

**СОВЕТ МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
ГОСУДАРСТВЕННОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ -
ИНСТИТУТА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**



**XVIII Конференция молодых учёных, специалистов и студентов,
посвящённая 50-летию высадки человека на Луну**



16-17 апреля 2019

Москва

XVIII Конференция молодых учёных, специалистов и студентов, посвящённая 50-летию высадки человека на Луну

Материалы конференции. — М.: Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, 2019. — 54 с.

Сборник материалов XVIII Конференции молодых учёных, специалистов и студентов, посвящённой 50-летию высадки человека на Луну (16 апреля 2019 г., 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.

Все материалы размещены в сборнике в алфавитном порядке.

Сборник будет полезен широкому кругу специалистов, аспирантам и студентам.

© Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации
Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук
ISBN-9785902119579

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Председатель:

Сальников А.В., к.м.н.

Заместитель председателя:

Журавлёва Т.В.

Члены комитета:

Горностаева А.Н., к.б.н.

Лысова Н.Ю., к.б.н.

Иванов О.Г.

СОДЕРЖАНИЕ

Абу-Шели Н.М.А Исследования нарушения координации и постурального баланса у людей с нарушением зрения.....	7
Алексеева О.Ю., Маркина Е.А. Иммунофенотип прогениторных клеток костного мозга мышей с57bl/6n после 30-суточного антигортостатического вывешивания.....	8
Алексеева О.Ю. , Бобылева П.И. Влияние короткого гипоксического стресса на функциональную активность макрофагов м2-фенотипа при взаимодействии с мезенхимальными стромальными клетками.....	9
Анисимов Н.А.Исследование морфо-биохимических показателей эритроцитов и эффективности переноса кислорода гемоглобином у - добровольцев при воздействии перегрузок +gz на центрифуге короткого радиуса.....	11
Бобылёва П.И. Активные формы кислорода в регуляции свойств мультипотентных мезенхимных стромальных клеток.....	12
Боков Р.О., Лысенко Е.А., Махновский П.А. Регуляция содержания митохондриальных белков в скелетной мышце человека при аэробной тренировке.....	13
Глотов А.А., Волова Л.Т., Власов М.Ю., Писарева Е.В., Даниэль, М.А., Горченкова М.Ю., Ерина Н.М., Романова Д.А., Нефёдова И.Ф., Тимченко Е.В., Скрипачёва О.В. Влияние аллогенного кальцийсодержащего биоматериала на метаболические процессы в костной ткани в условиях воздействия повышенной температуры окружающей среды и микрогравитации.....	14
Голикова Е.А., Ездакова М.И. Разработка методических подходов к изучению взаимодействия мезенхимальных стромальных клеток и гемопоэтических предшественников в условиях моделирования эффектов микрогравитации.....	16
Гордиенко К. В. Ранний этап восстановления минеральной плотности костной ткани космонавтов после первого и последующих полетов.....	17
Горностаева А.Н. Иммуномодуляторная чувствительность т-клеток здоровых добровольцев в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии.....	18
Джалилова Д.Ш. Инфранианный биоритм устойчивости к гипоксии половозрелых самцов крыс	20
Живодерников И.В., Ратушный А.Ю., Матвеева Д.К. Экспрессия генов молекул адгезии и внеклеточного матрикса под воздействием эффектов моделированной микрогравитации.....	22
Зарипов Р.Н. Легочные объёмы и ёмкости в условиях 5-суточной «сухой» иммерсии	24
Киселева Д.Д., Садова А. А.Изменение экспрессии генов некоторых цитокинов до, во время и после нахождения человека в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии без средств профилактики.....	25
Куканов В.Ю. Гипомагнитные условия фактор дальнего космоса.....	26
Лебедева С.А. Анализ акустических характеристик речи как метод дистанционного мониторинга функционального состояния оператора в условиях космического полёта.....	27
Леднев Е.М., Лысенко Е.А. Экспрессия гена <i>IGF1</i> в миотубах и скелетной мышце человека под влиянием аминокислот.....	28
Литвин Е.Д. Влияние гипомагнитной среды на репродуктивную функцию японского перепела.....	29
Лукичёва Н. А. Предварительная оценка состояния костной ткани рыб DANIORERIO экспонированных на борту МКС.....	31
Маркина Е.А. Динамика показателей липидного обмена в кратковременных экспериментах с изоляцией в гермообъёме и "сухой" иммерсией.....	33
Матвеева Д.К., Живодерников И.В. Внеклеточный матрикс мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток <i>in vitro</i> : особенности при различном уровне O ₂ в микроокружении.....	35
Махновский П.А., Лысенко Е.А., Газизова Г.Р., Шагмарданова Е.А. Регуляция содержания высокопредставленных белков в скелетной мышце человека в ответ на аэробную тренировку:	

роль транскрипции	36
Мельников И.Ю., Шарло К.А., Вихлянец И.М., Тыганов С.А. Кальпаин-зависимая дегградация цитоскелетных белков и ее влияние на жесткость m.soleus крысы в условиях моделируемой невесомости на фоне введения l-аргинина	37
Онучина М.Р., Киреева А.Е. Особенности влияния гипомагнитных условий на регуляцию сердечного ритма	38
Орлова Е.А. Как изменяется точность выполнения интенсивных движений при разных уровнях тренированности человека	39
Орлова С.В. Исследования дезинфекционных средств для использования в пилотируемых космических полетах	40
Очков О.А., Буряк А.А. Алгоритмы для оптимизации светодиодного освещения растений в лунной и марсианской оранжереях	41
Парамонова И.И., Вильчинская Н.А., Шарло К.А. Динамика ядерного траффика транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию mhc1 типа в камбаловидной мышце крыс при гравитационной разгрузке «сухой» иммерсии	43
Паршин К.С. Изменения вентиляционной чувствительности человека к гиперкапническому стимулу в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии	41
Ратушный А.Ю. Окислительный стресс как индуктор старения мезенхимальных стромальных клеток человека	44
Рожков С.В., Шарло К.А., Тыганов С.А. Влияние опорной стимуляции на емкость и эффективность трансляции в m.SOLEUS крысы на ранних сроках гравитационной разгрузки .	46
Чистоходова С.А. Оценка рисков развития патологии в условиях изоляции по динамике показателей нейрогормональной регуляции обмена веществ и состава тела	47
Шарло К.А., Парамонова И.И., Тыганов С.А. Восстановление сигнального пути кальцинейрин/NFATC1 при механической опорной стимуляции после первых суток функциональной разгрузки	49
Шеф К.А. Требования к разработке рационов для питания космонавтов	50
Шишкин Н.В., Амброва Л.Е., Ермаков И.Ю. Стохастическая гальваническая вестибулярная стимуляция как метод коррекции вертикальной стойки после длительного пребывания в условиях безопорности	51
Шульгина С.М., Калинин С.А., Орлова К.Д. Влияние 21-суточной «сухой» иммерсии без средств профилактики на состояние системы сигнальных образ-распознающих toll-like рецепторов человека	52
Якубец Д.А., Ратушный А.Ю. Влияние эффектов моделированной микрогравитации на секреторную активность праймированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на ранних сроках воздействия	53

ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЯ КООРДИНАЦИИ И ПОСТУРАЛЬНОГО БАЛАНСА У ЛЮДЕЙ С НАРУШЕНИЕМ ЗРЕНИЯ.

Абу Шели Н.М.А.

Научный руководитель: **Ачкасов Е.Е., Терновой К.С.**

Сеченовский Университет, кафедра спортивной медицины, медицинской реабилитации и лечебной физкультуры, Москва

Предпосылки: Проблема нарушения координации и постурального баланса у людей с нарушением зрения, несмотря на свою важность, мало изучена современной наукой. Пациенты с офтальмологическими заболеваниями показывают более низкие результаты в шкалах оценки баланса по сравнению с людьми без патологии органов зрения. Но при этом спортсмены адаптивных видов спорта (спорта слепых), таких как голбол, торбол и другие, показывают промежуточные результаты: лучше, чем неспортивные незрячие, но хуже, чем контрольная группа молодых здоровых людей с нормальным зрением.

Цель: разработать методику реабилитации пациентов с нарушениями зрения, позволяющую нивелировать проблему нарушения координации и постурального баланса и включающая в себя как методы аппаратной реабилитации, такие как лечебно-тренировочные и диагностические сеансы на аппаратах, так и комплексы лечебной физкультуры, которые пациенты могут выполнять в реабилитационном центре под контролем инструктора или врача ЛФК и у себя дома. В данном исследовании особое внимание уделялось корреляции между степенью нарушения координации и постурального баланса и такими офтальмологическими параметрами как: врожденное или приобретенное заболевание, поражен один глаз или оба глаза, степень потери зрения.

Материалы и методы: исследование на данном промежуточном этапе включает три группы испытуемых: первая группа – 30 человек с патологией зрения различного генеза от 18 до 35 лет, не занимающиеся спортом или танцами и не имеющие иных заболеваний, влияющих на координацию движений; вторая группа – 30 человек с патологией зрения различного генеза от 18 до 35 лет, занимающиеся адаптивными видами спорта слепых более 1 года; третья контрольная группа – молодые люди от 18 до 35 лет, не имеющие каких-либо острых или хронических заболеваний. Критерии включения: 1) наличие патологии зрения; 2) возраст от 18 до 45 лет. Критерии не включения: 1) любые декомпенсированные состояния; 2) открытые раны, переломы; 3) эпилептические припадки в анамнезе, отягощенный психиатрический анамнез.

Оценка результатов исследования проводилась в оснащем передовыми компьютеризированными реабилитационными системами центре.

Чтобы оценить нарушения координации движения и постурального баланса и корреляцию с офтальмологическими параметрами, были выбраны следующие физикальные методы обследования координации и мышечной силы: проба Ромберга, пальценосовая проба, пяточно-коленная проба, исследование мышечной силы на динамометре; следующие шкалы: шкала равновесия Берга (BERG BALANCE SCALE - BBS), шкала постуральной оценки (PAS) и шкала нарушений туловища (TIS) и данные лечебно-диагностические системы: 1) дестабилизирующий тренажерный комплекс «Balance Tutor» для восстановления статического и динамического равновесия; 2) сенсорная дорожка с обратной биологической связью C-mill VR+; 3) стабиллоплатформа с системой КОБС. С помощью аппаратов оценивались такие параметры как: траектория центра давления во время ходьбы, общий результат средней фазы опоры на ногу, вертикальный компонент силы на основании всех блоков протокола тренировки, распределение веса на обе ноги на основании всех блоков протокола тренировки, видеонализ походки с встроеной сеткой координат и оценкой угла в суставах во время ходьбы пациента по

платформе; такие параметры походки как: ширина и частота шага, симметрия, расстояние между шагами одной ноги, траектория центра давления по отношению к области ходьбы.

Результаты: Значения шкал BBS, PAS, TIS у группы незрячих, не занимающихся спортом составили $30,55 \pm 4,76$; $42,5 \pm 4,86$ и $25,9 \pm 3,80$, соответственно. В группе спортсменов же значения составили: $42,56 \pm 3,46$; $51,5 \pm 2,86$ и $29,7 \pm 2,92$. Данные оценочных шкал показали достоверную разницу, в то время как тестирование в положении на обеих ногах не имело достоверного отличия у спортсменов. Статический баланс спортсменов значительно отличается в положении на одной ноге. Лучший баланс наблюдался в тестах с открытыми глазами. Тренировки более, чем 4 раза в неделю показали лучшие результаты по сравнению с теми, кто практиковал меньше.

Выводы: промежуточные результаты исследования дают основание заявлять, что имеется четкая связь между нарушениями пострального баланса и патологией зрения; на данный момент все реабилитационные мероприятия в России и в остальном мире направлены лишь на заболевание, ставшее причиной инвалидности, но не на указанные нарушения координации движений. Наше исследование направлено на разработку программ реабилитации при помощи компьютеризированных аппаратных комплексов в сочетании с лечебной физкультурой.

ИММУНОФЕНОТИП ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ C57BL/6N ПОСЛЕ 30-СУТОЧНОГО АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ

Алексеева О.Ю., Маркина Е.А.

Научный руководитель: **проф., д.м.н. Буравкова Л.Б.**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В перспективе межпланетных экспедиций изучение состояния различных физиологических систем, включая костный мозг, участвующих в адаптации организма к условиям космического полета, является неотъемлемой частью медико-биологических исследований. Как известно, костный мозг представляет собой депо стволовых и прогениторных клеток мезенхимального происхождения, относящихся к гемопоэтическому и стромальному дифферону, функционирование которых обеспечивает физиологический гемопоэз и гомеостаз костной ткани. От состояния этого компартамента в значительной мере зависит адаптация организма к неблагоприятному воздействию факторов космического полета.

Целью работы было изучение иммунофенотипа прогениторных клеток костного мозга мышей после 30-суточного антиортостатического вывешивания.

Исследования проводились на самцах мышей линии C57Bl/6N, 19 – 20-недельного возраста, массой 25 – 30 г в группах: 1) виварный контроль, животные, содержащиеся на стандартном пищевом рационе в условиях вивария - «К», 2) антиортостатическое вывешивание, животные, подвергнутые 30-суточному вывешиванию – «В».

Имунофенотипирование клеток костного мозга мышей проводили непосредственно после выделения. В работе использовали моноклональные антитела к следующим поверхностным маркерам: CD90.2, CD44, CD157, CD45, CD106, CD34, Sca-1. Аликвота клеток от каждого пула была использована для выявления поверхностных антигенов с помощью соответствующих моноклональных антител CD45, CD90.2, CD44, CD157, CD34, конъюгированных с PE и Sca-1, конъюгированных с FITC. В качестве изотипического контроля использовали IgG, конъюгированные с PE и FITC того же подкласса, что и специфические антитела.

CD34 – это высоко гликозилированный сиаломуцин, экспрессируется на гемопоэтических предшественниках, а также эндотелиальных клетках, в мозге и тестикулах. Считается, что CD34 функционирует как молекула адгезии для прикрепления стволовых клеток к внеклеточному матриксу или стромальным клеткам и опосредует клеточную адгезию через связывание с лигандами L-селектина и E-селектина.

CD44 – гликопротеин, также известный как Hermes, Pgp1, H-CAM, или HUTCH экспрессируется на всех лейкоцитах, эндотелиальных клетках, гепатоцитах, остеокластах и мезенхимальных клетках, являясь одной из наиболее известных молекул адгезии.

CD45 – гликопротеин, также известный как панлейкоцитарный антиген, T200 или Ly-5. Является членом семейства белковых тирозинфосфатаз, экспрессируется на всех кровяных клетках, кроме зрелых эритроцитов и тромбоцитов. Основные лиганды CD45 – галектин-1, CD2, CD3, CD4, TCR, CD22 и Thy-1.

CD90 является членом суперсемейства иммуноглобулинов, также известный как Thy-1. Он детектируется на гемопоэтических стволовых клетках и нейронах, тимоцитах и периферических Т-клетках, стромальных клетках. CD90 – гликозилфосфатидилинозитол GPI-связанный мембранный гликопротеин, участвующий в трансдукции сигнала. CD90 участвует в ко-стимуляции пролиферации и активации лимфоцитов, дифференцировке гемопоэтических стволовых клеток, взаимодействует с CD45.

CD106 – гликозилфосфатидилинозитол, GPI-связанный трансмембранный белок, также известный как VCAM-1. Он конститутивно экспрессируется на стромальных клетках костного мозга, миелоидных предшественниках, селезеночных дендритных клетках, активированных эндотелиальных клетках, а также некоторых лимфоцитах. CD106 участвует в адгезии клеток.

CD157 (BST-1) – член семейства эктоэнзимов ADP-рибозилциклазы, также известный как ADP-рибозилциклаза 2. CD157 экспрессируется макрофагами, нейтрофилами, стромальными клетками костного мозга, эндотелиальными клетками, фолликулярными дендритными клетками и предшественниками Т- и В-клеток до перестройки антигенных рецепторов. Он также играет роль в миграции нейтрофилов и адгезии.

Sca-1 (Ly6A/E) – гликозилфосфатидилинозитол GPI-связанный белок, экспрессируемый на гемопоэтических и стромальных стволовых клетках, а также на периферических В- и Т-лимфоцитах.

Цитофлуориметрический анализ позволил выявить неоднородность кариоцитов по размеру и уровню экспрессии маркеров. Во всех группах большинство клеток (89 – 99%) экспрессировали маркер CD45. Доля CD45-негативных клеток не превышала 7%. При анализе субпопуляций CD45⁺ соотношение долей гранулоцитов моноцитов и лимфоцитов не изменялось. При анализе экспрессии CD90 были выявлены две субпопуляции – CD90^{high} (мелкие клетки) и CD90^{dim} (крупные клетки). Во время вывешивания происходило уменьшение доли CD90⁺-клеток в двух выявленных субпопуляциях. CD44-антиген экспрессировался с разной интенсивностью, кроме того, клетки были вариabильны по размеру: мелкие – CD44^{low}, средние – CD44^{dim} и крупные – CD44^{high}. Во время вывешивания снижалась доля CD44^{low} и CD44^{high} клеток. После вывешивания наблюдалась тенденция к увеличению доли CD157⁺ клеток, особенно CD157⁺/Sca-1⁺. При этом доля Sca-1⁺-клеток, оставалось схожей с контролем. Доля CD106-положительных клеток не менялась во время вывешивания. Факторы антиортостатического вывешивания не повлияли на экспрессию CD34-маркера.

Таким образом, антиортостатическое вывешивание приводило к изменению уровня экспрессии изучаемых маркеров. Наблюдалось снижение экспрессии CD90 и CD44 обеспечивающих взаимодействие стромальных и гемопоэтических клеток.

Увеличивалась доля CD157⁺/Sca-1⁺ маркера мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ ИМБП РАН №65.3 и гранта РФФИ 19-015-00206

ВЛИЯНИЕ КОРОТКОГО ГИПОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ M2-ФЕНОТИПА ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

Алексеева О.Ю. , Бобылева П.И.

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

ГНЦ РФ-ИМБП РАН, г. Москва

В настоящее время считается, что модуляция функциональной активности моноцит-производных макрофагов МН/МФ как *in vitro*, так и *in vivo*, приводит к формированию провоспалительного (классического М1) и противовоспалительного (регуляторного, альтернативного, М2) фенотипов. В поврежденной ткани взаимодействие клеточного микроокружения (МН/МФ и мезенхимальных стромальных клеток (МСК)) и внеклеточного стромального компонента происходит в условиях провоспалительной активации и гипоксии. Известно, что гипоксическое воздействие приводит к изменению функциональной активности МН/МФ, включая энергетический метаболизм и эффекторные функции в антибактериальном и иммунном ответе и играет важную роль в репаративных процессах.

Целью данной работы являлось изучение влияния короткого гипоксического стресса на функциональную активность М2-фенотипа МН/МФ при взаимодействии с МСК.

МН выделяли из фракции мононуклеаров периферической крови человека, а МСК из жировой ткани человека и культивировали в стандартных условиях (5% CO₂, 37°C). Функциональный статус МН/МФ оценивали в монокультуре и после со-культивирования с МСК. Со-культивирование проводили в течение 6 дней – период, за который происходило созревание МН/МФ, после чего клетки подвергались короткому (24 ч) гипоксическому воздействию (1% O₂). Фенотип МН из исходной популяции, МН/МФ в монокультуре и после со-культивирования с МСК был охарактеризован методом проточной цитометрии по следующим маркерам - созревание (CD11b), провоспалительная активация (CD80, CD86, HLA-DR) и поляризация в М2 (антивоспалительный) фенотип (CD163, CD206). Изменение функциональной активности МН/МФ оценивали по способности поглощать латексные частицы (0,5 мкм, меченые yellow-green). Фагоцитарную активность МН/МФ анализировали с помощью флуоресцентной микроскопии. Изменение экспрессии генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов определяли при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР). Паракринный профиль МН/МФ оценивали по внутриклеточному содержанию цитокинов с помощью твердофазного иммуно-ферментного анализа (ИФА).

В присутствии МСК созревание МН/МФ не отменялось, при этом клетки проявляли признаки М2 поляризации, о чем свидетельствовало увеличение экспрессии CD163 и CD206. Популяции М2 макрофагов свойственна более высокая фагоцитирующая способность по сравнению с популяцией М1 макрофагов. Доля активно фагоцитирующих клеток (содержащих более 25 латексных частиц) при 20% O₂ составляла в монокультуре МН/МФ - 8±1%, а в со-культуре с МСК – 87±10%. Поляризация фенотипа МН/МФ в присутствии МСК, как считается, сопровождается сдвигом профиля продукции растворимых медиаторов. Мы не обнаружили при

взаимодействии МН/МФ с МСК изменения транскрипционной активности *IL8*, *IL10*, *IL12*, *TNFA*. В тоже время, отмечено достоверное увеличение транскрипционной активности *IL6*. Оценка внутриклеточного содержания цитокинов *IL-6*, *IL-10*, *TNF-а* в МН/МФ показала многократное увеличение *IL-6* при взаимодействии с МСК, что свидетельствует о формировании МН/МФ фенотипа, обозначаемого как МСК-обученные макрофаги.

Короткое гипоксическое воздействие не влияло на фагоцитарную активность МН/МФ в монокультуре и при со-культивировании с МСК. Отмечалось повышение транскрипционной активности *IL6*. Гипоксический стресс не оказывал влияния на внутриклеточный уровень цитокинов *IL-6*, *IL-10*, *TNF-а* в МН/МФ в монокультуре и при взаимодействии с МСК.

Таким образом, короткое гипоксическое воздействие не отменяло формирование противовоспалительного регуляторного М2-фенотипа макрофагов, а взаимодействие с МСК усиливало формирование М2 фенотипа макрофагов и их функциональную активность.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-04-00942

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРЕНОСА КИСЛОРОДА ГЕМОГЛОБИНОМ У ДОБРОВОЛЬЦЕВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕРЕГРУЗОК +GZ НА ЦЕНТРИФУГЕ КОРОТКОГО РАДИУСА.

Анисимов Н.А.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Известно, что длительное воздействие невесомости у космонавтов, пребывавших в условиях орбитальных комплексов «МИР» и «МКС», вызывает эффекты минимализации функций основных физиологических систем организма (Григорьев А.И., Попова И.А., Каплинский А.С. 1993), в том числе и системы красной крови. Так, в условиях длительного космического полета (КП) и после его завершения наблюдаются не только снижение количества эритроцитов, но и сдвиги в показателях их метаболизма, в том числе в структурно-функциональном состоянии плазматической мембраны (Ярлыкова Ю.В., Лабецкая О.И., Иванова С.М. 1994). Важными показателями функционального состояния эритроцита являются содержание внутриклеточной АТФ, которая характеризует энергетический обмен в клетке, активность транспортных Na^+ , K^+ и Ca^{2+} - АТФ-аз (Колесникова В.Н. 2014). Также на состояние эритроцитов влияет уровень восстановленного глутатиона и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД), основного фермента пентозофосфатного цикла участвующего в реакциях восстановления пиридиннуклеотидов, компонентов антиоксидантной системы клетки, регулирующей процессы перекисного окисления липидов (Колесникова В.Н. 2014).

Из литературных данных следует, что изменения на мембранном уровне, могут влиять на эффективность транспорта кислорода и быть предпосылкой к развитию тканевой гипоксии. Так, изменение вязкости плазматической мембраны эритроцитов обуславливает снижение ее проницаемости для кислорода и, как следствие, снижение насыщения гемоглобина кислородом. Уменьшение содержания кислорода оксигемоглобина сопровождается функциональным изменением конформации гемоглобина – увеличением сродства гемоглобина к кислороду (Brazhe N.A., Abdali S., Brazhe A.R., et al 2009).

Известно, что перспективным средством профилактики неблагоприятного воздействия невесомости на организм человека может быть искусственная сила тяжести путем использования центрифуги короткого радиуса (ЦКР) (Орлов О.И., Колотева М.И.2017). В связи с этим представляется важным в наземных условиях оценить эффекты влияния перегрузок на морфо-

функциональное состояние эритроцитов у испытуемых – добровольцев в целях выяснения оптимальных режимов вращения с использованием ЦКР.

Целью исследования явилось изучение воздействия разных режимов перегрузки (2,1, 2,4 и 2,9g) в направлении голова-таз на морфологические и биохимические показатели эритроцитов, а также эффективность переноса кислорода гемоглобином. При этом изучали показатели энергообразующей системы - содержание АТФ и активность ЛДГ и окислительно-восстановительной – содержание восстановленного глутатиона и активность Г6ФД, а так же определяли функциональное состояние гемоглобина эритроцитов - относительное содержание оксигемоглобина и способность гемоглобина связывать кислород.

Было обнаружено, что перегрузки силой 2,1g не вызывают достоверных изменений величин исследуемых параметров. Воздействие перегрузок силой 2,4g приводит к снижению содержания АТФ в эритроцитах из-за уменьшения эффективности энергообразующего процесса - гликолиза, о чем свидетельствует достоверное снижение активности ЛДГ.

При увеличении перегрузок до 2,9g отмечается активация антиокислительных процессов в клетке: снижение содержания восстановленного глутатиона. При этом отмечено компенсаторное увеличение активности Г6ФД эритроцитов.

Установлено, что при воздействии перегрузок изменяются способности гемоглобина переносить кислород: увеличивается способность гемоглобина связывать кислород, что повышает риск развития гипоксического состояния.

Таким образом, при силе перегрузок от 2,4 до 2,9g наблюдаются изменения метаболизма эритроцитов, затрагивающие энергетический обмен и активность антиокислительных систем. Меньшие величины перегрузок, по-видимому, являются оптимальными для профилактики неблагоприятного влияния невесомости.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0130-2014-0006 и темы РАН 65.1 (№ Гос. регистрации 01201370667)

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В РЕГУЛЯЦИИ СВОЙСТВ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Бобылёва П.И.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В настоящее время мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) по результатам ряда доклинических и клинических испытаний подтвердили свою эффективность для терапии различных заболеваний, связанной с необходимостью подавления иммунной реакции организма, а также для восстановления повреждённых тканей и органов. Терапевтический эффект МСК реализуется благодаря продукции целого спектра паракринных факторов, которые осуществляют трофическое и регуляторное воздействие на клетки, участвующие в репарации. В провоспалительном микроокружении происходит активация функций МСК, которые направлены на подавление иммунного ответа через регуляцию различных участников этих процессов. Такая способность МСК представляет особый интерес в свете возможного использования этих клеток для терапии аутоиммунных заболеваний и при трансплантации органов.

Клиническое применение МСК диктует необходимость стандартизации клеточного материала. На практике исследователи и клиницисты сталкиваются с проблемой разнородности получаемых клеточных популяций, что затрудняет прогнозирование результатов использования этих клеток. Один из важных показателей, по которому наблюдается значительная гетерогенность МСК: уровень активных форм кислорода (АФК). Значение данного параметра отражает в совокупности метаболическую активность клетки, сопровождаемую

формированием свободных радикалов, и функционирование антиоксидантной системы. АФК выполняют важную роль в качестве участников сигнальных каскадов, регулирующих функции клетки. Так, в зависимости от уровня АФК модулируются такие свойства МСК, как пролиферативная активность, способность к остео-/адипо-/хондрогенной дифференцировке, кроме того, есть данные, позволяющие предполагать наличие связи между этим показателем и иммуномодуляторной способностью МСК. Уровень АФК в МСК определяется целым рядом параметров и зависит от особенностей клеточного материала донора, а также непосредственно от условий культивирования выделенных клеток. Значительную роль играют особенности микроокружения: так, в нашей лаборатории было продемонстрировано повышение уровня АФК в МСК *in vitro* условиях провоспалительной активации IFN-gamma, а также при коротком гипоксическом стрессе. Кроме того, известно, что АФК вовлекаются в клеточный сигналинг, инициированный провоспалительными стимулами. В работе обсуждаются возможные взаимосвязи между АФК и функциональными свойствами МСК.

Таким образом, понимание механизмов модуляции свойств МСК посредством АФК имеет ключевое значение для разработки эффективных клеточно-терапевтических протоколов с применением МСК. В контексте этой проблемы необходимо установление непосредственных путей регуляции функций МСК, а также роли различных факторов, определяющих уровень АФК, что позволит направленно модифицировать свойства клеток, значимые для реализации их терапевтического потенциала.

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-2976.2018.4

РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА ПРИ АЭРОБНОЙ ТРЕНИРОВКЕ

Боков Р.О., Лысенко Е.А., Махновский П.А.

Научный руководитель: **Попов Д.В., к.б.н.**

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Ранее нами было показано, что 8-нед аэробная тренировка на велоэргометре увеличивает содержание белков, входящих в состав митохондриальных дыхательных ферментов (NDUFB8, SDHB, UQCRC2, MT-CO1, ATP5A1), в скелетной мышце без изменения экспрессии их генов (Pоров et al., 2018). Это позволило выдвинуть гипотезу, что увеличение содержания митохондриальных ферментов в ответ на аэробную тренировку не регулируется на уровне транскрипции. Для проверки этого предположения мы оценили влияние аэробной тренировки на изменения содержания нескольких сотен митохондриальных белков и на экспрессию их генов с помощью высокопроизводительных методов протеомного масс-спектрометрического анализа и РНК-секвенирования.

Семь молодых нетренированных мужчин в течение 8 нед (1 ч/дн, 5 дн/нед) тренировались на велоэргометре. Биопсические образцы из *m. vastus lateralis* брали в покое до и после периода тренировки. Для количественной оценки изменений в содержании митохондриальных белков до и после тренировочного периода применяли метод панорамной масс-спектрометрии с использованием изобарической метки iTRAQ. Для оценки изменений в экспрессии генов был использован метод высокопроизводительного РНК-секвенирования.

Нами было обнаружено 195 митохондриальных белков, из которых 116 белков увеличили содержание на 15–70% ($P_{\text{скоррект.}} < 0,05$); ни для одного митохондриального белка не было выявлено уменьшения содержания. При этом не было обнаружено увеличения экспрессии генов, кодирующих эти митохондриальные белки. Анализ протеомных данных выявил увеличение базального содержания 14 белков теплового шока и шаперон-ассоциированных

белков (HS90A, HS90B, H90B2, ENPL, VIP, HSP76, HSP7C, GRP75, HSPB6, CH60, CH10 и BAG3, CALX, CRYAB, соответственно), причем 3 из них (GRP75, CH60, CH10) относятся к митохондриальным белкам.

Белки теплового шока и шаперон-ассоциированные белки восстанавливают поврежденные белки и увеличивают их стабильность. Показано, что сверхэкспрессия белков теплового шока и шаперон-ассоциированных белков HSP7C, HSPB1, CH60, HS71B, HS71A в миообластах и скелетных мышцах грызунов приводит к увеличению содержания митохондрий и аэробной работоспособности (Archer et al., 2017).

Подытоживая, можно заключить, что увеличение содержания митохондриальных белков в скелетной мышце человека не регулируется на уровне транскрипции. Увеличение содержания митохондриальных белков связано с увеличением содержания белков теплового шока. Это позволяет предположить, что вызванное тренировкой увеличение содержания митохондриальных белков связано с увеличением их стабильности.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 17-00-00308К (17-00-00242)).

ВЛИЯНИЕ АЛЛОГЕННОГО КАЛЬЦИЙСОДЕРЖАЩЕГО БИОМАТЕРИАЛА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И МИКРОГРАВИТАЦИИ

Глотов А.А.¹, Волова Л.Т.², Власов М.Ю.², Писарева Е.В.¹, Даниэль, М.А.¹, Горченкова М.Ю.¹, Ерина Н.М.¹, Романова Д.А.¹, Нефёдова И.Ф.², Тимченко Е.В.¹, Скрипачёва О.В.¹

¹Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королёва, Самара

²Самарский государственный медицинский университет, Самара

В работе проводилось изучение метаболизма костной ткани животных при моделировании микрогравитации, ежедневной гипертермии и введении гидроксиапатита (ГАП). Порошок биогенного гидроксиапатита был получен по оригинальной методике, разработанной в Институте экспериментальной медицины и биотехнологии Самарского государственного медицинского университета совместно с кафедрой биохимии, биотехнологии и биоинженерии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва (Волова Л.Т., Подковкин В.Г. и др., 2008), путем деминерализации костной ткани различных типов с последующим осаждением из раствора.

Исследование проведено на восьми экспериментальных группах животных. Три группы подвергались ежедневной кратковременной гипертермии в специальной тепловой камере по 10 минут при температуре 70°C в течение 28 суток. При этом на 14 сутки одной из экспериментальных групп животных проводили инъекции гидроксиапатита в растворе 0,9% NaCl, другой (группа плацебо) – инъекции 0,9% NaCl без гидроксиапатита.

Для трёх групп были смоделированы условия микрогравитации, целью которой является функциональная разгрузка задних конечностей. Для этого крыс вывешивали за хвост по методу Новикова-Ильина (Новиков В.Е., Ильин Е.А., 1981) таким образом, чтобы задние конечности не касались пола, а передние опирались на него. Тело животного при этом располагалось под углом 45° к полу клетки. При этом одной группе проводили инъекции глюкокортикоидов (ГК) в концентрации 10 мг/кг ежедневно в течение 28 суток, другой группе животных дополнительно проводили инъекции ГАП в концентрации 100 мг/кг.

В сыворотке крови определяли содержание кортизола, паратиреоидного гормона,

кальцитонина, кальция, фосфора и активность щелочной фосфатазы. Исследовали интенсивность процессов перекисного окисления липидов в мышечной ткани и печени животных. Также, проводилось исследование поверхностной микротвёрдости костей экспериментальных животных по методу Виккерса.

У групп, подвергавшихся гипертермии, отмечено эндогенное повышение кортизола в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой в среднем в десять раз. При изучении уровней кальция и фосфора была обнаружена тенденция к уменьшению этих показателей в границах физиологической нормы у группы животных, которым проводили инъекции гидроксиапатита. Аналогичные тенденции отмечены в эксперименте с микрогравитацией.

Активность щелочной фосфатазы у испытуемых групп снизилась по сравнению с контролем, однако у групп с гидроксиапатитом показатель достоверно не отличался от контрольных значений.

При изучении поверхностной микротвёрдости было выявлено, что значение данного параметра у крыс, подвергавшихся инъекциям ГК было меньше, чем у группы контроля и группы с инъекциями ГАП, что говорит о ремоделировании костной ткани при введении аллогенного кальцийсодержащего биоматериала на основе гидроксиапатита.

При изучении изменения уровней паратиреоидного гормона и кальцитонина была обнаружена реципрокная зависимость, однако у группы животных, подвергавшихся ежедневной кратковременной гипертермии на фоне введения гидроксиапатита уровень паратиреоидного гормона был повышен одновременно с уровнем кальцитонина. Длительное повышение уровня паратиреоидного гормона способствует активации остеокластов и резорбции костной ткани. Однако, при интермиттирующем повышении уровня гормона, которая наблюдается при введении гидроксиапатита, происходит активация ремоделирования и моделирования костной ткани. Данное явление объясняется тем, что, помимо выполнения основной эндокринной функции, паратиреоидный гормон может влиять на остеобласты, снижая апоптоз этих клеток и уменьшая синтез склеростина и диккопф-1.

При изучении активности перекисного окисления липидов было выявлено, что уровни первичных и вторичных продуктов окисления (малонового диальдегида, диеновых конъюгатов и кетонов) у групп с введением гидроксиапатита статистически значимо не отличались от показателей контрольной группы, в отличие от уровней других испытуемых групп.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о нормализующем действии гидроксиапатита на метаболизм костной ткани при моделировании остеорезорбции. Пониженные уровни кальция у группы с введением гидроксиапатита можно объяснить усилением активности остеобластов, которые в свою очередь активированы кальцитонином и паратиреоидным гормоном. Уровни исследуемых гормонов в группе с инъекциями ГАП статистически значимо отличаются от контрольных значений в сторону увеличения. Пониженная активность щелочной фосфатазы у экспериментальных групп животных без введения гидроксиапатита может быть связана со снижением интенсивности остеосинтеза под воздействием высокого уровня глюкокортикоидов.

Таким образом, проведенный комплекс исследований свидетельствует о том, что применение полученного по оригинальной методике биоматериала способствует снижению интенсивности остеорезорбции в исследуемых моделях. При введении гидроксиапатита сглаживается и в значительной степени устраняется остеодеструктивный эффект от экзогенного и эндогенного (при ежедневной кратковременной гипертермии) поступления глюкокортикоидов как в нормальных условиях, так и в условиях микрогравитации. Обнаруживается частичная или полная нормализация структуры и органоминерального состава костной ткани как результат нормализации соотношения интенсивности процессов костного ремоделирования.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К ИЗУЧЕНИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Голикова Е.А., Ездакова М.И.

Научный руководитель: **Буравкова Л.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва**

В настоящее время большое внимание уделяется исследованиям возможности экспансии гемопоэтических клеток *in vitro*, и многие лаборатории занимаются разработкой методических подходов для выделения и культивирования гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в том числе с использованием мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в качестве фидерного подслоя. Совместное культивирование ГСК и МСК позволяет исследовать взаимоотношения клеток в модели кроветворной ниши *in vitro*. Недавно был предложен функциональный подход к обогащению популяции гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток (ГСПК) из пуповинной крови за счет их адгезии к мезенхимальным стромальным клеткам из жировой ткани и последующей экспансии потомков прикрепившихся малодифференцированных клеток. Для стромального подслоя используются либо делящиеся МСК, либо митотически неактивные МСК, полученные облучением или обработкой митомицином. Стромальные клетки не только выделяют целый ряд цитокинов и хемокинов, участвующих в регуляции гемопоэза, но способствуют определенной пространственной организации гемопоэтических клеток, образуя особую участки активной пролиферации ГСПК.

Особый интерес эта модель представляет в связи с необходимостью изучения регуляции гемопоэза в условиях космического полета, включая эффекты микрогравитации. Известно, что при длительном космическом полете наблюдается угнетение эритроидного и стимуляция гранулоцитарного ростков кроветворения, а также увеличение количества недифференцированных предшественников. Исследование взаимодействия МСК и гемопоэтических предшественников в условиях моделирования микрогравитации является сложной экспериментальной задачей. Поэтому целью нашей работы стала оптимизация условий сокультивирования МСК и ГСК для дальнейших исследований по влиянию моделированных эффектов микрогравитации на гемопоэз.

МСК выделяли из стромально-васкулярной фракции жировой ткани здоровых доноров и культивировали в стандартных условиях, в среде α -MEM, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки с добавлением пенициллин-стрептомицина (10%). Криоконсервированные образцы моноуклеаров пуповинной крови (пкМНК) были предоставлены Банком стволовых клеток «Криоцентр» (г.Москва). Для пкМНК в монокультуре и при совместном культивировании с МСК использовали среду RPMI 1640 с 2мМ L-глутамина, раствора пенициллин-стрептомицина (1%) и инактивированной 10% фетальной бычьей сывороткой. В эксперименте использовали как пролиферирующие, так и митотически неактивные МСК. С целью остановки деления за день до проведения эксперимента часть МСК инкубировали ночь в присутствии митомицина С (1,5 мкг/мл), а затем проводили пересев на слайд-флаконы и чашки Петри диаметром 35 мм. При достижении 70-80% монослоя на подслое МСК вносили суспензию пкМНК в количестве $1,5 \cdot 10^6$ клеток/мл, а затем культивировали совместно в течение 72 часов. После этого неадгезированные клетки удаляли, а оставшиеся пкМНК продолжали культивировать в течение 4 дней при тех же условиях. Сокультивирование проводили в полностью заполненной средой закрытых слайд-флаконах, в слайд-флаконах с 3 мл среды и в чашках Петри диаметром 35 мм. Регистрацию суспензионных ГСПК и формирование областей «бульжной мостовой» (КООБ) проводили с помощью фазово-контрастной микроскопии на микроскопе Nikon Eclipse TI. Определяли количество суспензионных ГСПК. Также оценивали наличие КОЕ по способности клеток образовывать колонии в полужидкой среде, содержащей коктейль цитокинов и факторов

поста ГСПК (MethoCult H4034, StemCell Technologies, Канада). Для анализа фракции адгезированных клеток стекла с клетками окрашивали по Гимзе (AppliChem, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Препараты использовали для подсчета областей «бульжной мостовой» с помощью микроскопа Nikon Eclipse TU.

При культивировании в чашках Петри в случае использования в сокультуре как пролиферирующих, так и митотически неактивных МСК не наблюдали различий в количестве суспензионных ГСПК. При использовании митотически неактивных МСК количество суспензионных ГСПК также не отличалось при сокультивировании в слайд-флаконах с 3 мл среды и в чашках Петри. Однако при культивировании в полностью заполненном закрытом слайд-флаконе количество суспензионных ГСПК было больше в два раза на митотически неактивных МСК. При сокультивировании с делящимися МСК количество суспензионных ГСПК также было в два раза выше в полностью заполненном слайд-флаконе и слайд-флаконе с 3 мл среды, чем при культивировании в чашке Петри. Анализ суспензионных ГСПК после их культивирования в полужидкой среде MethoCult H4034 не выявил существенных отличий общего количества образующихся колоний в случае использования делящихся или митотически неактивных МСК в качестве подслоя. Следует также отметить, что к 4 дню совместного культивирования МСК и пкМНК наблюдалось формирование областей «бульжной мостовой», что свидетельствует о наличии наиболее ранних гемопоэтических предшественников, которые *in vivo* способны давать очаги активного кроветворения. При подсчете обнаружено, что количество КООБ существенно не отличалось в случае использования подслоя делящихся МСК по сравнению с митотически неактивными МСК.

Суммируя все вышесказанное, можно прийти к выводу, что как делящиеся, так и митотически неактивные МСК могут быть использованы в сокультурах с пкМНК для дальнейшего исследования межклеточного взаимодействия. Выбор того или иного подслоя МСК зависит от задач эксперимента. Исследования, связанные с моделированием эффектов микрогравитации, предполагают использование полностью заполненных флаконов для культивирования клеток. Проведенные исследования продемонстрировали возможность использования системы сокультивирования МСК и ГСК условиях моделирования эффектов микрогравитации на 3D-клиностате.

РАННИЙ ЭТАП ВОССТАНОВЛЕНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ПЕРВОГО И ПОСЛЕДУЮЩИХ ПОЛЕТОВ

Гордиенко К. В.

Научный руководитель: **Новиков В. Е.**

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

При анализе восстановления костной массы космонавтов в первые 3-5 недель после космического полета было выявлено снижение минеральной плотности костной ткани (МПК) в поясничных позвонках и костях таза (Оганов и др., 2004). Описаны изменения МПК (трабекулярной и кортикальной) дистального участка лучевой и большеберцовой костей в период 3-12 месяцев после посадки (Vicoatal., 2017). Выполнено множество работ на основе послеполетных данных, полученных как на первую неделю (Оганов и др., 2004), так и на вторую неделю (Новиков и др., 2017; Гордиенко и др., 2018) после завершения миссии.

На данный момент не проведено сопоставление послеполетных изменений между первой и второй неделями реадaptации, которое дало бы дополнительную информацию о динамике изменений МПК после космического полета.

Для некоторых космонавтов полет был не первым, что может дополнительно влиять на результаты (Оганов, 2003; Bonuchi, Silvestrini, 1996; Корнилов, Аврунин, 2001) и,

следовательно, должно учитываться при обработке данных.

Целью данного исследования является проверка отдельно влияния факторов ранней реадaptации и повторных полетов, а также их совокупный эффект на значения МПК поясничного отдела позвоночника L1-L4 и проксимального отдела бедренной кости.

В исследовании были использованы данные рентгеновской остеоденситометрии космонавтов основных миссий ($178,52 \pm 40,03$ суток) орбитальной станции (ОС) Мир и Международной космической станции (МКС). Остеоденситометрия проводилась дважды: один раз до полета, и один – после.

Была сформирована выборка из 80 пар значений (до-после полета) для 47 космонавтов (36 первых полетов – *1-ая группа 1-го фактора*, 44 повторных без указания номера полета – *2-ая группа 1 фактора*). В 43 случаях послеполетные измерения проведены на первой неделе после посадки (*1-ая группа 2-го фактора*), в 37 случаях – на второй (*2-ая группа 2-го фактора*).

Обработка данных выполнена методом многофакторного дисперсионного анализа с повторяющимися измерениями (до и после полета). Достоверными принимались различия при $p < 0,05$. Для детализации различий между группами был использован критерий наименьшей значимости разницы по Фишеру.

Обработка данных выполнена в пакете Statistica 10.

Метод факторного дисперсионного анализа с повторяющимися переменными комбинирует в себе сравнение зависимых выборок (пред- и послеполетные значения) со сравнением независимых (по дате послеполетного измерения по повторности), что позволяет его использовать для ответа на вопрос, повлияло ли воздействие (космический полет) на исследуемые показатели. Ответ на этот вопрос известен и описан (Langetal, 2017), однако следует подчеркнуть, что и на вторую неделю изменения (снижение), связанные с полетом, остаются статистически достоверными ($p < 0,05$).

По фактору повторности полета статистически значимых различий между группами (*1-ая и 2-ая 1-го фактора*) не найдено. Это может подтверждать идею индивидуальной специфической стабильности соотношения потерь костной массы в разных сегментах скелета при повторных полетах (Оганов и др., 2003).

Иначе проявляет себя фактор ранней реадaptации (*2-ой фактор*): статистически достоверно ($p < 0,05$) отличаются результаты изменений для первой и второй недели. При этом снижение на первой неделе после посадки значительно больше такового на второй. Это позволяет предположить, что на ранних этапах реадaptации (первые две недели после посадки) процесс новообразования костной ткани превосходит процесс резорбции, набирающий интенсивность (Оганов и др., 2004) только к концу указанного периода.

ИММУНОМОДУЛЯТОРНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ Т-КЛЕТОК ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ В УСЛОВИЯХ 21-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ

Горностаева А.Н.

Научный руководитель: **Буравкова Л.Б., д.м.н., проф., чл.-корр. РАН.**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Известно, что мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) обладают способностью модулировать иммунный ответ всех типов иммунцитов, в частности, подавлять активацию и пролиферацию стимулированных Т-клеток (Rasmussen I. et al., 2003; Le Blanc K. et al., 2004; Gornostaeva A.N. et al., 2014, 2018). В сочетании с их иммуноуклончивостью это делает МСК перспективным инструментом для клеточной терапии и регенеративной медицины. Чувствительность иммунных клеток к действию МСК напрямую зависит от функционального состояния организма донора.

Показано, что факторы космического полета, такие как стресс, гипокинезия, микрогравитация и другие оказывают неблагоприятное воздействие на состояние иммунной системы (Mogukov B. et al., 2011; Рыкова М.П. и др., 2013). В том числе, наблюдается снижение функциональной и адаптивной активности иммунных клеток, что приводит к истощению резервных возможностей, усилению воспалительных и аллергических реакций (Dhabhar F.S., 2009; Morukov B. et al., 2011).

Целью настоящей работы было исследование влияния моделирования эффектов микрогравитации в эксперименте с «сухой» иммерсией (СИ) на чувствительность/устойчивость Т-клеток к иммуномодуляторному действию МСК.

СИ имитирует такие факторы как гиподинамия, опорная разгрузка, стресс и перераспределение жидкостей в результате постоянного горизонтального положения тела во взвешенном состоянии (Берендеева Т.А. и др., 2009; Пономарёв С.А. и др., 2011). В модели СИ участвовали здоровые добровольцы, мужчины в возрасте от 24 до 32 лет. Воздействие длилось 21 сутки. Забор крови производился за сутки до СИ (фон), на 7 и 21 сутки воздействия и на 7-е сутки после завершения СИ (восстановление). Из периферической крови на градиенте плотности выделяли МНК, а затем Т-клетки методом магнитной сепарации. Полученные Т-клетки сокультивировали с МСК жировой ткани человека в течение 72 часов. Половину Т-клеток активировали фитогемагглютинином (ФГА), а вторую часть оставляли интактной. В качестве контроля использовали Т-клетки в монокультуре, без МСК.

После 72 часов определяли позднюю активацию Т-клеток по экспрессии антигена МНС II (HLA-DR), пролиферативную активность методом SgG1 и субпопуляционный состав (долю Т-супрессоров CD3+/CD8+ и Т-хелперов CD3+/CD4+).

При взаимодействии с Т-клетками, взятыми в фоновых точках, МСК успешно проявляли иммуносупрессивные свойства в отношении митоген-стимулированных Т-клеток, и не вызывали реакции со стороны нестимулированных. Реакция Т-клеток, полученных после воздействия СИ, в сильной степени зависела от индивидуальных особенностей донора. Так, когда спонтанная активация (HLA-DR) нестимулированных Т-клеток возрастала при воздействии СИ, МСК подавляли активацию. В случае снижения спонтанной активации при СИ, подавления при взаимодействии с МСК не происходило.

СИ также приводила к увеличению спонтанной пролиферации нестимулированных Т-клеток. При сокультивировании с МСК увеличение доли пролиферирующих клеток было выражено слабее. Доля CD8+ и CD4+ среди нестимулированных Т-клеток не изменялась ни при воздействии СИ, ни при сокультивировании с МСК. Однако, у одного из доноров доля CD4+ возрастала при СИ, доходя до пика на 7-й день, а затем снижалась, МСК нивелировали этот эффект.

При стимуляции ФГА в большинстве случаев поздняя активация увеличивалась при воздействии СИ и немного снижалась после прекращения воздействия. МСК подавляли позднюю активацию Т-клеток как на фоновых точках, так и во время СИ и в период восстановления. У некоторых доноров при моделировании эффектов микрогравитации, напротив, происходило снижение способности к активации в ответ на митоген, кроме того, такой эффект наблюдался после прекращения воздействия в период восстановления. В точках, где происходило снижение активации, супрессивный эффект МСК уменьшался, и значения при сокультивировании приближались к значениям в монокультуре.

В отличие от активации, пролиферация Т-клеток, вызванная ФГА, наоборот, снижалась при воздействии СИ. Снижение сохранялось даже в восстановительный период. МСК успешно подавляли деление Т-клеток во всех точках, кроме тех, где пролиферативный ответ значительно снижался (в три раза по сравнению с фоновыми точками).

По динамике изменения доли CD8+ при воздействии СИ можно было выделить две группы доноров. У первой группы доля CD8+ несколько увеличивалась в ходе СИ, а у второй группы снижалась на 7-й день воздействия и в период восстановления. При сокультивировании

с МСК динамика изменения в обеих группах была такой же, как и в монокультуре. Доля CD4+ клеток значимо не изменялась ни при СИ, ни при сокультивировании с МСК.

Таким образом, можно заключить, что динамика реакции на моделирование эффектов микрогравитации во многом зависит от индивидуальных особенностей иммунной системы донора. В большинстве случаев СИ стимулирует активацию и пролиферацию интактных Т-клеток, а у митоген-стимулированных вызывает увеличение доли HLA-DR-позитивных клеток и снижение пролиферации. МСК успешно подавляют иммунный ответ Т-клеток после СИ, однако, если способность Т-клеток к активации снижена, иммуносупрессии не происходит. Это, вероятно, обусловлено тем, что для полного проявления иммуномодуляторных свойств МСК должны быть праймированы.

Стоит отметить, что в условиях «сухой» иммерсии не изменяется чувствительность Т-клеток к иммуномодуляторному воздействию МСК. При необходимости МСК могут быть эффективно использованы для терапии космонавтов, подвергавшихся влиянию неблагоприятных факторов космического полёта.

Автор благодарит организаторов эксперимента 21-суточной «сухой» иммерсии за предоставление возможности участвовать в исследовании.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 18-015-00461 А и Программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН, тема 65.

ИНФРАДИАННЫЙ БИОРИТМ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ САМЦОВ КРЫС

Джалилова Д.Ш.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва

Показано, что устойчивость к гипоксии зависит от многих внешних факторов, включая такие как солнечная активность (Хачатурян М.Л., 2012), сезон года и время суток (Чернобаева Г.Н. и Лукьянова Л.Д., 1989; Masukawa T. и Tochino Y., 1993). Установлена суточная ритмичность чувствительности к недостатку кислорода: в условиях гипобарической гипоксии в темное время суток время жизни животных меньше, чем в дневное (Рафиков А.М. и Агаджанян Н.А., 1971; Kwarecki K. et al., 1984; Masukawa T. и Tochino Y., 1993). На устойчивость организма к гипоксии оказывают влияние внутренние факторы, так, выявлена отрицательная зависимость устойчивости животных к дефициту O₂ от температуры тела и уровня глюкозы в крови (Masukawa T., Tochino Y., 1993). Эти факторы учитываются при определении устойчивости к гипоксии в большинстве экспериментальных исследований.

Известно, что глюкокортикоидные гормоны *in vitro* увеличивают уровень экспрессии генов, ответственных за развитие адапционных реакций в ответ на гипоксию. Ранее у млекопитающих и птиц был установлен инфрадианный 4-суточный биоритм концентрации глюкокортикоидов и связанные с ним колебания ряда физиологических показателей (Диатроптов М.Е. и соавт., 2014). Однако в литературе данные по изменению устойчивости к гипоксии в инфрадианном диапазоне биоритмов отсутствуют.

Целью работы было изучение устойчивости к гипоксии половозрелых самцов крыс в зависимости от фазы инфрадианного 4-суточного биоритма кортикостерона.

Работа выполнена на отличающихся по устойчивости к гипоксическому воздействию самцах крыс Вистар (n=36; питомник «Столбовая») и Спрейг-Доули (n=18; питомник «Пушино»), массой тела 250-280 и 220-250 гг, соответственно. С целью определения устойчивости к гипоксии крыс Вистар помещали в барокамеру «на высоту» 11 500 м, а крыс Спрейг-Доули – 9 500 м, подъем осуществляли со скоростью 80 м/с. Устойчивость к гипоксии определяли по времени жизни «на высоте», соответствующему временному интервалу от

момента подъема до остановки дыхания. Среди крыс Спрейг-Доули выделяли высокоустойчивых к гипоксии особей, время жизни которых составляло более 20 мин, и низкоустойчивых – менее 10 мин. Концентрацию кортикостерона в сыворотке крови крыс определяли методом иммуоферментного анализа (набор «IBL», Германия). Регистрацию интенсивности цветной реакции проводили на микропланшетном ИФА анализаторе «ANTHOS 2010» (Австрия). Для установления достоверности различий между показателями использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, критерии множественного сравнения Крускала-Уоллиса, Данна («Statistica 7.0»). Для выявления ритма в динамике устойчивости к гипоксии применяли метод наложенных эпох. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

По данным однократного определения устойчивости к гипоксии крыс Вистар с 9 до 10 ч утра установлена взаимосвязь времени жизни животных «на высоте» и фазы 4-суточного биоритма концентрации кортикостерона в крови. В период акрофазы 4-суточного биоритма концентрации кортикостерона в сыворотке крови время жизни животных составило 67 (57; 102) сек, а в период батифазы – 26 (17; 47,5) сек, сравниваемые показатели статистически значимо различались ($p = 0,00005$).

При ежедневном определении в течение 12 суток у самцов крыс Вистар устойчивости к гипоксии ($n=10$) и концентрации кортикостерона в сыворотке крови ($n=6$) выявлены синфазные 4-суточные колебания этих двух показателей. Н.А. Агаджанян и соавт. (1999) выявили различия в устойчивости к гипобарической гипоксии при её повторном определении (через 1-39 суток) и предположили, что они связаны с фазной адаптацией к первому острому гипоксическому воздействию. С целью исключения возможной синхронизации волнообразной адаптации к гипоксии, обусловленной первым острым гипоксическим воздействием, животные были разделены на две подгруппы. В первой подгруппе процедуру ежедневного определения устойчивости к гипоксии начинали 17, а во второй – 19 апреля. Аналогичный прием был использован при получении образцов крови для исследования концентрации кортикостерона у отдельной группы крыс. Такой подход обеспечил нивелирование влияния на фазу 4-суточного биоритма первого определения устойчивости к гипоксии и концентрации кортикостерона в сыворотке крови. Различий в фазе 4-суточных биоритмов у животных этих двух подгрупп не было выявлено. Коэффициент корреляции между показателями времени жизни первой и второй подгрупп составил 0,75 ($p = 0,01$). Установлено, что показатели времени жизни животных в акрофазе, когда уровень кортикостерона был максимальным и составил 548 (487; 580) нмоль/л, были равны 55 (50; 57) сек, а в батифазе, когда уровень кортикостерона был минимальным – 426 (391; 475) нмоль/л, составили 37,5 (33; 48) сек. Показатели статистически значимо различались между собой ($p = 0,006$).

Самцы крыс Спрейг-Доули ($n=18$) были разделены на две группы по 9 крыс в каждой. У первой группы животных однократно определяли устойчивость к гипоксии на «высоте» 9 500 м в акрофазу 4-суточного биоритма кортикостерона, а у второй – в батифазу. Через месяц проводили повторное определение устойчивости к гипоксии этих групп животных в противоположную фазу инфрадианного биоритма, а, именно, у первой группы в батифазу, а у второй – в акрофазу. При определении устойчивости к гипоксии в акрофазу из 18 животных к высокоустойчивым было отнесено 12 особей, к среднеустойчивым 4 и низкоустойчивым 2 крысы. При тестировании этих же животных в батифазу 4-суточного биоритма концентрации кортикостерона высокоустойчивыми оказались 6 особей, среднеустойчивыми 2, а низкоустойчивыми – 10 крыс, т.е. среднеустойчивые особи стали низкоустойчивыми, а часть высокоустойчивых среднеустойчивыми и даже низкоустойчивыми. При определении устойчивости к гипоксии в акрофазу низкоустойчивые животные составляли 11%, а в батифазу – 55%, что по χ -критерию статистически значимо различалось ($p = 0,01$). При тестировании в акрофазу высокоустойчивые животные составляли 66%, а в батифазу – 33%, что по χ -критерию статистически значимо не различалось ($p = 0,1$).

Таким образом, в период акрофазы 4-суточного биоритма концентрации кортикостерона в

сыворотке крови время жизни животных на критической «высоте» статистически значимо выше, чем в период его багифазы, что было показано на отличающихся по устойчивости к гипоксии крысах Вистар и Спрейг-Доули. При проведении исследований по определению чувствительности к гипоксии необходимо учитывать существование 4-суточных колебаний этого показателя.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ И ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭФФЕКТОВ МОДЕЛИРОВАННОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Живодерников И.В., Ратушный А.Ю., Матвеева Д.К.

Научный руководитель: **д.м.н., проф., член-корр. РАН Буравкова Л. Б.**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

С начала существования первых живых организмов на Земле гравитация была одним из неизменных факторов на всех стадиях эволюции и онтогенеза. Освоение космического пространства актуализировало изучение эффектов невесомости на всех уровнях организации живых систем, включая клетки.

Каждая клетка имеет структуры, отвечающие за движение и расположение в пространстве, многие из которых чувствительны к механическим воздействиям. Внутриклеточные органеллы имеют массу, поддерживаются и передвигаются внутри клетки посредством цитоскелета, который, в свою очередь, испытывает механическое натяжение в условиях гравитации. Через молекулы адгезии механические силы передаются на внеклеточный матрикс, способный менять состав и ориентацию своих компонентов в зависимости от величины силы и её направления. Таким образом, в наземных условиях вся система постоянно функционирует под влиянием определённого модуля силы и соответственно, его исключение может изменить состояние перечисленных структур. Кроме того, ремоделирование одного из главных компонентов цитоскелета – актина, может влиять на экспрессию генов за счёт изменения механических свойств клеточного ядра. Ранее в ряде исследований было убедительно показано динамическое ремоделирование цитоскелета. В данной работе основной целью было изучение экспрессии некоторых генов, отвечающих за синтез белков внеклеточного матрикса (ВКМ) и молекул адгезии.

Для выполнения этой задачи мы использовали культуры мезенхимальных стромальных клеток (МСК). Клетки культивировали в среде α -MEM, содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки, 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина. В качестве остеогенных индукторов были использованы дексаметазон, L-аскорбиновая кислота и β -глицерофосфат в концентрациях 10 нМ, 200 мкМ и 10 мМ соответственно. Индукторы были добавлены в среду при достижении плотности конfluence 90 % и удалены через 7 дней. Контрольный образец показал положительную окраску на щелочную фосфатазу после 7 дней инкубации с остеогенными индукторами. Исследования проводились в экспериментальных сериях: статический контроль и серия с моделированием эффектов микрогравитации, когда флакон помещали на платформу RPM (Random Positioning Machine) и изменяли положение образца относительно вектора гравитации с помощью специального

программного обеспечения. Каждая серия была разделена на 2 группы – с коммитированием в остеогенном направлении и без него. Для изучения экспрессии генов мы применили ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией и набор «Human Extracellular Matrix & Adhesion Molecules» (Qiagen, США).

После экспозиции на RPM в течение 10 суток было отмечено повышение экспрессии генов гликопротеиновых компонентов ВКМ - *LAMB1*, *TNC* и *ON* (ламинин, тенасцин, остеонектин) в ответ на рандомизацию гравитационного вектора. Ранее, при культивировании в условиях реальной микрогравитации было обнаружено, что экспрессия генов *LAMB1*, *TNC* и *ON* также была повышена на более ранних сроках экспозиции (Kumei Y., et al., 2006, L. He., et al., 2015). Что касается версикана, то его экспрессия изменилась только под воздействием остеогенных стимулов, что также подтверждает проведённые ранее исследования (Haupt LM., et al., 2009). Ген катенина альфа 1 ответил на остеодифференцировку снижением экспрессии, в комплексе с кадгеринами этот белок отвечает за межклеточную адгезию. Также под воздействием факторов остеогенной дифференцировки снизилась экспрессия генов *ITGA8*, *ITGB3*, *ICAM1* как в норме, так и при микрогравитации. Такой эффект уже был выявлен в наших более ранних экспериментах, но на уровне белков. Аналогичные результаты продемонстрировали и зарубежные исследователи (Frith JE., et al 2012). Эти молекулы участвуют в межклеточной адгезии и взаимодействии с матриксом, являясь рецепторами для его компонентов – фибронектина, витронектина, тромбоспондина, тенасцина и др. Эффекты моделируемой микрогравитации вызвали повышение экспрессии тромбоспондина-2, который вместе с матриксными металлопротеиназами участвует в сборке и организации коллагеновых волокон, что особенно выражено при восстановлении и ремоделировании тканей.

После 10-дневной экспозиции на RPM отмечалась тенденция к повышению экспрессии коллагена в группе с моделированием эффектов микрогравитации. Факторы остеогенной дифференцировки, в свою очередь, оказали противоположный эффект – в этой группе было отмечено небольшое снижение экспрессии коллагена типов 1, 5 и 16. Сочетание двух экспериментальных воздействий усреднило эффект. Коллаген 1 типа является основным структурным компонентом многих типов тканей, в том числе костной и соединительной (сухожилия). Коллаген 5 также выполняет структурную функцию, связывая фибриллярные составляющие коллагена 1. Для коллагена 15 типа отмечено значительное снижение экспрессии в группе с остеогенными стимулами. Коллаген 15 является компонентом базальной мембраны, встречается в ВКМ мышц, сухожилий и некоторых внутренних органов. Данные изменения отличаются от результатов исследований, проведённых ранее на других сроках экспозиции в ротационной системе культивирования (Meyers V.E., et al., 2004, Stamenković V., et al., 2010). Необходимо отметить, что экспрессия коллагена зависит от сигналов, поступающих от интегринов через киназы FAK и RYK2 по механизму отрицательной обратной связи, поэтому при длительном воздействии уровень экспрессии может меняться.

Таким образом, исследование эффектов микрогравитации на экспрессию генов компонентов ВКМ мезенхимальных стромальных клеток позволило выявить транскриптомные сдвиги для генов, отвечающих за синтез компонентов ВКМ и молекул адгезии. Эти изменения могут влиять на состав ВКМ, и отчасти объяснять изменение свойств тканей в условиях космического полёта.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-15-10407 и программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН, тема 65.3

ЛЕГОЧНЫЕ ОБЪЕМЫ И ЁМКОСТИ В УСЛОВИЯХ 5-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ

Зарипов Р.Н.
ГНЦ РФ-ИМБП РАН, Москва

Основным фактором космического полета является невесомость, которая приводит к перераспределению жидкости от нижних конечностей к голове, которое сопровождается изменениями конфигурации грудной клетки и положения диафрагмы, а также работой дыхательных мышц. Описанные процессы влияют на состояние внешнего дыхания, в результате чего изменяются: общая ёмкость легких (ОЕЛ), жизненная ёмкость легких (ЖЕЛ), остаточный объем (ОО) и форсированная жизненная ёмкость легких (ФЖЕЛ). В наземных условиях «сухая» иммерсия является методом моделирования воздействия микрогравитации на организм человека. Целью настоящего исследования было изучение основных легочных объемов и ёмкостей, характеризующих внешнее дыхание человека при воздействии моделируемой микрогравитации («сухой» иммерсии).

Исследование проводили на иммерсионном стенде в ГНЦ РФ – ИМБП РАН. В исследовании участвовали 10 мужчин в возрасте от 21-43 лет со средним уровнем физического развития. Измерения параметров внешнего дыхания выполняли на приборе Master Screen (VIASYS, Германия) 1 раз в фоновом периоде, на 5 сутки во время «сухой» иммерсии и на 1-сутки после его окончания. Оценивали параметры внешнего дыхания, такие как ОЕЛ, ЖЕЛ, ОО, ФЖЕЛ и другие показатели форсированного дыхания, резервные объёмы вдоха и выдоха ($PO_{вд}$ и $PO_{выд}$), а также максимальную вентиляцию легких (МВЛ). Все перечисленные легочные объёмы и ёмкости, а также параметры форсированного дыхания приведены к стандартным условиям ВTPS.

Полученные результаты не выявили достоверных различий в объёмно-скоростных параметрах внешнего дыхания по сравнению с фоновыми значениями. Однако у половины испытуемых наблюдали снижение ОЕЛ во время «сухой» иммерсии по сравнению с исходными значениями. У другой половины испытуемых она оставалась без изменений. Снижение ОЕЛ происходило в основном за счет снижения ЖЕЛ и ОО, что может быть объяснено увеличением кровенаполнения грудной клетки. Несмотря на это ЖЕЛ, являющаяся одной из важнейших констант организма, всегда была в пределах физиологической нормы здорового человека. Весьма интересно, что во время «сухой» иммерсии у 5 испытуемых $PO_{выд}$ увеличивался с одновременным снижением $PO_{вд}$. Грудная клетка была как бы «в приподнятом состоянии» и находилась в состоянии некоторого вдоха. Такую картину ранее наблюдали у космонавтов во время исследований в ходе космического полета. У двух испытуемых наблюдали обратную картину, когда $PO_{выд}$ уменьшалось и $PO_{вд}$ увеличивалось. Еще у двух испытуемых $PO_{выд}$ снижалось, но без изменений ёмкости вдоха. У одного испытуемого оба параметра снижались. Весьма вероятно, что такие различия обусловлены индивидуальными механизмами адаптации, которые имеют место в ответ на воздействие микрогравитации на организм.

ФЖЕЛ снижалась у 4 обследованных и составляла от 66 до 84 % от должных величин, что ниже физиологической нормы здорового человека. У остальных испытуемых она оставалась без изменений, либо увеличивалась. Пиковая объёмная скорость (ПООС) – параметр, косвенно характеризующий силу дыхательных мышц снижалась у 5 испытуемых, у остальных 5-х оставалась на фоновом уровне либо увеличивалась. Анализ других показателей (МОС₂₅, МОС₅₀, МОС₇₅) в тесте с форсированным выдохом также показал разнонаправленные изменения данных параметров. МВЛ, как известно, характеризует резервы дыхания и, вместе с тем, является отражением для скоростных, так и объёмных характеристик вентиляции. У 6 испытуемых МВЛ во время «сухой» иммерсии была выше по сравнению с фоновыми значениями и составляла от 90 до 130 % от должных величин, что является нормой для

здорового человека. У троих испытуемых наблюдали снижение МВЛ, причем у одного на 30%, что может говорить об ослаблении дыхательных мышц и/или о присоединении нарушений obstructивного характера. Большинство изменений параметров внешнего дыхания, зарегистрированные во время проведения исследований, являются индивидуальными для конкретного человека и только у одного выходили за пределы физиологической нормы.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об индивидуальных путях адаптации респираторной системы к условиям «сухой» иммерсии и о спирометрии, как эффективном методе медицинского контроля за внешним дыханием. Кроме того, проведенный анализ показал наличие сопоставимых с условиями космического полета изменений положения диафрагмы в грудной полости, что отразилось на параметрах внешнего дыхания при моделировании условий полета в эксперименте с «сухой» иммерсией.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ ДО, ВО ВРЕМЯ И ПОСЛЕ НАХОЖДЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ 21-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ БЕЗ СРЕДСТВ ПРОФИЛАКТИКИ.

Киселева Д.Д.¹, Садова А. А.²

Научный руководитель: **Пономарёв С.А.²**

1 – МГУ имени Ломоносова, Москва, Россия

2 – ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия

Условия космического полета (КП) — это уникальная среда, где космонавты подвержены многочисленным стрессовым факторам, таким как повышенная радиация, микрогравитация, нарушения циркадного ритма, длительная изоляция, учитывая сложное расписание работы и пребывания на космической станции. Все эти факторы оказывают серьезное влияние на различные системы организма человека – сердечно-сосудистую, зрительную, костную, вестибулярную, иммунную, что негативно сказывается на здоровье космонавтов и их работоспособности. В частности, было показано, что нарушения в работе иммунной системы проявляются в гиперчувствительных иммунных реакциях врожденного иммунитета, реактивации латентных вирусов, учащении инфекционных заболеваний и аллергических реакций среди экипажа.

Для выявления влияния отдельных факторов КП применяются различные наземные модели, воссоздающие влияние условий КП на организм человека. Одной из таких моделей является «сухая» иммерсия, моделирующая основные эффекты действия микрогравитации на организм человека.

Целью данной работы являлась оценка экспрессии генов IL1A и IL1B моноцитов человека в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии без средств профилактики.

У испытуемых проводился забор крови на 7 и 3 трети сутки до начала эксперимента, на 3, 7, 14 и 21 сутки во время эксперимента и на 7 сутки после. Из образцов периферической крови были выделены моноциты с применением системы магнитной сепарации (Miltenyi Biotec column, Germany). Часть из них подвергалась стимуляцией агонистами TLR (Human TLR1–9 Agonists Kit InvivoGen, USA), из которых затем была выделена тотальная РНК с помощью реагента ExtractRNA (#BC032, «Евроген», Москва, Россия). Выделенная тотальная РНК очищалась от примесей геномной ДНК с помощью реагента ThermoScientific DNase I, RNase-free (#ENO521, ThermoFisherScientific, Waltham, MA USA). Затем методом обратной транскрипции была получена кДНК с использованием набора реактивов MMLV RT kit (#SK021, «Евроген», Москва, Россия). Экспрессия генов оценивалась методом ПЦР-ПВ с использованием реакционной смеси qPCRmix-HS SYBR (#PKL147, «Евроген», Москва, Россия).

К настоящему моменту были получены образцы от восьми волонтеров и результаты экспрессии генов для четырех из них, поэтому наблюдаемые изменения были статистически недостоверными. Предварительный результат показывает уменьшение экспрессии этих генов вначале эксперимента и увеличение ее на 14 сутки по сравнению с фоновыми значениями. Интересно отметить, что в стимулированных клетках экспрессия генов повышалась до определенного уровня, после которого роста не происходило. Эта тенденция характерна для всех испытателей до, во время и после завершения 21-суточной “сухой” иммерсии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 18-75-10086

ГИПОМАГНИТНЫЕ УСЛОВИЯ ФАКТОР ДАЛЬНЕГО КОСМОСА

Куканов В.Ю.

Научный руководитель: **Орлов О.И., академик РАН, д.м.н.**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Перспектива дальних космических полетов и межпланетных перелетов с каждым годом становится все острее. Изучено уже довольно много в области орбитальной космонавтики, есть возможность оценить риск воздействия невесомости, радиации, но совсем мало человечеству известно о влиянии сверхслабых магнитных полей, источников неионизирующего излучения. Одним из ведущих факторов дальнего космоса, который может повлиять на операторские функции и здоровье космонавта – гипوماгнитные условия.

Дальний космос характеризуется снижением магнитного поля на 3 – 5 порядка (10^3 - 10^5) по сравнению с земным. (Труханов К.А., 2010). Это соответствует экстремальному классу условий труда в земных условиях (ГОСТ Р 51724-2001). В среднем магнитное поле Земли равно 50 мкТл, а магнитное поле Луны 0.1% от земного, из чего следует, что примерная кратность снижения будет равна 1000.

В рамках миссии «Аполлон» американские астронавты совершали полет и посадку на Луну, но это не сопровождалось длительным пребыванием на Лунной поверхности. В рамках данной программы было изучено воздействие гипوماгнитной среды на организм, которое показало, что этот фактор не влияет на состояние функциональных систем астронавтов.

За последние десятилетия, количество исследований в данной области возросло в несколько раз. В доступных источниках описаны следующие закономерности:

1. В исследовании (Гурфинкель Ю.И., Васин А.Л., Матвеева Т.А., Сасонко М.Л., 2014) было продемонстрировано, что у здоровых людей, не имеющих сердечно-сосудистых симптомов, снижение гипوماгнитного поля увеличивает скорость капиллярного кровообращения. К концу воздействия наблюдалось достоверное снижение ЧСС, диастолическое АД значительно снизилось относительно средних значений воздействия, а систолическое АД, напротив, значительно возросло.

2. В работе (Походзей Л.В., 2004) было проведено поперечное (одномоментное) эпидемиологическое исследование и выявлено раннее проявление артериальной гипертензии и ишемической болезни у работающих в гипوماгнитных условиях, по сравнению с данными работников того же производства, возраста и уровня здоровья, не подверженных данным фактором.

3. В экспериментах (Р.М. Саримов, В.Н. Бинги, В.А. Милаев, 2008) и в работе (Походзей Л.В. 1999., Походзей и др. 2012) было показано угнетение когнитивных функций, что выражалось повышением количества ошибок, времени выполнения заданий, увеличением времени реакций на появление объекта в режиме аналогичного слежения.

4. На территории РФ впервые в мире был разработан и принят СанПиН 2.1.8/2.2.4.2489-09, который регламентирует «Предельно допустимые уровни ослабления геомагнитного поля на рабочих местах, в жилых и общественных зданиях и сооружениях» и ГОСТ Р 51724-2001.

О «ложном» выводе программы «Аполлон» может свидетельствовать недостаточное техническое обеспечение, методики изучения и понимание магнитобиологии на тот период времени.

Основные постулаты магнитобиологии, которые можно выделить:

- а) различная кратность снижения может вызывать различный биологический отклик;
- б) методический подход к созданию искусственной магнитной среды (экранирование, компенсирование) влияет на полученные эффекты;
- в) эволюционно человек развивался под воздействием разного, но постоянно действующего магнитного поля.

В рамках данного анализа была разработана и предложена программа экспериментальных исследований с участием человека, в которой предложен и одобрен двойной слепой плацебо контроль. Протокол эксперимента предусматривает прохождение испытуемым 2-х этапов обследований с экспозицией в данных условиях в течение 8 часов, с разницей между экспериментами не менее 7 дней. Исследования предусматривают изучение высшей нервной деятельности, параметров кардио-респираторной системы, зрительного и слухового анализатор, а так же порога болевой чувствительности

**АНАЛИЗ АКУСТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕЧИ КАК МЕТОД
ДИСТАНЦИОННОГО МОНИТОРИНГА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ
ОПЕРАТОРА В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЁТА**

Лебедева С.А.

Научный руководитель: **Швед Д.М., к.м.н.**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Изучение общения космонавтов с Центром управления полетами (ЦУП) является штатной процедурой дистанционного медико-психологического мониторинга космических экипажей. Основным преимуществом используемого метода является проведение мониторинга психоневрологического статуса космонавтов непосредственно в ходе выполнения ими реальной деятельности без использования дополнительного оборудования и затрат времени экипажа. В последнее время анализу подвергается преимущественно содержательная сторона речи, в то время как анализ акустических характеристик речи оказывался менее востребован в связи с техническими ограничениями. Тем не менее, акустические характеристики речи лучшим образом отражают глубинные особенности психофизиологического состояния космонавта за счёт меньшей подверженности сознательному контролю. Анализ акустических характеристик речи позволяет оценить динамику эмоциональных и функциональных состояний человека-оператора, он менее энергозатратен и позволяет проводить анализ речи в режиме реального времени.

В отличие от исследования эмоций в разговорной речи, исследование функционального состояния оператора становится возможным только в долгосрочной перспективе, а изменения частоты основного тона должны сравниваться с нормой в контексте не одного разговорного промежутка, а в контексте речевого поведения в течение дня, нескольких дней и недель, что позволит с большей достоверностью оценивать динамику изменений функционального состояния и психических ресурсов человека или регистрировать нарастание психической астенизации. Большинство современных методов изучения речи отличается то, что они

проводятся с помощью технических средств и специализированных компьютерных программ, что позволяет исследователям не только набирать объективные и обширные базы данных, но и изучать устную речь в её динамике.

Предлагаемый нами метод базируется как на методических подходах, реализованных в проводившихся ранее космических и модельных экспериментах, так и на современных методах и технологиях анализа акустических характеристик речи. Он был апробирован в ряде модельных экспериментов на базе ГНЦ РФ – ИМБП РАН, включая исследования на центрифуге короткого радиуса (ЦКР) и во время 21-суточной «сухой» иммерсии.

Результаты эксперимента на ЦКР преимущественно отражают изменение функционального состояния человека-оператора при кратковременном воздействии экстремальных факторов окружения. С помощью анализа акустических характеристик изучались аспекты психофизиологического состояния, стресс-реакции и способов совладания со стрессом у человека-оператора – для этого во время воздействием различных режимов угловых ускорений на ЦКР производилась запись переговоров между испытуемым и специалистами Центра управления. В экспериментах с использованием «сухой» иммерсии моделируется менее интенсивное, но более длительное воздействие на организм человека. Во время 21-суточной сухой иммерсии изучалось изменение частотных характеристик речи человека в условиях длительно моделируемых факторов микрогравитации. Аудиозапись произвольной речи проводилась дважды в день (утром и вечером). С точки зрения методологии модельного эксперимента, такой формат аудио-отчётов частично воспроизводит ежедневные планировочные конференции (DPC), выполняемые космонавтами в начале и в конце рабочего дня, а также моделирует отсроченные во времени аудио-сообщения при задержке связи.

Нами предлагается следующая интерпретация акустических характеристик в контексте оценки психофизиологического состояния человека-оператора:

- 1) Наличие или отсутствие пауз между репликами участников коммуникации (ЦУП и испытуемый) является индикатором степени возбуждения;
- 2) Громкость голоса указывает на степень активации и возбуждения;
- 3) Изменение соотношения высоких и низких тонов отражает изменения психофизиологического состояния оператора при подготовке к стрессовому воздействию и во время него;
- 4) Плавность (размеренность) речи может являться индикатором психофизиологической цены выполнения деятельности.

Полученные результаты апробации метода свидетельствуют в пользу его работоспособности и валидности, позволяя планировать дальнейшие исследования в рамках серии модельных экспериментов, готовя таким образом научно-методическую и техническую базу для проведения бортовых исследований.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *IGF1* В МИОТУБАХ И СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ АМИНОКИСЛОТ

Леднев Е.М.^{1,2}, Лысенко Е.А.^{1,2}

Научные руководители: **Дубров В.Э.², Попов Д.В.^{1,2}**

1 – ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

2 – ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Повреждения клеточных мембран, возникающие при физической нагрузке, вызывают болевые ощущения, отек тканей, воспаление. Эта проблема актуальна для спортсменов, пациентов с повреждениями опорно-двигательного аппарата и космонавтов после полета.

Увеличение жесткости клеточной мембраны мышечных волокон и внеклеточного матрикса может способствовать снижению повреждаемости мышц во время нагрузок. Один из главных регуляторов синтеза коллагенов и других белков внеклеточного матрикса – инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1), уровень которого в крови регулируется преимущественно печенью. Мы предположили, что аминокислоты могут вызывать увеличение экспрессии *IGF1* непосредственно в скелетных мышцах.

Для проверки этого предположения были проведены эксперименты на культуре миотуб человека (для исключения влияния системных факторов). После старвации (48 ч) клетки инкубировали (24 ч) в растворе Кребса-Рингера с добавлением 10% ДМЕМ и 5% человеческой плазмы (контроль) и в аналогичных условиях с добавлением 0,4 мМ аргинина и 0,8 мМ лейцина (эксперимент). Уровень экспрессии гена *IGF1* оценивали с помощью ПЦР в реальном времени; уровень белка IGF1 с помощью иммуноферментного анализа.

Во второй части исследования изучали эффекты приема аминокислот в течение 2,5 месяцев добровольцами – мужчинами-лыжниками 18-22 лет, выполнявшими интенсивные и продолжительные ежедневные физические нагрузки (22-23 часа в неделю). Спортсмены контрольной и экспериментальной групп ежедневно принимали плацебо (мальтодекстрин) или аминокислоты, соответственно (0,1 г/кг массы тела, лейцин 0,05 г/кг). Пробы базальной крови и биопсию ткани из *m. vastus lateralis* брали до и после курса приема аминокислот. В пробах мышечной ткани оценивали уровень экспрессии генов *IGF1*, *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *LOX*; в пробах базальной крови определяли уровень белка IGF1, уровень КФК и миоглобина – маркеров повреждения мышечных мембран.

В миотубах, инкубировавшихся с аминокислотами, экспрессия изоформ мРНК *IGF1Ea* и *IGF1Ec* (*MGF*) выросла в 2,3 и 3,7 раз, соответственно, по сравнению с контролем. Инкубация миотуб с аминокислотами привела к увеличению содержания белка IGF1 в клетках в 2,8 раз по сравнению с контрольным опытом (0,51 нг/мл против 0,18 нг/мл, соответственно).

В группе добровольцев, принимавших аминокислоты, в отличие от контрольной группы, произошло увеличение на 50% уровня IGF1 в крови. Наблюдалась тенденция к различию в уровне белка IGF1 в крови между экспериментальной и контрольной группами ($P<0,1$). В экспериментальной группе уровень миоглобина и КФК были значимо ниже, чем в контрольной группе. В экспериментальной группе, в отличие от контрольной, была обнаружена тенденция к увеличению экспрессии изоформы мРНК *IGF1Ea* и *COL5A1* ($P<0,1$). Экспрессия генов *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1* и *LOX* коррелировала с экспрессией изоформ гена *IGF1* в мышце ($r=0,86-0,94$, $P<0,001$) и при этом не коррелировала с уровнем IGF1 в крови.

Таким образом, в эксперименте с миотубами было показано, что аминокислоты увеличивают экспрессию гена *IGF1* и его белкового продукта, что частично воспроизведено и в эксперименте с добровольцами. Отсутствие выраженных изменений экспрессии *IGF1* и IGF1-зависимых генов в мышцах добровольцев, принимавших аминокислоты, может объясняться недостаточной дозировкой/длительностью приема аминокислот.

Работа выполнена при поддержке Программы президенту РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» 2018-2020 гг. и гранта ОКР № Д 378-2015.

ВЛИЯНИЕ ГИПОМАГНИТНОЙ СРЕДЫ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА

Литвин Е.Д.
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В работе представлены результат исследований влияния гипوماгнитной среды на

репродуктивную функцию перепелов (*Coturnix Coturnix Japonica*), возможного компонента биологических систем жизнеобеспечения (БСЖО).

Целью работы было изучение воздействия ослабленного магнитного поля на репродуктивную функцию японского перепела в нескольких поколениях (до 3-го), яичную продуктивность, жизнеспособность эмбрионов, анатомо-физиологическое состояние птиц.

Одной из важнейших задач при освоении космического пространства является медико-биологическое обеспечение жизнедеятельности организмов в условиях, когда полностью отсутствуют факторы, обеспечивающие жизнь и развитие биологической материи. В настоящее время определена стратегическая цель Федеральной космической программы – освоение Луны и окололунного пространства, поэтому определение рисков при нахождении организмов за пределами низких околоземных орбит (НОО), становится одной из важнейших задач пилотируемой космонавтики.

При космическом полете за пределами НОО одним из факторов, который может иметь негативное воздействие на живой организм, является гипомангнитная среда. Межпланетное магнитное поле в тысячи раз меньше, чем геомагнитное поле Земли.

Объектом исследования были разновозрастные птицы, японского перепела (от момента выведения птенцов до 120-ти суточного возраста. Для получения первого поколения (F1) было проведено инкубирование яиц отобранных родительского поколения (P) в камере со сниженным в 1000 раз геомагнитным полем (ГМП) Земли.

Для получения второго поколения (F2) яйца, полученные от взрослой птицы поколения F1, были помещены в инкубатор, где инкубирование проходило в лабораторных условиях при нормальном ГМП. По такой же схеме были получены птицы третьего поколения (F3).

Яйца, полученные в ходе эксперимента, взвешивались, отбирались на инкубирование. Выведенных птенцов взвешивали, в 21 дневном возрасте распределяли по полу и формировали семью для дальнейшего наблюдения. По программе эксперимента за птицей велись наблюдения: оценивалась выводимость птенцов, морфолого-анатомическая оценка состояния птенцов и птиц, фиксировалось начало яйцекладки и ее интенсивность, определялась масса яйца. Полученные результаты были обработаны с помощью Microsoft Office Excel, с использованием t-критерия Стьюдента.

Инкубирование проведенное в условиях ослабленного МП в 1000 раз показало, что из 20 яиц родительского поголовья, заложенных на инкубацию, вывелось 12 птенцов (F1), 5 из которых имели патологию лап. Два эмбриона погибли на 3-и и 9-10-е сутки развития. 6 птенцов «задохлики» погибли на 14-17 сутки развития, вероятно причиной стала гипоксия, так как птенцы не смогли проклюнуть скорлупу. У этих птенцов отмечалось искривление клюва (2 ст), кровоизлияние в хориоаллантоис, в мышце сердца. Также эктопия головного мозга, микрофтальмия глаза, эктопия брюшной полости. Патология у эмбрионов сочетанная.

От яиц, инкубированных от первого поколения (F1) в количестве 26 штук вывелось 18 птенцов (F2), 2 из которых имели патологию лап. 2 птенца погибли на 14-16 сутки развития, у одного из них наблюдалась патология лап, увеличенные суставы, желток не был втянут. 4 эмбриона погибли на 1-3-и сутки развития, у них наблюдалась гиперемия верхних отделов, двухсторонняя микрофтальмия, кровоизлияние в амнион. 2 яйца не оплодотворенных.

Из 23 яиц, полученных от второго поколения (F2) вывелось 10 птенцов (F3), у 1-го из них наблюдалась патология лап. Один эмбрион погиб на 5-е сутки развития, у него наблюдалась гиперемия микроцефалия. Один птенец погиб на 14-е сутки развития, у него наблюдались перекрест клюва, слабо пигментированный зрачок, отек в затылочной области, не выраженная микрофтальмия. 11 яиц были не оплодотворенных.

Половой диморфизм у птиц второго поколения начался на 30 сутки, хотя в норме различить самок и самцов по оперению можно уже на 20-21 сутки.

Живая масса птиц родительского поголовья (P) несколько превосходила живую массу птиц первого и второго поколений. Средняя живая масса птенцов на 7-е сутки после выведения

составляет 33-35 г во всех группах. К 120 суткам средняя живая масса птиц родительского поголовья (Р) составляет $261 \pm 3,08$ г, тогда как живая масса птиц F1 и F2 составляла $245 \pm 3,09$ и $243 \pm 1,55$ г соответственно. Различия по массе самок птиц F1 и F2 в сравнении с массой самок птиц родительского поголовья (Р) статистически достоверны. Внутри группы различия не достоверны.

За три 4-недельных периода наблюдений на 1 среднюю несущую в сутки было получено от родительского поголовья 1 яйцо, от птиц первого (F1) и второго (F2) поколения 0,8 яиц, т.е. интенсивность яйцекладки составляла 93%.

На основании данных, полученных в ходе проведенных исследований влияния ГМП на репродуктивные функции японского перепела, обнаружено отрицательное влияние пониженного ГМП на развитие эмбрионов и на их жизнеспособность, обнаружено снижение живой массы в последующих поколениях.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ РЫБ DANIORERIO ЭКСПОНИРОВАННЫХ НА БОРТУ МКС

Лукичёва Н. А.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Результаты исследования костной системы космонавтов, совершивших длительные полёты на орбитальных станциях, а также добровольцев в условиях антиортостатической гипокинезии показали снижение минеральной плотности костной ткани в нижней половине скелета. Для понимания механизмов этих потерь на биоспутниках проводились многочисленные эксперименты с животными, для которых характерна наземная среда обитания (обезьяны, крысы, мыши и др.). Долгое время оставался открытым вопрос, подвержены ли каким-нибудь изменениям в условиях космического полёта водные животные. Немногочисленные космические эксперименты с участием рыб доказали, что они не только реагируют на факторы полёта, но и полученные результаты так или иначе схожи с тем, что наблюдается у наземных позвоночных (vonBaumgartenetal, 1975, Boyleetal, 2003, Mori, etal, 1996).

Daniorerio, костистая рыба семейства Карповых, отряда Карпообразных в последние годы широко используется в качестве модели для медицинских и биологических исследований. Многочисленные работы подтверждают возможность использования данного объекта для изучения процесса эмбриогенеза у позвоночных (Westerfield, 2000, Gerhard, 2003, Chen, 2016), течения различных заболеваний (Mullins, 1994, Muto, 2013, Kaufman, 2016), влияния факторов среды на организм (Spenceetal, 2008) и т.п.

В 2012 между Роскосмос и японским космическим агентством JAXA было подписано соглашение о проведении совместных исследований на борту МКС. Целью данного эксперимента было изучение водных организмов в условиях космического полета. Эксперимент был назван «Аквариум» и состоял из трех этапов. Даниорерио использовался в качестве объекта на третьем этапе «Аквариум-AQN» №3. Всего осенью 2014 году на МКС было поставлено 18 рыбок, часть из которых на разных этапах эксперимента фиксировалась для генетических анализов, часть была зафиксирована после окончания эксперимента (1,5 месяца) для гистологических исследований и последняя группа была возвращена на Землю. Согласно данному соглашению все генетические исследования и подготовка гистологических срезов проводились японской стороной. Далее срезы были переданы в ГНЦ РФ-ИМБП РАН (Итоговый отчет по космическому эксперименту «Аквариум», 2016).

В этом эксперименте нашей целью является провести гистоморфометрический анализ

состояния костной ткани Даниорерио, испытывавших влияние невесомости, в сравнении с наземным контролем. Нам были предоставлены парафиновые срезы от 3 рыб из полётной группы и от трёх контрольных рыб.

В нашем Институте был тщательно разработан и успешно использовался метод гистоморфометрического анализа костной ткани крыс (Капланский А.С., Дурнова Г.Н., 2007). У крыс безусловными показателями являются хрящевая пластина роста и объём первичной и вторичной спонгиозы. Таких участков у костных рыб нет. Поэтому первой задачей для нас стал выбор подходящих для измерения и сравнения участков скелета Даниорерио. Срезы были сделаны поперёк оси тела (аксиальные), что затрудняло выбор. На данном этапе изучения мы измеряли два краниальных участка (лобные кости, с прилегающими хрящами и сочленовная кость нижней челюсти) на уровне глаза и один участок в позвоночнике на уровне основания грудных плавников.

Измерения проводили в программном обеспечении ADFImageCapture, позволяющем в режиме реального времени получать и анализировать изображения с микроскопа (NikonNI-S-E) с помощью цифровой камеры TourCamU3CMOS16000KPA.

В участке лобной кости измерялась поперечная длина правой и левой костей, высота гребня на стыке между костями, толщина каждой кости в 5 точках, площади прилегающих хрящей (4 области), количество хондроцитов в данных участках. В нижней челюсти измерялась площадь зубной кости, протяжённость поверхности с остеобластами между зубной и сочленовными костями, а также на сочленовной кости, площадь и количество хондроцитов в хрящевых участках сочленовной кости. На срезах позвонков нами было выбрано 7 показателей для измерения: площадь костной составляющей тела позвонка, длина поверхности остеобластами по периметру тела позвонка, площадь костной поверхности правой и левой невральных дуг, площадь хряща, входящего в состав обеих невральных дуг. Помимо этого, во всех исследуемых участках высчитывалось соотношение между количеством клеток (хондроцитов) и площадью хряща. Полученный показатель оценивался как активность хрящевой ткани.

Всего нами было проанализировано 9 показателей для каждого среза позвонка и 37 показателей для срезов исследуемого участка черепа (25 для области лобных костей и 12 для нижней челюсти). Анализ данных проводился в программе STATISTICA. Для оценки различий между показателями контрольной и полетной группы использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. На основании полученных результатов, можно отметить, что достоверных различий в исследуемых участках (лобная кость, нижняя челюсть и позвонок) между группами не обнаружено.

На данный момент мы не имеем возможности в полной мере сделать вывод о том, как повлиял космический полёт на состояние костной и хрящевой тканей рыб. Данио-рерио – рыбка небольшого размера (средняя длина 4.5 см), помимо этого, исследуемые нами животные и в контрольной, и в полётной группах отличались между собой по размеру. Это затрудняло выбор поперечных гистологических срезов с полным совпадением участков. Что касается позвоночника, особенности строения позвонков рыб и их небольшие размеры показали даже на уровне двух соседних срезов существенные анатомические различия. Мы планируем провести полную оценку скелета для каждой рыбы, чтоб установить наличие или отсутствие различий как между изучаемыми группами, так и между особями.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В КРАТКОВРЕМЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ С ИЗОЛЯЦИЕЙ В ГЕРМООБЪЕМЕ И "СУХОЙ" ИММЕРСИЕЙ

Маркина Е.А.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В динамике длительных полетов на орбитальном комплексе "Мир" было установлено прогрессивное повышение уровня холестерина в крови космонавтов, а уровень холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) снижался (Markin A., Strogopova L., O. Balashov, et al., 1998). У отдельных членов экипажей длительных экспедиций на Международную космическую станцию в полете отмечалось повышение уровня холестерина двукратно превышавшее верхнюю границу диапазона физиологической нормы (Ничипорук И.А., Морукнов Б.В., 2011). Исследованиями, проведенными в периоде восстановления (ПВ) после длительных полетов на орбитальном комплексе "Мир", установлено повышение содержания в крови космонавтов холестерина, триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов низкой (ЛПНП) и очень низкой (ЛПОНП) плотности, увеличение индекса атерогенности (ИА) и отношения холестерин/фосфолипиды (Ушаков А.С., Попова И.А., 1997).

Учитывая, что сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смерти российских космонавтов (Ushakov I.B., Bryleva M.S., Voronkov Y.I., et al., 2017), становится очевидной необходимость всестороннего изучения липидного обмена и в особенности его холестеринowego компонента.

Нет сомнений в том, что метаболические реакции организма в раннем периоде адаптации к невесомости могут служить базисом для дальнейшего формирования нового уровня гомеостаза в ходе длительной космической экспедиции. В связи с невозможностью проведения всестороннего биохимического обследования непосредственно на борту орбитальной станции, детальное изучение метаболических реакций организма человека в остром периоде адаптации к условиям космического полета возможно пока только в наземных модельных экспериментах.

Исследование основных показателей холестеринowego обмена (холестерин, холестерин ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ, ИА) проведенное в женском эксперименте с 15-суточной изоляцией в гермообъеме, показало отсутствие достоверных изменений во время нахождения в гермокамере (Маркина Е.А., Журавлева О.А., Кузичкин Д.С. и др. 2019). В эксперименте с 17-суточной изоляцией смешанного по гендерному признаку экипажа в гермообъекте, не было обнаружено сколько-нибудь значимых изменений тех же показателей. На основании полученных данных был сделан вывод, что для решения вопроса о характере метаболических реакций в острой стадии адаптации к условиям полета, следует использовать модели, создающие перераспределение жидких сред организма и разгрузку антигравитационных мышц (Маркина Е.А., Ильченко Е.В., Кузичкин Д.С. и др., 2018).

Характеристикой атерогенеза служит не только наличие в крови холестерина и основных липопротеидов ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП, а баланс всего большинства их форм, которых насчитывается около двух десятков (Панин Л.Е., 2006). Большую роль играют белки, влияющие на синтез и распределение этих фракций. Например, аполипопротеины В и А1 (АпоВ, АпоА1), соотношение которых указывает на риск атерогенеза независимо от уровня липопротеидов, связанных с холестерином, даже когда их содержание не превышает границ нормы (Walldius G., Jungner I., Aastveit A.H. et al., 2004). Тестирование на аполипопротеины выявляет липидно-липопротеиновые дисбалансы и позволяет получить информацию о риске атерогенеза, не выявляемую при исследовании основных показателей обмена холестерина (Steffen B.T., Guan W., Remaley A.T. et al., 2017). Кроме того, на метаболизм холестерина влияет ряд субстанций липидного обмена: фосфолипиды (ФЛ) являются субстратом, необходимым для энзиматической этерификации холестерина и его дальнейшей утилизации в печени, повышение уровня неэтерифицированных (свободных) жирных кислот (НЭЖК) приводит к серьезным

нарушениям в цепи реакций метаболизма холестерина, в результате чего образуются гиператерогенные мелкие плотные частицы ЛПНП-холестерина и резко снижается уровень холестерина ЛПВП (Вельков В.В., 2009). Бета-гидроксибутират (ГОБТ) может являться индикатором интенсивности обмена НЭЖК.

Целью данной работы было исследование изменения величин показателей липидного обмена (холестерин, холестерин ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ, ИА, АпоА1, АпоВ, ГОБТ, ФЛ) в крови испытуемых, участвовавших в экспериментах с кратковременной изоляцией и “сухой” иммерсией, а также выявление особенностей реакции исследуемого звена обмена веществ при каждом воздействии.

В эксперименте с 17-суточной изоляцией в гермообъеме обследовали экипаж, состоящий из 6 испытуемых обоего пола в возрасте от 27 до 43 лет. В связи с тем, что референтные диапазоны по исследуемым показателям одинаковы для мужчин и женщин, все обследуемые были объединены в одну группу. Рассматривались данные, полученные в фоновом периоде, на 7 сутки изоляции и 2 сутки ПВ. В эксперименте с 5-суточной иммерсией участвовали 6 испытуемых мужского пола в возрасте от 25 до 40 лет. Оценивались данные, полученные в фоновом периоде, на 5 сутки иммерсии и на 2 сутки ПВ. Во внимание принимались только изменения значений показателей, достоверно отличавшиеся от фонового уровня.

При экспериментальном воздействии содержание холестерина ЛПОНП и ТГ в группах с изоляцией и иммерсией возрастало на 33 и 29% соответственно, а в ПВ возвращалось к фоновому уровню. Концентрация АпоА1 в изоляции не менялась, в то время как при иммерсии понизилась до уровня в 91% и снижалась далее до 76% от фона в ПВ. Содержание АпоВ при изоляции возрастало на 17% и оставалось на этом уровне после завершения воздействия. В иммерсии концентрация АпоВ повысилась на 9%, а затем упала до уровня 89% от фона. Отношение АпоВ/АпоА1 в группе с изоляцией возрастало на 30% и оставалось повышенным на 20% в ПВ. В иммерсии величина отношения увеличивалась в большей степени, на 42%, однако в периоде последствия нормализовалась. Содержание ФЛ при обоих воздействиях не менялось, однако после изоляции оно повысилось на 10%, а после иммерсии снизилось на 9%. Уровень НЭЖК также не менялся при экспериментальных воздействиях, а в ПВ после изоляции возрос на 21% при неизменном значении после иммерсии. Концентрация ГОБТ в изоляции понизилась на 19%, а в ПВ возросла на 26% относительно фона. В иммерсии содержание ГОБТ не изменилось, а после воздействия упало на 43%.

Концентрации холестерина, его ЛПВП и ЛПНП-фракций, ИА достоверно не менялись.

Обобщая результаты исследований можно заключить, что кратковременная изоляция и иммерсия не сопровождаются изменениями в содержании основных продуктов холестеринового обмена (холестерина, его ЛПНП, ЛПВП-фракций) и величины ИА. Тем не менее, при обоих воздействиях наблюдаются сдвиги в содержании аполипопротеинов, регулирующих метаболизм фракций холестерина. Изменения атерогенной направленности при изоляции выражены в меньшей степени по сравнению с иммерсионным воздействием, однако они более стабильны и не нивелируются полностью в ПВ. Возможно, это связано с более длительным нахождением испытуемых в условиях гермообъема. Уровень метаболитов липидного обмена как во время изоляции, так и при иммерсии, остается практически неизменным, но в ПВ после изоляции в гермообъеме наблюдается увеличение их концентрации, отражающее активацию липолиза. Данный эффект, по-видимому, связан с дополнительным стрессогенным воздействием - двухсуточной депривацией сна, проведенной в последние дни эксперимента.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКСМУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК INVITRO: ОСОБЕННОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНОМ УРОВНЕ O₂ В МИКРООКРУЖЕНИИ

Матвеева Д.К.^{1,2}, Живодерников И.В.¹

Научный руководитель: Андреева Е.Р.¹

1 – ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

2 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва

В настоящее время внеклеточный матрикс клеток (ВКМ), как перспективный источник скаффолдов для репарации поврежденных тканей и органов, привлекает значительный интерес исследователей, работающих в области регенеративной медицины и тканевой инженерии. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК), как наиболее востребованный источник клеток для клеточной терапии, не только способны к пролиферации, мультилинейной дифференцировке и продукции растворимых медиаторов, но и продуцируют *invitro* хорошо развитый ВКМ. ВКМ – ключевой компонент тканевого микроокружения стволовых/стромальных клеток, образующий сложную динамическую сеть макромолекул с различными физическими и биохимическими свойствами и регулирующий пролиферацию, миграцию, дифференцировку и апоптоз клеток. Уровень O₂ – один из важнейших физических факторов клеточного микроокружения в нишах стволовых и прогениторных клеток. Так МСК присутствуют во многих органах в областях с пониженной концентрацией O₂ (1-8%), которая является для них физиологичной по сравнению с атмосферным уровнем (20%). Целью нашей работы было изучить особенности структуры, ремоделирования и влияния на поведение клеток ВКМ, продуцируемого МСК при различном уровне O₂: нормоксии (20% O₂) и «физиологической» гипоксии (5% O₂).

МСК выделяли из жировой ткани человека и постоянно культивировали при 20% O₂ или при 5% O₂. МСК высевали в концентрации 7,5 тыс. клеток/см² и культивировали при различных концентрациях O₂ в течение 14 дней. Морфологию основных коллагеновых и неколлагеновых белков исследовали с помощью методов иммуноцитохимии, гистологического окрашивания и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Для изучения транскрипции основных компонентов матрикса МСК использовали полногеномный анализ с помощью набора HumanRef-8 и количественный ПЦР. Для оценки влияния ВКМ на функциональную активность МСК, их адгезию, дифференцировку и миграцию, использовали децеллюляризованные препараты.

С помощью иммуноцитохимии и гистохимического анализа были идентифицированы основные коллагеновые (коллаген типа I) и неколлагеновые (фибронектин) белки ВКМ. Однако визуальных и достоверных количественных различий в содержании компонентов матрикса при 20% и 5% O₂ не было выявлено. СЭМ позволила идентифицировать тонкую ультраструктуру матрикса, выявляющегося в пространстве между клетками. ВКМ, продуцируемый МСК при 5% O₂, представлял собой густую сеть из тонких пересекающихся фибрилл. Напротив, при 20% O₂ молекулы ВКМ образовывали плотную мембраноподобную структуру без четкого разделения на отдельные фибриллы. Стоит отметить, что морфология МСК при 5% отличалась от морфологии МСК при 20% O₂, клетки имели более вытянутую веретенообразную форму. Изучение транскрипционного профиля показало, что примерно 100 генов, относящихся к матриксу, были дифференциально экспрессированы в МСК, постоянно культивируемых при 5% по сравнению с 20% O₂. Около 70% из них кодировали «core» белки, к которым относятся основные структурные коллагены, протеогликаны и гликопротеины, а остальные 30% включали гены протеаз и матрикс-ассоциированных молекул. Используя базу данных гипоксия-регулируемых белков NuroxiaDB, мы определили, что около половины все генов матрикса с дифференциальной экспрессией являются гипоксия-зависимыми. Количественные изменения транскрипции целевых генов коррелировали с данными полногеномного скрининга.

Культирование МСК на подложке из децеллюляризованного матрикса (дцВКМ), полученного от МСК при различных концентрациях O₂, по сравнению с коллагеновой подложкой показало, что дцВКМ влияет на морфологию, адгезию и дифференцировку клеток. Было установлено, что дцВКМ от МСК при 20% O₂ поддерживает ранние стадии остеоконмитирования, аот МСК при 5% O₂- адипоконмитирования.

Таким образом, МСК в зависимости от уровня O₂ в микроокружении, продуцируют ВКМ, отличающийся по характеру упаковки волокон и характеру эффектов на функциональную активность МСК.

Полученные результаты вносят вклад в понимание реципрокных механизмов регуляции клеток и их микроокружения. Кроме того, результаты по оценке влияния децеллюляризованного матрикса на активность МСК, являются перспективными с точки зрения получения биосовместимых скаффолдов с целью доставки и приживления клеток *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН № 43П.

РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВЫСОКОПРЕДСТАВЛЕННЫХ БЕЛКОВ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА В ОТВЕТ НА АЭРОБНУЮ ТРЕНИРОВКУ: РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИИ

Махновский П.А.¹, Лысенко Е.А.¹, Газизова Г.Р.², Шагмарданова Е.А.².

1 ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

2 Казанский федеральный университет, Казань

Цель работы – оценить роль транскрипции в регуляции содержания высокопредставленных белков в скелетной мышце человека в ответ на аэробную нагрузку. В работе сопоставляли вызванные аэробной тренировкой изменения протеома в скелетной мышце человека с изменениями экспрессии мРНК обнаруженных белков.

Семь молодых нетренированных мужчин тренировались в течение двух месяцев на велоэргометре (5 раз в нед., 1 ч в день). До и после тренировочного периода у испытуемых брали биопсические пробы из *m. vastus lateralis* и оценивали изменения транскриптома (высокопроизводительное секвенирование РНК) и протеома (количественная панорамная масс-спектрометрия с использованием изобарической метки iTRAQ).

В пробах скелетных мышц было обнаружено около 800 белков, при этом аэробная тренировка вызвала увеличение содержания около 200 белков. При сопоставлении изменений протеома с транскриптомными данными выявлено, что, в большинстве случаев, вызванное тренировкой увеличение содержания белков не связано с увеличением уровня мРНК (например, для митохондриальных белков). Однако для белков внеклеточного матрикса увеличение содержания белков было ассоциировано с увеличением уровня соответствующих мРНК. Для группы саркомерных белков наблюдалось снижение уровня мРНК, при этом содержание белка не изменялось. Анализ доступных баз данных показал, что все обнаруженные нами белки и их мРНК – это высокопредставленные белки и мРНК с высокой устойчивостью к деградации.

Таким образом, в скелетной мышце человека содержание высокопредставленных белков, выполняющих разные функции, регулируется по-разному. По-видимому, изменение транскрипции не является основным механизмом, регулирующим увеличение содержание высокопредставленных белков в скелетной мышце в ответ на аэробную тренировку, что может быть связано со специфическими механизмами регуляции стабильности этих белков.

КАЛЬПАИН-ЗАВИСИМАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ЦИТОСКЕЛЕТНЫХ БЕЛКОВ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ЖЕСТКОСТЬ M.SOLEUS КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРУЕМОЙ НЕВЕСОМОСТИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ L-АРГИНИНА

Мельников И.Ю., Шарло К.А., Вихлянцева И.М., Тыганов С.А.

Научный руководитель: **к.б.н. Т.М. Мирзоев,**

Научный консультант: **д.б.н., проф. Б.С. Шенкман**

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В постуральной мускулатуре млекопитающих на фоне реальной и моделируемой гравитационной разгрузки происходит снижение жёсткости. Главными источниками мышечной эластичности считаются такие структурные белки как небулин, альфа-актинин-2 и -3, десмин, телетонин и титин. Показано, что оксид азота (NO), содержание которого снижается при антиортогостатическом вывешивании, участвует в регуляции белкового обмена в скелетных мышцах путем ингибирования кальпаин-зависимой деградации белка (Kanzaki et al., 1985; Lomonosova et al., 2011). В связи с этим мы предположили, что уровень NO является одним из факторов, определяющих жесткость постуральной мышцы в условиях гравитационной разгрузки. Для проверки этой гипотезы животным внутрибрюшинно вводился L-аргинин (донор NO) во время функциональной разгрузки и оценилось изменение содержания каркасных белков *vm. soleus*.

Самцы крыс Вистар весом 180-200 г были разделены на три группы: 1) виварный контроль (С), 2) 7HS – группа 7-суточного вывешивания и 3) HSA - группа 7-суточного вывешивания с ежедневными инъекциями L-аргинина (субстрат NO-синтазы) (500 мг/кг) на протяжении семи дней, 4) HSN – группа с инъекциями L-аргинина + L-NAME (ингибитор продукции NO). С помощью вестерн-блоттинга было определено относительное содержание альфа-актинина-2, альфа-актинина-3, небулина, десмина в тотальной мышечной фракции. Группам С и HS ежедневно вводилась эквивалентная доза физраствора. Пассивную жёсткость мышц измеряли с помощью установки Aurora Scientific DualModeSystem 305C-LR: для этого мышца прикреплялась к датчику силы с одного конца и к фиксированному крепежу с другого. С помощью одиночных сокращений определялась оптимальная длина мышцы. Тонус мышцы измерялся путем растяжения мышцы на 15% от оптимальной длины. Использовались максимальные показатели силы после 10 повторов для каждой мышцы, после чего брался средний показатель силы, соотносившийся с площадью поперечного сечения мышцы.

На 7-е сутки вывешивания было показано, что в группе HS пассивная жесткость камбаловидной мышцы снизилась на 28% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Для группы cL-аргинином не наблюдалось снижения жесткости по сравнению с группой контроля. После 7 суток было выявлено достоверное снижение уровня содержания альфа-актинина-2 на 55% ($p < 0,05$) в группе вывешивания по сравнению с группой контроля, которое отсутствовало в группе с введением L-аргинина. При этом не было выявлено различий в уровне содержания альфа-актинина-3 между всеми экспериментальными группами. Также, не было обнаружено достоверных различий в уровне десмина между всеми экспериментальными группами. Однако было выявлено достоверное снижение содержания телетонина на 35% ($p < 0,05$) в группе вывешивания по сравнению с группой контроля. Данное снижение предотвращалось введением L-аргинина. Было обнаружено достоверное снижение содержания T1 изоформы титина на 20% ($p < 0,05$) в группе вывешивания на фоне контроля, которое предотвращалось введением L-аргинина. Содержание T2 изоформы титина достоверно увеличивалось на 48% ($p < 0,05$) в группе HS. В группе HSN снижение содержания небулина составило 38% ($p < 0,05$) относительно контроля,

при этом введение L-аргинина предотвращало этот эффект. Важно отметить, что при блокировании продукции NO с помощью L-NAME в группе с L-аргинином достоверных отличий от контроля по всем исследуемым параметрам выявлено не было. Данный феномен свидетельствует о том, что предотвращение снижения содержания ряда цитоскелетных белков, наблюдаемое в нашем исследовании, не связано с продукцией NO. Можно предположить, что наблюдаемое в настоящем исследовании изменение в содержании белков в группе HSA могло быть связано с такой постраниционной модификацией, как аргинилирование, которое может оказывать существенное влияние на функцию цитоскелетных белков (Leite et al., 2015; 2016).

Таким образом, введение L-аргинина на фоне антиортостатического вывешивания может предотвращать кальпаин-зависимый распад ключевых цитоскелетных белков, сохраняя жесткостные свойства *soleus* крысы.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00529.

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЙ НА РЕГУЛЯЦИЮ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

Онучина М.Р.^{1,2}, Киреева А.Е.²

¹ ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

² ФГАОУ ВО Национальный Исследовательский Технологический Университет
МИСИС, Москва

Работа посвящена исследованию влияния гипомагнитных условий (ГМУ) на человека, в частности на показатели сердечно-сосудистой системы (ССС) человека. ГМУ существуют, в некоторой степени, внутри заглубленных или экранированных объектов инфраструктуры, а так же, в большей степени, при осуществлении дальних космических полётов, освоении дальнего космоса.

ГМУ создавались с помощью установки по моделированию гипомагнитных условий АРФА. Регистрацию влияния ГМУ на ССС проводили на основе анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР).

Существует много экспериментальных данных по влиянию ГМУ на ССС. Большинство работ по данному направлению в нашей стране выполнены под руководством Ю.И. Гурфинкеля, А.Л. Васина. В этих работах показано, что существует влияние гипомагнитных условий на капиллярный кровоток, артериальное давление и частоту сердечных сокращений.

В данной работе получено, что экспозиция в ГМУ оказывает влияние на вегетативную регуляцию сердечно-сосудистой деятельности и приводит к достоверному росту таких показателей, как SDNN и спектральные характеристики ВСР. Велико оказалось значение индивидуальных особенностей состояния вегетативной системы испытуемых.

Результаты этой и других работ по данному направлению свидетельствуют о явном влиянии ГМУ на организм человека. Однако, к настоящему моменту отсутствует систематизация полученных данных, отсутствуют единые критерии по выбору режимов ГМУ, неизвестен так же механизм этого влияния. Таким образом, необходимо проводить дальнейшие комплексные исследования, для ответов на вопросы по влиянию ГМУ как на ССС, так и на другие системы организма человека.

КАК ИЗМЕНЯЕТСЯ ТОЧНОСТЬ ВЫПОЛНЕНИЯ ИНТЕНСИВНЫХ ДВИЖЕНИЙ ПРИ РАЗНЫХ УРОВНЯХ ТРЕНИРОВАННОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Орлова Е. А.

Научный руководитель:

Сонькин В.Д., д.б.н., профессор, Виноградова О.Л., д.б.н., профессор

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Введение. Точность выполнения интенсивных движений и способность к длительному поддержанию заданного уровня нагрузки являются необходимыми навыками для людей, профессионально связанных с выполнением руками интенсивной физической работы в осложненных условиях, например, спортсменов и космонавтов.

Цель. Целью данного исследования было изучение влияния уровня аэробной работоспособности на точность поддержания заданной мощности движений при работе мышц плечевого пояса. Тестирование проводилось с использованием разработанного аппаратно-программного комплекса на базе лыжного тренажера SkiErg (Concprt2, США). Во время теста испытуемые выполняли движения, имитирующие одновременный бесшажный лыжный ход.

Методика. Для выяснения возможности определения анаэробного порога (АП) по точности выполнения движений (эксперимент 1) 9 молодых, физически активных мужчин (возраст 26 ± 10 лет, рост 179 ± 7 см, вес 74 ± 10 кг) выполняли тест на тренажере дважды: рамп-тест (РТ, начальная мощность 30 Вт и скорость увеличения мощности 10 Вт/мин) и ступенчатый тест (СТ, начальная мощность 30 Вт, величина ступени 20 Вт) до отказа. Во время СТ брали пробу капиллярной крови (20 мкл) в конце каждой ступени для определения АП (Biosen C-line анализатор (EKF Diagnostics, Германия)) по концентрации лактата 4 ммоль (AP_{L4}). Во время РТ паттерн изменения мощности задавался на экране планшета, затем оценивалась динамика среднеквадратичного отклонения (СКО) (MathWorksInc., США) реально выполняемого движения от заданного на мониторе для сопоставления $AP_{СКО}$ и AP_{L4} . Определения AP_{L4} и $AP_{СКО}$ проводили off-line

СКО вычислялось на последовательных интервалах времени длительностью 30 с, причем каждый последующий интервал сдвигался относительно предыдущего на 10 с. Полученный таким образом график аппроксимировали полиномом пятого порядка. Момент резкого увеличения величины СКО в конце теста определяли по точке перегиба на аппроксимирующей кривой. Значение мощности в этой точке принимали в качестве оценки мощности на АП.

Для оценки влияния уровня физической подготовленности на точность выполнения нагрузки (эксперимент 2) 10 спортсменов-лыжников (возраст 27 ± 10 лет, рост 181 ± 7 см, вес 73 ± 12 кг) выполняли ступенчатый тест с повышающейся нагрузкой (СТ, начальная мощность 25 Вт, величина ступени 25 Вт) до отказа дважды: в начале лыжного сезона и после 3-х месяцев интенсивных тренировок. Во время СТ регистрировали те же параметры что и в эксперименте 1.

В эксперименте 3 оценивали влияние на точность выполнения нагрузки глубокой гипокинезии. 5 нетренированных мужчин (возраст 27 ± 4 лет, рост 180 ± 5 см, вес 81 ± 4 кг) выполняли ступенчатый тест (СТ, начальная мощность 20 Вт, величина ступени 7,5 Вт) с повышающейся нагрузкой до отказа до и после 3-недельного пребывания в условиях «сухой» иммерсии (СИ), во время СТ регистрировали те же показатели что и в эксперименте 1.

Результаты. Эксперимент 1. Во время СТ по мере увеличения мощности нагрузки (увеличение «сложности» выполнения теста) абсолютная ошибка постепенно увеличивается резко возрастает в конце теста. Точка перегиба на кривой, описывающей зависимость СКО от мощности принималась за мощность на АП. Определенная таким образом АП хорошо коррелирует с величиной АП, определенной лактатным методом. Т.о., по увеличению СКО в рамп тесте можно определить АП.

Эксперимент 2. После трех месяцев интенсивных тренировок АП значительно увеличился (с 107 до 177 В). Изменение ошибки поддержания мощности в зависимости от нагрузки изменяется сходным образом в тестах до и после тренировок – по мере увеличения мощности нагрузки

абсолютная ошибка постепенно увеличивается, причем после преодоления АП ошибка резко возрастает. Повышение уровня тренированности ведет к заметному уменьшению относительной ошибки.

Эксперимент 3. После 3-х недель пребывания в условиях СИ АП у испытуемых несколько снизился (с 68 до 58 Вт). Также как и в случае спортсменов – лыжниковошибка поддержания мощности растет по мере увеличения нагрузки. Однако следует отметить, что некоторое снижение аэробной работоспособности не сказывается на точности поддержания заданной мощности.

Выводы. Точность поддержания заданной мощности движений постепенно уменьшается по мере увеличения нагрузки, причем при нагрузках, превышающих АП, наблюдается ее резкое снижение. Рост тренированности не изменяет характер зависимости ошибки от нагрузки, однако ведет к заметному уменьшению относительной ошибки. Пребывание в условиях СИ не ведет к заметному изменению точности поддержания мощности движений при работе мышц плечевого пояса, несмотря на некоторое уменьшение АП. Зависимость величины ошибки от нагрузки во время выполнения РТ можно использовать для оценки величины АП.

Работа выполнена по Плану фундаментальных исследований ГНЦ РФ - ИМБП РАН и при поддержке гранта РФФИ № 17-04-01943.

ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПИЛОТИРУЕМЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТАХ

Орлова С.В.

Научный руководитель: **Новикова Н.Д., д.м.н.**

ГНЦ РФ-ИМБП РАН, Москва

Изучение эффективности дезинфекционных средств в практических условиях является заключительным этапом испытаний, по результатам которого даются рекомендации для его применения в практике медицинского контроля космических полетов.

Целью практических испытаний является уточнение целевого назначения, условий применения, дается оценка эффективности и безопасности разработанных режимов обеззараживания, надежности рекомендованных мер предосторожности, влияния на фактуру и свойства обрабатываемых объектов, выявления преимуществ и недостатков по сравнению с используемыми аналогами.

Вопрос об эффективности и допустимости использования дезинфицирующих средств при длительных космических полетах остается актуален и по сей день в связи с изменчивой резистентностью микроорганизмов к различным дезинфекционным средствам. В ходе испытаний на базе ГНЦ РФ ИМБП РАН был проведен анализ пяти вариаций дезинфицирующих средств с последующим сравнением эффективности их использования и применения. Ввиду ограничения использования в условиях космического полета возникла задача выбора оптимального средства дезинфекции с высокими показателями бактерицидного действия. Суммируя все полученные данные проделанных работ были рекомендованы средства с высокими показателями, которые могут использоваться во время космического полета, а также в наземных условиях

АЛГОРИТМЫ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ РАСТЕНИЙ В ЛУННОЙ И МАРСИАНСКОЙ ОРАНЖЕРЕЯХ

Очков О.А.¹, Буряк А.А.²

Научный руководитель: Беркович Ю.А.¹, д.т.н. профессор

1 – ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва,

2 – МГУ им. Ломоносова, Москва

Задача обеспечения экипажей пилотируемых космических аппаратов наиболее дефицитными и трудно сохраняемыми пищевыми компонентами, такими как естественные витамины в составе свежих овощей, является одной из важнейших на пути совершенствования среды обитания космонавтов в дальних космических экспедициях. Повышение эффективности выращивания растений в космической оранжерее (КО) может быть достигнуто за счёт оптимального управления параметрами их среды, в частности режима освещения посевов. Экспериментально было показано, что максимальная скорость видимого фотосинтеза в посевах на разных стадиях развития растений может достигаться при различных значениях показателей светового режима, концентрации углекислого газа, температуры и влажности воздуха. В ГНЦ РФ ИМБП РАН построен стенд для оптимизации светодиодного освещения растений с биологической обратной связью по фотосинтезу растений. Стенд включает в себя герметичный фитотрон со стабилизированными температурой и влажностью воздуха, водным потенциалом в корнеобитаемой среде и условиями минерального питания растений. Растения растут в фитотроне при круглосуточном освещении. Над посевом смонтирован светильник, построенный на базе красных и белых светодиодов (СД) с автономным регулированием токов питания каждого типа СД в светильнике по программе с микроконтроллера (МК). Величина видимого фотосинтеза (Φ) посева (т.е. разности между фотосинтезом и дыханием посева) определяется по изменению концентрации углекислого газа в фитотроне с помощью инфракрасного газоанализатора (ГА), сигнал с которого поступает в МК. Программа в МК вычисляет первую производную по времени от текущей концентрации углекислого газа в фитотроне, пропорциональную Φ , а также определяет значение критерия оптимальности в момент измерения. Выбран критерий оптимальности для посевов в КО в виде максимума линейной комбинации величин M_E и M_V с весовыми коэффициентами, отражающими соотношение значений стоимости основных используемых бортовых ресурсов – объема кабины космического аппарата и производимой в нем электроэнергии: $\text{Max } Q(I) = \text{Max} \{ [C_V / (C_V + C_E)] M_V(I) + [C_E / (C_V + C_E)] \cdot M_E(I) \}$; $I_{\text{max}} > I > 0$. Здесь C_E – коэффициент стоимости единицы электроэнергии, потребляемой оранжереей на борту космического объекта; C_V – коэффициент стоимости единицы объема, занимаемого оранжереей на борту; I – плотность светового потока, падающего на посев, I_{max} – порог светового насыщения фотосинтетического аппарата (ФСА) листа белым светом. Конкретные оценки C_E и C_V в единицах эквивалентной массы рассчитаны по данным исследователей из НАСА для различных сценариев экспедиций к Луне и Марсу. Методом компьютерного моделирования проведена предварительная оценка ошибок слежения за траекторией максимума нестационарной модели фотосинтеза посева растений в пространстве двух параметров среды растений: облученности посева и температуры воздуха с помощью различных поисковых алгоритмов. Модель фотосинтеза посева пшеницы была представлена в виде неотрицательно определённого функционала:

$$F(X_i, t) = \sum_{i=1}^2 \{ D_i [X_i - (A \cdot t + K \cdot \sin(B \cdot t))] \}^2 + \Psi(t)$$

Здесь D_i – масштабные коэффициенты, отражающие влияние на фотосинтез рабочего шага по i -му параметру среды; X_i – регулируемые параметры среды, нормированные нижними

значениями выбранных диапазонов варьирования; A – наибольшая скорость онтогенетического дрейфа максимума фотосинтеза; B – наибольшая частота первой гармоники циркадных биоритмов; $K=0,15$ – соотношение нормированных амплитуд суточных и онтогенетических колебаний для экспериментального посева пшеницы; $\Psi(t_j)$ – аддитивная случайная помеха с гауссовским распределением с нулевым средним значением и с дисперсией $S^2=10^{-2}$; $\{t_j\}$ – последовательность дискретных моментов времени эксперимента. После изменения параметров среды в момент t_1 , следующее значение функционала фотосинтетической активности посева получали по окончании переходных процессов через 20 минут. Значение коэффициента D_1 принимали за 1. Исследованные варианты значений отношения безразмерных параметров D_1/D_2 , A и B были представлены в виде рабочей матрицы полного 3-х факторного эксперимента. Наибольшая скорость онтогенетического дрейфа модельного фотосинтеза A в экспериментальном посеве пшеницы составила $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ сут}^{-1}$, нижний уровень этого параметра был равен $5,5 \cdot 10^{-4} \text{ сут}^{-1}$. Значения коэффициента $B=8,7 \cdot 10^{-2} \text{ сут}^{-1}$ соответствовала циркадным колебаниям фотосинтеза посева, а значение $B=1,75 \cdot 10^{-2} \text{ сут}^{-1}$ – 12-часовому периоду колебаний. Были протестированы 3 алгоритма поиска экстремума нестационарного функционала: градиентный, метод сопряженных градиентов и алгоритм деформируемых многогранников (алгоритм Нелдера и Мида). Поиск экстремума с помощью каждого метода при каждом сочетании параметров модели фотосинтеза повторяли 100 раз, а затем усредняли полученные поисковые ошибки. Для алгоритма Нелдера и Мида и градиентного были найдены наиболее эффективные параметры при отслеживании траектории экстремума модели с уровнем аддитивного шума в 1% от амплитуды фотосинтеза посева. При величинах аддитивной случайной помехи $\Psi(t)$ менее 1% от амплитуды фотосинтеза – метод сопряженных градиентов показал наименьшие ошибки на поиск и на рысканье. Однако при возрастании уровня помех до 1% и выше практически при всех исследованных значениях параметров D_1/D_2 , A и B наблюдалась потеря устойчивости процесса слежения за экстремумом модели с помощью этого метода. Вследствие этого применение алгоритма сопряженных градиентов в нашей задаче было признано неперспективным. Два других выбранных нами поисковых алгоритма справились с отслеживанием дрейфа тестового функционала, однако наблюдались различия в показателях качества этих процессов. Так, алгоритм Нелдера-Мида быстрее выходил в окрестность экстремума, но после 400 итераций начинал медленно расходиться с траекторией экстремума тестовой модели. При возрастании уровня аддитивных помех до 10% от амплитуды фотосинтеза посева иногда наблюдалась потеря устойчивости поискового процесса с помощью этого метода. Градиентный алгоритм обеспечивал более медленный, но более устойчивый процесс слежения за дрейфом экстремума.

Выводы.

1. Метод адаптивной оптимизации режимов выращивания посевов растений в космических оранжереях для лунной и марсианской экспедиций перспективен для сокращения затрат бортовых ресурсов в процессе вегетации растений.

2. Для адаптивной оптимизации фотосинтеза посева растений в процессе вегетации на тестовой модели фотосинтеза посева наиболее эффективным является комбинированный метод отслеживания траектории экстремума в процессе вегетации, при котором на первых 20 итерациях процесса применяют алгоритм деформируемых многогранников (Нелдера и Мида), а для всех последующих поисковых итераций - градиентный алгоритм.

3. Предложенный комбинированный алгоритм в дальнейшем целесообразно проверить в реальной системе адаптивной оптимизации режима светодиодного освещения посева растений в наземном прототипе космической оранжереи.

ДИНАМИКА ЯДЕРНОГО ТРАФФИКА ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ЭКСПРЕССИЮ МНС1 ТИПА В КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЕ КРЫС ПРИ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКЕ

Парамонова И.И., Вильчинская Н.А., Шарло К.А.

Научный руководитель: **Шенкман Б.С., д.б.н.**

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

При действии гравитационной разгрузки наблюдается уменьшение доли волокон, экспрессирующих «медленную» изоформу тяжелых цепей миозина (МНС1 типа), и увеличение доли волокон, экспрессирующих «быстрые» изоформы, что приводит к сдвигу миозинового фенотипа в быструю сторону. Существенный вклад в эту трансформацию вносят гистондеацетилаза 4 (HDAC4), MAP-киназа ERK2 и транскрипционный фактор MEF2D. Цель нашего исследования состояла в изучении влияния HDAC4, MAP-киназы ERK2 и MEF2D на экспрессию МНС1 типа *in vivo* крысы. Для этого проводилось 1, 3, 7 и 14 суточное антиортостатическое вывешивание задних конечностей крыс по методике Ильина-Новикова в модификации Морей-Холтон. После чего содержание HDAC4, ERK2 (T202/Y204) и MEF2D в ядерной фракции *m. soleus* крысы оценивали с помощью метода гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом. В результате 1-суточного вывешивания наблюдалось достоверное увеличение содержания HDAC4 на 243% в ядерной фракции белков относительно контрольной группы. После 3 суточного вывешивания выявлено достоверное снижение содержания ERK2 на 96% и MEF2D на 60% в ядерной фракции по сравнению с группой контроля. После 7 суточного вывешивания обнаружено достоверное снижение содержания ERK2 на 72% и MEF2D на 69% в ядерной фракции относительно группы контроля. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важной роли данных ферментов в регуляции трансформации миозинового фенотипа в быструю сторону.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-00107.

ИЗМЕНЕНИЯ ВЕНТИЛЯЦИОННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА К ГИПЕРКАПНИЧЕСКОМУ СТИМУЛУ В УСЛОВИЯХ 21-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ.

Паршин К.С.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Исследования, ранее проведенные в ходе космических полетов, выявили изменения в регуляции дыхания. В полугодовых полетах на российском сегменте МКС установлено увеличение продолжительности произвольной задержки дыхания (Baranov et al., 2009). В 16-дневном полете «Нейролаб» обнаружили снижение вентиляционной чувствительности дыхания к гипоксическому стимулу и отсутствие изменений чувствительности к гиперкапническому стимулу, по сравнению с вертикальным положением тела на Земле (Prisk et al., 2000). Однако динамика и механизмы гравитационно-зависимых изменений вентиляционной чувствительности дыхания при имитации невесомости остаются неопределенными.

Целью настоящей работы было изучение влияния 21-суточной сухой иммерсии (СИ) на вентиляционную чувствительность системы дыхания к углекислому газу.

В исследовании участвовали восемь здоровых добровольцев в возрасте от 23 до 33 лет. Возвратное дыхание гиперкапнически-гипероксической дыхательной газовой смесью проходило в шесть этапов. На первом этапе (фоновое исследование) в положении лежа за несколько дней до сухой иммерсии определялось исходное состояние регуляции дыхания. Второй этап проводили в положении лежа, на 4-е сутки СИ. Третий этап проводили в

положении лежа на 8-е сутки СИ. Четвертый этап проводили в положении лежа на 13-е сутки пребывания в СИ. Пятый этап проводили в положении лежа на 19-е сутки пребывания в СИ. Шестой (последствие) этап проводили в положении лежа на 4-е сутки после выхода из ванной. Для измерения вентиляционной чувствительности использовался разработанный макет аппаратно-программного комплекса. Определялись параметры линейной аппроксимации зависимости минутной вентиляции легких от парциального давления углекислого газа в конечной порции выдыхаемого воздуха. Вентиляторная чувствительность равна тангенсу угла наклона линейной аппроксимации, точка апоноз – пересечению с осью PCO_2 .

По группе наблюдается достоверное ($p < 0,05$ по параметрическому t-критерию Стьюдента) увеличение чувствительности вентиляции к углекислому газу на 4-е сутки после 21-суточной СИ по сравнению с исходным измерением. По всей группе наблюдается увеличение чувствительности к CO_2 объема дыхания во время иммерсии на 13-е и 19-е сутки ($p < 0,05$) относительно фонового испытания.

Заключение. Обнаружено, что длительное СИ влияет на вентиляционную реакцию человека на гиперкапнию.

Работа поддержана программой научных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» на 2018 – 2020 гг.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК ИНДУКТОР СТАРЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Ратушный А.Ю.

Научный руководитель - **Буравкова Л.Б.**

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются одной из популяций стволовых клеток взрослого организма, которые могут быть обнаружены в большинстве постнатальных тканей. МСК обладают рядом свойств, важных в регуляции тканевого гомеостаза, таких как способность к мультилинейной дифференцировке и секреция широкого спектра биологически активных медиаторов, что делает данную клеточную популяцию перспективным инструментом для регенеративной медицины. При этом клетки, выделенные из разных источников (костный мозг, жировая ткань, пульпа зуба и др.) могут различаться по своим функциональным характеристикам, что обуславливает необходимость изучения каждой отдельной тканеспецифической популяции.

Старение организма характеризуется клеточной дисфункцией и истощением пула стволовых клеток. Целый ряд причин может приводить к клеточной гибели или к активации сенесцентного состояния (клеточного старения), увеличивая число таких клеток с возрастом. Важно, что сенесцентные клетки проявляют устойчивость к апоптозу и остаются метаболически активными, продолжая взаимодействовать с окружающими тканями и вызывая развитие хронического воспаления, канцерогенеза и других патологических последствий.

В настоящее время различают репликативное и стресс-индуцированное клеточное старение. Репликативное старение возникает вследствие достижения лимита Хейфлика (максимального количества делений клетки), что происходит по причине укорочения теломер. Стресс-индуцированное старение является следствием сублетальных воздействий или активации онкогенов (oncogene-induced senescence - OIS). Одним из таких воздействий может

быть окислительный стресс, который характеризуется дисбалансом между антиоксидантными системами и уровнем активных форм кислорода (АФК). Считается, что АФК являются одним из ключевых компонентов, который способствует клеточному старению у млекопитающих путем повреждения макромолекул, особенно ДНК (Pole et al., 2016). Изучение эффектов окислительного стресса на модели МСК позволяет глубже понять фундаментальные механизмы старения организма на уровне одной из популяций соматических стволовых клеток.

Стоит также отметить, что повышение уровня АФК сопровождается развитием ряда заболеваний, для которых описано успешное применение МСК (Tsutsui et al., 2011; Terrill et al., 2013). При этом возникают ситуации, когда после трансплантации МСК оказываются в неблагоприятном микроокружении, которое может индуцировать их преждевременное старение (Wehrwein, 2012), что неоднозначно отразится на регенеративном потенциале клеток. В связи с этим требуется понимание вклада окислительного стресса в биологию этих клеток, особенно в контексте клеточного старения, для более успешного прикладного применения.

Цель данной работы заключалась в изучении влияния окислительного стресса на старение-ассоциированные морфофункциональные признаки МСК, выделенных из жировой ткани человека (жтМСК).

Для индукции клеточного старения жтМСК, обрабатывали пероксидом водорода в различных концентрациях (50, 200, 500 мкМ) в течение 6 часов, затем промывали и инкубировали в свежей ростовой среде в течение 4 дней. Было обнаружено, что жизнеспособность жтМСК при концентрации H_2O_2 500 мкМ менее 5%. В других образцах доля жизнеспособных клеток была относительно высокой (более 85%).

Анализ эффектов окислительного стресса в пределах 6 часов воздействия выявил снижение жизнеспособности жтМСК при концентрации перекиси 500 мкМ до 75% через 3 часа и до 20% через 6 часов. При меньших концентрациях (50 и 200 мкМ) значительных изменений не выявлено. Модификации морфологии клеток при 500 мкМ выявлены уже через час воздействия (увеличение гранулярности цитоплазмы), в то время как при 50 и 200 мкМ лишь через 6 часов. Стоит отметить, что увеличение мембранного потенциала можно обнаружить уже через 1 час воздействия (при 500 мкМ). Уровень АФК, напротив, был снижен относительно контроля без добавления перекиси на протяжении всех 6 часов (при 50 и 200 мкМ). Вероятно, снижение уровня АФК уже через час после добавления пероксида водорода обусловлено активацией антиоксидантной защиты клеток. Стоит отметить, что повышенный уровень АФК был отмечен лишь через 10 минут после добавления H_2O_2 , в дальнейшем он значительно снижался в течение 6 часов и вновь возрастал через 96 часов.

Культированные жтМСК после сублетального окислительного стресса были увеличены в размере, а их цитоплазма была более гранулярной, что было показано с помощью метода проточной цитофлуориметрии. Одновременно увеличивалась доля клеток с активной β -галактозидазой, ассоциированной со старением (SA- β -gal), одного из наиболее широко применяемых подходов для выявления сенесцентных клеток. Помимо этого отмечено увеличение уровня АФК, усиление активности лизосомального компартмента и мембранного потенциала митохондрий, а также снижение адипогенного потенциала жтМСК. Подобные изменения морфофункциональных характеристик были показаны нами ранее на модели репликативного старения. Таким образом, обработка жтМСК пероксидом водорода в концентрации 50-200 мкМ на протяжении 6 часов вызывает при последующем культивировании фенотипические изменения, характерные для сенесцентных клеток. Отдельное внимание стоит уделить модификациям мембранного потенциала митохондрий. Окислительный стресс приводил к усилению мембранного потенциала, в то время как при репликативном старении данный показатель был снижен относительно «молодых» клеток, что указывает на некоторые фундаментальные различия в физиологии жтМСК, сенесцентное состояние которых было индуцировано разными методами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-015-00150.

ВЛИЯНИЕ ОПОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА ЕМКОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСЛЯЦИИ В m.SOLEUS КРЫСЫ НА РАННИХ СРОКАХ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Рожков С.В., Шарло К.А., Тыганов С.А.
Научный руководитель: **к.б.н. Т.М. Мирзоев,**
Научный консультант: **д.б.н., проф. Б.С. Шенкман**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Необходимость предотвращения негативных последствий микрогравитации в условиях космических полетов на скелетную мускулатуру космонавтов стала причиной разработки целого ряда установок, главный недостаток которых заключается в необходимости прямого участия космонавтов в установленном режиме тренировки. Ввиду того, что интенсивность этих упражнений не соответствует их эффективности, проверяется возможность использования для так называемой «пассивной контрмеры» в виде динамической стимуляции поверхности стоп. Ранее было показано, что механостимуляция опорных зон стоп у человека и животных в условиях моделируемой невесомости может уменьшать, или даже полностью устранять атрофию волокон постуральных мышц, в частности, камбаловидной мышцы (De-Donckeretal., 2000; Moukhinaetal., 2004; Курагоsetal., 2005). Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе этого явления, остаются неизученными. Целью данной работы являлось определение влияния опорной стимуляции на фоне гравитационной разгрузки в течение 1 и 3 суток на два главных параметра, которыми определяется синтез белка в клетке – трансляционную емкость и эффективность трансляции. В качестве основной модели микрогравитации использовалась классическая модель антиортостатического вывешивания лабораторных грызунов с продолжительностью экспозиции 1 и 3 суток. На фоне вывешивания у части животных проводилась механическая стимуляция опорных зон стоп с помощью одеваемого на лапу крысы «башмака», внутри которого находилась подвижная платформа, которая и симулировала ходьбу животного. Продолжительность стимуляции составляла 4 часа в сутки. Давление на стопу было составляло 13.9 мН (Кураго et al., 2005). После вывешивания проводился анализ ключевых маркеров трансляционной емкости и эффективности с помощью вестерн-блоттинга, электрофореза рРНК, а также оценивался уровень синтеза белка с помощью метода SUnSET. Уровень экспрессии мРНК транскрипционного фактора с-мус был определен методом ПЦР.

Проведенный анализ общего уровня синтеза белка в камбаловидной мышце крысы с помощью пуромидинового метода показал, что интенсивность синтеза белка достоверно ($p < 0,05$) снизилась после первых суток вывешивания на 53% от контрольного уровня. При этом опорная стимуляция не предотвращала это снижение. После 3 суток вывешивания наблюдалось снижение синтеза белка на 62% по сравнению с контрольным уровнем. Однако опорная стимуляция в течение 3-х суток частично предотвратила это снижение: - 41% ($p < 0,05$) относительно контроля. После 24-часовой гравитационной разгрузки содержание маркеров рибосомального биогенеза 18S и 28S рРНК оказалось достоверно сниженным на 57% ($p < 0,05$) относительно контрольного уровня. После 3-суточного антиортостатического вывешивания содержание 18s рРНК оказалось сниженным на 54% ($p < 0,05$), а 28s рРНК на 52% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Однако опорная стимуляция не оказала влияние на данные параметры. Аналогичным образом, опорная стимуляция на фоне функциональной разгрузки не смогла предотвратить снижение другого важного маркера трансляционной емкости – транскрипционного фактора с-мус.

В отличие от маркеров биогенеза рибосом, опорная стимуляция на фоне гравитационной

разгрузки частично предотвратила изменение фосфорилирования таких маркеров трансляционной эффективности, как GSK3 β и eEF2. После 1-суточного вывешивания фосфорилирование киназы GSK3 β снизилось на 51% ($p < 0,05$) относительно группы контрольных животных и увеличилось до уровня -20% ($p < 0,05$) на фоне опорной стимуляции. Спустя 3 суток вывешивания фосфорилирование GSK3 β снизилось на 28% ($p < 0,05$). При этом в группе с опорной стимуляцией значение данного параметра не отличалось от контрольной группы. После 3 суток разгрузки уровень фосфорилирования фактора элонгации трансляции eEF2 увеличился на 240% ($p < 0,05$) по сравнению с группой контрольных животных. В группе с опорной стимуляцией на фоне гравитационной разгрузки этот параметр снизился на 125% ($p < 0,05$) относительно уровня «чистого» вывешивания.

Таким образом, на ранних этапах гравитационной разгрузки ежедневная опорная стимуляция в течение 4 часов, по-видимому, не способна предотвратить снижение содержания 18S и 28S рРНК, а также уровня экспрессии с-мус. Частичное предотвращение снижения интенсивности белкового синтеза в условиях 3-суточной гравитационной разгрузки на фоне опорной стимуляции могло быть связано с увеличением активности таких маркеров эффективности трансляции, как GSK3 β и eEF2.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-29-01029.

ОЦЕНКА РИСКОВ РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИИ В УСЛОВИЯХ ИЗОЛЯЦИИ ПО ДИНАМИКЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙРОГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И СОСТАВА ТЕЛА

Чистоходова С.А.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Исследования в условиях изоляции в гермообъектах являются распространенным способом моделирования влияния на организм человека факторов космического полета, таких, как относительная социальная изоляция, однообразие предметного и социального окружения, монотонность деятельности, измененный состав атмосферы и гиподинамия. Многочисленные эксперименты с длительной изоляцией (продолжительностью до 520 суток) выявили значимые изменения обмена веществ, состояния жидкостных сред, состава тела и их нейрогормональной регуляции, однако все они проводились с использованием средств профилактики неблагоприятных воздействий на состояние здоровья и работоспособность участников, что затрудняет проводить качественную оценку влияния отмечаемых изменений на степень риска развития преморбидных и патологических расстройств, а поэтому – на ранжирование приоритетности профилактических задач. В решении таких задач существенную помощь оказывают исследования без использования средств профилактики, пусть и кратковременные, в частности, эксперимент «СИРИУС-17».

В этих исследованиях приняли участие здоровые испытуемые-добровольцы в возрасте $34,3 \pm 2,2$ года – международный смешанный экипаж 17-суточной изоляции в гермообъектах (3 мужчины и 3 женщины). Протокол эксперимента был утвержден комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ - ИМБП РАН, все обследуемые дали письменное информированное согласие на участие в исследованиях.

Ранее полученные результаты эксперимента «СИРИУС-17» свидетельствуют об умеренной выраженности стресс-реакции в период изоляции (ПИ), которая адекватно преодолевалась организмом, и о высокой адаптируемости членов экипажа (Журавлева Т.В.,

2017; Журавлева Т.В. и др. 2018). При этом в условиях кратковременной изоляции были выявлены изменения жидкостных сред, состава тела и метаболических показателей, указывающие на развитие гиповолемии и гипогидратации организма, сопровождаемые активацией стероидогенеза в коре надпочечников, повышением ароматизации андрогенов в эстрогены у мужчин и снижением активности тиреоидной системы при сохранении абсолютных и удельных энерготрат в состоянии покоя (Чистоходова С.А., 2017; Чистоходова С.А. и др., 2019). Были также отмечены достоверные гендерные различия в антропометрических параметрах и большинстве абсолютных показателей жидкостных сред, в удельных энерготратах в состоянии покоя и в соотношении активной клеточной массы к межклеточному веществу.

В этой связи в настоящей работе 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.

Основной целью работы являлась оценка рисков развития патологии в условиях изоляции по динамике показателей нейрогормональной регуляции обмена веществ и состава тела.

В период привычной двигательной активности, режима труда и отдыха (-7 сутки, фон), на 7-е и 14-е сутки ПИ, на 2-е и 7-е сутки периода восстановления (ПВ) осуществляли взятие венозной крови для определения биохимических и гормональных показателей – концентрации в крови осмотически-активных веществ, Na^+ , K^+ , Ca^{++} , глюкозы и холестерина, тиреоидных, фолликулостимулирующего (ФСГ), лютеинизирующего (ЛГ) и паратиреоидного (ПТГ) гормонов, пролактина, кортизола, альдостерона, тестостерона и эстрадиола, проводили регистрацию антропометрических и биоимпедансометрических параметров для определения жировой (ЖМТ), безжировой и сухой массы тела, активной клеточной массы, межклеточного вещества, общего объема воды, объемов клеточной (КЖ), внеклеточной (ВКЖ) жидкостей и уровня основного обмена. Для нивелирования гендерных различий полученные первичные экспериментальные данные переводили в %% относительно фоновых значений и затем проводили множественный корреляционный анализ с помощью статистического пакета прикладных программ “Statistica for Windows”, v.7,0 и SPSS, v.12,0 (США) сформированного массива, в котором в качестве зависимой переменной использовали уровень двигательной активности, ранжированный по пятибалльной шкале: привычный режим (фон) 5, ПИ – 2, 1; ПВ – 3, 4 баллов, соответственно периодам обследований и взятия проб крови. Из массива переменных были исключены показатели концентрации ФСГ и ЛГ в связи с их выраженной взаимосвязью с фазами менструального цикла у женщин репродуктивного возраста, оценка которых не входила в задачи настоящих исследований.

В результате анализа было получено уравнение множественной регрессии, в которое вошли 17 независимых переменных (с достоверным вкладом 9 из них), обусловивших значение коэффициента множественной корреляции, $R=0,949$, коэффициента детерминации, $R^2=0,900$ при уровне достоверности $p<0,0004$ и средней ошибке оценки 0,677. Проверка взаимосвязи выбранных переменных с ранжированным уровнем двигательной активности методами дискриминантного анализа выявила прогностическую точность оценки 96,7%.

Интерпретация данных множественного корреляционного анализа показывает, что более чем в 90% случаев наблюдений снижение двигательной активности в ПИ сопровождалось уменьшением концентрации в сыворотке крови K^+ , тестостерона и объема КЖ, и повышением концентраций пролактина, ПТГ, эстрадиола, альдостерона, кортизола, свободного тироксина, Na^+ , Ca^{++} , глюкозы и холестерина, осмоляльности сыворотки крови, объема ВКЖ и ЖМТ.

Полученные результаты свидетельствуют, что, независимо от пола обследуемых, в

условиях изоляции повышается риск развития ожирения, в результате гиповолемии и компенсаторного гиперальдостеронизма может развиваться гипокалиемия, увеличивающая риск нарушений возбудимости миокарда и аритмий сердца, повышение концентраций Ca^{++} и ПТГ увеличивает риски остеопении и уролитиаза (вместе с повышенными концентрацией Na^+ и осмоляльностью сыворотки крови), рост ЖМТ, повышение концентраций глюкозы и контринсулярных гормонов может вызвать снижение толерантности к углеводам, развитие инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа, высокие ЖМТ и концентрация холестерина повышают риски развития атеросклероза сосудов и артериальной гипертензии (Lavin N., 2009). У мужчин комплекс выявленных изменений концентраций в крови половых стероидов и ЖМТ повышает риски нарушения потенции, фертильности и раннего климакса, а у женщин – увеличивает риски развития яичниковой недостаточности, нарушений овуляции и других изменений, вызванных гиперэстрогенией и гиперкортизолемией (Lavin N., 2009; Дедов И.И., Мельниченко Г. А., 2013).

Результаты проведенных исследований и оценка возможных рисков не могут быть равноценными установлению диагноза, но должны учитываться при отборе кандидатов в исследования с изоляцией, особенно, в случаях с уже имеющимися даже слабо выраженными единичными предикторами и, тем более, симптомами рассмотренных нозологий.

Важно указать, что выявленные риски развития патологии типичны не только для изоляции, но и для современного малоподвижного образа жизни, имеют факультативный вероятностный прогностический характер, однако при увеличении сроков изоляции без использования средств профилактики их степень и значимость могут существенно возрасти.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ КАЛЬЦИНЕЙРИН/NFATC1 ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ОПОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ ПОСЛЕ ПЕРВЫХ СУТОК ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ

Шарло К.А., Парамонова И.И., Тыганов С.А.

Научный руководитель: **д.б.н., профессор Шенкман Б.С.**

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Широко известно, что функциональная разгрузка приводит к трансформации мышечных волокон медленного типа в «быстрые» волокна и соответствующему изменению относительных уровней экспрессии различных изоформ тяжёлых цепей миозина (ТЦМ) (Templeton et al., 1988). Также при моделировании гравитационной разгрузки в земных условиях (модели «сухой» иммерсии и вывешивания) было обнаружено практически полное отсутствие нервно-мышечной активности (ЭМГ) в камбаловидных мышцах (Kozlovskaya et al, 2019). Было показано, что восстановление опорной афферентации путём механической стимуляции опорных зон стопы (МСО) на протяжении космического полёта у человека и при моделировании гравитационной разгрузки в земных условиях ведёт к увеличению уровня нервно-мышечной активности мышц нижних конечностей (Grigoriev et al., 2004).

Поскольку функционирование сигнального пути кальцинейрин/NFATc1, регулирующего экспрессию медленной изоформы ТЦМ (ТЦМ1(β)), зависит от уровня активности скелетной мышцы, мы предположили, что механическая опорная стимуляция может привести к активации сигнального пути кальцинейрин/NFATc1 за счёт увеличения уровня нервно-мышечной активности камбаловидной мышцы, что может предотвратить сдвиг миозинового фенотипа в «быструю» сторону. Таким образом, целью нашей работы стало исследование механизмов, регулирующих экспрессию ТЦМ1(β), при механической опорной стимуляции в условиях моделируемой гравитационной разгрузки.

Самцы крыс Вистар были разделены на три группы по 8 животных в каждой: две группы виварного контроля (С), группа, подвергнутые разгрузке задних конечностей на протяжении 1

дня (IHS), и группа разгрузки, сопровождавшейся опорной стимуляцией IHS+МСО. Животные из группы опорной стимуляции в течение 4-х часов в день получали опорную стимуляцию стоп по схеме, симулирующей нормальную ходьбу животного (давление на стопу величиной 104 мм рт. ст. с частотой 2 Гц и продолжительностью 250 мс в течение 10 минут с последующим 20-минутным периодом отдыха).

Данные, полученные в ходе выполнения работы, хорошо согласуются с последними исследованиями, показывающими быстрое падение экспрессии мРНК ТЦМ I(β) уже после первых суток моделируемой гравитационной разгрузки, сохранявшееся также и после третьих суток (Lomonosova et al, 2016). Снижение уровня экспрессии мРНК ТЦМ I(β) сопровождалось снижением содержания NFATc1 в ядерной фракции камбаловидных мышц после первых суток вывешивания и активацией киназы гликогенсинтазы GSK-3 β , суппрессирующей сигнальный каскад кальциейрин/NFATc1. В ходе исследования мы обнаружили поддержание содержания NFATc1 в ядерной фракции камбаловидных мышц крыс, подвергнутых опорной стимуляции наряду с разгрузкой, при этом данный эффект сопровождался частичным предотвращением снижения экспрессии мРНК ТЦМ I(β) и предотвращением дефосфорилирования GSK-3 β .

Таким образом, нервно-мышечная активность, связанная с опорной афферентацией, подавляет механизмы, приводящие к выходу NFATc1 из ядра, и обеспечивает экспрессию ТЦМ I(β) в камбаловидной мышце.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-29-01029 офи-м и Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ ИМБП РАН

ТРЕБОВАНИЯ К РАЗРАБОТКЕ РАЦИОНОВ ДЛЯ ПИТАНИЯ КОСМОНАВТОВ

Шеф К.А.

Научный руководитель: **Орлов О.И., академик РАН**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва.

В систему обеспечения питанием входят: рационы питания; контейнеры для размещения продуктов рационов питания; электроподогреватель упаковок с продуктами; средства приема пищи (ложки, вилки, ножницы, приспособление для вскрытия туб); салфетки для обработки столовых приборов; пакеты для сбора пищевых отходов.

Оценка адекватности разработанного для конкретного космического аппарата рациона питания потребностям организма человека осуществляется в лабораторных исследованиях с использованием химических методов и в модельных экспериментах с использованием клинико-физиологических методов.

При химическом методе оценки, среднюю пробу рациона питания анализируют на содержание всех пищевых ингредиентов: белков, жиров, жирных кислот, углеводов, минеральных элементов, витаминов. Полученные данные должны соответствовать нормам содержания этих компонентов и их соотношением в рационах питания для контингентов близких к профессиональной деятельности космонавтов.

Система обеспечения питанием в космических аппаратах должна хорошо сочетаться с системами водообеспечения, обеспечивая газового состава атмосферы, системой утилизации отходов; иметь небольшую массу и объем; потреблять минимальное количество электроэнергии; адекватно обеспечивать энергетические и пластические потребности организма космонавтов в условиях космического полета.

СТОХАСТИЧЕСКАЯ ГАЛЬВАНИЧЕСКАЯ ВЕСТИБУЛЯРНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ КАК МЕТОД КОРРЕКЦИИ ВЕРТИКАЛЬНОЙ СТОЙКИ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ В УСЛОВИЯХ БЕЗОПОРНОСТИ

Шишкин Н.В., Амирова Л.Е., Ермаков И.Ю.

Научный руководитель: Томиловская Е.С., к.б.н.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Модель «сухой» иммерсии (СИ) является оптимальной методикой для воспроизведения условий безопорности, в которых находятся космонавты в ходе космического полёта. Будучи полностью погруженным в жидкую среду, тело испытуемого подвергается равномерному воздействию выталкивающей силы, что воспринимается центральной нервной системой как отсутствие опоры.

В последние годы широко изучается вопрос о влиянии подпороговой электрической вестибулярной стимуляции на позную устойчивость, что особенно важно при дефиците соматосенсорной информации вследствие различных воздействий и заболеваний – длительной иммобилизации при тяжёлых травмах опорно-двигательного аппарата, болезни Паркинсона, других нейродегенеративных заболеваниях. Также электрическая стимуляция показала свою эффективность в повышении адаптации различных систем организма к изменяющимся условиям среды у здоровых людей: моторной – улучшение равновесия, сердечно-сосудистой – регуляция пульса, зрительной – снижение скорости обработки информации. Простота данного метода открывает возможности его применения для стабилизации вертикальной стойки космонавтов в период реабилитации после космических полетов. Целью нашего исследования явилось изучение влияния вестибулярной билатеральной стохастической стимуляции на характеристики позной устойчивости в нормальных условиях и после 5-суточного пребывания в условиях опорной разгрузки, моделируемой с помощью СИ.

В исследовании приняло участие 10 здоровых добровольцев. Средний возраст группы составил $30,9 \pm 6,4$ года, средний вес – $76,4 \pm 5,4$ кг, средний рост – $174,7 \pm 4,4$ см.

Исследование проводилось 3 раза до и непосредственно после (через 20-30 минут) завершения 5-суточной СИ. На кожу в проекции правого и левого сосцевидных отростков височной кости испытуемых накладывали электроды, подключённые к стимулятору «Опора» (ГУАП, Санкт-Петербург). Интенсивность стимуляции выбиралась случайным образом в промежутке от 0.1 до 0.5 мА с шагом 0.1 мА, частота изменялась по случайному алгоритму в диапазоне от 2 до 30 Гц. Испытуемые вставали на пластину вспененного полиуретана ($50\text{см} \times 50\text{см} \times 20\text{см}$), под которой находилась стабиллоплатформа (Стабилан-01-2) и стояли в европейской стойке (носки разведены, пятки не соприкасаются) с закрытыми глазами. В ходе исследования анализировали среднюю скорость перемещения центра давления во фронтальной плоскости и разброс его колебаний.

Для анализа движений тела на голову, грудь, поясницу, правое и левое колено устанавливали датчики APD Emeralds, измеряющие ускорения и угловые скорости во фронтальной плоскости.

Во время каждого исследования проводили 6 сессий стимуляции по 40 с. с амплитудой 0,1-0,5 мА. Каждая сессия была разделена на 2 периода по 20 с.: первый, базовый, в течение которого стимуляцию не проводили, и второй – стимуляционный. В каждом исследовании присутствовала ложная стимуляция, амплитуда которой равнялась нулю.

При обработке результатов использовали методику, описанную в R.Goel (2015):

$$CF_1 = \frac{12}{\sum_{n=1}^{12} (\text{stim}/\text{base})_1 / (\text{stim}/\text{base})_n \text{ при } 0 \text{ мА} + \dots + \sum_{n=1}^{12} (\text{stim}/\text{base})_n / (\text{stim}/\text{base})_n \text{ при } 0 \text{ мА}} / 2, \%$$

где CF_1 – стоимостная функция, характеризующая эффективность данной амплитуды

стимуляции ($I=0,1-0,5$ мА) в изменении качества вертикальной стойки (стабилизация при $СФ<100\%$, дестабилизация при $СФ>100\%$); $stim$ – среднее значение исследуемого показателя (угловой скорости или ускорения одного из датчиков или показателей со стабиллоплатформы) за 20 сек. стимуляционного периода; $base$ – среднее значение за 20 сек. базового периода; n – индекс, соответствующий измеряемому показателю; $(stim/base)_{при 0 мА}$ – отношение $stim/base$ -ого показателя при ложной стимуляции (всего 12 показателей).

Анализ данных не выявил зависимости между амплитудой стимуляции и стабилизацией стойки. Группа испытуемых разделилась на 2 части: в 1^й в фоновых исследованиях присутствовали индивидуальные для каждого испытуемого амплитуды стимуляции, стабилизовавшие стойку (6 чел.), во 2^й стимуляция дестабилизировала стойку при всех амплитудах стимуляции (4 чел.). В 1^й группе в каждом эксперименте были определены индивидуальные амплитуды стимуляции, имевшие наибольший стабилизирующий эффект на стойку. Во 2^й группе были определены индивидуальные амплитуды, имевшие наименьший дестабилизирующий эффект на вертикальную стойку (амплитуды с наименьшим значением $СФ$). И в 1^й и во 2^й группе данные индивидуальные амплитуды стимуляции оказывали стабилизирующее воздействие на вертикальную стойку после завершения СИ.

Данные результаты позволяют говорить о выраженном положительном влиянии вестибулярной стохастической стимуляции на вертикальную устойчивость человека непосредственно после завершения СИ, то есть непосредственно по возвращении в условия стандартного сенсорного окружения после продолжительной опорной разгрузки. Это согласуется с результатами предыдущих исследований (Шишкин, 2016).

ВЛИЯНИЕ 21-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ БЕЗ СРЕДСТВ ПРОФИЛАКТИКИ НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ СИГНАЛЬНЫХ ОБРАЗ-РАСПОЗНАЮЩИХ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРОВ ЧЕЛОВЕКА

Шульгина С.М., Калинин С.А., Орлова К.Д.
Научный руководитель: **Пonomарёв С.А.**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

В настоящее время в области космической биологии и медицины преобладает системный подход к анализу влияния факторов космического полёта (КП) на живой организм. Комплекс факторов КП, как показано, оказывает негативное воздействие на все физиологические функции организма человека, в том числе, на его способность осуществлять иммунологический контроль эндо - и экзогенных патогенов. В данном контексте важную роль приобретает изучение изменения иммунологического статуса человека как в течение реального КП, так и в условиях наземных стендовых экспериментов таких как «сухая» иммерсия, которая позволяет моделировать опорную разгрузку, гиподинамию и перераспределение жидкостей в организме человека.

В данном исследовании 21-суточная «сухая» иммерсия без средств профилактики использовалась с целью изучения влияния моделируемых факторов орбитального КП на характер и степень выраженности изменений в системе врождённого иммунитета здоровых добровольцев - испытуемых. Нарушения в работе врождённого иммунитета способны приводить к ряду серьёзных патологий, включающих в себя аутоиммунные и аллергические заболевания, а также иммунодефицитные состояния, приводящие к повышенному риску инфекционных и онкологических заболеваний.

Нас в данном случае больше интересовало изменение в ходе пребывания в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии способности клеток врождённого иммунитета человека

реагировать на появление потенциально опасных антигенов, что ассоциировано с их способностью нести на своей поверхности так называемые образ-распознающие рецепторы, в том числе, семейство сигнальных Toll-like рецепторов (TLR), нацеленных на распознавание консервативных антигенов микроорганизмов (бактерий, вирусов, грибов). В настоящее время известно 13 типов TLR млекопитающих, однако нас в данном случае больше интересовали рецепторы TLR 3, 8, 9 с внутриклеточной локализацией, а также TLR 1, 2, 4, 5, 6, локализованные на клеточной поверхности.

Нами было проанализировано изменение содержания моноцитов и гранулоцитов периферической крови, несущих данные типы рецепторов, в ходе 21-суточной «сухой» иммерсии и периода восстановления. Кроме того, было рассмотрено влияние 21-суточной «сухой» иммерсии на способность моноцитов к активации в ходе 24-часовой стимуляции соответствующими лигандами TLR.

Полученные результаты указывают, что 21-суточная «сухая» иммерсия без средств профилактики оказывает влияние на клеточные показатели системы врожденного иммунитета человека. Показаны различные изменения в относительном и абсолютном содержании моноцитов и гранулоцитов периферической крови, экспрессирующих TLRs. Выявлено достоверное уменьшение количества моноцитов, экспрессирующих большинство исследуемых TLRs с поверхностной и внутриклеточной локализацией в ответ на стимуляцию соответствующими лигандами в культуре *in vitro*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ№ 18-75-10086

ВЛИЯНИЕ ЭФФЕКТОВ МОДЕЛИРОВАННОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ НА СЕКРЕТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРАЙМИРОВАННЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА РАННИХ СРОКАХ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Якубец Д.А., Ратушный А.Ю.
Научный руководитель: **Буравкова Л.Б.**
ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва

Во время космического полета в плазме крови космонавтов обнаружено повышение провоспалительных цитокинов, таких, как IFN γ , IL-1 β , TNF α , IL-8 (Thiel et al., 2017). Наряду с изменяющейся гемодинамикой и гравитационными условиями, провоспалительная активация может влиять на функциональное состояние эндотелиальных клеток, выстилающих стенку сосудов.

Мультipotентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК), занимающие периваскулярную нишу, поддерживают функционирование сосудистого эндотелия как через прямые контакты, так и посредством паракринных медиаторов. Наряду с эндотелием, доказана механочувствительность этих клеток и способность менять свое функциональное состояние в ответ на моделирование эффектов микрогравитации. Эти адаптационные изменения затрагивают, в том числе, и изменение секреции биологически активных веществ. Однако остается недостаточно освещенным вопрос о том, как микрогравитация может модулировать паракринную активность праймированных провоспалительными факторами МСК. Целью данной работы было изучение активности МСК в условиях провоспалительной активации на ранних сроках моделирования микрогравитации (до 48 часов).

В данном исследовании была использована первичная клеточная культура МСК,

выделенных из жировой ткани человека. Для моделирования эффектов микрогравитации был использован прибор «Desktop RPM» (RPM – Random Position Machine). Для изучения динамики происходящих изменений экспозиции на RPM составляли 6 ч, 24 ч и 48 ч. Контрольные клетки культивировали те же сроки в статическом состоянии на неподвижной поверхности. Для изучения вклада постоянного перемешивания среды использовался шейкер. Для индукции провоспалительной активации клетки инкубировали в среде, содержащей TNF α с концентрацией 2 нг/мл в течение всей экспозиции.

При экспозиции на RPM нативных МСК была обнаружена разнонаправленная модификация экспрессии генов цитокинов *IL6* и *IL8* после 24-часовой экспозиции, однако к 48 часам уровни экспрессии генов обоих цитокинов сравнялись с исходными значениями. К 48 часам увеличивалась экспрессия генов *MCP1* (*CCL2*), *VEGF α* и *IGF1*. В пределах изучаемого срока значительного изменения секреции этих медиаторов относительно статического контроля не выявлено.

В условиях провоспалительной активации МСК непрерывно, вплоть до 48 часов экспозиции, увеличивался уровень транскрипции генов *IL6*, *IL8*, *MCP1* и *IGF1*, а также концентрация в кондиционированной среде цитокинов IL-6, IL-8 и хемокина MCP-1.

Экспозиция на RPM активированных МСК приводила к снижению эффекта провоспалительной активации, что выражалось в уменьшении экспрессии генов *IL6* к 48 часам экспозиции, *IL8* через 6 часов и к 48 часам экспозиции (после 24ч моделирования микрогравитации наблюдалось повышение активности данного гена) и *MCP1* относительно активированных TNF α клеток в статическом контроле в течение всего времени экспозиции. Обнаружено постепенное снижение транскрипционной активности гена и *TGF β* к 48 часам экспозиции, а также повышение активности гена *IGF1* к 24 часам и снижение его активности через 48 часов экспозиции. Значимых различий по концентрации в кондиционированной среде соответствующих медиаторов от статического контроля не выявлено. Сочетанное действие моделированной микрогравитации и провоспалительной активации не оказало влияния на экспрессию гена и продукцию фактора роста эндотелия сосудов VEGF α .

Таким образом, на ранних этапах моделирования эффектов микрогравитации активируются механизмы, модулирующие паракринную активность МСК. Однако, в течение 48 часов экспозиции значимые изменения относительно статического контроля наблюдаются только в отношении транскрипционной активности генов некоторых паракринных медиаторов, таких, как *IL6*, *IL8*, *MCP1* и *IGF1*. Несмотря на то, что экспозиция на RPM и праймирование клеток TNF α могут вызывать сходные реакции, в частности, активацию транскрипции генов и синтез провоспалительных цитокинов, сочетанное воздействие этих двух факторов приводило к снижению выраженности провоспалительной активации, что подтверждалось подавлением экспрессии генов *IL6*, *IL8*, *MCP1*, и тенденцией к снижению концентрации соответствующих цитокинов в кондиционированной среде.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-15-10407 и программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ - ИМБП РАН, тема 65.3.

ISBN 978-5-902119-57-9



9 785902 119579