

# **АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА**

## **AVIAKOSMICHESKAYA I EKOLOGICHESKAYA MEDITSINA**

НАУЧНЫЙ ПЕРИОДИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ  
SCIENTIFIC PERIODIC JOURNAL

### **ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР**

Ушаков И.Б., д.м.н., профессор, академик РАН

### **РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

Ардашев В.Н., д.м.н., профессор  
Баранов В.М., д.м.н., профессор, академик РАН  
Буравкова Л.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН  
Бухтияров И.В., д.м.н., профессор  
Виноградова О.Л., д.м.н., профессор  
Давыдов Б.И., д.м.н., профессор  
Денисов С.Л., к.м.н. – заведующий издательством  
Иванов И.В., д.м.н., профессор  
Ильин Е.А., д.м.н., профессор – заместитель главного редактора  
Котов О.В., к.м.н.  
Меденков А.А., к.психол.н., д.м.н., профессор  
Носков В.Б., д.м.н.  
Орлов О.И., д.м.н., член-корреспондент РАН  
Синяк Ю.Е., к.х.н., д.т.н., профессор  
Усов В.М., д.м.н., профессор  
Хоменко М.Н., д.м.н., профессор  
Шипов А.А., д.б.н. – ответственный секретарь  
Родионова Н.В., д.б.н., профессор (Украина)  
Mukai Ch., M.D., Ph.D. (Japan)  
Sutton J., M.D., Ph.D. (USA)  
Suchet L.G., Ph.D. (France)

### **РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

Григорьев А.И., д.м.н., профессор, академик РАН – **председатель**  
Благинин А.А., д.м.н., д.психол.н., профессор  
Гальченко В.Ф., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН  
Жданько И.М., д.м.н.  
Козловская И.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН  
Котовская А.Р., д.м.н., профессор  
Никольский Е.Е., д.м.н., профессор, академик РАН  
Островский М.А., д.б.н., профессор, академик РАН  
Розанов А.Ю., д.г.-м.н., профессор, академик РАН  
Рубин А.Б., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН  
Залуцкий И.В., д.б.н., профессор, член-корреспондент НАНБ (Беларусь)  
Крышталь О.А., д.б.н., профессор, академик НАНУ (Украина)  
Макашев Е.К., д.б.н., профессор, член-корреспондент АН РК (Казахстан)  
Gerzer R., M.D., Ph.D., professor (Germany)  
Gharib C., Ph.D., professor (France)  
Yinghui Li, M.D., Ph.D., professor (China)

**2015 Т. 49 № 1**

## **ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1967 ГОДУ**

С 1967 по 1974 г. назывался «Космическая биология и медицина»,  
с 1974 по 1991 г. – «Космическая биология и авиакосмическая медицина»

**ВХОДИТ В ПЕРЕЧЕНЬ ВЕДУЩИХ РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ЖУРНАЛОВ  
ВЫСШЕЙ АТТЕСТАЦИОННОЙ КОМИССИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

## **УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Государственный научный центр Российской Федерации –  
Институт медико-биологических проблем  
Российской академии наук»

**Журнал зарегистрирован в Государственном комитете РФ по печати 28.02.1995,  
рег. № 01072, лицензия ИД № 05859 от 18.09.2001 г.**

© Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, 2014  
© State Research Center RF – Institute of Biomedical Problems Russian Academy of Sciences, 2014

Все права зарегистрированы. Никакая часть журнала не может быть воспроизведена  
каким-либо способом без письменного разрешения Издателя  
All rights reserved. Articles and information contained in this publication may not be reproduced  
in any form or translated without the written of the Editorial Board

**Метаданные статей, опубликованные в журнале, доступны в базе данных РИНЦ  
([www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru)) и на сайте журнала [journal.imbp.ru](http://journal.imbp.ru)**

Выпускающий редактор О.Г. Сорокин  
Редакторы: С.О. Николаев, С.М. Плаксина  
Корректор М.Е. Козлова  
Перевод Л.М. Смирновой  
Компьютерная верстка Е.В. Рзаевой

Адрес: 123007, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76а, метро «Полежаевская»,  
Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН  
(редакция) тел.: 8 (499) 195-68-74, факс: 8 (499) 195-22-53, эл. почта: [library@imbp.ru](mailto:library@imbp.ru)  
(отв. секретарь) тел.: 8 (499) 195-20-93, эл. почта: [shipov3838@mail.ru](mailto:shipov3838@mail.ru)

Сдано в набор 02.02.2015.  
Подписано в печать 26.02.2015.  
Формат 60 × 84 1/8.  
Гарнитура Tahoma.  
Печать офсетная.  
Усл. печ. л. 8,84.  
Тираж 250 экз.  
Заказ № 41.

Отпечатано в типографии ООО ИПЦ «Научная книга».  
Адрес: 394030, г. Воронеж, Московский пр-т, д. 116.

## Содержание

## Contents

### Экспериментальные и общетеоретические исследования

### Experimental and Theoretical Investigations

Яснецов В.В., Карсанова С.К., Яснецов Вик.В.  
Новый подход к изысканию вестибулопротекто-  
ров

**5** Yasnetsov V.V., Karsanova S.K., Yasnetsov Vic.V.  
A new approach to the search for vestibuloprotectors

Котовская А.Р., Фомина Г.А., Сальников А.В.  
Нормальные значения основных показателей  
состояния вен нижних конечностей у российских  
космонавтов перед полетом и у здоровых нетре-  
нированных лиц

**13** Kotovskaya A.R., Fomina G.A., Salnikov A.V.  
Normal values of the major parameters of lower  
limb veins in Russian cosmonauts prior to flight and  
in healthy untrained subjects

Носков В.Б., Ничипорук И.А., Васильева Г.Ю.,  
Смирнов Ю.И. Состав тела человека при дли-  
тельном пребывании в невесомости

**19** Noskov V.B., Nichiporuk I.A., Vasilieva G.Yu.,  
Smirnov Yu.I. Human body composition during ex-  
tended stay in microgravity

Пастушкова Л.Х., Фомина Е.В., Лысова Н.Ю.,  
Кононихин А.С., Тийс Е.С., Ларина И.М. Белковый  
состав мочи здоровых лиц после выполнения  
локомоторной нагрузки переменной мощности

**26** Pastushkova L.Kh., Fomina E.V., Lysova N.Yu.,  
Kononikhin A.S., Tiys E.S., Larina I.M. Urine protein  
profile in healthy people following locomotor loading  
with changing intensity

Еремеев А.А., Чеботарев М.А., Кузнецов М.В.,  
Балтин М.Э., Шенкман Б.С. Нейромоторный ап-  
парат в условиях гравитационной разгрузки:  
центральные и периферические эффекты

**32** Eremeev A.A., Chebotarev M.A., Kuznetsov M.V.,  
Baltin M.E., Shenkman B.S. Neuromotor apparatus  
in the condition of gravitational unloading: central  
and peripheral effects

Дорожкина О.В., Иванов А.А. Цитогенетиче-  
ские исследования клеток костного мозга мышей,  
экспонированных на биоспутнике «Бион-М1»

**37** Dorozhkina O.V., Ivanov A.A. Cytogenetic  
investigations of bone marrow cells from mice  
exposed onboard biosatellite «Bion-M1»

Васильева И.Н., Беспалов В.Г., Зинкин В.Н.,  
Подгорная О.И. Секвенирование низкомолеку-  
лярной ДНК плазмы крови облученных крыс

**43** Vasilieva I.N., Bepalov V.G., Zinkin V.N.,  
Podgornaya O.I. Sequencing of low-molecular-  
weight DNA in blood plasma of irradiated rats

Ворожцова С.В., Булынина Т.М., Молоканов А.Г.,  
Иванов А.А. Цитогенетические повреждения  
эпителия роговицы мышей при воздействии ио-  
низирующих излучений с различными уровнями  
линейной передачи энергии in vivo

**50** Vorozhtsova S.V., Bulynina T.M., Molokanov A.G.,  
Ivanov A.A. Cytogenetic damage to the corneal  
epithelium of mice due to the in vivo exposure  
to ionizing radiation with different levels of linear  
energy transfer

Дробышев С.Г., Бенгин В.В. Анализ влияния  
положения и ориентации космонавта на борту  
Международной космической станции на уровни  
облучения органов его тела при прохождении  
области Южно-Атлантической аномалии

**57** Drobyshev S.G., Benghin V.V. Analysis of the  
importance of cosmonaut's location and orientation  
onboard the International space station to levels of  
visceral irradiation during traverse of the region of  
the South Atlantic Anomaly

Войцековская С.А., Астафурова Т.П.,  
Верхотурова Г.С., Постовалова В.М. Действие  
гипобарической гипоксии на активность деги-  
дрогеназ дыхательного и фотосинтетического  
метаболизма в проростках ячменя

64

Voytsekovskaya S.A., Astafurova T.P.,  
Verkhoturova G.S., Postovalova V.M. Effect of  
hypobaric hypoxia on the dehydrogenase activities  
of respiration and photosynthetic metabolism in  
barley seedlings

### Информация

### Information

Поляков А.В., Богомолов В.В. Перспективы  
развития средств оказания неотложной ме-  
дицинской помощи на российском сегменте  
Международной космической станции

70

Polyakov A.V., Bogomolov V.V. The perspective  
of buildng-up the Emergency medical aid resources  
on the Russian segment of the International space  
station

### Правила для авторов 73

### Instructions for authors

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ОБЩЕТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 611.08:612.82:599.3/.8+615.21:615.216.85

### НОВЫЙ ПОДХОД К ИЗЫСКАНИЮ ВЕСТИБУЛОПРОТЕКТОРОВ

Яснецов В.В., Карсанова С.К., Яснецов Вик.В.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва  
E-mail: vvy@lsn.ru

Представлены данные экспериментально-клинических исследований противоукачивающих свойств как новых соединений, так и лекарственных средств профилактики болезни движения (прометазин, икарон-1 и др.). Обнаружено, что производное 3-гидроксипиридина (3-ГП) отечественный лекарственный препарат мексидол обладает противоукачивающими свойствами у человека и животных и, в отличие от эталонного вестибулопротектора скополамина, практически не вызывает побочных эффектов. В основе механизма действия мексидола лежат ионные механизмы с вовлечением глутамат- и ГАМК-ергических компонентов. Выявлено, что 9 новых производных 3-ГП дают противоукачивающий эффект у крыс, причем по выраженности действия 3 из них превосходят как мексидол, так и препараты сравнения скополамин и прометазин. Установлено, что мелатонин оказывает выраженное вестибулопротекторное действие у крыс, превосходя прометазин и другое мелатонинергическое средство – антидепрессант агомелатин, а в реализацию его действия вовлечены мелатониновые  $MT_1$ -,  $MT_2$ - и  $ГАМК_A$ -рецепторы. Также показано, что комбинации мелатонина как с мексидолом, так и с прометaziном обладают выраженными вестибулопротекторными свойствами, а мелатонин усиливает эффект как мексидола, так и прометазина. Анализ собственных результатов и исследований других авторов позволяют прийти к заключению, что новый подход к изысканию эффективных вестибулопротекторов – их поиск среди новых производных 3-ГП и мелатонинергических веществ. При этом перспективными для этих целей являются как отдельные лекарственные средства, так и их комбинации.

Ключевые слова: болезнь движения, вестибулопротекторы, мелатонин, мексидол, прометазин, комбинации лекарственных средств.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 5–12.

Несмотря на достижения современной медицины, болезнью движения (БД), или укачиванием, известной еще в глубокой древности, страдает огромное количество людей, что связано с появлением новых видов наземного транспорта, интенсивным развитием мореплавания и авиации, освоением космического пространства и др. [1–7]. Так,

например, при использовании наземных транспортных средств (автомашины, автобусы и др.) среди взрослых укачиваются 26 %, у детей в возрасте до 12 лет – 58 %, а в возрасте от 12 до 20 лет – 47 % [6, 8]; также более подвержены БД дети в возрасте от 2 до 12 лет и во время морского плавания [9]. Установлено, что женщины более подвержены БД, чем мужчины, что зависит от фазы менструального цикла [10]. Примерно 40–50 % космонавтов и около 70 % астронавтов страдают в той или иной степени космической формой БД [11–14]. Поэтому профилактика и лечение БД до сих пор остаются одной из важнейших проблем авиакосмической и морской медицины, а также для путешественников [3–6, 12, 15–17].

Очевидно, что для решения этой проблемы необходимо иметь исчерпывающее представление о механизмах, лежащих в основе возникновения и развития БД, однако до настоящего времени отсутствует даже общепринятая концепция патогенеза БД, в том числе и ее космической формы [3–6, 15, 18–22].

Фармакологический метод борьбы с укачиванием хотя и считается наиболее применимым, однако сегодня арсенал эффективных противоукачивающих средств (в том числе и их комбинаций), используемых у человека, довольно беден [13, 23–25]. Зачастую эти препараты (скополамин, D-амфетамин, прометазин и др.) действуют непродолжительно, оказывают слабое лечебное действие, вызывают разнообразные побочные эффекты и существенно снижают работоспособность человека-оператора [3–5, 23, 26–29]. Поэтому изыскание новых эффективных средств профилактики и лечения БД является своевременным и актуальным.

Перспективными в плане поиска новых веществ с вестибулопротекторной активностью являются новые производные 3-гидроксипиридина (3-ГП), впервые синтезированные Л.Д. Смирновым, В.И. Кузьминым и С.Я. Скачиловой. Так, например, было установлено, что ряд производных 3-ГП обладает антиоксидантными, мембранопротекторными, противогипоксическими, актопротекторными и другими фармакологическими свойствами [30–33].

В экспериментах на животных было показано, что из 16 испытанных 9 новых производных 3-ГП – СК-100, СК-117, СК-119, СК-132, СК-170, СК-171, ИБХФ-22 и ИБХФ-27 (100 мг/кг), ИБХФ-2 (30 мг/кг) – оказывают отчетливое противоукачивающее действие у крыс [31, 34–36]. При этом по выраженности действия этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол), СК-132, ИБХФ-2 и ИБХФ-27 превосходят такие препараты сравнения, как эталонные вестибулопротекторы скополамин и прометазин, а также антигипоксанта амтизол. Наличие вестибулопротекторной активности у ИБХФ-2 и мексидола подтверждено и в экспериментах на кошках, причем первый превосходил второй [35, 36].

Более того, в рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании установлено, что мексидол (прием внутрь в дозе 500–625 мг, примерно 7 мг/кг) оказывает заметное противоукачивающее действие у 65 % практически здоровых мужчин-добровольцев, сопоставимое с таковым эталонного вестибулопротектора скополамина (внутри в дозе 0,6 мг; защитный эффект у 61 % людей) [35, 36]. При этом мексидол действует несколько выраженнее, чем скополамин. Кроме того, мексидол, в отличие от скополамина, практически не вызывает побочные эффекты (лишь у 13 % лиц – небольшая сонливость). Напротив, скополамин у большинства обследуемых (у 87 %) вызывает различные побочные эффекты, в том числе сухость во рту, сонливость и брадикардию.

В опытах на кошках и кроликах с помощью микроэлектродной техники и метода микроионофореза/пневмомикроинъекции физиологически активных веществ показано, что мексидол оказывает прямое влияние (главным образом угнетающее) на большую часть (61–71 %) нейронов разных структур головного мозга, в том числе медиального вестибулярного ядра (МВЯ – центральное звено вестибуловегетативных рефлексов), заднего вентрального ядра таламуса, гиппокампа, неокортекса и мозжечка, которое на нейронном уровне реализуется путем ингибирования ионных токов через каналы NMDA-рецепторного комплекса (почти у 80 % нейронов) и через ГАМК<sub>A</sub>-бензодиазепин-рецепторный комплекс (почти у 60 % клеток) [31, 36, 37]. У 42 % нейронов МВЯ кошек препарат ослаблял вызванные ответы на адекватное раздражение вестибулярного аппарата. На переживающих срезах продолговатого мозга крысят установлено, что в нейронах МВЯ мексидол (в концентрации 5 мМ) значимо угнетал возбуждающий постсинаптический ток на  $96 \pm 2$  %, что существенно ослаблялось специфическим неконкурентным антагонистом NMDA-рецепторного комплекса МК-801 [38]. Следовательно, в основе механизма противоукачивающего действия мексидола лежат ионные механизмы с вовлечением глутамат- и ГАМК-ергического компонентов, в первую

очередь ингибирование ионных токов через каналы NMDA-рецепторного комплекса.

За последние 20 лет в эксперименте были испытаны многие вещества. Так, например, было обнаружено, что новый отечественный препарат нооглютил обладает выраженными вестибулопротекторными свойствами у крыс; более того, препарат в значительной степени ослабляет эффекты, вызванные укачиванием у кошек: активацию фоновой импульсации нервных клеток I соматосенсорной зоны коры большого мозга и угнетение вызванных ответов этих нейронов на соматическую стимуляцию [34, 36]. Также нооглютил (микроионофорез) оказал прямое влияние на большинство (89 %) нейронов МВЯ кошек, в основном их возбуждая; препарат ослаблял вызванные ответы у 64 % клеток МВЯ, чувствительных к нему. Это может лежать в основе механизма противоукачивающего действия нооглютила, причем в этом участвуют АМРА-рецепторы.

Согласно данным авторов работы [39], у крыс после укачивания наблюдалось прекращение приема пищи и отмечалось извращенное повышенное поедание непищевых субстанций, в частности каолина; при этом китайский комплексный растительный экстракт существенно уменьшал потребление животными каолина.

Недавно было установлено, что дексаметазон у крыс способен уменьшать проявления БД и восстанавливать уровень эндогенных каннабиноидов и экспрессию каннабиноидных CB<sub>1</sub>-рецепторов [40]. Также дексаметазон у крыс может усиливать действие гинзенозидов при укачивании [41].

Авторы работы [42] обнаружили, что у домашних мускусных землероек (*Suncus murinus*)  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол, в отличие от каннабидиола (другой изомер, также содержащийся в конопле), дозозависимым образом ослабляет приступы рвоты, вызванной укачиванием, действуя через каннабиноидные CB<sub>1</sub>-рецепторы. Позднее было показано, что у данного вида животных также эффективна в отношении рвоты и каннабидиоловая кислота в дозах 0,1–0,5 мг/кг [43]. Антагонист серотининовых 5-HT<sub>2A</sub>/5-HT<sub>2C</sub>-рецепторов DOI предупреждал рвоту, вызванную у домашних мускусных землероек вестибулярной стимуляцией; на этой модели БД аналогично действовали 6 агонистов серотининовых 5-HT<sub>1A</sub>-рецепторов [44].

Было обнаружено, что специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801 (0,4 мг/кг) оказывает заметное противоукачивающее действие у «чувствительных» к БД кошек, не уступая в этом отношении скополамину [35]. Что касается МК-801, то о наличии у других антагонистов NMDA-рецепторного комплекса (LY 233053, кетамин) вестибулопротекторной активности у кошек сообщают авторы работы [45]. Следовательно, NMDA-рецепторный комплекс играет важную роль в патогенезе БД.



В литературе имеются также и другие данные о возможности ослабления выраженности симптоматики БД у кошек при профилактическом применении ряда веществ разных фармакологических групп, в том числе ноотропа оксиацетама, налоксона (универсальный антагонист опиоидов), антагониста  $NK_1$ -рецепторов, нового центрального холиноблокатора РМРА (синтезирован китайскими исследователями), агониста серотониновых  $5-HT_{1A}$ -рецепторов флесиноксана и др. [34, 35, 46].

В рандомизированных исследованиях, проведенных на собаках, было показано, что селективный блокатор рецепторов нейрокина-1 маропитант (в таблетках в дозе 8 мг/кг за 2–10 ч до воздействия) оказался эффективным для профилактики рвоты у животных – уменьшал частоту ее появления по сравнению с плацебо на 77–86 % [47]. Аналогичные данные в отношении маропитанта (1 мг/кг) были получены и у кошек [46].

Противорвотное средство метоклопрамид (церукал; центральное действие обусловлено блокадой дофаминовых  $D_2$ -рецепторов, а в больших дозах – и серотониновых  $5-HT_3$ -рецепторов) внутривенно в дозе 20 мг ослабляло выраженность симптомов БД у людей и значимо превосходило в этом отношении антигистаминное средство дифенгидрамин (внутривенно 50 мг) [48].

Обнаружено, что агонист серотониновых  $5-HT_{1B/1D}$ -рецепторов ризатриптан способен уменьшать выраженность проявлений БД у больных с мигренью [49].

По данным авторов работы [50], у стимулятора центральной нервной системы модафинила отсутствует вестибулопротекторное действие, однако он может усиливать противоукачивающий эффект такого эталонного вестибулопротектора, как скополамин.

Как противорвотные средства (селективные блокаторы серотониновых  $5-HT_3$ -рецепторов) ондансетрон (8 мг) и гранисетрон (2 мг), так и нестероидные противовоспалительные средства (внутри напроксен 275–550 мг однократно или индометацин по 50 мг 3 раза в сут в течение 3 сут) оказались неэффективными при БД у людей [16, 51, 52].

По наблюдениям ряда авторов [53, 54], корень имбиря эффективен для профилактики БД у человека; хотя механизм его защитного действия неясен, но в эксперименте выявлена его способность оказывать центральное и периферическое холиноблолирующее и антигистаминное действие.

Автор работы [23] выявил у людей выраженный вестибулопротекторный эффект у клонидина (клофелина 75 мкг), способного стимулировать (примерно в равной степени) постсиптические  $\alpha_2$ -адренорецепторы и имидазолиновые  $I_1$ -рецепторы в продолговатом мозге, угнетать сосудодвигательный центр и уменьшать симпатическую активность.

К числу перспективных препаратов против БД некоторые авторы [6, 55] относят бетастерк (бетасерк), представляющий собой синтетический аналог гистамина; агонист гистаминовых  $H_1$ - и антагонист/частичный обратный агонист  $H_3$ -рецепторов. Улучшает микроциркуляцию во внутреннем ухе, увеличивает кровоток в базилярной артерии, регулирует давление эндолимфы в лабиринте, проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), существенно уменьшает возбуждение вестибулярных нейронов, вызванное гистамином, нормализует синаптическую передачу на уровне вестибулярных ядер. Снижает частоту и интенсивность головокружения, уменьшает шум в ушах, способствует улучшению слуха; его широко используют для лечения вестибулярных расстройств различного генеза. Авторы рекомендуют принимать препарат в профилактических целях внутрь по 8 мг 2–3 раза в сутки, а при появлении первых симптомов БД – увеличить дозу до 16 мг (2–3 раза в сутки).

Что же касается применения бетастерка при БД, то это вызывает определенные сомнения. В частности, в работе [56] показано, что препарат (48 мг) не предотвращал развитие БД у 83 лиц, а также не изменял вестибулоокулярный рефлекс.

Авторы работы [24] показали, что такие блокаторы гистаминовых  $H_1$ -рецепторов, как фексофенадин (не проникает через ГЭБ и седативными свойствами вообще не обладает) и цетиризин (практически не проникает через ГЭБ), лишены вестибулопротекторной активности. Авторы заключают, что седативный эффект антигистаминных средств играет более важную роль в противоукачивающем действии препаратов, чем думали ранее.

В настоящее время в авиакосмической и морской медицине широко используют блокатор гистаминовых  $H_1$ -рецепторов прометазин (пипольфен: блокирует  $\alpha$ -адрено-, м-холино- и дофаминовые рецепторы, угнетает токи NMDA-рецепторного комплекса и прямо блокирует hERG  $K^+$ -каналы) [4, 5, 28, 29, 57–59]. Как известно, прометазин в дозах 25–50 мг (внутрь или внутримышечно) вызывает различные побочные явления (выраженную сонливость, сухость в полости рта, головокружение, расстройства зрения, сна, памяти и др.), способные нарушать операторскую деятельность человека, а также снижает артериальное давление и ортостатическую устойчивость, температуру тела и др. [5, 28, 60, 61]. Обращает на себя внимание тот факт, что психомоторный стимулятор D-амфетамин может устранять только часть (нарушение когнитивных функций) побочных эффектов прометазина, но не сонливость, сухость в полости рта, головокружение, расстройства сна и тремор [28].

Итак, из представленных выше данных следует, что до сих пор не найдено «идеальное» противоукачивающее средство, то есть которое оказывало бы

Таблица

**Вестибулопротекторное действие мелатонина, мексидола, прометазина и их комбинаций, оцениваемое по потреблению крысами пищи ( $M \pm m$ )**

| Вещество (доза, мг/кг) и путь введения                                  | Число крыс | Потребление пищи (в % по отношению к фону) после вращения, $M \pm m$ |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|----------------------------------------------------------------------|
| Изотонический раствор натрия хлорида внутривентриально (в/в) (контроль) | 14         | $48 \pm 3$                                                           |
| Мелатонин (2,5) в/в                                                     | 12         | $92 \pm 5^*$                                                         |
| Мексидол (100) в/в                                                      | 12         | $87 \pm 3^*$                                                         |
| Прометазин (50) в/в                                                     | 10         | $78 \pm 4^*$                                                         |
| Комбинации веществ                                                      |            |                                                                      |
| Мелатонин (2,5) + мексидол (100) в/в                                    | 12         | $124 \pm 9^{*,\#,\circ}$                                             |
| Мелатонин (2,5) + прометазин (50) в/в                                   | 12         | $113 \pm 8^{*,\#,\circ}$                                             |

*Примечание.* Потребление пищи до вращения (фон) принято за 100 %; различия статистически значимы по сравнению с контролем: \* –  $p < 0,001$ ; # –  $p < 0,05$  – значимость изменений по сравнению с группой животных, получавших только мелатонин; ° –  $p < 0,01$  – значимость различий по сравнению с группой животных, получавших только мексидол или прометазин (критерий Стьюдента).

у всех людей, без исключения, защитное действие при минимальных побочных эффектах. В свете этого переходим к рассмотрению комбинированных препаратов.

Еще в 1994 г. ученые пришли к заключению, что у человека целесообразно изучать такие комбинированные препараты, как Р-1, Р-2 и Р-4, поскольку они были весьма эффективны у животных [3]. В дальнейшем было показано, что комбинированный препарат Р-4 является высокоэффективным профилактическим средством у лиц, которых укачивали в медленно вращающейся комнате [62].

Вместе с тем, по мнению авторов работы [5], наиболее эффективным комбинированным вестибулопротектором является икарон-1 (содержащий сиднокарб (мезокарб) 10 мг, скополамин 0,6 мг, пипольфен (прометазин) 25 мг, пиридоксальфосфат 50 мг), который оказывает выраженное противоукачивающее действие у 100 % обследуемых [35, 63]. Недавно проведенные эксперименты на кошках уточнили механизм противоукачивающего действия икарона-1; оказалось, что препарат при пневмомикроинъекции главным образом угнетает спонтанную и вызванную (адекватным раздражением вестибулярного аппарата) активность большинства (95 и 92 % соответственно) нейронов МВЯ [64]. Описанный феномен может лежать в основе механизма действия вестибулопротектора.

Другое направление изысканий связано с мелатонинергическими веществами, поскольку мелатонин (основной гормон шишковидной железы) оказывает антиоксидантное, адаптогенное и снотворное действие, нормализует циркадные ритмы, регулирует цикл «сон – бодрствование», положительно влияет

на интеллектуально-мнестические функции мозга, снижает стрессовые реакции, регулирует нейроэндокринные функции, проявляет иммуностимулирующие свойства и др. [65, 66]. На его основе созданы лекарственные препараты, например мелаксен, а также и его синтетический аналог – антидепрессант агомелатин (агонист мелатониновых рецепторов 1-го и 2-го типов ( $MT_1$  и  $MT_2$ ) и антагонист серотониновых 5- $HT_{2C}$ -рецепторов), которые широко применяют в клинической практике [65, 67]. Основная причина универсальных защитных свойств мелатонина – ограничение окислительного стресса [68]. Однако в доступной нам литературе нет сведений о наличии у мелатонина противоукачивающей активности; хотя показано, что при моделировании БД у животных наблюдается активация пероксидного окисления липидов, наиболее выраженная в тканях головного мозга [3].

В экспериментах на крысах установлено, что мелатонин (2,5 мг/кг) оказывает выраженное вестибулопротекторное действие, превосходя в этом отношении как препарат сравнения прометазин (50 мг/кг), так и другое мелатонинергическое средство – антидепрессант агомелатин (5 мг/кг). Блокатор мелатониновых  $MT_1$ - и  $MT_2$ -рецепторов лузиндол (2,5 мг/кг) и специфический антагонист  $5-HT_{2A}$ -рецепторов бикикуллин (1,5 мг/кг) существенно ослабляли эффект мелатонина [69]. Это свидетельствует о вовлечении названных рецепторов в реализацию его действия.

В эксперименте на переживающих срезах продолговатого мозга крыс с помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации «целая клетка» обнаружено, что в



нейронах МВЯ мелатонин (в концентрации 2 мМ) значительно угнетал возбуждающий постсинаптический ток на  $29 \pm 3\%$  [69]. Лузиндол (0,1 мМ) в значительной степени (на  $71 \pm 6\%$ ) ослаблял эффект мелатонина (2 мМ), что свидетельствует об участии в этом мелатониновых  $MT_1$ - и  $MT_2$ -рецепторов.

Также было показано, что у крыс комбинация мелатонина (2,5 мг/кг) и мексидола (100 мг/кг) дает выраженный вестибулопротекторный эффект, значительно ( $p < 0,001$ ) повышая потребление пищи по отношению к контролю в 2,6 раза (таблица). Другая комбинация – мелатонина (2,5 мг/кг) с прометазинном (50 мг/кг) – действовала сходным образом, значительно ( $p < 0,001$ ) повышая данный показатель в 2,4 раза (см. табл.).

По выраженности противоукачивающего действия комбинация мелатонина и мексидола значительно превосходила каждый из компонентов – мелатонин в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) и мексидол в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) (см. табл.). Комбинация мелатонина и прометазина также превосходила и мелатонин, и мексидол в 1,2 ( $p < 0,05$ ) и 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) соответственно (см. табл.).

Итак, обе комбинации мелатонина как с мексидолом, так и с прометазинном обладают выраженными вестибулопротекторными свойствами. При этом мелатонин усиливает противоукачивающий эффект мексидола и прометазина.

Таким образом, детальный анализ собственных результатов и данных литературы позволяет прийти к следующему заключению. Новый подход к изысканию эффективных вестибулопротекторов – их поиск среди новых производных 3-гидроксипиридина и мелатонинергических веществ. При этом перспективным является создание как отдельных лекарственных средств, так и их комбинаций, учитывая тот факт, что мелатонин способен усиливать противоукачивающий эффект мексидола и прометазина.

#### Выводы

1. Новый подход к изысканию эффективных вестибулопротекторов связан с поиском их среди новых производных 3-гидроксипиридина и мелатонинергических веществ.

2. Перспективным является создание как отдельных лекарственных средств, так и их комбинаций, учитывая, что мелатонин способен усиливать противоукачивающий эффект мексидола и прометазина.

Работа выполнена в ГНЦ РФ – ИМБП РАН частично по Программе фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2018 гг.

#### Список литературы

1. Газенко О.Г. Предисловие // Шашков В.С., Айзиков Г.С., Яснецов В.В. Болезнь движения (патофизиологические основы, профилактика и терапия) М., 1994. С. 5–6.
2. Gazenko O.G. Introduction // Shashkov V.S., Aizikov G.S., Yasnetsov V.V. Motion sickness (pathophysiological basics, prophylaxis and treatment). Moscow, 1994. P. 5–6.
3. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Егоров А.Д. Космическая медицина: вчера, сегодня, завтра // Наука в России. 2006. № 4. С. 4–11.
4. Gazenko O.G., Grigoriev A.I., Egorov A.D. Space medicine: yesterday, today, tomorrow // Nauka v Rossii. 2006. № 4. P. 4–11.
5. Шашков В.С., Айзиков Г.С., Яснецов В.В. Болезнь движения (патофизиологические основы, профилактика и терапия). М., 1994.
6. Shashkov V.S., Aizikov G.S., Yasnetsov V.V. Motion sickness (pathophysiological basics, prophylaxis and treatment). Moscow, 1994.
7. Шашков В.С., Котовская А.Р., Орлов О.И. и др. Экспериментальное обоснование фармакологических средств купирования вестибуловегетативного синдрома (болезнь движения) // Эксперим. и клин. фармакология. 1999. Т. 62. № 6. С. 11–15.
8. Shashkov V.S., Kotovskaya A.R., Orlov O.I. et al. An experimental validation of pharmacological agents to arrest the vestibulo-autonomic syndrome (motion sickness) // Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 1999. V. 62. № 6. P. 11–15.
9. Шашков В.С., Яснецов В.В., Шашков А.В. и др. Фармакологическая профилактика вестибуло-вегетативного синдрома (болезнь движения) в модельных исследованиях // Авиакосм. и экол. мед. 2000. Т. 34. № 4. С. 9–13.
10. Shashkov V.S., Yasnetsov V.V., Shashkov A.V. et al. Pharmacological prophylaxis of vestibulo-autonomous syndrome (motion sickness) in model investigations // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2000. V. 34. № 4. P. 9–13.
11. Мацнев Э.И. Болезнь движения // Фарм. вестн. 2002. № 19. С. 13–21.
12. Matsnev E.I. Motion sickness // Farmatsevticheskiy vestnik. 2002. № 19. P. 13–21.
13. Lucertini M., Verde P., Trivelloni P. Rehabilitation from airsickness in military pilots: long-term treatment effectiveness // Aviat. Space Environ. Med. 2013. V. 84. № 11. P. 1196–1200.
14. Perrin P., Lion A., Bosser G. et al. Motion sickness in rally car co-drivers // Ibid. 2013. V. 84. № 5 P. 473–477.
15. Kuitunen T., Leino T., Parkkola K. Motion sickness at sea and in the air // Duodecim. 2011. V. 127. № 13. P. 1378–1380.
16. Paillard A.C., Quarck G., Paolino F. et al. Motion sickness susceptibility in healthy subjects and vestibular patients: effects of gender, age and trait-anxiety // J. Vestib. Res. 2013. V. 23. № 4–5. P. 203–209.

11. Григорьев А.И. Космическая биология и медицина: основные достижения и перспективы // Космонавтика и ракетостроение. 1998. № 14. С. 69–74.  
*Grigoriev A.I. Space biology and medicine: basic achievement and prospects // Kosmonavtika i raketostroenie. 1998. № 14. P. 69–74.*
12. Григорьев А.И. Космическая биология и авиакосмическая медицина сегодня // Вестн. Рос. академии наук. 2002. Т. 72. № 11. С. 1027–1032.  
*Grigoriev A.I. Space biology and aerospace medicine today // Vestnik Rossiyskoy akademii nauk. 2002. V. 72. № 11. P. 1027–1032.*
13. Weerts A.P., De Meyer G., Pauwels G. et al. Pharmaceutical countermeasures have opposite effects on the utricles and semicircular canals in man // *Audiol. Neurotol.* 2012. V. 17 № 4. P. 235–242.
14. Thornton W.E., Bonato F. Space motion sickness and motion sickness: symptoms and etiology // *Aviat. Space Environ. Med.* 2013. V. 84. № 7. P. 716–721.
15. Григорьев А.И. Предисловие // Яснецов В.В., Шашков В.С. Нейрохимические и фармакотерапевтические аспекты болезни движения. М., 1993. С. 5–6.  
*Grigoriev A.I. Introduction // Yasnetsov V.V., Shashkov V.S. Neurochemical and pharmacotherapeutic aspects of motion sickness. Moscow, 1993. P. 5–6.*
16. HersHKovitz D., Asna N., Shupak A. et al. Ondansetron for the prevention of seasickness in susceptible sailors: an evaluation at sea // *Aviat. Space Environ. Med.* 2009. V. 80. № 7. P. 643–646.
17. Schutz L., Zak D., Holmes J.F. Pattern of passenger injury and illness on expedition cruise ships to Antarctica // *J. Travel Med.* 2014. V. 21. № 4. P. 228–234.
18. Правдивцев В.А., Козлов С.Б., Яснецов В.В. Эфферентно-афферентная конвергенция как структурно-функциональная основа аппарата акцептора результатов действия // Успехи физиол. наук. 1997. Т. 28. № 4. С. 33–44.  
*Pravdivtsev V.A., Kozlov S.B., Yasnetsov V.V. Efferent-afferent convergence as a structural-functional basis for a mechanism of an acceptor of action results // Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 1997. V. 28. № 4. P. 33–44.*
19. Лихачев С.А., Клименков Д.Ю. Отоневрологические аспекты «болезни движения» // Вестн. оториноларингологии. 2013. № 1. С. 90–94.  
*Likhachev S.A., Klimenkov D.Yu. The otoneurologic aspects of «motion sickness» // Vestnik otorinolaringologii. 2013. № 1. P. 90–94.*
20. Sheehan S.E., Oman C.M., Duda K.R. Motion sickness: a cholinomimetic agent hypothesis // *J. Vestib. Res.* 2011. V. 21. № 4. P. 209–217.
21. SchmäI F. Neuronal mechanisms and the treatment of motion sickness // *Pharmacol.* 2013. V. 91. № 3–4. P. 229–241.
22. Knox G.W. Motion sickness: an evolutionary and genetic basis for the negative reinforcement model // *Aviat. Space Environ. Med.* 2014. V. 85. № 1. P. 46–49.
23. Каркищенко В.Н. Фармакологическая коррекция вестибуловегетативного синдрома при моделировании болезни движения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1998.  
*Karkishchenko V.N. Pharmacological correction of vestibulo-autonomic syndrome in model of motion sickness: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata meditsinskikh nauk. Moscow, 1998.*
24. Cheung B.S., Heskin R., Hofer K.D. Failure of cetirizine and fexofenadine to prevent motion sickness // *Ann. Pharmacother.* 2003. V. 37. № 2. P. 173–177.
25. Shi S.J., Platts S.H., Ziegler M.G., Meck J.V. Effects of promethazine and midodrine on orthostatic tolerance // *Aviat. Space Environ. Med.* 2011. V. 82. № 1. P. 9–12.
26. Lucot J.B. Pharmacology of motion sickness // *J. Vestib. Res.* 1998. V. 8. № 1. P. 61–66.
27. Spinks A., Wasiak J. Scopolamine (hyoscine) for preventing and treating motion sickness // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011. № 6. CD002851.
28. Weerts A., Pattyn N., van de Heyning P., Wuyts F. Evaluation of the effects of anti-motion sickness drugs on subjective sleepiness and cognitive performance of healthy males // *J. Psychopharmacol.* 2013. V. 28. № 7. P. 655–664.
29. Weerts A.P., Vanspauwen R., Franssen E. et al. Space motion sickness countermeasures: a pharmacological double-blind, placebo-controlled study // *Aviat. Space Environ. Med.* 2014. V. 85. № 6. P. 638–644.
30. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. М., 1995.  
*Dyumaev K.M., Voronina T.A., Smirnov L.D. Antioxidants in prophylaxis and treatment of CNS pathology. Moscow, 1995.*
31. Яснецов Вик.В. Защитное действие производных 3-гидроксипиридина при экстремальных воздействиях // Авиакосм. и экол. мед. 2007. Т. 41. № 6. С. 5–12.  
*Yasnetsov V.V. Protective effect of 3-hydroxypyridine derivatives in extreme conditions // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2007. V. 41. № 6. P. 5–12.*
32. Яснецов В.В., Цублова Е.Г., Яснецов Вик.В. и др. Актопротекторное и противогипоксическое действия новых гетероароматических антиоксидантов // Там же. 2011. Т. 45. № 2. С. 51–54.  
*Yasnetsov V.V., Tsublova E.G., Yasnetsov V.V. Actoprotective and antihypoxic action of new heteroaromatic antioxidants // Ibid. 2011. V. 45. № 2. P. 51–54.*
33. Воронина Т.А. Мексидол: спектр фармакологических эффектов // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. 2012. № 12. С. 86–90.  
*Voronina T.A. Mexidol: the spectrum of pharmacological effects // Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 2012. № 12. P. 86–90.*
34. Крылова И.Н. Фармакологическая коррекция нарушений процессов обучения и памяти, вызванных экстремальными воздействиями: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1998.  
*Krylova I.N. Pharmacological correction of disturbances of learning and memory processes caused by extreme factors: Avtoreferat dissertatsii ... doktora meditsinskikh nauk. Moscow, 1998.*

35. Шашков А.В. Поиск новых средств профилактики и лечения болезни движения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Купавна, 2004.
- Shashkov A.V. Searching of new drugs for prophylaxis and treatment of motion sickness: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata meditsinskikh nauk. Kupavna, 2004.
36. Яснецов В.В., Правдивцев В.А., Шашков А.В. и др. Исследование противоукачивающих свойств производных 3-гидроксипиридина // Авиакосм. и экол. мед. 2005. Т. 39. № 4. С. 45–50.
- Yasnetsov V.V., Pravdivtsev V.A., Shashkov A.V. et al. Investigation of the anti-motion sickness effect of 3-hydroxypyridine derivatives // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2005. V. 39. № 4. P. 45–50.
37. Яснецов Вик.В., Просви́рова Е.П., Мотин В.Г. и др. Исследование болеутоляющих свойств сукцинатсодержащих препаратов // Эксперим. и клин. фармакология. 2013. Т. 76. № 4. С. 11–14.
- Yasnetsov Vic.V., Prosvirova E.P., Motin V.G. et al. Analgesic effect of succinate-containing preparations // Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2013. V. 76. № 4. P. 11–14.
38. Мотин В.Г., Яснецов Вик.В., Забозлаев А.А. и др. Электрофизиологическое исследование механизма действия мексидола // Там же. 2012. Т. 75. № 1. С. 3–7.
- Motin V.G., Yasnetsov Vic.V., Zabozaev A.A. et al. Electrophysiological study of the mechanism of mexidol effect // Ibid. 2012. V. 75. № 1. P. 3–7.
39. Shen H.X., Jiang Z.L., Dong G.S. et al. Anti-motion sickness efficacy of the extracted mixture of Chinese medical herbs and its influence on the blood level of hormones // Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. 2012. V. 28. № 5. P. 398–403.
40. Zheng Y., Wang X.L., Mo F.F., Li M. Dexamethasone alleviates motion sickness in rats in part by enhancing the endocannabinoid system // Eur. J. Pharmacol. 2014. № 727. P. 99–105.
41. Jia L., Wang W.Y., Zhou L.M. et al. Antimotion sickness effects of ginsenosides combined with dexamethasone in rats // Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao. 2010. V. 8. № 4. P. 358–362.
42. Cluny N.L., Naylor R.J., Whittle B.A., Javid F.A. The effects of cannabidiol and tetrahydrocannabinol on motion-induced emesis in *Suncus murinus* // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 2008. V. 103. № 2. P. 150–156.
43. Bolognini D., Rock E.M., Cluny N.L. et al. Cannabidiolic acid prevents vomiting in *Suncus murinus* and nausea-induced behaviour in rats by enhancing 5-HT<sub>1A</sub> receptor activation // Br. J. Pharmacol. 2013. V. 168. № 6. P. 1456–1470.
44. Okada F., Torii Y., Saito H., Matsuki N. Antiemetic effects of serotonergic 5-HT<sub>1A</sub>-receptor agonists in *Suncus murinus* // Jpn. J. Pharmacol. 1994. V. 64. № 2. P. 109–114.
45. Lucot J.B. Effects of N-methyl-D-aspartate antagonists on different measures of motion sickness in cats // Brain Res. Bull. 1998. V. 47. № 5. P. 407–411.
46. Hickman M.A., Cox S.R., Mahabir S. et al. Safety, pharmacokinetics and use of the novel NK-1 receptor antagonist maropitant (Cerenia) for the prevention of emesis and motion sickness in cats // J. Vet. Pharmacol. Ther. 2008. V. 31. № 3. P. 220–229.
47. Conder G.A., Sedlacek H.S., Boucher J.F., Clemence R.G. Efficacy and safety of maropitant, a selective neurokinin 1 receptor antagonist, in two randomized clinical trials for prevention of vomiting due to motion sickness in dogs // J. Vet. Pharmacol. Ther. 2008. V. 31. № 6. P. 528–532.
48. Rubio S., Weichenthal L., Andrews J. Motion sickness: comparison of metoclopramide and diphenhydramine to placebo // Prehosp. Disaster Med. 2011. V. 26. № 4. P. 305–309.
49. Furman J.M., Marcus D.A., Balaban C.D. Rizatriptan reduces vestibular-induced motion sickness in migraineurs // J. Headache Pain. 2011. V. 12. № 1. P. 81–88.
50. Hoyt R.E., Lawson B.D., McGee H.A. et al. Modafinil as a potential motion sickness countermeasure // Aviat. Space Environ. Med. 2009. V. 80. № 8. P. 709–715.
51. Hasler W.L., Kim M.S., Chey W.D. et al. Central cholinergic and alpha-adrenergic mediation of gastric slow wave dysrhythmias evoked during motion sickness // Am. J. Physiol. 1995. V. 268. № 4. Pt. 1. P. G 539–G 547.
52. Levine M.E., Chillias J.C., Stern R.M., Knox G.W. The effects of serotonin (5-HT<sub>3</sub>) receptor antagonists on gastric tachyarrhythmia and the symptoms of motion sickness // Aviat. Space Environ. Med. 2000. V. 71. № 11. P. 1111–1114.
53. Langner E., Greifenberg S., Gruenwald J. Ginger: history and use // Adv. Ther. 1998. V. 15. № 1. P. 25–44.
54. Lien H.C., Sun W.M., Chen Y.H. et al. Effects of ginger on motion sickness and gastric slow-wave dysrhythmias induced by circularvection // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2003. V. 284. № 3. P. G 481–G 489.
55. Matsnev E.I., Sigaleva E.E. Efficacy of histaminergic drugs in experimental motion sickness // J. Vestib. Res. 2007. V. 17. № 5–6. P. 313–321.
56. Gordon C.R., Doweck I., Nachum Z. et al. Evaluation of betahistine for the prevention of seasickness: effect on vestibular function, psychomotor performance and efficacy at sea // Ibid. 2003. V. 13. № 2–3. P. 103–111.
57. Haware R.V., Chaudhari P.D., Parakh S.R., Bauer-Brandl A. Development of a melting tablet containing promethazine HCl against motion sickness // AAPS PharmSciTech. 2008. V. 9. № 3. P. 1006–1015.
58. Jo S.H., Hong H.K., Chong S.H. et al. H(1) antihistamine drug promethazine directly blocks hERG K(+) channel // Pharmacol. Res. 2009. V. 60. № 5. P. 429–437.
59. Adolph O., Köster S., Georgieff M. et al. Promethazine inhibits NMDA-induced currents – new pharmacological aspects of an old drug // Neuropharmacol. 2012. V. 63. № 2. P. 280–291.
60. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Вып. XV / А.Г. Чучалин, В.В. Яснецов, ред. М., 2014.
- Federal guidance for the usage of drugs (formulary system). 15<sup>th</sup> Ed. / A.G. Chuchalin, V.V. Yasnetsov, eds., Moscow, 2014.
61. Kamei H., Isaji A., Noda Y. et al. Effects of single therapeutic doses of promethazine, fexofenadine and



olopatadine on psychomotor function and histamine-induced wheal- and flare-responses: a randomized double-blind, placebo-controlled study in healthy volunteers // Arch. Dermatol. Res. 2012. V. 304. № 4. P. 263–272.

62. Орлов О.И. Оценка влияния фармакологических средств профилактики болезни движения на адаптацию в модельных условиях с длительным вращением // Авиакосм. и экол. мед. 2007. Т. 41. № 6. С. 24–28.

Orlov O.I. Evaluation of the effect of anti-motion sickness pharmaceuticals on adaptation to the model conditions of long-term rotation // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2007. V. 41. № 6. P. 24–28.

63. Шашков А.В., Карсанова С.К., Яснецов В.В. и др. Нейроэндокринные факторы в патогенезе болезни движения и защитном действии лекарственных веществ // Эксперим. и клин. фармакология. 2004. Т. 67. № 2. С. 3–7.

Shashkov A.V., Karsanova S.K., Yasnetsov V.V. et al. Neuroendocrine factors in pathogenesis of motion sickness and the protective effect of drugs // Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2004. V. 67. № 2. P. 3–7.

64. Яснецов В.В., Мотин В.Г., Карсанова С.К. и др. О механизме противоукачивающего действия препарата икарон-1 // Авиакосм. и экол. мед. 2013. Т. 47. № 2. С. 47–48.

Yasnetsov V.V., Motin V.G., Karsanova S.K. et al. On the mechanism of ikaron-1 anti-naupathia action // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2013. V. 47. № 2. P. 47–48.

65. Арушанян Э.Б. Защитная роль мелатонина при заболеваниях поджелудочной железы // Эксперим. и клин. фармакология. 2012. Т. 75. № 4. С. 42–48.

Arushanyan E.B. Protective role of melatonin in pancreatic gland disorders // Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2012. V. 75. № 4. P. 42–48.

66. Anderson G., Maes M. Melatonin: an overlooked factor in schizophrenia and in the inhibition of anti-psychotic side effects // Metab. Brain Dis. 2012. V. 27. № 2. P. 113–119.

67. Арушанян Э.Б. Сравнительная оценка эпилептического мелатонина и бензодиазепиновых анксиолитиков // Эксперим. и клин. фармакология. 2012. Т. 75. № 3. С. 35–40.

Arushanyan E.B. Comparative evaluation of epiphyseal melatonin and benzodiazepine anxiolytics // Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2012. V. 75. № 3. P. 35–40.

68. Арушанян Э.Б. Ограничение окислительного стресса как основная причина универсальных защитных свойств мелатонина // Эксперим. и клин. фармакология. 2012. Т. 75. № 5. С. 44–49.

Arushanian E.B. Limitation of oxidative stress as the main factor of the universal protective properties of melatonin // Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2012. V. 75. № 5. P. 44–49.

69. Яснецов В.В., Мотин В.Г., Карсанова С.К. и др. Исследование вестибулопротекторных свойств мелатонинергических средств // Авиакосм. и экол. мед. 2014. Т. 48. № 2. С. 31–34.

Yasnetsov V.V., Motin V.G., Karsanova S.K. et al. Investigation into the vestibular protective properties of melatoninergetic agents // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2014. V. 48. № 2. P. 31–34.

Поступила 02.10.2014

## A NEW APPROACH TO THE SEARCH FOR VESTIBULOPROTECTORS

**Yasnetsov V.V., Karsanova S.K.,  
Yasnetsov Vic.V.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2015. V. 49. № 1. P. 5–12

*The results of experimental clinical testing of the anti-naupathia action of as new compounds, so motion sickness medications (promethazine, ikaron-1 etc.) are presented. Russian medication mexidol, a derivative of 3-hydroxypyridine (3-HP) demonstrated the ability to control motion sickness in humans and animals; however, unlike reference vestibuloprotector scopolamine, it does not practically produce side-effects. Mexidol acts through ion pathways with the involvement of glutamate and GABA-ergic components. Revealed 9 of new 3-HP derivates with an antemotion sickness effect in rats, three exceeded in efficacy mexidol, and also reference medications (i.e. scopolamine and promethazine). Melatonin achieves a better vestibuloprotective effect in rats than promethazine and melatonin-ergic antidepressant agomelatine through the involvement of melatonin MT<sub>1</sub>-, MT<sub>2</sub>- and GABA<sub>A</sub>-receptors. Also, combinations of melatonin with mexidol or promethazine possess a distinct vestibuloprotective effect, as melatonin enhances the action of equally mexidol and promethazine. Analysis of our results and investigations of other authors infer that search for potent vestibuloprotectors should be extended to new 3-HP derivatives and melatoninergetic compounds. Individual medications by themselves and in combinations can become a solution to the problem.*

**Key words:** motion sickness, vestibuloprotectors, melatonin, mexidol, promethazine, combinations of medications.

УДК 613.693+611.14:611.98:001.8

## **НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСТОЯНИЯ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У РОССИЙСКИХ КОСМОНАВТОВ ПЕРЕД ПОЛЕТОМ И У ЗДОРОВЫХ НЕТРЕНИРОВАННЫХ ЛИЦ**

**Котовская А.Р., Фомина Г.А., Сальников А.В.**

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва  
E-mail: kotovskaia@imbp.ru

*В статье представлены нормальные значения основных показателей состояния вен нижних конечностей космонавтов в период подготовки к полету и волонтеров, ведущих обычный образ жизни. Приводятся результаты и обсуждаются причины выявленных различий нормальных значений основных показателей состояния вен голени в упомянутых группах обследуемых. Показана несопоставимость результатов обследования космонавтов с данными исследования людей, ведущих обычный образ жизни. Изменения состояния вен нижних конечностей космонавтов в невесомости могут оцениваться только относительно установленных у них нормальных значений основных показателей состояния вен (емкость, растяжимость и скорость наполнения) до полета.*

Ключевые слова: космический полет, вены, невесомость.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 13–18.

Снижение ортостатической устойчивости (ОУ) космонавтов в ходе полета и после его завершения остается важной и до сих пор нерешенной проблемой [1–2].

Следует признать, что если снижение ОУ после полета очевидно для всех исследователей, то патофизиологические механизмы его развития до сих пор до конца не ясны. В многочисленных исследованиях российских и зарубежных ученых показано, что механизм ухудшения ОУ многофакторный, включающий изменения емкостных и резистивных сосудов, изменения волемии и мышечного тонуса, регуляции сосудистого тонуса и др. [3–6] При этом практически все исследователи полагали, что в снижении ОУ не только важную, но главное – первостепенную роль играют изменения венозной гемодинамики. Конечной целью исследований состояния вен космонавтов является выявление изменений, происходящих в венах нижних конечностей в условиях невесомости. Однако для оценки таких изменений необходимо знать нормальные значения основных показателей состояния вен космонавтов на Земле до полета. Только недавно, в 2013 г. были опубликованы нормальные (референтные) величины биохимических показателей для российских

космонавтов [7]. Что касается нормальных значений основных показателей, характеризующих состояние вен нижних конечностей космонавтов, то такие сведения отсутствуют. Это связано с тем, что в научной литературе до сих пор не существует единой общепринятой методики исследования вен нижних конечностей методом окклюзионной плетизмографии. Величины плетизмографических показателей зависят от типа окклюзионного теста, метода регистрации объема голени, положения тела обследуемого и исследуемой конечности, применяемой аппаратуры и др. Иными словами, авторы данной статьи столкнулись с необходимостью выполнить специальные исследования до полета для получения референтных (нормальных) значений основных используемых нами показателей состояния вен, чтобы, опираясь на них, оценивать изменения, происходящие в условиях невесомости.

Цель данной работы: определить нормальные значения показателей, отражающих состояние вен нижних конечностей до полета у российских космонавтов.

В задачи исследования входило определение нормальных значений индивидуальных и средних величин венозной емкости, растяжимости и скорости наполнения вен нижних конечностей российских космонавтов до полета и в группе здоровых нетренированных лиц в условиях обычной жизнедеятельности; сравнение данных исследований вен нижних конечностей космонавтов до полета с результатами аналогичных исследований в группе людей, ведущих обычный образ жизни; оценка целесообразности использования данных исследований здоровых нетренированных лиц для интерпретации результатов обследования космонавтов.

### *Методика*

Обследования вен нижних конечностей выполнялись методом окклюзионной плетизмографии голени при помощи прибора плетизмографа с пневматическими окклюзионной и измерительными манжетами, разработанного CNES в составе бортового медицинского комплекса «Кардиомед».



Исследования выполнены с участием 27 российских космонавтов, совершивших полеты на российском сегменте (РС) Международной космической станции (МКС) длительностью от 124 до 192 сут. На Земле исследования вен космонавтов выполнялись за 60 и 30 сут до старта.

В качестве нетренированных лиц, ведущих обычный образ жизни, обследовано 50 здоровых добровольцев (волонтеров), жителей мегаполиса, в основном офисных работников. Никто из обследуемых этой группы не предъявлял жалоб на «тяжесть» или боли в ногах, возникновение отеков дистальных отделов ног в конце дня. У обследуемых не было в анамнезе каких-либо заболеваний вен (тромбофлебитов, венозной недостаточности), никто из обследованных добровольцев не принимал сосудисто-активные препараты. Обследование волонтеров также выполнялось дважды, с интервалом 1 мес, в условиях обычной жизнедеятельности.

По данным двукратных обследований космонавтов были вычислены средние значения показателей для каждого космонавта, а также средние данные по всей группе космонавтов. Это позволило оценить «нормальные» отклонения величин плетизмографических показателей и определить «разброс» данных до полета. Аналогичная работа была проделана и по группе волонтеров.

Методика окклюзионной плетизмографии голени до полета для космонавтов и группы волонтеров предусматривала выполнение обследований при горизонтальном положении тела и исследуемой конечности. Окклюзионный тест состоял из 4 ступеней, из них 3 – простые ступени с созданием окклюзионного давления (ОД): 30, 40, 50 мм рт. ст. и сбросом ОД после достижения максимального наполнения вен («плато» на кривой объема голени) на каждой ступени. Четвертая, комбинированная ступень была введена специально для исследования растяжимости вен в заранее определенном и одинаковом для всех исследований диапазоне изменений венозного давления выше места окклюзии. На 1-м этапе данной ступени создавалось ОД = 20 мм рт. ст., и после выхода плетизмографической кривой на «плато» начинался 2-й этап: ОД повышалось до 60 мм рт. ст. Сброс давления из окклюзионной манжеты осуществлялся после выхода кривой на «плато» при ОД = 60 мм рт. ст.

Изменения объема исследуемого сегмента конечности при создании окклюзии отражались в виде кривой и в цифровых значениях на экране компьютера с установленным специальным программным обеспечением «Кардиомед», разработанным во Франции (CNES). Величина ОД, время и изменения объема исследуемого сегмента конечности во время теста синхронно записывались в память компьютера для дальнейшей обработки.

По плетизмограмме определялись 3 типа показателей, характеризующих емкость и растяжимость вен нижних конечностей, а также скорость их наполнения при окклюзионном тесте:

- абсолютная венозная емкость – изменения объема голени в мл на каждой ступени окклюзионного теста (30, 40, 50, 20, 20→60 мм рт. ст.);
- относительная венозная емкость – изменения объема голени на каждой ступени теста в % к исходному объему голени;
- растяжимость вен (комплаенс) – отношение относительной венозной емкости к величине окклюзионного давления на каждой ступени теста, в % / мм рт. ст.;
- индекс венозной растяжимости – отношение относительной венозной емкости на ступени 20→60 мм рт. ст. к ΔОД (40 мм рт. ст.) – в % / мм рт. ст.;
- скорость венозного наполнения на каждой ступени теста, в мл/мин;
- скорость артериального притока – скорость увеличения объема голени в первые 20 с от момента создания окклюзии на каждой ступени теста, в мл/мин.

Для определения относительной венозной емкости перед плетизмографическим обследованием вен у каждого космонавта и волонтера измерялся объем голени с помощью устройства ИЗОГ (Измеритель Объема Голени).

Обработка данных выполнялась с помощью специализированной программы PhysioPost, разработанной во Франции (CNES). Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики с вычислением средних значений, стандартного отклонения и стандартной ошибки средних значений. Статистическая достоверность различий оценивалась по критерию Стьюдента (t) с вычислением вероятности ошибки «нулевой» гипотезы (p). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

Методика исследований была рассмотрена и одобрена Комиссией по биоэтике ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Все обследуемые были ознакомлены с методикой исследований и подписали Информированное согласие на участие в исследованиях.

Полное изложение методологии и всех методик, необходимых для изучения состояния вен нижних конечностей человека до космического полета и в невесомости с помощью окклюзионной плетизмографии голени, представлено в работе [8].

### Результаты и обсуждение

Возраст и основные антропометрические данные космонавтов и волонтеров приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, такие общепринятые антропометрические показатели, как рост, масса и индекс массы тела, были практически идентичны в обеих группах. При этом имело место статистически достоверное различие между группами по такому важному

Таблица 1

**Возраст и основные антропометрические показатели в группе космонавтов (n = 27)  
и в группе волонтеров (n = 50)**

| Обследуемые                              |           | Показатели      |              |                   |                      |                                  |
|------------------------------------------|-----------|-----------------|--------------|-------------------|----------------------|----------------------------------|
|                                          |           | Возраст,<br>лет | Рост,<br>см  | Масса тела,<br>кг | Индекс массы<br>тела | Объем голени,<br>см <sup>3</sup> |
| Космонавты                               | min – max | 35–60           | 166–183      | 67–88             | 21,9–29,8            | 1859–3037                        |
|                                          | M ± m     | 44,6 ± 1,5      | 176,4 ± 11,7 | 81,3 ± 1,2        | 26,2 ± 0,5           | 2372 ± 52,5                      |
| Волонтеры                                | min – max | 25–58           | 165–187      | 58–110            | 19,2–32,9            | 1480–2932                        |
|                                          | M ± m     | 32 ± 1,9        | 178,4 ± 10,7 | 81,5 ± 3,2        | 25,6 ± 1,0           | 2068 ± 46                        |
| Достоверность различия<br>между группами |           | p < 0,01        | p > 0,005    | p > 0,005         | p > 0,005            | p < 0,01                         |

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: М – среднее значение по группе; m – средняя ошибка среднего значения.

P < 0,01 – различие между группами статистически достоверно, вероятность ошибки составляет менее 1 %; p > 0,005 – различие между группами статистически недостоверно.

Таблица 2

**Минимальные, максимальные и средние значения абсолютной и относительной емкости вен голени  
в группах космонавтов (n = 27; N = 54) и волонтеров (n = 50; N = 100)**

| Показатели                                 | Окклюзионное<br>давление,<br>мм рт. ст. | Группы<br>обследуемых   | Крайние значения |                | Средние значения<br>M ± m     | Достоверность<br>различия<br>p |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------|------------------|----------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                                            |                                         |                         | min              | max            |                               |                                |
| абсолютная венозная<br>емкость (мл)        | 30                                      | космонавты<br>волонтеры | 44,5<br>38,8     | 116,7<br>100,4 | 75,95 ± 4,66<br>68,71 ± 2,16  | > 0,05                         |
|                                            | 40                                      | космонавты<br>волонтеры | 59,5<br>58,8     | 174,9<br>139,7 | 106,7 ± 5,15<br>91,10 ± 2,57  | < 0,05                         |
|                                            | 50                                      | космонавты<br>волонтеры | 74,8<br>65,0     | 217,7<br>162,0 | 127,5 ± 6,11<br>111,56 ± 2,95 | < 0,05                         |
|                                            | 20*                                     | космонавты<br>волонтеры | 17,8<br>29,9     | 96,1<br>78,7   | 51,09 ± 3,57<br>51,36 ± 1,95  | > 0,05                         |
|                                            | 20–60**                                 | космонавты<br>волонтеры | 61,3<br>49,0     | 155,3<br>137,5 | 99,41 ± 4,96<br>79,57 ± 2,35  | < 0,05                         |
| относительная венозная<br>емкость (% к ОГ) | 30                                      | космонавты<br>волонтеры | 2,0<br>1,6       | 5,5<br>5,3     | 3,25 ± 0,21<br>3,37 ± 0,11    | > 0,05                         |
|                                            | 40                                      | космонавты<br>волонтеры | 2,6<br>3,0       | 7,0<br>7,2     | 4,50 ± 0,20<br>4,48 ± 0,14    | > 0,05                         |
|                                            | 50                                      | космонавты<br>волонтеры | 3,3<br>3,3       | 8,1<br>8,5     | 5,37 ± 0,22<br>5,48 ± 0,16    | > 0,05                         |
|                                            | 20*                                     | космонавты<br>волонтеры | 0,8<br>1,3       | 3,9<br>3,9     | 2,18 ± 0,16<br>2,52 ± 0,10    | > 0,05                         |
|                                            | 20–60**                                 | космонавты<br>волонтеры | 2,7<br>2,5       | 5,6<br>6,8     | 4,16 ± 0,16<br>3,91 ± 0,12    | > 0,05                         |

Примечание. P < 0,05 – различие между группами статистически достоверно (вероятность ошибки менее 5 %); p > 0,05 – различие между группами статистически недостоверно.

Здесь и в табл. 3, 4: N – количество исследований; n – количество обследуемых в группе; \* – 1-й этап комбинированной ступени (ΔОД от 0 до 20 мм рт. ст.); \*\* – 2-й этап комбинированной ступени (ΔОД от 20 до 60 мм рт. ст.).

для оценки состояния вен нижних конечностей показателю, как объем голени. Полагаем, это связано с тем, что космонавты регулярно занимаются физическими тренировками, поэтому мышцы ног у них развиты лучше, чем у людей, чья профессия подразумевает в основном сидячий образ жизни. Что касается среднего возраста, группа космонавтов была заметно старше. Дело в том, что «рабочий» возраст космонавтов – от 35 до 55 лет, в то время как в группе волонтеров значительную часть составляли более молодые люди – от 25 до 35 лет. Число лиц старшего возраста было невелико, так как среди офисных работников старше 45 лет было достаточно сложно найти людей, не имеющих отклонений со стороны сердечно-сосудистой системы в целом, особенно со стороны вен нижних конечностей.

Дополнительную информацию дает сравнение указанных групп по наиболее важным и информативным показателям окклюзионной плетизмографии голени – емкости, растяжимости и скорости наполнения вен на фоне окклюзии.

Средние, минимальные и максимальные значения показателей, характеризующих венозную емкость, а именно абсолютной и относительной венозной емкости, приведены в табл. 2. Из приведенных в табл. 2 данных следует, что значения абсолютной венозной емкости, т.е. объем крови, который депонируется в венах голени при создании окклюзии венозному оттоку, в группе космонавтов был больше, чем в группе волонтеров. При низких величинах окклюзионного давления (ОД = 20 и 30 мм рт. ст.) различие между группами было минимальным, а при ОД = 40, 50 и 60 мм рт. ст. – статистически достоверным. Такие результаты были ожидаемы, поскольку емкость вен голени в значительной мере зависит от объема мышц голени, а этот показатель у космонавтов был значительно выше. Взаимосвязь емкости вен и объема голени подтверждается тем, что при сравнении относительной венозной емкости у космонавтов и волонтеров, т.е. при оценке емкости вен в процентах к объему голени, как показано в табл. 2, различие между группами было статистически недостоверным ( $p > 0,05$ ).

Результаты определения нормальных значений показателей растяжимости вен представлены в табл. 3.

Из представленных в табл. 3 данных следует, что на стандартных ступенях окклюзионного теста отношение относительной венозной емкости к окклюзионному давлению было примерно одинаковым в группе космонавтов и в группе волонтеров ( $p > 0,05$ ). На основании этих данных можно было бы прийти к заключению, что растяжимость вен голени у космонавтов (в земных условиях) и у здоровых нетренированных лиц не отличается. Однако при исследовании растяжимости вен в одинаковом для всех обследуемых диапазоне изменений ОД от 20 до 60 мм рт. ст. в группе космонавтов значения показателей растяжимости вен были статистически достоверно ниже, чем

в контрольной группе,  $p < 0,05$ .

Это объясняется тем, что растяжимость вен существенно зависит от трансмурального давления, т.е. разности между давлением внутри сосудов и внешним противодавлением, которое оказывают на стенки вен окружающие их ткани. У космонавтов хорошо развитые мышцы голени уменьшали растяжение вен при повышении давления крови внутри венозных сосудов вследствие окклюзии оттока крови из них.

Скорость наполнения вен при окклюзионном тесте оценивалась по 2 показателям: средней скорости наполнения вен, т.е. отношению венозной емкости к времени наполнения, а также по скорости артериального притока. Данный показатель характеризует скорость увеличения объема голени в первые 20 с после создания окклюзионного давления и в значительной мере зависит, во-первых, от объема емкостных сосудов и, во-вторых, от разности давления крови в периферической части артериального и венозного русла. Нормальные значения упомянутых показателей на всех ступенях окклюзионного теста в группе космонавтов и группе волонтеров приведены в табл. 4.

Представленные данные свидетельствуют о том, что значения средней скорости наполнения вен и скорости артериального притока при окклюзионном тесте на стандартных ступенях теста были выше в группе космонавтов. В большинстве случаев статистической значимости это различие не имело, его скорее можно расценить как тенденцию (т.е. вероятность ошибки более 5 %, но менее 10 %). Полагаем, что сравнительно высокую скорость наполнения вен в группе космонавтов можно объяснить большей емкостью вен голени и, возможно, более низким, чем у волонтеров, исходным венозным давлением в сосудах ног. Следует отметить, что при измерении скорости наполнения вен на комбинированной ступени теста, т.е. в равном диапазоне изменений венозного давления, от 20 до 60 мм рт. ст., различие между группами по средней скорости наполнения отсутствовало.

Таким образом, применительно к используемой методике окклюзионной плетизмографии голени определены нормальные значения основных показателей состояния вен нижних конечностей до полета у российских космонавтов. Полученные у них до полета нормальные значения абсолютной и относительной венозной емкости, растяжимости, а также скорости наполнения вен позволяют сравнивать их со значениями тех же показателей, полученных в условиях невесомости.

В процессе работы установлены некоторые важные положения методологического и методического характера. Так, попытка сопоставить основные показатели, характеризующие состояние вен у относительно небольшого количества космонавтов с аналогичными показателями большей по численности группы волонтеров оказалась неудачной.

Таблица 3

**Минимальные, максимальные и средние значения показателей растяжимости вен голени (комплаенса)  
на различных ступенях окклюзионного теста в группах космонавтов  
(n = 27; N = 54) и волонтеров (n = 50; N = 100)**

| Показатели                                                | Окклюзионное давление, мм рт. ст. | Группы обследуемых | Крайние значения |      | Средние значения<br>M ± m | Достоверность различия<br>p |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|------------------|------|---------------------------|-----------------------------|
|                                                           |                                   |                    | min              | max  |                           |                             |
| растяжимость вен голени (комплаенс)<br>% к ОГ / мм рт.ст. | 30                                | космонавты         | 6,5              | 18,2 | 10,85 ± 0,69              | > 0,05                      |
|                                                           |                                   | волонтеры          | 5,4              | 17,8 | 11,24 ± 0,37              |                             |
|                                                           | 40                                | космонавты         | 6,6              | 17,6 | 11,25 ± 0,51              | > 0,05                      |
|                                                           |                                   | волонтеры          | 7,5              | 18,0 | 10,96 ± 0,32              |                             |
|                                                           | 50                                | космонавты         | 6,6              | 16,1 | 10,73 ± 0,45              | > 0,05                      |
|                                                           |                                   | волонтеры          | 6,6              | 17,0 | 10,96 ± 0,32              |                             |
|                                                           | 20*                               | космонавты         | 4,0              | 19,7 | 9,09 ± 0,85               | < 0,01                      |
|                                                           |                                   | волонтеры          | 6,4              | 19,6 | 12,45 ± 0,5               |                             |
|                                                           | 20–60**                           | космонавты         | 6,3              | 14,0 | 9,58 ± 0,44               | < 0,01                      |
|                                                           |                                   | волонтеры          | 6,3              | 17,0 | 11,33 ± 0,45              |                             |

Примечание. P < 0,01 – различие между группами статистически достоверно (вероятность ошибки менее 1 %); p > 0,05 – различие между группами статистически недостоверно.

Таблица 4

**Минимальные, максимальные и средние значения средней скорости наполнения вен голени  
и скорости артериального притока на различных ступенях окклюзионного теста  
в группах космонавтов (n = 27; N = 54) и волонтеров (n = 50; N = 100)**

| Показатели                               | Окклюзионное давление, мм рт. ст. | Группы обследуемых | Крайние значения |       | Средние значения<br>M ± m | Достоверность различия<br>p |
|------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|------------------|-------|---------------------------|-----------------------------|
|                                          |                                   |                    | min              | max   |                           |                             |
| средняя скорость наполнения вен (мл/мин) | 30                                | космонавты         | 43,3             | 253,9 | 96,76 ± 8,56              | > 0,05                      |
|                                          |                                   | волонтеры          | 27,8             | 189,9 | 86,20 ± 5,53              |                             |
|                                          | 40                                | космонавты         | 41,7             | 208,4 | 91,12 ± 6,00              | < 0,1                       |
|                                          |                                   | волонтеры          | 25,6             | 173,3 | 77,02 ± 5,15              |                             |
|                                          | 50                                | космонавты         | 35,2             | 198,8 | 78,60 ± 6,23              | < 0,1                       |
|                                          |                                   | волонтеры          | 24,1             | 137,9 | 64,59 ± 4,43              |                             |
|                                          | 20*                               | космонавты         | 46,1             | 199,6 | 94,54 ± 6,47              | < 0,05                      |
|                                          |                                   | волонтеры          | 36,9             | 133,8 | 76,39 ± 3,52              |                             |
|                                          | 20–60**                           | космонавты         | 16,3             | 131,7 | 48,69 ± 4,46              | > 0,05                      |
|                                          |                                   | волонтеры          | 13,4             | 78,1  | 46,22 ± 3,45              |                             |
| скорость артериального притока (мл/мин)  | 30                                | космонавты         | 49,6             | 267   | 116,80 ± 9,10             | > 0,05                      |
|                                          |                                   | волонтеры          | 35,3             | 188,6 | 104,14 ± 5,60             |                             |
|                                          | 40                                | космонавты         | 58,0             | 270,1 | 127,90 ± 8,23             | < 0,05                      |
|                                          |                                   | волонтеры          | 31,8             | 204,7 | 104,29 ± 5,81             |                             |
|                                          | 50                                | космонавты         | 68,1             | 275,7 | 130,73 ± 8,44             | > 0,05                      |
|                                          |                                   | волонтеры          | 53,0             | 214,3 | 115,25 ± 6,33             |                             |
|                                          | 20*                               | космонавты         | 53,6             | 161,3 | 99,64 ± 5,57              | < 0,1                       |
|                                          |                                   | волонтеры          | 41,4             | 133,6 | 87,77 ± 3,53              |                             |
|                                          | 20–60                             | космонавты         | 45,4             | 232,9 | 97,77 ± 7,26              | < 0,1                       |
|                                          |                                   | волонтеры          | 34,2             | 177,8 | 82,47 ± 4,59              |                             |

Примечание. P < 0,05 – различие между группами статистически достоверно (вероятность ошибки менее 5 %); p < 0,1 – имеется отчетливо выраженная тенденция (вероятность ошибки менее 10 %); p > 0,05 – различие между группами статистически недостоверно.

Установлено, что уже до полета космонавты отличались от здоровых, но физически нетренированных лиц по объему мышц голени и показателям, характеризующим состояние вен нижних конечностей.

По существу, космонавты в процессе своей профессиональной деятельности не только в космосе, но и на Земле ведут образ жизни, существенно отличающийся от образа жизни офисных работников. Космонавты становятся «другими» людьми, функционально значительно отличающимися от обычных людей, не занимающихся регулярными физическими тренировками. Поэтому сопоставление данных исследований профессиональных космонавтов до и во время космического полета с результатами исследований контрольной группы, состоящей из обычных, нетренированных лиц, для оценки и интерпретации изменений состояния вен нижних конечностей в невесомости следует считать нецелесообразным. Полагаем, что отличие «нормальных» для космонавтов значений от так называемой общезиологической нормы следует учитывать не только при обследовании российских космонавтов, но и при исследованиях астронавтов других стран.

#### Выводы

1. Определены нормальные значения основных показателей состояния вен нижних конечностей космонавтов на Земле до полета.

2. Значения основных показателей состояния вен космонавтов до полета несопоставимы с аналогичными показателями обычных здоровых нетренированных лиц.

3. Изменения состояния вен нижних конечностей космонавтов в невесомости должны оцениваться относительно установленных у них нормальных значений основных показателей состояния вен до полета.

4. В основе индивидуальных заключений о выявленных в невесомости изменениях вен и степени их выраженности должна лежать оценка изменений состояния вен нижних конечностей каждого космонавта во время полета относительно его же собственных предполетных данных.

#### Список литературы

1. Пестов И.Д., Гератеволь З.Дж. Невесомость. Основы космической биологии и медицины. Совм. изд. США/СССР. М., 1975, Т. 2. Кн. 1. С. 324–369.

*Pestov I.D., Geratevol S.J.* Weightlessness. Foundation of space biology and medicine. Joint USA/USSR Publication. Moscow, 1975, V. 2. Book 1. P. 305–354.

2. Егоров А.Д. Механизмы снижения ортостатической устойчивости в условиях длительных космических полетов // Авиакосм. и экол. мед. 2001. Т. 35. № 6. С. 3–12.

*Egorov A.D.* Mechanisms reducing orthostatic stability of human in long-duration space flight // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2001. V. 35. № 6. P. 3–12.

3. Шик Л.Л., Сергеева К.А., Моисеев В.А. Изучение причин ортостатической неустойчивости // Проблемы космической биологии / В.Н. Черниговский, ред. М., 1975. Т. 31. С. 157–164.

*Shik L.L., Sergeeva K.A., Moiseev V.A.* Investigation of orthostatic instability reasons // *Problems of space biology* / V.N. Chernigovskiy, ed. Moscow, 1975. V. 31. P. 157–164.

4. Buckley J.C., Lane L.D., Levine B.D. et al. Orthostatic intolerance after spaceflight // *J. Appl. Physiol.* 1996. V. 81. № 1. P. 7–18.

5. Grandpierre R., Collet M., Hauttement J.L. et al. Intérêt et moyens d'étude de la circulation sanguine périphérique en apesanteur // Proc. of IV Intern. Symp. «Human in space» (Erevan, 1971). М., 1974. P. 125–141.

6. Tyberg J.V., Hamilton V.R. Orthostatic hypotension and the role of changes in venous capacitance // *Med. Sci. Sport Exerc.* 1996. V. 28. P. 29–32.

7. Маркин А.А., Журавлева О.А., Моруков Б.В. и др. Референтные значения биохимических показателей крови у российских космонавтов // Физиология человека. 2013. Т. 39. № 2. С. 79–84.

*Markin A.A., Zhuravleva O.A., Morukov B.V. et al.* Reference values of Russian cosmonauts blood biochemical indices // *Fiziologiya cheloveka*. 2013. V. 39. № 2. P. 79–84.

8. Котовская А.Р., Фомина Г.А., Сальников А.В., Ярманова Е.Н. Разработка методологии изучения состояния вен нижних конечностей космонавтов в практике космической медицины // Авиакосм. и экол. мед. 2014. Т. 48. № 6. С. 5–9.

*Kotovskaya A.R., Fomina G.A., Salnikov A.V., Yarmanova E.N.* Developing the methodology of examining the lower limbs veins in cosmonauts for space medicine practice // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2014. V. 47. № 6. P. 5–9.

Поступила 02.10.2014

#### **NORMAL VALUES OF THE MAJOR PARAMETERS OF LOWER LIMB VEINS IN RUSSIAN COSMONAUTS PRIOR TO FLIGHT AND IN HEALTHY UNTRAINED SUBJECTS**

**Kotovskaya A.R., Fomina G.A., Salnikov A.V.**

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia)*. 2015. V. 49. № 1. P. 13–18

*The article presents normal values of the major parameters of lower limb veins in cosmonauts during preparations for space flight and volunteers leading a common life. The authors report the results and discuss the causes for differences in normal leg venous parameters in these groups of subjects. Incomparability of measurements made in cosmonauts and common people is demonstrated. Changes in lower limb veins of a cosmonaut in microgravity can be evaluated only relative to his/her normal values of the major venous parameters (capacitance, compliance and filling) before flight.*

Key words: space flight, vein, microgravity.



УДК 616-018.26-008.9-07+612.08:613.693

## СОСТАВ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРЕБЫВАНИИ В НЕВЕСОМОСТИ

Носков В.Б., Ничипорук И.А., Васильева Г.Ю., Смирнов Ю.И.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва  
E-mail: noskovvb@mail.ru

*При проведении космического эксперимента «Спрут-2» с помощью биоимпедансометра ежемесячно обследовали космонавтов на борту Международной космической станции, а также до и после полетов. Проведены неинвазивные многократные измерения состава тела у 15 космонавтов в реальном масштабе времени. Выявлено перераспределение внеклеточной жидкости вдоль оси тела со снижением ее содержания в ногах и, наоборот, увеличением в области живота. Количество общей жидкости организма, а также внутриклеточный и внеклеточный объемы уменьшались по сравнению с дополетным уровнем. Тощая масса тела во время пребывания в невесомости также снижалась, при этом жировая составляющая массы тела возрастала.*

Ключевые слова: космический полет, невесомость, биоимпедансный анализ, жидкостные сектора организма, состав тела человека.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015, Т. 49. № 1. С. 19–25.

Перестройка водно-солевого обмена и изменения в составе тела в условиях невесомости определяют развитие послеполетной ортостатической неустойчивости и других явлений, неблагоприятных для сердечно-сосудистой системы [1]. Исследования закономерностей и механизмов перестройки инфраструктуры жидкостных пространств в условиях космического полета (КП) необходимы для разработки мероприятий по дозированному и индивидуальному использованию средств коррекции гидратационного статуса космонавтов с целью повышения их послеполетной ортостойчивости.

Однако до настоящего времени изучение состава тела, и в том числе жидкостных пространств организма, в космических экспедициях было затруднено из-за отсутствия неинвазивных и совместимых с условиями КП методов. В клинических условиях такие исследования проводятся с помощью внутривенного введения специфических маркеров и их последующей химической идентификацией, что затрудняет использование этих методов в условиях орбитального полета. Преимущества неинвазивного биоимпедансного анализа по сравнению с другими методами определения состава тела обуславливаются его безопасностью и атравматичностью [2, 3].

Основной задачей эксперимента «Спрут-2» являлось исследование динамики состава тела, в том числе и структуры жидкостных секторов организма человека в условиях многомесячного КП. Биоимпедансометрические исследования были проведены на борту Международной космической станции (МКС) с участием российских космонавтов. Предварительно космический эксперимент (КЭ) был рассмотрен и одобрен Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН в установленном порядке, а от каждого космонавта, принимавшего участие в эксперименте в качестве обследуемого, было получено Информированное согласие.

### Методика

Биоимпедансный анализ (БИА) основан на измерении электрической проводимости тканей тела при действии электрического тока различной частоты. Например, импеданс тела при сравнительно низкой частоте тока (20 кГц) отражает количество внеклеточной жидкости, а импеданс при высокой частоте (500 кГц) – объем общей жидкости организма [2, 3]. В большинстве биоимпедансных исследований состава тела в целом, чаще всего используется отведение: правое запястье – правый голеностоп. При регистрации перераспределения жидкости между регионами (сегментами) тела применяют полисегментные биоимпедансные методы, включающие измерения сопротивлений отдельных регионов тела [2, 4, 5].

Для получения данных о составе тела человека, и в том числе о жидкостных секторах, в условиях невесомости был создан портативный биоимпедансометр «Спрут-2» [6], использующий полисегментный принцип БИА и заменивший на борту орбитальной станции (ОС) работавший там ранее импедансометр [7, 8]. В бортовом приборе используется 5 пар электродов (токовый и потенциальный), что обеспечивает регистрацию импеданса 7 регионов тела: обеих рук, обеих ног, абдоминальной (живот) и торакальной (грудь) частей туловища, а также головы с шеей. Импедансометр имеет кабель, оснащенный цветными кнопочными разъемами для подключения стандартных одноразовых

| Регионы     | Импеданс Z (Ом)  |       | Объем региона (л) | Объемы жидкостей (л) |       |       | Доля суммарного объема (%)                                            |      |      |
|-------------|------------------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------|-----------------------------------------------------------------------|------|------|
|             | НЧ               | ВЧ    |                   | ВКЖ                  | ОВТ   | КЖ    | ВКЖ                                                                   | ОВТ  | КЖ   |
| Голова      | 54,9             | 45,4  | 3,95              | 0,63                 | 1,46  | 0,82  | 3,8                                                                   | 3,6  | 3,5  |
| Грудь       | 5,4              | 3,1   | 19,87             | 5,78                 | 14,09 | 8,31  | 34,5                                                                  | 34,8 | 35,1 |
| Живот       | 32,7             | 25,1  | 17,25             | 2,90                 | 6,68  | 3,78  | 17,3                                                                  | 16,5 | 16,0 |
| Туловище    | 38,1             | 28,2  | 37,12             | 8,68                 | 20,77 | 12,09 | 51,8                                                                  | 51,4 | 51,0 |
| Руки        | 210,7            | 156,3 | 5,04              | 2,20                 | 4,83  | 3,14  | 13,1                                                                  | 13,2 | 13,2 |
| Правая      | 191,0            | 141,4 | 2,52              | 1,20                 | 2,92  | 1,72  | 7,2                                                                   | 7,2  | 7,3  |
| Левая       | 230,4            | 171,2 | 2,52              | 1,00                 | 2,41  | 1,42  | 6,0                                                                   | 6,0  | 6,0  |
| Ноги        | 215,5            | 157,5 | 21,93             | 5,23                 | 12,89 | 7,65  | 31,3                                                                  | 31,9 | 32,3 |
| Левая       | 220,9            | 162,1 | 10,96             | 2,55                 | 6,25  | 3,70  | 15,2                                                                  | 15,5 | 15,6 |
| Правая      | 210,1            | 152,9 | 10,96             | 2,68                 | 6,63  | 3,95  | 16,0                                                                  | 16,4 | 16,7 |
| Сумма       |                  |       | 77,0              | 16,7                 | 40,4  | 23,7  |                                                                       |      |      |
| Состав тела | Масса тела (кг)  |       | 78,0              | ВКЖ (л)              |       | 19,5  | <div>Курсор</div> <div>&lt;&lt; &lt; &gt; &gt;&gt;</div> <div>1</div> |      |      |
|             | ТМ (кг)          |       | 70,9              | ОВТ (л)              |       | 51,9  |                                                                       |      |      |
|             | ЖМ (кг)          |       | 7,1               | КЖ (л)               |       | 32,4  |                                                                       |      |      |
|             | Фаз. угол (град) |       | 8,84              | Осн. обмен (ккал)    |       | 2080  |                                                                       |      |      |

Рисунок. Окно программы с табличным представлением результатов обследования с помощью бортового биоимпедансометра

ЭКГ-электродов, которые накладываются на лоб, а также на наружные и внутренние поверхности запястий и голеней. Прибор во время проведения сеанса эксперимента крепился на спине обследуемого, а управление сеансом осуществлялось через экран компьютера. Во время сеанса обследования после наложения электродов производили запись данных в течение 1 мин. Учитывая важность местоположения электродов при сеансе импедансометрии, их размещение на запястьях, голенях и на лбу ориентировалось по анатомическим признакам, что позволяло накладывать электроды в то же самое место при повторных сеансах.

Математический аппарат для расчета параметров состава тела из измеренных величин импеданса основан на общепринятых и многократно верифицированных формулах [2, 3]. Тощая (безжировая) масса тела определялась с помощью импедансометра, а количество жира рассчитывалась по разнице общей и тощей массы тела. Для расчета основных жидкостных объемов организма (в л) использовались антропометрические параметры обследуемого, включающие массу тела (в кг), а также рост и размеры (длина и окружность) сегментов тела (в см).

Во время до- и послеполетного обследования масса тела космонавтов измерялась на обычных медицинских весах, а во время КП на бортовом измерителе массы тела (ИМТ-1). По окончании сеанса импедансометрии в одном из окон программы отображались основные интегральные параметры состава тела, такие, как масса тела (МТ); тощая масса тела (ТМ) и жировая масса тела (ЖМ); объем общей жидкости тела (ОЖТ); внеклеточный объем жидкости (ВКЖ) и объем клеточной жидкости (КЖ). На

рисунке в качестве примера представлено окно программы с результатами одного из обследований с помощью бортового биоимпедансометра с табличным представлением данных. Кроме вышеперечисленных параметров, в окне показаны значения импеданса для всех исследованных регионов по низкой (НЧ) и высокой частоте (ВЧ), а также количество жидкости в этих регионах (в л) и их доля (в %) от суммарного объема того или иного жидкостного сектора организма.

В эксперименте приняли участие 15 российских космонавтов, которые в ходе полугодовых полетов на борту ОС проводили самообследование с 30-суточным интервалом между сеансами. Таким образом, средняя продолжительность космических экспедиций составила

$155 \pm 5$  сут, и за это время каждый космонавт проводил по 4–5 сеансов эксперимента. Кроме того, импедансометрическое обследование космонавтов проводили также за 30 сут до старта (фоновый период) и на 1-е и 7-е послеполетные сутки. Каждый раз обследование проводили в утренние часы суток, натошак. Во время КП космонавт находился в стандартной позе «свободного парения», а при обследовании до и после КП – в положении «лежа на спине». До начала очередного бортового сеанса в компьютер вводились только новые данные о массе тела обследуемого.

Первичная обработка получаемой информации производилась автоматически, в последующем математическому анализу подвергали отдельные параметры состава тела и жидкостных секторов организма, а также соотношения импедансов и расчетных величин. Сопоставление исследуемых параметров проводилось по изменениям индивидуальных значений каждого из них, выраженных как в абсолютных цифрах, так и в процентах к исходному, дополетному уровню. Кроме того, усреднялись индивидуальные данные и их отклонения от фоновых величин как по отдельным показателям, так и по срокам проведения эксперимента.

Все полученные результаты обрабатывались стандартными методами вариационной статистики с использованием критериев Стьюдента и Уилкоксона [9], а при сравнении среднegrupповых данных учитывались индивидуальные отклонения того или иного показателя (в %). Достоверность различий оценивали с помощью статистических критериев для связанных выборок при 5 %-ном уровне значимости ( $p \leq 0,05$ ).

Таблица 1

**Динамика среднегрупповых показателей состава тела (в кг) в различные сроки обследования (М ± m, n = 15)**

| Сроки обследования | МТ         | ТМ          | ЖМ        | ОЖТ / МТ    |
|--------------------|------------|-------------|-----------|-------------|
| До КП (фон)        | 82,3 ± 1,3 | 75,2 ± 0,9  | 7,0 ± 0,9 | 0,67 ± 0,01 |
| 1-й месяц КП       | 79,8 ± 1,3 | 72,5 ± 0,8  | 8,0 ± 0,9 | 0,66 ± 0,01 |
| 2-й месяц КП       | 79,7 ± 1,3 | 72,3 ± 1,4  | 6,9 ± 0,7 | 0,67 ± 0,01 |
| 3-й месяц КП       | 79,2 ± 1,4 | 72,3 ± 1,3  | 7,4 ± 0,9 | 0,66 ± 0,01 |
| 4-й месяц КП       | 78,8 ± 1,4 | 71,5 ± 1,3* | 7,2 ± 1,0 | 0,67 ± 0,01 |
| 5-й месяц КП       | 80,0 ± 1,3 | 73,2 ± 0,8  | 7,0 ± 1,1 | 0,67 ± 0,01 |
| 1-е сутки после КП | 79,7 ± 1,4 | 70,8 ± 1,1* | 8,8 ± 0,9 | 0,66 ± 0,01 |
| 7-е сутки после КП | 80,2 ± 1,3 | 75,3 ± 1,3  | 5,6 ± 0,8 | 0,68 ± 0,01 |

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: \* – достоверные сдвиги по сравнению с фоном (критерий Стьюдента; p < 0,05).

Таблица 2

**Динамика среднегрупповых показателей гидратационного статуса (в л) в различные сроки обследования (М ± m, n = 15)**

| Сроки обследования | ОЖТ         | ВКЖ         | КЖ          | ОЖТ/ВКЖ     |
|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| До КП (фон)        | 55,0 ± 0,7  | 20,9 ± 0,3  | 34,1 ± 0,4  | 2,63 ± 0,01 |
| 1-й месяц КП       | 53,1 ± 0,6  | 19,9 ± 0,2* | 33,1 ± 0,4  | 2,67 ± 0,01 |
| 2-й месяц КП       | 52,9 ± 1,0  | 19,9 ± 0,4* | 33,1 ± 0,7  | 2,67 ± 0,02 |
| 3-й месяц КП       | 53,0 ± 0,9  | 20,0 ± 0,3  | 32,9 ± 0,6  | 2,65 ± 0,01 |
| 4-й месяц КП       | 52,8 ± 0,9* | 20,0 ± 0,4  | 32,8 ± 0,7* | 2,65 ± 0,01 |
| 5-й месяц КП       | 53,6 ± 0,6  | 20,3 ± 0,2  | 33,2 ± 0,4  | 2,66 ± 0,01 |
| 1-е сутки после КП | 52,2 ± 0,9* | 19,9 ± 0,4* | 32,3 ± 0,6* | 2,63 ± 0,01 |
| 7-е сутки после КП | 55,0 ± 1,0  | 21,3 ± 0,4  | 33,8 ± 0,6  | 2,59 ± 0,01 |

Таблица 3

**Среднегрупповые значения (М ± m) исходных (дополетных) регионарных импедансов (в Ом; n = 15) и их максимальный сдвиг во время КП (в Ом и %)**

| Измеряемый регионарный импеданс | До КП (фон) | Максимальный сдвиг в КП | Δ %           |
|---------------------------------|-------------|-------------------------|---------------|
| Импеданс головы                 | 49,0 ± 1,4  | 51,5 ± 1,7              | + 6,8 ± 5,5   |
| Импеданс груди                  | 4,77 ± 0,1  | 4,93 ± 0,4              | + 3,0 ± 7,0   |
| Импеданс живота                 | 30,0 ± 0,6  | 28,3 ± 0,6              | – 5,0 ± 1,6*  |
| Импеданс ног                    | 186,4 ± 4,7 | 212,5 ± 5,5             | + 14,1 ± 1,8* |

### Результаты и обсуждение

В дополетный фоновый период при проведении эксперимента «Спрут-2» осуществляли антропометрические измерения тела космонавтов, а также регистрацию каждого космонавта с внесением в электронную базу прибора имени, пола, возраста и всех антропометрических параметров. Все параметры у обследованных находились в пределах физиологической нормы, характерной для репрезентативной выборки, полученной среди здоровых мужчин среднего возраста с использованием общепринятых инвазивных методик [10]. В среднем по группе (15 человек,  $M \pm m$ ) были получены следующие результаты: рост –  $178,0 \pm 1,2$  см; масса тела –  $82,3 \pm 1,3$  кг; ТМ –  $75,2 \pm 0,9$  кг; ЖМ –  $7,0 \pm 0,9$  кг; количество ОЖТ –  $55,0 \pm 0,7$  л; ВКЖ –  $20,9 \pm 0,3$  л; объем КЖ был равен  $34,1 \pm 0,4$  л (табл. 1, 2). Среднегрупповые значения регионарных (сегментарных) импедансов представлены в табл. 3, и эти значения также соответствовали норме [2]. Таким образом, при фоновом обследовании космонавтов антропометрические параметры состава тела и сегментарные импедансы соответствовали общепринятой норме для здорового человека, что лишний раз подтверждает достоверность и точность импедансометрических замеров.

#### *Динамика состава тела во время КП*

Общая масса тела, так же как тощая и жировая составляющие массы тела, за время КП незначительно изменялась, при этом не наблюдалось прогрессирующих тенденций. В табл. 1 приведена динамика среднегрупповых показателей состава тела космонавтов в различные периоды обследования (ежемесячно). Как видно, общая масса тела во время КП незначительно уменьшалась (в среднем на 2,7–4,1 %). Если суммировать максимальные потери в составе тела у каждого обследуемого отдельно, а затем усреднить эти величины, то окажется, что во время КП максимальный дефицит массы тела составил в среднем по группе ( $n = 15$ )  $5,6 \pm 0,9$  %, что достоверно значимо по сравнению с фоном ( $p < 0,05$ ).

Величина ТМ во время КП также снижалась (в среднем на 2,7–4,9 %), а максимальные потери безжировой ткани составили в среднем по группе  $6,6 \pm 0,7$  % ( $p < 0,01$ ). В то же время наблюдалось увеличение содержания жира в теле у 14 из 15 космонавтов, но с большим разбросом индивидуальных данных как по величинам, так и по срокам этих сдвигов, что не позволило провести статистический анализ. При этом соотношение ОЖТ и МТ существенно и значимо не изменялось, что отражало стабильность инфраструктуры тела. Коэффициент ОЖТ/МТ во время КП, а также в 1-е послеполетные сутки оставался практически на дополетном уровне при средней величине  $0,67 \pm 0,01$ , что свидетельствует

об отсутствии физиологически значимых изменений состава тела. Однако при анализе индивидуальных данных видно, например, увеличение жировой составляющей МТ, а поскольку жировая ткань гидрофобна, то увеличение жира нивелирует потерю жидкости и ТМ. Следует также отметить, что изменение состава тела происходило не у всех обследуемых одновременно, поэтому ежемесячный среднегрупповой показатель мало отличается от фона при сохранении основных тенденций.

Ранее при длительных космических экспедициях наблюдали снижение объема голени практически у всех космонавтов [11], что согласуется с нашими данными об уменьшении мышечной массы во время орбитального полета. В то же время полученные результаты говорят о том, что нельзя судить о динамике состава тела только по результатам взвешивания, так как МТ может оставаться без изменений, несмотря на уменьшение содержания жидкости и мышечной ткани из-за увеличения количества жира. Обращает на себя внимание, что у всех 15 космонавтов, несмотря на индивидуальные особенности, наблюдались однонаправленные изменения состава тела. Так, у всех обследуемых отмечалось снижение за время орбитального полета МТ при одновременной убыли мышечной массы и увеличении количества жира.

#### *Динамика жидкостных сред во время КП*

В табл. 2 представлена динамика среднегрупповых показателей гидратационного статуса у обследованных космонавтов в различные сроки эксперимента. Содержание ОЖТ, а также количество ВКЖ и КЖ во время КП уменьшалось у всех обследованных лиц, но в разные сроки пребывания на орбите. При этом количество ОЖТ снижалось в среднем по группе на 2,5–4,0 % в различные сроки КП, объем ВКЖ – на 2,9–4,8 %, а объем КЖ в те же сроки уменьшался в среднем от 2,6 до 3,8 % по сравнению с дополетными значениями. Если же вычленим из общей выборки максимальные сдвиги за весь период КП, то окажется, что ОЖТ снижалась на  $6,6 \pm 0,7$  % ( $p < 0,05$ ), КЖ – на  $6,1 \pm 0,7$  % ( $p < 0,05$ ), а ВКЖ – на  $7,6 \pm 0,9$  % ( $p < 0,05$ ).

Уменьшение внеклеточного объема было более заметно, потому что у некоторых из космонавтов оно было значительно существеннее (10,5–14,9 %) среднегрупповых величин. При этом с увеличением продолжительности КП не было отмечено прогрессирующих изменений, т.е. нарастания дефицита в жидкостных секторах организма. Скорее наоборот, к 5-му месяцу пребывания в невесомости объем этих секторов даже немного увеличивался по сравнению с предыдущим сроком обследования (4-й месяц), что свидетельствует о стабилизации адаптационных сдвигов. Кроме того, коэффициент ОЖТ/ВКЖ демонстрирует стабильность гидратационного статуса и говорит о равномерной убыли жидкости из



различных водных секторов организма в условиях длительного КП (см. табл. 2).

Необходимо особо отметить, что у всех обследованных космонавтов происходили однонаправленные изменения, но с индивидуальными колебаниями, причем у большинства из них (10 человек) максимальные величины дефицита жидкостных сред отмечены либо в первые 2 мес пребывания на орбите, либо сразу после возвращения на Землю, что свидетельствует об особой интенсивности воздействия на водно-солевой обмен в период первоначальной перестройки водно-электролитного гомеостаза, а также на заключительном этапе КП и при приземлении.

Исследования жидкостных пространств в условиях невесомости и при антиортостатической гипокинезии (АНОГ) неоднократно выявляли сходное уменьшение всех жидкостных секторов [1, 12], что указывает на то, что адаптация организма к необычным условиям сопровождается формированием гипогидратации организма. Ранее проведенное динамическое наблюдение также показало, что во время длительного пребывания человека в условиях орбитального полета происходит снижение объемов жидкостных секторов организма [7, 8], что дополнительно свидетельствует об объективности полученных результатов. Однако надо учитывать, что в ранее проведенных исследованиях не было возможности регистрировать содержание жидкости в области головы и шеи.

#### *Перераспределения жидкостных сред организма в условиях невесомости*

Для того чтобы оценить характер перераспределения ВКЖ вдоль оси тела в условиях невесомости и ярче показать эти изменения, был использован расчет максимальных сдвигов. Эти сдвиги были показаны как по величине изменения регионарных импедансов, так и по изменениям регионарных перемещений объема ВКЖ во время длительного пребывания на орбите. Как видно из табл. 3, импедансы (в Ом) области головы, груди и ног возрастают, в то время как импеданс области живота достоверно и значимо снижался. Такая динамика импедансов свидетельствует о перемещении жидкости вдоль оси тела. При пересчете величин импедансов в объем ВКЖ оказалось, что в условиях невесомости содержание жидкости в ногах снижается максимально на  $12,0 \pm 1,4 \%$  ( $p < 0,05$ ), при этом ВКЖ области живота максимально возрастает в среднем по группе на  $5,6 \pm 1,8 \%$  ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что среднегрупповые изменения содержания жидкости в области головы и груди незначительны из-за больших индивидуальных колебаний. Персональными особенностями обусловлены и различные сроки развития максимальных сдвигов во время КП, поэтому невозможно выявить единый срок для всей группы обследованных лиц. Тем не

менее вполне очевидно, что во время длительного пребывания на орбите наблюдается перераспределение внеклеточной жидкости из ног в область живота.

#### *Послеполетная динамика состава тела*

В послеполетный период КЭ «Спрут-2» проводился обычно на 1-е и 7-е сутки после приземления. На 1-е сутки после окончания КП снижение уровня гидратации организма было более выражено, чем во время полета. Так, ОЖТ, ВКЖ и КЖ были достоверно ( $p < 0,03$ ) уменьшены на  $5,1 \pm 0,7$ ,  $4,8 \pm 0,7$  и  $5,3 \pm 0,9 \%$  соответственно по сравнению с дополетными значениями. Если судить по среднегрупповым данным, представленным в табл. 1 и 2, в этот ранний послеполетный период у обследуемых лиц изменялся и состав тела. Видно, что ТМ снижалась в среднем на 4,4 кг, в то же время МТ уменьшилась только на 2,5 кг, потому что жировая масса возросла в среднем на 1,9 кг. Одновременно ОЖТ снизилась на 2,8 л, при этом ВКЖ – на 1,0 л, а КЖ – на 1,8 л. Все это свидетельствует о том, что во время полугодового полета происходит уменьшение безжировой МТ и увеличение жировой составляющей. Такое замещение части ТМ на жир, который практически не содержит жидкости и способен быстро накапливаться, привело к тому, что среднегрупповая потеря МТ составила 2,5 кг или 3,0 % от фоновой величины (см. табл. 1, 2).

Как указано выше, у всех 15 космонавтов происходили однонаправленные изменения, но с индивидуальными колебаниями. Значение индивидуальных особенностей сказывалось на сроках и величинах развивающегося в невесомости гипогидратированного состояния, но факт снижения содержания жидкости в организме во время длительного КП не вызывает сомнений. Максимальные же величины дефицита жидкостных сред отмечены сразу после возвращения космонавтов на Землю, однако уже через неделю все исследуемые параметры имели отчетливую тенденцию к восстановлению обычного, дополетного состояния, что обеспечивает адекватный земным условиям водно-солевой гомеостаз и стабилизацию гемодинамики.

Таким образом, впервые при использовании метода биоимпедансометрии получены веские и прямые доказательства развития гипогидратации организма в условиях длительного пребывания человека на орбите и определена динамика состава тела человека в реальном масштабе времени непосредственно в условиях длительных космических экспедиций. Выявлено перераспределение внеклеточного объема жидкости вдоль оси тела со снижением ее содержания в ногах и, наоборот, увеличением в области живота.

Состояние пониженной гидратации организма не прогрессирует и сохраняется в течение всего времени пребывания на орбите, отражая стабилизацию



водного и электролитного гомеостаза на ином уровне, что, однако, играет негативную роль в развитии послеполюетной ортостатической неустойчивости. Динамика жидкостных объемов, а также жировой и мышечной МТ человека в длительном КП не противоречит устоявшимся представлениям о характере адаптации водно-солевого обмена к условиям невесомости [1, 7, 12]. При этом также надо принять во внимание, что измерение массы тела космонавтов проводилось на одном и том же бортовом измерителе массы, а импедансометрическое обследование всегда было строго регламентировано, что снижало вероятность систематических ошибок.

Важно отметить, что метод биоимпедансометрии неинвазивный, а значит, и безопасный, и легко выполнимый, при этом он обеспечивает первичную обработку получаемой информации непосредственно в ходе обследования. Поэтому проведение эксперимента «Спрут-2» открывает перспективу использования метода регионарной импедансометрии в качестве штатного метода оперативного медицинского контроля во время длительных, в том числе и межпланетных, космических экспедиций. Метод БИА позволяет дать количественную оценку содержания жидкости в отдельных регионах тела на любом из этапов КП и при использовании средств штатной профилактики (физические тренировки, ОДНТ, манжеты, противоперегрузочный костюм и др.), что поможет осознанно регламентировать эти мероприятия.

Кроме того, неинвазивный и портативный БИА может быть полезен для «медицины катастроф», а также для занимающихся спортом, аэробикой и контролем МТ, так как позволяет определять не только объемы жидкостных секторов организма, но и тощую, и жировую составляющие МТ, что важно при дозировании режима питания и тренировок.

#### Выводы

1. Впервые с помощью бортового импедансометра удалось изучить динамику состава тела, включая жидкостные сектора организма человека, непосредственно в условиях длительного орбитального КП. Пребывание человека в этих условиях способствует формированию гипогидратационного состояния организма и уменьшению ТМ.

2. Состояние пониженной гидратации организма не прогрессирует, отражая стабилизацию водного и электролитного гомеостаза на ином уровне в течение всего времени пребывания на орбите.

3. В условиях невесомости наблюдалось перераспределение внеклеточной жидкости вдоль оси тела со снижением ее содержания в ногах и одновременным увеличением в области живота.

4. У всех 15 участников эксперимента наблюдались однонаправленные и сходные изменения

состава тела во время длительного КП и в ранний послеполюетный период.

5. Через неделю после окончания 6-месячного орбитального полета все исследуемые параметры состава тела имели отчетливую тенденцию к восстановлению допелетного состояния.

*Авторы выражают благодарность космонавтам, принявшим участие в этой работе, а также сотрудникам ГНЦ РФ – ИМБП РАН; ФГБУ «НИИ ЦПК им. Ю.А. Гагарина»; ОАО РКК «Энергия» им. С.П. Королева и ЦУПа за содействие в проведении космического эксперимента.*

#### Список литературы

1. Носков В.Б. Ортостатическая толерантность после космических полетов и моделирующих воздействий: новые подходы к оценке и профилактике // *Авиакосм. и экол. мед.* 2011. Т. 45. № 2. С. 16–25.

Noskov V.B. Orthostatic tolerance after space flight and model experiments: new approaches to evaluation and prevention // *Hum. Physiol.* 2014. V. 40. № 7. P. 10–18.

2. Николаев Д.В., Смирнов А.В., Бобринская И.Г., Руднев С.Г. Биоимпедансный анализ состава тела человека. М., 2009.

Nikolaev D.V., Smirnov A.V., Bobrinskaya I.G., Rudnev S.G. Bioelectric impedance analysis of human body composition. Moscow, 2009.

3. Jaffrin M.Y., Morel H. Body fluid volumes measurements by impedance: A review of bioimpedance spectroscopy and bioimpedance analysis methods // *Med. Eng. Phys.* 2008. V. 30. № 1. P. 1257–1269.

4. Wotton M.J., Thomas B.J., Cornish B.H., Ward L.C. Comparison of whole body and segmental bioimpedance methodologies for estimating total body water // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000. V. 904. P. 181–186.

5. Danilov A.A., Kramarenko V.K., Nikolaev D.V. et al. Sensitivity field distributions for segmental bioelectrical impedance analysis based on real human anatomy // *J. Phys.* 2013. V. 434. P. 012001.

6. Носков В.Б., Николаев Д.В., Смирнов А.В. и др. Прибор для неинвазивного определения состава тела человека в условиях космического полета // *Мед. техника.* 2014. № 4. С. 40–43.

Noskov V.B., Nikolaev D.V., Smirnov A.V. et al. Device for noninvasive determination of human body composition under spaceflight conditions // *Biomedical Engineering.* 2014. V. 48. № 4. P. 218–220.

7. Носков В.Б., Ничипорук И.А., Григорьев А.И. Динамика жидкостных сред и состава тела в условиях длительного космического полета (биоимпедансный анализ) // *Авиакосм. и экол. мед.* 2007. Т. 41. № 3. С. 3–7.

Noskov V.B., Nichiporuk I.A., Grigoriev A.I. Dynamics of liquid media and body composition under the conditions of extended space flight (bioimpedance analysis) //

Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2007. V. 41. № 3. P. 3–7.

8. Носков В.Б., Ничипорук И.А. Неинвазивное определение жидкостных секторов организма человека в условиях космического полета (эксперимент «Спрут») // Международная космическая станция. 2011. М. Т. 2. С. 235–248.

Noskov V.B., Nichiporuk I.A. Noninvasive assessment of body fluid volumes in spaceflight // International Space Station. 2011. Moscow, V. 2. P. 235–248.

9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К., 2001.

Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. Statistical methods in biomedical investigations with using the Excel. K., 2001.

10. Человек: Медико-биологические данные: Пер. с англ. М., 1977.

The Human: biomedical data. Moscow, 1977.

11. Талавринов В.А., Носков В.Б., Алферова И.В. и др. Антропометрические исследования // Орбитальная станция «Мир». 2001. М. Т. 1. С. 258–267.

Talavrinov V.A., Noskov V.B., Alferova I.V. et al. Anthropometric research // Space Station «Mir». Moscow, 2001. V. 1. P. 258–267.

12. Leach-Huntoon C., Grigoriev A.I., Natochin Yu.V. Fluid and electrolyte regulation in spaceflight // AASP. San Diego, USA, 1998. V. 94. 220 p.

## HUMAN BODY COMPOSITION DURING EXTENDED STAY IN MICROGRAVITY

**Noskov V.B., Nichiporuk I.A., Vasilieva G.Yu., Smirnov Yu.I.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2015. V. 49. № 1. P. 19–25

*According to the Sprut-2 protocol, bio-impedancemetry of ISS cosmonauts was performed once a month and also before and after mission. Multiple non-invasive body measurements were carried out in 15 cosmonauts in real time. Relocation of extracellular liquid along the body axis led to its reduction in legs and, on the contrary, an increase in the abdomen. Volumes of total body liquid as well as intra- and extracellular liquids decreased in comparison with pre-flight levels. Lean body mass also became less in microgravity, whereas fat mass showed an increase.*

Key words: space flight, microgravity, bio-impedance analysis, liquid sectors of organism, human body composition.

Поступила 06.11.2014

УДК 613.693+612.46:616.633.96

## БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ МОЧИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ ПОСЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ЛОКОМОТОРНОЙ НАГРУЗКИ ПЕРЕМЕННОЙ МОЩНОСТИ

Пастушкова Л.Х.<sup>1</sup>, Фомина Е.В.<sup>1,4</sup>, Лысова Н.Ю.<sup>1</sup>, Кононихин А.С.<sup>2</sup>, Тийс Е.С.<sup>3</sup>, Ларина И.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

<sup>3</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия

<sup>4</sup>Московский педагогический государственный университет

E-mail: pastushkova@imbp.ru

*В работе проанализированы данные о влиянии физической нагрузки, являющейся штатным тестом для оценки работоспособности космонавтов, на функциональное состояние почек и белковый состав мочи. Исследования проведены с участием 10 здоровых лиц. После нагрузки скорость выведения белка почками возрастала, причем частота появления в моче 4 белков (из 9) не менялась после физической нагрузки; 2 – альфа-метилацил-коэнзим А рацемазы и кубулина – увеличивалась и 3 – снижалась (калликреин-1, остеокальцин и витамин К-зависимый белок Z). Из 24 белков, превышающих по молекулярной массе альбумин, 7 определялись в моче после физической нагрузки чаще, 6 – с той же частотой, что и до выполнения физической нагрузки, и ни один из них – реже, что демонстрирует снижение селективности клубочкового барьера почек во время физической нагрузки.*

Ключевые слова: протеинурия, физическая нагрузка, белковый состав мочи, хроматомасспектрометрический анализ белков.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 26–31.

Во время выполнения физической нагрузки (ФН) в функционирующих мышцах сосуды резко расширяются. Это происходит главным образом за счет накопления в них метаболитов, таких, как H<sup>+</sup>, лактат, K<sup>+</sup> и др. Вследствие этого возникает перераспределительная реакция кровотока: чем большее число мышц сокращается, тем большая доля сердечного выброса поступает к ним. Как правило, физические упражнения умеренной интенсивности приводят к некоторому увеличению диуреза, в то время как максимальная мышечная нагрузка сопровождается его снижением. Изменения диуреза зависят от уменьшения почечного кровотока, роста секреции антидиуретического гормона и увеличения проницаемости канальцев, а также от моторно-висцеральных (ренальных) рефлексов.

С повышением уровня тренированности спортсмена устойчивость функции почек повышается, уменьшение кровотока наступает после значительно больших нагрузок, а гломерулярная фильтрация

поддерживается на неизменном уровне даже при ФН субмаксимальной интенсивности [1]. Однако факторы регуляции уровня экскреции белка почкой не описаны. Остается открытым вопрос о пределах варибельности и механизмах влияния процессов, лежащих в основе мочеобразования, на уровень экскреции белка в норме. Изучение влияния локомоторной нагрузки ступенчато повышающейся мощности на белковый состав мочи явилось целью данной работы.

### Методика

В исследовании участвовали 10 здоровых студентов университета, с высоким уровнем двигательной активности и добровольно подписавших Информированное согласие на участие в исследовании. Индекс массы тела (индекс Кетле) добровольцев составил  $22,6 \pm 1,7$ .

В качестве тестирующей нагрузки был выбран пассивный локомоторный тест со ступенчато повышающейся мощностью, являющийся штатным тестом для оценки уровня работоспособности космонавтов в ходе космического полета. Тест включает 3 мин разминочной ходьбы, 2 мин медленного бега, 2 мин бега со средней скоростью, 1 мин бега с максимальной скоростью и 3 мин заключительный ходьбы. Общая длительность локомоторной пробы составляет 11 мин; отличительной особенностью теста является стандартизация последовательности и длительности каждой из 3 ступеней нагрузки и произвольный выбор тестируемым интенсивности работы на каждой ступени [2]. Газовый состав выдыхаемого воздуха исследовали методом эргоспирометрии (Oxicon Mobile).

Образцы мочи собирали до выполнения теста и после него путем произвольного мочеиспускания (до получаса после ФН). В этот период времени дополнительная жидкость обследуемыми не принималась, они находились в спокойном состоянии. Подготовку образцов и их хроматомасспектрометрический анализ выполняли, как это было описано ранее [3]. Кроме белкового состава, в образцах

Таблица 1

Средние значения основных параметров функций почки до и после ФН ( $M \pm \sigma$ )

| Показатели                                                | До ФН           | После ФН          |
|-----------------------------------------------------------|-----------------|-------------------|
| Выведение жидкости, мл/мин                                | $0,24 \pm 0,11$ | $0,42 \pm 0,1^*$  |
| Скорость экскреции натрия, мэкв/мин                       | $39 \pm 24$     | $48 \pm 19$       |
| Скорость экскреции калия, мэкв/мин                        | $18 \pm 12$     | $25 \pm 10$       |
| Концентрация осмотически активных веществ, мОсм/л         | $952 \pm 112$   | $942 \pm 102$     |
| Скорость экскреции осмотически активных веществ, мОсм/мин | $235 \pm 105$   | $347 \pm 124$     |
| Клиренс осмотически активных веществ, мл/мин              | $0,82 \pm 0,36$ | $1,22 \pm 0,43$   |
| Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин                   | $124 \pm 17$    | $114 \pm 18$      |
| Скорость экскреции белка почками, мкг/мин/кг              | $0,58 \pm 0,38$ | $2,13 \pm 0,93^*$ |

Примечание. СКФ рассчитывалась по Cockcroft – Gault; M – среднее арифметическое  $\sigma$  – среднеквадратичное отклонение;

\* –  $p < 0,05$ .

мочи определяли концентрации калия, натрия, осмотически активных веществ, белка. Общий белок определяли колориметрическим биуретовым методом. Осмоляльность мочи и плазмы определяли на анализаторе Varpo™ (Wescor, США), а натрий и калий – ион-селективным методом на биохимическом анализаторе EasyLyteQS фирмы MEDICA, США.

## Результаты и обсуждение

Средняя скорость бега участников эксперимента составила: на ступени медленного бега 6,5 км/ч, на ступени бега в среднем темпе 8,1 км/ч и на ступени быстрого бега  $10,5 \pm 1,7$  км/ч. В среднем за 11 мин теста они преодолели дистанцию в  $1161 \pm 122$  м.

Максимальное значение частоты сердечных сокращений (ЧСС) составляло  $181 \pm 4$  уд/мин и регистрировалось на ступени быстрого бега (за исключением одного случая, когда максимальная ЧСС была зарегистрирована уже на ступени среднего бега). Физиологическая стоимость ответа сердечно-сосудистой системы, рассчитанная как отношение ЧСС к максимальной скорости бега, составила  $17,4 \pm 3,6$  условных единиц.

Величина максимальной легочной вентиляции составила  $120,7 \pm 14$  л/мин и регистрировалась при беге со скоростью  $10 \pm 3$  км/ч, при этом значения ЧСС составляли  $178 \pm 14,9$  уд/мин, потребление кислорода  $3411 \pm 611,9$  мл/мин, выделение углекислого газа  $3718 \pm 680,8$  мл/мин.

Было выявлено достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение скорости минутного диуреза, с  $0,24 \pm 0,1$  до  $0,42 \pm 0,1$  мл/мин. Однако мы полагаем, данный показатель не превышал пределов естественной вариабельности в базальных условиях. Достоверных изменений остальных изученных характеристик почечных функций не выявлено (табл. 1).

В то же время скорость экскреции белка почками, нормированная на массу тела добровольцев, в ходе ФН увеличивалась.

Полученные результаты показали, что после локомоторного теста со ступенчато повышающейся мощностью от умеренной до субмаксимальной, при небольшом увеличении скорости мочеотделения и сохранении на прежнем уровне скорости клубочковой фильтрации среднегрупповой показатель экскреции общего белка с мочой достоверно повышался (см. табл. 1).

Был проанализирован качественный состав экскретируемых протеинов. Всего в образцах мочи участников эксперимента идентифицировали 84 различных белка. Основные группы белков, согласно базе данных Gene Ontology (GO), имели следующую тканевую принадлежность: костная ткань – 2, желудочно-кишечный тракт – 9, костный мозг – 1, почки – 9, поджелудочная железа – 4, печень – 20, кожа – 2, сердце – 5, предстательная железа – 4, кровь – 2, мышцы – 2 и селезенка – 2 белка. Таким образом, наибольшей группой по численному разнообразию белков, выявленных в моче, являлись белки печени (20 протеинов), по 9 белков принадлежали желудочно-кишечному тракту и почкам.

Анализ изменений выделения белков, экспрессируемых почкой, был проведен в связи с тем, что этот класс белков мог не подвергаться фильтрации в клубочке, попадая непосредственно в первичную мочу из тканей почек и мочевыводящих путей. Было выявлено 9 таких белков.

Анализ частоты выявления в образцах мочи белков, экспрессируемых почками и клетками мочевыводящей системы до и после ФН, показал, что среди 9 белков у 4 – частота выявления в моче после выполнения обследуемыми ФН не менялась; у 2 – альфа-метилацил-коэнзим А рацемазы и кубилина



– возростала, т.е. они выявлялись в пробах чаще, и 3 – реже (калликреин-1, остеопонтин и витамин К-зависимый белок Z).

Далее по данным литературы (с помощью ресурсов PubMed, UniProt, Gene Ontology) была проведена аннотация функций тех белков почек, которые менялись под влиянием ФН.

*Альфа-метилацил-коэнзим А рацемаза* (AMACR, P504S) является ферментом, который играет важную роль в бета-окислении разветвленных цепей жирных кислот и их производных [4–6]. Это объясняет повышенную экспрессию AMACR, например, при высоком уровне поступления разветвленных жирных кислот с пищей (с молочными продуктами или говядиной) [7].

*Кубулин* – это один из гликопротеиновых (мультилигандных) рецепторов (наряду с мегалином), являющихся мембранными белками, которые осуществляют эндоцитоз профильтровавшихся через клубочки почек белков через апикальную мембрану клеток проксимальных канальцев [8, 9].

*Калликреин-1* (KLK1) – калликреин (MB 28,890 Da) входит в ключевую протеолитическую систему, включающую калликреины, кининогены, рецепторы кининов, кининазы и участвующую в регуляции широкого спектра физиологических функций организма [10, 11]. Калликреин-1 (KLK1) синтезируется во многих органах, включая почки и артерии, где при его участии образуются вазодилататоры брадикинин и каллидин. В почках калликреины продуцируются в клетках дистальных канальцев, где и происходит высвобождение кининов [12]. Экспериментальные и клинические исследования показали обратную корреляцию между содержанием в моче KLK1 и показателями артериального давления.

*Остеопонтин* (MB 35,423 Da) – высокофосфорилированный гликопротеин, присутствующий во многих тканях и жидкостях организма, в основном экспрессируется в почках [13]. В моче остеопонтин является мощным ингибитором образования центров кристаллизации [14] роста и агрегации кристаллов оксалата кальция.

PROZ – это *витамин К-зависимый гликопротеин*, синтезируемый в печени и почках и секретируемый в плазму [15]. Основные его функции – связывание ионов кальция, активация эндопептидаз серинового типа. Он участвует в таких процессах, как коагуляция крови, внутриклеточный метаболизм белка, карбоксилирование пептидил-глутаминовой кислоты, посттрансляционные модификации белков, протеолиз [16–19].

Известно, что каждый белок включен не в один, а во множество процессов, происходящих в организме. Анализ активации или ослабления тех или иных процессов по представленности белков в биологических жидкостях – ввиду этого обстоятельства

является сложной задачей. Чтобы сузить область поиска, использовали информационный фильтр на основе базы данных BiNGO [20, 21]. Поскольку нас интересовали процессы, белки-участники которых в достаточной мере представлены в моче, было выполнено сравнение нашего списка с базой всех белков человека, сгруппированной по биологическим процессам. Были получены показатели кратного «обогащения», относительной доли белков определенного органа или жидкости тела по сравнению с относительной долей белков данного органа/жидкости тела, участвующего в данном процессе, в базе BiNGO, достоверность чего подтверждалась использованием поправки Бенджамини – Хокберга на множественное сравнение (Benjamini & Hochberg False Discovery Rate (FDR) correction). Было показано, что белки плазмы крови, мочи, желчи, а также печени значимо активнее представлены в исследуемых образцах мочи (доля белков для данного процесса больше, чем в базе). Далее выполнялось сравнение уже этих сокращенных списков процессов между собой (т.е. сравнение списков процессов до и после ФН), ограничивая, таким образом, область поиска только процессами, реагирующими на условия эксперимента.

Оказалось, что как число, так и характеристика процессов, в которых участвуют обнаруженные до и после ФН белки почек, были различными. Наиболее показательными были различия (до и после ФН), выявленные в числе процессов, участниками которых стали охарактеризованные выше белки. Так, они обнаруживались в отношении витамин К-зависимого гликопротеина (PROZ), альфа-метилацил-коэнзим А рацемазы (AMACR) и кубилина (CUBN). Ослабленными (неактивированными) процессами, с участием PROZ, были протеолиз, свертываемость крови, карбоксилирование пептидил-глутаминовой кислоты, посттрансляционные модификации белков, внутриклеточный метаболизм белка. Далее, с помощью базы данных BiNGO были проанализированы процессы, обеспечиваемые группами выявленных белков и специфические для фонового, перед нагрузкой, и последующего за ФН состояния.

Белки, синтезированные в различных тканях и органах человека и попадающие в кровь, могут преодолеть фильтр клубочков почек и оказаться в первичной моче. В отношении фильтрации молекул белков гломерулярный барьер (ГБ) обладает селективностью по размерам и зарядам их молекулы. Степень фильтрации белка не зависит от его биологической активности, а является функцией исключительно физических характеристик самой молекулы (размер, заряд, форма), а также клубочкового фильтра (скорость клубочковой фильтрации, избирательная проницаемость) [22]. Поскольку считается, что низкомолекулярные белки (до 60–67 кДа,



Таблица 2

**Белки мочи, выявленные до и после ФН, с молекулярным весом свыше такового у альбумина**

| Идентификатор белка по SWISS-PROT | Название белка, по SWISS-PROT                      | Мол. вес | Присут. до | Присут. после |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------|----------|------------|---------------|
| ATRN_HUMAN                        | Attractin                                          | 158,537  | 1          | 0 ↓           |
| CADH1_HUMAN                       | Cadherin-1                                         | 97,456   | 8          | 8 =           |
| CD44_HUMAN                        | CD44 antigen (изоформы)                            | 81,538   | 5          | 8 ↑           |
| CO6A1_HUMAN                       | Collagen alpha-1(VI) chain                         | 108,529  | 1          | 0 ↓           |
| COFA1_HUMAN                       | Collagen alpha-1(XV) chain                         | 141,72   | 0          | 2 ↑           |
| CUBN_HUMAN                        | Cubilin                                            | 398,736  | 0          | 1 ↑           |
| EGF_HUMAN                         | Pro-epidermal growth factor                        | 133,994  | 7          | 7 =           |
| FIBA_HUMAN                        | Fibrinogen alpha chain                             | 94,973   | 0          | 1 ↑           |
| GBA2_HUMAN                        | Non-lysosomal glucosylceramidase                   | 104,649  | 3          | 4 ↑           |
| GELS_HUMAN                        | Gelsolin                                           | 85,698   | 1          | 6 ↑           |
| HMCN1_HUMAN                       | Hemicentin-1                                       | 613,39   | 1          | 0 ↓           |
| ITIH4_HUMAN                       | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4       | 103,357  | 4          | 6 ↑           |
| KNG1_HUMAN                        | Kininogen-1                                        | 71,957   | 9          | 9 =           |
| LRP2_HUMAN                        | Low-density lipoprotein receptor-related protein 2 | 521,958  | 1          | 1 =           |
| LYAG_HUMAN                        | Lysosomal alpha-glucosidase                        | 105,324  | 2          | 4 ↑           |
| MMRN2_HUMAN                       | Multimerin-2                                       | 104,409  | 1          | 2 ↑           |
| NID1_HUMAN                        | Nidogen-1                                          | 136,377  | 1          | 0 ↓           |
| PDS5B_HUMAN                       | Sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog B   | 164,667  | 0          | 1 ↑           |
| PIGR_HUMAN                        | Polymeric immunoglobulin receptor                  | 83,284   | 3          | 5 ↑           |
| RGSL_HUMAN                        | Regulator of G-protein signaling protein-like      | 125,688  | 8          | 8 =           |
| ROBO4_HUMAN                       | Roundabout homolog 4                               | 107,457  | 1          | 0 ↓           |
| TRFE_HUMAN                        | Serotransferrin                                    | 77,064   | 4          | 8 ↑           |
| UFO_HUMAN                         | Tyrosine-protein kinase receptor UFO               | 98,336   | 4          | 3 ↓           |
| UROM_HUMAN                        | Uromodulin                                         | 69,761   | 10         | 10 =          |

т.е. меньшие, по ММ, чем альбумин) в основном свободно проходят через гломерулярный фильтр в почках, а фильтрация высокомолекулярных белков полностью ограничена [23], были отобраны выявленные в моче протеины с молекулярной массой, превышающей таковую у альбумина (табл. 2). Отметим, что большинство белков этой подгруппы было представлено *непочечными* белками (т.е. белками, поступившими в мочу из крови).

Если не принимать во внимание изменение на единицу (снижение/повышение) частоты появления крупных белков в моче в связи с выполнением ФН, анализ данных табл. 2 показал, что из 24 белков, превышающих по молекулярной массе альбумин и выявленных в моче участников эксперимента, 7 определялись в моче после ФН чаще, 6 – с той же частотой, что и до выполнения ФН, и ни один из них – реже. Это показывает, что селективность ГБ почек во время ФН снижалась и крупные протеины легче преодолевали клубочковый фильтр.

В то же время скорость клубочковой фильтрации (см. табл. 1) не менялась в связи с физической нагрузкой ( $124 \pm 17$  vs  $114 \pm 18$  мл/мин).

Проведенное исследование является первым этапом работы по оценке изменений почечной функции и дрейфа белковой композиции мочи в ответ на ФН у лиц с различным уровнем физической работоспособности. Дальнейшее изучение данной проблемы может лечь в основу более детальной оценки уровня здоровья космонавта.

**Выводы**

1. Выполнение теста с ФН ступенчато повышающейся мощности не вызывало роста СКФ и увеличения диуреза выше пределов вариабельности в базальных условиях, однако скорость выведения белка почками, по данным спектрофотометрического определения общего белка, после ФН возрастала.

2. Хроматомасспектрометрический анализ состава белков до и после теста с ФН показал, что среди 9 белков 4 присутствовали в моче после ФН; 2 – альфа-метилацил-коэнзим А рацемаза и кубилин – встречались в пробах чаще, и 3 – реже (калликреин-1, остеопонтин и витамин К-зависимый белок Z).

3. Установлено, что из 24 белков, превышающих по молекулярной массе альбумин и выявленных в моче у здоровых лиц, 7 определялись в моче после ФН чаще, 6 – с той же частотой, что и до выполнения ФН, и ни один из них – реже, что демонстрирует снижение селективности клубочкового барьера почек во время ФН.

Работа частично поддержана грантом Президента РФ поддержки ведущих научных школ НШ-371.2014.4, грантами РФФИ 13-04-01894 и 13-04-02182 А.

#### Список литературы

1. Физиология человека. В 4 т. Пер. с англ. / Р. Шмидт, Г. Тевс, ред. М., 1986. Т. 3. С. 102–136. Human Physiology. In 4 v. Translation from Engl. / R.F. Schmidt, G. Thews, eds. Moscow, 1986. V. 3. P. 102–136.
2. Козловская И.Б., Ярманова Е.Н., Фомина Е.В. Российская система профилактики: настоящее и будущее // Авиакосм. и экол. мед. 2013. Т. 47. № 1. С. 13–20. Kozlovskaya I.B., Yarmanova E.N., Fomina E.V. Russian system of countermeasures: the present and future // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2013. V. 47. № 1. P. 13–20.
3. Ларина И.М., Колчанов Н.А., Доброхотов И.В. и др. Реконструкция ассоциативных белковых сетей, связанных с процессами регуляции обмена и депонирования натрия в организме здорового человека на основе изучения протеома мочи // Физиология человека. 2012. Т. 38. № 3. С. 107–115. Larina I.M., Kolchanov N.A., Dobrokhoto I.V. et al. Upgrade associative protein networks associated with the processes of regulation of metabolism and deposition of sodium in healthy humans by studying the proteome of urine // Fiziologiya cheloveka. 2012. V. 38. № 3. P. 107–115.
4. Schmitz W., Fingerhut R., Conzelmann E. Purification and properties of an alpha-methylacyl-CoA racemase from rat liver // Eur. J. Biochem. 1994. V. 222. P. 313–323.
5. Ferdinandusse S., Denis S. et al. Subcellular localization and physiological role of alpha-methylacyl-CoA racemase // J. Lipid Res. 2000. V. 41. P. 1890–1896.
6. Clayton P.T. Clinical consequences of defects in peroxisomal beta-oxidation // Biochem. Soc. Trans. 2001. V. 29 № 2. P. 298–305.
7. Evans A.J. Alpha-methylacyl-CoA racemase (P504S): overview and potential uses in diagnostic pathology as applied to prostate needle biopsies // J. Clin. Pathol. 2003. V. 56. P. 892–897.
8. Amsellem S., Gburek J., Hamard G. et al. Cubilin is essential for albumin reabsorption in the renal proximal tubule // J. Am. Soc. Nephrol. 2010. V. 21. № 11. P. 1859–1867.
9. Thelle K., Christensen E.I., Vorum H., Orskov H., Birn H. Characterization of proteinuria and tubular protein uptake in a new model of oral L-lysine administration in rats // Kidney Int. 2006. V. 69. № 8. P. 1333–1340.
10. Яровая Г.А. Калликреин-кининовая система: новые факты и концепции (обзор) // Вopr. Биомед. химии. 2001. Т. 47. № 1. С. 5–10. Yarovaya G.A. Kallikrein-kinin system: new facts and concepts (review) // Voprosy biomeditsinskoy khimii. 2001. V. 43. № 1. P. 5–10.
11. Chen Z.B., Huang D.Q., Niu F.N. et al. Human urinary kallidinogenase suppresses cerebral inflammation in experimental stroke and downregulates nuclear factor-kappaB // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2010. V. 30. № 7. P. 1356–1365.
12. Ponticelli C., Meroni P.L. Kallikreins and lupus nephritis // J. Clin. Invest. 2009. V. 119. № 4. P. 768–771.
13. Xie Y., Sakatsume M., Nishi S. et al. Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney // Kidney Int. 2001. V. 60. № 5. P. 1645–1657.
14. Kohri K., Yasui T., Okada A. et al. Biomolecular mechanism of urinary stone formation involving osteopontin // Urol. Res. 2012. V. 40. № 6. P. 623–637.
15. Kieseewetter H., Radtke H., Jainz A., Schmidt F.P. Protein Z deficiency in unexplained affinity to thromboses, bleedings or abortions // Hemostasis. 2012. V. 32 № 1. P. 95–97.
16. Huang X., Yan Y., Tu Y. et al. Structural basis for catalytic activation of protein Z-dependent protease inhibitor (ZPI) by protein Z // Blood. 2012. 120. P. № 8. P. 1726–1733.
17. Neumann O., Kesselmeier M., Geffers R. et al. Methylome analysis and integrative profiling of human HCCs identify novel protumorigenic factors // Hepatol. 2012. V. 56. № 5. P. 1817–1827.
18. Mahdi N., Abu-Hijleh T.M., Abu-Hijleh F.M. et al. Protein Z polymorphisms associated with vaso-occlusive crisis in young sickle cell disease patients // Ann. Hematol. 2012. V. 91. № 8. P. 1215–1220.
19. Demir H.D., Yalçındağ F.N., Öztürk A., Akar N. Intron F G79A polymorphism of the protein Z gene in Turkish Behçet patients // Curr. Eye Res. 2012. V. 37. № 7. P. 630–632.
20. Huang D.W., Sherman B.T., Lempicki R.A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists // Nucleic Acids Res. 2009. V. 37. № 1. P. 1–13.
21. Maere S., Heymans K., Kuiper M. BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks // Bioinform. 2005. V. 21. № 16. P. 3448–3449.
22. Venturoli D., Rippe B. Ficoll and dextran vs. globular proteins as probes for testing glomerular permselectivity: effects of molecular size, shape, charge, and deformability // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2005. V. 288. P. 605–613.

23. Stojimirović B., Petrović D. Effect of proteinuria on tubulointerstitial damage // Med. Pregl. 2003. V. 56. P. 351–354.

Поступила 02.10.2014

## **URINE PROTEIN PROFILE IN HEALTHY PEOPLE FOLLOWING LOCOMOTOR LOADING WITH CHANGING INTENSITY**

**Pastushkova L.Kh., Fomina E.V., Lysova N.Yu., Kononikhin A.S., Tiys E.S., Larina I.M.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2015. V. 49. № 1. P. 26–31

*The paper analyzes data on how physical exercise as a standard test of cosmonaut's performance, affects the renal function and urine protein profile. The investigation involved*

*10 normal human subjects. Following exercise, rate of renal excretion of proteins increased. The occurrence of 4 proteins out of 9 in urine did not alter and of 2 (alpha-methylacyl coenzyme A racemase and cubilin) increased; occurrence of 3 proteins (kallikrein-1, osteopontin and vitamin K-dependent protein Z) decreased. Out of 24 proteins with molecular weights higher than albumin, 7 were detected in urine after exercise more frequently, 6 with same frequency as before the test and none less frequently which demonstrates lowered selectivity of the glomerular barrier during exercise.*

Key words: proteinuria, exercise, urine protein profile, chromatography-mass spectrometry of proteins.

УДК 612.75;612.8

## НЕЙРОМОТОРНЫЙ АППАРАТ В УСЛОВИЯХ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ: ЦЕНТРАЛЬНЫЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ

Еремеев А.А.<sup>1</sup>, Чеботарев М.А.<sup>1</sup>, Кузнецов М.В.<sup>1</sup>, Балтин М.Э.<sup>1</sup>, Шенкман Б.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

<sup>2</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

E-mail: 2Anton.Eremeev@mail.ru

*Исследовали функциональное состояние центральных и периферических структур нейромоторного аппарата икроножной мышцы (ИМ) крысы в условиях моделирования гравитационной разгрузки. Опытные условия создавали вывешиванием животных за хвост в антиортостатическом (головой вниз) положении. Через 7, 14, 21 и 35 сут воздействия моделированной микрогравитации регистрировали электрические ответы ИМ, вызванные раздражением седалищного нерва (рефлекторный (Н), моторный (М) ответы). Показано, что пороги регистрируемых потенциалов снижались на всех сроках тестирования, амплитуда увеличивалась (Н-ответ – на всех сроках тестирования, М-ответ – через 35 сут гравитационной разгрузки). Результаты экспериментов свидетельствуют об изменении состояния двигательных центров, модулирующих свойства и характеристики периферических звеньев нейромоторного аппарата. Причиной регистрируемых преобразований может являться ограничение афферентного притока.*

Ключевые слова: гравитационная разгрузка, нейромоторный аппарат, двигательный центр.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 32–36.

Гравитация – один из наиболее значимых природных факторов, сыгравший существенную роль в эволюции функциональных систем наземных животных и человека, в частности, двигательного аппарата.

В настоящее время известно, что в условиях ограничения действия силы тяжести существенно изменяются интегральные свойства мышечной системы и отдельных мышечных групп (сила, работоспособность), а также элементарные характеристики мышц (тонус, объем, структура сократительного аппарата, его энергетический потенциал) [1]. Влияния гравитационной разгрузки на свойства и характеристики различных звеньев двигательного аппарата во многом соответствуют эффектам гипокинезии другого характера (иммобилизация, денервация и т.д.) [2, 3]. Известно, что мотонейрон во многом определяет характеристики сарколеммы, саркоплазматического ретикулума, характер

энергетического метаболизма, набор изоформ сократительных и регуляторных белков и другие характеристики мышечных волокон. Однако в литературе недостаточно информации о принципах управления движениями в условиях, нарушающих и/или ограничивающих моторику, и, как следствие, остается невыясненным большое количество фундаментальных и прикладных вопросов, ответы на которые позволили бы лучше понять механизмы компенсаторно-восстановительной реорганизации двигательного контроля и предложить адекватные способы увеличения эффективности таких перестроек.

Целью данной работы являлась оценка функционального состояния нейромоторного аппарата (спинальные мотонейроны – иннервируемые мышечные волокна) икроножной мышцы (ИМ) крысы в условиях гравитационной разгрузки.

### Методика

Исследование проводили на 27 лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой 130–150 г. Опытные условия создавали вывешиванием животных за хвост в антиортостатическом (головой вниз) положении [4, 5]. Через 7, 14, 21 и 35 сут воздействия микрогравитации у крыс под уретановым наркозом (1,3 г/кг, в/м) регистрировали электрические ответы ИМ, вызванные раздражением седалищного нерва одиночными прямоугольными импульсами длительностью 0,5 мс с частотой 0,5 имп/мин. Интенсивность стимулов варьировала от 0,3 до 30 В. В экспериментах использовали оригинальную исследовательскую установку на базе электромиографа MG-42 фирмы «Медикор», процессора Pentium и программного обеспечения Miograph.

Регистрировали моторный (М) ответ, являющийся электрическим потенциалом мышцы, возникающим при раздражении эфферентов. Методом моносинаптического тестирования рефлекторного (Н) ответа, представляющего собой реакцию двигательного центра на афферентную стимуляцию, оценивали рефлекторную возбудимость спинальных



мотонейронов. Определяли порог возникновения и максимальную амплитуду вызванных потенциалов. Вычисляли значение отношения максимальных амплитуд рефлекторного и моторного ответов  $[(H_{\max}/M_{\max}) \cdot 100 \ %]$ .

Контрольной служила группа intactных животных ( $n = 5$ ). Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ Origin. Достоверность результатов определяли по t-критерию Стьюдента.

Все процедуры соответствовали Хельсинкской декларации 1975 г. и одобрены Комиссией по биоэтике Казанского университета.

### Результаты и обсуждение

Электромиографическое исследование позволяет с большой степенью точности изучить динамику реорганизации двигательных единиц, дает возможность судить о функциональном состоянии любого звена в сложной цепи взаимодействия различных элементов нейромоторного аппарата – мотонейрона, его аксона, нервно-мышечной передачи и мышечных волокон [6]. В проведенных экспериментах обнаружено, что при моделировании гравитационной разгрузки параметры регистрируемых в ИМ электрических потенциалов, вызванных стимуляцией седалищного нерва, отличались от таковых, регистрируемых при исследовании intactных животных.

#### Моторный ответ ИМ крысы

Через 7 сут воздействия микрогравитации порог М-ответа составил  $78,2 \pm 7,8 \ %$  ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Через 14 сут величина порога уменьшалась и достигала  $31,6 \pm 7,3 \ %$  ( $p < 0,05$ ). Через 21 сут значение порога составило  $40,1 \pm 9,4 \ %$  ( $p < 0,05$ ), через 35 сут –  $71,5 \pm 12,5 \ %$  ( $p < 0,05$ ) от контроля. Результаты представлены на рис. 1, А.

Амплитуда М-ответа ИМ крысы через 7 сут гравитационной разгрузки незначительно отличалась от контрольных значений и составила  $111,3 \pm 7,5 \ %$  ( $p > 0,05$ ). Через 14 сут величина амплитуды М-ответа достигала  $115,4 \pm 8,5 \ %$  ( $p > 0,05$ ); через 21 сут –  $113,7 \pm 9,4 \ %$  ( $p > 0,05$ ) по сравнению с контролем. Через 35 сут амплитуда моторного ответа увеличивалась до  $130,9 \pm 11,1 \ %$  ( $p < 0,05$ ). Результаты представлены на рис. 1, Б.

В исследованиях с участием людей при моделировании гипогравитации описаны изменения электромиографических параметров, характеризующих состояние центральных и периферических звеньев

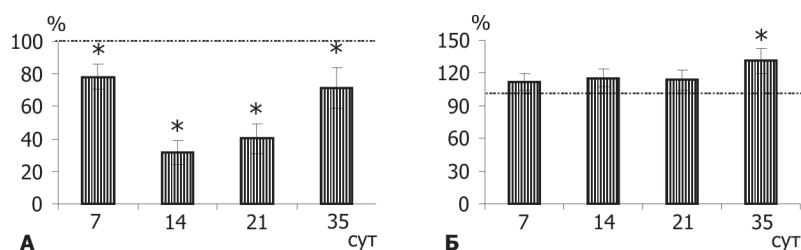


Рис. 1. Значения параметров моторного ответа ИМ крысы на разных сроках гравитационной разгрузки.

Здесь и на рис. 2, 3 по оси абсцисс: сутки воздействия микрогравитации. По оси ординат: А – значения порога, Б – значение амплитуды моторного ответа, выраженные в процентах по отношению к контролю.

Здесь и на рис. 2, 3 прерывистая линия – контрольные значения, принятые за 100 %; \* – достоверность,  $p < 0,05$

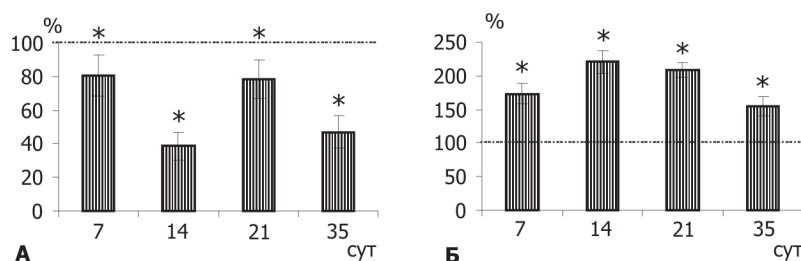


Рис. 2. Значения параметров рефлекторного ответа ИМ крысы на разных сроках гравитационной разгрузки.

По оси ординат: А – значения порога, Б – значения амплитуды рефлекторного ответа, выраженные в процентах по отношению к контролю

двигательной системы [7, 8]. Обнаруженное в проведенных экспериментах снижение порога М-ответа ИМ может являться следствием увеличения возбудимости эфферентов соответствующих спинальных мотонейронов в результате изменения их функционального состояния. Возрастание амплитуды моторных потенциалов (35 сут), по-видимому, обусловлено повышением синхронности реакции двигательных единиц на стимул в результате их реорганизации после изменений условий моторики. Показано, что при функциональных сдвигах в работе нервно-мышечного аппарата может происходить не только снижение числа функционирующих двигательных единиц по сравнению с нормой, но и его повышение [9]. У обследуемых в условиях иммерсионной гипокинезии при реализации движения могут рекрутироваться новые двигательные единицы, а задействованные – увеличивать частоту импульсации [10]. Процессы, развивающиеся в мышце, как предполагается, тесно связаны с параметрами рефлекторных реакций. Данное заключение полностью подтверждается результатами изучения характеристик Н-ответа ИМ.

#### Рефлекторный ответ ИМ крысы

Порог рефлекторного ответа ИМ крысы через 7 сут антиортостатического вывешивания составил

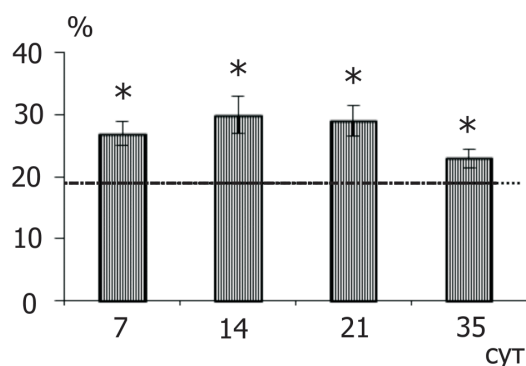


Рис. 3. Отношение максимальных амплитуд рефлекторного и моторного ответов ИМ крысы на разных сроках гравитационной разгрузки.

По оси ординат: значения  $(H_{\max}/M_{\max}) \cdot 100 \%$

80,5 ± 12,5 % от контроля ( $p < 0,05$ ). Через 14 сут воздействия экспериментальных условий, величина порога снижалась и составила 38,7 ± 8,4 % ( $p < 0,05$ ), через 21 сут – 78,4 ± 11,5 % ( $p < 0,05$ ) и через 35 сут – 47,0 ± 9,5 % ( $p < 0,05$ ) в сравнении с данными контрольной группы. Результаты представлены на рис. 2, А.

Амплитуда рефлекторного ответа ИМ крысы через 7 сут гравитационной разгрузки увеличилась и составила 173,3 ± 15,4 % от контроля ( $p < 0,05$ ). Через 14 сут амплитуда Н-ответа возрастала до 220,5 ± 16,7 % ( $p < 0,05$ ). Через 21 сут величина амплитуды составила 208,3 ± 10,3 % ( $p < 0,05$ ) через 35 сут – 154,6 ± 15,2 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению со значениями, зарегистрированными у интактных животных. Результаты представлены на рис. 2, Б.

Н-ответ моделирует моносинаптическое проведение через ЦНС сигналов, функционально важных для реализации двигательной функции и используется для оценки рефлекторной возбудимости спинальных мотонейронов [11]. Показанные в ходе эксперимента изменения параметров Н-ответа ИМ (снижение порога и увеличение амплитуды) указывают на повышение возбудимости мотонейронов соответствующего двигательного центра. В исследованиях, выполненных после длительных космических полетов, у большинства членов экипажей также выявлялись признаки резкого облегчения в системе спинальных рефлекторных механизмов, проявлявшиеся существенным снижением порогов, увеличением амплитуды и расширением рефлексогенной зоны ахиллова Т-рефлекса, а в некоторых случаях – появлением клонической активности [12].

Была дана оценка значения отношения максимальных амплитуд Н- и М-ответов ИМ. Обнаружено, что значение  $H_{\max}/M_{\max}$ , определяемое на всех исследуемых сроках воздействия микрогравитации, увеличивалось по сравнению с результатами, полученными в контрольной серии экспериментов.

При исследовании интактных животных отношение максимальных амплитуд Н- и М-ответов ИМ составило 19,0 ± 1,3 %. Через 7 сут после разгрузки задних конечностей величина  $H_{\max}/M_{\max}$  достигала 27,0 ± 2,0 % ( $p < 0,05$ ), через 14 сут – 30,0 ± 3,0 % ( $p < 0,05$ ), через 21 сут 29,0 ± 2,5 % ( $p < 0,05$ ), через 35 сут – 23,0 ± 1,5 % ( $p < 0,05$ ) от контроля. Результаты представлены на рис. 3.

Отношение максимальных амплитуд рефлекторного и моторного ответов считается точным показателем, отражающим количество возбуждаемых альфа-мотонейронов при афферентной стимуляции [13]. Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют об увеличении пула мотонейронов спинального двигательного центра, реагирующего на раздражение и соответственно сужение подпороговой каймы.

В литературе описано увеличение рефлекторной возбудимости мотонейронов камбаловидной мышцы крыс при гравитационной разгрузке. Авторы связывают обнаруженные изменения с уменьшением размеров сомы нейрона и преобразованием уровня пресинаптического торможения [14]. Данное объяснение не является единственно возможным. В ряде исследований показано, что моделирование гипогравитации может приводить к денервационно-подобным перестройкам [2]. Еще в 1949 г. авторы работы [15] обнаружили, что при перерезке нерва денервированная часть клеток-мишеней может становиться более чувствительной к оставшемуся афферентному входу. Подобное явление известно как «закон денервации». Денервационная суперчувствительность может вести к увеличению рефлекторной активности [16]. В условиях антиортостатического вывешивания происходит нарушение опорной чувствительности, которой отводится большая доля участия в двигательном контроле. В частности установлено, что опорная афферентация выполняет роль триггера в системе позно-тонических реакций [1]. Механические раздражения стопы ограничивают или предотвращают изменения в скелетных мышцах в условиях гипогравитации [17, 18]. Вероятно, обнаруженное в проведенных экспериментах увеличение возбудимости мотонейронов ИМ является следствием ограничения афферентного притока, возможно, в том числе и опорного, а также адаптацией центральной нервной системы к новым условиям двигательной активности.

### Выводы

1. Порог моторного ответа ИМ крысы при гравитационной разгрузке снижается, амплитуда увеличивается (35 сут воздействия экспериментальных условий).
2. Рефлекторная возбудимость спинального двигательного центра ИМ крысы, определяемая по

характеристикам Н-ответа, в условиях гравитационной разгрузки повышается.

3. Гипоафферентация играет ключевую роль в изменении состояния двигательных центров, модулирующих свойства и характеристики периферических звеньев нейромоторного аппарата.

Авторы выражают благодарность члену-корреспонденту РАН, профессору, ведущему специалисту ГНЦ РФ – ИМБП РАН Инесе Бенедиктовне Козловской за содействие и полезные консультации при проведении исследования, а также профессору Казанского университета Иллариону Николаевичу Плещинскому за ценные замечания при обсуждении полученных результатов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 15-04-05951.

#### Список литературы

1. Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90. № 5. С. 508–521.
2. Grigoriev A.I., Kozlovskaya I.B., Shenkman B.S. The role of support afferents in organisation of the tonic muscle system // Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I. M. Sechenova. 2004. V. 9. № 5. P. 508–521.
3. Бабакова Л.Л., Краснов И.Б., Поздняков О.М. Влияние 3-месячного моделирования эффектов невесомости на структурную организацию нервно-мышечного аппарата камбаловидной мышцы крыс // Авиакосм. и экол. мед. 2008. Т. 42. № 4. С. 31–35.
4. Babakova L.L., Krasnov I.B., Pozdniakov O.M. Impact of 3-month simulation of the microgravity effects on the neuromuscular junction structure in rats m. soleus // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2008. Т. 42. № 4. P. 31–35.
5. Bayol S., Loughna P.T., Brownson C. Phenotypic expression of IGF binding protein transcripts in muscle, in vitro and in vivo // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2000. V. 273. № 1. P. 282–286.
6. Ильин Е.А., Новиков В.Е. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами // Косм. биол. и авиакосм. мед. 1980. Т. 24. № 3. С. 79–80.
7. Ilyin E.A., Novikov V.E. Stand for modelling the physiological effects of weightlessness in laboratory experiments with rats // Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina. 1980. V. 24. № 3. P. 79–80.
8. Morey-Holton E.R., Globus R.K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects // J. Appl. Physiol. 2002. V. 92. P. 1367–1377.
9. Гехт Б.М., Касаткина Л.Ф., Самойлов М.И., Санадзе А.Г. Электромиография в диагностике нервно-мышечных заболеваний. Таганрог, 1997.
10. Gekht B.M., Kasatkina L.F., Samoylov M.I., Sanadze A.G. Electromyography in the diagnosis of neuromuscular diseases. Taganrog, 1997.
11. Gazenko O.G., Grigoriev A.I., Kozlovskaya I.B. Mechanisms of acute and chronic effects of microgravity // Physiologist. 1986. V. 29. P. 48–50.
12. Kozlovskaya I.B., Dmitrieva I.F., Grigorieva L.S. et al. Gravitational mechanisms in the motor system. Studies in real and simulated weightlessness // Stance and Motion: Facts and Concepts / V.S. Gurfinkel, M.E. Ioffe, J. Massion, J.P. Roll, eds. 1988. P. 37–48.
13. Бадалян Л.О., Скворцов И.А. Клиническая электронейромиография: Руководство для врачей. М., 1986.
14. Badalyan L.O., Skvortsov I.A. Clinical electroneuromyography: A Guide for Physicians. Moscow, 1986.
15. Киренская А.В., Козловская И.Б., Сирота М.Г. Влияние иммерсионной гипокинезии на характеристики ритмической активности двигательных единиц камбаловидной мышцы // Физиология человека. 1986. Т. 12. С. 617–632.
16. Kirenskaya A.V., Kozlovskaya I.B., Sirota M.G. Effect of immersion hypokinesia on the characteristics of the rhythmic activity of the motor units of the soleus muscle // Fiziologiya cheloveka. 1986. V. 12. P. 617–632.
17. Cho S.H., Lee J.H. Comparison of the amplitudes of the H-reflex of post-stroke hemiplegia patients and normal adults during walking // J. Phys. Ther. Sci. 2013. V. 25. № 6. P. 729–732.
18. Kozlovskaya I.B., Kreidich Yu.V., Rakhmanov A.S. Mechanisms of the effects of weightlessness on the motor system of man // Physiologist. 1981. V. 24. P. 559–564.
19. Pensini M., Martin A. Effect of voluntary contraction intensity on the H-reflex and V-wave response // Neurosci. Lett. 2004. V. 367. P. 369–374.
20. De-Doncker L., Kasri M., Falempin M. Soleus motoneuron excitability after rat hindlimb unloading using histology and a new electrophysiological approach to record a neurographic analogue of the H-reflex // Experim. Neurol. 2006. V. 201. P. 368–374.
21. Cannon W.B., Rosenblueth A. The supersensitivity of denervated structures: a law of denervation. N.Y., 1949.
22. Goldberger M. Motor recovery after lesions // Trends Neurosci. 1980. V. 3. № 11. P. 288–291.
23. Шенкман Б.С., Подлубная З.А., Вихлянцев И.М. и др. Сократительные характеристики и белки саркомерного цитоскелета волокон m. soleus человека в условиях гравитационной разгрузки. Роль опорного стимула // Биофизика. 2004. Т. 49. № 5. С. 881–890.
24. Shenkman B.S., Podlubnaya Z.A., Vikhlyantsev I.M. et al. Human soleus fibers contractile characteristics and sarcomeric cytoskeletal proteins after gravitational unloading. Contribution of support stimulus // Biofizika. 2004. V. 49. № 5. P. 881–890.
25. Miller T.F., Saenko I.V., Popov D.V. et al. Effect of mechanical stimulation of the support zones of soles on the muscle stiffness in 7-day dry immersion // J. Gravit Physiol. 2004. V. 11. № 2. P. 135–136.

Поступила 10.09.2014

## **NEUROMOTOR APPARATUS IN THE CONDITION OF GRAVITATIONAL UNLOADING: CENTRAL AND PERIPHERAL EFFECTS**

**Eremeev A.A., Chebotarev M.A.,  
Kuznetsov M.V., Baltin M.E., Shenkman B.S.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).  
2015. V. 49. № 1. P. 32–36

*The functioning of central and peripheral structures of the gastrocnemius m. neuromotor apparatus was studied in rats exposed to simulated gravitational unloading.*

*Gastrocnemius reflex (H) and motor (M) responses evoked by electrical stimulation of the sciatic nerve were measured after 7, 14, 21 and 35 days of tail-suspension. It was shown that thresholds of registered potentials went down on all days of testing; the H-amplitude rose during every testing and M-amplitude rose after 35 days of the gravitational unloading. Results of the experiments indicate changes in the functioning of motor centers that modulate properties and characteristics of peripheral neuromotor structures. The observed rearrangements can be caused by reduction of the afferent inflow.*

Key words: gravitational unloading, neuromotor apparatus, motor center.



УДК 001.891:629.78+599.323.4:59.085+576.356.2

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ НА БИОСПУТНИКЕ «БИОН-М1»

Дорожкина О.В.<sup>1</sup>, Иванов А.А.<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

<sup>3</sup>Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия

E-mail: dorozhkina@mail.ru

*Представлены результаты исследования митотической активности и хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей линии C57/BL6N анафазным методом через 12 ч после окончания 30-суточного полета биоспутника «Бион-М1» и наземного эксперимента с бортовой аппаратурой. У животных, экспонированных на биоспутнике, было отмечено статистически достоверное снижение митотической активности клеток (0,74 %). В наземном эксперименте с бортовой аппаратурой отмечена статистически достоверная тенденция к снижению пролиферативной активности (1,37 %) при уровне показателя в группах виварного контроля 1,46–1,53 %. В обоих экспериментах у мышей отмечено увеличение числа первых фаз митоза (профаза + метафаза) по отношению к сумме анафаз и телофаз. Количество aberrантных митозов статистически достоверно выросло у животных полетной группы 29,7 %, в то время как в наземном эксперименте с бортовой аппаратурой имела место статистически недостоверная тенденция к их увеличению до 2,3 %. Значение показателя в группах виварного контроля составило 1,75–1,8 %. Возрастание хромосомных aberrаций главным образом произошло за счет нарушений в виде фрагментов. Полученные результаты явились, по-видимому, следствием суммации воздействия радиационного фактора и других стрессирующих факторов космического полета.*

Ключевые слова: биоспутник «Бион-М1», космический полет, мыши, костный мозг, aberrантные митозы, митотический индекс, фазы митоза, радиация.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 37–42.

Радиационное воздействие наряду с невесомостью (микрогравитацией) является наиболее значимым фактором космического полета (КП), способным оказать повреждающее действие на организм космонавта. Нарушение хромосомного аппарата живых биосистем является наиболее достоверным свидетельством воздействия на них ионизирующего излучения. В этой связи исследование цитогенетических повреждений в клетках человека и животных занимает центральное место в космической радиобиологии [1].

Систематические исследования в России и зарубежных странах были посвящены выявлению возможных цитогенетических повреждений у космонавтов в длительных (КП) [2–5] и продолжают проводиться в настоящее время.

Влияние факторов КП детально изучено в различных модельных экспериментах [6]. Данные о цитогенетических повреждениях у космонавтов должны восприниматься в определенной мере критично, поскольку у космонавтов проводятся регулярные рентгенологические исследования, а в ходе КП применяется ряд медицинских средств. В этой связи принципиальными становятся исследования на экспериментальных животных для доказательства воздействия исключительно факторов КП на цитогенетический аппарат. В литературе мы встретили единичные сообщения о цитогенетических нарушениях у экспериментальных животных после кратковременных КП [7–9].

В этой связи целью данного исследования являлась оценка цитогенетических повреждений в клетках костного мозга (наиболее радиочувствительной ткани организма) мышей сразу после длительного 30-суточного полета на биоспутнике.

### Методика

Детальное описание проекта «Бион-М1» приведено в работах [10, 11].

В эксперименте использовали самцов мышей C57/BL6N, полученных из питомника ФИБХ (г. Пушино), в возрасте на момент начала эксперимента 19–20 нед. Длительность КП составила 30 сут на околоземной орбите. Размещение животных было по 3 в каждом отсеке. Вывод животных из эксперимента осуществлялся путем цервикальной дислокации.

Полетная и контрольная группы (виварный контроль № 1) состояли из 5 и 8 животных со средней массой тела  $29,3 \pm 0,8$  и  $27,2 \pm 0,5$  г соответственно. Группы животных в наземном эксперименте с бортовой аппаратурой и виварного контроля № 2 состояли из 6 мышей в каждой с массой тела  $27,85 \pm 0,5$  и  $29,1 \pm 0,6$  г соответственно.



Все эксперименты были проведены в соответствии с требованиями по гуманному обращению с животными и одобрены Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 319 от 4.04.2013 г.) [10].

Из берцовой кости (tibia), очищенной от мягких тканей, извлекали костный мозг, ресуспендировали его в растворе цитрата натрия 1,12 % и приготавливали на стекле мазок, который высушивали и затем фиксировали метанолом в течение 10 мин. Полученные препараты окрашивали 5 %-ным раствором Гимза. Детальное описание методики приведено в работе [12].

Критериями изменений в клетках костного мозга являлись величина митотического индекса и количество клеток с aberrантными митозами, для анализа которых использовался анафазный метод. Отдельно оценивалось количество мостов и фрагментов. Для изучения пролиферативной активности оценивалось соотношение суммы первичных фаз митоза – профазы (П) + метафазы (М) – к сумме анафаз (А) и телофаз (Т).

Статистическую обработку проводили стандартными методами, для этого определяли среднюю арифметическую, а также ошибку средней арифметической. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента. Результаты считали статистически достоверными при  $p \leq 0,05$ .

### *Результаты и обсуждение*

Показателями пролиферативной активности клеток костного мозга являются митотический индекс, а также соотношение суммы первичных фаз митоза к сумме анафаз и телофаз.

Митотическая активность клеток млекопитающих зависит от состояния внутриклеточного генетического аппарата, уровня метаболизма в целостном организме и центральной регуляции. Стабильная масса тела экспериментальных животных указывала на отсутствие метаболических нарушений в КП.

В табл. 1 представлены данные о митотической активности клеток костного мозга. У животных виварного контроля этот показатель был на уровне  $1,46 \pm 0,09$  и  $1,53 \pm 0,05$  %. У животных, находившихся в 30-суточном КП, через 12 ч после приземления отмечали статистически достоверное снижение пролиферативной активности клеток до уровня  $0,74 \pm 0,07$  %. В наземном эксперименте с бортовой аппаратурой имела место существенно меньшая, но статистически достоверная тенденция к снижению митотического индекса ( $1,37 \pm 0,02$  %).

Аналогичные изменения митотического индекса, но менее выраженные, были отмечены после более короткого 12-суточного полетного эксперимента на песчанках [7].

Поскольку изменение массы мышечной ткани, участвовавшей в полетном и наземных экспериментах по проекту «Бион-М1», было несущественным, можно высказать предположение, что общие метаболические процессы не оказали влияния на пролиферативную активность клеток костного мозга, а выявленные изменения, скорее всего, можно объяснить воздействием радиации, обладающей, как известно, выраженной способностью подавлять митотическую активность быстро пролиферирующей ткани [13].

У полетных животных выявлено увеличение числа первых фаз митоза (профаза + метафаза) по отношению к сумме анафаз и телофаз (см. табл. 1), что также указывает на снижение пролиферативной активности клеток костного мозга. Следует отметить, что аналогичный эффект получен в исследованиях, выполненных в рамках 12-суточного КП [7]. В них также было отмечено более, чем двукратное увеличение первых фаз митоза.

Пребывание мышечной ткани в наземном эксперименте с бортовой аппаратурой оказало определенное стрессорное воздействие, которое повлекло изменения митотической активности. На этом фоне дополнительное воздействие факторов КП привело к еще большему увеличению соотношения первых фаз митоза и суммы анафаз и телофаз.

Результаты исследования уровня aberrантных митозов представлены в табл. 2. Проведение забора биоматериала через 12 ч после окончания КП позволило осуществить цитогенетические исследования в ходе 1-го клеточного цикла, что исключило возможность элиминации хромосомных повреждений в процессе клеточного деления. Количество aberrантных митозов статистически достоверно выросло в группе животных, экспонированных на биоспутнике, с  $2,3 \pm 0,4$  % в контрольном наземном эксперименте до  $29,7 \pm 4,18$  %. При этом следует отметить, что статистически недостоверная тенденция к увеличению числа хромосомных aberrаций имела место у животных наземного эксперимента с бортовой аппаратурой по сравнению с виварным контролем № 2 ( $0,6 \pm 0,06$  %).

В полетном эксперименте на песчанках также была отмечена тенденция к увеличению хромосомных aberrаций, а также статистически достоверное увеличение aberrаций в виде мостов более чем трехкратное как в костном мозге, так и в роговице животных [7].

В проведенных исследованиях увеличение количества хромосомных aberrаций главным образом произошло за счет фрагментов; в других работах [7–9] было показано слияние хромосом в виде мостов. Стоит отметить, что по полученным данным, число мостов также увеличилось в 34 раза (см. табл. 2).

По результатам исследований [14], близкий уровень хромосомных aberrаций отмечен через 24 ч

Таблица 1

**Митотическая активность клеток костного мозга мышей, экспонированных на биоспутнике «Бион-М1» ( $M \pm m$ )**

| Группа                             | Кол-во мышей | Митотический индекс, % | Фазы митоза, % |                 |                 |                 | Соотношение фаз митоза ( $\Pi + M/A + T$ ) |
|------------------------------------|--------------|------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------------------------|
|                                    |              |                        | Профаза        | Метафаза        | Анафаза         | Телофаза        |                                            |
| Полетный эксперимент               | 5            | $0,74 \pm 0,07^{*,**}$ | $0,3 \pm 0,1$  | $0,2 \pm 0,07$  | $0,1 \pm 0,02$  | $0,14 \pm 0,01$ | $2,08 \pm 0,2^{*,**}$                      |
| Виварный контроль № 1              | 8            | $1,46 \pm 0,09$        | $0,2 \pm 0,5$  | $0,2 \pm 0,02$  | $0,56 \pm 0,01$ | $0,5 \pm 0,02$  | $0,4 \pm 0,05$                             |
| Эксперимент с бортовой аппаратурой | 6            | $1,37 \pm 0,02^{***}$  | $0,4 \pm 0,2$  | $0,37 \pm 0,06$ | $0,3 \pm 0,04$  | $0,3 \pm 0,01$  | $1,3 \pm 0,1^{***}$                        |
| Виварный контроль № 2              | 6            | $1,53 \pm 0,05$        | $0,3 \pm 0,1$  | $0,25 \pm 0,03$ | $0,63 \pm 0,02$ | $0,35 \pm 0,01$ | $0,6 \pm 0,06$                             |

Примечание. Здесь и в табл. 2 \* – статистически значимые различия с виварным контролем № 1; \*\* – статистически значимые различия с экспериментом с бортовой аппаратурой; \*\*\* – статистически значимые различия с виварным контролем № 2.

Таблица 2

**Уровень хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей, экспонированных на биоспутнике «Бион-М1» ( $M \pm m$ )**

| Группа                             | Кол-во мышей | Аберрантные митозы, % |                         |                        |
|------------------------------------|--------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|
|                                    |              | Мосты                 | Фрагменты               | Общее                  |
| Полетный эксперимент               | 5            | $8,57 \pm 2,4^{*,**}$ | $21,14 \pm 3,01^{*,**}$ | $29,7 \pm 4,18^{*,**}$ |
| Виварный контроль № 1              | 8            | $0,25 \pm 0,2$        | $1,5 \pm 0,56$          | $1,75 \pm 0,6$         |
| Эксперимент с бортовой аппаратурой | 6            | $0,2 \pm 0,16$        | $2,1 \pm 0,5$           | $2,3 \pm 0,4$          |
| Виварный контроль № 2              | 6            | 0                     | $1,8 \pm 0,45$          | $1,8 \pm 0,45$         |

после острого облучения мышей в дозе 2 Гр  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  с линейной передачей энергии  $0,3 \text{ кЭв/мкм}$ . Наряду с этим было установлено, что после облучения мышей протонами с высоким уровнем линейной передачи энергии (ЛПЭ) увеличивается выход аберрантных митозов по сравнению с воздействием  $\gamma$ -квантов  $^{60}\text{Co}$  с  $42,5 \pm 5,9$  до  $57,4 \pm 3,2 \%$  [15].

Сопоставляя полученные данные с известными результатами по мутагенному действию ионизирующего излучения, можно предположить, что по своему биологическому эффекту радиационный фактор, воздействовавший на организм мышей в ходе КП, был на уровне  $0,5\text{--}1,5$  Гр редкоионизирующего излучения. По данным работы [11], доза облучения

для мышей, определенная с помощью сборок пассивных термолюминесцентных детекторов, расположенных внутри спускаемого аппарата, составила от 32 до 72 мГр, что существенно меньше, чем дозы, способные вызвать обнаруженные нами цитогенетические нарушения. Сопоставляя полученные данные с результатами цитогенетических исследований у космонавтов [1, 3, 4], следует отметить их хорошее согласование, особенно в части, касающейся кратковременных КП. В цитируемых работах также отмечено, в ряде случаев, 20-кратное различие между данными физической и биологической дозиметрии в пользу последней. Ввиду существенного различия между данными физической дозиметрии и

полученными нами результатами можно высказать следующие предположения.

На организм мышей в ходе КП могли воздействовать тяжелые заряженные частицы с высоким уровнем относительной биологической эффективности (ОБЭ), присутствующие в составе космического излучения. Вторым предположением можно высказать возможность суммации и потенцирования различных факторов КП физической, химической и биологической природы с действием ионизирующего излучения. В модельных экспериментах (изоляция, гипокинезия, иммерсия [1, 6]) воздействие указанных факторов КП приводило в ряде случаев к существенному увеличению числа хромосомных нарушений, однако выявляемые типы хромосомных и хроматидных нарушений принципиально отличались от радиационно-зависимых аберраций хромосомного типа, характерных для действия космического излучения. Цитогенетические нарушения в клетках костного мозга мышей и морских свинок, сходные с изменениями при кратковременных КП, отмечены при воздействии вибрации, ускорения и кратковременной невесомости [8, 9]. Несмотря на ряд экспериментов, в частности с использованием химических веществ [16], проведенных в этом направлении, убедительных данных не получено.

Дополнительным аргументом в пользу предположения о доминирующем значении облучения является установленное снижение числа кариоцитов в костном мозге у мышей сразу после приземления [17]. Зарегистрированное 20 %-ное снижение числа кариоцитов, по результатам работы [14], соответствует воздействию дозы ионизирующего излучения порядка 1 Гр. Изменения цитогенетического статуса и пролиферативного потенциала клеток костного мозга при остром облучении на уровне дозы в 1 Гр, как правило, не требуют медицинского вмешательства [18].

Обсуждая роль стрессорных факторов в радиобиологических эффектах, следует обратить внимание на работу [19]. Авторы отмечают, что у стрессоустойчивых мышей линии C57BL/6, как правило, не отмечается снижение количества клеток костного мозга под влиянием стресса, а, напротив, происходит увеличение на 6-е и 8-е сутки. Кроме того, однократное острое облучение в дозе 0,9 Гр не вызвало снижения клеточности костного мозга на 6-е и 8-е сутки, так же как и комбинированное воздействие стресса и облучения. Небольшое снижение клеточности костного мозга отмечено у стрессочувствительных мышей линии BALB/c. Таким образом, данные литературы указывают на то, что на уровне субклинической дозы облучения 0,9 Гр снижение клеточности костного мозга происходит только при совместном воздействии стресса и облучения и только у стрессочувствительной линии мышей. Поскольку в проекте «Бион-М1» была использована

стрессоустойчивая линия мышей, то выявленные после КП изменения следует отнести к действию ионизирующего излучения с высоким уровнем биологической эффективности.

#### Выводы

В ходе КП происходит снижение пролиферативной активности клеток костного мозга и увеличение числа аберрантных митозов. Сопоставления полученных данных с результатами ранее проведенных исследований и данными других авторов дают основание полагать, что выявленные цитогенетические изменения произошли главным образом под воздействием космического излучения и в меньшей степени за счет суммации с другими стрессирующими факторами КП.

*Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН.*

#### Список литературы

1. Федоренко Б.С. Радиобиологические эффекты корпускулярных излучений: радиационная безопасность космических полетов. М., 2006.
2. Fedorenko B.S. Radiobiological effects of corpuscular radiations: radiation safety of space flights. Moscow, 2006.
3. Федоренко Б.С., Шевченко В.А., Снигирева Г.П. и др. Цитогенетические исследования лимфоцитов крови космонавтов после длительных полетов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40. № 5. С. 596–602.
4. Fedorenko B.S., Shevchenko V.A., Snigireva G.P. et al. Cytogenetic studies of blood lymphocytes of cosmonauts after long-term space flights // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2000. V. 40. № 5. P. 596–602.
5. Федоренко Б.С., Дружинин С.В., Снигирева Г.П. и др. Цитогенетические исследования лимфоцитов крови космонавтов после полетов на станции «Мир» // Орбитальная станция «Мир». М., 2001. Т. 1. С. 628–634.
6. Fedorenko B.S., Druzhinin S.V., Snigireva G.P. et al. Cytogenetic studies of blood lymphocytes from cosmonauts after long-term space flights on «Mir» station // Orbital station «Mir». Moscow, 2001. V. 1. P. 628–634.
7. Durante M., Snigireva G., Akaeva E. et al. Chromosome aberration dosimetry in cosmonauts after single or multiple space flights // Cytogenet. Genome Res. 2003. V. 103. P. 40–46.
8. Testard J., Ricoul M., Hoffshir F. et al. Radiation-induced chromosome damage in astronauts' lymphocytes // Intern. J. Radiat. 1996. V. 70. № 4. P. 403–411.
9. Репина Л.А., Репин М.В. Цитогенетические показатели лимфоцитов крови человека in vivo в экспериментах со 120-суточной антиортостатической гипокинезией // Авиакосм. и экол. мед. 2009. Т. 43. № 6. С. 59–60.
10. Repina L.A., Repin M.V. Cytogenetic characteristics of human blood lymphocytes in vivo in a 120-day bedrest study

- // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2009. V. 43. № 6. P. 59–60.
7. *Ворожцова С.В., Абросимова А.Н., Федоренко Б.С., Раков Д.В.* Цитологические и цитогенетические исследования клеток эпителия роговицы и костного мозга монгольских песчанок после 12-суточного космического полета // Там же. 2011. Т. 45. № 1. С. 52–54.
- Vorozhtsova S.V., Abrosimova A.N., Fedorenko B.S., Rakov D.V.* Cytological and cytogenetic studies of cells of Mongolian gerbils' retinal epithelium and marrow following 12-day space flight // *Ibid.* 2011. V. 45. № 1. P. 52–54.
8. *Арсеньева М.А., Антипов В.В., Петрухин В.Г. и др.* Изменения в кроветворных органах млекопитающих под влиянием полета на корабле-спутнике // *Проблемы космической биологии*. М., 1961. Т. 1. С. 205–218.
- Arsenyeva M.A., Antipov V.V., Petrukhin V.G. et al.* Changes in the hematopoietic organs of mammals under the influence of space flight on board the satellite // *Problems of space biology*. Moscow, 1961. V. 1. P. 205–218.
9. *Арсеньева М.А., Антипов В.В., Петрухин В.Г. и др.* Цитологические и гистологические изменения в кроветворных органах мышей под влиянием космического полета на кораблях-спутниках // Там же. М., 1962. Т. 2. С. 116–127.
- Arsenyeva M.A., Antipov V.V., Petrukhin V.G. et al.* Cytological and histological changes in the hematopoietic organs of mice under the influence of space flight on board the satellites // *Ibid.* Moscow, 1962. V. 2. P. 116–127.
10. *Андреев-Андриевский А.А., Шенкман Б.С., Попова А.С. и др.* Экспериментальные исследования на мышах по программе полета биоспутника «Бион-М1» // *Авиакосм. и экол. мед.* 2014. Т. 48. № 1. С. 14–27.
- Andreev-Andrievsky A.A., Shenkman B.S., Popova A.S. et al.* Experimental studies with mice on the program of the biosatellite Bion-M1 mission // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2014. V. 48. № 1. P. 14–27.
11. *Сычев В.Н., Ильин Е.А., Ярманова Е.Н. и др.* Проект «Бион-М1»: общая характеристика и предварительные итоги // Там же. 2014. Т. 48. № 1. С. 7–14.
- Sychev V.N., Ilyin E.A., Yarmanova E.N. et al.* The Bion-M1 project: overview and first results // *Ibid.* 2014. V. 48. № 1. P. 7–14.
12. *Стржижовский А.Д.* Количественная оценка длительности существования хромосомных aberrаций в клетках различных тканей млекопитающих in vivo // *Генетика*. 1972. Т. 8. № 2. С. 93–100.
- Strzhizhovsky A.D.* Quantitative assessment of the duration of the existence of chromosomal aberrations in mammalian cells of different tissues in vivo // *Genetics*. 1972. V. 8. № 2. P. 93–100.
13. *Даренская Н.Г.* Тканевая радиочувствительность. Реакция кроветворной системы // *Радиационная медицина. В 4 т. Т. 1. Теоретические основы радиационной медицины*. М., 2004. С. 278–308.
- Darenskaya N.G.* Tissue radiosensitivity. The reaction of the hematopoietic system // *Radiation medicine: in 4 v. V. 1.* Theoretical foundations of radiation medicine. Moscow, 2004. P. 278–308.
14. *Ворожцова С.В., Абросимова А.Н., Куликова Е.И. и др.* Модификация водой с пониженным содержанием дейтерия и тяжелых изотопов кислорода цитогенетических эффектов облучения // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2014. Т. 54. № 1. С. 1–6.
- Vorozhtsova S.V., Abrosimova A.N., Kulikova E.I. et al.* Modification of the cytogenetic effects of irradiation by water with the reduced content of deuterium and heavy isotopes of oxygen // *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2014. V. 54. № 1. P. 1–6.
15. *Иванов А.А., Молоканов А.Г., Ушаков И.Б. и др.* Радиобиологические эффекты тотального облучения мышей протонами в области пика Брэгга // *Авиакосм. и экол. мед.* 2013. Т. 47. № 6. С. 49–54.
- Ivanov A.A., Molokanov A.G., Ushakov I.B. et al.* Radiobiological effects of total mice irradiation with Bragg's peak protons // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2013. V. 47. № 6. P. 49–54.
16. *Татаркин С.В.* Гемопоз и метаболический статус эритроцитов мышей при длительном комбинированном воздействии ионизирующей радиации и химических веществ, моделирующем условия межпланетных полетов: Дис. ... канд. биол. наук. М., 2013.
- Tatarkin S.V.* Hematopoiesis and metabolic status of red blood cells of mice with long-term combined exposure to ionizing radiation and chemicals, simulating the conditions of interplanetary flights: Dissertatsiya ... kandidata biologicheskikh nauk. Moscow, 2013.
17. *Андреева Е.Р., Гончарова Е.А., Горностаева А.Н. и др.* Характеристика кариоцитов костного мозга большеберцовой кости мышей после космического полета на биоспутнике «Бион-М1» // *Авиакосм. и экол. мед.* 2014. Т. 48. № 2. С. 5–11.
- Andreeva E.R., Goncharova E.A., Gornostaeva A.N. et al.* Bone marrow mononuclear cells from murine tibia after the space flight on biosatellite «Bion-M1» // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2014. V. 48. № 2. P. 5–11.
18. *Гуськова А.К.* Радиационная патология человека // *Радиационная медицина: В 4 т. Т. 1. Теоретические основы радиационной медицины*. М., 2004. С. 90–122.
- Guskova A.K.* Radiation human pathology // *Radiation medicine: in 4 v. V. 1. Theoretical foundations of radiation medicine*. Moscow, 2004. P. 90–122.
19. *Мороз Б.Б., Дешевой Ю.Б., Лырщикова А.В., Лебедев В.Г.* Адаптационные реакции гемопоза на эмоциональный стресс у облученных мышей двух линий, различающихся по уровню эмоциональности // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2005. Т. 45. № 6. С. 709–714.
- Moroz B.B., Deshevoy Yu.B., Lyrshchikova A.V., Lebedev V.G.* Adaptive response to emotional stress hematopoiesis in irradiated mice of two lines with differing levels of emotionality // *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2005. V. 45. № 6. P. 709–714.

Поступила 10.09.2014

## **CYTOGENETIC INVESTIGATIONS OF BONE MARROW CELLS FROM MICE EXPOSED ONBOARD BIOSATELLITE «BION-M1»**

**Dorozhkina O.V., Ivanov A.A.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).  
2015. V. 49. № 1. P. 37–42

*The results of studying the mitotic activities and chromosomal aberrations in bone marrow cells from C57/BL6N mice with the help of the anaphase technique in 12 hours after completion of the 30-day «Bion-M1» mission and ground-based experiment using flight equipment are presented. A statistically reliable decline of the mitotic activity (0.74 %) was found in cells taken from the space flown animals. In the ground-based experiment, a statistically reliable downward*

*trend in proliferative activity (1.37 %) was revealed after the comparison with groups of vivarium control (1.46–1.53 %). In both experiments mice increased the number of initial mitotic phases (prophase + metaphase) relative to the sum of anaphases and telophases. The number of aberrant mitoses grew reliably in the group of flight animals by 29.7 %, whereas in the ground-based experiment an upward trend was insignificant as their number increased up to 2.3 % only. In the vivarium controls aberrant mitoses constituted 1.75–1.8 %. An increase in chromosomal aberrations was largely due to such abnormalities as fragments. These findings seem to have been a result of summation of the effects of radiation and other stressful factors in space flight.*

Key words: biosatellite «Bion-M1», space flight, mice, bone marrow, aberrant mitoses, mitotic index, mitosis phase, radiation.



УДК 57.02,616-092

## СЕКВЕНИРОВАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ДНК ПЛАЗМЫ КРОВИ ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС

Васильева И.Н.<sup>1</sup>, Беспалов В.Г.<sup>1</sup>, Зинкин В.Н.<sup>2</sup>, Подгорная О.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ЦНИИ Военно-Воздушных Сил Минобороны России, Москва

<sup>3</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

E-mail: zinkin-vn@yandex.ru

*Впервые секвенирована внеклеточная низкомолекулярная ДНК крови облученных крыс. Скрининг сиквенсов по банку данных DDBJ показал гомологию различным участкам генома грызунов. Сиквенсы низкомолекулярной ДНК плазмы крыс обогащены G/C-парами и длинными повторяющимися элементами по отношению к геному крыс. Сиквенсы ДНК плазмы крови крыс, облученных в дозах 8 и 100 Гр, имеют значимые отличия. Проведен анализ данных по секвенированию внеклеточной ДНК человека в норме и при патологии. Сиквенсы внеклеточной ДНК облученных крыс отличаются от сиквенсов внеклеточной ДНК человека повышенным содержанием длинных повторов. Результаты работы являются фундаментальной базой для разработки минимально инвазивной диагностики вероятности возникновения патологии и контроля адаптационных возможностей человека при экстремальных воздействиях.*

Ключевые слова: минимально инвазивная диагностика, ионизирующее облучение, низкомолекулярная ДНК, секвенирование, нуклеосома, апоптоз, патология.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 43–49.

Обнаружение ДНК в биологических жидкостях явилось перспективным для создания методов минимально инвазивной диагностики. Различные патологические состояния, такие, как ишемические, онкологические, аутоиммунные заболевания, тяжелые физические нагрузки, а также воздействия ионизирующей радиации, шума, токсических веществ, сопровождаются увеличением содержания внеклеточной ДНК (внкДНК) [1]. По количественному изменению этого показателя можно оценивать характер патологии и воздействия вредных физических факторов на организм [2]. Применяющиеся тесты основаны на амплификации специфичных участков внкДНК крови и других биологических жидкостей [1]. Это преимущественно кодирующие, экзонные участки генов, которые составляют лишь малую часть генома. Представляется перспективным исследование во внкДНК не кодирующей части генома, которое достигается полногеномным секвенированием.

Немногочисленные работы в этом направлении посвящены секвенированию внкДНК человека: здоровых доноров [3], беременных женщин [4], больных раком простаты [5], системной красной волчанкой [6, 7], а также культуры клеток HUVEC [8]. Сиквенсы внкДНК человека содержат элементы Alu-повторов, LINE, участки сателлитной ДНК. Однако для развития диагностики важно найти различия в составе внкДНК при принципиально различающихся состояниях организма. Значимые различия, связанные с распределением повторяющихся элементов генома, обнаружены при секвенировании внкДНК больных раком простаты и здоровых доноров [5].

ВнкДНК была обнаружена нами в плазме крови облученных крыс [9]. Фракционный анализ показал, что содержание низкомолекулярной фракции ДНК (нмДНК) находится в прямой зависимости от дозы облучения [9]. Различие в содержании нмДНК плазмы крови через несколько часов после облучения в дозах 8 и 100 Гр позволяет диагностировать различные формы лучевой болезни – костно-мозговую и церебральную.

Цель работы: секвенировать и охарактеризовать нмДНК плазмы крови крыс после воздействия ионизирующего облучения в дозах 8 и 100 Гр.

### Методика

Исследования выполнены на крысах-самцах Wistar с массой тела 200–250 г из питомника «Рапполово», содержащихся в стандартных условиях вивария. Крыс облучали  $\gamma$ -квантами  $^{137}\text{Cs}$  на аппарате ИГУР-1 (Институт биофизики, Москва, Россия) в дозах 8 и 100 Гр при мощности дозы 1,6 Гр/мин. Взятие крови проводили через 5 ч после облучения. Для анализа объединяли кровь от 6 крыс.

Внеклеточную нмДНК выделяли по методу, описанному в работе [10]. ЭДТА-плазму отделяли центрифугированием в течение 10 мин при 810 g и 4 °C в бакет-роторе. Для полного удаления форменных элементов плазму центрифугировали дважды при 2200 g и депротеинизировали фенолом. Для этого к отмеренному объему плазмы крови приливали

равный объем свежеперегнанного водонасыщенного фенола, покачивали 10 мин на ротационной качалке в мягком режиме, затем добавляли 1/10 объема хлороформа и процедуру покачивания повторяли. Смесь центрифугировали 15 мин при 12 000 g и 4 °C. Отбирали верхнюю, водную фазу. Добавляли 1/2 объема 80 %-ного раствора фенола, покачивали 10 мин при прежних условиях, затем центрифугировали 10 мин при 12 000 g и 4 °C. Процедуру проводили 2 раза. Нуклеиновые кислоты осаждали 2-кратным объемом перегнанного, подкисленного (0,4 мл ледяной уксусной кислоты на 1 л этанола) и охлажденного 95 %-ного этанола в течение 8 ч при -20 °C. Осадок собирали центрифугированием 15 мин при 12 000 g и 4 °C. Затем осадок промывали 1–5 мл охлажденного этанола, выдерживали 1 ч при -20 °C и центрифугировали (ротатор SW65 T1, ультрацентрифуга L8/80, Beckman) 50 000 об/мин, 0 °C, 30 мин. После удаления супернатанта осадок подсушивали и растворяли в деионизированной воде из расчета 1 мкл на 1 мл плазмы крови. Препарат нуклеиновых кислот инкубировали с панкреатической РНКазой и проводили электрофорез в градиенте (2/16 %) полиакриламидного геля в 0,04 М Трис-ацетатном буфере (pH 7,7) содержащем 0,1 М ЭДТА. Низкомолекулярную, 160–180 п.н., фракцию ДНК идентифицировали по маркерам – рестриктам pBR322/BspR1 и лямбда/Alu1.

Участки геля с нмДНК от 6 животных вырезали, нмДНК элюировали 1 М раствором ацетата аммония (pH 8,0). Очищенную нмДНК клонировали в клетках *E. coli* (штаммы TG1 и XL1), используя фазмиду Bluescript M13+ (Stratagene, США). Для создания линейной формы с тупыми концами ДНК плазмиды рестрицировали *Sma*I («Биолаб», Москва), чтобы избежать самолигирования, обрабатывали бактериальной щелочной фосфатазой («Биолаб», Москва) – 0,5 ед. на 10 мкг. Для достройки второй цепи нмДНК обрабатывали кленовским фрагментом ДНК-полимеразы I (Amersham) и фосфорилировали по 5'-концу полинуклеотидкиназой фага T4 (Amersham) – 50 ед. активности на 100 нг ДНК.

НмДНК лигировали с векторной (фазмидной) ДНК из расчета 20–50 нг вектора на 50–200 нг нмДНК, с концентрацией лигазы (Amersham) 0,1 ед./мкл. Компетентные клетки *E. coli* трансформировали методом теплового шока, подращивали в течение 1 ч при 37 °C в 1 мл стерильной YT-среды и высевали на YT-агар с ампициллином.

Для контроля наличия плазмиды в колониях, развивших белую окраску по *lac*-тесту, колонии стерильно пересеивали в 0,5 мл YT-среды с ампициллином, подращивали 12 ч и проводили электрофорез в 1 %-ном агарозе. Наличие ДНК-вставки определяли электрофорезом в 7 %-ном полиакриламидном геле со стандартом – [альфа-<sup>32</sup>P]dATP pBR322/MspP1. ДНК плазмиды выделяли, рестрицировали

*Eco*R1 и *Bam*H1, инкубировали с [альфа-<sup>32</sup>P]dCTP и кленовским фрагментом ДНК-полимеразы I для введения изотопа. После проведения электрофореза гели экспонировали с рентгеновской пленкой. Рекомбинантную ДНК секвенировали по Сэнджеру с использованием дезоксирибонуклеотидов (Amersham), секвеназы («Биолаб», Москва), оборудования и реактивов для электрофореза системы «Макрофор» (LKB).

Скрининг проводили по всем разделам генетических банков EMBL и DDBJ, включая бактерии, вирусы и фаги.

### Результаты и обсуждение

Ранее было установлено, что содержание нмДНК в плазме крови увеличивается в ранние сроки после воздействия ионизирующей радиации, становится максимальным через 5 ч и зависит прямо пропорционально от дозы воздействия. Содержание внеклеточной нмДНК в крови intactных крыс относительно мало и составляет не более  $5,5 \pm 1,5$  нг/мл ( $n = 15$ ) плазмы. Через 5 ч после облучения крыс в дозе 8 Гр содержание нмДНК также невелико, однако существенно отличается от нормы и достигает  $53,2 \pm 15,5$  нг/мл плазмы ( $n = 14$ ), а в дозе 100 Гр –  $338,5 \pm 49,9$  нг/мл ( $n = 7$ ). Содержание нмДНК значимо ( $p < 0,05$ ) отличается после облучения в дозах 8 и 100 Гр, приводящих к различным формам лучевой болезни. Клонирование в фазмидах требует, чтобы соотношение концентраций ДНК-вставки и вектора составляло не менее 2,5–4. Исходя из возможностей метода и количественного соотношения, в экспериментах использовали нмДНК крыс, облученных в дозах 8 Гр и 100 Гр.

Анализ ДНК-вставки 80 клонов нмДНК облученных крыс показал, что длина клонированной нмДНК после облучения в дозе 8 Гр составляла 123–180 п.н. После облучения в дозе 100 Гр длина встроенных фрагментов нмДНК находилась в пределах 80–400 п.н. Такой разброс свидетельствует о значительно больших повреждениях ДНК (одно- и двунитевые разрывы) после воздействия в дозе 100 Гр. Длинные фрагменты в данном случае образовались лигированием коротких при клонировании. Дальнейший анализ, скрининг по банку EMBL, показал, что вставка длиной 280 п.н. клона RNBP11 состоит из 2 различных частей, одна из них (1–129 п.н.) гомологична гену лактатдегидрогеназы A, а другая (129–260 п.н.) – повторяющемуся элементу B1 (SINE крыс).

Анализ сиквенсов клонов нмДНК плазмы крови крыс, облученных в дозах 8 и 100 Гр, по программе DNASIS показал, что все они различны. Различия в содержании нуклеотидов нмДНК после облучения животных в дозах 8 и 100 Гр отсутствовали. Среднее содержание нуклеотидов составляет

Таблица 1

**Гомология сиквенсов низкомолекулярной ДНК плазмы крови облученных крыс  
данным генетического банка DDBJ**

| ШИФР<br>клона           | Число<br>п.н. | Степень<br>гомологии | Индекс   | Название участка ДНК                                    | Классификация            |
|-------------------------|---------------|----------------------|----------|---------------------------------------------------------|--------------------------|
| Доза облучения – 8 Гр   |               |                      |          |                                                         |                          |
| RNBP53                  | 185           | 99 % 185 п.н.        | AC098697 | ДНК крысы                                               | повтор RNHA21            |
| RNBP47                  | 134           | 98 % 134 п.н.        | AC117118 | ДНК крысы                                               | нерасшифрованный участок |
| RNBP43                  | 155           | 92 % 168 п.н.        | BX511204 | Участок хромосомы 1-й крысы                             | повтор L1Rn2             |
| RNBP44                  | 140           | 90 % 168 п.н.        | AC157761 | Участок хромосомы 5-й мыши                              | кодирующая область       |
| RNPB52                  | 158           | 89 % 103 п.н.        | AC123293 | ДНК крысы                                               | кодирующая область       |
| RNBP33                  | 163           | 86 % 165 п.н.        | AL805423 | Участок хромосомы 4-й мыши, ген нейробластомы           | кодирующая область       |
| RNBP57                  | 86            | 86 % 96 п.н.         | AC092431 | Участок хромосомы 2-го человека                         | мРНК                     |
| RNBP31                  | 184           | 84 % 199 п.н.        | BC086358 | Опухолевый белок крыс                                   | кодирующая область       |
| RNBP54                  | 169           | 83 % 169 п.н.        | AL513352 | ДНК мыши                                                | повторяющийся элемент    |
| RNBP56                  | 115           | 79 % 114 п.н.        | AC119995 | Участок хромосомы 3-й мыши                              | повторяющийся элемент    |
| RNBP82                  | 156           | 79 % 114 п.н.        | AC119995 | Участок хромосомы 3-й мыши                              | повтор RMER113           |
| RNBP32                  | 131           | 76 % 63 п.н.         | AC012410 | Участок хромосомы 8-го человека                         | повтор семейства Alu     |
| RNPB36                  | 181           | 75 % 157 п.н.        | AL691424 | Участок хромосомы 10-й мыши                             | кодирующая область       |
| RNBP42                  | 146           | 70 % 125 п.н.        | AC124484 | ДНК мыши                                                | повтор семейства Alu     |
| Доза облучения – 100 Гр |               |                      |          |                                                         |                          |
| RNBP9                   | 155           | 99 % 155 п.н.        | AC115236 | ДНК крысы                                               | нерасшифровано           |
| RNPB14                  | 152           | 99 % 152 п.н.        | AC128031 | ДНК крысы                                               | повтор L1RN              |
| RNBP2                   | 71            | 92 % 72 п.н.         | AL928912 | Участок хромосомы 2-й мыши, ген обонятельного рецептора | повтор (CA) <sub>n</sub> |
| RNBP6                   | 158           | 85 % 159 п.н.        | AC133183 | Участок хромосомы 12-й мыши                             | нерасшифровано           |
| RNBP13                  | 148           | 84 % 148 п.н.        | AC142100 | Участок хромосомы 18 мыши                               | повтор MaLP              |
| RNBP16                  | 139           | 83 % 133 п.н.        | AC159195 | Участок хромосомы 13-й мыши                             | нерасшифровано           |
| RNBP11                  | 282           | 82 % 180 п.н.        | AC165146 | Участок хромосомы 14-й мыши                             | некодирующая часть       |
| RNPB66                  | 154           | 79 % 125 п.н.        | BC010721 | Рибосомальный белок S 3-й мыши                          | мРНК                     |
| RNBP10                  | 151           | 78 % 70 п.н.         | AL355611 | Рибосомальный белок хромосомы 12-го человека            | элементы повторов        |
| RNBP18                  | 123           | 76 % 123 п.н.        | AC105408 | Участок хромосомы 15-й мыши                             |                          |
| RNBP17                  | 123           | 75 % 79 п.н.         | AC103416 | ДНК крысы                                               | некодирующая часть       |
| RNBP4                   | 128           | 74 % 88 п.н.         | BC14772  | Ген арилацетамид-деацетилазы мыши                       | мРНК                     |

соответственно: А – 23,0–25,0 %, С – 27,2–26,1 %, G – 21,3–22,7 %, Т – 28,5–26,2 %. Содержание G/C-пар в геноме крыс составляет 43,9 % [11], а в нмДНК облученных крыс – 49 %, вне зависимости от дозы облучения. Значимые различия в нмДНК крыс, облученных в дозах 8 и 100 Гр, показаны при анализе распределения динуклеотидов.

В ДНК генома крыс распределение динуклеотидов отличается от случайного – 6,2 %, среднее

содержание динуклеотида CpG составляет 1,2 %, а CpT – 7,0 % [11]. В нмДНК крыс после облучения в дозах 8 и 100 Гр содержание CpG составляет 0,7 и 1,7 %, а CpT – 9,6 и 7,8 %. Компьютерный анализ нуклеосомной организации внеклеточной нмДНК облученных крыс по программе RECON показал, что, согласно статистическому анализу расположения динуклеотидов, нмДНК облученных крыс имеет значительную вероятность формирования

Таблица 2

**Сравнение результатов секвенирования внеклеточной ДНК облученных крыс с данными литературы**

| Материал                            | Образец               | Метод секвенирования          | Длина, п.н.      | G/C, % | Alu/геном | LINE/геном | Источник                       |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|------------------|--------|-----------|------------|--------------------------------|
| Крыса                               |                       |                               |                  |        |           |            |                                |
| Облученные крысы                    | Плазма                | Клонирование и секвенирование | 160–180 [80–400] | 48     | 0,4       | 1,5        | Собственные данные             |
| Человек                             |                       |                               |                  |        |           |            |                                |
| Здоровые доноры                     | Сыворотка             | Платформа 454 Life Science    | 175              | 51     | 1,4       | 0,6        | Beck et al., 2009 [3]          |
| Беременные женщины                  | Плазма                | Платформа Solexa /Illumina    | 169              | 51     | -         | -          | Fan et al., 2008 [4]           |
| Больные раком простаты              | Плазма                | Платформа 454 Life Science    | 160–180 [80–300] | 45     | 1         | < 1        | Van der Vaart et al., 2009 [5] |
| Больные системной красной волчанкой | Сыворотка             | Клонирование и секвенирование | 150–250          | 43     | -         | -          | Van Helden, 1985 [6]           |
|                                     | Плазма                | Клонирование и секвенирование | 500              | 50     |           |            | Herrman et al., 1989 [7]       |
| Культура HUVEC                      | Среда культивирования | Платформа SOLiD               | 100              | -      | 2,8       | 0,7        | Morozkin et al., 2012 [8]      |

нуклеосом [12]. Эта вероятность определяется чередованием GC-обогащенных участков молекул нмДНК приблизительно через каждые 10 п.н. с динуклеотидом ApT, определяющим искривление молекулы ДНК, которое считают оптимальным для позиционирования нуклеосом [13].

Скрининг сиквенсов нмДНК по банку данных DDBJ (см. табл. 1) показал 70–99 % гомологии последовательностям ДНК грызунов, не было найдено гомологий с ДНК бактерий, вирусов или фагов.

Значимые гомологии 92–99 % участкам LINE-повторов и случайным фрагментам генома крыс обнаружены в 23 % клонов нмДНК. Значительная часть, 50 % клонов нмДНК, с вероятностью 79–90 % гомологична кодирующим элементам генома крысы, длинным повторам или кодирующим участкам генома мыши, а один из них – мРНК человека. Данные (см. табл. 1) свидетельствуют об обогащении нмДНК плазмы крови облученных крыс фрагментами длинных повторяющихся элементов LINE, которые составляют 10 % ДНК генома.

С низкой вероятностью, около 70 %, идентифицированы 27 % клонов нмДНК, которые гомологичны участкам генома мыши, часто встречающимся фрагментам Alu-повторов и рибосомальных генов человека, и в одном случае – участку генома крысы. Из числа этих клонов 11,5 % представляют нмДНК после облучения 8 Гр, 15,5 % – после облучения 100 Гр. Геном крысы изучен недостаточно, а tandemные повторы сателлитной ДНК крысы к настоящему времени не аннотированы. Различия могут быть специфичными для тканей или вызванными

более значительным повреждением ДНК клеток после облучения в дозе 100 Гр.

Данные литературы по секвенированию внкДНК человека [3–7] и среды культивирования клеток HUVEC [8] свидетельствуют о принадлежности внкДНК человека к ДНК генома. Авторы полагают, что особенности ДНК в циркуляции связаны с нуклеосомным строением. Согласно собственным результатам и цитируемым данным, длина исследуемых фрагментов внкДНК кратна величине нуклеосомы – 160–180 п.н. (табл. 2). ВнкДНК человека, как и облученных крыс, характеризуется обогащением нуклеотидами G + C до 43–51 % по отношению к 41 % в ДНК генома человека; такой нуклеотидный состав характерен для хроматина, организованного в виде нуклеосом [14]. В сиквенсах внкДНК человека [5], как и нмДНК плазмы крови крыс, повышена частота встречаемости динуклеотида CpG. Промотор ТАТА-бокс способен резко нарушить искривление молекулы ДНК [13], поэтому его обнаружение в начале, а не в ядре сиквенсов внкДНК беременных женщин свидетельствует о хорошем позиционировании нуклеосомы [4].

Анализ сиквенсов внкДНК здоровых доноров и онкологических пациентов по программе EpiGRAPH показал повышенную частоту сайтов связывания с гистонами H3 изоформы K27me [5]. Повышенное содержание гистона H3K27me характерно для дуплицированных и мультиплексных участков генома, в отличие от них, активные гены характеризуются низким уровнем метилирования лизина 27 гистона H3 [19]. Судя по нуклеосомной структуре и



гистоновым маркам, характерным для метилирования, внкДНК состоит главным образом из неактивного хроматина. Полученные результаты позволяют предположить, что внкДНК обогащена участками tandemных повторов сателлитной ДНК гетерохроматина, который локализован в С-бандах хромосом и обычно репрессирован метилированием.

К особенностям внкДНК человека можно отнести увеличенное содержание Alu и сниженное содержание LINE по отношению к ДНК генома (см. табл. 2). Эти данные соответствуют результатам гибридизации образцов сыворотки и плазмы крови онкологических пациентов с ДНК фрагмента Alu [16]. Дот-гибридизация клонов ДНК сыворотки больных системной красной волчанкой также показала, что содержание Alu-элементов повышено до 55 % по сравнению с 13 % в ДНК генома [17]. Создан тест обнаружения внкДНК на основе ПЦР к Alu-повторам [18]. Повышенное содержание Alu во внкДНК человека свидетельствует о циркуляции в основном транскрибируемой части генома. По-видимому, ДНК в состоянии транскрипции, прежде всего, подвергается межнуклеосомной деградации из-за доступности хроматина для различных воздействий. Пониженное содержание LINE-элементов по отношению к ДНК генома обнаружено при секвенировании ДНК среды культивирования HUVES. К особенностям нмДНК облученных крыс относится значительное содержание фрагментов длинных повторов LINE по сравнению с внкДНК человека (см. табл. 2). Повышенное содержание LINE-элементов во нмДНК облученных крыс может быть связано как с межвидовыми различиями, так и с воздействием облучения. Показано, что воздействия УФ и ионизирующей радиации вызывают многократное повышение содержания LINE-элементов в гибнущих путем апоптоза клетках хлоролейкемии крыс [19]. Вероятно, воздействие ионизирующей радиации вызывает не только разрушение хроматина, но и появление в циркуляции обычно нетранскрибируемых фрагментов.

Методом FISH-гибридизации показано, что содержание фрагментов прицентромерных участков хромосом в ДНК культуральной среды гибнущих путем апоптоза клеток HUVES повышено, и эти фрагменты содержат сателлитные повторы гетерохроматина. Однако секвенирование на платформе SOLID показало обогащение этой ДНК не только сателлитными повторами, но и Alu-повторами и активно транскрибируемыми рибосомными генами [8]. В цитоплазме апоптотических клеток обнаруживают связанную с мембраной ДНК, обогащенную простыми (CCATT) $_n$  повторами перичентромерных регионов хромосом и 171 п.н. альфа-сателлитным повтором центромеры. Эта ДНК находится в комплексе с РНК-полимеразой II и представляет собой отдельную транскрипционную систему [20].

Совокупность приведенных данных поддерживает предположение о том, что сателлитная ДНК начинает транскрибироваться и попадает в кровоток при патологических, стрессорных состояниях организма, вызывающих апоптоз. В интерфазе такие участки ДНК прилегают к ядерной мембране и, по-видимому, вместе с ней попадают в апоптотические гранулы. Нормальной функцией таких ДНК-комплексов считают образование гетерохроматина и создание кинетохор. Повышенную экспрессию обычно молчащих участков сателлитной ДНК наблюдают в опухолях. Последовательности сателлитных повторов обнаружены также во внкДНК человека [5], и их содержание несколько больше у онкологических пациентов.

Сиквенсы внкДНК отличаются при принципиально различных состояниях организма. Во внкДНК больных раком простаты LINE-элементы и участки длинных концевых повторов семейств ERV и ERVL представлены значимо меньше, чем во внкДНК здоровых доноров, что, по мнению авторов, может стать основой диагностики заболевания [5]. Неклассифицированных фрагментов генома больше у больных раком простаты, чем в группе контроля. В нмДНК плазмы крови крыс также были обнаружены идентифицированные с низкой вероятностью фрагменты генома. Среди сиквенов нмДНК крыс, облученных в дозе 100 Гр, найдено больше таких фрагментов, чем после воздействия 8 Гр. Предположительно идентифицированные с низкой вероятностью фрагменты генома относятся к недостаточно изученным tandemным повторам сателлитной ДНК, которые в геноме крыс не аннотированы к настоящему времени.

Исследование ДНК, циркулирующей в крови облученных животных, необходимо для разработки тестов минимально инвазивной диагностики на ранних этапах развития патологии после воздействия ионизирующего облучения. Воздействие ионизирующего излучения связано с повышенной вероятностью рака щитовидной железы, рака груди, лейкемии и других гематологических заболеваний, а также катаракты и сердечно-сосудистых заболеваний. Новые тесты на основе внкДНК могут быть применимы для формирования групп риска и профилактики отдаленных последствий ионизирующего облучения.

### Выводы

1. Клонированная нмДНК плазмы крови облученных животных гомологична ДНК генома.
2. Особенности нмДНК – нуклеосомное строение, обогащение G/C-парами и повторяющимися элементами – обнаружены и в других работах, при секвенировании внкДНК человека и, по-видимому, характерны для ДНК в циркуляции.



3. Повышенное содержание LINE-элементов внеклеточной нмДНК крови облученных крыс по сравнению с внкДНК человека, возможно, связано с межвидовыми различиями. Обнаружены различия внеклеточной нмДНК крови крыс после облучения в различных дозах.

4. Результаты исследования являются фундаментальной базой для разработки минимально инвазивной диагностики вероятности возникновения патологии и контролирования адаптационных возможностей человека при экстремальных воздействиях.

#### Список литературы

1. Васильева И.Н., Беспалов В.Г. Роль внеклеточной ДНК в возникновении и развитии злокачественных опухолей и возможности ее использования в диагностике и лечении онкологических заболеваний // *Вопр. онкологии*. 2013. Т. 59. № 6. С. 50–57.
2. Vasilyeva I.N., Bepalov V.G. Role of extracellular DNA in the occurrence and development of malignant tumors and treatment of cancer // *Voprosy onkologii*. V. 59. №. 6. P. 50–57.
3. Vasilyeva I.N., Ivitchik T.V., Voznyuk I.A. Low-molecular-weight DNA of blood plasma as an indicator of pathological process // *Circulating nucleic acids in plasma and serum* / P.B. Gahan, ed. Dordrecht; Heidelberg; London; N.Y., 2011. P. 165–170.
4. Beck Y., Urnovitz H.B., Riggert J. et al. Profile of the circulating DNA in apparently healthy individuals // *Clin. Chem*. 2009. V. 55. P. 730–738.
5. Fan H.C., Blumenfeld Y.J., Chitkara U. et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. V. 105. P. 16266–16271.
6. Van der Vaart M., Semenov D.V., Kuligina E.V. et al. Characterization of circulating DNA by parallel tagged sequencing on the 454 platform // *Clin. Chim. Acta*. 2009. V. 409. P. 21–27.
7. Van Helden P.D. Z-DNA-forming elements in serum DNA from human systemic lupus erythematosus // *J. Immunol*. 1985. V. 134. P. 177–179.
8. Herrman M., Leitmann W., Krapf E., Kalden J.R. Molecular characterization and in vitro effects of nucleic acids from plasma of patients with systemic lupus erythematosus // *Molecular and cellular mechanisms of human hypersensitivity and autoimmunity* / R. Alan, ed. 1989. P. 147–157.
9. Morozkin E.S., Loseva E.M., Morozov I.V. et al. A comparative study of cell-free apoptotic and genomic DNA using FISH and massive parallel sequencing // *Expert Opinion on Biol. Ther*. 2012. V. 12. № S1. P. S11–S17.
10. Зинкин В.Н., Васильева И.Н., Вознюк И.А. Определение внеклеточной низкомолекулярной ДНК в крови как диагностический метод для клинических и экспериментальных исследований // *Авиакосм. и экол. мед*. 2011. Т. 45. № 5. С. 47–51.
11. Zinkin V.N., Vasilyeva I.N., Voznyuk I.A. Assay of extracellular low-molecular DNA in blood as a diagnostic technique for clinical and experimental studies // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2011. V. 45. № 5. P. 47–51.
12. Belokhvostov A.S., Zelenkova N.K. Low-molecular-weight nucleic acids in the blood of rats Zajdela's hepatoma // *Cancer Lett*. 1978. V. 5. P. 351–356.
13. Jabbari K., Caccit S., Pans de Barros J.P. et al. Evolutionary changes in CpG and methylation levels in the genome of vertebrates // *Gene*. 1997. V. 205. P. 109–118.
14. Levitsky V.G. RECON: a program for prediction of nucleosome formation potential // *Nucl. Acids Res*. 2004. V. 32. P. W346–349.
15. Bettecken T., Trifonov E.N. Repertoires of the nucleosome-positioning dinucleotides // *PLoS One*. 2009. V. 4. P. e7654.
16. Tillo D., Huges T.R. G+C content dominates intrinsic nucleosome occupancy // *BMC bioinformatics*. 2009. V. 10. P. 442–452.
17. Kondo Y., Shen L., Cheng A.S. et al. Gene silencing in cancer by histone H3 lysine 27 trimethylation independent of promoter DNA methylation // *Nat. Genet*. 2008. V. 40. № 6. P. 741–750.
18. Stroun M., Lyautey J., Lederrey C. et al. Alu repeat sequences are present in increased proportions compared to a unique gene in plasma/serum DNA: evidence for a preferential release from viable cells? // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2001. V. 945. P. 258–264.
19. Li J.Z., Steinman C.R. Plasma DNA in systemic lupus erythematosus // *Arthritis and rheumatism*. 1989. V. 32. № 6. P. 726–733.
20. Lehner J., Stutzer O.J., Fersching D.M. et al. Plasma DNA integrity indicates response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally confined breast cancer // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther*. 2013. V. 51. № 1. P. 59–62.
21. Servomaa K., Rytomaa T. UV light and ionizing radiations cause programmed death of rat chloroleukaemia cells by inducing retropositions of a mobile DNA element (L1Rn) // *Int. J. Radiat. Biol*. 1990. V. 57. № 2. P. 331–343.
22. Cheng J., Torkamani A., Peng Y. et al. Plasma membrane associated transcription of cytoplasmic DNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. P. 10827–10831.

Поступила 24.07.2014

## **SEQUENCING OF LOW-MOLECULAR-WEIGHT DNA IN BLOOD PLASMA OF IRRADIATED RATS**

**Vasilieva I.N., Besspalov V.G., Zinkin V.N., Podgornaya O.I.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).  
2015. V. 49. № 1. P. 43–49

*Extracellular low-molecular-weight DNA in blood of irradiated rats was sequenced for the first time. The screening of sequences in the DDBJ database displayed homology of various parts of the rodent genome. Sequences of low-molecular-weight DNA in rat's plasma are enriched with G/C pairs and long interspersed elements relative to rat genome. DNA sequences in blood of rats irradiated at the doses of 8 and 100 Gy have marked distinctions. Data of sequencing of extracellular DNA from normal humans and with pathology were analyzed. DNA sequences of irradiated rats differ from the human ones by a wealth of long interspersed elements. This new knowledge lays the foundation for development of minimally invasive technologies of diagnosing the probability of pathology and controlling the adaptive resources of people in extreme environments.*

Key words: minimally invasive diagnostics, ionizing radiation, low-molecular DNA, sequencing, nucleosome, apoptosis, pathology.

УДК 57.043

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ МЫШЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ С РАЗЛИЧНЫМИ УРОВНЯМИ ЛИНЕЙНОЙ ПЕРЕДАЧИ ЭНЕРГИИ IN VIVO

Ворожцова С.В.<sup>1, 2</sup>, Булынина Т.М.<sup>1, 2</sup>, Молоканов А.Г.<sup>3</sup>, Иванов А.А.<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

<sup>3</sup>Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия

E-mail: TaisiaBulinina@mail.ru

*Исследованы процессы поражения в клетках эпителия роговицы мышей, облученных протонами с энергиями 10, 25, 50 и 645 МэВ,  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$ , ускоренными ионами бора, углерода и неона с энергиями 7,5; 2,5 и 6,0 МэВ/нуклон соответственно. В качестве стандартного вида излучения были выбраны 180 кэВ рентгеновские лучи. Животных облучали однократно в дозах от 25 до 750 сГр. Через 24 ч после облучения мышей подсчитывали митотический индекс и аберрантные митозы в препаратах роговицы глаза. Уровень митотического индекса при всех видах использованных излучений имеет обратную зависимость от дозы облучения – с возрастанием дозы излучения уменьшается величина митотического индекса. Воздействие всех исследуемых видов излучения привело к резкому возрастанию числа хромосомных аббераций, их частота зависит от дозы и вида облучения. По показателю числа хромосомных аббераций эпителия роговицы имеет место характерная прямая дозовая зависимость при всех видах использованных излучений, при этом тяжелые ионы углерода и бора обладают максимальной способностью повреждать цитогенетический аппарат клеток эпителия. Протоны в пике Брэгга, на спаде за пиком Брэгга и с энергией 50 МэВ также увеличивают выход хромосомных аббераций по сравнению с эффектом воздействия редкоионизирующих гамма- и рентгеновского излучений и высокоэнергетических протонов с низкой линейной передачей энергии. Были вычислены коэффициенты относительной биологической эффективности по уровню митотического индекса и образованию аберрантных митозов.*

Ключевые слова: эпителий роговицы глаза, протоны, ионы бора, углерода, неона, митотический индекс, хромосомные абберации, линейная передача энергии, относительная биологическая эффективность.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 50–56.

Космические излучения, как известно, характеризуются достаточно сложным составом. Основной компонентой их являются протоны высоких энергий. Они составляют более 98 % от общего потока

частиц, генерируемых во время хромосферных вспышек на Солнце. Галактическое космическое излучение (ГКИ) более чем на 85 % по потоку состоит из протонов. При относительно кратковременных и средних по продолжительности космических полетах (КП) протоны будут представлять наибольшую радиационную опасность для космонавтов. Однако при длительных КП, наряду с протонами, главную опасность будут представлять тяжелые ядра ГКИ. Последние составляют не более 1 % от общего количества частиц, входящих в ГКИ, но их вклад в физическую дозу может достигать 85 % [1, 2].

Биологическая эффективность ионизирующих излучений в большинстве случаев напрямую связана с таким показателем, как линейная передача энергии (ЛПЭ) [3]. Отмеченное положение объясняет интерес радиобиологов [4, 5] к исследованию взаимосвязи биологических эффектов ионизирующих излучений, существенно различающихся на молекулярном, клеточном, системном и организменном уровнях, с уровнем их ЛПЭ. Особый интерес эти исследования, помимо проблем космической радиобиологии, приобретают в связи с расширением использования адронной терапии, в первую очередь ионов  $^{12}\text{C}$ , в лечении онкологических заболеваний и, в частности, при протонной терапии меланомы глаза [6]. Наиболее адекватным критерием, указывающим на действие радиации в широком диапазоне доз, безусловно, является степень повреждения цитогенетического аппарата клетки [7–9], что и предопределило выбор объекта исследования.

В качестве объекта цитогенетических повреждений избраны эпителиальные клетки роговицы глаза мышей, что обусловлено поверхностным расположением роговицы, а также тем, что толщина слоя эпителия роговицы составляет порядка 50 мкм, что делает ее доступной для воздействия тяжелых ионов с минимальным пробегом в биологических средах. Эта ткань является удобной для исследования и хорошо изученной в радиобиологии моделью [10–12].

Таблица 1

Характеристика видов излучений и установок, использованных в экспериментах

| № | Вид излучения              | Энергия        | R – пробег<br>в воде | Средний<br>уровень<br>ЛПЭ,<br>кэВ/мкм | Доза<br>облучения,<br>сГр | Мощность<br>дозы,<br>сГр/с | Установка                         | Способ облучения           |
|---|----------------------------|----------------|----------------------|---------------------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| 1 | γ-кванты <sup>60</sup> Co  | 1,17-1,33 МэВ  | -                    | 0,2                                   | 25-750                    | 6                          | RX-γ-30 ГНЦ РФ ИМБП РАН           | тотальное                  |
| 2 | Протоны                    | 645 МэВ        | 175 см               | 0,25                                  | 250-750                   | 6,2                        | Фазотрон ОИЯИ                     | тотальное                  |
| 3 | Протоны                    | 50 МэВ         | 2,23 см              | 1,25                                  | 50-750                    | 0,3                        | Фазотрон ОИЯИ                     | тотальное                  |
| 4 | Протоны                    | 25 МэВ         | 0,64 см              | 1,6                                   | 25-750                    | 0,5                        | Фазотрон ОИЯИ                     | тотальное                  |
| 5 | Рентгеновское<br>излучение | 180 кэВ        | -                    | 1,9                                   | 50-750                    | 1                          | РУТ-250-15-1<br>ГНЦ РФ – ИМБП РАН | локальное – область головы |
| 6 | Протоны                    | 10 МэВ         | 1,23 мм              | 2,0                                   | 25-750                    | 0,3                        | Фазотрон ОИЯИ                     | тотальное                  |
| 7 | Ионы бора                  | 7,5 МэВ/нуклон | 250 мкм              | 143,7                                 | 25-250                    | 10                         | Ускоритель УМЗИ-300 ОИЯИ          | локальное – область глаза  |
| 8 | Ионы углерода              | 2,5 МэВ/нуклон | 36,5 мкм             | 4,84 · 10 <sup>3</sup>                | 25-250                    | 10                         | Ускоритель УМЗИ-300 ОИЯИ          | локальное – область глаза  |
| 9 | Ионы неона                 | 6,0 МэВ/нуклон | 100 мкм              | 632                                   | 25-250                    | 10                         | Ускоритель УМЗИ-300 ОИЯИ          | локальное – область глаза  |

В доступной литературе авторы не нашли сообщений о систематическом исследовании радиобиологических эффектов протонов в широком диапазоне энергий и информации о сопоставлении эффекта протонов с тяжелыми ионами. В этой связи целью работы стало исследование зависимости цитогенетических показателей клеток эпителия роговицы мышей в зависимости от дозы облучения протонами и сопоставление их с радиобиологическим эффектом тяжелых ионов, а также определение зависимости относительной биологической эффективности (ОБЭ) протонов от величины их ЛПЭ по показателям митотического индекса и аберрантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей.

Методика

Экспериментальные животные

Эксперимент выполнен на более чем 700 аут-бредных белых мышах-самцах с массой 16–20 г. На каждую экспериментальную точку было не менее 6 животных. Животных содержали в пластиковых контейнерах в конвенциональных условиях. Мыши получали стандартный брикетированный корм для грызунов и питьевую воду ad libitum. Опыты были проведены в соответствии с биоэтическими требованиями проведения исследований на животных, разработанными в ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Установки облучения

В экспериментах использованы экспериментальные установки для облучения Объединенного института ядерных исследований (г. Дубна) и ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Для облучения животных использованы γ-излучение, рентгеновские лучи, протоны с различными уровнями энергии, ионы бора, неона и углерода. Характеристика видов и доз облучения и установок облучения представлена в табл. 1.

В пучках тяжелых ионов низких энергий пробеги очень короткие и при облучении в объеме образца возможны значительные изменения величины ЛПЭ, что может сильно исказить результат.

На рентгеновской установке проводили локальное облучение области головы животных. На фазотроне осуществляли тотальное облучение мышей в краниокаудальном направлении. На ускорителе УМЗИ-300 узким пучком тяжелых частиц облучали локально область одного глаза. На установке RX-γ-30 осуществляли тотальное γ-облучение мышей.

При облучении протонами с энергией 10–50 МэВ использовались замедленные пучки, при этом следует отметить, что это были не моноэнергетические пучки, а пучки частиц с широкими энергетическими распределениями. В табл. 1 указано среднее значение энергии протонов. Протоны с энергией 25 МэВ соответствуют пику Брэгга, а 10 МэВ – на спаде энергии за пиком Брэгга.

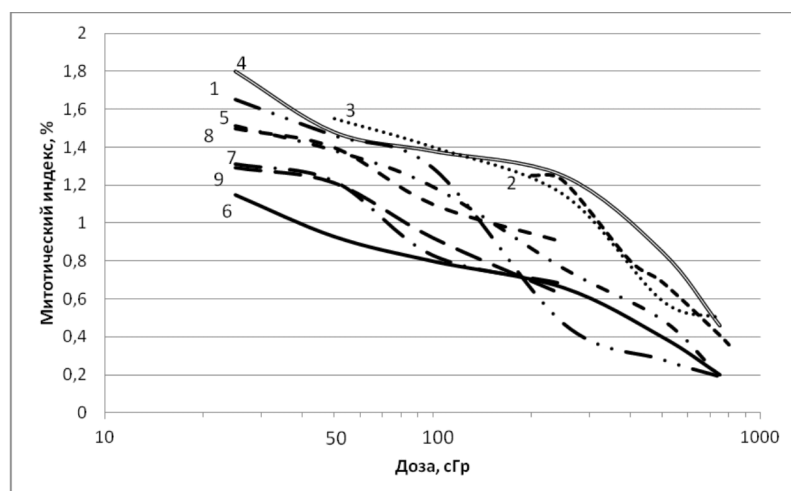


Рис. 1. Зависимость «доза – эффект» по показателю митотической активности клеток эпителия роговицы мышей через 24 ч после однократного облучения: 1 –  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$ ; 2 – протонами 645 МэВ; 3 – протонами 50 МэВ; 4 – 180-кэВ рентгеновскими лучами; 5 – протонами в пике Брэгга; 6 – протонами на спаде за пиком Брэгга; 7 – ионами бора; 8 – ионами неона, 9 – ионами углерода. БК =  $1,79 \pm 0,03$  %

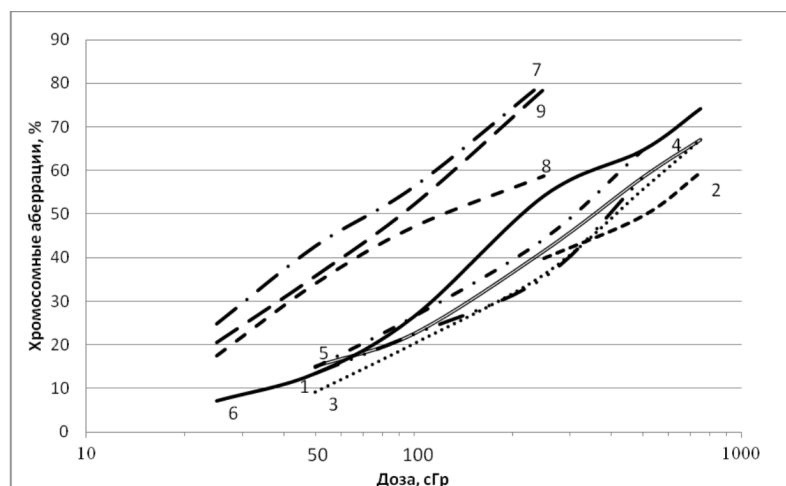


Рис. 2. Зависимость «доза – эффект» по частоте образования aberrантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей через 24 ч после однократного облучения: 1 –  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$ ; 2 – протонами 645 МэВ; 3 – протонами 50 МэВ; 4 – 180-кэВ рентгеновскими лучами; 5 – протонами в пике Брэгга; 6 – протонами на спаде за пиком Брэгга; 7 – ионами бора; 8 – ионами неона, 9 – ионами углерода. БК =  $0,74 \pm 0,02$  %

#### Цитогенетические исследования

Через 24 ч после облучения методом цервикальной дислокации осуществляли эвтаназию животных. Из энуклеированного глазного яблока приготавливали тотальные препараты роговицы, которые окрашивали гематоксилином по методу Караччи [13]. В полученных препаратах при увеличении  $\times 900$  подсчитывали митотический индекс и

частоту образования aberrантных митозов анафазным методом, в виде мостов и фрагментов.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью программного комплекса Microsoft Office Excel 2010. Достоверность различий рассчитывали с помощью критерия Стьюдента. Функциональные зависимости доза – эффект и ЛПЭ – эффект исследовали, используя программу CurveExpert Professional 1.5.0. Величины ОБЭ рассчитывали на основании сопоставления равноэффективных доз, вызывающих 50 %-ное образование хромосомных aberrаций или 50 %-ное снижение митотической активности клеток эпителия роговицы глаза через 24 ч после облучения.

#### Результаты и обсуждение

Общеизвестно, что митотическая активность клеток эпителия роговицы, как и многих других быстро пролиферирующих тканей, крайне чувствительна к ионизирующей радиации и заметно подавляется при воздействии излучения в дозах порядка нескольких сГр [3]. Данные о характере зависимости доза – эффект по показателю митотической активности эпителия роговицы глаза мышей через 24 ч после воздействия излучений с различной ЛПЭ представлены на рис. 1. Как видно на рисунке, по показателю митотической активности эпителия роговицы имеет место характерная дозовая зависимость при всех видах использованных излучений – отмечено существенное подавление митотической активности. Уровень митотического индекса имеет обратную зависимость от дозы облучения – с возрастанием дозы излучения уменьшается величина митотического индекса.

После облучения протонами в малых дозах в ранние сроки после лучевого воздействия наибольшее снижение митотического индекса наблюдается при облучении протонами за пиком Брэгга (с энергией 10 МэВ) в дозе 25 сГр – снижение до 67 % от уровня биологического контроля (БК) (см. рис. 1), в то время как при облучении протонами в пике Брэгга (с энергией 25 МэВ) в той же дозе только до 84 %, при этом снижение митотического индекса при действии тяжелых ионов бора, неона и углерода произошло при дозе 25 сГр до 78, 79 и



Таблица 2

**Зависимость коэффициентов ОБЭ от ЛПЭ: влияние на митотический индекс (МИ) и частоту образования аберрантных митозов (ХА) в клетках эпителия роговицы мышей через 24 ч после облучения**

| № | Вид излучения              | ЛПЭ, кэВ/мкм | ОБЭ (ХА) | ОБЭ (МИ) |
|---|----------------------------|--------------|----------|----------|
| 1 | γ-кванты $^{60}\text{Co}$  | 0,2          | 0,93     | 2,71     |
| 2 | Протоны 645 МэВ            | 0,25         | 0,71     | 1,24     |
| 3 | Протоны 50 МэВ             | 1,25         | 0,85     | 1,34     |
| 4 | Протоны 25 МэВ             | 1,6          | 1,19     | 2,42     |
| 5 | 180-кэВ рентгеновские лучи | 1,9          | 1        | 1        |
| 6 | Протоны 10 МэВ             | 2            | 1,76     | 6,97     |
| 7 | Ионы бора                  | 143,7        | 4,93     | 5,23     |
| 8 | Ионы неона                 | 632          | 2,70     | 1,84     |
| 9 | Ионы углерода              | 4840         | 4,02     | 4,6      |

71 % соответственно. При повышении дозы облучения до 250 сГр наибольшее подавление митотической активности наблюдалось при облучении протонами низких энергий, а также ионами бора и γ-квантами  $^{60}\text{Co}$ , значение последнего снизилось до 28 % относительно уровня БК. Столь мощное антипролиферативное действие γ-квантов  $^{60}\text{Co}$  при тотальном облучении в большой дозе авторы склонны объяснить наличием build-up effect в тонком слое роговицы или метаболическим действием тотально-го облучения животных.

Наибольшие различия по антимиотическому действию излучений отмечены в области малых доз, тогда как при увеличении дозы до 750 сГр эти различия несколько нивелируются. Полученные данные хорошо согласуются с результатами изучения клеточных культур и изолированных клеток, демонстрирующими большой поражающий эффект протонов в области пика Брэгга по сравнению с высокоэнергетическими протонами [14–16].

Помимо торможения митотической активности клеток, ионизирующие излучения вызывают изменения в генетических структурах, наиболее грубые из которых визуально проявляются в виде хромосомных aberrаций. Зависимость доза – эффект по показателю числа хромосомных aberrаций эпителия роговицы глаза через 24 ч после воздействия излучений с различной ЛПЭ представлены на рис. 2. Как видно, воздействие всех исследуемых видов излучения привело к резкому возрастанию числа хромосомных aberrаций, их частота зависит от дозы и вида облучения. По показателю числа хромосомных aberrаций эпителия роговицы имеет место характерная прямая дозовая зависимость при всех видах использованных излучений, при этом тяжелые ионы углерода и бора обладают максимальной способностью повреждать цитогенетический аппарат клеток эпителия. Протоны в пике Брэгга, на спаде

за пиком Брэгга и с энергией 50 МэВ также увеличивают выход хромосомных aberrаций по сравнению с эффектом воздействия редкоионизирующих γ- и рентгеновского излучений и высокоэнергетических протонов с низкой ЛПЭ.

На основе сопоставления равноэффективных доз, вызывающих 50 %-ное подавление митотической активности и образование аберрантных митозов в 50 % делящихся клеток были вычислены значения коэффициентов ОБЭ. В табл. 2 представлены данные по зависимости полученных коэффициентов ОБЭ от ЛПЭ по влиянию на митотический индекс и частоту образования аберрантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей через 24 ч после облучения использованными в эксперименте видами излучения. Порядок расположения видов излучения основан на возрастании ЛПЭ-излучений.

Из табл. 2 видно, что повышение уровня ЛПЭ приводит к увеличению коэффициентов ОБЭ. Способность тяжелых ионов индуцировать большое количество аберрантных митозов подтверждается в исследованиях других авторов [5].

При анализе данных, суммированных в табл. 2, обращают внимание значительные различия по величине коэффициентов ОБЭ по хромосомным aberrациям (ХА) и по митотическому индексу (МИ). Величина ОБЭ по ХА для высокоэнергетических протонов оказалась ниже 1.0, тогда как ОБЭ по МИ превысило 1.0. Увеличение ЛПЭ с 0,2 кэВ/мкм обусловило достаточно плавное повышение коэффициента ОБЭ по ХА, тогда как ОБЭ по МИ возросло более резко с повышением ЛПЭ, при этом максимальных значений ОБЭ достигло при облучении протонами на спаде за пиком Брэгга, что целиком согласуется с данными, полученными на культурах клеток и животных [14, 17, 20].

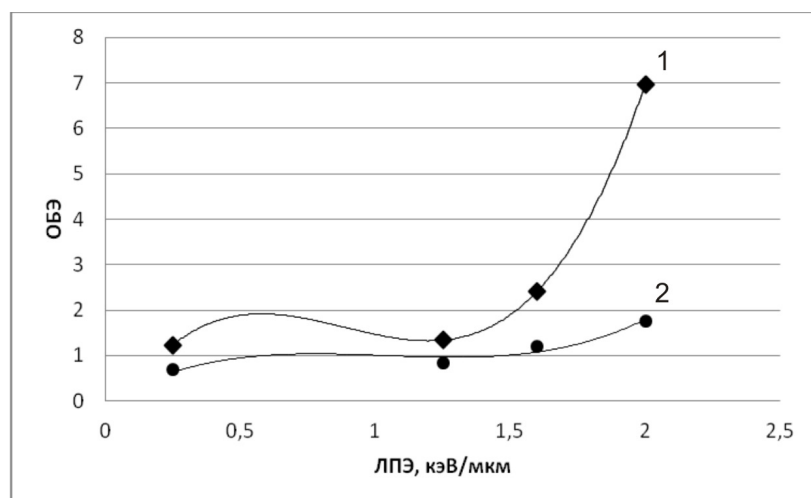


Рис. 3. Зависимость ОБЭ протонов от величины их ЛПЭ: 1 – по показателю митотического индекса; 2 – по частоте образования аберрантных митозов в клетках эпителия роговицы мышей после облучения, представленная экспериментальными точками и расчетной кривой полинома 3-й степени

Зависимость ОБЭ-протонов с разными энергиями от величины их ЛПЭ в условиях проведенных экспериментов показана на рис. 3.

Как видно из рис. 3, по данным, полученным через 24 ч после облучения протонами, имеется отчетливая зависимость биологической эффективности от уровня их ЛПЭ. По показателям митотической активности в области относительно низких уровней ЛПЭ отмечено плавное повышение ОБЭ, в свою очередь, наблюдается отчетливое возрастание ОБЭ с ростом ЛПЭ, так при ЛПЭ = 2,0 кэВ/мкм ОБЭ стремится к 7. Также наблюдается плавный рост коэффициента ОБЭ по числу хромосомных aberrаций с ростом ЛПЭ, при ЛПЭ, равном 2,0 кэВ/мкм, ОБЭ имеет значение 1,76. Эти кривые описываются формулами полинома 3-й степени. Полученные результаты существенно дополняют сложившиеся ранее представления о взаимосвязи ЛПЭ- и ОБЭ-протонов [18]. Их нельзя объяснить различиями пучков протонов по мощности дозы облучения (см. табл. 1), поскольку известно [19], что изменения мощности дозы облучения протонами в исследованном диапазоне не влияют на выраженность радиобиологического эффекта.

Результаты, полученные при использовании облучения тяжелыми ионами, не укладываются в зависимости, полученные на протонах. Данное обстоятельство можно объяснить низкой проникающей способностью – малой величиной  $R$  для тяжелых ядер от 36,5 до 250 мкм – ядер углерода, неона и бора с энергиями от 2,5 до 7,5 МэВ/нуклон и неравномерностью облучения, имеющей место даже при облучении столь тонкой структуры, как эпителий роговицы глаза. Следует также иметь в

виду, что при корпускулярном облучении максимум выделяемой энергии наблюдается в области пика Брэгга, при существенном снижении собственной энергии частиц, кроме того, может иметь значение эффект избыточного поражения (overkill) [3].

Использование в качестве объекта наблюдения эпителиального слоя роговицы глаза мышей имеет свои преимущества и недостатки. Важнейшее преимущество состоит в том, что процессы в роговице глаза, вызванные воздействием радиации, связаны с метаболическими процессами, происходящими на уровне организма [20]. Поэтому, эта модель может быть использована, в частности, для изучения эффективности радиопротектора *in vivo*. Ограничения избранной экспериментальной модели состоят в том, что получаемые данные для определенных ионов, например,

по величине ОБЭ не могут быть напрямую перенесены на организменный уровень, а могут быть отнесены только к поверхностно расположенной ткани. Специалисты в области космической радиобиологии испытывают дефицит возможностей исследования биомедицинских эффектов ускоренных тяжелых ионов на организменном уровне. Это обусловлено дефицитом физических установок, позволяющих ускорять тяжелые ионы до релятивистских энергий и оборудованных при этом для проведения биомедицинских исследований. Требуется своего решения вопрос о причинах кардинальных различий физической и биологической (на уровне хромосомных aberrаций) дозиметрии у космонавтов, совершающих полеты на околоземной орбите [5, 8]. Эти различия достигают от 5- до 20-кратных значений. Исходя из данных (см. табл. 2), при облучении протонами в области пика Брэгга и тяжелыми ионами ОБЭ может превышать значение в 6 единиц, что косвенно указывает на значительный вклад частиц с высокой ЛПЭ в цитогенетические эффекты, наблюдаемые у космонавтов.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии существенных количественных и качественных различий в радиобиологических эффектах редкоионизирующих излучений, протонов и тяжелых ионов, подтверждают и дополняют имеющиеся в литературе сведения [18], полученные в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, и должны быть учтены при расчетах коэффициентов качества космического излучения.

## Выводы

1. Цитогенетические эффекты протонов с различным уровнем энергии подчиняются зависимости как в области доза – эффект, так и ЛПЭ – ОБЭ в экспериментах *in vivo*.
2. Цитогенетические эффекты низкоэнергетических тяжелых заряженных частиц ионов бора, неона и углерода подчиняются дозовой зависимости, однако их ОБЭ в исследованной модели не связаны напрямую с величиной ЛПЭ, что обусловлено различием в величине пробега в биологических тканях и возникающей при этом неравномерностью облучения.
3. Величина ОБЭ значительно зависит от избранного для анализа биомедицинского критерия. Показатель митотической активности более чувствителен в сравнении с показателями числа хромосомных aberrаций.

## Список литературы

1. Митрикас В.Г. Модель радиационных поясов Земли для оценки радиационной опасности на орбите ОПС «Мир» // Косм. исслед. 1999. Т. 37. № 5. С. 548–552.  
*Mitrikas V.G. Model of radiation belts of Earth for an assessment of radiation hazard in the OPS «Mir» orbit // Kosmicheskie issledovaniya. 1999. V. 37. № 5. P. 548–552.*
2. Wilson J.W., Cucinotta F.A., Shinn J.L. et al. Shielding from solar particle event exposures in deep space // Radiat. Res. 1999. V. 30. P. 361–382.
3. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных. М., 2004.  
*Yarmonenko S.P., Vayneson A.A. Radiobiology of human and animals. Moscow, 2004.*
4. Красавин Е.А. Проблемы ОБЭ и репарации ДНК. М., 1989.  
*Krasavin E.A. Problems of RBE and DNA repair. Moscow, 1989.*
5. Федоренко Б.С. Радиобиологические эффекты корпускулярных излучений: радиационная безопасность космических полетов. М., 2006.  
*Fedorenko B.S. Radiobiological effects of corpuscular radiation: radiation safety of space flights. Moscow, 2006.*
6. Paganetti H. Calculation of the spatial variation of relative biological effectiveness in a therapeutic proton field for eye treatment // Phys. Med. Biol. 1998. V. 43. P. 2147–2157.
7. Lloyd D.C., Purrot R.J., Reeder E.J. The incidence of unstable chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from unirradiated and occupationally exposed people // Mutat. Res. 1980. V. 72. P. 523–532.
8. Durante M., Snigiryova G., Akaeva E. et al. Chromosome aberration dosimetry in cosmonauts after single or multiple space flights // Cytogenetic Genome Res. 2003. V. 103. № 1–2. P. 40–46.
9. Федоренко Б.С., Ворожцова С.В., Герасименко В.Н. и др. Цитогенетические нарушения в клетках экспериментальных животных и человека при действии ускоренных заряженных частиц и космического излучения // Физика элементарных частиц и атомного ядра. 1999. Т. 30. Вып. 2. С. 469–526.  
*Fedorenko B.S., Vorozhtsova S.V., Gerasimenko V.N. et al. Cytogenetic disturbances in cells of the experimental animals and humans under the influence of accelerated charged particles and cosmic radiation // Fizika elementarnykh chastits i atomnogo yadra. 1999 V. 30. № 2. P. 469–526.*
10. Ворожцова С.В., Федоренко Б.С., Шафиркин А.В., Чихладзе Ц.А. Исследование процессов пострадиационного восстановления в клетках эпителия роговицы мышей, облученных ионами гелия с различными ЛПЭ // Авиакосм. и экол. мед. 2008. Т. 42. № 2. С. 53–57.  
*Vorozhtsova S.V., Fedorenko B.S., Shafirkin A.V., Chikhladze Ts.A. Investigation of the processes of post-radiation recovery in the corneal epithelium cells of mice irradiated with helium ions with different LET // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2008. V. 42. № 2. P. 53–57.*
11. Ворожцова С.В., Иванов А.А. Эффекты поражения и постлучевой репарации хромосомного аппарата клеток эпителия роговицы мышей после облучения протонами с энергией 25 МэВ // Там же. 2012. Т. 47. С. 27–31.  
*Vorozhtsova S.V., Ivanov A.A. The effects of injury and post-radiation repair of chromosomal apparatus of cells of the corneal epithelium of mice after irradiation with protons with an energy of 25 MeV // Ibid. 2012. V. 47. P. 27–31.*
12. Григорьев Ю.Г., Рыжов Н.И., Кошечева Л.А. и др. Цитогенетическое действие ускоренных ионов углерода и бора на клетки эпителия роговицы мышей // Радиобиология. 1971. Т. 11. Вып. 6. С. 835–839.  
*Grigoriev Yu.G., Ryzhov N.I., Koshcheeva L.A. et al. Cytogenetic effect of accelerated carbon ions and boron on the corneal epithelium cells of mice // Radiobiologiya. 1971. V. 11. № 6. P. 835–839.*
13. Говорун Р.Д., Ворожцова С.В., Герасименко В.Н. Исследование цитогенетических эффектов при воздействии высокоэнергетичных заряженных частиц // Косм. биол. и авиакосм. мед. 1982. Т. 16. № 4. С. 64–67.  
*Govorun R.D., Vorozhtsova S.V., Gerasimenko V.N. Study of cytogenetic effects when exposed to high-energy charged particles // Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina. 1982. V. 16. № 4. P. 64–67.*
14. Иванов А.А., Молоканов А.Г., Ушаков И.Б. и др. Радиобиологические эффекты тотального облучения мышей протонами в области пика Брэгга // Авиакосм. и экол. мед. 2013. Т. 47. № 6. С. 49–54.  
*Ivanov A.A., Molokanov A.G., Ushakov I.B. et al. Radiobiological effects of total irradiation of mice by protons in the Bragg peak region // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2013. V. 47. № 6. P. 49–54.*
15. Paganetti H. Nuclear interaction in proton therapy: dose and relative biological effect distributions originating from primary and secondary particles // Phys. Med. Biol. 2002. V. 47. P. 747.

16. Tang J.T., Inoue T., Yamazaki H. et al. Comparison of radiobiological effective depths in 65-MeV modulated proton beams // Br. J. of Cancer. 1997. V. 76. № 2. P. 220–225.

17. Belli M., Cherubini R., Finotto S. et al. RBE-LET relationship for the survival of V79 cells irradiated with low-energy protons // Int. J. Radiat. Biol. 1987. V. 55. P. 93–104.

18. Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Красавин Е.А. и др. Космическая радиобиология за 55 лет (к 50-летию ГНЦ РФ – ИМБП РАН). М., 2003.

Grigoriev Y.G., Ushakov I.B., Krasavin E.A. et al. Space radiobiology for 55 years (on the 50th anniversary of the SRC RF – IBMP RAS). Moscow, 2003.

19. Ware J.H., Sanzari J., Avery S. et al. Effects of proton radiation dose, dose rate and dose fractionation on hematopoietic cells in mice // Radiat. Res. 2010. V. 174. № 3. P. 325–330.

20. Морозов В.С., Шашков В.С., Давыдов Б.И. Моделирование биологического эффекта глубинной дозы моноэнергетического потока протонов // Косм. исследования. 1966. Т. 4. Вып. 1. С. 172–174.

Morozov V.S., Shashkov V.S., Davydov B.I. Modeling of biological effect of a deep dose of a monoenergetic stream of protons // Kosmicheskie issledovaniya. 1966. T. 4. V. 1. P. 172–174.

Поступила 25.08.2014

## **CYTOGENETIC DAMAGE TO THE CORNEAL EPITHELIUM OF MICE DUE TO THE IN VIVO EXPOSURE TO IONIZING RADIATION WITH DIFFERENT LEVELS OF LINEAR ENERGY TRANSFER**

**Vorozhtsova S.V., Bulynina T.M., Molokanov A.G., Ivanov A.A.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2015. V. 49. № 1. P. 50–56

*Damages to corneal epithelium cells were studied in mice irradiated by protons with the energies of 10, 25, 50 and 645 MeV, <sup>60</sup>Co γ-quanta and accelerated ions of boron, carbon and neon with the energies of 7.5; 2.5 and 6.0 MeV/nucleon, respectively. X-rays (180 keV) were used as a standard radiation. Animals were exposed to a single dose in the range from 25 to 760 cGy. The mitotic index and aberrant mitoses were counted in corneal preparations in 24 hrs after irradiation. No matter the type of radiation, the mitotic index had an inverse dose dependence, i.e. the higher the dose, the lower the mitotic index. Exposure to all types of radiation resulted in a sharp increase in the number of chromosomal aberrations in the corneal epithelium; frequency of aberrations was a function of dose and type of radiation. The number of chromosomal aberrations displayed a peculiar direct dose dependence irrespective of type of radiation; however, heavy ions of carbon and boron are the most damaging to the cytogenetic apparatus of epithelial cells. Protons at the Bragg peak and ensuing fall, and of 50 MeV also contribute to the production of chromosomal aberrations as compared with sparsely ionizing gamma- and X-rays and high-energy protons with low linear energy transfer. Coefficients of relative biological effectiveness were calculated based on the mitotic index and evidence of aberrant mitosis.*

Key words: corneal epithelium, protons, ions of boron, carbon, neon, mitotic index, chromosomal aberrations, linear energy transfer, relative biological effectiveness.



УДК 551.521.6:629.786.2

## **АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ПОЛОЖЕНИЯ И ОРИЕНТАЦИИ КОСМОНАВТА НА БОРТУ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ НА УРОВНИ ОБЛУЧЕНИЯ ОРГАНОВ ЕГО ТЕЛА ПРИ ПРОХОЖДЕНИИ ОБЛАСТИ ЮЖНО-АТЛАНТИЧЕСКОЙ АНОМАЛИИ**

**Дробышев С.Г., Бенгин В.В.**

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва  
E-mail: ser8391@list.ru

*Проведен параметрический анализ поглощенной дозы радиации в теле космонавта, работающего на борту служебного модуля (СМ) Международной космической станции (МКС) с учетом анизотропии поля излучения в области Южно-Атлантической аномалии. Полученные расчетные оценки показывают, что при нахождении космонавта в условиях малой экранировки уровень облучения слабо защищенных органов тела может существенно зависеть от положения и ориентации космонавта по отношению к корпусу станции. Различие дозы, поглощенной в хрусталике глаза, может достигать 5 раз при различной ориентации космонавта и станции. Для глубже расположенной точки кроветворной системы аналогичный эффект выражен менее ярко, однако во время внекорабельной деятельности космонавта может достигать 2,5 раза. При нахождении космонавта снаружи МКС на стороне СМ, обращенной к востоку, на величину поглощенной дозы может заметно влиять удаленность космонавта от поверхности модуля. На восходящих витках при расстоянии менее 1,5 м от восточной стороны корпуса СМ расчетное значение дозы облучения хрусталика глаза примерно в 2 раза меньше по сравнению со случаем отсутствия экранировки космонавта материалом станции.*

Ключевые слова: анизотропия поля радиации в Южно-Атлантической аномалии, доза облучения на Международной космической станции.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 57–63.

При осуществлении экспедиций на Международной космической станции (МКС) значительная часть потока космического излучения воздействует на экипаж станции во время прохождения области Южно-Атлантической аномалии (ЮАА). Согласно данным измерений на борту МКС, больше половины поглощенной дозы радиации регистрируется в данной области пространства [1]. Известно, что поле излучения в этой области анизотропное и поток высокоэнергетических протонов, падающих на поверхность станции с западного направления, превышает их поток с востока [2, 3].

Сочетание анизотропии поля излучения со сложной конфигурацией станции и связанной с этим

неоднородной защищенностью ее отсеков с разных направлений может приводить к зависимости поглощенной дозы от ориентации станции в пространстве. Существование такого эффекта подтверждается данными измерений. В работе [4] показано, что мощность дозы, регистрируемая дозиметрами системы радиационного контроля (СРК) МКС [5] при прохождении области ЮАА, может меняться более чем в 2 раза, в зависимости от ориентации станции по отношению к ее орбите. Подобный эффект также отмечался в работах [6, 7], где рассматривалось изменение показаний прибора «Люлин-5» при изменении ориентации МКС.

Возникает вопрос как сказывается вышеуказанный эффект на уровнях облучения космонавта, работающего на станции? В данной работе представлены результаты расчетных оценок, позволяющие количественно оценить различие поглощенных доз в критических органах тела космонавта при разных вариантах расположения космонавта относительно МКС и ориентации станции в пространстве. Ранее [4, 8] нами была разработана методика, позволяющая вычислять мощность дозы в точке на борту МКС при прохождении области ЮАА с учетом анизотропии потока протонов радиационного пояса Земли (РПЗ). Проведенное в работе [4] сопоставление расчетных оценок мощности дозы с данными измерений СРК МКС показало, что методика достаточно хорошо описывает влияние ориентации станции на регистрируемую мощность дозы. Это дает основание применить разработанную методику для расчета дозы, поглощенной в критических органах тела космонавта. Следует отметить, что методика позволяет рассчитать дозу, создаваемую протонами РПЗ, и не учитывает вклад в дозу, вносимый другими частицами космического излучения.

### *Методика*

Методика расчета дозы в анизотропном поле излучения ЮАА подробно описана в работе [8]. Представим здесь основную идею методики. Расчет дозы производится в «лучевом приближении»,



основанном на допущении, что все вторичные частицы, образовавшиеся в процессе падения исходной высокоэнергетической частицы космического излучения, движутся в том же направлении, что и исходная частица [9]. В таком приближении еще в 1971 г. в работе [10] было представлено соотношение для расчета дозы космического излучения. Применительно к протонам РПЗ из этого соотношения следует формула (1). Чтобы вычислить по ней мощность дозы в заданной точке траектории полета МКС, надо задать распределение энергетических спектров падающего излучения по направлениям прихода частиц в эту точку траектории МКС, а также распределение толщины защиты рассматриваемого критического органа тела по соответствующим направлениям прихода частиц:

$$P(t) = \iint_{\Omega E} \Phi(E, \vec{\Omega}, \vec{r}(t), t) \cdot C(E, h(\vec{\Omega})) \cdot dE \cdot d\Omega, \quad (1)$$

где  $\Phi(E, \vec{\Omega}, \vec{r}(t), t)$  – плотность потока протонов энергии  $E$ , падающих на внешнюю поверхность станции с направления  $\vec{\Omega}$  в точке околоземного пространства с координатами  $\vec{r}(t)$ ;  
 $h(\vec{\Omega})$  – толщина вещества, экранирующего рассматриваемую точку с направления  $\vec{\Omega}$ ;  
 $C(E, h(\vec{\Omega}))$  – коэффициент перехода от потока протонов энергии  $E$  к дозе за слоем вещества толщиной  $h$ ;  
 $\vec{r}(t)$  – траектория станции.

Для расчета плотности потока  $\Phi(E, \vec{\Omega}, \vec{r}(t), t)$ , входящей в выражение (1), как и в работе [4], использовалась эмпирическая модель питч-угловых распределений протонов РПЗ [11] в сочетании с моделью геомагнитного поля IGRF [12] на 2006 г. В отличие от работы [4], в которой в качестве функции  $h(\vec{\Omega})$  рассматривалась защищенность дозиметрических блоков конструкцией и оборудованием МКС, в данной работе учитывалась не только толщина защиты с каждого направления, создаваемая МКС, но и самоэкранировка рассматриваемого критического органа тела окружающими тканями самого тела. Исходной информацией для расчета защищенности являлись трехмерная геометрическая модель служебного модуля (СМ) «Звезда» МКС [13] и геометрическая модель тела человека [14], позволяющие в соответствии с ГОСТ 25645.204-83 [15] рассчитать и экранировку веществом станции, и самоэкранировку органов тела в скафандре или без скафандра. Искомое распределение  $h(\vec{\Omega})$  представилось в виде суммы 2 распределений

$$h(\vec{\Omega}) = h_s(\vec{\Omega}) + h_c(\vec{\Omega}), \quad (2)$$

где  $h_s$  – толщина материалов станции;  $h_c$  – толщина органов и тканей тела космонавта.

Существенным элементом методики расчета дозы являлось приведение всех угловых распределений к единой системе координат. Это было необходимо, поскольку модель тела человека задана в одной системе координат (рис. 1), модель СМ МКС задана в «строительной» системе координат (рис. 2), а модель питч-угловых распределений потоков протонов задана в системе координат, связанной с геомагнитным полем. Требовалось все это согласовать с учетом ориентации МКС в пространстве. В качестве единой системы координат из соображений наглядности представления была выбрана топоцентрическая система [16]. Отметим, что выбор конкретной системы координат, в которую все приводится, не имеет принципиального значения и определяется лишь удобством представления результатов. Программно приведение всех угловых распределений к единой системе координат было реализовано в виде умножения векторов, характеризующих направления, на соответствующие матрицы поворота от одной системы координат к другой.

Доза, поглощенная в рассматриваемой точке тела при прохождении области ЮАА, определялась путем численного интегрирования мощности дозы, определяемой выражением (1), вдоль траектории движения станции через данную область с шагом по времени равным 30 с.

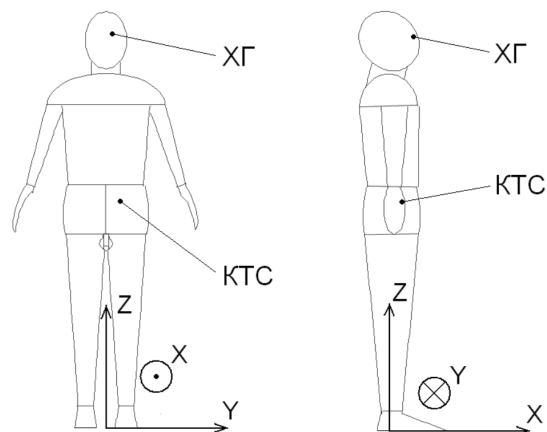


Рис. 1. Система координат тела космонавта и местоположение критических органов в теле.

ХГ – хрусталик левого глаза; КТС – точка кроветворной системы. Ось X указывает направление взгляда космонавта

Вышеизложенная методика использовалась для проведения параметрического анализа дозы радиации, поглощенной в критических органах тела космонавта МКС за время прохождения станции через зону ЮАА. При этом рассматривалось движение станции по круговой орбите с высотой 350 км над уровнем моря и наклоном 51,66°. При анализе варьировались следующие характеристики:

- траектория прохождения МКС через зону ЮАА;
- пространственная ориентация МКС;
- местонахождение космонавта на борту МКС;
- ориентация космонавта относительно МКС;
- положение точки (критического органа) тела космонавта, для которой оценивается поглощенная доза.

Траектория прохождения МКС через область ЮАА варьировалась изменением долготы восходящего узла орбиты. В качестве параметра, характеризующего траекторию прохождения зоны ЮАА, была выбрана географическая долгота (в дальнейшем – долгота пересечения ЮАА), при которой станция пересекает параллель, расположенную на 30-м градусе ю. ш.

При задании пространственной ориентации МКС моделировались 2 наиболее распространенных типа ориентации станции относительно орбиты, при одном из которых СМ ориентирован отсеком малого диаметра вперед (тип 1), а при другом – отсеком большого диаметра вперед (тип 2). Для каждого типа был взят идеальный случай, при котором строительные оси МКС строго ортогональны осям орбитальной системы координат.

Также при анализе рассматривались 5 различных случаев местоположения космонавта. Три из них соответствовали нахождению космонавта внутри СМ: в каютах левого и правого борта, а также на продольной строительной оси СМ напротив рабочего стола. В 2 остальных случаях моделировалась ситуация внекорабельной деятельности (ВКД) при нахождении космонавта снаружи СМ, напротив кают левого и правого борта. Для каждого местоположения рассматривались 4 вида вертикальной ориентации космонавта относительно МКС (ногами к полу), соответствующих взгляду космонавта в положительных и отрицательных направлениях осей X и Z, указанных на рис. 2. В качестве критических органов, для которых оценивалась поглощенная доза радиации, рассматривались 2 характерные точки тела космонавта, имеющие различную степень экранировки: слабо защищенная точка положения хрусталика глаза и более защищенная точка в области тазобедренного сустава, соответствующая кроветворной системе (см. рис. 1). Именно для этих 2 точек проводились расчеты дозы, поглощенной за время прохождения области ЮАА, в зависимости от рассмотренных параметров. Доза вычислялась путем интегрирования мощности дозы за все время прохождения области аномалии – от момента входа в зону повышенной радиации до момента выхода из нее. Отдельно рассматривались «восходящий» участок траектории (при движении станции с юго-запада на северо-восток) и «нисходящий» участок (при движении с северо-запада на юго-восток).

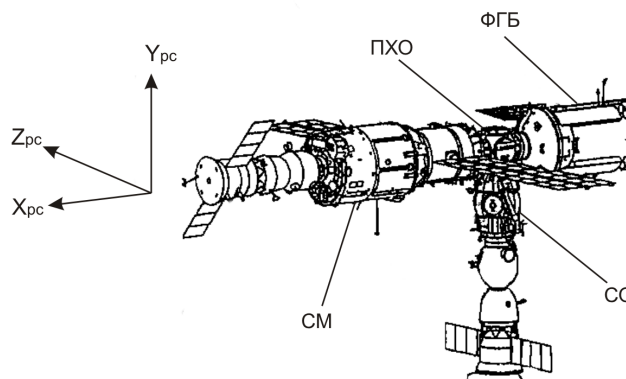


Рис. 2. Система координат СМ МКС.

СМ – служебный модуль «Звезда»; ФГБ – функционально-грузовой блок «Заря»; СО – стыковочный отсек «Пирс»; ПХО – переходный отсек

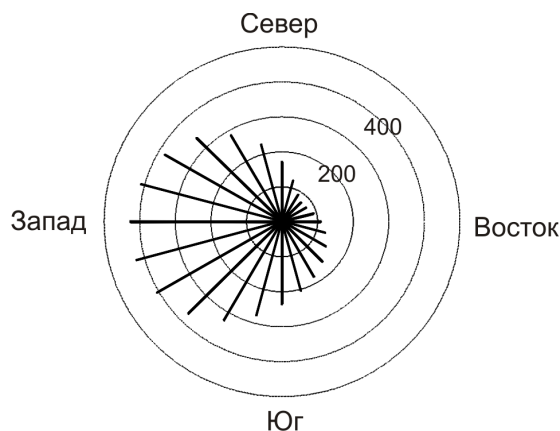


Рис. 3. Зависимость дозы, поглощенной в хрусталике глаза космонавта, находящегося снаружи МКС около правого борта СМ, от ориентации космонавта по отношению к сторонам света.

Расчет проведен для случая прохождения МКС через область ЮАА на нисходящем витке орбиты с 1-м типом орбитальной ориентации станции. Значения поглощенной дозы пропорциональны длинам лучей, выходящих из центра круговой диаграммы. Цифры – значения дозы (мкГр) вдоль соответствующих окружностей

### Результаты и обсуждение

Проведенные расчеты зависимости дозы облучения критических органов тела космонавта от долготы пересечения ЮАА показали, что наибольшее значение дозы примерно соответствует долготе -50°. В связи с этим при параметрическом анализе рассматривались траектории МКС, пересекающие зону ЮАА именно на долготе -50°. В таблице представлены полученные для этой долготы расчетные оценки поглощенной дозы в зависимости от остальных

Таблица

**Зависимость дозы радиации, поглощенной в критических органах тела космонавта,  
от местоположения и ориентации космонавта относительно МКС при прохождении станции  
через область ЮАА с 2 различными типами ориентации МКС на восходящем (В)  
и нисходящем (Н) участках траектории**

| Рассматриваемый критический орган<br>тела космонавта |                          | Хрусталик<br>левого глаза |      |      |      | Точка кроветворной системы<br>(КТС) |     |     |     |
|------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------|------|------|------|-------------------------------------|-----|-----|-----|
| Тип орбитальной ориентации МКС                       |                          | 1                         |      | 2    |      | 1                                   |     | 2   |     |
| Виток орбиты МКС                                     |                          | В                         | Н    | В    | Н    | В                                   | Н   | В   | Н   |
| Местоположение космонавта                            | Ориентация<br>космонавта | Поглощенная доза (мкГр)   |      |      |      |                                     |     |     |     |
| На оси X CM напротив стола                           | -X                       | 21                        | 18   | 30   | 20   | 12                                  | 12  | 14  | 11  |
|                                                      | +X                       | 28                        | 33   | 22   | 26   | 14                                  | 16  | 12  | 11  |
|                                                      | +Z                       | 32                        | 19   | 20   | 23   | 14                                  | 13  | 12  | 13  |
|                                                      | -Z                       | 20                        | 34   | 32   | 24   | 12                                  | 19  | 13  | 11  |
| В левой каюте CM                                     | -X                       | 37*                       | 49   | 56   | 103* | 16*                                 | 12  | 13  | 21* |
|                                                      | +X                       | 44*                       | 20   | 31   | 37*  | 15*                                 | 10  | 10  | 12* |
|                                                      | +Z                       | 80*                       | 50   | 76   | 119* | 20*                                 | 13  | 13  | 23* |
|                                                      | -Z                       | 24*                       | 23   | 26   | 25*  | 13*                                 | 13  | 11  | 15* |
| В правой каюте CM                                    | -X                       | 29                        | 36*  | 46*  | 23   | 11                                  | 13* | 18* | 12  |
|                                                      | +X                       | 48                        | 73*  | 30*  | 37   | 13                                  | 20* | 17* | 12  |
|                                                      | +Z                       | 26                        | 25*  | 23*  | 26   | 11                                  | 15* | 14* | 14  |
|                                                      | -Z                       | 50                        | 80*  | 54*  | 37   | 13                                  | 23* | 22* | 14  |
| Снаружи CM по левому борту                           | -X                       | 167*                      | 236  | 302  | 335* | 19*                                 | 13  | 20  | 29* |
|                                                      | +X                       | 430*                      | 119  | 188  | 158* | 33*                                 | 13  | 16  | 12* |
|                                                      | +Z                       | 395*                      | 209  | 272  | 372* | 33*                                 | 15  | 16  | 29* |
|                                                      | -Z                       | 181*                      | 160  | 125  | 68*  | 14*                                 | 12  | 15  | 14* |
| Снаружи CM по правому борту                          | -X                       | 183                       | 156* | 430* | 114  | 16                                  | 12* | 32* | 14  |
|                                                      | +X                       | 293                       | 337* | 172* | 236  | 20                                  | 29* | 20* | 14  |
|                                                      | +Z                       | 120                       | 68*  | 180* | 157  | 15                                  | 14* | 14* | 13  |
|                                                      | -Z                       | 271                       | 372* | 395* | 209  | 16                                  | 29* | 34* | 16  |

*Примечание.* Используются следующие обозначения ориентации космонавта относительно станции: +X – лицом в направлении строительной оси X служебного модуля; -X – лицом против этой оси, аналогично – для оси Z. \* – расчетные дозы облучения хрусталика глаза при слабом экранировании корпусом МКС с западного направления.

рассматриваемых параметров. Полученные оценки показывают, что в этих случаях доза, поглощенная в хрусталике глаза, может существенно зависеть от взаимной ориентации космонавта и МКС. В случаях нахождения космонавта в каютах CM при ориентации космонавта лицом к внешней стенке модуля (расположенной в этих вариантах с западной стороны от космонавта) поглощенная доза может оказаться в 4 раза больше, чем при ориентации лицом в противоположную сторону. В случаях нахождения снаружи CM при ориентации космонавта лицом к модулю доза может оказаться в 5 раз меньше, чем при ориентации лицом в противоположную сторону. Для более защищенной точки кроветворной системы (КТС) аналогичный эффект выражен

не столь ярко и может достигать около 2 раз при нахождении в каютах и 2,5 раза при нахождении снаружи CM.

На диаграмме, представленной на рис. 3, изображена расчетная зависимость дозы облучения хрусталика глаза от ориентации космонавта для одного из рассмотренных случаев ВКД, в котором отсутствует экранировка космонавта корпусом станции с западного направления. Можно видеть, что наибольшее значение поглощенной дозы в данном случае соответствует ориентации космонавта лицом на запад, и это значение оказывается примерно в 5,5 раза больше, чем при взгляде на северо-восток, соответствующем ориентации космонавта лицом к CM в рассматриваемом случае.

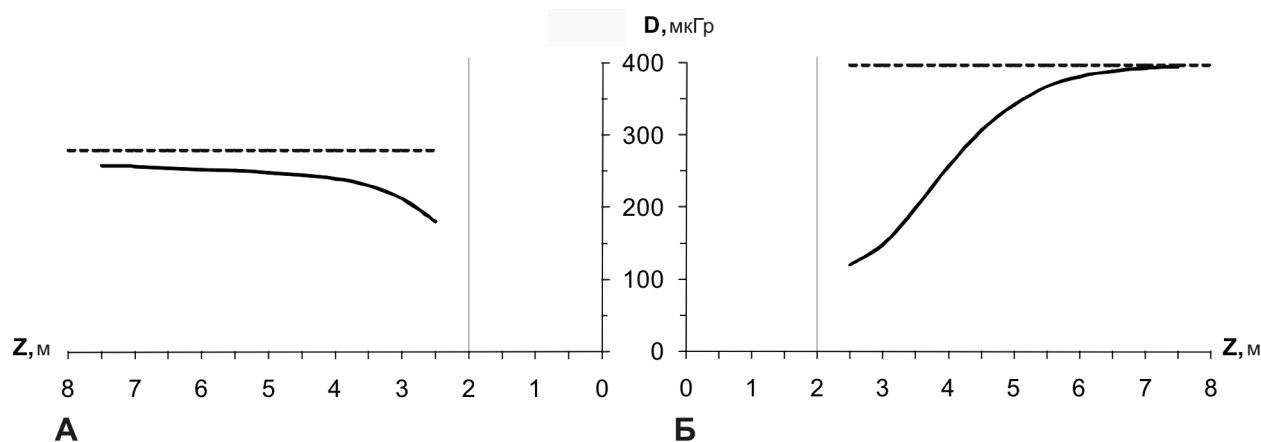


Рис. 4. Зависимость дозы (мкГр), поглощенной хрусталиком глаза космонавта, от расстояния (м) между центром тела космонавта и продольной строительной осью X СМ МКС для случаев нахождения космонавта снаружи станции, на сторонах модуля, обращенных к западу (А) и к востоку (Б), при ориентации космонавта лицом к модулю.

Пунктирные линии – значения дозы при отсутствии экранировки космонавта со стороны МКС (дозе в свободном пространстве); вертикальные линии – внешняя поверхность СМ. Расчет проведен для случаев прохождения МКС через область ЮАА на восходящем витке орбиты с 1-м типом орбитальной ориентации станции

При нахождении космонавта снаружи СМ на стороне, обращенной к востоку, влияние ориентации космонавта на поглощенную дозу значительно снижается из-за меньшего потока протонов, падающего на станцию с этой стороны. Согласно полученным расчетным оценкам, в подобных случаях различие значений дозы при ориентациях космонавта лицом и спиной к модулю не превышает 2,5 раза (см. табл.). Однако при данном местоположении космонавта относительно СМ еще одним существенным фактором, влияющим на величину дозы, становится удаленность космонавта от поверхности модуля. График, представленный на правой части рис. 4, показывает, что вблизи внешней стороны модуля, обращенной в восточном направлении, имеется область пониженной мощности дозы по сравнению со свободным пространством, своеобразная «радиационная тень». Были проведены дополнительные расчеты, которые позволили оценить размер области «тени». Расчеты показали, что с восточной стороны от модуля на удалении до 1,5 м от его внешней поверхности и до 1,5 м вверх и вниз от его продольной оси доза на хрусталик глаза оказывается менее 50 % от дозы, которая была бы получена при отсутствии экранировки со стороны МКС.

Проведенные расчетные оценки подтверждают влияние анизотропии поля излучения внутреннего радиационного пояса Земли на уровни доз радиации в слабо защищенных зонах низкоорбитальных космических аппаратов и позволяют оценить масштаб такого влияния. Применительно к облучению экипажей МКС можно отметить, что рассматриваемый эффект особенно заметен при ВКД. Так, доза, поглощенная в хрусталике глаза за одно прохождение области ЮАА, может отличаться более чем в

3 раза для различных случаев взаимного расположения МКС и космонавта. Для более защищенных точек тела различие уменьшается, но может достигать двукратного значения.

Отметим, что в проделанных вычислениях не учитывался вклад в величину поглощенной дозы от галактических космических лучей (ГКЛ). Однако анализ данных СРК, а также результаты, представленные в работе [17], свидетельствуют, что мощность дозы от ГКЛ в области ЮАА не превышает 5–7 мкГр/ч. Поэтому за одно прохождение ЮАА данный вклад не превысит 1–2 мкГр, что позволяет не учитывать его в наших оценках.

В соответствии с принципом ALARA, предписывающим стремиться к уменьшению дозы облучения настолько, насколько это разумно достижимо, можно предложить следующие рекомендации по уменьшению уровня радиационного воздействия на тело космонавта во время прохождения области ЮАА:

1. Не планировать на время прохождения центральной части ЮАА работ в зонах станции, слабо защищенных в это время с западного направления.
2. При планировании ВКД на время прохождения ЮАА рекомендуется нахождение космонавтов на стороне станции, ориентированной в это время в восточном направлении, на удалении не более 1,5 м от поверхности станции. В том случае, если необходимо нахождение космонавта в это время с западной стороны от СМ, ему предпочтительно находиться лицом по направлению к поверхности модуля.



### Выводы

1. Проведенный расчетный анализ показывает, что при прохождении МКС через центральную часть области ЮАА уровень облучения слабо защищенных критических органов тела космонавта может существенно зависеть от положения и ориентации космонавта по отношению к корпусу станции.

2. Полученные расчетные оценки позволяют дать практические рекомендации по снижению доз облучения критических органов для космонавтов, осуществляющих ВКД в условиях малой экранировки в периоды прохождения зоны ЮАА.

3. При нахождении на стороне СМ, обращенной к западу, рекомендуется соблюдать ориентацию лицом к модулю. В случае прохождения ЮАА на нисходящем витке орбиты станции доза облучения хрусталика глаза при такой ориентации космонавта может быть снижена в 3 раза по сравнению со случаем положения космонавта лицом в западном направлении.

4. В случае нахождения на стороне СМ, обращенной к востоку, целесообразно располагаться вблизи поверхности модуля. На расстоянии 1,5 м от восточной стороны корпуса СМ при ориентации космонавта лицом к модулю доза, поглощенная в хрусталике глаза, может оказаться в 2 раза ниже, чем при отсутствии экранировки космонавта со стороны станции.

Авторы выражают свою признательность сотрудникам ГНЦ РФ – ИМБП РАН В.Г. Митрикасу и В.А. Бондаренко, предоставившим геометрические модели служебного модуля МКС и тела человека для проведения расчетов.

### Список литературы

1. Лишневицкий А.Э., Панасюк М.И., Бенгин В.В. и др. Вариации радиационной обстановки на Международной космической станции в 2005–2009 годах // Косм. исследования. 2012. Т. 50. № 4. С. 341–345.

Lishnevskiy A.E., Panasyuk M.I., Benghin V.V. et al. Variations of radiation environment onboard the International Space Station in 2005–2009 // Kosmicheskie issledovaniya. 2012. V. 50. № 4. P. 341–345.

2. Хесс В. Радиационный пояс и магнитосфера. М., 1972.

Hess W. The Radiation belt and magnetosphere. Moscow, 1972.

3. Бенгин В.В., Петров В.М., Шуршаков В.А., Муратова И.А. Параметры угловых распределений захваченных протонов в Бразильской магнитной аномалии // Косм. исследования. 1991. Т. 29. № 6. С. 905–909.

Benghin V.V., Petrov V.M., Shurshakov V.A., Muratova I.A. Angular distributions parameters of trapped protons in the

Brazil magnetic anomaly // Kosmicheskie issledovaniya. 1991. V. 29. № 6. P. 905–909.

4. Дробышев С.Г., Бенгин В.В. Оценка влияния ориентации Международной космической станции на мощность дозы в служебном модуле станции при прохождении области Южно-Атлантической аномалии // Там же. 2011. Т. 49. № 5. С. 411–418.

Drobyshev S.G., Bengihn V.V. Estimation of the International Space Station attitude effect on dose rate in the service module of the station when passing the South-Atlantic Anomaly area // Ibid. 2011. V. 49. № 5. P. 411–418.

5. Лягушин В.И., Волков А.Н., Александрин А.П. и др. Предварительные результаты измерения поглощенных доз по данным системы радиационного контроля российского сегмента Международной космической станции // Вопросы атомной науки и техники. Сер. Физика радиационного воздействия на радиоэлектронную аппаратуру. 2002. Вып. 4. С. 22–25.

Lyagushin V.I., Volkov A.N., Aleksandrin A.P. et al. Preliminary results of measuring absorbed dose rates with radiation monitoring system of Russian segment of the International Space Station // Voprosy atomnoy nauki i tekhniki. Ser. Fizika radiatsionnogo vozdeystviya na radioelektronnyu apparaturu. 2002. Is. 4. P. 22–25.

6. Черных И.В., Семкова Й., Петров В.М. и др. Влияние ориентации Международной космической станции на мощность дозы, регистрируемую детекторами прибора «Люлин-5» // Междунар. конф. «Фундаментальные космические исследования: новейшие разработки в области геоэкологического мониторинга Причерноморского региона и перспективы их реализации» (Солнечный берег, Болгария, 22–27 сентября 2008 г.). С. 141–146.

Chernykh I.V., Semkova I., Petrov V.M. et al. Influence of attitude of the International Space Station on the dose rate recorded by detectors of Lyulin-5 instrument // International conference «Fundamental space research: New developments in geospace monitoring of the Black Sea region and prospects of their realization» (Slanchev Bryag, Bulgaria, Sept. 22–27, 2008). P. 141–146.

7. Chernykh I.V., Petrov V.M., Shurshakov V.A. ISS attitude influence on the dose rate measured with detectors of «Liulin-5» instrument // 13th Workshop on Radiation Monitoring for the International Space Station (8–10 Sept. 2008. Krakow, Poland).

8. Дробышев С.Г., Бенгин В.В. Учет влияния пространственной ориентации Международной космической станции на мощность дозы при прохождении Южно-Атлантической аномалии // Авиакосм. и экол. мед. 2009. Т. 43. № 5. С. 58–63.

Drobyshev S.G., Bengin V.V. Accounting the effect of spatial orientation of the International Space Station on dose rate during traverse of the South-Atlantic Anomaly // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2009. V. 43. № 5. P. 58–63.

9. Alsmiller R.G. High-energy nucleon transport and space vehicle shielding // Nuclear Science and Engineering. 1967. V. 27. P. 158–189.

10. Хаффнер Дж. Ядерное излучение и защита в космосе. М., 1971.

Haffner J. Nuclear radiation and protection in space. Moscow, 1971.

11. Кузнецов Н.В., Николаева Н.И. Эмпирическая модель питч-угловых распределений захваченных протонов на внутренней границе радиационного пояса Земли // Косм. исследования. 2012. Т. 50. № 1. С. 15–22.

Kuznetsov N.V., Nikolaeva N.I. An empirical model of pitch-angle distributions of trapped protons on the inner boundary of the Earth's radiation belt // Kosmicheskie issledovaniya. 2011. V. 50. № 1. P. 15–22.

12. <http://modelweb.gsfc.nasa.gov>.

13. Митрикас В.Г. Модель защищенности обитаемых отсеков служебного модуля Международной космической станции для оценки радиационной безопасности // Авиакосм. и экол. мед. 2004. Т. 38. № 3. С. 41–47.

Mitrikas V.G. Model of protectability of the International Space Station service module habitable compartments for radiation risk assessment // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2004. V. 38. № 3. P. 41–47.

14. Бондаренко В.А., Митрикас В.Г. Модель геометрического фантома человека для расчета тканевых доз в служебном модуле Международной космической станции // Там же. 2004. Т. 38. № 2. С. 52–56.

Bondarenko V.A., Mitrikas V.G. Male geometric phantom model for computation of tissue doses in the service module of the International Space Station // Ibid. 2004. V. 38. № 2. P. 52–56.

15. ГОСТ 25645.204-83. Методика расчета экранированности точек внутри фантома. М., 1984.

GOST 25645.204-83. Shielding calculation technique for points inside a phantom. Moscow, 1984.

16. Петров Б.Н., Бажинов И.К. Навигационное обеспечение полета орбитального комплекса «Салют-6» – «Союз» – «Прогресс». М., 1985.

Petrov B.N., Bazhinov I.K. Navigation support for flight of the orbital complex «Salyut-6» – «Soyuz» – «Progress». Moscow, 1985.

17. Wilson J., Nealy J., Dachev Ts. et al. Time serial analysis of the induced LEO environment within the ISS 6A // Advances in Space Res. 2007. V. 40. P. 1562–1570.

## **ANALYSIS OF THE IMPORTANCE OF COSMONAUT'S LOCATION AND ORIENTATION ONBOARD THE INTERNATIONAL SPACE STATION TO LEVELS OF VISCERAL IRRADIATION DURING TRAVERSE OF THE REGION OF THE SOUTH ATLANTIC ANOMALY**

**Drobyshev S.G., Benghin V.V.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2015. V. 49. № 1. P. 57–63

*Parametric analysis of absorbed radiation dose to the cosmonaut working in the Service module (SM) of the International space station (ISS) was made with allowance for anisotropy of the radiation field of the South Atlantic Anomaly. Calculation data show that in weakly shielded SM compartments the radiation dose to poorly shielded viscera may depend essentially on cosmonaut's location and orientation relative to the ISS shell. Difference of the lens absorbed dose can be as high as 5 times depending on orientation of the cosmonaut and the ISS. The effect is less pronounced on the deep seated hematopoietic system; however, it may increase up to 2.5 times during the extravehicular activities. When the cosmonaut is outside on the ISS SM side presented eastward, the absorbed dose can be affected noticeably by remoteness from the SM. At a distance less than 1.5 meters away from the SM east side in the course of ascending circuits, the calculated lens dose is approximately half as compared with the situation when the cosmonaut is not shielded by the ISS material.*

Key words: radiation field anisotropy in the South Atlantic Anomaly, radiation dose on the International space station.

Поступила 22.10.2014

УДК 581.1.03:581.13

## ДЕЙСТВИЕ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ ДЫХАТЕЛЬНОГО И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ

Войцековская С.А.<sup>1, 2</sup>, Астафурова Т.П.<sup>1</sup>, Верхотурова Г.С.<sup>1</sup>, Постовалова В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия

<sup>2</sup>Томский государственный педагогический университет, Россия

E-mail: euvit@bk.ru

Исследовали влияние гипобарической гипоксии на активность ферментов фотосинтетического и дыхательного метаболизма в 8-дневных проростках ячменя *Hordeum vulgare* L. в темноте или на свету. При 16-часовой экспозиции в условиях разрежения атмосферного воздуха, приводящего к снижению парциального давления газов и развитию гипобарической гипоксии ( $P_{\text{воздуха}} = 8,3$  кПа,  $pO_2 = 1,7$  кПа,  $pCO_2 = 0,003$  кПа), активировались пируваткиназа, алкогольдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и НАДФ-Н-глицеральдегидфосфатдегидрогеназа как в темноте, так и на свету. Происходило уменьшение активности НАД- и НАДФ-Н-малатдегидрогеназ. Усиление функционирования НАДФ-малик-энзима, неизменно высокая активность НАДФ-изоцитратдегидрогеназы и возрастание НАДФ-Н-глицеральдегидфосфатдегидрогеназы рассматриваются как адаптивный механизм приспособления растений ячменя к гипобарической гипоксии.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., гипобарическая гипоксия, дыхательный метаболизм, адаптация, фотосинтез, ферментативная активность.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 1. С. 64–69.

Среди разнообразных типов гипоксических состояний у растений, вызванных затоплением, образованием ледяной корки, загрязнением атмосферы и др., гипобарическая гипоксия, развивающаяся в тканях при разрежении атмосферного воздуха, остается наименее изученной [1–4]. Исследование резервных возможностей организмов и механизмов их адаптации к действию разреженной атмосферы представляет особый интерес не только в связи с освоением высокогорных районов проживания, но и с развитием космических исследований, океанологии, созданием искусственных систем жизнеобеспечения, а также с решением экологических задач, связанных с формированием климата. В медицине для лечения заболеваний, вызванных гипоксическими состояниями, успешно применяются методы с использованием дозированной гипобарической гипоксии, действие которой направлено на стимулирование компенсаторных процессов в организме, улучшающих переносимость дефицита кислорода.

Растения, вероятно, более устойчивы к действию гипобарической гипоксии, чем животные, что связано с особенностями не только дыхательного, но и фотосинтетического метаболизма. На примере растений как модельных объектов можно изучать общие закономерности функционирования организмов в условиях разреженной атмосферы и возможности использования растительных объектов в космосе [5, 6].

Целью работы являлось выяснение особенностей влияния гипобарической гипоксии на активность ферментов дыхательного и фотосинтетического метаболизма в проростках ячменя в темноте и на свету.

### Методика

Объектом исследования служили 8-суточные зеленые проростки озимого ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Скороход». Растения выращивали при температуре воздуха 22–24 °С под люминесцентными лампами интенсивностью 40 Вт/м<sup>2</sup> с 12-часовым фотопериодом. Для создания гипоксических условий растения помещали в термобарокамеру ТГ-50.4 VEB фирмы Hochvakuum (Германия), где путем разрежения атмосферного воздуха достигали пониженного барометрического и парциального давления газов ( $P_{\text{воздуха}} = 8,3$  кПа,  $pO_2 = 1,7$  кПа,  $pCO_2 = 0,003$  кПа, гипобарическая гипоксия). Степень разрежения воздуха контролировали по показаниям дифманометра ДТ-50 и висотомера. Скорость откачивания воздуха и его запуска перед окончанием эксперимента составляла 16 м/с. Длительность экспозиции в барокамере – 16 ч – была выбрана на основании результатов ранее проведенных исследований как критическая, но не приводящая к необратимым изменениям метаболизма [2–4]. Для изучения влияния гипобарической гипоксии на активность ферментов фотосинтетического и дыхательного метаболизма были проведены 2 серии опытов: растения находились в условиях освещения (40 Вт/м<sup>2</sup>) или в темноте. Источником освещения служили лампы ЛДЦ-40, интенсивность

Таблица 1

**Влияние 16-часовой гипобарической гипоксии на активность ферментов дыхательного метаболизма в проростках ячменя в темноте**

| Наименование фермента       | Активность           |                       |              |
|-----------------------------|----------------------|-----------------------|--------------|
|                             | Аэрация, мЕ/мг белка | Гипоксия, мЕ/мг белка | % к контролю |
| Пируваткиназа               | 33,6 ± 1,2           | 50,3 ± 5,1*           | 167          |
| НАДФ-малик-энзим            | 17,9 ± 0,2           | 19,8 ± 0,6*           | 111          |
| НАДФ-изоцитратдегидрогеназа | 102,1 ± 7,5          | 97,4 ± 8,9            | 95           |

Примечание. Здесь и в табл. 2 контроль (аэрация) принят за 100 %; \* – различия между контролем и опытом достоверны при  $p \leq 0,05$ .

Таблица 2

**Влияние 16-часовой гипобарической гипоксии на активность ферментов дыхательного метаболизма в проростках ячменя на свету (40 Вт/м<sup>2</sup>)**

| Наименование фермента       | Активность           |                      |              |
|-----------------------------|----------------------|----------------------|--------------|
|                             | Аэрация, мЕ/мг белка | Гипоксия, Е/мг белка | % к контролю |
| Пируваткиназа               | 45,3 ± 3,3           | 55,3 ± 4,8*          | 122          |
| НАДФ-малик-энзим            | 7,5 ± 0,3            | 9,9 ± 0,2*           | 132          |
| НАДФ-изоцитратдегидрогеназа | 67,3 ± 9,7           | 61,2 ± 1,5           | 91           |

света измеряли пиранометром Янишевского, термометр которого регистрировали гальванометром переносного типа М 195. Измерение температуры и относительной влажности воздуха проводили с помощью стандартного термоспсихрометра. При экспозициях в барокамеру устанавливали приемники с 20 %-ным раствором КОН для поглощения CO<sub>2</sub>. Контрольные группы растений выдерживали такое же количество времени в экспозиционных камерах, где поддерживали естественные условия аэрации, нормального барометрического давления ( $P_{\text{воздуха}} = 101,3$  кПа,  $pO_2 = 21,2$  кПа,  $pCO_2 = 0,032$  кПа) и освещения интенсивностью 40 Вт/м<sup>2</sup> или темноты. После завершения эксперимента растительный материал использовали для определения количества белка по методу Bradford [7] и активности ферментов спектрофотометрически (Shimadzu UV-2100, Shimadzu Corp., Япония), как описано ранее [2–4].

В работе использовали реактивы фирмы Serva (Германия), Sigma (США) и минеральные соли (х. ч.) отечественного производства.

Результаты обрабатывали статистически с помощью компьютерных программ Excel и Statistica 6.0, рассчитаны средние арифметические и их среднеквадратичные отклонения из 3 независимых экспериментов, каждый из которых проведен в 3 биологических и 2 аналитических повторностях. Разницу между сравниваемыми средними значениями оценивали с помощью критерия Стьюдента при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

16-часовое воздействие гипобарической гипоксии приводило к изменению активности ряда ферментов дыхательного и фотосинтетического метаболизма в проростках ячменя. В условиях разреженной атмосферы активность пируваткиназы (фермента гликолиза, К.Ф.2.7.1.40) в темноте возрастала в 1,5 раза по сравнению с контролем при аэрации (табл. 1). В освещенных проростках ячменя гипоксия также индуцировала работу пируваткиназы, хотя степень увеличения активности фермента была несколько ниже, чем в темновом варианте (табл. 2). Вместе с активацией пируваткиназы, отвечающей за энергетическое обеспечение клетки, в гипоксических условиях изменялась активность ферментов, повышающих метаболический статус клетки. Изучение возможностей анаэробных реакций, индуцированных гипоксическим воздействием, выявило усиление работы НАДФ-малик-энзима (К.Ф.1.1.1.40) как в темноте, так и на свету, с одновременным сохранением неизменно высокой активности НАДФ-изоцитратдегидрогеназы (К.Ф.1.1.1.42, см. табл. 1, 2).

О возможном переходе гликолиза в гипоксических условиях в брожение свидетельствовало резкое повышение активности одного из основных анаэробных энзимов – алкогольдегидрогеназы (К.Ф.1.1.1.1), катализирующей заключительную реакцию спиртового брожения. При 12-кратном снижении парциального давления кислорода в зеленых проростках ячменя в темноте активность



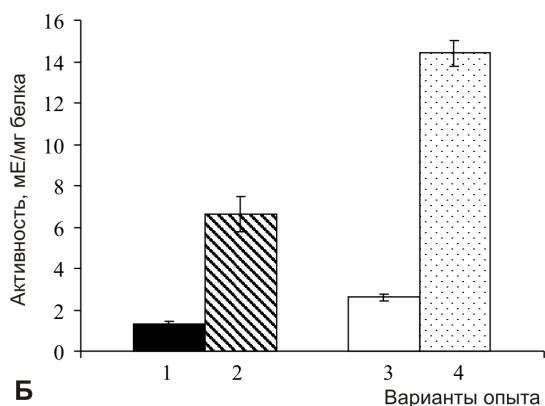
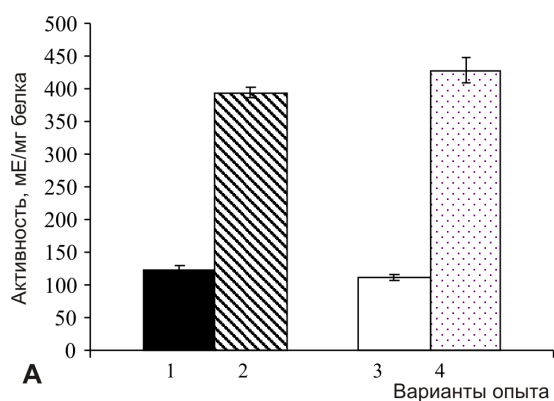


Рис. 1. Влияние 16-часовой гипобарической гипоксии на активность алкогольдегидрогеназы (А) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Б) в проростках ячменя в темноте и на свету (40 Вт/м<sup>2</sup>).

Здесь и на рис. 2, 3: 1 – аэрация, темнота; 2 – гипоксия, темнота; 3 – аэрация, свет; 4 – гипоксия, свет

алкогольдегидрогеназы возрастала в 3,2 раза по сравнению с соответствующим контролем (рис. 1). Присутствие света во время гипоксического воздействия в барокамере усиливало протекание заключительной реакции брожения также более чем в 3 раза.

Разрежение атмосферы одновременно сказывалось и на функционировании окислительного пентозофосфатного пути. После 16-часового пребывания в анаэробной среде в условиях темноты наблюдали 5-кратное увеличение активности стартового фермента пентозофосфатного пути окисления глюкозы – НАДФ-глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (К.Ф.1.1.1.49) по сравнению с темновым контролем при аэрации (см. рис. 1). Аналогичную тенденцию наблюдали и на свету, причем возрастание активности фермента было даже более значительным, чем в темноте.

Последующий этап метаболических превращений характеризовался снижением активности НАД-малатдегидрогеназы (К.Ф.1.1.1.37), что указывало на угнетение ЦТК при 16-часовой гипобарической гипоксии как на свету, так и в темноте (см. рис. 2). Судя по замедлению интенсивности

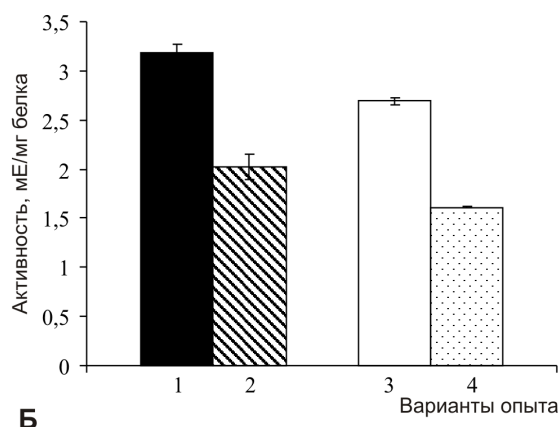
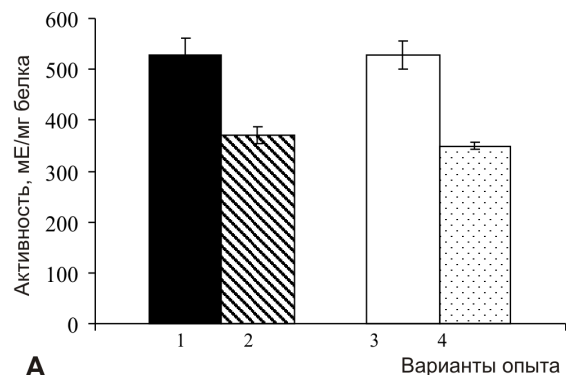


Рис. 2. Влияние 16-часовой гипобарической гипоксии на активность НАД-малатдегидрогеназы (А) и НАДН-малатдегидрогеназы (Б) в проростках ячменя в темноте и на свету (40 Вт/м<sup>2</sup>)

работы НАД·Н-зависимой малатдегидрогеназы (К.Ф.1.1.1.37), условия гипобарии и гипоксии снижали способность образования малата из оксалоацетата. Но экстремальные гипоксические условия в зеленых проростках ячменя в темноте и на свету активировали фотосинтетический фермент глицеральдегидфосфатдегидрогеназу (К.Ф.1.2.1.13), работающую с НАДФ·Н, и катализирующую восстановление первичных продуктов фотосинтеза в цикле Кальвина (рис. 3).

Таким образом, в условиях 12-кратного снижения парциального давления кислорода в проростках ячменя как в темноте, так и на свету происходила активация работы ключевых ферментов разных этапов дыхательного метаболизма: гликолиза, спиртового брожения, окислительного пентозофосфатного цикла, а также начального этапа темновой фазы фотосинтеза. Уменьшение активности фермента ЦТК НАД-малатдегидрогеназы в условиях гипобарической гипоксии сопровождалось повышенной интенсивностью работы малик-энзима и стабильным функционированием анаплеротической НАДФ-изоцитратдегидрогеназы.



Полученные результаты свидетельствуют о том, что при 16-часовой гипобарической гипоксии в проростках ячменя и в темноте, и на свету происходит изменение активности ферментов, связанных с углеводным и энергетическим обменом. Известно, что в корнях растений метаболическая адаптация к условиям дефицита или отсутствия кислорода осуществляется благодаря кардинальным перестройкам углеводного и энергетического обмена (гликолиза, брожения, мобилизации и утилизации резервных углеводов) [8, 9]. Регуляция анаэробного метаболизма осуществляется на транскрипционном, трансляционном и посттрансляционном уровне путем синтеза анаэробных белков, многие из которых являются ферментами гликолиза, брожения и родственных процессов углеводного метаболизма [9, 10]. Анаэробная индукция синтеза и возрастание активности гликолитических энзимов в условиях недостатка кислорода определены для гетеротрофных тканей многих растительных объектов [11]. Ранее нами были обнаружены подобные изменения метаболизма в листьях гороха и амаранта в условиях гипобарической гипоксии [2–4]. В проведенном исследовании активность пируваткиназы в фотосинтезирующих тканях проростков ячменя при гипобарической гипоксии в условиях освещения достоверно усиливалась на 22 % (см. табл. 2). В темновой серии опытов, при исключении фотофосфорилирования, интенсивность функционирования пируваткиназы на 67 % превышала контрольные значения (см. табл. 1). Это означало, что в гипоксических условиях как в темноте, так и на свету, в ходе пируваткиназной реакции синтезировалась АТФ, необходимая для поддержания энергетического баланса. Подобную активацию пируваткиназы при гипобарической гипоксии наблюдали в листьях гороха [2–4], и в надземных органах сеянцевolistвенницы сибирской при затоплении корней [12].

При гипобарической гипоксии изменялась активность ферментов, отвечающих за метаболические фонды низкомолекулярных веществ в клетке. На свету и в темноте работа алкогольдегидрогеназы – основного тестового фермента для гипоксического воздействия любого типа возрастала в условиях гипобарической гипоксии в зеленых проростках ячменя (см. рис. 1). Это обеспечивало возможность реокисления восстановленных коферментов в конечных реакциях спиртового брожения, что способствовало протеканию гликолиза, и одновременно выделяющийся  $\text{CO}_2$  мог использоваться хлоропластами внутри клеток в реакциях темновой фазы фотосинтеза.

Вместе с усилением гликолиза действие гипобарической гипоксии на зеленые проростки ячменя активировало работу окислительного пентозофосфатного пути в темноте, и в особенности на свету (см. рис. 1), что увеличивало количество НАДФ·Н- и

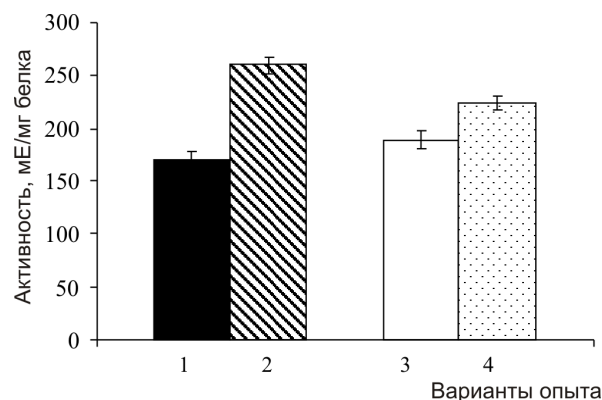


Рис. 3. Влияние 16-часовой гипобарической гипоксии на активность НАДФН-глицеральдегидфосфатдегидрогеназы в проростках ячменя в темноте и на свету (40 Вт/м<sup>2</sup>)

промежуточных соединений, необходимых для поддержания синтетических реакций в стрессовых условиях [11]. То есть подтверждается представление о том, что в условиях кислородной недостаточности процессы гликолиза и апоптомического распада углеводов осуществляются параллельно в силу их тесной взаимосвязи [8].

В условиях 16-часового гипобарического воздействия в ассимилирующих тканях тормозился заключительный этап ЦТК. Уменьшение активности НАД-малатдегидрогеназы (см. рис. 2) приводило к снижению работы ЦТК и ограничивало адаптацию к условиям разреженной атмосферы. Соответственно уменьшалась работа НАД·Н-зависимой малатдегидрогеназы, работающей преимущественно в митохондриальной фракции клеточных структур [3]. Тем не менее в этой реакции, катализируемой НАД·Н-малатдегидрогеназой, в тканях ячменя при гипобарической гипоксии и на свету, и в темноте происходило постоянное образование малата, необходимого для регенерации цикла Кребса и протекания восполняющих реакций. В проростках гороха в подобных условиях описано даже повышение концентрации малата [3]. Выявленная в этих же условиях высокая активность НАДФ-малик-энзима (см. табл. 1, 2), вырабатывающего пируват и диоксид углерода, могла поддерживать метаболические процессы в зеленых листьях ячменя при гипоксии и тем самым способствовать формированию адапционных механизмов.

Стабильная работа НАДФ-изоцитратдегидрогеназы в условиях гипобарической гипоксии на свету и в темноте (см. табл. 1, 2) создавала дополнительные биосинтетические возможности и необходимое взаимодействие метаболических путей, связанных с использованием побочных продуктов гликолиза и брожения и обеспечивающих тем самым синтез АТФ. Известно, что при анаэробной биоэнергетике цикл трикарбоновых кислот продолжает в

некотором объеме функционировать благодаря отведению промежуточных продуктов на синтез  $\gamma$ -аминомасляной кислоты и аланина, восполнению этой потери углерода реакциями глиоксилатного цикла и образованию глутамата на основе его продуктов, что показано на изолированных колеоптилях кукурузы и риса [13]. В то же время имеются данные, что в зеленых проростках гороха активная работа НАДФ-изоцитратдегидрогеназы сопряжена с высокой активностью глутаматдегидрогеназы [14] и накоплением глутамата и аминокислот семейства глутаминовой кислоты при гипобарическом воздействии [3]. То есть удаление отдельных кислот из ЦТК должно возмещаться повышением активности фосфопируваткарбоксилазы и малик-энзима, и вместе с повышением содержания аминокислот способствует формированию адаптивных механизмов [15].

Полученные данные по действию гипобарической гипоксии на дыхательный и фотосинтетический метаболизм зеленых проростков интересны с точки зрения внутриклеточных взаимоотношений органелл и влияния не только дыхания на фотосинтез, но и фотосинтеза на дыхание. При 16-часовом разрежении атмосферного воздуха в барокамере на свету и в большей степени в темноте усиливалось восстановление 3-фосфоглицериновой кислоты до 3-фосфоглицеринового альдегида, катализируемое НАДФ·Н-глицеральдегидфосфатдегидрогеназой, для функционирования которой необходимо достаточное количество АТФ и восстановителя (см. рис. 3). По-видимому, активация дыхательного метаболизма в клетках листа компенсировала дефицит  $\text{CO}_2$ , НАДФ·Н, АТФ и продуктов обмена и одновременно при непродолжительной гипоксии вызывала усиление фотосинтетической активности и стабилизацию восстановительной фазы фотосинтеза. Известно, что и в листьях неустойчивого к недостатку кислорода гороха после 20-часовой экспозиции в условиях разреженной атмосферы функционирование цикла Кальвина также не прекращалось [2].

Таким образом, гипобарическая гипоксия оказывала влияние на окислительный и фотосинтетический метаболизм в 8-дневных зеленых проростках ячменя. Изменения отдельных этапов темнового дыхательного обмена в зеленых проростках ячменя были подобны ответным реакциям в гетеротрофных органах при других типах анаэробии. В условиях 16-часовой гипобарической гипоксии и в темноте, и на свету в растениях ячменя вместе с возрастанием активности пируваткиназы, алкогольдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и некоторым торможением заключительного этапа цикла Кребса происходило включение защитных механизмов через функционирование анаплеротических реакций и активацию восстановительной фазы цикла Кальвина.

## Выводы

Полученные результаты по действию на зеленые проростки ячменя 16-часовой гипобарической гипоксии позволяют сделать следующие выводы:

1. При действии гипобарической гипоксии на свету и в темноте в зеленых проростках ячменя возрастает активность пируваткиназы, НАДФ-глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы и НАДФ·Н-глицеральдегидфосфатдегидрогеназы.
2. Снижается функционирование малатдегидрогеназы как НАД-, так и НАДФ·Н-зависимых в темноте и под действием света в условиях пониженного парциального давления газов.
3. Усиление анаплеротической функции НАДФ-малик-энзима на неизменно высоком фоне активности НАДФ-изоцитратдегидрогеназы и возрастание НАДФ·Н-глицеральдегидфосфатдегидрогеназы рассматривается как включение адаптивных реакций в ответ на действующий фактор.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы «Повышение международной конкурентоспособности ТГУ» по теме НИР «Комплексные ландшафтно-экологические исследования и оценка биоразнообразия природных зон Западной Сибири. Разработка методов мониторинга окружающей среды».*

## Список литературы

1. Musgrave M.E., Gerth W.A., Scheld H.W., Strain B.R. Growth and mitochondrial respiration of mung beans (*Phaseolus aureus* Roxb.) germinated at low pressure // *Plant Physiol.* 1988. V. 86. № 1. P. 19–22.
2. Астафурова Т.П., Агеев Б.Г., Сапожникова В.А. и др. Интенсивность дыхания проростков гороха и кукурузы в условиях высотной гипоксии // *Авиакосм. и экол. мед.* 1996. Т. 30. № 3. С. 35–39.
3. Астафурова Т.П., Агеев Б.Г., Сапожникова В.А. et al. Intensity of pea and maize seedlings respiration under high-altitude hypoxia conditions // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 1996. V. 30. № 3. P. 35–39.
4. Верхотурова Г.С., Вайшля О.Б., Боровикова Г.В., Астафурова Т.П. Функционирование метаболических этапов дыхания в проростках хлорофилльного мутанта гороха при гипобарической гипоксии // *Физиология и биохимия культ. растений.* 2009. Т. 41. № 4. С. 297–303.
5. Верхотурова Г.С., Вайшля О.Б., Боровикова Г.В., Астафурова Т.П. Functioning of metabolic stages of respiration in seedlings of the chlorophyllous mutant of pea under hypobaric hypoxia // *Fiziologiya i biokhimiya kulturnikh rasteniy.* 2009. V. 41. № 4. P. 297–303.
6. Войцекская С.А., Сотникова Н.В., Верхотурова Г.С. и др. Особенности метаболической адаптации у растений амаранта в условиях гипобарической гипоксии // *Сельскохозяйственная биология.* 2010. № 5. С. 106–111.

Voytsekovskaya S.A., Sotnikova N.V., Verkhoturova G.S. et al. The features of metabolic adaptation in amaranth under hypobaric hypoxia // Selskokhozyaystvennaya biologiya. 2010. № 5. P. 106–111.

5. Глинкова Е., Жучкина Н.И., Колтовой Н.А., Колтовая Н.А. Действие  $\gamma$ -излучения на клетки водоросли *Euglena gracilis* // Авиакосм. и экол. мед. 2012. Т. 46. № 1. С. 35–46.

Glinkova E., Zhuchkina N.I., Kotlovoy N.A., Kotlovaya N.A. Effect of  $\gamma$ -irradiation on cells of *Euglena gracilis* algae // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2012. V. 46. № 1. P. 35–46.

6. Беркович Ю.А., Ерохин А.Н., Зяблова Н.В. и др. Итоги эксперимента «Салатная машина» в рамках проекта «Марс-500» // Там же. 2012. Т. 46. № 5. С. 59–64.

Berkovich Yu.A., Erokhin A.N., Zyablova N.V. et al. Results of «Salad machine» experiment within the project «Mars-500» // Ibid. 2012. V. 46. № 5. P. 59–64.

7. Bradford R.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.

8. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб., 2002.

Chirkhova T.V. Physiological bases of plant resistance. St. Petersburg, 2002.

9. Sachs M.M., Vartapetian B.B. Plant anaerobic stress. I. Metabolic adaptation to oxygen deficiency // Plant Stress. 2007. V. 1. № 2. P. 123–135.

10. Vartapetian B.B., Sachs M.M., Fagerstedt K.V. Plant anaerobic stress. II. Strategy of avoidance of anaerobiosis and other aspects of plant life under hypoxia and anoxia // Ibid. 2008. V. 2. № 1. P. 1–19.

11. Семихатова О.А., Чиркова Т.В. Физиология дыхания растений. СПб., 2001.

Semikhatova O.A., Chirkova T.V. Respiratory physiology of plants. St. Petersburg, 2001.

12. Романова Л.И. Метаболическая реакция сеянцев лиственницы сибирской на затопление корней // Лесоведение. 2004. № 1. С. 31–37.

Romanova L.I. Metabolic response of Siberian larch seedlings to flooding of the roots // Lesovedenie. 2004. № 1. P. 31–37.

13. Фан Т.В.М., Лейн А.Н., Хигаши Р.М. In vivo и in vitro анализ coleoptiles риса, подвергнутых анаэробизму, открывает неожиданные метаболические пути // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 6. С. 879–885.

Fan T.W.M., Lane A.N., Higashi R.M. In vivo and in vitro analysis of rice coleoptiles undergoing anaerobiosis reveals unexpected pathways // Fiziologiya rasteniy. 2003. V. 50. № 6. P. 879–885.

14. Реджиани Р., Бертани А. Анаэробный обмен аминокислот // Там же. 2003. Т. 50. № 6. С. 821–824.

Reggiani R., Bertani A. Anaerobic metabolism of amino acids // Ibid. 2003. V. 50. № 6. P. 821–824.

15. Sakano K., Kiyota S., Yasaki Y. Acidification and alkalization of culture medium by *Catharantus roseus* cells

(Is anoxic production of lactate a cause of cytoplasmic acidification?) // Plant Cell Physiol. 1997. V. 38. P. 1053–1059.

Поступила 18.09.2014

## EFFECT OF HYPOBARIC HYPOXIA ON THE DEHYDROGENASE ACTIVITIES OF RESPIRATION AND PHOTOSYNTHETIC METABOLISM IN BARLEY SEEDLINGS

Voytsekovskaya S.A., Astafurova T.P., Verkhoturova G.S., Postovalova V.M.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2015. V. 49. № 1. P. 64–69

*Hypobaric hypoxia effects on enzymes of photosynthesis and respiration metabolism were explored in 8-day old seedlings of barley *Hordeum vulgare* L. in the dark or light. 16-hour exposure in rarified atmosphere that causes reductions of partial pressure of air gases and, consequently, hypobaric hypoxia ( $P_{air} = 8.3$  kPa,  $pO_2 = 1.7$  kPa,  $pCO_2 = 0.003$  kPa) up-regulated the activities of piruvate kinase, alcohol dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and NADP-N-glyceraldehyde phosphate dehydrogenase both in the dark and light. NAD- and NAD-N-malate dehydrogenase activities were down-regulated. Levels of NAD- and NAD-H- malate dehydrogenases were decreased. Activation of the NADP-malic enzyme activity, invariably high activity of NADP-isocitrate dehydrogenase and growth of NADP-N- glyceraldehyde phosphate dehydrogenase are considered as a mechanism of barley seedlings adaptation to hypobaric hypoxia.*

Key words: *Hordeum vulgare* L., hypobaric hypoxia, respiration metabolism, adaptation, photosynthesis, enzyme activity.

## ИНФОРМАЦИЯ

УДК 614.888

### ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ СРЕДСТВ ОКАЗАНИЯ НЕОТЛОЖНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ НА РОССИЙСКОМ СЕГМЕНТЕ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

Поляков А.В., Богомолов В.В.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва  
E-mail: apolykov@imbp.ru

1. *Объем неотложной медицинской помощи на российском сегменте Международной космической станции (РС МКС).*

Опыт выполнения пилотируемых космических полетов (КП) в СССР (России) и США показывает, что проблема обеспечения безопасности экипажей пилотируемых космических аппаратов (ПКА) по мере усложнения программ полета становится все более актуальной и трудно реализуемой на практике. По техническим, эксплуатационным и экономическим причинам на борту ПКА невозможно обеспечить условия, при которых вероятность завершения полета без ущерба для здоровья экипажа была бы гарантирована.

В ходе КП невозможно исключить развитие у членов экипажа острых заболеваний, получения космонавтами различных поражений (механического, термического, токсического и иного характера) при выполнении ремонтно-восстановительных работ, внекорабельной деятельности и при отказах технических систем ПКА.

В связи с этим одной из задач обеспечения пилотируемых КП остается организация медицинской помощи экипажу в полете, которая имеет свои особенности и ограничения, связанные с условиями КП, а также имеющимися на борту ПКА медицинскими средствами и уровнем медицинской подготовки экипажа.

Российские средства оказания медицинской помощи в КП размещаются в медицинских укладках. Транспортный пилотируемый корабль типа «Союз» комплектуется 2 аптечками (аптечка бортовая и аптечка БД); на РС МКС поставляются 17 медицинских упаковок.

При формировании состава штатных средств оказания медицинской помощи в КП, учитываются:

- предполагаемые медицинские риски в полете (заболеваемость, травматизм, функциональные нарушения);
- уровень подготовки экипажа к оказанию медицинской помощи;
- условия оказания медицинской помощи в КП.

В основу комплектования средств оказания медицинской помощи РС МКС заложены принципы, использовавшиеся при обеспечении полетов на орбитальных станциях (ОС) «Салют» и «Мир». В состав штатных медицинских упаковок (аптечек) могут быть включены медицинские средства, отвечающие следующим требованиям:

- а) разрешенные Минздравом РФ к применению (имеющие регистрационные удостоверения);
- б) устойчивые к воздействию факторов КП;
- в) удобные для применения в условиях микрогравитации;
- г) зарекомендовавшие себя с положительной стороны в клинической практике;
- д) без выраженных побочных эффектов при применении, в том числе не оказывающие негативного воздействия на работоспособность и операторскую деятельность человека;
- е) со сроком годности не менее одного года с момента их поставки на ПКА.

Немаловажное значение при формировании упаковок отводится анализу заболеваемости и полученным космонавтами травмам при выполненных ранее КП, а также определению индивидуальных особенностей организма, переносимости лекарственных препаратов.

В настоящее время в состав штатных медицинских упаковок входит около 140 наименований лекарственных препаратов, которые по их назначению можно объединить примерно в 20 фармакологических групп.

Состав штатных средств оказания медицинской помощи может быть дополнен или скорректирован: по рекомендациям Главной медицинской комиссии (ГМК), с учетом пожеланий (предпочтений) космонавтов, по результатам апробации на индивидуальную переносимость фармсредств. При наличии медицинских показаний, по рекомендации ГМК может дополнительно формироваться индивидуальная медицинская упаковка для конкретного члена экипажа РС МКС.

Особенностью организации оказания медицинской помощи на борту МКС является интеграция



имеющихся на борту ОС медицинских средств в интересах сохранения здоровья всех членов международных экипажей. Международным партнерам удалось договориться об использовании в КП всех имеющихся на борту средств для оказания неотложной медицинской помощи и лечения любого из членов международного экипажа независимо от их принадлежности к какой-либо из стран-участниц.

Такой подход расширяет возможности по оказанию медицинской помощи и лечению в КП, хотя имеет место и некоторое дублирование медицинских средств на МКС. В основном это касается наборов лекарственных препаратов, формируемых американской и российской стороной самостоятельно.

Автономность существования, специфические условия среды обитания, ограниченное число членов экипажа предъявляют не только высокие требования к медицинской подготовке, но и определяют специфику медицинских средств, необходимых для оказания медицинской помощи в КП, в том числе и неотложной.

В основу комплектования бортовых аптек и медицинских упаковок ПКА положен принцип минимальной достаточности. Это означает, что на ПКА поставляются медицинские средства, вероятность использования которых достаточно велика, в количестве, необходимом для оказания медицинской помощи в КП. Они должны быть высокоэффективными, простыми и удобными при эксплуатации в условиях КП, размещаться компактно, в одном легкодоступном месте.

При развитии острых, неотложных, угрожающих жизни состояний адекватная медицинская помощь должна оказываться в максимально короткие сроки. По требованиям ISS MORD (International Space Station Medical Operations Requirements Document), определяющего медицинские операции на МКС, средства оказания медицинской помощи МКС должны обеспечить оказание неотложной медицинской помощи одному из членов экипажа в течение 72 ч при возникновении острой нештатной медицинской ситуации.

Своевременная диагностика, оперативное и правильное использование имеющихся на борту ПКА средств оказания медицинской помощи являются основными условиями, определяющими адекватность и эффективность мероприятий при оказании неотложной медицинской помощи.

## **2. Основные требования к средствам оказания неотложной медицинской помощи на РС МКС.**

Опыт медицинского обеспечения показывает, что при выполнении большинства довольно простых и эффективных мероприятий, широко используемых при оказании неотложной помощи на Земле, экипажи в КП могут встретиться с большими сложностями. В первую очередь это касается внутримышечного и внутривенного введения препаратов и

внутривенных трансфузий. Также пока непонятно (и ранее не проверялось на РС МКС) как поведут себя широко применяемые в настоящее время лекарственные формы, позволяющие пациентам самостоятельно дозировать находящиеся в них лекарственные вещества (различные виды ингаляторов, как с жидкими, так и порошковыми лекарственными препаратами). И даже такое простое в плане реализуемости в земных условиях мероприятие как непрямой массаж сердца в условиях КП потребует разработки и доставки дополнительных устройств, обеспечивающих фиксацию пострадавшего в условиях невесомости. Несомненно, на объеме и эффективности оказываемой медицинской помощи в КП отрицательно скажется и отсутствие, как правило, в составе космического экипажа врача.

Учитывая опыт медицинского обеспечения, возможности медицинской подготовки космонавтов полагаем, что неотложная медицинская помощь на РС МКС должна оказываться в объеме, приближенном к медицинским мероприятиям, проводимым на догоспитальном этапе специалистом скорой помощи со средним медицинским образованием.

Основные требования и ограничения к поставляемым средствам для оказания неотложной медицинской помощи определяются особыми условиями оказания медицинской помощи в КП, объемом подготовки космонавтов к этому виду деятельности, возможностями по доставке медицинских средств.

Опыт оказания неотложной медицинской помощи на Земле, а также результаты медицинского обеспечения ПКА показали, что для оказания неотложной медицинской помощи предпочтение следует отдавать специализированным медицинским упаковкам.

Находящаяся на РС МКС упаковка для оказания неотложной медицинской помощи НП-2 предназначена для компактного размещения, доставки и хранения на РС МКС соответствующего медицинского имущества и должна обеспечивать:

- быструю идентификацию упаковки;
- оперативность доставки ее к месту нахождения нуждающегося в оказании неотложной медицинской помощи;
- удобство и быстрый поиск необходимых медицинских средств в упаковке;
- возможность быстрого пополнения экипажем израсходованного медицинского имущества и замены средств с истекшими сроками годности.

В состав НП-2 входят ампульные препараты и средства для их введения (одноразовые шприцы, инъекционные иглы, дезинфицирующие салфетки и приспособления для вскрытия ампул).

Учитывая, что в невесомости возникают большие сложности при наборе лекарственных средств из ампулы в шприц, а также невозможность сохранения у космонавтов устойчивых навыков выполнения

венопункции в полете, предполагается заменить, по возможности, ампулированные препараты на лекарственные средства в других формах (преднаполненные шприцы, таблетки, суппозитории, транскутанные и др.).

Имеющиеся на РС МКС диагностические приборы и аппараты в основном находятся в так называемом медицинском шкафу. Здесь же размещается основная медицинская аппаратура «ГАММА», позволяющая регистрировать и передавать по телеметрии в ЦУП электрофизиологическую информацию. Указанная аппаратура жестко закреплена по месту и имеет ограничения по времени передачи медицинской информации, что не дает возможности ее использования для обследования пострадавшего на месте.

Учитывая данное обстоятельство, для организации оказания эффективной неотложной помощи на РС МКС в состав укладки необходимо включить небольшие диагностические аппараты и приборы. Это позволит получать объективную информацию о состоянии жизненно важных функций и степени тяжести поражения, а также в последующем контролировать динамику состояния пострадавшего в зависимости от проводимой терапии.

В связи с тем что экипаж для купирования острой нештатной медицинской ситуации, как правило, будет нуждаться в консультации с наземными специалистами, должна быть предусмотрена возможность передачи показателей состояния жизненно важных органов и систем, регистрируемых диагностическими аппаратами и приборами укладки, на Землю из любого модуля МКС, лучше в режиме on-line.

Включаемые в состав укладки диагностические аппараты и приборы должны использоваться во всех модулях МКС. Следовательно, они должны быть автономными и небольшими по массе и габаритам.

Все медицинские средства (аппараты, оборудование и др.), входящие в состав укладки должны быть простыми в эксплуатации, не требовать для поставки на РС МКС дорогостоящей и трудоемкой доработки и длительной специальной подготовки экипажа по их использованию.

*3. Предложения по составу медицинских средств перспективной укладки для оказания неотложной медицинской помощи на РС МКС.*

Работы по созданию новой укладки для оказания неотложной медицинской помощи на РС МКС ведутся при активном участии службы Главного конструктора ГНЦ РФ – ИМБП РАН начиная с 2014 г. По своим возможностям российская укладка практически не будет уступать американской.

Медицинские средства, входящие в состав перспективной укладки, должны позволять экипажу РС МКС проводить диагностику, длительное мониторинг состояния жизненно важных органов

и систем человека, оказывать неотложную медицинскую помощь, включая выполнение реанимационного пособия.

Новая укладка для оказания неотложной медицинской помощи на РС МКС, будет содержать следующие группы медицинских средств:

- диагностические приборы и аппараты для оценки состояния жизненно важных органов и систем человека (ЭКГ, ЧСС, частота дыхания, АД, насыщение крови  $O_2$  и др.);

- медицинское имущество для оказания неотложной медицинской помощи (средства для ИВЛ: воздуховоды, шприц большой емкости (отсос), дыхательный аппарат, набор для минитрахеостомии (коникотомии); ингаляторы; мочевые катетеры, мочеприемники и др.);

- кровоостанавливающие средства (жгут, гемостатические препараты, набор для перевязки сосуда в ране) и наборы для ушивания кожных ран;

- медикаменты и средства их введения (шприцы, шприц-пистолет для внутрикостных инъекций и др.).

Для обеспечения экипажу удобства использования и оперативности доступа к медицинским средствам особое внимание уделяется размещению их в упаковке, разработке и включению в ее состав понятной наглядной инструкции.

Специалистами ИМБП прорабатывается вопрос о возможности комплектации перспективной укладки неампулированными лекарственными средствами. Однако полного перечня необходимых для восстановления и поддержания жизненно важных функций человека препаратов в удобных для использования в космосе лекарственных формах (преднаполненные инъекционные препараты, суппозитории, транскутанные препараты) на фармрынке России нет.

В связи с этим полностью отказаться от использования в экстренных медицинских ситуациях ампулированных препаратов в полете невозможно. На советских орбитальных станциях укладки для неотложной помощи комплектовались препаратами в виде преднаполненных инъекционных форм – шприц-тюбиков. Однако выпуск шприц-тюбиков в России прекращен, иные варианты преднаполненных инъекционных форм не производятся. В ИМБП подготовлены предложения по проведению работ по созданию преднаполненных инъекционных форм, необходимых для оказания неотложной помощи в космических полетах. Пока же предлагается ограничить номенклатуру ампулированных препаратов за счет их дублирования и замены аналогичными по фармакологическому действию лекарственными средствами в других формах (таблетки, суппозитории). Таблетированные препараты при наличии у пострадавшего сознания могут успешно применяться для купирования острых нештатных

ситуаций, а эффективность суппозиторий, как правило, сопоставима с инъекционными лекарственными средствами.

Остается также нерешенным вопрос организации в полете внутривенных вливаний лекарственных растворов. Основной проблемой является реализация внутривенных вливаний растворов (капельного, струйного) в условиях невесомости. В составе американских средств оказания неотложной помощи имеются две системы для внутривенных вливаний: ручная и автоматическая. В 2012 г. в ИМБП завершена работа, в результате которой был создан и испытан прототип российской системы для проведения внутривенных вливаний в КП. Однако до завершения работ по созданию летного образца такой системы в составе разрабатываемой укладки ампулированные препараты и средства для их введения будут иметь ограниченную номенклатуру

применения. Предполагается, что ампулированные препараты будут использоваться не для внутривенного, а для внутримышечного и подкожного введения. После завершения работ по созданию летного образца системы для внутривенных вливаний в условиях невесомости предполагается дооснастить ее укладку и тем самым расширить возможности по оказанию неотложной медицинской помощи в КП.

Создавая новую укладку для оказания неотложной помощи на РС МКС, надеемся, что российским космонавтам, да и всем членам международных экипажей, никогда не придется ее воспользоваться, но если все же возникнет в полете необходимость в неотложной медицинской помощи, то на РС МКС будет все необходимое для ее оказания.

Поступила 10.10.2014

## **ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ**

Рецензируемый научно-практический журнал «Авиакосмическая и экологическая медицина» принимает экспериментальные и теоретические работы отечественных и зарубежных авторов по актуальным проблемам авиационной, космической, морской, водолазной, спортивной и экологической физиологии и медицины. Основные рубрики журнала: «Обзоры», «Экспериментальные и общетеоретические исследования», «Клинические исследования», «Методики», «Краткие сообщения», «Дискуссии», «Письма в редакцию», «Рецензии», «Из истории космической биологии и авиакосмической медицины», «Хроника и информация», «Лекции». Издание осуществляется на безгонорарной основе.

Журнал включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов Высшей аттестационной комиссии Российской Федерации, рекомендованных для опубликования материалов кандидатских и докторских диссертаций.

### **Представление рукописей**

Статья присылается в 2 экземплярах в бумажном варианте в адрес редакции журнала:

123007, Москва, Хорошевское шоссе, д.76а, Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН (редакция).

Статья должна сопровождаться официальным направлением от учреждения, в котором она была подготовлена, с указанием является ли статья диссертационной. Один экземпляр должен быть подписан всеми авторами. При наличии соавторов из зарубежных стран необходимо иметь подтверждение о согласии их на публикацию статьи. На отдельном листе представляются сведения об авторах: Ф.И.О., почтовый адрес организации, телефон и e-mail для контактов (можно указать одного из авторов). Дополнительно высылается электронная версия статьи и сопроводительные документы по электронной почте: E-mail: shipov3838@mail.ru. Электронная версия должна соответствовать тексту статьи, присылаемой на бумажном носителе.

Статьи, отосланные авторам для исправления, должны быть возвращены в редакцию не позднее, чем через месяц в виде исправленной электронной версии с выделением внесенных изменений и приложением ответа авторов рецензенту текста. Датой поступления считается дата получения редакцией рукописи. Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать принятые работы.

### **Объем рукописей**

Объем передовых, обзорных, проблемных, итоговых и дискуссионных статей не должен превышать 25 страниц, экспериментальных и общетеоретических исследований – 15 страниц (включая иллюстрации, таблицы, реферат и список литературы); объем рецензий, кратких сообщений и других материалов – не более 4 страниц.

## Оформление рукописей

Статья должна включать титульные данные, реферат, ключевые слова, разделы: введение (без заголовка) с формулировкой цели исследования, **методика** (методы исследования и способы статистической обработки), **результаты и обсуждение, выводы**. В конце статьи приводится **список литературы**.

1. **Титульные данные:** индекс УДК, заглавие, фамилии авторов и инициалы, полное название учреждения, город, e-mail автора (с которым следует вести переписку). Если авторов несколько и они из разных учреждений, то у каждой фамилии и учреждения ставится соответствующий индекс.

### Образец представления титульных данных:

УДК 612.085.4

### НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

**Иванов И.С., Петров В.С., Сидоров Б.В.**

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва  
E-mail: ivanov@mail.ru

УДК 591.392

### НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

**Симонов С.Э.<sup>1</sup>, Мамонтов Л.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов, Москва

E-mail: simonov@mail.ru

2. **Реферат.** Реферат, объемом не более 250 слов, должен обеспечить понимание главных положений статьи. Рекомендуется составление реферата по следующей схеме: тема, характер и цель работы, объекты исследований, методики, основные теоретические и экспериментальные результаты. Реферат переводится на английский язык в редакции.

3. **Ключевые слова:** не более 7.

4. **Текст.** Статья должна быть напечатана на одной стороне листа А4 шрифтом Times New Roman, Arial илиTahoma 12 кегля через полтора интервала в редакторе Microsoft Word. Поля пронумерованных страниц должны быть: верхнее и нижнее – 2 см, левое – 3 см, правое – 1,5 см.

5. **Единицы измерения и сокращения.** При выборе единиц измерения рекомендуется придерживаться международной системы единиц СИ.

В тексте допускается сокращение часто встречающихся терминов и понятий по начальным буквам входящих в них слов, если при первом упоминании приведено полное название. После числовых значений единицы измерения сокращаются (1 нед, 1 сут, 1 ч, 1 мин, 1 с и т.п.).

6. **Рисунки,** представленные на электронных носителях в черно-белом изображении, должны быть в виде файлов векторной графики программы, в которой они были созданы (CorelDraw, Adobe Illustrator и т.п.); либо растровой - в формате файла TIFF (расширение \*.tiff) или JPEG (расширение \*.jpeg), с разрешением не менее 300 dpi. Цифровые и текстовые обозначения делаются нежирным шрифтом Arial или Tahoma, крупно и четко. В комбинациях рисунков каждый из них обозначается прописными буквами (А, Б, В, Г) в левом нижнем углу.

В подписуточных подписях приводятся: номер рисунка, его название и при необходимости – примечание, а также обозначения по осям абсцисс и ординат и единицы измерения (если они не нанесены на рисунке). В комбинации рисунков подписуточная подпись должна включать общее название и далее после двоеточия определения рисунков под буквами (А, Б, В, Г). В подписях к микрофотографиям указывают метод окраски и увеличение.

На бумажных носителях рисунки и подписуточные подписи к ним делаются на отдельных листах.

7. **Таблицы.** Сверху справа необходимо указать номер таблицы. Ниже дается ее название. Дублирование данных в тексте, таблицах и на рисунках недопустимо. Если одна таблица или один рисунок, то номер им не присваивается.

8. **Формулы** нумеруются арабскими цифрами. Номер формулы заключается в круглые скобки и ставится у правого края. Желательно нумеровать лишь те формулы, на которые имеются ссылки.



9. **Выводы**, если их несколько, представляются по пунктам.

10. **Список литературы** составляется путем сквозной нумерации цитируемых источников в соответствии с порядком упоминания их в тексте. Ссылки в тексте на цитируемую литературу даются в квадратных скобках. В оригинальных статьях цитируется не более 20 источников, в передовых статьях и обзорах литературы – не более 50. Ссылки на публикации авторов статьи (самоцитирование) должны составлять не более 15 процентов от общего списка.

Библиографическое описание периодических изданий: фамилии и инициалы всех авторов, полное название статьи, стандартное сокращенное название журнала, год, том, номер, первая и последняя страницы. Для книг: название книги, место издания, издательство, год издания.

Не следует ссылаться на электронные ресурсы, нарушающие авторское право.

Учитывая требования международных систем (таких как Web of Science и Scopus) в списке литературы под источником на русском языке помещается его библиографическая ссылка, имеющая следующую структуру: авторы (транслитерация), перевод названия книги или статьи на английский язык, название источника (транслитерация), выходные данные в цифровом формате.

Примеры исключений при транслитерации: Kazan, Kharkov, Nalchik, Perm, Ryazan, Tver, Yaroslavl etc (опускается символ мягкого знака); Moscow (не Moskva) Rostov-on-Don (не Rostov-na-Donu), St. Petersburg (не Sankt-Peterburg), Yekaterinburg (не Ekaterinburg)

#### Образец представления списка литературы:

1. Афонин Б.В., Носков В.Б., Поляков В.В. Состояние пищеварительной системы в условиях длительного космического полета // Физиология человека. 2003. Т. 29. № 5. С. 53–59.

Afonin B.V., Noskov V.B., Polyakov V.V. The state of the digestive organs during long-term spaceflight // Fiziologiya cheloveka. 2003. V. 29. № 5. P. 53.

2. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: Пер. с англ. М., 1999.

Sherlock Sh., Dooley G. Diseases of the liver and biliary system. Moscow, 1999.

3. Виноходова А.Г., Быстрицкая А.Ф., Смирнова Т.М. Способность к психической саморегуляции как фактор устойчивости к стрессу в экстремальных условиях космического полета // Авиакосм. и экол. мед. 2005. Т. 39. № 5. С. 14–18.

Vinokhodova A.G., Bystritskaya A.F., Smirnova T.M. Ability to control own psyche as a factor of stress tolerance in the extreme conditions of space flight // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2005. V. 39. № 5. P. 14–18.

Работы на кириллице можно автоматически транслитерировать на сайте translit.ru, выбирая стандарт BSI (British Standards Institution). Переводчик Google позволяет перевести описание источника.

### **Биоэтика**

В статьях, описывающих результаты исследований на человеке и животных должны быть ссылки на одобрительное решение локальных (институтских) комиссий (комитетов) по биомедицинской этике с указанием даты и номера протокола.

### **Редакционная этика**

Представление в редакцию работ, которые уже опубликованы в других изданиях или посланы для публикации в другие издательства, не допускается. Статьи, принятые редакцией, не могут быть опубликованы в других изданиях без письменного разрешения издателя журнала «Авиакосмическая и экологическая медицина». Редакция не несет ответственность за достоверность данных, представленных в статье.

### **Справки**

Справки по всем вопросам, связанным с публикацией статей, можно получить у ответственного секретаря, заведующей делопроизводством журнала и у выпускающего редактора.

#### Контактная информация:

Ответственный секретарь: 8(499) 195-20-93, e-mail: shipov3838@mail.ru. Шипов Алексей Алексеевич  
Заведующая делопроизводством журнала: тел., факс: 8(499)195-65-12. Муромцева Татьяна Салеховна  
Выпускающий редактор: тел. 8(499) 195-67-41, e-mail: library@imbp.ru. Сорокин Олег Геннадьевич

---

Редколлегия журнала сердечно поздравляет  
с юбилейными датами ведущих специалистов  
в области космической медицины и биологии,  
сотрудников ИМБП:

*Владимирова Ивана Владимировича*

*Абросимову Аллу Николаевну*

*Найдину Валентину Павловну*

Добрые вам пожелания и плодотворного сотрудничества  
с нашим журналом!