and ~ 0,1 Hz in humans.

Spectral and cross-spectral analysis methods are usually used to analyze the oscillations of AD and PI with an attention mainly to the analysis of the amplitude characteristics of the oscillations. At the same time, the phase characteristics of the oscillatory system are more sensitive to external influences than its amplitude characteristics, so studying the phase relationships of the hemodynamic parameters will enable us to understand their regulatory interference in more details. To estimate the phase relationships of blood pressure and PI in the cross-spectral analysis, the coherence index is used. The phase synchronization index (PSI) may be also used for this purpose, but the question of PSI informative value as an indicator of the arterial baroreflex functioning has not been studied yet.

The aim of this work was to test the applicability of PSI of AD and PI for evaluation of heart rate baroreflex regulation. The tasks of the study were: 1) to compare the results of the estimation of baroreflex oscillations with the use of PSI and coherence under stationary conditions; 2) to follow the relationship of baroreflex oscillations during transition processes; 3) to evaluate the functioning of the baroreflex in humans using PSI.

In conscious Wistar rats (n=25), AP and PI were recorded through femoral artery catheter. To study the dynamics of baroreflex oscillations during the hemorrhage, blood was gradually withdrawn (20 ml/kg during 30 min) through a catheter in carotid artery. In young healthy volunteers, AP (Finometer technique) and ECG were continuously recorded. After 15-min recording in supine position, a passive orthostatic test was performed (60° head up tilt for 15 min).

According to our results, the PSI informatively describes the phase relations of AD and PI at the frequency of Mayer waves. PSI spectra calculated from 20-30-min-long recordings demonstrated a distinct peak at a frequency of ~ 0.4 Hz, and a peak in the coherence spectrum was observed in the same frequency region. To compare the results of the evaluation of the relationship between BP and PI with the use of PSI and cross-spectral analysis, we compared the values of IPS and coherence at the frequency of 0,4 Hz. It turned out that these indicators correlate well with each other (Pearson correlation coefficient  $r = 0.920$ ,  $p < 0.0001$ ), which indicates the applicability of PSI for the evaluation of the relationship between baroreflex oscillations of hemodynamic parameters.

Along with that, PSI is a more sensitive method for assessing the relationship between hemodynamic fluctuations than coherence. To prove this, three intervals of 1 min duration (total duration of the analyzed record was 3 minutes) were taken from recordings of three randomly selected rats. Such short recording time was not sufficient to estimate the coherence because of the large amount of noise. However, PSI spectra contained no noise and showed a distinct peak at a frequency of 0,4 Hz, which allowed us to determine the value of the PSI in the frequency range of the interest. Thus, with the use of PSI, unlike coherence, it is possible to evaluate the relationship between baroreflex oscillations of BP and PI at short recording intervals.

Importantly, with the use of PSI it is possible to follow the changes in the relationship between baroreflex oscillations of AP and PI during transient processes, this was shown in experiments with hemorrhage. During the first 10 min of blood loss, AP did not change much but PI was noticeably shortened, which indicates the activation of the baroreflex. In this case the PSI increased significantly. With further blood loss, baroreflex effects were not sufficient to prevent a fall in blood pressure, under such conditions a decrease in PSI was observed.

In addition, PSI was estimated in volunteers in the supine and then head-up positions. It is known that orthostasis leads to a change in baroreflex functioning. The value of PSI in orthostasis was significantly higher than in the supine position, which reflects an increase in baroreflex activity. This result is one more confirmation of the applicability of PSI for the evaluation of the relationship between baroreflex oscillations of hemodynamic parameters.

Thus, the calculation of the PSI is an informative approach to the study of the relationship between BP and PI in the frequency range of Mayer waves, i.e. this indicator can be used to evaluate the baroreflex regulation of the heart rhythm.

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № 17-04-01943).

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НА ФОНЕ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕМЕ

*Ниязов А.Р., Рукавишников И.В., Федяй С.О.*  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

**Введение.** Проблема оценки болевого синдрома крайне важна при оказании медицинской помощи в космическом полете (КП). Одной из основных характеристик боли является порог болевой чувствительности (ПБЧ) – минимальная сила раздражителя, при которой он воспринимается, как болезненный.

**Цель:** исследование болевой чувствительности у человека в условиях длительной изоляции.

**Методика.** Объектом данного исследования выступили экипаж и дублеры международного аналогового 17-суточного изоляционного эксперимента по имитации воздействия факторов космического полета «SIRIUS-17». Проводилось измерение ПБЧ методами тензо- и термоальгометрии. Измерения проводились трижды в день, до, во время и после изоляции.

**Результаты.** Статистически значимых различий между показателями ПБЧ в течение дня выявлено не было. Также не получено различий между результатами измерений до, во время и после изоляции.

**Выводы.** Полученные результаты могут свидетельствовать о незначительном влиянии циркадианных ритмов на ПБЧ. Также, значения ПБЧ остаются достаточно стабильными на фоне влияния факторов КП, связанных с изоляцией. В то же время вопрос влияния факторов изоляции требует дальнейшего уточнения.

## INVESTIGATION OF PAIN SENSITIVITY INDICATORS DURING ISOLATION

*Niiazov A.R., Rukavishnikov I.V., Fedyay S.O.*  
IBMP RAS, Moscow

**Introduction.** Assessing the intensity of the pain syndrome is very important in the providing of medical care in spaceflight (SF). One of the main characteristics of pain is the pain threshold (PT) - the minimum intensity of the stimulus that is perceived as painful.

**Purpose:** to study pain sensitivity in humans in conditions of prolonged isolation.

**Methodology.** The object of this study was the crew and back-ups of the international analogue 17-day isolation experiment "SIRIUS-17" that simulated the impact of SF factors. The measurement of PT by the methods of tenso- (pressure pain threshold) and thermoalgotometry (heat pain threshold) was carried out. Measurements were carried out three times a day, before, during and after isolation.

**Results.** There were no statistically significant differences between PT values during the day. Also, there was no difference between results before, during and after isolation.

**Conclusions.** Results may indicate an insignificant effect of the daily biological rhythms on PT. Also, the values of PT remain quite stable against the influence of the SF factors related to isolation. Further researches are required.

## НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ КАК МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕМЕ

*Ниязов А.Р.<sup>1</sup>, Гимадиев Р.Р.<sup>2</sup>, Федяй С.О.<sup>1,2</sup>*  
1 ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва; 2 РУДН, Москва

**Введение.** По данным исследования, проведенного на мышах в условиях космического полета (КП) были выявлены нарушения липидного обмена печени, способные привести в длительном КП к развитию неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП).

**Цель:** исследовать динамику некоторых биохимических показателей и нуклеиновых кислот в качестве предикторов патологических процессов в условиях изоляции в гермообъеме.

**Методика.** Объектом данного исследования выступил экипаж (N =6) международного аналогового 17-суточного изоляционного эксперимента по имитации воздействия факторов КП SIRIUS-17». Забор образцов осуществлялся за 7 суток до изоляции, на 14-е сутки изоляции и через 7 суток после окончания изоляции. Проводилось определение биохимических параметров – показателей липидного и углеводного метаболизма: общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), индекса атерогенности, липопротеина (а), аполипопротеина А1, аполипопротеина В, глюкозы, инсулина, индекса инсулинорезистентности (НОМА-IR) и лептина. Также проводилось определение профиля и уровня экспрессии микроРНК в плазме крови и образцах буккальных соскобов. В качестве исследуемых микроРНК были выбраны let-7a, miR-21, -22, -34a, -122, -124, -126 и -145, ассоциированные по данным литературных источников с НАЖБП. Для нормализации экспрессионных данных в качестве эндогенного референсного контроля использовалась микроРНК miR-103.

**Результаты.** Все исследуемые биохимические параметры на всем протяжении эксперимента оставались в пределах референсных значений. Было выявлено статистически значимое снижение ЛПВП во время изоляции и после нее (<0,05), увеличение индекса атерогенности во время изоляции (<0,05) и повышение уровня липопротеина (а) (<0,05) по сравнению с исходным уровнем. Также отмечалось снижение уровня глюкозы после изоляции в сравнении со значениями, полученными до и во время нее (<0,05).

В 100% образцов плазмы крови и буккальных соскобов детектировались микроРНК let-7a, miR-103, -21, -22 и -145. При нормализации в плазме крови выявлено статистически значимое снижение уровня экспрессии miR-145 во время изоляции (<0,05), и повышение miR-122 после изоляции (<0,05) по сравнению с их уровнем экспрессии до изоляции, в образцах буккальных соскобов выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии miR-22 во время и после изоляции (<0,05).

**Выводы.** Полученные результаты могут свидетельствовать о метаболических изменениях, способных при длительном воздействии факторов КП приводить к НАЖБП. Полученные результаты позволяют рассматривать микроРНК в роли потенциальных



предикторов развития патологических процессов. Сопоставимый профиль экспрессии микроРНК в плазме крови и образцах буккальных соскобов позволяет использовать последние в качестве альтернативного неинвазивного источника биоматериала. Для уточнения данных и отработки методики целесообразно проведение дальнейших исследований.

## NUCLEIC ACIDS AS MARKERS OF METABOLIC DISORDERS IN HUMAN IN THE CONDITIONS OF ISOLATION

*Niazov A.R.<sup>1</sup>, Gimadiev R.R.<sup>2</sup>, Fedyay S.O.<sup>1,2</sup>*

1 IBMP RAS, Moscow; 2 RUDN University, Moscow

**Background.** Violations of lipid metabolism of the liver, which could lead to the development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in long-term spaceflight (SF) were detected according to a study conducted in mice in SF conditions.

**Aim:** to investigate the dynamics of some biochemical markers and nucleic acids as predictors of pathological processes in conditions of isolation.

**Methodology.** The object of this study was the crew (N =6) of the international analogue 17-day isolation experiment "SIRIUS-17" that simulated the impact of SF factors. Sampling was carried out 7 days before the isolation, on the 14th day of isolation and 7 days after the end of the isolation. Biochemical parameters lipid and carbohydrate metabolism parameters: total cholesterol, triglycerides, high density lipoproteins (HDL), low density lipoproteins (LDL), very low density lipoproteins (VLDL), atherogenicity index, lipoprotein (a), apolipoprotein A1, apolipoprotein B, glucose, insulin, insulin resistance index (HOMA-IR) and leptin were measured. The profile and level of microRNAs expression in blood plasma and samples of buccal scrapings were also determined. Let-7a, miR-21, -22, -34a, -122, -124, -126 and -145 were selected as the investigated microRNAs, which were associated with NAFLD with data from literature sources. MicroRNA miR-103 was used as an endogenous reference control to normalize the expression data.

**Results.** All investigated biochemical parameters throughout the experiment remained within reference values. Statistically significant decrease of HDL during and after isolation (<0.05), increase of atherogenic index during isolation (<0.05) and increase of lipoprotein (a) level (<0.05) during isolation compared with baseline were observed. Also there was decrease of glucose after isolation in comparison with the values obtained before and during it (<0.05).

MicroRNAs let-7a, miR-103, -21, -22 и -145 were detected in 100% samples of blood plasma and buccal scrapings. Normalization revealed a statistically significant decrease of miR-145 expression level during isolation (<0.05) and an increase in miR-122 after isolation (<0.05) compared to their expression level prior to isolation in blood plasma. In buccal scrapings samples significant increase of miR-22 expression level during and after isolation was revealed (<0.05).

**Conclusions.** Revealed results may indicate metabolic changes, capable lead to NAFLD in prolonged exposure of SF factors. Obtained results allow to consider microRNA as a potential predictor of the development of pathological processes. The comparable profile of microRNA expression in plasma and samples of buccal scrapings allows the latter to be used as an alternative non-invasive source of biomaterial. Further researches are required.

## ПРОБЛЕМА МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОМАГНИТНОГО ПОЛЯ И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ФОНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

*Онучина М.Р.<sup>1,2</sup>, Артамонов А.А.<sup>3</sup>, Карташова М.К.<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>ФБГУН ГНЦ РФ Институт Медико-Биологических Проблем РАН, г. Москва

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Национальный Исследовательский Технологический Университет МИСИС,  
г. Москва

<sup>3</sup>НИИ космической медицины ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, г. Москва

<sup>4</sup>МГМУ имени И.М. Сеченова, г. Москва

Межпланетные миссии и миссии на Луну сопряжены с различными факторами космической среды.

В числе этих факторов – слабое магнитное поле и электромагнитный фон, сильно отличающийся от фона Земли. Межпланетное магнитное поле варьируется от 5-100нТл, магнитное поле Луны имеет непостоянную структуру с максимальным значением поля равным 500нТл. Проблема электромагнитного фона заключается в том, что электромагнитное излучение имеет широкий диапазон и сложно вычлнить биологически значимые частоты.

В данной работе, на основе литературных данных, обсуждается возможный дизайн экспериментов, которые позволят оценить степень влияния на живые организмы каждого из перечисленных выше факторов.

Из литературных данных уже известно, что экранировка магнитного поля Земли приводит к изменениям в процессах протекающих в живых организмах. Однако эти эксперименты не классифицированы по методу экранировки и на сегодняшний день нет критических обзоров данных экспериментов. Данная работа восполняет данный пробел.

На сегодняшний день, недостаточно изучен спектр электромагнитного излучения на борту пилотируемых кораблей и станций, но можно с уверенностью сказать о преобладании технологической частоты 2,4ГГц над всеми остальными частотами электромагнитного излучения. Эта технологическая частота является резонансной частотой для молекул воды и по этой причине требуется особый дизайн эксперимента, который позволит оценить интенсивность этого воздействия.

## THE PROBLEM OF MODELING HYPOMAGNETIC FIELD AND ELECTROMAGNETIC BACKGROUND OF ENVIRONMENT

*Onuchina M.R.<sup>1,2</sup>, Artamonov A.A.<sup>3</sup>, Kartashova M.K.<sup>4</sup>*

1. FBGUN Institute of Biomedical Problems the State Scientific Center of Russian Federation,  
Moscow

2. NUST MISIS, Moscow

3. Research Institute for Space Medicine, Federal Research Clinical Center of Federal Biomedical  
Agency of Russia, Moscow

4. MG MU of I.M. Sechenova, Moscow

Interplanetary missions and missions to the Moon are associated with different factors of the cosmic environment such as low magnetic field and electromagnetic background, which is differing from the background of the Earth. The interplanetary magnetic field has been counted from 5 to 100 nT, magnetic field of the Moon has inconstant structure with the maximal value of the field about 500 nT. The problem of electromagnetic background has been formulated, that electromagnetic radiation has an enormous range and it has been proven hard to single out biologically important frequencies. In the work, on the basis of literary data, the possible design of experiments, with the help of which the level of the impact on the living creatures will be estimated, was discussed. From the literature data was found that the shielding of the magnetic field of the Earth leads to changes in

the ongoing processes in the living organisms. However, the experiments were not classified by the method of the shielding and there are no critical reviews of these experiments. This work fills in the space. According to nowadays the specter of electromagnetic radiation on the board of the piloting ships and stations is not sufficiently studied, but it can be said with the confidence that the technological frequency is more then 2,4 GHz over other frequencies of the electromagnetic radiation. This technological frequency appeared as a resonance frequency for molecules of water and according to this the special design, which will fully accomplish to estimate the intensity of the impact, is needed.

## **ЧИСЛЕННАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ РАСЧЁТА РАДИАЦИОННОЙ ОБСТАНОВКИ В АТМОСФЕРЕ ЗЕМЛИ**

*Онучина М.Р.<sup>1,2</sup>, Артамонов А.А.<sup>3</sup>, Земнов К.Е.<sup>4</sup>, Чащин Е.Д.<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>ФБГУН ГНЦ РФ Институт Медико-Биологических Проблем РАН, г. Москва

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Национальный Исследовательский Технологический Университет МИСИС, г. Москва

<sup>3</sup>НИИ космической медицины ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, г. Москва

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Московский Политехнический Университет», г. Москва

В работе представлена численная модель которая позволяет рассчитать радиационную обстановку в атмосфере Земли на любой высоте, начиная от уровня моря и кончая высотой 400 км. Модель основана на численном моделировании прохождения космических лучей в атмосфере Земли, с использованием методов Монте-Карло (GEANT4), что позволяет учитывать каскадные явления при прохождении космических лучей через атмосферу. Модель учитывает как солнечную активность, так и геомагнитное обрезание спектра космических лучей в зависимости от географического положения. Параметры модели позволяют учитывать любой тип атмосферы. В работе приведены профили радиационной обстановки в зависимости от высоты, а так же для различных высот показан профиль функции эффективности, которая показывает энергию космических лучей, которые дают максимальный вклад в суммарную дозу излучения.

Рассмотрен спектр галактических протонов и модифицированный спектр альфа-частиц при различных уровнях солнечной активности. Использованная модель позволила смоделировать атмосферный каскад, индуцированный первичными протонами и альфа-частицами и вторичными частицами (нейтронами, протонами, гамма-квантами, электронами, позитронами, мюонами и заряженными пионами). Наиболее сильное воздействие солнечная активность оказывает на альфа-частицы.

## **THE NUMERICAL MODEL FOR CALCULATIONS OF THE RADIATION CONDITIONS OF THE EARTH'S ATMOSPHERE**

*Onuchina M.R.<sup>1,2</sup>, Artamonov A.A.<sup>3</sup>, Zemnov K.E.<sup>4</sup>, Chaschin E.D.<sup>4</sup>*

1. FBGUN Institute of Biomedical Problems the State Scientific Center of Russian Federation, Moscow

2. NUST MISIS, Moscow

3. Research Institute for Space Medicine, Federal Research Clinical Center of Federal Biomedical Agency of Russia, Moscow

4. FGBOU VO "Moscow Polytechnical University", Moscow

The numerical model for calculating the radiation conditions of the Earth's atmosphere has been calculated at different height from the sea level to the height of 400 km, is represented in this work. The model is based on the numerical modeling of the cosmic rays passing in the Earth's atmosphere with the using of Monte-Carlo methods (GEANT4), which makes possible to account

cascade phenomenon during the cosmic rays passing through the atmosphere. The model into accounts the solar activity and as well geomagnetic circumcission range of the cosmic rays depending on the geographic location. Model parameters help to calculate every type of the atmosphere. In the work are represented radiation profiles according to the height and also for the various heights the profile of efficiency function is achieved, which represent the energy of the cosmic rays, which maximize the total dosage of radiation. Spectra of the galactic protons and modified spectra of the alpha-particles were shown during the different levels of the solar activity. Our model was used to simulate the atmosphere cascade, induced by primary protons, alpha-particles and secondary protons (neutrons, protons, gamma-quantum, electrons, positrons, muons and charged pions). The powerful impact was made by the solar activity on the alpha-particles.

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОВЛИЯНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ МЫШЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЯХ С РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТЬЮ И ЧАСТОТОЙ

**Орлова Е. А.**

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

**Введение.** Высокая работоспособность спортсменов, тренирующих аэробную выносливость, зависит от уровня кровоснабжения активно сокращающихся скелетных мышц. При ритмических сокращениях кровотока минимален в фазу напряжения и максимален в период расслабления. оптимальное насыщение кислородом этих мышц будет зависеть от их кровоснабжения. Поэтому целью данной работы было выяснить: (1) как влияет сила и частота ритмических сокращений скелетных мышц на обеспечение оптимальных условий для кровоснабжения работающей мышцы; (2) какой режим мышечных сокращений обеспечивает оптимальные условия для работы «мышечного насоса».

**Методы:** В исследовании принимали участие 15 нетренированных молодых мужчин (средний возраст 24 (от 22 до 26 лет) года. 9 испытуемых тренировались в течение 8 недель (1 ч в день, 5 раз в неделю) на велоэргометре. До и после периода тренировки испытуемые выполняли тест разгибание одной ноги в коленном суставе (РНКС) с повышающейся нагрузкой до отказа (5 Вт/мин). Остальные 6 испытуемых выполняли (РНКС) дважды с разными частотами 0,5 и 1 Гц (2 Нм/мин). Во время теста регистрировали мощность нагрузки (Biodex, США); поверхностную ЭМГ-активность *m. vastuslateralis* (миограф CP511, Grass, США); изменения содержания общего гемоглобина (СНб) в работающей мышце (ИК-спектрометр NIRO-200, Namamatsu, Япония), датчик спектрометра располагали на коже рядом с ЭМГ-электродами. Для каждого цикла мышечных сокращений определяли: среднее значение ЭМГ-активности, максимальное содержание гемоглобина (СНб<sub>max</sub>), разность максимального и минимального значений СНб ( $\Delta$ СНб), нормированное значение этой разности ( $\Delta$ СНб<sub>N</sub> =  $\Delta$ СНб/СНб).

**Результаты:** В тесте с частотой движений 0,5 гц доля СНб, которая в результате сокращения вытесняется из мышечной ткани в венозную часть кровеносного русла ( $\Delta$ СНб<sub>N</sub>), больше, чем при частоте движений 1 гц, что, по-видимому, связано с большей длительностью фазы расслабления, в течение которой кровеносное русло успевает наполниться большим объемом крови. По мере увеличения мышечной активности в месте регистрации (ЭМГn) изменяется абсолютное значение объема крови, вытесняемой из мышечной ткани, максимум этого показателя находится в диапазоне от 50% до 60% максимального значения ЭМГ-активности. В то же время доля крови, вытесняемой из мышечной ткани при сокращениях, снижается при увеличении силы сокращения. До 8-недельной тренировки  $\Delta$ СНб<sub>N</sub> практически не изменялась в течение всего теста, после тренировки, при небольших усилиях (в начале теста) она увеличилась, а по мере увеличения нагрузки заметно уменьшалась. Такие различия, по-видимому, связаны с возникающими в результате аэробных тренировок структурными и регуляторными изменениями в сосудистом русле, обеспечивающими кровоснабжение

тренируемых мышц.

Заключение: Наши исследования впервые показали, что доля содержащейся в мышечной ткани крови, которая вытесняется в венозное русло при ритмических сокращениях мышцы ( $\Delta\text{CHb}_N$ ), зависит от частоты сокращений: увеличение частоты сокращений ведет к уменьшению этого показателя. Также впервые показано, что уменьшение этого показателя происходит при увеличении силы сокращений, причем этот эффект зависит от аэробных возможностей мышцы (отсутствует в нетренированной мышце).

## CHARACTERISTICS OF INTERACTION BETWEEN PARAMETERS OF CENTRAL HEMODYNAMICS DURING MUSCLE CONTRACTIONS WITH DIFFERENT INTENSITY AND FREQUENCY

*Orlova EA*

SSC RF - IBMP RAS, Moscow

Introduction. High performance of endurance athletes depends on the level of blood supply to contracting skeletal muscles. With rhythmic contractions, the blood flow is minimal during the contraction phase and is maximal during the relaxation period. The optimal oxygen saturation of these muscles will depend on their blood supply. Therefore, the purpose of this study was to find out: (1) how the optimal conditions for blood supply to the working muscle depend on the force and frequency of rhythmic contractions; (2) which pattern of muscle contraction provides optimal conditions for the activity of the "muscle pump".

METHODS: 15 untrained young men with a median age 24 (interquartile range: 22-24) participated in the study. 9 subjects were trained for 8 weeks (1 hour per day, 5 times per week) on a cycling ergometer. Before and after the training period, subjects performed incremental ramp one-legged knee extension test (5 W / min) till exhaustion, the remaining 6 subjects performed the same test twice with different frequencies of 0.5 and 1 Hz (2 Nm / min). During the test, the power output/muscle torque (Biodex, USA), the surface EMG activity of m. vastus lateralis (CP5 myograph 11, Grass, USA), changes in the content of total hemoglobin (CHb) in the working muscle (NIRO-200, Hamamatsu, Japan) were recorded. The spectrometer sensor was located on the skin next to the EMG electrodes. EMG activity, the maximum hemoglobin content (CHb<sub>max</sub>), the difference between the maximum and minimum values of CHb ( $\Delta\text{CHb}$ ), the normalized value of this difference ( $\Delta\text{CHb}_N = \Delta\text{CHb} / \text{CHb}$ ) were determined.

Results: In a test with a frequency of 0.5 cps, the proportion of CHb that is displaced/expelled from the muscle tissue to the venous part of circulation ( $\Delta\text{CHb}_N$ ) as a result of contraction is greater than at a frequency of 1 Hz, which is apparently associated with a longer duration of the relaxation phase, during which the blood vessels can be filled with a larger volume of blood. As muscle activity increases at the place of registration (EMG<sub>n</sub>), the absolute blood volume displaced from muscle tissue during contraction changes, the maximum of this index is in the range of 50% to 60% of the maximum value of EMG activity. At the same time, the proportion of blood displaced from muscle tissue during contractions decreases with an increase in the force of contraction. Until 8-week training  $\Delta\text{CHb}_N$  is virtually unchanged throughout the test, after training, with low efforts (at the beginning of the test) it increased, and decreased, with increasing load. Such differences seem to be associated with structural and regulatory changes in the vascular bed resulting from aerobic training, ensuring blood supply to the trained muscles.

Conclusion: Our studies showed for the first time that the portion of blood in the muscle tissue that is displaced into the venous bed with rhythmic muscle contractions ( $\Delta\text{CHb}_N$ ) depends on the frequency of contraction: an increase in the frequency of contractions leads to a decrease in this index. It is also shown for the first time that a decrease in this index occurs when the contraction force increases, and this effect depends on the aerobic capacity of the muscle (absent in the untrained muscle).

## ИЗМЕНЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК ПРОИЗВОЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ

*Осецкий Н.Ю., Китов В.В., Соснина И.С., Лысова Н.Ю., Амирова Л.Е.,  
Розенберг М., Рукавишников И.В.*  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Длительный космический полет подвергает человека воздействию ряда факторов, негативно влияющих на все системы организма. Среди этих факторов в первую очередь стоит отметить невесомость, характеризующуюся специфическим воздействием на вестибулярный аппарат, опорной депривацией и значительным снижением проприоцептивного информационного притока (Григорьев А.И. и соавт. 2004, Козловская И.Б., 2011). Данные факторы негативно сказываются на точности выполнения произвольных движений, в частности - таких сложных, комплексных процессов, как точностные движения рук и произвольная ходьба.

Целью настоящей работы являлось исследование характеристик произвольных движений до и после длительных космических полетов, а также описание динамики восстановления исследуемых параметров.

Настоящее исследование проводилось с использованием данных, полученных в ходе российско-американского эксперимента «Полевой тест». К настоящему времени в эксперименте приняло участие 11 российских космонавтов (к настоящему времени обработаны данные по 4 космонавтам). Серия выполняемых космонавтами двигательных задач состояла из 2-х последовательно выполняемых тестов: произвольная ходьба с огибанием препятствия и выполнение задачи градации усилий с помощью ручного динамометра (серия последовательно возрастающих по усилию сжатий динамометра с минимально возможной разницей между соседними усилиями). Для оценки биомеханических параметров произвольных движений использовались датчики инерционной навигационной системы Emerald.

В задаче произвольной ходьбы с огибанием препятствия оценивали среднюю высоту и длину шага, а также время от команды на начало до момента возвращения в изначальное положение. В задаче на градацию усилий анализировали количество выполненных ступеней (градаций), количество ошибок (случаев, в которых последующее движение не превосходит или равно по силе предыдущему), минимальное усилие (абсолютный порог) и среднюю амплитуду прироста усилия.

Фоновые обследования проводились за 60 и 30 суток до старта, послеполетные обследования – в день возвращения (в палатке на месте посадки), на 3-4-е, 6-8-е и 12-е сутки после завершения космического полета.

Анализ данных первых четырех участников исследования показал, что наиболее глубокие изменения характеристик произвольных движений регистрируются в день завершения полета. Длина шага в задаче произвольной ходьбы в фоновых исследованиях (L-30) составляла  $1,32 \pm 0,10$  м, достоверно снижаясь в день посадки до  $0,73 \pm 0,08$  м. В последующих сессиях средняя длина шага достоверно не отличалась от фонового исследования, находясь в пределах 1,26-1,32 м. Аналогичные изменения наблюдались в средней высоте шага: в предполетных сессиях она составляла  $0,15 \pm 0,02$  м и  $0,085 \pm 0,01$  м - в день завершения полета. На 4-е и 7-е сутки после полета высота шага была незначительно выше исходных значений, составляя  $0,168 \pm 0,02$  м и  $0,162 \pm 0,02$  м, соответственно. На 12-е сутки периода восстановления длина шага в среднем составила  $0,144 \pm 0,008$  м. Количество шагов, требующихся космонавту для огибания препятствия, также возрастало в среднем на 70% после завершения КП. Результаты теста на градацию усилий также выявили видимое снижение точностных возможностей системы управления движениями: дифференциальный порог в первые сутки после завершения полета повышался на 23.7 % по сравнению с фоновыми значениями; количество ошибок увеличилось на 5.6 %, средний прирост усилия

увеличился на 6.9%. В последующих сессиях наблюдалось постепенное восстановление исследуемых параметров; на 7-е сутки после завершения полета показатели теста достоверно не отличались от исходных. Таким образом, выполненное исследование продемонстрировало видимое снижение функциональной работоспособности после длительных космических полетов, наиболее ярко выраженное в остром периоде реадaptации к земным условиям.

Работа поддержана Российской академией наук (тема 63.1).

## **CHANGES IN THE CHARACTERISTICS OF VOLUNTARY MOVEMENTS AFTER LONG TERM SPACE FLIGHTS**

*Osetskiy N.Y., Kitov V.V., Sosnina I.S., Lysova N.Yu., Amirova L.E.,  
Rosenberg M., I.V. Rukavishnikov I.V.*  
SSC RF - IBMP RAS, Moscow

A long-term space flight exposes a person to a number of factors that adversely affect all the body systems. Among these factors, weightlessness characterized by a specific influence on the vestibular apparatus, support deprivation, and a significant decrease in the proprioceptive information inflow (Grigoriev AI et al., 2004, Kozlovskaya IB, 2011) is the first to be noted. These factors negatively affect the accuracy of performing voluntary movements, in particular, such complicated, complex processes as precision hand movements and voluntary walking.

The purpose of this work was to study the characteristics of voluntary movements before and after long term space flights, as well as a description of the restoration dynamics of the investigated parameters.

This study was conducted using data obtained during the Russian-American experiment "Field Test". To date, 11 Russian cosmonauts have taken part in the experiment (data for 4 cosmonauts have so far been processed). The series of motor tasks performed by cosmonauts consisted of 2 successive tests: standing from the sitting position, voluntary walking with avoiding of the obstacle and performing the task of grading the effort with a hand dynamometer (a series of dynamometer compressions that consistently increase in the force with the smallest possible difference between neighboring efforts). To assess the biomechanical parameters of the voluntary movements, the Emerald inertial navigation system sensors were used.

In the task of voluntary walking with avoiding the obstacles, we assessed the height and length of the step, and the time from the command to the moment of return in the original position. In the task of grading efforts, the number of steps (gradations) performed, the number of errors (the cases in which the subsequent effort does not exceed or equal to the strength of the previous one), the minimal force (absolute threshold) and the average amplitude of the effort increase were analyzed.

Background examinations were conducted 60 and 30 days before the start, post-flight surveys - on the landing day (in the tent at the landing site), on the 3-4th, 6-8th and 12th days after the completion of the space flight.

Analysis of the data of the first four participants of the study showed that the most profound changes in the characteristics of voluntary movements are recorded on the day of completion of the flight. The step length in the task of voluntary walking in background studies (L-30) was  $1.32 \pm 0.10$  m, significantly decreasing on the day of landing to  $0.73 \pm 0.08$  m. In subsequent sessions, the mean length of the step was not significantly different from the background study, being within 1.26-1.32 m. Similar changes were observed with the height of the step in the task of voluntary walking: in preflight sessions it was  $0.15 \pm 0.02$  m and  $0.085 \pm 0.006$  m on the day of completion of the flight. On the 4th and 7th days the step height was slightly higher than the initial values, amounting  $0.158 \pm 0.02$  m and  $0.162 \pm 0.02$  m, respectively. On the 12th day of the restoration period, the length of the step averaged  $0.144 \pm 0.008$  m.

The number of steps required for avoiding the obstacle was also decreased by 70% after space flight accomplishment. The results of the test for grading the efforts revealed a visible decrease in the accuracy capabilities of the motor control system: the differential threshold increased by 23.7% in the first day after the flight, compared to the background values; the number of errors increased by 5.6%, the average increase in effort increased by 6.9%. In subsequent sessions, gradual recovery of the parameters under study was observed; on the 7th day after the completion of the flight, the test parameters did not differ significantly from the initial ones. Thus, the performed study demonstrated a visible decrease in functional capacity after long term space flights, most pronounced in the acute period of re-adaptation to terrestrial conditions.

The work is supported by the Russian Academy of Sciences (topic 63.1).

## **РАЗРАБОТКА ИЗМЕРИТЕЛЬНОГО СТЕНДА ДЛЯ АДАПТИВНОЙ ОПТИМИЗАЦИИ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ РАСТЕНИЙ В КОСМИЧЕСКОЙ ОРАНЖЕРЕЕ**

*Очков О.А.*

*Научный руководитель-Беркович Ю.А., д.т.н.*

ГНЦ РФ ИМБП РАН, Москва

В настоящее время активно прорабатывается концепция систем жизнеобеспечения экипажей космических аппаратов, предназначенных для реализации ближайшей задачи космонавтики – освоения Луны и окололунного пространства. В ряде работ была обоснована необходимость обеспечения экипажа в длительных космических полётах хорошо усвояемыми витаминами, в первую очередь витамином С (аскорбиновой кислотой) и витамином А (ретинолом) за счёт выращивания листовых овощей в космической оранжерее (КО). В современных проектах космических оранжерей обычно применяют искусственное освещение растений на основе светодиодов (СД), обладающих рядом технических и эксплуатационных преимуществ (Zabeletal., 2016; Беркович и др., 2005). Оптимизация светодиодного освещения посевов является сложной задачей из-за многозначности воздействия ряда параметров освещения на показатели роста и развития растений, а также из-за недостатка информации о механизмах воздействия различных параметров светового режима на эти показатели. По этой причине до настоящего времени не разработаны универсальные математические модели, описывающие такие механизмы, что не даёт возможности заранее вычислять для посевов оптимальные параметры светодиодного освещения (спектр, интенсивность, распределение светового потока по времени и др.). Опубликованы данные, свидетельствующие о том, что оптимальные параметры светового режима в КО могут существенно изменяться с возрастом растений. Нами предложен метод адаптивной оптимизации уровня плотности потока фотонов (ППФ) и спектрального состава излучения для листовых овощных культур, выращиваемых в витаминной КО под светильником на основе белых и красных СД. Этот метод состоит в непрерывном автоматическом поиске оптимальных величин и соотношений плотности световых потоков от красных и белых светодиодов, соответствующих, например, текущему значению величины  $\max Q_{\text{в}} = (C_A \cdot M) M/E$ , где  $M$  – прирост сухой биомассы посева китайской капусты за время эксперимента,  $C_A$  – содержание аскорбиновой кислоты в сухой массе посева,  $E$  – энергия светового потока, падающего на посев за время эксперимента. Измерительный стенд (ИС) включает в себя прозрачную ростовую камеру объёмом 81 дм<sup>3</sup> с прозрачной плотно закрывающейся крышкой, над которой подвешен светильник с красными и белыми светодиодами. Светильник изготовлен на основе СД с белым (цветовая температура 4000К) и красным (длина волны 660 нм) излучением. С помощью управления токами питания светодиодов можно регулировать ППФ на уровне верхних листьев посева в пределах от 100 до 1000 мкмоль/(м<sup>2</sup>·с) независимо для каждого вида СД и изменять долю красного света в спектре излучения в пределах от 0 до 73%, с учётом содержания красной составляющей в



спектре белых СД. Внутри прозрачной ростовой камеры установлен горизонтальный вентилятор для выравнивания концентрации  $\text{CO}_2$  по объёму, а также измерители температуры и влажности воздуха. Через штуцеры в боковых стенках внутренний объём камеры соединяется трубопроводами с мембранной воздуходувкой и  $\text{CO}_2$ -газоанализатором (ГА). Инфракрасный ГА марки «Кедр А» с диапазоном измерений до 1000 ppm и ошибкой измерения, не превышающей  $\pm 25$  ppm используется для текущих измерений кажущегося фотосинтеза посева. Пневматическая схема с электроклапанами, ротаметром и осушителем воздуха позволяет либо подавать поток воздуха из ростовой камеры на ГА с возвратом в камеру, либо проветривать эту камеру воздухом с повышенным содержанием  $\text{CO}_2$  после каждого сеанса измерений видимого фотосинтеза. Во время проветривания ростовой камеры включается также контур осушения воздуха в камере путём продувки его через патрон с наполнителем из силикагеля. Приведены характеристики динамики изменения концентрации  $\text{CO}_2$  и относительной влажности воздуха в ростовой камере в режиме продувки. В ИС была измерена длительность переходных процессов кажущегося фотосинтеза посева китайской капусты при освещении красным светом (660 нм) при переключениях ППФ 500 мкмоль/( $\text{м}^2 \cdot \text{с}$ ) и 900 мкмоль/( $\text{м}^2 \cdot \text{с}$ ) и обратно. Измерения скорости фотосинтеза посева в ИС производили следующим образом. Перед измерениями микроконтроллер включал воздуходувку и контур осушки воздуха, и ростовая камера с растениями проветривалась воздухом из комнаты, обогащённым углекислым газом, с целью удаления излишней транспирационной влаги и повышения концентрации  $\text{CO}_2$ . Процесс проветривания продолжался, как правило, в течение 4-5 минут до повышения концентрации  $\text{CO}_2$  в воздухе ростовой камеры до 600 ppm. Осушение воздуха проводили до значений относительной влажности ( $60 \pm 10$ )% для снижения погрешности показаний ГА. Температура воздуха в камере с растениями во время измерений находилась в пределах 26-28 °С. После проветривания по сигналу с микроконтроллера воздушные электроклапаны перекрывали сообщение ростовой камеры с комнатой и поток воздуха от воздуходувки поступал через осушитель воздуха на вход ГА с последующим возвращением в ростовую камеру. Затем переключали свет на другое значение ППФ (например, с 500 до 900 мкмоль/( $\text{м}^2 \cdot \text{с}$ )). Далее в течение 20 мин. микроконтроллер записывал с выхода ГА динамику концентрации  $\text{CO}_2$  в ростовой камере с посевом, отражающую разность между скоростями поглощения  $\text{CO}_2$  и дыхания растений в камере (видимый фотосинтез). Затем электроклапаны по команде с микроконтроллера снова переключали поток воздуха от воздуходувки с контура ГА на режим проветривания камеры. Далее процедура повторялась для следующего варианта светового режима. Уровень концентрации  $\text{CO}_2$  в конце периода измерений фотосинтеза не опускался ниже 370 ppm для всех вариантов опытов. Такое понижение не оказывало существенного влияния на скорость газообмена посевов. Дисперсия значений скорости видимого фотосинтеза, вычисленных по формуле  $\Phi = 30 \cdot \Delta C \cdot m$  (где размерность перепада концентрации  $\text{CO}_2$  ( $\Delta C$ ) в ppm, а  $m$  – масса воздуха в мг в измерительной камере при соответствующей температуре в период измерений.), по пяти повторностям не превышала 8,1% от средних значений. Установлено, что длительность световых переходных процессов фотосинтеза при любом возрасте посева и всех исследованных вариантах скачков параметров светодиодного излучения не превышала 90 с. С увеличением возраста растений от 15 суток до 25 суток, а листового индекса посева от 3,5 до 12,8 кажущийся фотосинтез посева под красными СД при стационарных значениях ППФ возрастал приблизительно на 50%. В целом, тестирование ИС показало его пригодность для последующей адаптивной оптимизации уровня ППФ и спектрального состава излучения для посевов листовых овощных культур.

## DEVELOPMENT OF A MEASURING BENCH FOR ADAPTIVE OPTIMIZATION OF LED LIGHTING OF PLANTS IN A SPACE GREENHOUSE

*Ochkov O.A.*

*Scientific advisor-PhD, DSc Berkovich Yu.A.*

State Science Center – Institute for Biomedical Problems RAS, Moscow, Russia

At the present time, the concept of life support systems for spacecraft crews is being actively developed, designed to realize the immediate task of astronautics - the exploration of the moon and near-moon space. In a number of works, the necessity of providing the crew with long-term space flights with well-assimilated vitamins, first of all with vitamin C (ascorbic acid) and vitamin A (retinol), was justified by growing leafy vegetables in a space greenhouse (SG). In modern projects of space greenhouses, artificial illumination of plants based on light-emitting diodes (LEDs) with a number of technical and operational advantages is usually used (Zabel et al., 2016; Berkovich et al., 2005). Optimization of LED lighting of crops is a difficult task due to the multivalued impact of a number of lighting parameters on the growth and development of plants, and also due to a lack of information on the mechanisms of the effect of various parameters of the light regime on these parameters. For this reason, up to the present time, universal mathematical models have not been developed that describe such mechanisms. It makes impossible to calculate in advance the optimal parameters for LED lighting (spectrum, intensity, light flux distribution over time, etc.). Data have been published showing that the optimal parameters of the light regime in the space greenhouse can vary significantly with the age of the plants. We propose a method of adaptive optimization of the level of photosynthetic photons flux density (PPFD) and the spectral composition of radiation for leafy vegetable crops grown in vitamin SG under a luminaries based on white and red LEDs. This method consists in the continuous automatic search for optimal PPFD and ratios of light fluxes from red and white LEDs, corresponding, for example, to the current value of  $\max Q_B = (C_A \cdot M) M/E$ . Here  $M$  is the increment of dry biomass of Chinese cabbage crop during the experiment,  $C_A$  - the content of ascorbic acid in the dry mass of crop,  $E$  - the energy of the light flux falling on the crop during the experiment. The measuring bench (MB) includes a transparent growth chamber with a volume of  $81 \text{ dm}^3$  with a transparent close-fitting lid above over which luminaires with red and white LEDs are suspended. The luminaire is made on the basis of LEDs with white (color temperature 4000K) and red (wavelength 660 nm) radiation. By controlling the current supply of the LEDs, it is possible to adjust the PPFD at the level of the top leaves of the crop within the limits of 100 to  $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  independently for each type of LED and to change the fraction of red light in the radiation spectrum in the range from 0 to 73%, taking into account the content of the red component in the spectrum of white LEDs. Inside the transparent growth chamber, a horizontal fan is installed to equalize the  $\text{CO}_2$  concentration across the volume, as well as temperature and humidity meters. Through the fittings in the side walls, the internal volume of the chamber is connected by pipelines with a membrane blower and a  $\text{CO}_2$  gas analyzer (GA). Infrared GA brand "Kedr A" has a range of measurements up to 1000 ppm and a measurement error not exceeding  $\pm 25$  ppm and is used for current measurements of the crop apparent photosynthesis. The pneumatic circuit with solenoid valves, rotameter and air drier allows either air flow from the growth chamber to the GA to return to the chamber, or to ventilate this chamber with enriched in  $\text{CO}_2$  air after each measurement of apparent photosynthesis. During the ventilation of the growth chamber, the dehumidification circuit of the air in the chamber is also switched on by blowing it through a cartridge filled with silica gel. The characteristics of the dynamics of the  $\text{CO}_2$  concentration and the relative humidity inside the empty growth chamber through the ventilations runs are given. In the MB, the duration of transient processes of photosynthesis of Chinese cabbage crop was measured under red illumination (660 nm) after PPFD switching between  $500 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  and  $900 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ . Measurements of the apparent photosynthetic rate of crop in the MB were carried out

as follows. Before the measurements, the microcontroller included a blower and air dehumidification circuit, and the growth chamber with the plants was ventilated with air from the room in order to raise CO<sub>2</sub> concentration and remove excess transpiration moisture. Usually the process of ventilation continued for 4-5 minutes till increase of the CO<sub>2</sub> concentration in the growth chamber to 600 ppm. Air dehumidification was carried out till relative humidity values of (60 ± 10)% to reduce the error of GA readings. The air temperature in the chamber with plants during the measurements was in the range 26-28 °C. After aeration, on the signal from the microcontroller the air electro valves blocked the communication of the growth chamber with the room and the air flow from the blower came to the entrance of the GA, followed by a return to the growth chamber. Then, the light was switched to another PPF level, from 500 to 900 μmol/(m<sup>2</sup>·s) or back. For 20 minutes, the microcontroller recorded from the GA output CO<sub>2</sub> concentration in the growth chamber with crop, reflecting the difference between the rates of CO<sub>2</sub> absorption and respiration (apparent photosynthesis). Then the solenoid valves, under command from the microcontroller, again switched the air flow from the blower from the GA loop to the chamber ventilation mode, and then the procedure was repeated for the next light regime. The level of CO<sub>2</sub> concentration at the end the period of measurements of photosynthesis did not drop below 370 ppm for all variants of the experiments. This decrease did not significantly affect the rate of gas exchange of crops. The dispersion of apparent photosynthesis rate calculated by the formula  $F = 30 \cdot \Delta C \cdot m$  (where the CO<sub>2</sub> drop ( $\Delta C$ ) in ppm, and m is the mass of air inside the chamber in mg at the corresponding temperature during the measurement period) for five replicates did not exceed 8.1% of the mean values. It was found that the duration of the light transient processes of photosynthesis at any age of crop and all the investigated variants of the LED radiation jumps did not exceed 90 sec. With an increase in the plant age from 15 days to 25 days and the crop leaf area index from 3.5 to 12.8, the apparent photosynthesis of crop under red LEDs for identical PPF increased by approximately 50%. In general, MB testing showed its suitability for the subsequent adaptive optimization of the PPF level and the light spectral composition for the leafy vegetable crops.

## **ЦЕНТРАЛЬНАЯ И ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ ГЕМОДИНАМИКА ЧЕЛОВЕКА В ХОДЕ ИЗОЛЯЦИОННОГО ЭКСПЕРИМЕНТА «СИРИУС-17»**

*Памова А.П.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Наше исследование проводилось в рамках комплексного изучения адаптационных процессов, происходящих в организме человека при моделировании отдельных факторов космического полёта в условиях, основной из которых являлась изоляция в гермообъекте с искусственной средой обитания. Во время эксперимента добровольцы 17 суток находились в условиях изоляции, что соответствовало имитации космического полёта до Луны, её облёту и возвращению на Землю.

*Цель исследования:* оценить изменения в состоянии микроциркуляторного (МЦР) русла верхних конечностей под воздействием условий изоляции с совместной оценкой изменений центральной гемодинамики.

*Методика:* в испытаниях приняли участие девять человек. Шесть человек, которые подверглись изоляции, являлись основным экипажем (трое мужчин и трое женщин). Три человека являлись дублирующим экипажем и изоляции не подвергались (двое мужчин и женщина). Все испытуемые имели средний уровень физического развития. Состояние центральной гемодинамики исследовали с помощью монитора реаниматолога (МПР 6-03, Россия). Измеряли систолическое и диастолическое артериальное давление (САД и ДАД), ударный объем и ударный индекс (УО, УИ), систолический индекс и выброс (СИ, СВ), общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС), насыщение артериальной крови кислородом (SpO<sub>2</sub>) и частоту сердечных сокращений (ЧСС). Состояние периферической гемодинамики исследовали с помощью компьютерной капилляроскопии (Капилляроскан-01,

ООО «Новые Энергетические Технологии», Россия), а также с помощью лазерной Допплеровской флоуметрии - ЛДФ (ЛАКК-02 «ЛАЗМА», Москва, Россия). Измеряли перикапиллярную зону (ПЗ) (мкм), количество капилляров в  $1 \text{ мм}^2$  (шт.) в коже ногтевого валика верхних конечностей, амплитуду активных и пассивных механизмов формирования тонуса сосудов: Аэ (эндотелиальная), Ан (нейрогенная), Ам (миогенная), Ас (сердечная), Ад (дыхательная). Датчик ЛДФ устанавливали на предплечье в положении лёжа на спине в зоне Захарьина-Геда (зона сердца). Ад оценивали строго в соответствии с частотой дыхательных движений (ЧДД), Ас в соответствии с ЧСС. Так же измеряли ПМ (пф.ед.) – показатель микроциркуляции (ЛДФ). Измерение параметров производили в 3 этапа: до, во время (2, 7, 14 сутки) и после изоляции у основного экипажа, а также до и после у дублеров. Анализ результатов проводили с помощью программного пакета STATISTICA 10 и Excel 2016, с использованием общепринятых непараметрических методов статистического анализа. Уровень значимости  $p < 0,05$ . Результаты представлены далее в виде медиан и квартилей  $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ .

*Результаты и обсуждение:* вначале с помощью U – критерия Манна – Уитни оценили принадлежность двух выборок испытателей к одной генеральной совокупности. Оказалось, что по параметрам центральной гемодинамики данные испытатели статистически значимо не различаются  $p > 0,05$ , но различаются по параметрам МЦР, так для количества капилляров  $p < 0,001$ , N=9, основной экипаж: 102 [82;112]; запасной: 74 [58;88]; по Ад,  $p < 0,001$ , N=9 основной: 0,12 [0,11;0,12]; запасной: 0,08 [0,04;0,09]. В целом, можно сказать, что выборки испытателей подобраны однородно, за исключением нескольких параметров. Следовательно, в дальнейшем мы можем сравнить их в периоде восстановления. Далее, по методу главных компонент мы визуально оценили однородность выборок по параметрам центральной и периферической гемодинамики. Было выявлено, что у одного испытателя основного экипажа показатели МЦР выходили за пределы 2 сигм, поэтому, мы исключили его из дальнейшего анализа параметров МЦР. После этого, по параметрам периферической гемодинамики статистическое значение U – критерия Манна – Уитни составило  $p > 0,05$ . Далее параметры центральной гемодинамики основного экипажа мы оценили с помощью критерия Фридмана,  $p < 0,05$  при N = 6 для УО, СИ, ЧСС. В качестве апостериорного теста использовали критерий Вилкоксона с введением поправки Бонферрони, уровень значимости, при этом, меньше или  $p < 0,01$ . Статистически значимо изменился УО ( $p = 0,003$ ), он падал к периоду восстановления по сравнению со вторыми сутками изоляции с 89 [76;99] до 56 [51;74]. То же мы выполняли с параметрами периферической гемодинамики, оказалось, что статистически значимо изменялась только величина ПЗ, в частности, она увеличивалась к 14 суткам изоляции по сравнению со вторыми сутками и возвращалась к первоначальным значениям в периоде восстановления (Вилкоксон,  $p = 0,004$ , N=5) с 72 [64;84] до 84 [78;117]. Других статистически значимых изменений выявлено не было. Тем не менее, имелись определенные тенденции у некоторых показателей. Например, увеличивалась амплитуда Ад, что, одновременно с увеличением ПЗ может косвенно свидетельствовать о нарушении процессов реабсорбции в интерстициальном пространстве. Одновременно с падением УО имела тенденция к снижению УИ и увеличению ЧСС и ЧДД к периоду восстановления. Наблюдали и уменьшение количества функционирующих капилляров в коже ногтевого валика верхних конечностей к 14 суткам изоляции, а также резкое увеличение в периоде восстановления. Для оценки того, насколько устойчиво менялись параметры к периоду восстановления, мы использовали критерий Вилкоксона ( $p < 0,05$ ) для группы основного и дублирующего экипажей. Оказалось, что у группы основного экипажа увеличение ЧСС и ЧДД было статистически значимо по сравнению с дублирующей группой  $p < 0,05$  (у которых данные показатели за время исследования не менялись). Снижение УО так же было устойчиво ниже  $p < 0,05$ .

*Заключение:* таким образом, однозначно можно утверждать, что условия изоляции с ограниченной двигательной активностью оказывают влияние на состояние центральной гемодинамики. При этом, влияние на состояние периферической гемодинамики, по всей

видимости, лишь косвенное. Очевидно, что изменения центральной гемодинамики повлекут за собой изменения микроциркуляции, но для этих процессов необходимо более длительное время, то есть необходимо изучение в условиях более продолжительной изоляции. Статистически значимое увеличение ЧСС и ЧДД, а также снижение УО могут быть обусловлены воздействием стресса и/или снижением компенсаторных механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы. Тем не менее, после 14 суток, судя по всему, началась физиологическая компенсация данных изменений, то есть появились признаки адаптации сердечно-сосудистой системы к новым условиям.

## HUMAN CENTRAL AND PERIPHERAL HEMODYNAMICS DURING ISOLATION EXPERIMENT “SIRIUS – 17”

*Pamova A.P.*

Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow

Our research was carried out as a part of comprehensive study of the adaptation processes occurring in the human body during modeling of space flight. The main condition of this study was human isolation in a hermetic object with an artificial habitat. Volunteers were in isolation condition during 17 days and this simulate of space flight to the moon, its circumnavigation and return to the Earth.

*The purpose of this study:* was to evaluate changes on microcirculation of upper limbs in the influence of isolation with a joint assessment of changes in central hemodynamic.

*Methods:* The experimental group consist of nine healthy volunteers divided into two paths: main crew – was in isolation during 17 days (three men and three women) and backup crew – they weren't in isolation (two men and woman). The state of the central hemodynamics was examined with the help of the bedside monitor (MPR 6-03, Russia). Systolic and diastolic arterial pressure (SBP and DBP), stroke output and stroke index (SO, SI), systolic volume index (SVI), peripheral vascular resistance (PVR), arterial oxygen saturation (SpO<sub>2</sub>) and frequency heart rate (HR) were measured. Functional state of the skin microcirculation was checked with a LDF LAKK-02 (“LAZMA”, Russia). Capillary parameters were assessed in the nail fold at the same time with LDF by means of a computer capillaroscopy CAPILLAROSCAN-01 (“Advanced Energy Technologies” Ltd, Russia). We estimate pericapillary zone (PZ,  $\mu\text{m}$ ), the number of capillaries (pcs), the amplitude of the active and passive mechanisms of the vascular tone formation: Ae (endothelial), An (neurogenic), Am (myogenic) Ac (cardiac), Ar (respiratory), PM – the level of microcirculation perfusion (pf.). The LDF probe was place on forearm on the heart zone (Greenberg S.A., 2003). Parameters were checked in 3 stages: background, 2-7-14 days of isolation and recovery (main crew), background and “recovery” – backup crew. Nonparametric statistical analyses were performed via STATISTICA 10 and Excel 2016 (significant level  $p < 0,05$ ). The results are presented as medians and quartiles: Me [Q25; Q75].

*Results and discussion:* with Mann-Whitney U test the main and backup crews was estimated. According to the parameters of the central hemodynamics these crews do not statistically significantly different ( $N=9$ ),  $p > 0,05$ . Microcirculation parameters: the number of capillaries  $p < 0,001$ ,  $N = 9$ , the main crew: 102 [82; 112]; backup: 74 [58; 88]; LDF parameter: Ad,  $p < 0,001$ ,  $N = 9$  main: 0.12 [0.11, 0.12]; backup: 0.08 [0.04, 0.09]. Further, by the method of the main components, we visually assessed the homogeneity of the samples according to the parameters of the central and peripheral hemodynamics. It was revealed that one volunteer from main crew was exceeded the limits of two  $\sigma$ , we excluded him from the further analysis of the microcirculation parameters. Consequently, in the future we can compare them in the recovery period. After this, according to the parameters of peripheral hemodynamics, the statistical value of the Mann-Whitney U test was  $p > 0,05$ . After this we use Friedman's test for all parameters,  $p < 0,05$  for  $N = 6$  (main crew) for SO, SVI, HR. Wilcoxon's test was used as post hoc analysis with Bonferroni correction,

the level of significance  $p < 0.01$ . Statistically significant changes in SO ( $p = 0.003$ ), decreased to the recovery period compared to the second day of isolation from 89 [76, 99] to 56 [51, 74]. The same was done with the parameters of peripheral hemodynamics, it turned out that only the value of PZ was statistically significant, in particular, it increased to 14 days of isolation in comparison with the second day and returned to the initial values in the recovery period (Wilcoxon's test,  $p = 0.004$ ,  $N = 5$ ) from 72 [64; 84] to 84 [78, 117]. There were no other statistically significant changes. Nevertheless, there were certain trends in some parameters. For example, the amplitude of Ad increased, which, simultaneously with the increase in PZ, can indirectly indicate a violation of reabsorption processes in the interstitial space. Simultaneously with the decrease of SO, there was a tendency for a decrease in SI and an increase in HR and the rate of respiration for the recovery period. We also observed, that the number of functioning capillaries in the skin of the nail bed was decrease on the upper limbs to 14 days of isolation and then an acute increase in the recovery period. We can say, that in recovery period parameters of main crew didn't returned to normal values: Wilcoxon's test ( $p < 0.05$ ,  $N=8$ ) between group of main and backup crews. It turned out that in the main crew the increase of HR and rate of respiration was statistically significant in comparison with the backup crew  $p < 0.05$  (in backup crew these parameters did not change during the experiment). The decrease in SO was also stable below background values  $p < 0.05$ .

*Conclusion:* Thus, isolation conditions with limited physical activity effect on the state of central hemodynamics. At the same time, the influence on peripheral hemodynamics, apparently, is only indirect. It is obvious that changes in central hemodynamics will lead to changes in microcirculation, it is necessary longer isolation to assess these changes. A statistically significant increase of HR and rate of respiration, as well as a decrease in SO, can be caused by stress and / or a decrease in compensatory regulation mechanisms of the cardiovascular system. Nevertheless, after 14 days of isolation occurred the physiological compensation of these changes.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕХАНИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ОПОРНЫХ АФФЕРЕНТОВ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫС НА ТРАФИК HDAC5 И ЭКСПРЕССИЮ E3-УБИКВИТИНЛИГАЗ НА РАННИХ ЭТАПАХ МОДЕЛИРУЕМОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ.**

*Парамонова И. Шарло К.А. Вильчинская Н.А.  
Научный руководитель-д.б.н., профессор Шенкман Б.С.  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва*

При действии гравитационной разгрузки наблюдается развитие мышечной атрофии в результате увеличения интенсивности протеолитических процессов и снижения уровня синтеза белка (Bodineetal., 2013). Известно, что гистондеацетилазы (HDAC) класса Па участвуют в регуляции экспрессии E3-убиквитинлигаз (Moresietal., 2010; DuBoisetal., 2017). Экспрессия E3-убиквитинлигаз увеличивается при действии гравитационной разгрузки (Bodineetal., 2001). Ранее в нашей лаборатории было показано изменение ядерно-цитоплазматического трафика HDAC класса Па при дефосфорилировании АМФ-активируемой протеинкиназы (АМРК) на ранних этапах гравитационной разгрузки (Vilchinskayaetal., 2017). Известно, что при устранении опоры электрическая и, следовательно, сократительная активность *m. soleus* крысы практически прекращается (Kozlovskaya et al, 1987; Alford et al., 1987; Kawano et al, 2002; De-Doncker et al, 2005). Механическая стимуляция опорных зон стопы у человека на фоне опорной разгрузки позволяет сохранить тоническую сократительную активность постуральной камбаловидной мышцы (Григорьев и др., 2004; Шенкман и др., 2004). Цель нашего исследования состояла в изучении влияния механической стимуляции опорных афферентов на фоне гравитационной разгрузки на трафик HDAC5 и экспрессию E3-убиквитинлигаз в *m. soleus* крысы. Для этого проводилось 1 суточное антиортостатическое вывешивание задних конечностей крыс по

методике Ильина-Новикова в модификации Морей-Холтон с применением опорной стимуляции механическим давлением 104 мм рт.ст. продолжительностью 4 часа с частотой 1 гц. После чего содержание pAMPK(Thr172), pPKD(Ser485/491) и HDAC5 в ядерной фракции m. soleus крысы оценивали с помощью метода гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом. Уровень экспрессии MuRF-1 определяли методом PCR-RT. В результате 1-суточного вывешивания наблюдалось достоверное снижение содержания фосфорилированной AMPK (Thr172) на 37% относительно контрольной группы, а в группе с опорной стимуляцией достоверных отличий от контрольной группы не обнаружено. После 1-суточного вывешивания выявлено достоверное снижение содержания HDAC5 в ядерной фракции белков на 47% по сравнению с группой контроля. При этом в группе с опорной стимуляцией не наблюдалось достоверных отличий этого показателя от уровня контрольной группы. Обнаружено достоверное двукратное повышение содержания фосфорилированной протеинкиназы D (PKD) (Ser485/491) относительно группы контроля после 1-суточного вывешивания, при этом группе вывешивания с опорной стимуляцией достоверных отличий от группы контроля не выявлено. После 1-суточного вывешивания наблюдалось достоверное увеличение экспрессии E3 убиквитин лигазы MuRF-1 на 57% относительно группы контроля, а в группе с опорной стимуляцией отличий от контрольной группы не обнаружено. Таким образом, полученные данные показывают, что применение механостимуляции стопы животного на раннем этапе моделируемой гравитационной разгрузки позволяет предотвратить падение фосфорилирования AMPK. Также полученные данные свидетельствуют о том, что на ранних сроках гравитационной разгрузки AMPK и PKD находятся в реципрокных отношениях: при падении активности AMPK наблюдается увеличение активности PKD, которое приводит к экспорту HDAC5 из ядер, который сопровождается усилением экспрессии E3 убиквитин лигазы MuRF-1. Эти эффекты полностью предотвращаются при поддержании тонической сократительной активности камбаловидной мышцы с помощью механостимуляции опорных афферентов.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ ИМБП РАН (тема 65.3) и грантом РФФИ 17-29-01029. Авторы выражают глубокую признательность С.А. Тыганову за эффективную биолого-технологическую поддержку эксперимента.

## **AN INFLUENCE OF PLANTAR MECHANICAL STIMULATION ON A SOLEUS MUSCLE HDAC5 TRAFFIC AND E3-UBIQUITIN LIGASE EXPRESSION AT THE EARLY STAGES OF MECHANICAL UNLOADING**

*Paramonova I. I. Sharlo K. A. Vilchinskaya N.A.  
Scientific advisor-professor PhD, DSc., B.S. Shenkman  
Institute of Biomedical Problems, RAS*

It has been shown, that muscle atrophy develops under hindlimb unloading condition as a result of decreased protein synthesis and increased protein degradation (Bodine et al., 2013). It is known, that class IIa histone deacetylases (HDAC) are involved in the regulation of the expression of E3-ubiquitin ligases (Moresi et al., 2010, DuBois et al., 2017), and E3-ubiquitin ligases expression is increased under gravitational unloading (Bodine et al., 2001). In our laboratory previous studies, we have observed the alteration in the nuclear-cytoplasmic traffic of HDAC by the dephosphorylation of AMP-activated protein kinase (AMPK) at the early stages of gravitational unloading (Vilchinskaya et al., 2017). It is known, that the electrical and contractile activity of rat soleus muscle almost stops (Kozlovskaya et al, 1987; Alford et al., 1987; Kawano et al, 2002; De-Doncker et al, 2005) when support loading is removed. Mechanical stimulation of the human plantar foot surface allows to preserve tonic contractile activity of postural soleus muscle under mechanical unloading condition (Grigoriev et al., 2004; Shenkman et al., 2004). The purpose of the present study was to examine the effect of plantar mechanical stimulation on HDAC5 traffic and

E3-ubiquitin ligase expression in rat soleus muscle at the early stages of mechanical unloading. A standard 1-day hindlimb suspension (HS) was performed in order to simulate the effects of microgravity on rat soleus muscle. One of the HS groups was subjected to plantar mechanical stimulation for 4 hours per day. After that, the contents of pAMPK (Thr172), pPKD (Ser485 / 491) and HDAC5 in the nuclear fraction of rat soleus muscle were analyzed by gel electrophoresis followed by immunoblotting. The expression level of MuRF-1 mRNA was determined by RT PCR. There was a significant decrease in AMPK (Thr172) phosphorylation by 37% ( $p < 0.05$ ) in the HS group compared to the control group, nevertheless, we did not observe such differences in the HS + plantar mechanical stimulation group. A significant decrease by 47% ( $p < 0.05$ ) was found for HDAC5 content in the nuclear protein fraction of HS group compared to the control group. At the same time, there were no significant differences in HDAC 5 content in the HS + plantar mechanical stimulation group compared to the control group. A significant twofold increase ( $p < 0.05$ ) was detected in protein kinase D (PKD) (Ser485/491) phosphorylation after a 1-day HS relative to the control group, and plantar foot stimulation prevented this increase. There was also a significant increase in the expression of E3 ubiquitin ligase MuRF-1 by 57% ( $p < 0.05$ ) in the HS group as compared to the control group, and again, plantar foot stimulation group did not differ from the control group. Thus, the obtained data show that the application of plantar mechanical stimulation at the early stage of gravitational unloading helps to prevent the fall of AMPK phosphorylation in rat soleus muscle. Our results also suggest that there may be reciprocal relations between AMPK and PKD at early stages of gravitational unloading: when AMPK activity decreases, PKD activity increases, which can lead to the export of HDAC5 from the nucleus, which in turn is accompanied by an increase in the expression of E3-ubiquitin ligase MuRF-1. These effects were completely prevented by maintaining the tonic contractility of the soleus muscle by the plantar mechanical stimulation.

The work is supported by the Basic Research Program of the SSC RF - IBMP RAS (topic 65.3) and the RFBR grant 17-29-01029. The authors would like to express their deep gratitude to Sergey Tyganov for excellent technical assistance.

### **3D КОНУСНО-ЛУЧЕВАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ ЧЕРЕПНО-ЛИЦЕВОГО СКЕЛЕТА, КАК МЕТОД ОТБОРА И ЕЖЕГОДНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ЛИЦ ОПАСНЫХ ПРОФЕССИЙ ВРАЧОМ-СТОМАТОЛОГОМ.**

*Прокопович Л.С.*

ГНЦ РФ –ИМБП РАН, г. Москва

Статья 3 ФЗ «О радиационной безопасности населения» №3-ФЗ от 9 января 1996 года предписывает принцип обоснования – запрещения всех видов деятельности по использованию источников ионизирующего излучения, при которых полученная для человека и общества польза не превышает риск возможного вреда, причинённого дополнительным к естественному радиационному фону облучением, а пункт 7.3 СанПиН 2.6.1.1192-03 гласит, что пациент имеет право отказаться от медицинских рентгенологических процедур, за исключением профилактических исследований, проводимых в целях выявления заболеваний, опасных в эпидемиологическом отношении. Пункт 7.9. того же документа устанавливает норматив годового профилактического облучения при проведении профилактических медицинских рентгенологических исследований и научных исследований практически здоровых лиц 1 мЗв (1000 мкЗв).

Все клинические рекомендации при различных диагнозах заболеваний зубочелюстной системы, затрагивающих минерализованные ткани рта, за исключением клинических рекомендаций при диагнозе «Кариес зубов», предусматривают обязательную однократную диагностику состояния зубочелюстной системы с помощью методов и средств лучевой визуализации. Официальный комментарий Президента Стоматологической Ассоциации России Садовского В. В. о проведении процедуры «Ортопантомография» в соответствии с



Клинической рекомендацией (Протоколом лечения) при диагнозе «пародонтит» за счет средств ФОМС от 1 марта 2016 даёт разъяснения Требованиям к диагностике амбулаторно-поликлинической, вводя в стандарт лучевой диагностики в стоматологии именно ортопантограмму, но при этом – отмечает, что включение в Клинические рекомендации (Протоколы лечения) той или иной лечебной процедуры или диагностического действия не имеет экономического обоснования и служит лишь аргументом для обоснования данной услуги на основе доказательной медицины. Приказ №244 от 21.11.2016 Госкорпорации “Роскосмос” как стандарт диагностики состояния зубочелюстной системы с помощью методов и средств лучевой визуализации также требует от претендентов на должность кандидата в космонавты ортопантограмму и рентгенограмму околоносовых пазух в носоподбородочной проекции, а в качестве стандарта стоматологического лучевого обследования специальные документы закрепили ортопантограмму или же серию рентгенограмм рта в различных проекциях (fullmouth X-rayseries), дополнительно требуя при этом данные КТ при обследовании врачом-оториноларингологом. И здесь ключевую роль играет принцип оптимизации из статьи 3 ФЗ «О радиационной безопасности населения» - поддержание на возможно низком и достижимом уровне с учетом экономических и социальных факторов индивидуальных доз облучения и числа облучаемых лиц при использовании любого источника ионизирующего излучения.

Согласно целям Концепции развития здравоохранения и медицинской науки в Российской Федерации и Национальной Концепции профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), утверждённой Главным государственным санитарным врачом РФ 6 ноября 2011 г., внедрение современных подходов и оптимизация санитарно-гигиенических мероприятий по диагностике и профилактике ИСМП в организациях здравоохранения, и развитие научных исследований в области эпидемиологии и профилактики ИСМП не могут обойтись без адаптации методов лучевой визуализации. В рамках государственных нормативных требований по охране труда замена метода ортопантомографии вкпе с серией прицельных и внутриротовых снимков, а также рентгенологического исследования околоносовых пазух и анатомических образований височных костей при выполнении требований амбулаторно-поликлинической диагностики с помощью обязательной однократной лучевой визуализации состояния черепно-лицевого скелета методом 3D конусно-лучевой компьютерной томографии позволит своевременно выявлять патологию и оказывать медицинскую помощь лицам опасных профессий в необходимом объёме.

Полная серия рентгенологических снимков рта состоит из 22 ракурсов ортопантомограммы, взятых за 1 день, что по лучевой нагрузке может составить до 600 мкЗв. 3D конусно-лучевая компьютерная томография позволяет продиагностировать степень плотности костной ткани черепно-лицевой области и уровень рецессии кости альвеолярного отростка, зубо-альвеолярные удлинения, количество зубов, наличие и расположение сверхкомплектных или же молочных зубов в постоянном прикусе, правильность прикуса, отсутствие воспаления периапикальных тканей или пародонта, состояние придаточных пазух носа, топографию радикулярных, фолликулярных, и кератокист, состояние височно-нижнечелюстного сустава, внутреннего и среднего уха, качества проведённого ранее стоматологического эндодонтического, реставрационного, ортопедического и хирургического лечения, травмы опухолительно-лицевой области, реконвалесценцию и природное здоровье при лучевой нагрузке на пациента не более 120-150 мкЗв (что составляет менее 1/6 от разрешённой пунктом 7.9 СанПиН 2.6.1.1192-03 дозы), в зависимости от оборудования и фенотипа работников опасных профессий. Существующие технологии позволяют также проводить диагностику 4D, что применяется при исследовании функции ВНЧС, установлении причин храпа и апноэ во сне.

Конусно-лучевая компьютерная томография (КЛКТ) – это рентгеновская технология визуализации, где с разных ракурсов получается большое число 2D изображений пациента.

Объемное 3D изображение конструируется из этих 2D проекций. Полученные изображения можно просматривать с помощью программного обеспечения под любым углом: в осевом, коронарном, сагиттальном и поперечном сечении. Хорошее программное обеспечение самостоятельно конструирует панорамный и ортопантограмный срезы, и в то же время позволяет осмотреть все интересующие зоны в мельчайших подробностях, сделать фото и видео. Алгоритм чтения изображений и программное обеспечение позволяют не только диагностировать заболевание, но моделировать протезы для ортопедического лечения, или хирургических реконструктивных и пластических операций в черепно-лицевой области.

**3D CONE-BEAM COMPUTER TOMOGRAPHY OF THE CRANIOFACIAL SKELETON AS DENTAL SELECTION METHOD AND ANNUAL MAXILLO-FACIAL ASSESSMENT OF HUMAN INTELLIGENCE OPERATORS AND HIGH THREATS PERSONNEL UNDER CONDITIONS OF INCREASED OR LOWERED PRESSURE OF THE SURROUNDING GAS OR WATER ENVIRONMENT, ZERO GRAVITY, OVERLOADS AND OTHER EXTREMES**

*Prokopovich L.S., M.D.*  
SSC-RF IBMP RAS, Moscow.

According to the article 3 of Federal Law "Radiative Safety of the Population" №3-FL from January, the 9<sup>th</sup> of 1996, the Principle for Justification of the Prohibition in all kinds of Activity using of Ionizing Radiation Sources, when the Advantage Received for the Person and Society doesn't exceed Risk of the Possible Harm done by the Radiation Additional to Natural Background Radiation, and according to the SanRaN point 7.3 2.6.1.1192-03: the Patient has the Right to Refuse medical radiological Procedures, Except for the Preventive Researches conducted for Detection of the Diseases Dangerous up to Epidemiological Terms. Point 7.9. of the same Document establishes the Standard of Annual Preventive Radiation Dose when carrying out Preventive Medical X-ray Evaluation and Scientific Research in almost Healthy Persons as 1 mSv (1000 µSv).

All Treatment Protocols for various Diagnoses and Diseases of Dento-Alveolar System affecting the Mineralized Mouth Tissues, excluding Clinical Procedures for the Diagnosis "Teeth Caries", provide Obligatory Single Diagnostics of dentoalveolar system by Means&Methods of Beam Visualization Agents. The official comment of Russian Stomatologic Association President - Sadovsky V. V. on holding the Orthopantomography procedure according to the Clinical Procedure (The Protocol of Treatment) for the diagnosis "Parodontitis" notices that including the Panoramic Radiography in Clinical Procedures (Protocols of Treatment) serves only as an Argument for Justification of this service on the basis of Evidential Medicine.

The order № 244 from 21.11.2016 of ROSCOSMOS State Corporation requires from Applicants for the Candidate to Cosmonaut (astronaut) position the Orthopantomographic Radiography and the Radiography of Adnexal Nasal Sinuses in Naso-Frontal projection as the Standard of Preliminary Cranio-Facial Evaluation. The International Medical Evaluation Rules for ISS Crew Members as the Standard of Beam Visualization for Dental evaluation fixes the full Orthopantomogram or full mouth X-ray series, demanding at the same time data of CT as ENT assessment (it's applicable here to mention Clefts as the Rejection Cause Unless Successfully Repaired).

From here the Key Role is played by the Principle of Optimization according to article 3 of Federal Law №3 "Radiative Safety of the Population" - Maintenance at Achievable and Possibly Low Level of Individual Exposure Doses and Number of the Irradiated Persons using any Source of Ionizing Radiation with much Attention Payed to the Economic and Social Factors.

High Threats Personnel due to Human Intelligence Operations and permanent State of Force Tailoring catch the Acetylcholine Effect. Space Experiment «Algometry» has given the Data on Threshold Increase in Human Pain Sensitivity during Space Missions and Flights. While being

examined by Doctors These Groups of Workers complain Less than They have to. Meanwhile, Under Extremal Conditions Acetylcholine Effect stress the Immune System and can cause Teeth Decay, Gum Disease or Sore Throat. These are Dangerous diseases up to Epidemiological Terms, that is why it is Necessary to Provide High Threats Personnel with Modern Radiological Visualization Method by means of Prophylaxis, because Microbiological Researches led on ISS, in Isolation Experiments and in the Theater of War showed Increase in Number of Parodontopathogens and even Manifestation of the Nosocomial or Hospital-Acquired Infections (HAI) with their Exchange in High Threats Personnel Troops by Breathing In and Out Ambient Natural Microbic Aerosols.

According to the Purposes of the Concept for Development of Health Care and Medical Science in the Russian Federation and the National Concept for Prophylaxis of the Infections bound to Delivery of Health Care (IDHC) approved by the Chief Health Officer on November, the 6<sup>th</sup> of 2011, Introduction of Modern Approaches and Optimization of Sanitary and Hygienic Actions for Diagnostics and Prophylaxis of IDHC in the National Health System, and Development of Scientific Research in the field of Epidemiology and Prophylaxis of IDHC can't do without Adaptation of Methods for Radial Visualization. Replacing Orthopantomography or full mouth X-ray series together with Radiography of Adnexal Nasal Sinuses in Naso-Frontal projection applied with beaming Anatomic Formations of Temporal Bones according to Implementation of Clinical Procedures (Treatment Protocols) for Ambulance&Polyclinic Diagnostics by means of Obligatory Single Beam Visualization of a Cranio-Facial Skeleton due to State Labor Protection Standard Demand with the Method of the 3D Cone-Beam Computer Tomography Shall Allow to Tap In-Time any Pathology to Provide a Medical Care&Supply for High Threats Personnel.

The full mouth X-ray series consisting of 22 foreshortenings, the Orthopantomogramic and Panoramic radiographies taken in one day can make up to 600  $\mu\text{Sv}$  of Radial Load for Superficial Dentistry Usage Only.

The 3D Cone-Beam Computer Tomography allows to diagnose the Density of the Bone Tissue in Cranio-Facial area and the Level of Bone Recession on Alveolar Ridge, Dento-Alveolar elongations, the number of Teeth, existence and location of Accessory, Rudimental or Persistent (Primary or Milk) Teeth in the Permanent (Adult) Occlusion, Physiology of the Dental Occlusion (which leads to or can cure the Platypodia and Spine Osteochondrosis), lack of Inflammation in Periapical Tissues or the Parodont, the status of Adnexal Nasal Sinuses, Topography of Radicular, Follicular or Keratocyst, the Temporo-Mandibular Joint, the Inner and Middle Ear, the Quality of the previous Surgical and Endodontic Treatment with Therapeutic or Orthopedic Restoration, Trauma or a Tumor questions in Cranio-Facial area, the Reconvalescence or the Natural Health – All of These with the Radial Load on the Patient not more than 120-150  $\mu\text{Sv}$  (that makes less than 1/6 from allowed by the point 7.9 SanRaN 2.6.1.1192-03 of Russia “Doses”, while European doses Requirements are even less strict), depending on the radiological equipment Device and the Phenotypes of High Threats Personnel Workers. The existing technologies allow to carry out also diagnostics 4D that is applied at TMJ function research, evaluation and diagnostics of the reasons for Snore and Apnea while Dream&Sleep.

The Cone-Beam Computer Tomography (CBCT) is an X-ray Technology of Beam Visualization where the Patient turns out in the large number different 2D foreshortenings of images. The volume 3D image is designed from these 2D projections. These images received can be viewed through at any angle with applied software: in Axial, Coronary, Sagittal and Transversal Sections. The good software designs the Panoramic and Orthopantomographic summary sections for the Dentists independently. At the same time the good software allows to examine all interesting zones in the finest details, to make a photo and video or tailor the upcoming treatment for all the Doctors.

Epitomizing the Data as the Security Through Science this Tailoring Radiological Health Control Method of Diagnostic Beam Visualization with the 3D Cone-Beam Computer Tomography is a Right-In-Time Measure of Ensuring Labor Protection for the High Threats Personnel and Human Intelligence Operators Under Conditions of Increased or Lowered Pressure of the

Surrounding Gas and Water Environment, Zero Gravity, Overloads and Other Extremes, and Visible Increase in Their Dependability and No-Failure Human Intelligence Operations by Means of Selection and Annual Medical Evaluation by Maxillo-Facial Surgeon.

## **ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ 3D-НОСИТЕЛЯ ЛИОПЛАСТ® И КУЛЬТУРЫ ХОНДРОБЛАСТОВ В КОСМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ**

*Пугачёв Е.И., Нефёдова И.Ф., Рязанова Т.К.*  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, Самара

На сегодняшний день клеточные технологии приобретают статус одного из наиболее перспективных направлений в биологии и медицине. Такие технологии уже применяются при лечении весьма широкого спектра патологий: дегенеративно-дистрофические и посттравматические изменения в костной и хрящевой тканях, заболевания роговицы, трахеи и других органов. Еще большее число исследований сейчас находится на стадии доклинических и клинических испытаний (Волова Л.Т., 2014; Борзенко С.А., 2011; Гилевич И.В., 2015). Кроме клинического применения, клеточные культуры часто используют в качестве экспериментальных моделей для оценки влияния каких-либо факторов (газовый состав среды, электромагнитное излучение, химические агенты и др.) на морфофункциональное состояние клеток.

В ИЭМБ СамГМУ была разработана и предложена экспериментальная модель для изучения влияния факторов орбитального космического полёта на клетки *in vitro*. Данная модель представляет собой комбинацию адгезивной клеточной культуры и 3D-бионосителя из деминерализованной лиофилизированной спонгиозы Лиопласт®. Для создания модели хондробласты, полученные из гиалиновой хрящевой ткани, высеивали в количестве  $5 \times 10^4$  на губчатый 3D-носитель объёмом  $27 \text{ мм}^3$  (блок  $3 \times 3 \times 3 \text{ мм}$ ). По две таких конструкции помещали в пробирки с полной ростовой средой и герметично закрывали, не оставляя воздушной прослойки. Образцы были доставлены на борт космического аппарата для дальнейшей культивации в условиях космического полёта. В наземных условиях проводили параллельный идентичный эксперимент. Модель была апробирована на биоспутниках Бион-М №1 и Фотон-М №4.

Анализ образцов, прибывших с орбиты Земли, а также образцов из синхронного наземного эксперимента, показал, что пролиферативная активность клеток в космосе сопоставима с таковой в наземной группе. Об этом свидетельствует активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) клеточного происхождения в образцах наземного и космического экспериментов, которая на момент прилёта космического аппарата одинакова и достоверно превышает исходное значение более чем в 2 раза. Таким образом, была подтверждена жизнеспособность культуры хондробластов на 3D-бионосителе Лиопласт® в длительном космическом эксперименте без смены питательной среды.

Для получения дополнительной информации о морфофункциональных особенностях клеточной культуры в составе предложенной биологической модели, был проведён ряд исследований в наземных условиях. Общеморфологическое исследование, а также растровая электронная микроскопия и конфокальная микроскопия позволили визуализировать прикрепленные к балкам носителя живые хондробласты, с выраженной адгезией к поверхности носителя. Форма клеток веретеновидная или полигональная, цитоплазма гомогенная либо мелкозернистая. Ядро крупное, расположено в центре клетки и обычно имеет 1-3 ядрышка.

С целью сравнить пролиферативный потенциал клеток в составе разработанной биологической модели (в герметично закрытой пробирке при  $37^\circ\text{C}$ ) и при культивировании в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе (в вентилируемой пробирке при  $5\% \text{ CO}_2$  и  $37^\circ\text{C}$ ), был выполнен ДНК-анализ. По результатам исследования, через 7 суток культивирования прирост клеток относительно

начальной точки (2 часа после посева) наблюдался в обеих опытных группах и составил 29,5% – в CO<sub>2</sub>-инкубаторе и 34% – в герметичных пробирках в термостате. Разница в приросте культуры может быть связана со стимулирующим действием возникающей в герметичных пробирках гипоксии (C.Domm, 2002), которая была выявлена с помощью титриметрического анализа питательной среды. Данный способ культивирования в закрытом флаконе, полностью заполненном питательной средой, может быть использован для выращивания тканеинженерной конструкции хрящевой ткани, разработка которой в настоящее время ведётся в ИЭМБ СамГМУ. Таким образом, предложенная нами биологическая модель (культивирование хондробластов на 3D-носителях пробирке, заполненной питательной средой без воздушной прослойки) является адекватной и перспективной для изучения влияния факторов космического полёта на клетки *in vitro*.

## **PERSPECTIVES FOR PRACTICAL APPLICATION OF THE BIOLOGICAL 3D CARRIER-BASED MODEL (LYOPLAST<sup>®</sup>) AND CHONDROBLAST CULTURE IN SPACE RESEARCH AND REGENERATIVE MEDICINE**

*Pugachev E., Nefedova I., Ryazanova T.*  
Samara State Medical University, Samara

To date, cellular technology is gaining status as one of the most promising areas in biology and medicine. Such technologies are already used in the treatment of a very wide range of pathologies: degenerative-dystrophic and post-traumatic changes in bone and cartilage tissues, diseases of the cornea, trachea and other organs. An even greater number of studies are now under pre-clinical and clinical trials (Volova LT, 2014; Borzenok SA, 2011; Gilevich IV, 2015). In addition to clinical applications, cell cultures are often used as experimental models to assess the influence of any factors (gas composition of the medium, electromagnetic radiation, chemical agents, etc.) on the morphofunctional state of cells.

The Institute of Biotechnology and Experimental Medicine developed and proposed an experimental model for studying the influence of the orbital space flight factors on cells *in vitro*. This model is a combination of an adhesive cell culture and a 3D bio-carrier from a demineralized lyophilized spiropic lyoplast<sup>®</sup>. To create the model, chondroblasts obtained from hyaline cartilaginous tissue were plated in an amount of  $5 \times 10^4$  onto a spongy 3D carrier with a volume of 27 mm<sup>3</sup> (3 × 3 × 3 mm). Two such designs were placed in tubes with a complete growth medium and sealed, leaving no air gap. Samples were delivered aboard the spacecraft for further cultivation in space flight conditions. In terrestrial conditions, a parallel identical experiment was conducted. The model was tested on biosputnikah Bion-M 1 and Photon-M 4.

The analysis of samples arrived from orbit of Earth, as well as samples from the synchronous ground-based experiment, showed that the proliferative activity of cells in space is comparable to that in the ground group. This is evidenced by the activity of lactate dehydrogenase of cellular origin in samples of ground and space experiments, which at the time of arrival of the spacecraft is the same and significantly exceeds the original value by more than 2 times. Thus, the viability of the chondroblast culture on the 3D bio-carrier Lyoplast<sup>®</sup> was confirmed in a long space experiment without changing the nutrient medium.

To obtain additional information on the morphofunctional features of the cell culture in the proposed biological model, a number of studies were carried out under terrestrial conditions. A general morphological study, as well as scanning electron microscopy and confocal microscopy, made it possible to visualize living chondroblasts attached to the beams of the carrier, with pronounced adhesion to the surface of the carrier. The shape of cells is spindle-shaped or polygonal, the cytoplasm is homogeneous or fine-grained. The nucleus is large, located in the center of the cell and usually has 1-3 nucleoli.

In order to compare the proliferative potential of cells in the developed biological model (in

a hermetically sealed tube at 37° C) and when cultured in a CO<sub>2</sub> incubator (in a ventilated tube at 5% CO<sub>2</sub> and 37° C), a DNA analysis was performed. According to the results of the study, after 7 days of cultivation, the growth of cells relative to the initial point (2 hours after sowing) was observed in both test groups and was 29.5% in a CO<sub>2</sub> incubator and 34% in sealed test tubes in a thermostat. The difference in the growth of culture can be associated with the stimulating effect of hypoxia in sealed tubes (C. Domm, 2002), which was detected by titrimetric analysis of the nutrient medium. This method of cultivation in a closed vial completely filled with nutrient media can be used to grow the tissue engineering construction of cartilaginous tissue, the development of which is currently conducted in the Institute of Biotechnology and Experimental Medicine. Thus, the proposed biological model (the cultivation of chondroblasts on a 3D carrier in a tube filled with a nutrient medium without airlayer) is adequate and promising for studying the effect of space flight factors on cells in vitro.

## АССОЦИИРОВАННЫЙ СО СТАРЕНИЕМ СЕКРЕТОРНЫЙ ФЕНОТИП МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

*Ратушный А.Ю.*

*Научный руководитель: Буравкова Л.Б.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В основе возрастных изменений лежит клеточная дисфункция и истощение пула стволовых клеток взрослого организма. Укорочение теломера, случайные повреждения генома, модификация эпигенома, нарушение качественного и количественного белкового состава, дисфункция митохондрий - все это может приводить к клеточной гибели или к активации сенесцентного состояния (клеточного старения), увеличивая количество сенесцентных клеток с возрастом (Wangetal., 2009; Lopez-Otinetal., 2013).

В сенесцентных клетках активируются сигнальные пути, вызывающие повышение продукции ряда биоактивных молекул, включая активные формы кислорода (АФК) (Passosetal., 2010) и широкий спектр различных провоспалительных цитокинов, хемокинов, факторов роста, протеаз (Corpeetal., 2008; Corpeetal., 2010; Freundetal., 2010). Ассоциированный со старением секреторный фенотип (SASP - senescenceassociatedsecretaryphenotype) способен влиять на выживание, пролиферацию и дифференцировку близлежащих клеток, а также оказывать канцерогенное воздействие (Corpeetal., 2010; Krtolicaetal., 2001; Baviketal., 2006; LiuandHornsby, 2007). Несмотря на наличие высоко консервативного «ядра» SASP, которое составляют провоспалительные цитокины, секретом может изменяться в зависимости от типа клеток и способа индукции клеточного старения (Campisi, 2013). Одним из наиболее важных эффектов, вызванных элементами SASP, является индукция или усиление воспалительного процесса. На сегодняшний день хроническое воспаление, поддерживаемое сенесцентными клетками, рассматривается как один из наиболее негативных факторов, влияющих на развитие возрастных заболеваний (Campisietal., 2011; Corpeetal., 2010; Freundetal., 2010; CampisiandRobert, 2014).

Целью данной работы являлось изучение SASP мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и его влияния на клетки в системе *invitro*.

Популяция МСК представляет особый интерес, поскольку она обладает рядом регуляторных свойств, способных модулировать функциональный статус окружающих тканей. Однако при достижении состояния клеточного старения биологическая активность МСК изменяется, что может вызывать ряд негативных последствий, в том числе ускоренное старение окружающих клеток, образуя петлю положительной обратной связи. Так, согласно нашим данным, добавление кондиционированной среды от сенесцентных клеток к «молодым» культурам или их сокультивирование в системе «Transwell» приводило к снижению доли МСК в G2/Мфазе клеточного цикла, что указывает на угнетение

пролиферативной активности. Исследования *invitro*, проводимые на культуре фибробластов, показали, что прямое сокультивирование «молодых» клеток со «старыми» приводит к увеличению частоты формирования очагов повреждения ДНК, одного из признаков пресенесцентного состояния (Nelson et al., 2012)

Анализ основных провоспалительных элементов SASPMCK в кондиционированной среде с применением иммуноферментного анализа выявил значимое увеличение концентрации цитокина IL-6 на поздних пассажах относительно ранних. Данные по продукции клетками IL-8 не показали достоверных различий содержания данного цитокина в кондиционированной среде в зависимости от этапа культивирования. Тем не менее, на поздних пассажах обнаруживалась большая вариативность в продукции IL-8. Анализ содержания в среде TGF- $\beta$  указывает на отсутствие выраженной зависимости продукции данного цитокина от этапа культивирования.

Оценка экспрессии генов ряда паракринных медиаторов сенесцентных клеток относительно ранних пассажей выявила разнонаправленные изменения. Отмечено повышение транскрипционной активности генов *IL-6*, *IL-8*, *FGF-2*, *BDNF*, *ANGPT*, *VEGF* и снижение *IGF-1*, *BMP-6*, *GDF15*, *TGF $\beta$ 3*, *MCP-1*.

Таким образом, сенесцентные клетки могут оказывать влияние на клеточное окружение как при непосредственном контакте, так и через паракринные медиаторы. Воздействие кондиционированной среды сенесцентных МСК на «молодые» клетки вызывает снижение пролиферативной активности последних. Анализ SASPMCK выявил повышение продукции IL-6 и значительную вариативность в продукции IL-8, основных провоспалительных медиаторов для данной клеточной популяции. Оценка представленности транскриптов показала разнонаправленные изменения в экспрессии генов секретируемых медиаторов МСК при клеточном старении.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01244*

## **SENESCENCE ASSOCIATED SECRETORY PHENOTYPE OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS**

*Ratushnyy A.*

*Scientific adviser: Buravkova L.*

IBMP, Moscow

The age-related diseases are associated with the cellular dysfunction and depletion of the adult stem cells. Telomere shortening, genome damage, modification of the epigenome, impairment of the proteostasis, mitochondrial dysfunction lead to cell death or senescence. These processes increase the number of senescent cells with age (Wang et al., 2009; Lopez-Otín et al., 2013).

An activation of a number of signaling pathways in senescent cells result in an increased production of bioactive molecules, including active oxygen species (ROS) (Passos et al., 2010), wide range of different pro-inflammatory cytokines, chemokines, growth factors and proteases (Coppe et al., 2008; Coppe et al., 2010; Freund et al., 2010). The senescence associated secretory phenotype (SASP) can influence the survival, proliferation, differentiation and oncogenesis of neighboring cells (Coppe et al., 2010; Kratochvíl et al., 2001; Bavik et al., 2006; Liu and Hornsby, 2007). Despite the conservative "core" of SASP, composed of pro-inflammatory cytokines, the secretome may depend on the cell type and the senescence induction method (Campisi, 2013). One of the most important effects caused by SASP elements is the inflammatory process acceleration. The chronic inflammation, supported by senescent cells, is considered to be one of the most negative factors affecting the age-related diseases development (Campisi et al., 2011; Coppé et al., 2010; Freund et al., 2010; Campisi and Robert, 2014).

The aim of this work was to study SASP of mesenchymal stromal cells (MSCs) and its effect on cells *in vitro*.

The MSCs have a number of regulatory properties, including modulation of the functional status of surrounding tissues. The biological activity of senescent cells is changed. This can accelerate senescence of surrounding cells by forming a positive feedback loop. According to our data the addition of a conditioned medium from the senescent MSCs to the "young" cells or its co-cultivation in the "Transwell" system led to a decreased G2/M phase share of "young" MSCs, which indicates suppression of proliferative activity. *In vitro* studies showed that direct co-cultivation of "young" and "old" fibroblasts leads to an increased damaged DNA foci frequencies, one of the pre-senescence signs (Nelson et al., 2012)

An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of the principal pro-inflammatory of MSC SASP revealed a significant increase of IL-6 concentration at late passages. The IL-8 level did not differ significantly between "early" and "late" passages. Nevertheless, in the "late" passages a great variation of IL-8 production was observed. TGF- $\beta$  analysis indicated stable production of this cytokine under long-term cultivation. Evaluation of the gene expression showed that at senescent cells *IL-6*, *IL-8*, *FGF-2*, *BDNF*, *ANGPT*, *VEGF* were upregulated and *IGF-1*, *BMP-6*, *GDF15*, *TGF $\beta$ 3* and *MCP-1* were downregulated. Thus, senescent cells can influence the cellular environment both in direct contact and through paracrine mediators.

*This work was supported by the RFBR № 16-04-01244*

## **ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛОКОМОТОРНОЙ СТРАТЕГИИ ХОДЬБЫ И БЕГА В ХОДЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЁТОВ**

*Савеко А.А., Рукавишников И.В., Осецкий Н.Ю., Брыков В.И., Рязанский С.Н.*

<sup>1</sup>ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия.

<sup>2</sup>ФГБУ "НИИ ЦПК имени Ю.А.Гагарина".

Локомоторные нарушения являются закономерным следствием космических полетов (Козловская И.Б., 2011; Smith S.M., 2012). Походка членов экипажа даже после относительно коротких космических экспедиций (от 72 часов до 16 суток) отличается выраженной неустойчивостью: космонавты ходят нерешительно, широко расставляя ноги, переваливаясь из стороны в сторону, порой разводя руки для сохранения равновесия (Козловская И.Б., 1979). Влияние факторов гипогравитации и гипокинезии на характеристики естественных локомоций, таких как ходьба и бег, разнообразно. Наиболее яркими примерами этого являются уменьшение мышечной силы на фоне повышения электромиографической активности и стоимости работы мышц (Jaweed M.M., 1994; Шпаков А.В., 2008), снижение объёма и скорости движений в коленном и голеностопном суставах (Панфилов В.Е., 2009, Шпаков А.В., 2016), снижение ортостатической устойчивости (Котов А.Н, 2016). Если после коротких полетов указанные расстройства исчезают к 48 – 72 часам после приземления, то после длительных космических полетов (КП) восстановление локомоторных способностей длится дни и недели (Козловская И.Б., 2013). Так как скорость адаптации у каждого космонавта – индивидуальный, зависящий от множества факторов показатель, можно выдвинуть предположение, что индивидуальные особенности биомеханических характеристик ОР стоп, измеренные в фиксированные дни до, во время и после длительных КП, будут отражать специфичность адаптационного процесса космонавта. Цель настоящей работы составляло исследование биомеханических характеристик ОР стоп у космонавтов в ходе длительных космических полётов, выявление индивидуальных особенностей локомоторной стратегии ходьбы и бега в активном режиме бегущей дорожки.

Исследование проведено в рамках космического эксперимента «Мотокард», выполняющегося с участием российских членов экипажей на борту Международной космической станции (МКС). На российском сегменте МКС исследования по программе «Мотокард» проводились ежемесячно в ходе выполнения локомоторных тренировок. До начала КП и после его завершения проводилось по две сессии эксперимента. Выполняемая



космонавтами локомоторная нагрузка состояла из 5 ступеней: разминочной ходьбы, медленного, среднего и быстрого бега и заминочной ходьбы. При выполнении полётных сессий аксиальная нагрузка, составляющая обычно 60-70% от земного веса космонавта, создаётся специальным тренировочно-нагрузочным костюмом (ТНК). При выполнении теста регистрировали подограмму, записываемую 190-197 тензометрическими датчиками под стопами космонавтов в диапазоне от 0,1 до 3,0 кГс/см<sup>2</sup> с точностью  $\pm 15\%$ , частоту сердечных сокращений (ЧСС) и скорости локомоций.

В эксперименте приняли участие 15 членов экипажей МКС, длительность полетов которых составляла от 5 до 12 месяцев.

Ранее выявленные авторами настоящей работы изменения биомеханических характеристик ОР стоп у космонавтов в ходе КП были особенно выражены в конце первого месяца КП и на 8-е сутки после приземления. Они характеризовались увеличением темпа (частоты шагов) ходьбы и бега, сокращением длины шага, а также достоверным увеличением величины ОР при переднем толчке (космонавт бегал «на носочках»), при этом в КП средние суммарные ОР уменьшались. Новые расчёты величин ОР с учётом величины притяга, создаваемым ТНК бегущей дорожки, и веса тела космонавтов, показали, что у 30,8 % участников эксперимента ОР имели тенденцию к снижению в КП, у 38,5% – к увеличению и у 30,8% – практически не изменялись, однако на 8-е сутки после приземления отмечалась явная однонаправленная тенденция к их увеличению (на  $28,33 \pm 2,93\%$ ). Также результаты анализа стратегии увеличения скорости при переходе от одной ступени теста к другой показали, что до полёта 33,3 % участников эксперимента увеличивали скорость за счёт удлинения шага, 46,67% – за счёт увеличения частоты шага, 20% – за счёт увеличения и длины, и частоты шага. В КП стратегия увеличения скорости изменилась у 60% космонавтов, а на 8-е сутки после приземления - у 46,67% по сравнению с фоновыми значениями. При этом отмечалась высокая неоднородность и индивидуальность как динамики изменения стратегии увеличения скорости, так и динамики продолжительности фаз шага в ходе полёта.

Описанные явления подтверждают выдвинутую гипотезу, а также необходимость дальнейшего исследования индивидуальных особенностей адаптационного процесса. Исследование поддержано государственной корпорацией «Роскосмос».

## **INDIVIDUAL SPECIFIC FEATURES OF THE LOCOMOTOR STRATEGY OF WALKING AND RUNNING IN THE COURSE OF LONG-TERM SPACE FLIGHTS**

*Saveko A.A., Rukavishnikov I.V., Osetskiy N.Y., Brykov V.I., Ryazansky S.N.*

<sup>1</sup>RF SSC - Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow, Russia

<sup>2</sup>State Organization «Yu.A. Gagarin Research & Test Cosmonaut Training Center»

Locomotor disorders are natural consequence of space flights (Kozlovskaya I.B., 2011; Smith S.M., 2012). The gait of space flight crew members, even after relatively short space missions (from 72 hours to 16 days) is characterized by marked instability: cosmonauts walk hesitantly, legs wide apart, swaying from side to side, sometimes spreading out their arms to maintain the balance (Kozlovskaya I.B., 1979). Influence of factors of hypogravity and hypokinesia on the characteristics of natural locomotion, such as walking and running, is diverse. The most bright manifestations of this are the decrease in muscle strength and increase of EMG activity and the cost of muscle work (Jaweed M.M., 1994; Shpakov A.V., 2008), decrease in the volume and speed of movements in the knee and ankle joints (Panfilov V.E., 2009, Shpakov A.V., 2016), decrease in orthostatic stability (Kotov A.N., 2016). If after the short flights these disorders disappear by 48-72 hours after landing, then after the long term space flights (SF) restoration of locomotive abilities lasts days and weeks (Kozlovskaya I.B., 2013). Since the speed of adaptation of each cosmonaut is an individual personality measure, depending on many factors, it can be assumed that the individual specific features of biomechanical characteristics of support reactions, measured before, during and after the long term SF, will reflect the specificity of the adaptation process of the

cosmonaut. The aim of the present work is study of biomechanical characteristics of support reactions (SR) of cosmonauts during long term space flights, identification of individual features of the locomotor strategy of walking and running in the active treadmill mode.

The research was conducted as part of the "Motocard" space experiment performed with the participation of Russian crew members onboard the International Space Station (ISS). In the Russian segment of the ISS the investigations for the "Motocard" program were performed on a monthly basis during the execution of locomotor training. Two sessions of the experiment were conducted before and two after the SF. The locomotor task performed by cosmonauts consisted of 5 stages: warm-up walk, slow, medium and fast run and hitch walk. When performing flight sessions, the axial load, which is usually 60-70% of the earth's weight of the cosmonaut, is created by the special training-load suit (TLS). When performing the test, the podogram was registered, being recorded by 190-197 sensors under the cosmonauts' feet in the range from 0.1 to 3.0 kgf/cm<sup>2</sup> with an accuracy of  $\pm 15\%$ ; heart rate (HR) and locomotion speed were recorded.

15 members of the ISS crews were involved in the experiment; duration of their flights ranged from 5 to 12 months.

Earlier revealed by the authors of the present work, the changes in biomechanical characteristics of SR during SF were especially manifested at the end of the first month of SF and on the 8th day after landing. They were characterized by the increase in the pace (frequency of steps) of walking and running, the reduction in step length, as well as the significant increase of SR at metatarsal areas of the sole (cosmonaut ran "on tiptoe"), while in SF the average total of SR decreased. New calculations of SR values, taking into account the magnitude of retraction created by TLS of the treadmill and the body weight of cosmonauts, demonstrated that 30.8% participants of the SR experiment had tendency to the decrease in SF, 38.5% – to the increase and 30.8% – practically did not change, but on the 8th day after landing there was a clear unidirectional tendency to their increase (in  $28.33 \pm 2.93\%$ ). Also, the results of the analysis of the strategy of increasing the speed during the transition from one stage of the test to another showed that before the flight, 33.3% participants of the experiment increased the speed by lengthening the step, 46.67% – by increasing the step frequency, and 20% – by increasing both the length and the step frequency. In SF the strategy of increase the speed changed at 60% cosmonauts, and on the 8th day after landing-at 46,67%, in comparison with background values. At the same time, the high heterogeneity and individuality of both the dynamics of changing the strategy of increasing the speed and the dynamics of duration of the step phases during the flight were registered.

The described phenomena prove the advanced hypothesis, as well as the need for further study of the individual characteristics of the adaptation process. The study was supported by the "Roscosmos" State Corporation.

## АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ КОСТНОГО СТАТУСА УЧАСТНИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТА «СИРИУС 2017»

*Сервули Е.А.*

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

**Введение:** В предыдущих исследованиях было показано, что пребывание в условиях гиподинамии и ограниченного объема приводит к изменениям в элементах опорно-двигательного аппарата, в том числе костной и мышечной ткани (Servuli E.A., 2016; Oganov V.S. et al., 2014). Даже в краткосрочном периоде в ходе изоляции отмечалось однонаправленное, хоть и не достоверное, снижение содержания костных минералов в организме испытуемых. В ходе данного эксперимента стояла задача более детально исследовать изменения костного статуса в условиях изоляции, а так же определить характер изменений в зависимости от структуры кости (преобладания компактного или трабекулярного компонента).

**Материалы и методы** Обследование (до и сразу после изоляции) выполнено на периферическом рентгеновском компьютерном томографе ХСТ2000L (pQCT). В исследовании приняли участие 5 человек, среди которых 2 мужчин и 3 женщины. Измеряли длину голени от мыщелка большеберцовой кости до медиальной лодыжки. Затем проводили сканирование на уровне 4% (дистальный эпифиз), 38% (диафиз), 66% (диафиз) и 98% (проксимальный эпифиз) от длины большеберцовой кости. В автоматическом режиме проводили реконструкцию данных и построение КТ-срезов на указанных участках. На каждом срезе (толщина среза 1мм) определяли содержание костных минералов (мг), площадь костной ткани (см<sup>2</sup>), затем вычисляли минеральную плотность костной ткани (МПК, мг/см<sup>3</sup>). Анализировали данные минеральной плотности кости полученные до и после изоляции, изменения вычисляли в процентах по отношению к исходным параметрам. Дополнительно анализировали площадь мышечной ткани на уровне диафиза (срезы на 38% и 66% длины голени, толщина срезов 1мм) и вычисляли изменения площади мышцы в процентах по отношению к исходным значениям. Суммарная лучевая нагрузка - до 0,04 мЗв. Чувствительность метода составляет 0.2-0.3% (в зависимости от оператора).

**Результаты:** При анализе полученных данных помимо измерения содержания костных минералов и минеральной плотности кости проводили оценку качества полученных изображений в зависимости от положения и состояния пациента. В области диафиза (срезы на уровне 38% 66%) кость представлена преимущественно компактным веществом, в области эпифизов (срезы на уровне 4% и 98%) – преимущественно губчатым. Наблюдения показали, что изменения костной плотности имеют разнонаправленный характер. Наиболее выраженное изменение минеральной плотности кости (в районе 1%) отмечалось преимущественно в области эпифизов кости. В области диафиза изменение костной плотности было незначительным, на уровне погрешности измерения прибора.

У участника А отмечалось увеличение костной плотности в области дистального диафиза и проксимального эпифиза, у участника В изменения носили разнонаправленный характер, были незначительны. У участника С наиболее выраженные изменения были в области дистального диафиза (снижение костной плотности), у участника D в области проксимального диафиза (увеличение костной плотности), у участника F в области дистального эпифиза и диафиза (увеличение костной плотности).

На анализ изменений мышечной ткани действовал ограничивающий фактор – фиксация мышц держателем для ноги, и как следствие возможное их сдавливание, что могло привести к искажению результатов (отсутствие свободного «виса» мышц). Изменение объема мышечной ткани имели разнонаправленный характер, у мужчин отмечалось снижение мышечной массы, у женщин и снижение и увеличение. Показатели варьировали в пределах от 0,2% до -0,6% в дистальных участках, от 2% до 8,3% в проксимальных. У женщин изменение составило от 1,6% до 2,2% в дистальных участках до 7,1% в проксимальных.

Исследование с помощью pQCT дает более точные результаты по сравнению с денситометрией, поскольку изображение не суммационное, а посрезовое, разрешающая способность прибора выше и используются более совершенные алгоритмы реконструкции (Сервули Е.А., Гордиенко К.А., Новиков В.Е., Васильева Г.Ю., 2017). Поскольку период наблюдения и количество участников эксперимента ограничено, то полученные данные не являются статистически достоверными. Необходимы дальнейшие исследования с более продолжительным периодом гиподинамии в условиях ограниченного объема.

*Автор благодарит участников эксперимента «SIRIUS-17», проявивших большой интерес к исследованию и принявших деятельное участие в его проведении, а также главу отдела Космической физиологии проф. Йорна Риттвегера (Joern Rittweger, DLR, Германия) и его коллег Уве (Uwe Mittag) и Патрика Лау (Patrick Lau) за предоставленную возможность использовать для исследования оборудование DLR и помощь в анализе данных.*

## ANALYSIS PARTICIPANTS'S BONE STATUS IN EXPERIMENT «SIRIUS 2017»

*Servuly E.A.*

Institute of Biomedical Problems of RAS, Moscow

**Introduction:** Previous studies have shown that staying in hypodynamia and limited conditions leads to changes in the elements of the musculoskeletal system, including bone and muscle tissues (Servuly E., 2016; Oganov V., et al., 2014). A unidirectional, although not reliable, decrease of the bone minerals content in the subjects' body was reported even during short-term isolation. The task of this experiment was to investigate in more detail the changes in bone status under isolation conditions, and also to determine the nature of the changes depending on the bone structure (the predominance of a compact or trabecular component).

**Materials and methods:** The examination (before and immediately after isolation) was performed on the XCT2000L peripheral X-ray computer tomograph (pQCT). Five people were involved in the study, including 2 men and 3 women. The length of the shank from the condyle of the tibia to the medial malleolus was measured. Then, a scan was performed at 4% (distal epiphysis), 38% (diaphysis), 66% (diaphysis), and 98% (proximal epiphysis) of the length of the tibia. The data reconstruction and construction of CT cuts were performed in these areas automatically. The content of bone minerals (mg), bone tissue area (cm<sup>2</sup>) were determined on each slice (thickness of slice 1 mm), then bone mineral density (BMD, mg / cm<sup>3</sup>) was calculated. The bone mineral density data obtained before and after isolation was analyzed, the changes were calculated as a percentage of the baseline parameters. In addition, the area of the muscle tissue was analyzed at the level of the diaphysis (cuts at 38% and 66% of the shank length, the thickness of the slices was 1 mm) and the muscle area changes were calculated as a percentage of the baseline values. The total radiation load was up to 0.04 mSv. The sensitivity of the method is 0.2-0.3% (depending on the operator).

**Results:** In addition to measuring bone mineral content and bone mineral density, the quality of the obtained images depending on the position and condition of the patient was assessed during analyze of the obtained data. Bone is represented mainly by a compact substance in the diaphysis region (cuts at the level of 38% and 66%), and mainly by spongy substance in the epiphyses (slices at the level of 4% and 98%). Observations showed that changes in bone density have a multidirectional character. The largest change in bone mineral density (at the level of 1%) was noted mainly in the area of bone epiphysis. In the diaphysis area the change in bone density was insignificant, at the level of measurement error of the device.

The increase in bone density in the distal diaphysis and proximal epiphysis area was reported in participant A; the changes were multidirectional and insignificant in participant B. Participant C had most expressed changes in the area of the distal diaphysis (decrease in bone density), participant D had such changes in the proximal diaphysis (increase in bone density), and participant F had such changes in the distal epiphysis and diaphysis (bone density increase).

The limiting factor, fixation of the muscles by the leg holder, resulting in their possible compression, could affect the results (absence of free muscle "hanging") and the analysis of changes in muscle tissue. The change in the volume of muscle tissue was multidirectional, a decrease in muscle mass was reported in men, and both decrease and increase were marked in women. The indices ranged from 0.2% to -0.6% in the distal areas, and from 2% to 8.3% in the proximal areas. The change was from 1.6% to 2.2% in the distal areas to 7.1% in the proximal areas in women.

Study with pQCT gives more accurate results compared to densitometry, since the image is not summative, but slice-to-slice, resolution of the device is higher, and advanced reconstruction algorithms are used (Servuly E., Gordienko K., Novikov V., Vasilyeva G., 2017). Since the observation period and the number of participants are limited, the data obtained is not statistically reliable. Further studies with a longer period of hypodynamia in limited conditions are needed.

*The author thanks the participants of the experiment "SIRIUS-17", who showed great interest to the*

*study and took an active part in its realization, and also Prof. Jörn Rittweger the Head of the Space Physiology Department (DLR, Germany) and his colleagues Uwe Mittag and Patrick Lau for the opportunity to use DLR hardware and assistance in data analysis.*

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ТОЧНОСТНЫХ ДВИЖЕНИЙ РУК В УСЛОВИЯХ БЕЗОПОРНОСТИ**

**Соснина И.С., Зеленский К.А.**  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В исследованиях, проводимых после длительных космических полетов, было показано, что космонавты испытывают затруднения при выполнении точностных двигательных задач, снижается точность воспроизведения дозированных и дифференцирования близких по величине мышечных усилий, увеличивается время реализации двигательных реакций (Чекирда И.Ф., 1971, Черепяхин М.А, 1969, Шульженко Е.Б., Виль-Вильямс 1976). В работах российских исследователей (Григорьев А.И., и соавт. 2004, Kozlovskaya I.B., et al, 2007) показана триггерная роль опорной разгрузки в запуске указанных нарушений, однако вклад других сенсорных систем до сих пор не определен. Представлялось целесообразным провести исследования в условиях, максимально исключающих влияние других сопутствующих невесомости факторов – нарушения функции вестибулярного аппарата, изменения биомеханики движений, – и открывающих возможности количественной оценки вклада опорного стимула и роли аксиальной нагрузки в определении тех или иных характеристик двигательных реакций. Используемая в исследованиях модель "сухой" иммерсии (СИ), по условиям которой испытуемый погружается в ванну с теплой водой, от которой его отделяет свободно плавающая жесткая эластичная водонепроницаемая ткань, – согласно данным многочисленных исследований, наиболее быстро и полно воспроизводит физиологические эффекты гипогравитации в двигательной системе (Шульженко Е.Б, Виль-Вильямс И.Ф. 1973; Козловская И.Б. и др. 1987, 2006 и др.).

Целью данного исследования явилось определение влияния безопорности и аксиальной нагрузки на характеристики точностных движений рук.

Была проведена серия экспериментов, в которых принимали участие в общей сложности 39 испытуемых-добровольцев в возрасте от 18 до 44 лет. Участники эксперимента были разделены на две группы, в одной из которых (группа «СИ») испытуемый не подвергался каким-либо другим воздействиям, а в другой (группа «СИ+Пингвин») испытуемые ежедневно в течение 4-х часов были одеты в костюм аксиального нагружения «Пингвин», обеспечивающий создание весовой осевой нагрузки на тело величиной 16-18 кг. Длительность иммерсионного воздействия составляла 5 суток. Исследования проводились дважды до начала СИ, на 2-е,3-и,5-е сутки иммерсионного воздействия, а также через 3-5 часов после его завершения.

В задачу испытуемых входило выполнение двух тестов.

**Первый тест на градацию усилий** представлял собой выполнение с помощью ручного динамометра ряда усилий от минимального до максимального с минимальной разницей между соседними движениями без зрительной обратной связи. Анализировали величину минимального усилия (абсолютный порог), среднюю разницу между соседними усилиями (дифференциальный порог) и количество ошибок (случаи, когда последующее движение не превышало по силе предыдущее). Анализ полученных данных показал, что в группе «СИ» в ходе иммерсии выявлялась тенденция к повышению дифференциального порога, а в группе «СИ+Пингвин» дифференциальный порог снижался в среднем на 20%. Абсолютный порог усилия в группе «СИ» в ходе иммерсии также имел тенденцию кувеличению (в среднем на 11%), возвращаясь после окончания иммерсионного воздействия к исходным значениям. В группе «СИ+Пингвин» этот показатель снижался до 50% к концу

иммерсии. Количество ошибок также было ниже в группе «СИ+Пингвин» по сравнению с группой «СИ».

**Во втором тесте на воспроизведение усилий по памяти** двигательная задача заключалась в выполнении 5 сжатий с усилием в 30% от максимального произвольного усилия, определенного в начале теста. Задача выполнялась вначале с открытыми, а затем – с закрытыми глазами. В качестве усложненной модификации теста последнюю серию воспроизведения усилий с закрытыми глазами испытатель осуществлял левой, «не тренируемой» до этого рукой.

Точность воспроизведения заданных усилий по памяти в первые дни иммерсионного воздействия в группе «СИ» снижалась, достоверными эти изменения были лишь в задаче с воспроизведением усилия в 30% нетренируемой рукой. В группе «СИ+Пингвин» достоверных различий не обнаружено.

Вариабельность исследуемых параметров в фоновых исследованиях в обеих группах была ниже значений, регистрируемых в ходе СИ, что свидетельствует о снижении стабильности в системе двигательных реакций в условиях опорной разгрузки. Уменьшение числа ошибок во время иммерсии при выполнении теста на градацию усилий может свидетельствовать о процессах обучения. Повышение уровня точности произвольных движений в экспериментальной группе свидетельствует о важной роли весовой аксиальной нагрузки в системе управления движениями.

Исследование поддержано ГРАНТ РФФИ №16-29-08320-ОФИ-м

## **INVESTIGATION OF HAND ACCURACY MOVEMENT UNDER THE CONDITIONS OF SUPPORTLESSNESS**

*Sosnina I.S., Zelensky K.A.*  
SSC RF - IBMP RAS, Moscow

In investigations, conducted after long-term space flights, it has been shown that cosmonauts experience difficulties in performing of precise movement tasks, the reproduction accuracy of dosed muscle force and differentiation of muscle forces close to each other is decreasing, as well as the increase of the realization time of motor reactions (Chekirda IF, 1971, Cherepakhin M .A, 1969, Shulzhenko EB, Wil-Williams 1976). In the works of Russian researchers (Grigoriev AI, 2004, Kozlovskaya I.B., et al, 2007), the trigger role of the support unloading in development of these disorders has been shown, but the contribution of other sensory systems has not yet been determined. It was considered reasonable to carry out research in the conditions that exclude the influence of other accompanying weightlessness factors, i.e. the disturbance of the function of the vestibular apparatus, changes in the movement biomechanics, and allow for a quantitative assessment of the contribution of the support stimulus and the role of the axial load in determining certain characteristics of motor reactions. The Dry immersion model (DI) used in the studies, when the subject is immersed in a reservoir of warm water from which he is separated by a free-floating rigid elastic waterproof fabric, according to numerous studies, is the quickest and fullest reproduction of the physiological effects of hypogravity in the motor system (Shulzhenko EB, Wil-Williams IF 1973, Kozlovskaya IB et al 1987, 2006, etc.).

The purpose of this study was to determine the effect of supportlessness and axial loading on the characteristics of hands' accuracy movements.

A series of experiments were conducted within which a total of 39 volunteer subjects took part aged from 18 to 44. Participants in the experiment were divided into two groups, in one of which (the DI group) the subjects were not exposed to any other influences, and in the other (the DI + Penguin group) the subjects were wearing "Penguin" axial loading suit for 4 hours daily, providing the creation of a weight axial load of 16-18 kg on a body. The duration of exposure to DI was 5 days. The studies were carried out twice before the beginning of DI, on the 2nd, 3rd, 5th day of DI exposure, and also 3-5 hours after its completion.

The task for the subjects was to perform two tests.

The first test for the gradation of muscle efforts was the execution of a series of efforts with a hand dynamometer from minimum to maximum with a minimum difference between neighboring efforts without visual feedback. The amplitude of the minimum force (absolute threshold), the average difference between neighboring efforts (differential threshold) and the number of errors (the cases when the subsequent movement did not exceed the strength of the previous effort) were analyzed. An analysis of the obtained data showed that there was a tendency for the increase of the differential threshold in the "DI" group during the immersion, while in the "DI + Penguin" group the differential threshold was reduced by an average of 20%. The absolute threshold of effort in the DI group during the immersion also tended to increase (on average by 11%), returning after the end of the immersion effect to the initial values. In the "DI + Penguin" group, that indicator showed a decrease to 50% by the end of the immersion. The number of errors was also lower in the "DI + Penguin" group compared to that of the "DI" group.

In the second test for the reproduction of efforts from memory, the motor task consisted of executing a series of 5 compressions of the dynamometer with a force of 30% of the maximum voluntary force determined at the beginning of the test. The task was carried out initially with the eyes open, and then with the eyes closed. As a complicated modification of the test, the last series of reproduction of efforts with the eyes closed was carried out by the tester with a left, "untrained" hand.

Accuracy of the reproduction of the given efforts by memory in the first days of exposure to the immersion in the "DI" group was reduced, these changes were reliable only in the task of reproducing the effort of 30% by the non-trained hand. In the "DI + Penguin" group no significant differences were found.

The variability of the investigated parameters in background studies in both groups was lower than the values recorded during DI that indicates a stability decrease in the motor control system under the conditions of support unloading. Reduction of the number of errors during exposure to DI while carrying out the effort grading test can be the sign of learning processes. An increase of the accuracy level of voluntary movements in the experimental group indicates an important role of the weight axial load in the motor control system.

The study was supported by RFBR project № 16-29-08320-OFI-m.

## **ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ИЗОЛЯЦИИ НА КОММУНИКАТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ЭКИПАЖА (ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА СИРИУС-17)**

*Суполкина Н.С., Швед Д.М.*  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Модельные изоляционные эксперименты регулярно проводятся в ИМБП с конца 1960-х годов по настоящее время, подобный формат исследования позволяет ученым в земных условиях воспроизводить действие на человека (включая его психофизиологическое состояние) различных факторов КП.

В рамках 17-дневного эксперимента SIRIUS-17, проводившегося в ИМБП октябрь-ноябре 2017 года, изучалось влияние на психоэмоциональное состояние экипажа таких факторов как сенсорная депривация, социальная изоляция, депривация сна. Следует отметить, что оценка психоэмоционального состояния человека на орбите является обязательным элементом обеспечения безопасности космонавта и входит в систему медицинского контроля полета.

В качестве материала для исследования выступала коммуникация участников эксперимента с наземными службами в рамках ежедневных планировочных конференций. Анализ переговоров экипажа и ЦУП является штатной процедурой оценки психофизиологического состояния космонавта на орбите (Мясников В.И., Степанова С.И. М., 2000), также этот метод релевантен и в модельных экспериментах.

Исследование речи в SIRIUS-17 проводилось с помощью метода контент-анализа, который неоднократно применялся в таких модельных экспериментах, как HUBES-94, ECOPSY-95, SFINCSS-99, MARS-500, а также является основным методом оценки психоэмоционального состояния космонавтов в космическом эксперименте «Контент». Преимущество контент-анализа заключается в возможности достаточно объективной оценки психологического состояния и особенностей поведения коммуникантов без вмешательства в их реальную деятельность (Гущин В.И., Юсупова, А.К., 2011). Процедура анализа текста сводится к кодированию смысловых единиц (высказываний) с помощью категорий, обозначающих психоэмоциональное напряжение (например, отражающих использование эффективных и неэффективных копинг-стратегий).

Качественный анализ полученных в эксперименте данных позволяет говорить о том, что изоляционные факторы вызывают эмоциональное напряжение у всех членов экипажа, не достигающее степени дезадаптации. При этом, испытуемые, прошедшие космическую подготовку, выделялись более частым использованием в общении эффективных стратегий стресс-копинга и более низкой групповой конформностью. Группы мужчин и женщин различались по общему объему общения с ЦУП и по использованию копинг-стратегий, в особенности, неэффективных: женщины общались примерно в 2 раза больше, чем мужчины и в 1,5 раза реже использовали в общении неэффективные стратегии совладания. Можно предположить, что факторы изоляции вызывали большую степень психоэмоционального напряжения у мужской части данного экипажа, чем у женской.

Полученные в данном исследовании результаты являются предварительными и указывают на необходимость дальнейшей обработки исходных данных, а также проведения новых экспериментальных исследований большей продолжительности.

## **EFFECTS OF ISOLATION ON THE CREW COMMUNICATIVE BEHAVIOR (THE PRELIMINARY RESULTS OF THE SIRIUS-17 EXPERIMENT)**

*Supolkina N.S., Shved D.M.*  
SSC RF-IBMP RAS, Moscow

Isolation experiments are being held in IBMP from the late 60s to the present. This research format allows scientists to reproduce the space flight factors, both physiological and psychological, while staying on the ground.

The SIRIUS-17 experiment took place in IBMP in October-November 2017. The main studied issues of this experiment were isolation factor effects (such as sensory deprivation, social isolation, sleep deprivation) on the psychoemotional state of crew.

Assessment of the psycho-emotional state of the person on Earth's orbit is a required element for ensuring safety of cosmonauts, representing the part of medical space flight control. In present research, crewmembers speech (daily planning conferences with ground services) was studied. Analysis of conversation between the crew and MCC is an established procedure of assessment of cosmonauts' psychophysiological state in flight (Myasnikov, Stepanova, 2000). This research method is appropriate for model isolation experiments as well.

Method of content analysis, applied in SIRIUS-17, was used in previous IBMP isolation experiments (HUBES-94, ECOPSY-95, SFINCSS-99, MARS-500). Content analysis is the main psycho-emotional state assessment method used in "Content" space experiment. The main advantage of content analysis is its non-invasiveness; also, it requires no additional cosmonauts' work time (Gushin, Yusupova, 2011). The analysis procedure requires coding semantic units (statements) in text, using a system of categories marking psychoemotional stress (for example, efficient and inefficient coping strategies).

A qualitative analysis of SIRIUS-17 data shows that isolation factors cause emotional stress (prior to disadaptation degree) in all crewmembers. The participants having space training



background differed in use of effective stress-coping strategies in communication and showed lower group conformity. Groups of men and women differed in total amount of communication with the MCC and in use of coping strategies. Women communicated about 2 times more than men did, and used ineffective coping strategies 1.5 times less men did, what may point out to the fact that during this study isolation factors caused a greater degree of psychoemotional stress in men than in women.

The results obtained in this study are preliminary and need further processing of the initial data, as well as obtaining of additional data in experimental studies of longer duration.

## **ДИНАМИКА НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПЕРАТОРА В УСЛОВИЯХ ИЗОЛЯЦИИ**

*Счастливец Д.В.*

ГНЦ РФ-ИМБП РАН, Москва

e-mail: [scdarya@yandex.ru](mailto:scdarya@yandex.ru)

Научный руководитель: Котровская Т.И., к.б.н.

С 1967 года на базе ГНЦ РФ-ИМБП РАН ведутся исследования в наземном медико-техническом экспериментальном комплексе (НЭК) в условиях изоляции. За это время было проведено множество экспериментов, с различными целями. Изучали взаимодействия в системе «человек – окружающая среда», получая при этом данные о состоянии здоровья (физическом и психическом) и о работоспособности человека, длительно находящегося в условиях изоляции в герметично замкнутом пространстве ограниченного объема. Моделировали основные факторы космического полета: длительность, автономность, измененные условия коммуникации с Землей – задержка связи, лимит расходуемых ресурсов, отработывали технологии медицинского обеспечения космонавтов применительно к длительному пребыванию в космическом пространстве в целях поддержания предстоящих космических экспериментов на МКС, а также уменьшения рисков в перспективных космических исследовательских миссиях. На данный момент в НЭКе проводятся эксперименты различной длительности (от 2 недель до 1 года), при смешанном гендерном и многонациональном составе экипажа.

Из литературных данных известно, что существует зависимость электроэнцефалографических признаков от пола, например, ширина альфа-диапазона больше у мужчин, а вариабельность амплитуды альфа-веретена - у женщин; межполушарная коннективность у женщин выше по сравнению с мужчинами; у мужчин преобладает внутриполушарная пространственно-временная когерентность в бета-диапазоне, а у женщин - межполушарная когерентность в диапазонах всех физиологических ритмов. Основной особенностью исследований в области когнитивной нейрофизиологии является анализ мозговой активности в процессе решения когнитивных задач, при широком спектре процессов преобразования информации при реализации целостных форм поведения – в частности, восприятия, внимания, памяти, речи, принятия решений, мотивационной и аффективной регуляции поведения.

Цель: провести комплексную оценку динамики нейрофизиологических реакций и психофизиологических особенностей (восприятия, рабочей памяти, произвольного внимания) в процессе моделирования профессиональной деятельности оператора в условиях изоляции.

В эксперименте принимали участие 3 добровольца мужского пола в возрасте от 33 до 43 лет ( $36,3 \pm 3,3$ ) и 3 добровольцев женского пола в возрасте от 27 до 37 лет ( $32,3 \pm 2,9$ ), которые в течение 17 дней находились в НЭКе, где обеспечивались оптимальные условия обитания (температуры, газового состава воздуха и влажности). Съём данных проходил в фоне (до начала изоляции), и 2 раза в последствии на 1 сутки после (+1), и на 6 суток после выхода из НЭКа – +6. Запись ЭЭГ

осуществлялась монополярно от 19 стандартных отведений по международной системе 10-20 % в состоянии "глаза закрыты". Результаты обрабатывали методом спектрально-корреляционного анализа на основе быстрого преобразования Фурье, рассчитывали относительные значения мощности (ОЗМ) спектра основных ЭЭГ-диапазонов суммарно для всех отведений. При помощи ПО «Clever Balls» версия 0.7.1 проводились тестирования, направленные на развитие таких навыков как распределенное слежение, повышение скорости и точности принятия решения. В процессе выполнения тестов доброволец задействовал различные виды памяти (по характеру психической активности): двигательную (память на движения), образную (память на представления характерна для идеомоторной тренировки) и словесно-логическую. Полученные значения подвергались вторичной обработке по стандартным статистическим методикам (Statistica, 8).

Классический ЭЭГ-анализ выявил, что у всех добровольцев наблюдался I тип ЭЭГ-паттерна – организованный во времени и пространстве, при доминировании зонально-дифференцированного  $\alpha$ -ритма с затылочно-лобным градиентом амплитуды. Это позволяет утверждать, что состав группы был весьма однороден по типу нейрофизиологических реакций и по характеру корково-подкорковых взаимодействий, несмотря на гендерные различия.

При статистическом анализе ОЗМ всех диапазонов, не наблюдали достоверных отличий в последствии (на +1 и +6) относительно фона.

Еще одним важным показателем функциональных изменений биопотенциалов коры головного мозга, отражающихся на ЭЭГ, является индекс альфа-ритма. В норме он составляет 65-95%, а ниже 50% расценивается как патология. Снижение альфа-индекса свидетельствует об отрицательной динамике ЭЭГ, что связано с повышением индексов тета- и дельта-индексов. Наблюдали разнонаправленные изменения этого показателя. На 6 сутки в последствии выявлены гендерные различия на уровне статистической тенденции ( $p=0,1$ ): у женщин-добровольцев индекс альфа-активности увеличивается, в то время как у мужчин – уменьшается.

Что касается результатов выполнения ПО «Clever Ball» по тесту «Матрица» в последствии (+6) выявлено увеличение правильных кликов на 10,7 %, при одновременном снижении ошибочных кликов на 33,9%. По результатам теста «Вспышка» – количество правильных кликов статистически достоверно выше в последствии (+ 6) относительно фона на 40%. При выполнении теста «Снайпер» количество правильных кликов статистически достоверно увеличивается на 64,4%, при одновременном уменьшении ошибочных – на 21,3%, при этом возрастает количество пройденных этапов на 21,8%. Различия по гендерному признаку в результатах выполнения теста «Снайпер» в последствии (+6) находятся на уровне статистической тенденции ( $p=0,01$ ): количество правильных кликов у женщин-добровольцев в среднем повысилось на 114%, а у мужчин-добровольцев на 43,3% по сравнению с фоном.

Таким образом, различий между исследуемыми параметрами ЭЭГ после завершения изоляции, а также на шестой день после окончания эксперимента по сравнению с фоном не выявлено, что свидетельствует о сходстве функционального состояния головного мозга добровольцев до и после изоляции. Между гендерными выборками статистически достоверных различий по исследуемым показателям ЭЭГ ни на одном из срезов эксперимента и по относительному показателю динамики не было обнаружено. Выявлено статистически значимые улучшение результатов выполнения всех тестовых заданий ПО «Clever Ball». Поскольку до начала эксперимента его участники не вышли на уровень «плато» по результатам выполнения тестов, то полученные результаты, скорее всего, следует интерпретировать как эффект обучения, преобладающий над влиянием неблагоприятных факторов изоляции.

В связи с тем, что в группе добровольцев, в целом, после изоляции функциональное состояние головного мозга (по исследуемым параметрам ЭЭГ) не отличалось от фона, можно предположить, что ситуация не явилась стрессовой для функционирования центральной нервной системы добровольцев. Это косвенно подтверждается показателями теста «Clever Balls», которые демонстрировали феномен обучения, совершенствования навыка по выполнению предъявляемых задач.

# HUMAN DYNAMICS OF NEUROPHYSIOLOGICAL REACTIONS AND PSYCHOPHYSIOLOGICAL FEATURES IN ISOLATION

*Schastlivtseva D.V.*

SSC RF-IMBP of RAS, Moscow

e-mail: [scdarya@yandex.ru](mailto:scdarya@yandex.ru)

Scientific adviser: Kotrovskaya T.I., Ph.D.

Isolation studies are conducted at the SSC RF-IBMP RAS research experimental complex (REC) since 1967. During this time, many experiments were conducted, with various purposes. We studied the interactions in the "person-environment" system, while receiving data on the state of health (physical and mental) and on the performance of a person who has been in isolation for a long time in a hermetically closed space of limited volume. The main factors of space flight: duration, autonomy, changed conditions for communication with the Earth - delay in communication, limited use of resources, development of medical technologies for a long stay in space were modeled. This was done to support future space experiments on the ISS, as well as to reduce risks in future space missions. At the moment, in REC the experiments of various duration (from 2 weeks to 1 year) are conducted, with a crew differentiated by gender and national composition.

From the literature data it is known that there is a dependence of neurophysiologic features from the gender. The alpha range is wider in men, and the variability of the amplitude of the alpha-spindle in women; inter-hemispheric connectivity in women is higher than in men; in men intra-hemispheric spatiotemporal coherence predominates in the beta range, and in women – inter-hemispheric coherence in the ranges of all rhythms. The main feature of research in the field of cognitive neurophysiology is the analysis of brain activity in the process of solving cognitive problems, with a wide range of information conversion processes in the implementation of holistic forms of behavior – in particular, perception, attention, memory, speech, decision-making, motivational and affective behavioral regulation.

Objective: to evaluate the dynamics of a complex of neurophysiological reactions and psychophysiological features (perception, operative memory, voluntary attention) in the process of modeling the professional activity of an operator in isolation.

Three male volunteers aged 33 to 43 years ( $36.3 \pm 3.3$ ) and three female volunteers aged 27 to 37 ( $32.3 \pm 2.9$ ) who participated in the experiment for 17 days were in the REC, where optimal conditions were provided (temperature, gas composition of air and humidity). The data were obtained in the background (before the isolation), and 2 times in the aftereffect on the 1 day after (+1), and on the 6th day after the exit from the REC - +6. The EEG was recorded unipolar from 19 standard leads by the international system 10-20% in the state of "eyes closed". The results were processed by spectral-correlation analysis based on fast Fourier transform, the relative power values (RPV) of the main EEG spectrum bands were computed for all leads. «Clever Balls» software version 0.7.1 conducted tests aimed at developing skills such as distributed tracking, increasing the speed and accuracy of decision making. During the tests, the volunteer used various types of memory (by the nature of mental activity): motor (memory for movement), imaginative (the memory for representations is characteristic of ideomotor training) and verbal-logical. The values obtained were subjected to secondary processing by standard statistical methods (Statistica, 8).

EEG classical analysis revealed that all volunteers had type I EEG pattern - organized in time and space, with the dominance of the zonal-differentiated  $\alpha$ -rhythm with the occipital-frontal amplitude gradient. This allows us to state that the composition of the group was very homogeneous in terms of the type of neurophysiological reactions and the nature of the cortical-subcortical interactions, despite gender differences.

Statistical analysis of RPVs of all ranges did not reveal significant differences in aftereffects (by +1 and +6) with respect to the background.

Another important indicator of the functional changes in cerebral cortical biopotentials is the alpha

rhythm index. Normally, it is 65-95%, and below 50% is regarded as pathology. The decrease in the alpha-index indicates negative dynamics of the EEG, which is associated with an increase in the indices of theta and delta indices. The multidirectional changes of the indicator were observed. Gender differences were revealed in the aftereffect (+6) at the level of the statistical trend ( $p = 0.1$ ): for women volunteers, the alpha-activity index increases, while for men it decreases.

As for the results of the implementation of the «Clever Balls» software in the «Matrix» test in the aftereffect (+6), the increase in correct clicks by 10.7% was found, while the error in clicks decreased by 33.9%. According to the results of the «Flash» test - the number of right clicks is statistically significantly higher in the aftereffect (+ 6) relative to the background by 40%. When performing the «Sniper» test, the number of valid clicks statistically significant increases by 64.4%, while the decrease of erroneous clicks increases by 21.3%, while the number of passed stages increases by 21.8%. The gender differences in the results of the Sniper test in aftereffects (+6) are at the level of the statistical trend ( $p = 0.01$ ): the number of right clicks in female volunteers increased by 114% on average, while for male volunteers 43.3% compared to the background.

Thus, the differences between the EEG parameters studied after the isolation, and also on the sixth day after the end of the experiment in comparison with the background, were not revealed, which indicates the similarity of the functional state of the brain of volunteers before and after isolation. Between the gender samples of statistically significant differences in the EEG indicators studied, none of the sections of the experiment and the relative index of dynamics were found. A statistically significant improvement in the results of all the test tasks of the «Clever Balls» software has been revealed. Since before the beginning of the experiment, its participants did not reach the level of the "plateau" based on the results of the tests, the results most likely should be interpreted as the learning effect prevailing over the influence of unfavorable isolation factors.

In connection with the fact that in the group of volunteers, in general, after isolation, the functional state of the brain (by the EEG parameters studied) did not differ from the background, it can be assumed that the situation was not stressful for the functioning of the central nervous system of volunteers. This is indirectly confirmed by the indicators of the «Clever Balls» test, which demonstrated the phenomenon of learning, improving the skills to perform the tasks presented.

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ ОПОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА АНАБОЛИЧЕСКИЙ ОТВЕТ ПОСЛЕ ЭКСЦЕНТРИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ EXVIVO В КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЕ КРЫСЫ НА ФОНЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ**

*Тыганов С.А, Мирзоев Т.М., Рожков С.В.  
Научный руководитель-д.б.н., профессор Шенкман Б.С.  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва*

Одним из факторов космического полета, который оказывает существенное воздействие на регуляцию в двигательной системе человека, является устранение опоры (support withdrawal). В последние годы усилиями ряда авторов были выявлены афферентные механизмы, определяющие восприятие опоры и сформировано представление об особой афферентной системе - системе опорной афферентации (Kozlovskayaetal., 1987; Grigorievetal., 2004; Shenkmanetal., 2017). Целью работы являлся анализ ответа изолированной m. soleus на серию стандартных эксцентрических сокращений, которые обычно вызывают острую активацию анаболических сигнальных путей, в условиях моделируемой микрогравитации и сопутствующей опорной стимуляции. В качестве основной модели микрогравитации использовалась классическая модель антиортостатического вывешивания лабораторных грызунов Ильина-Новикова в модификации Morey-Holton с продолжительностью экспозиции 3 суток. На фоне вывешивания у части животных была проведена механическая стимуляция опорных зон стопы в течении 4 часов в день. По окончании третьих суток вывешивания осуществлялась серия эксцентрических сокращений изолированной m. soleus с помощью

стимуляции электрическим полем (80V 50 Hz в течение 3 секунд). Во время стимуляции мышца растягивалась на 15% от исходной длины. Для абсолютной силы изометрического сокращения и для нормированной на ППС силы мы наблюдали достоверное снижение максимума на 19% и 13% соответственно в группе 3-суточного вывешивания. Мы не зафиксировали данное снижение в группе с опорной стимуляцией. После окончания 30-минутной серии сокращений мышца оставалась в указанном растворе еще в течение 30 минут, после чего замораживалась в жидком азоте. При анализе уровня фосфорилирования основной мишени mTORC1 рибосомальной киназы p70S6K было обнаружено, что уровень фосфорилирования этого фермента в интактной мышце после вывешивания и вывешивания с опорной стимуляцией не отличался от контрольного. В то же время, прирост содержания фосфорилированной p70S6K после эксцентрических сокращений был примерно в полтора раза ниже у вывешенных животных, а у животных, вывешенных и подвергавшихся опорной стимуляции, не демонстрировал достоверных отличий от контрольного уровня. Аналогичные результаты были получены при исследовании острой реакции интенсивности белкового синтеза (при использовании пурамицинового метода на эксцентрический стимул). Мы предполагаем, что эти эффекты опорной стимуляции обусловлены увеличением электрической и соответственно механической ненагруженной активности камбаловидной мышцы. Работа поддержана Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБПРАН.

## **EFFECTS OF PLANTAR MECHANICAL STIMULATION DURING HINDLIMB UNLOADING TO ECCENTRIC CONTRACTIONS ON ANABOLIC RESPONSE IN RAT SOLEUS**

*Tyganov S.A., Mirzoev T.M., Rozhkov S.V.  
Scientific adviser-professor PhD, DSc., B.S. Shenkman*

INSTITUTE OF BIOMEDICAL PROBLEMS RAS, Moscow

Support withdrawal is one of the key factors during space flight, which significantly affects the regulation of the human neuromuscular system. In recent years, afferent mechanisms responsible for support perception have been revealed and the leading role of support afferentation in control of the tonic muscle system has been shown (Kozlovskaya et al., 1987; Grigoriev et al, 2004; Shenkman et al., 2017). The aim of our study was to analyze an anabolic response of the unloaded rat soleus muscle to a single bout of ex vivo eccentric contractions (EC) following plantar foot stimulation. A standard 3-day hindlimb suspension (HS) was performed in order to simulate effects of microgravity on a rat soleus muscle. One of the HS groups was subjected to plantar mechanical stimulation for 4 hours per day. After the third day of unloading an isolated soleus muscle was subjected to a bout of eccentric contractions (EC) (80V, 50HZ, 15% from L0 stretch for 3 second). We found a significant 15% and 13% decrease in absolute and specific force, respectively, in isometric contraction test. Nevertheless, we did not observe such a decrease in force in the HS+ plantar stimulation group. After EC, isolated soleus muscles remained in saline for 30 minutes and then frozen in liquid nitrogen for further biochemical analyses. We didn't find any significant changes in p70S6k content or phosphorylation after 3-day HS with or without plantar stimulation. However, EC resulted in a significant increase in p70S6k phosphorylation in the control and HS+ plantar stimulation groups compared to the HS group. We also observed a similar effect for S6 ribosomal protein and overall protein synthesis measured using SUnSET method. Our data suggest that the observed effects of the plantar stimulation are linked with an increase in electric and, thereafter, unloaded mechanical activity of the rat soleus muscle. The study was supported by the Basic Research Program of the SSC RF - IBMP RAS.

## ОСОБЕННОСТИ МОНИТОРИНГА СУТОЧНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ

*Федяй С. О., Бурлак Е. Ю., Круглова А. В.*

*Научный руководитель: Гуцин В.И.*

(Государственный научный центр Российской Федерации –  
Институт медико-биологических проблем РАН, Москва)

Выполнение профессиональной деятельности, в том числе в ночное время, требует оценки психофизиологических параметров оператора, которая должна осуществляться неинвазивно, без создания помех и дискомфорта для обследуемого. Метод актиграфии способен обеспечить прямую объективную оценку суточной двигательной активности без ограничения привычного функционирования человека (Standards of Practice Committee, American Academy of Sleep Medicine, 2007). В «Программе исследований человека» (HRP, NASA) в разделе «Психическое здоровье и работоспособность» выделена отдельная группа рисков возникновения ошибок из-за нарушений сна, десинхронизации циркадных ритмов, хронической усталости и переутомления (NASA, SP-2009-3405).

Полученные в модельных экспериментах фоновые данные актиграфического обследования, сопоставленные с результатами медико-биологических исследований на борту МКС, позволят оптимизировать рекомендации к режиму труда и отдыха космонавтов.

**Цель.** Изучение суточной двигательной активности и качества сна членов экипажа для прогнозирования психофизиологического состояния и работоспособности оператора

**Материалы и методы.** В рамках эксперимента «Вулкан» проводилось изучение суточной двигательной активности и качества сна членов экипажа для прогнозирования психофизиологического состояния и работоспособности оператора. Объектом данного исследования выступил международный экипаж, состоявший из 6 человек, модельного 17-суточного изоляционного эксперимента по имитации воздействия факторов межпланетного космического полета «SIRIUS-17». Проводилось круглосуточное измерение двигательной активности методом актиграфии носимыми браслетами ActiGraphwGT3X-BT. Полученные актограммы сопоставлялись с данными Лидского опросника сна. Оценка психофизиологического состояния и психической трудоспособности операторов осуществлялась при помощи батареи когнитивных тестов КЭ «Пилот-Т, электронного теста цветовых выборов (в модификации Л.Н. Собчик) и теста Спилбергера.

Чтобы разграничить влияние искусственно созданного дефицита сна от влияния на сон факторов изоляции были обработаны данные, полученные до депривации сна. Обработка результатов, полученных при депривации сна, а также данных дополнительных методик, будет следующим шагом.

Для удобства обработки каждые сутки изоляции были разделены на зону ночного отдыха и рабочую зону. Под ночным отдыхом мы подразумевали отрезок времени от отбоя до подъема по данным актиграфии. Рабочая зона ограничивалась утренней и вечерней ежедневной конференцией по планированию (DPC). В зоне ночного отдыха учитывалась его общая длительность и времена ночной активности в нем. Рабочая зона состояла из периодов двигательной активности и двигательного покоя. Оценка качества сна основывалась на сравнительном анализе периодов ночного покоя и двигательной активности (беспокойства), выявленного методом актиграфии во время ночного отдыха.

Учитывая размер выборки и условия решения поставленных задач, при статистической обработке результатов использовались методы дисперсионного и регрессионного анализа. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

**Результаты.** Впервые получены данные о круглосуточной активности членов экипажа в ходе пребывания в гермокамерах.

Средне статистические данные по всему экипажу показали, что продолжительность

рабочей зоны составила  $684 \pm 33$  минуты, при длительности ночного отдыха  $396 \pm 51$  минут. Период дневного покоя в структуре рабочей зоны в среднем составил  $91 \pm 41$  минуту. В зоне ночного отдыха период активности (беспокойства) в среднем занимал  $58 \pm 28$  минут. Статистически значимого различия в длительности рабочей зоны среди членов экипажа обнаружено не было ( $p > 0,05$ ). При разделении обследуемых на группы по гендерному признаку было выявлено, что в рабочей зоне мужчины находились в состоянии покоя достоверно более длительный период времени, чем женщины ( $p < 0,05$ ). Средняя продолжительность периода покоя у мужчин составила  $114 \pm 36$  минуты, а у женщин  $69 \pm 33$  минут. Продолжительность покоя в экипаже после обеда была  $64 \pm 39$  минуты, что достоверно выше его дообеденных значений ( $27 \pm 25$  минут).

В связи с тем, что данные о ночном отдыхе испытуемого D были получены частично, мы исключили их из дальнейшего сравнительного анализа.

Достоверно высокие значения ночной двигательной активности в структуре ночного отдыха показали обследуемые E и F ( $p < 0,05$ ). У оператора E ночная активность занимала в среднем  $85 \pm 29$  минут от общего времени ночного отдыха ( $397 \pm 51$  минут). У оператора F средние значения ночной активности составили  $87 \pm 17$  минут при длительности ночного отдыха  $395 \pm 74$  минут. Продолжительность ночного отдыха у обследуемых A, B и C составила  $405 \pm 39$ ,  $406 \pm 43$  и  $378 \pm 41$  минут соответственно. При этом на долю двигательной активности за ночь у оператора A пришлось  $46 \pm 11$  минут от общего времени отдыха, оператор B в состоянии активности в среднем проводил  $37 \pm 5$  минут, а оператор C  $36 \pm 6$  минут за время ночного отдыха.

Лидский опросник оценки сна у обследуемого D по средним значениям соответствовал обычному уровню легкости засыпания, качеству сна, легкости пробуждения и состоянию после пробуждения. Средние значения опросника сна операторов E и F также свидетельствовали о беспокойном сне. В разделах о качестве засыпания, пробуждения и состояния после пробуждения данные обследуемые не отметили выраженных изменений. Оператор A в Лидском опроснике отметил более беспокойный сон, однако, и более бодрое состояние при пробуждении, у оператора B процесс засыпания был труднее, а состояние после пробуждения более сонливым, чем обычно. Согласно данным опросника C член экипажа в первые три дня изоляции чувствовал себя более сонным и отмечал более легкий процесс засыпания, однако далее также стал испытывать трудности как с засыпанием, так и с пробуждением.

Достоверно высокие значения тревоги по методике цветовых предпочтений были выявлены у обследуемых E и F ( $p < 0,05$ ). Также оператор E показал умеренный уровень тревоги по самооценочному опроснику Спилбергера. Члены экипажа D, A, B и C отличались низким уровнем тревоги по обоим методикам. По данным регрессионного анализа рост тревоги до среднего уровня и выше сопровождался увеличением длительности ночной активности свыше 60 минут. Наибольшую чувствительность из когнитивных тестов к продолжительности ночного покоя показал тест на время зрительно-моторной реакции. Испытуемым требовалось больше времени на осуществление реакции, если их ночной покой был менее 5 часов ( $p < 0,05$ ).

Выводы: Таким образом, были обнаружены достоверные различия в длительности дневной двигательной активности между мужчинами и женщинами. Продолжительность сна у всех членов экипажа была меньше запланированных в РТО значений. Двое из шести членов экипажа имели нарушения, связанные с качеством сна и имели сопутствующий высокий уровень тревоги. Полученные данные требуют дальнейшего уточнения. Целесообразно проведение дальнейших исследований в этом направлении, в том числе с увеличением сроков воздействия изоляции (в частности, в рамках проекта SIRIUS), для сопоставления с результатами медико-биологических исследований на борту МКС, что в перспективе позволит оптимизировать рекомендации к режиму труда и отдыха космонавтов.

## MONITORING FEATURES OF THE DAILY HUMAN MOTOR ACTIVITY IN ISOLATION CHAMBER

*Fedyay S., Burlak E., Kruglova A.*

**Scientific adviser: V.Gushchin**

(State scientific center of the Russian Federation –  
Institute of biomedical problems (IBMP) RAS, Moscow)

The performance of professional activities, including night time, requires evaluation of the physiological parameters of the operator, which should be carried out non-invasively, without creating interference and discomfort for the examined. The method of actigraphy is capable to provide a direct objective assessment of daily motor activity without restriction of habitual functioning of the person (Standards of Practice Committee, American Academy of Sleep Medicine, 2007). In the «Human Research Program» (HRP, NASA) in the element «Human Factors and Behavioral Performance», a separate group of risks of errors is identified due to sleep disorders, desynchronization of circadian rhythms, chronic fatigue and overwork (NASA, SP-2009-3405).

The background data of the actigraphy research, obtained in model experiments, compared with the results of medical and biological research on board of the ISS, will allow to optimize the recommendations to the mode of work and rest of cosmonauts.

**Purpose.** The study of daily motor activity and sleep quality of crew members for the prediction of the psychophysiological state and operability of the operator.

**Materials and methods.** Within the framework of the "Vulcan" experiment, a study was made of daily motor activity and sleep quality of crew members to predict the psychophysiological state and operability of the operator. The object of this study was the international crew consisting of 6 people, 17-day isolation experiment to simulate the effects of interplanetary space flight factors "SIRIUS-17". A 24-hour movement activity measurement was carried out using active bracelets ActiGraph wGT3X-BT. The obtained actograms were compared with the data of the Leeds Sleep Evaluation Questionnaire. Assessment of psychophysiological state and mental activity of operators was carried out with the help of CE «Pilot-T», the cognitive assessment battery, Lüscher color test (in L.Sobchik modification) and STAI test by C. Spielberger.

In order to distinguish the influence of artificially created sleep deficit from the influence of isolation factors on sleep, the data obtained before the deprivation of sleep were processed. Processing the results obtained from the deprivation of sleep, as well as the data of additional techniques, will be the next step.

For the convenience of processing every twenty-four hours of the isolation was divided into a night rest area and a work area. By night rest area, we mean the time period between the falling asleep time and awakening time according to ActiGraph wGT3X-BT data. The work area was limited to the morning and evening daily planning conference (DPC). In night rest area, its total duration and the time of night activity included in it were taken into account. The work area consisted of periods of motor activity and motor rest. The evaluation of the quality of sleep was based on a comparative analysis of the periods of night rest and motor activity (anxiety), revealed by the method of actigraphy during night rest area.

Taking into account the size of the sample and the conditions for the solution of the problems, statistical analysis of the results used the methods of dispersion and regression analysis. The data are presented as the mean and standard deviation.

**Results.** For the first time, data were received on the 24-hour activity of crew members during their stay in the isolation chambers.

Average statistical data for the whole crew showed that the duration of the work area was  $684 \pm 33$  minutes, with the duration of night rest area  $396 \pm 51$  minutes. The period of daytime rest in the structure of the work area averaged in  $91 \pm 41$  minutes. In the zone of night rest area, the period of activity (anxiety) was  $58 \pm 28$  minutes. There was no statistically significant difference in the length of the work area among the crew members ( $p > 0,05$ ). When the subjects were divided into



groups by gender, it was found that in the work area, men were at rest for a significantly longer period of time than women ( $p > 0,05$ ). The average duration of the dormancy period in men was  $114 \pm 36$  minutes, and in women  $69 \pm 33$  minutes. The rest time in the crew after dinner was  $64 \pm 39$  minutes, which is significantly higher than its pre-dinner values ( $27 \pm 25$  minutes).

Due to the fact that the data on the night rest area of the test of the crew member D have been received in part, we excluded them from further comparative analysis.

Reliably high values of night motor activity in the structure of night rest area were shown by examined E and F ( $p < 0,05$ ). The operator E night activity took an average of  $85 \pm 29$  minutes from the total time of night rest area ( $397 \pm 51$  minutes). The operator F average night activity was  $87 \pm 17$  minutes with a night rest area duration of  $395 \pm 74$  minutes. The night rest area among operators A, B, C was  $405 \pm 39$ ,  $406 \pm 43$  and  $378 \pm 41$  minutes respectively. At the same time, the share of motor activity per night for operator A was  $46 \pm 11$  minutes from the total rest time, operator B in the state of activity spent on average  $37 \pm 5$  minutes, and operator C  $36 \pm 6$  minutes during the night rest area.

The Leeds Sleep Evaluation Questionnaire for the examined D corresponded to the average level of ease of falling asleep, quality of sleep, ease of awakening and the state after waking. The average values of the sleep Questionnaire of the operators E and F also testified to a restless sleep. In the sections on the quality of falling asleep, awakening, and the state after awakening, the subjects surveyed did not notice pronounced changes. Operator A in the Leeds Sleep Evaluation Questionnaire noted a more restless sleep, however, and a more alert state on waking. Operator B had a more difficult process of falling asleep and the state after awakening was more drowsy than usual. According to the Questionnaire the crew member C felt more drowsy during the first three days of isolation and noted an easier process of falling asleep, but later also began to experience difficulties with both falling asleep and awakening.

Reliably high values of anxiety using the color preferences technique were revealed in the E and F subjects ( $p < 0,05$ ). Also operator E showed a moderate level of anxiety on the self-evaluation test by C. Spielberger. Crew members D, A, B and C were distinguished by a low level of anxiety under both methods. According to regression analysis, the increase in anxiety to an average level and higher was accompanied by an increase in the duration of nocturnal activity beyond 60 minutes. According to the cognitive tests, the greatest sensitivity from to the duration of the night rest was shown by the test for the time of the visual-motor reaction. The operators needed more time to carry out the reaction if their night rest was less than 5 hours ( $p < 0,05$ ).

Conclusion: Thus, authentic differences in the duration of daytime motor activity between men and women were found. The sleep duration for all crew members was less than the values planned in the Work-Rest Regime. Two of the six crew members had violations related to sleep quality and had a concomitant high level of anxiety. The data obtained require further clarification. It is advisable to carry out further research in this direction, including increasing the duration of the isolation effect (in particular, within the framework of the SIRIUS project), to compare with the results of medical and biological research on board of the ISS, which in the future will optimize the recommendations for the mode of work and rest for cosmonauts.

## **ЛЕТУЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ НЕВЕСОМОСТИ («СУХАЯ» ИММЕРСИЯ)**

*Царьков Д.С.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Целью настоящих исследований было изучение состава летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе человека при моделировании условий невесомости («сухая» иммерсия) с использованием метода хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) для установления перечня потенциальных биомаркеров тканевой гипоксии при гиподинамии и

значительном сокращении двигательной активности.

При воздействии «сухой» иммерсии, обследуемые находились в иммерсионной ванне размером 256x148x110 см, отделенные от воды свободно плавающей водонепроницаемой пленкой. Температура воды в ванне поддерживалась в пределах 32-34°C. Для проведения ежедневных санитарно-гигиенических процедур, обследуемых извлекали из ванны с помощью подъемного устройства в среднем на 15 минут. За весь период исследований длительность пребывания обследованных вне иммерсионной ванны составило  $4,11 \pm 0,55$  ч, т.е. 49,32 мин в сутки. Из них, в положении сидя или стоя (на время гигиенических процедур) приходилось 17,21 мин в сутки. В вертикальном положении обследованные находились минимально возможное время.

Сочетанием методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии исследован состав низкомолекулярных летучих метаболитов в выдыхаемом воздухе 12 здоровых волонтеров при моделировании невесомости в условиях «сухой» иммерсии (невесомость).

Отбор проб выдыхаемого воздуха проводился в мешки из нейтрального полимерного материала, объемом 5 л. При подготовке к отбору пробы мешок предварительно продувался чистым азотом (99,999%) с последующим вакуумированием и повторением операции 10 раз. Пробы выдыхаемого воздуха отбирались в фоне (до начала иммерсии), на 2-е и 5-е сутки иммерсии и на 2-е сутки в периоде восстановления. Анализ выдыхаемого воздуха и стандартных проб, проводили методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на газовом хроматографе 6890N с масс-селективным детектором 5973N (фирмы Agilent Technologies). Идентификацию детектированных соединений проводили с использованием библиотеки масс-спектров Национального института стандартов и технологий США. Дополнительно использовали мониторинг заданных ионов для расширения нижнего предела динамического диапазона измерений. При отборе 0,5 л пробы предел обнаружения идентифицированных ЛОС составляет  $5 \times 10^{-12}$  г/м<sup>3</sup> (при соотношении сигнал:шум 5).

Биохимические исследования включали: активность ферментов энергетического гомеостаза (КФК) и его изоферментов: мышечного КФК ММ и миокардиального КФК МВ, активность гликолиза оценивали по динамике активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), а также концентрации глюкозы. Функциональную активность скелетной мускулатуры оценивали по динамике концентрации креатинина в крови. Биохимические исследования проводились с использованием коммерческих наборов реагентов производства фирм «DiaSys», ФРГ. Измерения проводились на биохимическом анализаторе «Targa 3000», фирмы «Biotechnica Instruments SPA», Италия. Малоновый диальдегид (МДА) в сыворотке крови определяли по тесту с тиобарбитуровой кислотой.

При анализе каждой пробы в зависимости от настройки фильтров масс в выдыхаемом воздухе (ВВ) волонтеров было идентифицировано до 50 летучих органических соединений (ЛОС), относящихся к различным классам химических веществ: алифатические углеводороды, спирты, арены, альдегиды, кислоты, кетоны и другие.

В результате было обнаружено, что при воздействии «сухой» иммерсии биоэнергетические процессы в скелетных мышцах и миокарде значимо ( $P < 0,05$ ) снижаются (КФК ММ Р, КФК МВ) уже с 3 суток воздействия. Наблюдаемые изменения могут быть отражением как снижения интенсивности клеточного дыхания в скелетных мышцах и миокарде, так и ухудшения нервно-мышечного взаимодействия вследствие запуска ингибирующих механизмов, активирующихся при имитации невесомости, и изменения гидростатического давления при перераспределением жидкости в организме.

Адаптационные перестройки в энергообеспечении мышечной ткани сопровождалось значимым ( $p < 0,01$ ) уменьшением в выдыхаемом воздухе волонтеров изопрена и гептанона-2 - промежуточных метаболитов липидного и углеводного обмена. Детальный анализ динамики изопрена показал, что при значительном сокращении двигательной активности человека значимое снижение выдыхаемого изопрена наблюдается уже со 2 суток воздействия «сухой» иммерсии.

Исследована динамика алифатических углеводородов этана и пропана, которые

генерируются эндогенно и являются метаболитами свободно- радикальной декомпозиции полиненасыщенных жирных кислот в цитоплазматических мембранах клеток человека и животных. При этом было показано, что активация перекисного окисления липидов, являясь интегральным показателем метаболических процессов в организме в результате действия неблагоприятных факторов различной природы, и нарушений в регуляции окислительно-восстановительных процессов в клетке сопровождается пропорциональным увеличением содержания в выдыхаемом воздухе предельных углеводов  $C_4-C_{20}$ .

Анализ химического состава выдыхаемого воздуха, в пробах воздуха, отобранных на вторые и пятые сутки исследований в условиях иммерсии, показал возрастание концентраций аминов (бутиламина, 2-цианацетамида). Возрастание концентраций аминсоединений (бутиламина, 2-цианацетамида) в выдыхаемом воздухе возможно связано с отрицательным азотистым балансом, который наблюдался у экипажа «Джемини 7». Повышение экскреции азота с мочой было обнаружено у членов экипажей Салют, Мир, Скайлэб, а также в модельных экспериментах с гиподинамией.

## **VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN HEALTHY HUMAN'S BREATH DURING SIMULATION OF WEIGHTLESSNESS ("DRY" IMMERSION)**

**Tsarkov D.S.**

SSC RF – IBMP RAS, Moscow

The goal of this research was to investigate composition of volatile organic compounds in human breath during simulation of weightlessness ("dry" immersion) using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in order to determine list of possible biomarkers of tissue hypoxia during hypodynamia and significant reduction of motion activity.

During "dry" immersion, the volunteers were placed into a special bath, size of 256x148x110 cm, separated from water by freely flowing waterproof film. Water temperature in bath was 32-34 C. Once a day, the subject is allowed to get out for 15 min for hygiene procedures. For the whole test period the duration of stay outside bath was  $4,11 \pm 0,55$  hrs., i.e. 49,32 minutes per day. Of which, in seated or upright position (during hygiene procedures) – 17,21 minutes per day. Volunteers were exposed to vertical position for minimal possible time.

With combination of gas chromatography and mass-spectrometry the composition of low-molecular volatile metabolites in breath of 12 volunteers exposed to "dry" immersion (weightlessness) was investigated.

Breath samples were taken into neutral polymer bags, volume of 5l. Preparation for the sampling consisted of bags' flushing with pure nitrogen (99,999%) with following pumping, repeated 10 times. Breath samples were taken before the beginning of "dry" immersion, on the 2<sup>nd</sup> and 5<sup>th</sup> day of the experiment and on the 2<sup>nd</sup> day of recovery period. Sample analysis was performed by gas chromatography – mass spectrometry using GC 6890N with MSD 5973N (Agilent Technologies). Identification of the detected compounds was made using mass spectra library of the National Institute of Standards and Technology. Additionally, selected ions monitoring (SIM) was used to lower the limit of detection for some compounds. Under these conditions, sampling of 0,5 liters allowed to detect volatile organic compounds in concentration of  $5 \times 10^{-12}$  g/m<sup>3</sup> (S:N ratio 5:1)

Biochemical tests included: energy homeostasis ferments strength (creatine phosphokinase, CPH) and its isoferments: creatine phosphokinase myocardial band and creatine phosphokinase, muscle band; glycolysis activity was estimated by dynamics of activity of lactic dehydrogenase (LDH) and glucose concentration. Functional activity of skeletal muscles was estimated by concentration of creatinine in blood. Biochemical tests was made using commercial panels, made by "DiaSys" (Germany). Measurements were performed using "Targa 3000" ("Biotecnica Instruments SPA", Italy). Malon dialdehyde (MDA) in blood serum was detected in test with thiobarbituric acid.

Up to 50 volatile organic compounds were detected in each breath sample depending on SIM

parameters. The detected compounds belonged to different classes: aliphatic hydrocarbons, alcohols, arenes, aldehydes, acids, ketones and others.

It was found that effect of “dry” immersion on biological combustion processes in skeletal muscles and myocardia decreases significantly ( $P < 0,05$ ) (CPH myocardial band, CPH muscle band) since the 3<sup>rd</sup> day of the experiment. Observable change could reflex decrease of cell respiration in skeletal muscles and in myocardia, as well as, degradation of nervimuscular response in consequence of inhibitory processes which activate during weightlessness state, and change of hydrostatic pressure due to liquid redistribution in body.

Adaptation changes in energy exchange of muscular tissue was accompanied with significant ( $p < 0,01$ ) reduce of isoprene and heptanone-2 in breath – as intermediate metabolites of lipid and carbohydrates metabolism. Detailed analysis of isoprene dynamics showed that during significant reduction of motion activity, significant decrease of isoprene concentration in human breath can be observed since the 2<sup>nd</sup> day of “dry” immersion.

Dynamics of aliphatic hydrocarbons ethane and propane, endogenous genesis compounds, was researched. Ethane and propane are metabolites of free-radical decomposition of poly-unsaturated fatty acids in outer cytoplasmic membrane of humans’ and animals’ body cells. It was shown that activation of lipid peroxidation, being an integrated indicator of metabolic processes in body which occur under effect of adverse factors of different genesis, and disturbance of red-ox processes regulation in cell, accompanies by proportional increase of saturated hydrocarbons C4-C20 in breath.

Analysis of volatile organic compounds in breath samples taken on the 2<sup>nd</sup> and 5<sup>th</sup> day of “dry” immersion showed the increase of amines concentration (butyl amine and 2-cyano amide). Increase of amino-compounds in breath could be possibly connected to negative nitrogen balance which was observed at “Gemini 7” crew members. Increase nitrogen excretion with urine was observed at “Salyut”, “Mir”, “Skylab” crew members as well as in model experiments with hypodynamia.

## **ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛЯ ОРИЕНТИРОВАНИЯ В СРЕДСТВАХ И МЕТОДАХ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В ГЕРМОЗАМКНУТОМ ОБЪЕКТЕ**

*Черногоров Р.В.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В ходе осуществления космических полетов экипаж пилотируемых космических аппаратов (ПКА) неизбежно сталкивается с воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды, формируя перечень медицинских рисков, что в совокупности с возможностью технических отказов оборудования может приводить к возникновению в полете нештатных медицинских ситуаций.

В таких случаях для оказания медицинской помощи на борту ПКА предусмотрен комплект упаковок с медикаментами и изделиями медицинского назначения, которыми экипаж ПКА может пользоваться в 2 основных режимах: 1. в ходе осуществления телемедицинского консультирования и под непосредственным контролем «наземной» группы медицинского обеспечения (ГМО) космических полетов, 2. самостоятельно, согласно установленному регламенту, а также на автономных участках полета при невозможности осуществления оперативной медицинской поддержки со стороны ГМО.

В обоих режимах для осуществления поиска необходимых медицинских средств (МС) на борту ПКА члены экипажа могут использовать поставляемую вместе с медицинскими упаковками (МУ) печатную сопроводительную медицинскую документацию (ПСМД). Однако если в первом режиме она может носить вспомогательный характер ввиду возможности прямых указаний от ГМО, то во втором режиме ПСМД становится единственным средством

для ориентирования в бортовых МС.

В случае возникновения медицинских ситуаций становится критически значимым время, необходимое для нахождения медицинских решений и соответствующих МС на борту. При использовании традиционной ПСМД оперативно сделать это может быть затруднительно. Поэтому в ИМБП было разработано и создано специализированное программное обеспечение (СПО) для автоматизированного ориентирования в средствах и методах оказания медицинской помощи (СОМП) на борту ПКА.

Для практической оценки временных затрат при осуществлении обоих способов ориентирования в СОМП в различных возможных медицинских ситуациях необходимы экспериментальные исследования, первое из которых удалось реализовать в проекте «Сириус-2017». Целью данного исследования стала оценка эффективности СПО в условиях изоляции гермозамкнутого объекта, как наиболее приближенным к реальной эксплуатации в ходе космического полета.

Задачи эксперимента включали сбор данных об использовании и поведении СПО в различных моделируемых медицинских ситуациях в ходе эксперимента; оценку использования СПО по сравнению с традиционными способами, применяемыми для ориентирования в медицинских средствах на борту ПКА, в частности на Российском сегменте Международной космической станции, а также определение путей дальнейшего совершенствования СПО.

Исследование состояло из 4 разнотипных сеансов, каждый из которых включал от 2 до 3 сессий, в каждой из которых было задействовано 2 пары разнополюх испытателей, 5-ый испытатель (врач экипажа) являлся ответственным по методике. 6-ой испытатель не был задействован в эксперименте. Также был осуществлен дополнительный комбинированный сеанс с применением СПО СОМП в ходе телемедицинского консультирования экипажа специалистами многопрофильного медицинского центра при моделировании медицинской ситуации, требующей срочной медицинской помощи, включая реанимационные мероприятия.

Объем пригодных из полученных данных составил ~86%. В ходе их первичного анализа, несмотря на ряд отклонений, обусловленных преимущественно «человеческим фактором», можно отметить превалирование эффективности использования СПО экипажем над применением традиционной ПСМД на борту имитируемого космического корабля при различных моделируемых медицинских ситуациях в подавляющем большинстве сеансов и сессий проведенного эксперимента.

Так в ходе 1 сеанса в среднем по трем испытателям эффективность СПО составила  $47\% \pm 23\%$ . По итогам 2-го сеанса разница в эффективности СПО по сравнению с ПСМД у трех испытателей составила  $\sim 8\% \pm 16\%$ . В заключительном сеансе 3 испытателя показали схожий, более устойчивый результат эффективности использования СПО со средним показателем  $\sim 43\% \pm 3\%$ .

Также высокий потенциал показала встроенная интеллектуальная подсистема СПО – прототип медицинской системы помощи принятия решений, позволяющая экипажу обеспечивать базовую самодиагностику и подбирать соответствующее лечение из имеющихся на борту медсредств, что особенно актуально на автономных участках космических полетов при отсутствии возможности консультативной поддержки с «Земли».

Это дает основание рекомендовать СПО как эффективное дополнение к существующей медицинской бортовой документации в составе СОМП системы медицинского обеспечения орбитальных космических полетов и как альтернативу ПСМД при осуществлении длительных межпланетных экспедиций.

# EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF USING SPECIALIZED SOFTWARE FOR ORIENTATION IN THE MEANS AND METHODS OF MEDICAL CARE IN HERMETICALLY CLOSED OBJECT

*Chernogorov R.V.*  
IBMP, Moscow

During the implementation of space flights, the crew of manned spacecraft (MSC) inevitably face the impact of influence of adverse environmental factors, forming a list of medical risks, which in combination with the possibility of technical equipment failures can lead to the emergence in flight of emergency medical situations.

In such cases, for medical assistance on board the MSC is provided medical kits with medicines and medical supplies, which the crew of the MSC can use in 2 main modes: 1. during telemedicine consultation under the direct supervision of the "ground" medical support group (MSG) 2. alone, in accordance with the established regulations, as well as on autonomous sections of the flight with the impossibility of performing operational medical support from the MSG.

In both modes, in order to search for the necessary medical supplies (MS) on board the MSC, crew members can use the printed accompanying medical documentation (PAMD) supplied with the medical kits (MK). However, if in the first mode it can be auxiliary in view of the possibility of direct instructions from the MSG, then in the second mode, the PAMD becomes the only means of orientation in the on-board MS.

In the event of medical situations, the time necessary to find medical solutions and the corresponding MS on board becomes critically important. When using traditional PAMD, it can be difficult to do this quickly. So, IBMP developed and created specialized software (SS) for automated orientation in the means and methods of medical care (MMC) on board the MSC.

For practical estimation of time costs in the implementation of both methods of orientation in the MMC in various possible medical situations, experimental studies are needed, the first of which was implemented in the project "Sirius-2017". The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of the SS in the conditions of isolation of the hermetical closed object, as the most approximate to the actual operation during the space flight.

Tasks of an experiment included collecting data about use and behavior of SS in various modelled medical situations during the experiment; assessment of use of SS in comparison with the traditional ways applied to orientation in medical tools onboard MSC, in particular on the Russian segment of the International Space Station and also definition of paths of further perfecting of SS.

The study consisted of 4 different types of sessions, each of which included 2 to 3 sessions, each of which involved 2 pairs of opposite-sex crew members, and the fifth investigator (crew doctor) was responsible for the technique. The 6th crew member was not involved in the experiment. Also, an additional combined session was performed using the SS MMC during the telemedicine consultation of the crew by specialists of a multi profile medical center in modeling a medical situation requiring immediate medical assistance, including resuscitation.

The volume of the data obtained was ~ 86%. During of their primary analysis, despite a number of deviations caused mainly by the "human factor", one can note the prevalence of the effectiveness of the use of SS by the crew over the application of traditional PAMD on board a simulated spacecraft under various simulated medical situations in the vast majority of sessions of the experiment.

So, in the course of 1 session, on average for the three crew members, the effectiveness of the SS was  $47\% \pm 23\%$ . Based on the results of the 2nd session, the difference in the effectiveness of the SS compared to the PAMD for the three crew members was  $\sim 8\% \pm 16\%$ . In the final session, 3 crew members showed a more stable result, similar between together, of the effectiveness of the use of SS with an average of  $\sim 43\% \pm 3\%$ .

Also, the built-in intelligent SS subsystem showed a high potential. Being the prototype of the medical decision-making system, it provided the crew with the possibility of basic self-diagnosis

with the selection of appropriate treatment from on-board medicines, which is especially important in autonomous areas of space flights in the absence of the possibility of consulting support from Earth.

This gives grounds for recommending the SS as an effective addition to the existing medical on-board documentation within the MMC system for the medical support of orbital space flights and as an alternative to PAMD in long-term interplanetary expeditions.

## **ДИНАМИКА СТЕРОИДОГЕНЕЗА И КОНЦЕНТРАЦИИ В КРОВИ ОСНОВНЫХ СУБСТРАТОВ ЭНЕРГООБМЕНА КАК ЗВЕНЬЯ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ К ИЗМЕНЕННОЙ СРЕДЕ ОБИТАНИЯ**

*Чистоходова С.А.*

*Научные руководители: И.А. Ничипорук, к.м.н., О.А. Журавлёва, к.м.н.*

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Многочисленные исследования свидетельствуют, что наблюдаемый в космических полетах (КП) комплекс ответных реакций организма человека, в основном, обусловлен длительным влиянием микрогравитации и ее последствиями, инициирующими перераспределение жидкостных сред, сопровождаемое изменениями водно-электролитного гомеостаза (ВЭГ), обмена веществ и его регуляции, развитие гиподинамии, гипокинезии, гипотрофии антигравитационной мускулатуры, деминерализации и реструктуризации костной ткани – всей совокупностью гравитационно-зависимых метаболических и морфофункциональных перестроек органов и тканей, неизменными участниками которых являются стероидные гормоны 4-х основных классов: глюкокортикоиды - C<sub>21</sub>-стероиды; минералокортикоиды - C<sub>21</sub>-стероиды; андрогены – C<sub>19</sub>-стероиды и эстрогены - C<sub>18</sub>-стероиды. Динамика стероидных гормонов и их влияние на состояние обмена веществ в условиях микрогравитации являются предметом неуклонного внимания исследователей в связи с их прямым воздействием на регуляцию энергообмена и баланса анаболических и катаболических реакций в организме человека, а также на состояние репродуктивной системы, что особенно важно в свете планируемых межпланетных полетов и строительства на планетных сооружений для длительного пребывания в них людей. В наших, а также в сравнительно недавних исследованиях иностранных коллег (И.А. Ничипорук и др., 1998, 2013; S.M.Smith et al., 2012) получены результаты, свидетельствующие о сохранности физиологического соотношения концентрации основных половых гормонов в крови, механизмов регуляции и чувствительности многоуровневых контуров регуляции по обратным связям в репродуктивной системе в условиях КП и модельных экспериментов. В изучении динамики неполовых стероидных гормонов при проведении КП и их моделировании получены многочисленные результаты, указывающие на вовлеченность глюко- и минералокортикоидов во все звенья обмена веществ и его регуляции (А.И. Григорьев и др. 1986, 1997, 1999; C.S. Leach-Hunton et al., 1989; S.M.Smith et al., 1997; И.М. Ларина и др., 2000, 2003). Однако даже при наличии большого объема знаний - тонкие механизмы адаптивных реакций организма человека на условия КП с участием стероидных гормонов, включая их влияние на динамику психофизиологического статуса, остаются малоизученными. Поэтому основной целью настоящей работы являлось получение новых научных данных об особенностях динамики стероидных гормонов и основных субстратов энергообмена и их влияния на состояние жидкостных сред, состав тела, ВЭГ, показатели энергообмена и психофизиологический статус в условиях 17-суточной изоляции в гермообъектах смешанного экипажа из 6 здоровых испытуемых-добровольцев (3 мужчин и 3 женщины в возрасте 27-43 лет), прошедших медицинский отбор и подписавших Информированное согласие на участие в исследованиях. До начала эксперимента (-7 сутки, фон), на 7-е и 14-е сутки периода изоляции, на 2-е и 7-е сутки периода восстановления (ПВ) осуществлялись взятие венозной крови для определения гормональных и биохимических

показателей, биоимпедансометрия (измерение жидкостных сред и состава тела) на приборе «Спрут-2» (фирма МЕДАСС, Россия) и регистрация психомоторных показателей и динамики элементов операторской деятельности с помощью компьютерной программы «Сенсор» (© И.А.Ничипорук, 1994). В фоновый период исследований 5 испытуемых заполнили психологические тесты-опросники Р.Б. Кеттелла, Я. Стрелау и Р. Лазаруса. До начала эксперимента были проведены занятия по обучению работе с аппаратурой и компьютеризированными психофизиологическими методиками, тестирование во время изоляции проводилось в медицинском блоке наземного экспериментального комплекса и на индивидуальных ноутбуках в каютах гермообъекта. Следует указать, что для объективизации характера и направленности изменений среднегрупповой динамики оцениваемых показателей гормонального и биохимического статуса, состояния жидкостных сред и состава тела, существенным образом искажаемых и/или нивелируемых индивидуальными различиями испытуемых, особенно антропометрическими и гендерными, в комплексном анализе всего массива экспериментальных данных использовали индивидуальные процентные значения этих показателей относительно исходных уровней. Оценивая результаты проведенных исследований, в первую очередь, важно отметить, что особенностью всего периода наблюдений являлся неуклонный тренд к возрастанию среднегрупповых уровней концентрации кортизола в сыворотке крови ( $138,0 \pm 16,7$ ;  $141,6 \pm 27,2$ ;  $150,5 \pm 8,6$ ;  $150,3 \pm 20,6\%$ , различия статистически достоверны с фоном), что свидетельствует об активации стероидогенеза в коре надпочечников в условиях изоляции и ПВ. Результаты анализа других стероидов показали, что в ранний период изоляции (7 сутки) отмечалось повышение среднегрупповых значений концентрации в сыворотке крови тестостерона и эстрадиола (% от фона:  $122,7 \pm 8,0$ ;  $303,7 \pm 110,1$ , соответственно,  $p < 0,05$ ), а достоверных изменений концентрации холестерина, альдостерона и основного углеводного субстрата энергообмена – глюкозы не наблюдалось. На завершающем этапе изоляции (14-е сутки) на фоне высокого уровня кортизола был зарегистрирован рост концентрации в сыворотке крови альдостерона ( $138,2 \pm 17,2$  % от фона,  $p < 0,05$ ), который, вероятно, был обусловлен ответом на повышенные потери натрия с мочой при развитии умеренной гипогидратации организма обследуемых (снижение объема воды на  $2,1 \pm 0,5\%$  от фона,  $p < 0,05$ ) - комплексной реакцией системы поддержания констант ВЭГ, позволившей в совокупности с другими гормонами сохранять, несмотря на гипогидратацию, осмоляльность, концентрацию натрия и калия в крови практически постоянными ( $283 \pm 4$ ;  $283 \pm 4$ ;  $284 \pm 2$ ;  $289 \pm 4$ ;  $285 \pm 1$  мОсм/кгН<sub>2</sub>O; Na<sup>+</sup>:  $141,1 \pm 0,7$ ;  $140,3 \pm 0,3$ ;  $141,2 \pm 0,5$ ;  $142,3 \pm 2,0$ ;  $139,9 \pm 0,6$  ммоль/л; K<sup>+</sup>:  $4,2 \pm 0,1$ ;  $4,0 \pm 0,1$ ;  $4,1 \pm 0,1$ ;  $4,3 \pm 0,2$ ;  $4,2 \pm 0,2$  ммоль/л). При этом достоверного изменения уровня концентрации эстрадиола не происходило, но о том, что он оставался повышенным свидетельствовал высокий процент его доли ( $427,5 \pm 251,9\%$  от фона,  $p < 0,05$ ) в суммарной концентрации определяемых гормонально-активных стероидов. ПВ характеризовался достоверным повышением среднегрупповых значений концентрации холестерина и глюкозы в крови, увеличением жировой массы тела (ЖМТ, рост на 20% от фоновых значений) и сохранением высоких концентраций альдостерона, кортизола и эстрадиола при повышенной ( $142,2 \pm 10,2\%$  от фона,  $p < 0,05$ ) процентной доле гормонально-активных стероидов по отношению к концентрации в крови субстрата их биосинтеза – холестерина. Важно отметить, что у обследуемых мужчин в период изоляции и, особенно, после ее завершения отмечался значительный рост концентрации в крови эстрадиола ( $996,3 \pm 338,5\%$  от фона,  $p < 0,05$ ) при повышенных, но недостоверных значениях концентрации тестостерона, что, очевидно, было обусловлено увеличением ЖМТ ( $115,4 \pm 3,4\%$  от фона,  $p < 0,05$ ), адипоциты которой способствовали столь значительной ароматизации андрогенов в эстрогены и, вероятно, внегонадальному и вненадпочечниковому биосинтезу последних. При этом у обследуемых женщин в период изоляции отмечались подъемы концентрации в крови, преимущественно, кортизола, а в ПВ – повышение холестерина. Результаты множественного корреляционного анализ показали, что дефицит физической активности в условиях изоляции более чем в 72% случаев взаимосвязан с увеличением концентрации в крови глюко- и минералокортикоидов, холестерина и Na<sup>+</sup>, со



снижением – андрогенов,  $K^+$  и  $Ca^{++}$ , сопровождаемых ростом удельных энергозатрат в состоянии покоя и уменьшением внутриклеточной гидратации организма, что, в совокупности, свидетельствует о смещении баланса гомеостаза в сторону преобладания катаболических реакций. При этом лучшую адаптированность к условиям изоляции в гермообъектах демонстрировали женщины и, в целом, лица с меньшим уровнем тревожности.

## **DYNAMICS OF STEROIDOGENESIS AND BLOOD CONCENTRATIONS OF THE BASIC SUBSTRATES OF ENERGY METABOLISM AS THE UNITS OF A STRATEGY OF ADAPTATION TO THE CHANGED ENVIRONMENT**

*Chistokhodova S.A.*

*Scientific supervisors-Nichiporuk I.A., Ph.D., Zhuravleva O.A., Ph.D.*

SRC RF – IBMP RAS, Moscow

Numerous researches testify, that the complex of responses of a human body observed in space flights (SF), basically, is caused by long-term influence of microgravity and its consequences initiating fluid shifts accompanied by changes of water-electrolyte homeostasis (WEH), metabolism and its regulation, development of hypodynamia, hypokinesia, hypotrophy of anti-gravitational muscles, demineralization and re-structuring of bone tissue – all set of gravity-dependent metabolic and morpho-functional reorganizations of organs and tissues which indispensable participants are steroid hormones of 4 basic classes: glucocorticoids -  $C_{21}$ -steroids; mineralocorticoids -  $C_{21}$ -steroids; androgens –  $C_{19}$ -steroids and estrogens -  $C_{18}$ -steroids. Dynamics of steroid hormones and their influence on a state of metabolism in the conditions of microgravity are the subject of steady attention of researchers due to their direct influence on energy turnover regulation and on a balance of anabolic and catabolic reactions in a human body, and also on a condition of reproductive system that is especially important in the light of planned interplanetary flights and building of planetary constructions for long stay of people in them. In our, and also in rather recent researches of the foreign colleagues (I.A. Nichiporuk, et al., 1998, 2013; S.M. Smith et al., 2012) the results testifying to integrity of a physiological parity of concentrations of the main sexual hormones in blood, mechanisms of regulation and sensitivity of multilevel contours of a feedback regulation in reproductive system in the conditions of SF and simulating experiments are received. The numerous results specifying in an involvement of gluco- and mineralocorticoids in all parts of metabolism and its regulation are received in studying of dynamics of not sexual steroid hormones at implementation of SF and their simulations (A.I. Grigoriev et al. 1986, 1997, 1999; C.S. Leach-Huntoon et al., 1989; S.M. Smith et al., 1997; I.M. Larina et al., 2000, 2003). However, even in the presence of great volume of knowledge – the intimate mechanisms of adaptive reactions of a human body to SF conditions with participation of steroid hormones, including their influence on dynamics of the psychophysiological status, remain insufficiently explored. Therefore, the main objective of the present work was an acquisition of new scientific data about features of dynamics of steroid hormones both the basic substrates of energy metabolism and their influences on a state of body fluids and composition, WEH, parameters of energy turnover, and on the psychophysiological status in the conditions of 14-day confinement in hermetic chambers of the mixed crew of 6 healthy subjects-volunteers (3 men and 3 women at the age of 27-43 years), who had passed a medical selection and have signed the Informed consent to participation in research. Before the start of experiment (-7 days, a background), on 7-th and 14-th days of the period of confinement, on 2-d and 7-th days of the recovery period (RP) a withdrawal of venous blood for determination of hormonal and biochemical parameters, bioimpedancemetry (measurement of body fluids and composition) by use of device "SPRUT-2" (MEDASS Company, Russia) and registration of psychomotor indicators and dynamics of elements of operator activity by means of the computer program "Sensor" (© I.A. Nichiporuk, 1994) were carried out. During the pre-confinement period of research, five subjects have filled psychological tests-questionnaires of R.B. Cattell, J. Strelau and R. Lazarus. Lessons on

training to work with equipment and with the computerized psychophysiological techniques have been conducted prior to the beginning of experiment, testing during confinement was performed in the medical block of a ground-based experimental complex and on individual laptops in cabins of the hermetic chamber. It is necessary to point out that in the complex analysis of all file of experimental data the individual percentage values of parameters comparing to initial levels were used for objectification of the character and directivity of changes in mean dynamics of estimated indicators of hormonal and biochemical status, fluid shifts and body composition, which are highly deformed and/or leveled by individual distinctions, especially by anthropometry and gender. Estimating results of the performed research, first of all, it is important to note, that the feature of all period of supervision was the steady trend to increase mean levels in serum blood concentrations of cortisol ( $138,0 \pm 16,7$ ;  $141,6 \pm 27,2$ ;  $150,5 \pm 8,6$ ;  $150,3 \pm 20,6$  %, distinctions are statistically significant with a basal level), that testifies to activation of steroidogenesis in adrenal cortex in the conditions of confinement and RP. Results of the analysis of other steroids have shown, that during the early period of isolation (7 days) increases of mean values in serum blood concentrations of testosterone and estradiol were significant (% from a basal level:  $122,7 \pm 8,0$ ;  $303,7 \pm 110,1$ , respectively,  $p < 0,05$ ), while any significant changes in concentrations of cholesterol, aldosterone and the basic carbohydrate substrate of energy turnover – glucose were not observed. At the final stage of confinement (14 days) among with high cortisol levels the growth in serum blood concentrations of aldosterone has been registered ( $138,2 \pm 17,2$  % from a basal level,  $p < 0,05$ ) which, possibly, has been caused as the answer to the raised urine losses of sodium within development of moderate hypohydration of the bodies of the test-subjects (decrease in water volume at  $2,1 \pm 0,5$  % from a basal level,  $p < 0,05$ ) - complex reaction of the system of a maintenance of WEH constants allowed in the aggregate with other hormones to keep, despite hypohydration, osmolality, blood sodium and potassium concentrations practically constant ( $283 \pm 4$ ;  $283 \pm 4$ ;  $284 \pm 2$ ;  $289 \pm 4$ ;  $285 \pm 1$  mOsm/kgH<sub>2</sub>O; Na<sup>+</sup>:  $141,1 \pm 0,7$ ;  $140,3 \pm 0,3$ ;  $141,2 \pm 0,5$ ;  $142,3 \pm 2,0$ ;  $139,9 \pm 0,6$  mmol/l; K<sup>+</sup>:  $4,2 \pm 0,1$ ;  $4,0 \pm 0,1$ ;  $4,1 \pm 0,1$ ;  $4,3 \pm 0,2$ ;  $4,2 \pm 0,2$  mmol/l). Although the significant change of estradiol levels of concentrations did not occur, its high percentage ( $427,5 \pm 251,9$  % from a basal level,  $p < 0,05$ ) in total concentration of measured hormonal-active steroids testified that it remained increased. RP was characterized by significant growth of mean values of blood concentrations of cholesterol and glucose, and by the increase in body fat mass (BFM, growth at 20 % from basal values) with the maintenance of high aldosterone, cortisol and estradiol concentrations at raised ( $142,2 \pm 10,2$  % from a basal level,  $p < 0,05$ ) percentage of hormonal-active steroids' rate to concentration in blood of a substrate of their biosynthesis – cholesterol. It is important to note, that considerable growth of blood estradiol concentrations ( $996,3 \pm 338,5$  % from a basal level,  $p < 0,05$ ) among with raised but insignificant values of testosterone concentrations was found at male-volunteers within confinement and, especially, after its end, that, obviously, has been caused by the increase of BFM ( $115,4 \pm 3,4$  % from a basal level,  $p < 0,05$ ), which adipocytes have promoted so considerable aromatization of androgens into estrogens and, possibly, extra-genital and extra-adrenal biosynthesis of the last-named. Meanwhile the increases, mainly, of blood cortisol during confinement and within RP - increase of cholesterol were marked in female-volunteers. The results of multiple regression (correlation) analysis have shown that decrease in physical activity in the conditions of confinement more than in 72% of cases is influenced by the increase in blood concentrations of gluco- and mineralocorticoids, cholesterol and Na<sup>+</sup>, and by the decrease – in androgens, K<sup>+</sup> and Ca<sup>++</sup> contents accompanied by growth of specific rest metabolic rate and by reduction of cellular hydration of organism, which, in the aggregate, testifies to displacement of a homeostasis' balance towards a prevalence of catabolic reactions. Meanwhile, the best adaptability to conditions of confinement in hermetic chambers was shown by women and, in common, by the persons with less level of anxiety.

## ИСПЫТАТЕЛЬНАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БАЗА ЛАБОРАТОРИИ КОСМИЧЕСКИХ СИСТЕМ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ЦЕНТРА «СИРИУС» НА ПРИМЕРЕ КВАЛИФИКАЦИОННЫХ ИСПЫТАНИЙ НАНОСПУТНИКА «SIRIUSSAT-1U»

**Шеков И.С., Кишкун А.А.**

Образовательный фонд «Талант и успех», Образовательный центр «Сириус»

*Безопасность в космической отрасли – это один из самых важных аспектов как при подготовке полётов, так и при непосредственных миссиях по выведению аппаратов на орбиту. Безопасностью нельзя пренебрегать даже применительно к малым космическим аппаратам формата CubeSat-1U. Для этого аппараты должны проходить многочисленные проверки на специальных стендах, подтверждать свою работоспособность в критических условиях. Лаборатория «Космических систем» обладает набором испытательных стендов, которые позволяют производить тестирования и проверки малых космических аппаратов.*

*Security in the space industry is one of the most important aspects, both in the preparation of flights and in direct missions to bring satellites into orbit. Safety cannot be neglected even with reference to small space satellites of the CubeSat-1U format. For this purpose, the devices must undergo numerous checks on special stands, confirm their performance in critical conditions. The "Space Systems" laboratory of the "Sirius" Educational Center has a set of test benches that allow testing and testing of small space satellites.*

В лаборатории «Космических систем» Образовательного центра «Сириус», город Сочи, проводится ряд работ по подготовке малых космических аппаратов и прототипов средств выведения к испытаниям и тестированиям. Одним из примеров является разработка наноспутника «SiriusSat-1U» на проектной программе «Большие вызовы» в июле 2017 года. Учащиеся Образовательного центра «Сириус» совместно со специалистами лаборатории, НИИЯФ МГУ и ООО «Спутникс» создали конструкцию спутника и полезную нагрузку для него. Научно-практической задачей спутника стало изучение космической погоды и частиц вещества на высотах 300-400 км.

В ходе работы над спутником были проведены калибровки и тесты таких датчиков, как: магнитометр, угловой скорости и освещённости. Данные работы проводились на стенде имитаторе магнитного поля Земли с независимым аэроподвесом и имитаторами Солнца. Имитатор магнитного поля Земли позволяет изменять направление векторов магнитного поля до 180° (120° против часовой стрелки и 60° по часовой стрелке) при подаче максимального тока на катушки в 1 А, с индукцией магнитного поля до 200 мкТл. Данные манипуляции позволяют достаточно точно откалибровать бортовой магнитометр для подробного изучения векторов магнитного поля Земли и его индукции в космическом пространстве, а также обеспечить возможность ориентации спутника по показаниям магнитометра. Аэроподвес обеспечивает обезвешивание рабочей платформы с расположенным на ней спутником за счёт воздушной подушки между платформой и чашей аэроподвеса. Свободное вращение вокруг вертикальной оси подвеса обеспечивает калибровку датчика угловой скорости.

После сборки инженерного образца спутника были проведены испытания на вибростенде. Спутник был помещён в специальный контейнер. В ходе испытаний спутник подвергся нагрузкам на синусоидальные вибрации, случайные вибрации и удары. Имитировались условия, возникающие при доставке груза на орбиту на борту корабля «Прогресс» на ракете-носителе «Союз». Испытания проводились по трём осям координат. После каждого цикла испытаний спутник проверялся на возможность передавать сигналы телеметрии и прозвона систем управления на УКВ диапазоне. По итогам испытаний было получено подтверждение о том, что после перегрузок спутник сохраняет работоспособность, повреждений конструкции не было обнаружено.

Работоспособность спутника должна сохраняться и во время длительного пребывания на орбите, выполнении миссии. С целью имитации полёта спутника на орбите он был размещён в термокамере в рабочем состоянии, осуществлялась трансляция телеметрии по радиоканалу. Был создан вакуум с давлением  $1 \cdot 10^{-5}$  мм. рт. ст. Были запрограммированы режимы температурных переходов от  $-40^{\circ}\text{C}$  до  $+80^{\circ}\text{C}$  с переходом 30 минут и удержанием 60 минут. Температурные перепады происходили за счёт изменения температуры медной пластины, расположенной в камере, и являющейся опорной и контактной поверхностью для спутника. Передача тепла конструкцией спутника проходила очень медленно, обморожения или перегрева не происходило. Циклы повторялись в течение 24 часов. В ходе испытаний спутник стабильно передавал сигналы. После испытаний масса спутника уменьшилась на 0,14%. Данные показатели говорят о том, что в критических условиях вакуума и температурных перепадах в конструкции спутника он способен работать и выполнять научно-исследовательскую работу.

Описываемые испытания являлись квалификационными для приведённого спутника. После тестов в лаборатории «Космических систем» Образовательного центра «Сириус» спутник «SiriusSat-1U» был передан для приёмо-сдаточных испытаний в РКК «Энергия». Запуск спутника на орбиту планируется летом 2018 года во время очередного сеанса внекорабельной деятельности на Международной космической станции российскими космонавтами.

Проведение описанных испытаний очень важно для любых изделий и устройств, которые должны работать в космическом пространстве. Особую важность несет уровень их безопасности в случае работы с этими устройствами человека.

## **TESTING AND EXPERIMENTAL BASE OF LABORATORY OF SPACE SYSTEMS OF EDUCATIONAL CENTER "SIRIUS" ON THE EXAMPLE OF QUALIFICATION TESTS OF NANO-SATELLITE "SIRIUSSAT-1U"**

**Shekov I.S., Kishkun A.A.**

Educational Foundation "Talent and Success", Educational Center "Sirius"

*Security in the space industry is one of the most important aspects, both in the preparation of flights and in direct missions to bring satellites into orbit. Safety cannot be neglected even with reference to small space satellites of the CubeSat-1U format. For this purpose, the devices must undergo numerous checks on special stands, confirm their performance in critical conditions. The "Space Systems" laboratory of the "Sirius" Educational Center has a set of test benches that allow testing and testing of small space satellites.*

In the laboratory of the Space Systems of the "Sirius" Educational Center in the city of Sochi, a number of works are being done to prepare small space satellites and prototypes for launching and testing. One example is the development of a nano-satellite "SiriusSat-1U" on the "Big Challenges" project program in July 2017. The students of the "Sirius" Educational Center in cooperation with laboratory specialists, the Institute of Nuclear Physics of the Moscow State University and "Sputnix" Ltd. created the satellite design and payload for it. The scientific and practical task of the satellite was the study of space weather and particle matter at altitudes of 300-400 km.

During the work on the satellite, calibrations and tests of such sensors as: magnetometer, angular velocity and illumination were carried out. These works were carried out on the stand by the simulator of the Earth's magnetic field with an independent air suspension and simulators of the Sun. The simulator of the Earth's magnetic field makes it possible to change the direction of the magnetic field vectors up to  $180^{\circ}$  ( $120^{\circ}$  counterclockwise and  $60^{\circ}$  clockwise) when applying a maximum current to the coils of 1 A, with magnetic field induction up to  $200 \mu\text{T}$ . These manipulations allow us to accurately calibrate the on-board magnetometer for a detailed study of the Earth's magnetic field vectors and its induction in outer space, and also to provide the possibility of satellite orientation according to the magnetometer readings. The aerial suspension provides for the

weighing of the working platform with the satellite on it, due to the air cushion between the platform and the air suspension cup. Free rotation around the vertical axis of the suspension ensures calibration of the angular velocity sensor.

After assembling the engineering model of the satellite, tests were conducted on the shaker table. The satellite was placed in a special container. During the tests, the satellite was subjected to stresses on sinusoidal vibrations, random vibrations and shocks. Conditions were simulated when cargo was delivered to orbit aboard the Progress ship on a Soyuz carrier rocket. The tests were carried out in three coordinate axes. After each test cycle, the satellite was tested for the possibility of transmitting telemetry and control signals on the VHF band. As a result of the tests, it was confirmed that after the loads the satellite remains operational, no damage was found to the structure.

The satellite's operability should be maintained even during a long stay in orbit, the fulfillment of the mission. In order to simulate the flight of a satellite in orbit, it was placed in a thermo-chamber in working order, telemetry was broadcast over a radio channel. A vacuum was created with a pressure of  $1 \cdot 10^{-5}$  mmHg. The temperature transition regimes from  $-40^{\circ}\text{C}$  to  $+80^{\circ}\text{C}$  with a transition of 30 minutes and a retention of 60 minutes were programmed. Temperature changes occurred due to the temperature change of the copper plate located in the chamber, which is the reference and contact surface for the satellite. The transfer of heat by the satellite's body passed very slowly, frostbite or overheating did not occur. The cycles were repeated for 24 hours. During the tests, the satellite transmitted signals steadily. After testing, the mass of the satellite decreased by 0.14%. These indicators indicate that in critical conditions of vacuum and temperature differences in the design of the satellite, it is able to work and carry out research work.

The tests described were qualifying for the satellite. After the tests in the laboratory of the "Space Systems" of the "Sirius" Educational Center, the satellite "SiriusSat-1U" was handed over for acceptance testing in the RSC "Energia". The launch of the satellite into orbit is planned in the summer of 2018 during the next session of extracurricular activities at the International Space Station by Russian cosmonauts.

Carrying out of the described tests is very important for any products and devices that must work in outer space. Of particular importance is the level of their safety in the case of working human with these devices.

## **ПОСТУРАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ**

*Шишкин Н.В., Китов В.В., Шигуева Т.А.*  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Исследования механизмов поддержания вертикальной позы после космических полетов, проводящиеся специалистами разных стран в течение многих лет, выявили наличие глубоких нарушений функции поддержания равновесия (Kozlovskaya et al., 1981-1990; B. Paloski et al., 1992; S. Wood 2012-2015).

В частности, в работах американских исследователей, использовавших метод компьютерной динамической стабилотрии, разработанный в 70-х гг. Нашнером (Nashner, 1976), показано, что восстановление функции равновесия после коротких 4-10-дневных космических миссий происходит наиболее быстро в первые часы после посадки, покрывая до 50% послеполетного снижения комплексной оценки равновесия EquiScore в первые 3 часа.

Изначально метод компьютерной динамической стабилотрии включал в себя 6 тестов сенсорной организации (Sensory Organization Test, SOT), а именно - стойку с открытыми или закрытыми глазами в условиях подвижного зрительного окружения и/или опорной поверхности, во время которых регистрируется движение центра масс обследуемого. Позднее в батарею тестов были добавлены модифицированные тесты SOT2 (стойка с закрытыми глазами на фиксированной поверхности) и SOT5 (глаза закрыты, подвижная опорная

поверхность). Модификация заключалась в добавлении к задаче динамических наклонов головы в сагиттальной плоскости с частотой 0,33 Гц и амплитудой 40°. Jain с соавт. (2010) показали, что модифицированные тесты обладают большей прогностической достоверностью в выявлении послеполетных нарушений позы у астронавтов.

Более поздние исследования стабильности позы после длительных космических полетов (Wood, 2015) показали, что основное восстановление показателя EqScore в оригинальных тестах SOT2 и SOT5 происходит в течение первых 3-х суток после завершения полета, замедляясь в течение следующих 7-ми дней, в то время как восстановление стабильности в модифицированных тестах продолжается в течение всего десятидневного периода исследований. Авторы предположили, что большая сложность тестов, включающих динамические наклоны головы, связана с реадaptацией вестибулярной системы, выраженной в переоценке отолитовых сигналов и полной блокировке медленных отолитовых сигналов.

Исследования постуральной устойчивости, входящие в российскую научную программу послеполетных исследований, не захватывают ранний период восстановления после завершения полета, фокусируясь на особенностях восстановления системы регуляции позы в период с 3-х по 10-е сутки после КП.

В исследованиях приняли участие 26 российских космонавтов-членов экипажей МКС. Длительность полета составляла от 115 до 199 суток. Все участники подписали информированное согласие на участие в эксперименте. Обследование проводили с использованием метода компьютеризированной динамической постурографии, разработанного Л. Нашнером в 1970-х годах с модификациями, введенными исследователями НАСА (Black, Paloski, 1982-1993). В процессе обследования космонавт находился в вертикальном положении на тензометрической платформе установки NeuroCom «SMART EquiTest», оснащенной управляемой ширмой, закрывающей поле зрения обследуемого с трёх сторон – спереди, справа и слева. Тензоплатформа может колебаться в сагиттальной плоскости в прямом соответствии с колебаниями тела, что делает недостоверным вклад проприоцептивной информации о распределении давления по стопе и угла в голеностопном суставе в оценку направления вектора гравитации. Подвижное зрительное окружение делает недостоверным вклад зрительной информации о положении тела относительно этого окружения в оценку направления вектора гравитации. Таким образом, представляется возможным оценить вклад различных сенсорных систем в поддержание вертикальной стойки. Исследование проводили дважды до полета и на 3-и, 7(8)-е и 10(11)-е сутки после возвращения на Землю.

Анализируемым показателем тестов является величина EquilibriumScore, вычисляемая по формуле  $EqScore = [1 - (P - P_{sway}) / 12,5^\circ] * 100$ , где  $(P - P_{sway})$  – угол между максимальными отклонениями центра тяжести в сагиттальной плоскости во время выполнения теста;  $12,5^\circ$  – максимальный  $(P - P_{sway})$ , наблюдаемый в нормальной популяции. До полета этот показатель колебался от 91 до 93 при стойке с открытыми глазами, закономерно снижаясь по мере усложнения задачи: так, в тесте SOT2 (глаза закрыты) он составлял от 88 до 90 баллов, в тесте SOT5 (глаза закрыты, поверхность колеблется) – от 55 до 65 баллов. Наименьшие значения показателя регистрировались в тесте SOT5 с динамическими наклонами головы: от 30 до 40 баллов.

Анализ полученных данных показал, что постепенное снижение скорости восстановления показателя EqScore после 3-х суток после приземления наблюдается только в стандартных тестах, в то время как в тестах с динамическими наклонами головы этого не происходит. Так, при вертикальной стойке на неподвижной поверхности с закрытыми глазами (SOT2) значения исследуемого показателя на 3-и, 7-е и 10-е сутки достоверно не различались, составляя в среднем  $86 \pm 1,5$  балла, а при выполнении аналогичного теста с динамическими наклонами головы (SOT2m) на 10-е сутки ( $78,2 \pm 2$  балла) наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение этого показателя по сравнению с 3-ми и 7-ми сутками ( $74 \pm 2$  и  $74,0 \pm 1,5$  балла соответственно). При вертикальной стойке с закрытыми глазами на подвижной опоре (SOT5)

значения EqScore достоверно увеличивались от 3-х к 7-м суткам после завершения КП (52,5±3,2 и 57,2±4,8), в дальнейшем достоверно не изменяясь и составляли 61±4,1 баллов на 10-е сутки периода восстановления. При выполнении усложненного теста с динамическими наклонами головы (SOT5m) значения исследуемого показателя составляли 16,5±6,4 балла на 3-и сутки после КП, прогрессивно увеличиваясь в ходе дальнейших исследований – до 25±3,3 на 7-е сутки и до 36±2,5 - на 10-е сутки после полета.

Таким образом, восстановление показателя постуральной устойчивости до исходного уровня в стандартных тестах наблюдалось в течение первых 7-ми суток после завершения КП, в то же время в тестах с добавлением динамических наклонов головы прогрессивное восстановление исследуемого показателя продолжалось в течение всего периода наблюдения – до 10-х суток после КП. Период с 7-х по 10-е сутки после полета совпадает по времени с периодом восстановления отолитовой функции (Kornilova, Naumov, 2012), что позволяет предположить, что восстановление показателя стабильности в тесте SOT2M на 10-е сутки связано с восстановлением способности ЦНС оперативно отслеживать ориентацию головы в пространстве, связанной с функцией отолитового аппарата. Работа поддержана Российской академией наук (тема 63.1).

## POSTURAL STABILITY OF COSMONAUTS AFTER LONG SPACE FLIGHTS

*Shishkin N.V., Kitov V.V., Shiguyeva T.A.*  
SSC RF – IBMP RAS, Moscow

Studies of the mechanisms of maintaining vertical posture after space flight, carried out by specialists from different countries for many years, revealed the deep disorders of equilibrium function (Kozlovskaya et al., 1981-1990; B. Paloski et al., 1992; S. Wood, 2012-2015).

In particular, in the works of American researchers, who used the method of computer dynamic stabilometry, developed in the 70s by Nashner (1976), it is shown that the restoration of the vertical balance function after short 4-10-day space missions occurs most quickly in the first hours after landing, covering up to 50% of the post-flight decrease in the comprehensive assessment of EquiScore equilibrium during the first 3 hours.

Initially, the method of computer dynamic stabilometry included 6 Sensory Organization Tests (SOT), namely – the posture with eyes open or closed in a moving visual environment and/or support surface, during which the motion of the center of mass of the subject is recorded. Later modified SOT2 tests (posture with eyes closed on a fixed surface) and SOT5 tests (eyes closed, movable support surface) were added to the series of tests. Modification consisted in addition to the tasks the dynamic head movements in the sagittal plane with a frequency of 0.33 Hz and an amplitude of 40°. Jain et al. (2010) showed that the modified tests have greater predictive validity in identifying postflight violations of vertical balance in cosmonauts.

More recent studies of the postural stability after long-term space flights (Wood, 2015) showed that the basic recovery of EqScore rate in the original SOT2 and SOT5 tests occurs within the first 3 days after the flight, decelerating over the next 7 days, while the restoration of stability in the modified tests is ongoing throughout the ten-day study period. The authors assumed that the greater complexity of the tests, including dynamic head movements, is associated with the readaptation of the vestibular system, expressed in the reassessment of otolith signals and complete blocking of slow otolith signals.

Postural stability studies, included in the Russian scientific-research program of post-flight studies, do not capture the early recovery period after the flight, focusing on the features of restoration of posture regulation system in the period from 3 to 10 days after the SF.

26 Russian cosmonauts-members of the ISS crews took part in the research. The flight duration ranged from 115 to 199 days. All participants signed an informed consent to participate in the experiment. The examination was performed using the method of computerized dynamic posturography developed by L. Nashner in the 1970s with modifications introduced by NASA

researchers (Black, Paloski, 1982-1993). During the examination, the cosmonaut was in a vertical position on the tensometric platform of the NeuroCom «SMART EquiTest» installation equipped with a controlled screen closing the field of vision of the subject from three sides – from the front, right and left.

Test platform can move in sagittal plane in direct line with the vibrations of the body, making insignificant the contribution of proprioceptive information about the pressure distribution on the foot and angle in ankle joint in estimating the direction of the gravity vector. The moving visual environment makes unreliable the contribution of visual information about the position of the body relative to this environment in assessing the direction of the gravity vector. Thus, it is possible to assess the contribution of different sensor systems in maintaining a vertical posture. The study was carried out twice before flight and on the 3rd, 7th (8) and 10th (11) days after landing.

The analyzed parameter of the tests is the value of Equilibrium Score calculated by the formula  $EqScore = [1 - (P - P_{sway}) / 12,5^\circ] * 100$ , where  $(P - P_{sway})$  – the angle between the maximum deviations of the center of gravity in the sagittal plane during the test;  $12,5^\circ$  - is maximum  $(P - P_{sway})$ , observed in the normal population. Before flight, this parameter ranged from 91 to 93 during vertical stance with open eyes, naturally decreasing along the growing complexity of the task: for example, in the SOT2 test (eyes closed) it was in a range of 88 to 90 points, in the SOT5 test (eyes closed, the movable surface) – from 55 to 65 points. The lowest values of the indicator were recorded in the SOT5 test with dynamic head movements: from 30 to 40 points.

The analysis of the obtained data showed that the gradual decrease in the rate of recovery of the EqScore index after 3 days after landing is observed only in standard tests, while in the tests with dynamic head movements this does not happen. Thus, at a vertical posture on a fixed surface with eyes closed (SOT2), the values of the studied indicator on the 3rd, 7th and 10th days did not differ significantly, averaging  $86 \pm 1.5$  points, and when performing a similar test with dynamic head movements (SOT2m) on the 10th day ( $78.2 \pm 2$  points) there was a significant ( $p < 0.05$ ) increase of this indicator compared to the 3rd and 7th days ( $74 \pm 2$  and  $74,0 \pm 1,5$  points, respectively).

In the test of vertical stance with closed eyes on the movable support (SOT5), EqScore values increased significantly from 3 to 7 days after the SF completion ( $52.5 \pm 3.2$  and  $57.2 \pm 4.8$ ), then did not change significantly and amounted to  $61 \pm 4.1$  points on the 10th day of the recovery period. When performing the complicated test with dynamic head movements (SOT5m), the values of the studied indicator were  $16.5 \pm 6.4$  points on the 3rd day after the SF, progressively increasing in the course of further studies-up to  $25 \pm 3.3$  on the 7th day and up to  $36 \pm 2.5$  on the 10th day after the flight.

Thus, the recovery of postural stability index to the initial level in the standard tests was observed during the first 7 days after the SF, at the same time, in the tests with the addition of dynamic head movements, the progressive recovery of the studied indicator continued throughout the observation period-up to 10 days after the SF. The period from the 7th to the 10th day after the flight coincides with the period of restoration of the otolith function (Kornilova, Naumov, 2012), that suggests that the restoration of the stability index in the SOT2M test on the 10th day is associated with the restoration of the CNS ability to quickly track the head orientation in space associated with the otolith apparatus function.

The work is supported by the Russian Academy of Sciences (topic 63.1)



## АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПУПОЧНОЙ ВЕНЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАННОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ

*Якубец Д.А., Рудимов Е.Г., Князев Е.Н.*

*Научный руководитель: Буравкова Л.Б.*

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Эндотелиальные клетки, выстилающие внутреннюю стенку кровеносных и лимфатических сосудов, являются механочувствительными, и играют важную роль в поддержании целостности и обеспечении функций сосудов. Факторы космического полета, в том числе и микрогравитации, негативно влияют на функционирование сердечно-сосудистой системы, поэтому изучение влияния микрогравитации на эндотелиальные клетки может пролить свет на возможные механизмы дисфункций, возникающих во время полета.

Для исследования эффектов микрогравитации в наземных условиях применяют различные модели, одной из которых является рандомизация положения изучаемого объекта относительно вектора гравитации.

В данном исследовании была использована первичная клеточная культура эндотелиальных клеток (HUVEC), полученная из пупочной вены человека согласно методике А.С. Антонова и соавт. (1998). Клетки культивировали в стандартных условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора в среде 199 с содержанием L-глутамина и добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 100 мкг/мл фактора роста ECGS, Endothelial Mitogen, 25 мМ HEPES, 1 мМ пирувата натрия, 5 ЕД/мл гепарина и раствора 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина в 0,85%-м солевом буфере. Для моделирования эффектов микрогравитации был использован прибор «Desktop RPM» (RPM –random position machine). Клетки подвергались экспозиции на RPM в течение 24 ч. Контрольные клетки культивировали 24 ч в статическом состоянии в CO<sub>2</sub>-инкубаторе на неподвижной поверхности. Для изучения вклада постоянного перемешивания среды использовался шейкер в качестве динамического контроля. Для индукции провоспалительной активации клетки инкубировались в среде, содержащей TNF-а с концентрацией 2 нг/мл в течение 24ч. В эксперименте использовались интактные клетки 3–4 пассажей.

Целью работы был полногеномный транскриптомный анализ эндотелиальных клеток пупочной вены человека при моделировании эффектов микрогравитации и провоспалительной активации, а также оценка вклада провоспалительных факторов в модуляцию транскриптома при сочетанном действии с микрогравитацией.

Анализ транскриптома образцов был проведен с помощью микрочипов GeneChip Human Gene 1.0 ST Array в соответствии с протоколом производителя. Обработка и оценка экспрессии генов проводились с использованием Affymetrix Expression Console. Для статистического анализа использовался пакет Limma проекта Bioconductor. Анализ применялся к логарифмам экспрессий, в качестве статистического критерия использовалась модификация критерия Стьюдента (moderated t-statistics). Для описания функций генов использовались ресурсы DAVID, GOrilla и KEGG.

Анализ полученных данных выявил ряд генов, экспрессия которых достоверно изменилась более, чем в 1,5 раза. Эти гены были аннотированы по Gene Ontology и разделены на группы. Среди них - гены, регулирующие прохождение клеточного цикла и пролиферацию, клеточную адгезию, синтез белков цитоскелета и внеклеточного матрикса, синтез различных цитокинов и сигнальных молекул, участие в иммунном ответе и другие. Многие гены, экспрессия которых была изменена, принадлежат определенным сигнальным путям, таким как PI3K/Akt, MAPK, p53, NF-κB, TGFβ, WNT, пути передачи сигнала от рецепторов цитокинов и Toll-like рецепторов, и ряд других. При этом преимущественно повышалась экспрессия генов, входящих в сигнальные пути факторов роста, поддержки клеточной пролиферации, синтеза провоспалительных цитокинов, таких, как IL-6 и IL-8,

молекул клеточной адгезии, что может говорить об активации эндотелия, которая может приводить к нарушению его физиологических функций. Получены сведения о разнонаправленной экспрессии генов компонентов цитоскелета, что также может влечь за собой изменение функциональной активности эндотелия.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что уже после 24-х часовой экспозиции происходит модуляция транскриптомной активности эндотелиальных клеток, и эти изменения касаются практически всех аспектов жизнедеятельности и функционирования данных клеток. Кроме того, получены данные о том, что клетки, подвергнутые сочетанному действию микрогравитации и провоспалительной активации TNF- $\alpha$  давали более выраженный ответ на транскриптомном уровне.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 16-15-10407*

## **TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF HUMAN UMBILICAL CORD BLOOD ENDOTHELIAL CELLS UNDER SIMULATED MICROGRAVITY**

*Yakubets D.A., Rudimov E.G., Knjazev E.N.*

*Scientific supervisor: Buravkova L.B.*

Institute of Biomedical Problems RAS, Moscow

Endothelial cells form a monolayer inside of blood and lymphatic vessels. These cells are mechanosensitive and play an important role in maintaining the integrity and ensuring the functions of vessels. Space flight conditions, including microgravity, have a significant effect on the cardiovascular system, so far examination of microgravity effects on endothelial cells is an important aspect in understanding of the space flight factor effects on the body.

To study the effects of microgravity in ground-based conditions, various experimental approaches are used. One of them is the randomization of the position of the object relatively to the gravity vector.

In this study, the primary culture of endothelial cells (HUVEC), derived from the human umbilical vein, was used according to the method of Antonov et al. (1998). The cells were cultured in 199 medium containing 2mM L-glutamine, 10% fetal bovine serum, 100  $\mu$ g/ml ECGS growth factor (endothelial Mitogen), 25 mM HEPES, 1 mM sodium pyruvate, 5 U/ml heparin, 100 U/ml penicillin, and 100  $\mu$ g/ml streptomycin under standard conditions in CO<sub>2</sub> incubator. To simulate the effects of microgravity, the Desktop random position machine (RPM) was used. Cells were exposed on RPM for 24 hours. Control cells were cultured for 24 hours in static state (CO<sub>2</sub> incubator). To study the impact of the medium steering, the orbital shaker was used as a dynamic control. To induce proinflammatory activation HUVEC were exposed to TNF- $\alpha$  (2 ng/ml) for 24 hours. HUVEC of 3-4 passages were used in the experiment.

The goal of the work was differential global gene expression analysis of HUVEC under simulated microgravity, pro-inflammatory activation, and the combination of both factors. Transcriptomic analysis was performed using GeneChip Human Gene 1.0 ST Array microchips (Affymetrix) in accordance to the manufacturer's protocol. The evaluation of gene expression was performed using Affymetrix Expression Console. Limma package of the Bioconductor project was used for statistical analysis. The data on gene expression was presented in logarithmic mode, a modified Student T-test was used to consider the significance of the differences. To describe gene functions Gene Ontology resources DAVID, GOrilla and KEGG were used.

The analysis revealed a number of genes, the expression of which was significantly changed more than 1.5 times. These genes were annotated by Gene Ontology and divided into groups. Those groups include cell cycle and proliferation, cell adhesion, the synthesis of cytoskeleton and extracellular matrix proteins, the synthesis of various cytokines and signaling molecules, participation in the immune response, and others. Many altered genes belong to certain signaling pathways, such as PI3K / Akt, MAPK, p53, NF- $\kappa$ B, TGF $\beta$ , WNT, signaling pathways of cytokine receptors and Toll-like receptors, and a number of others. The essential upregulation was noted

among genes of signaling pathways of cellular proliferation growth factors, proinflammatory cytokines, such as IL-6 and IL-8, of cell adhesion molecules. The upregulation of these genes may be a manifestation of endothelial activation leading to endothelial dysfunction. In addition, the multidirectional changes of genes encoding cytoskeleton components may also provoke alteration of the functional activity of the endothelium.

Thus, the 24 hours exposure to simulated microgravity or inflammatory stimulus significantly affects transcriptional activity of HUVEC. These changes are related to nearly all aspects of endothelial cell functions. The combined effect of microgravity and pro-inflammatory activation of TNF- $\alpha$  provoked more pronounced response on the transcriptional level.

*This research was supported by Russian Science Foundation grant 16-15-10407*

ISBN 978-5-902119-45-6



9 785902 119456