

АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

AVIAKOSMICHESKAYA I EKOLOGICHESKAYA MEDITSINA

НАУЧНЫЙ ПЕРИОДИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
SCIENTIFIC PERIODIC JOURNAL

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Орлов О.И., д.м.н., академик РАН

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Ардашев В.Н., д.м.н., профессор
Баранов В.М., д.м.н., профессор, академик РАН
Бубеев Ю.А., д.м.н., профессор
Буравкова Л.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН
Бухтияров И.В., д.м.н., профессор, академик РАН
Виноградова О.Л., д.б.н., профессор – заместитель главного редактора
Дьяченко А.И., д.т.н., профессор
Ерофеева Л.М., д.б.н., профессор
Иванов И.В., д.м.н., профессор
Котов О.В., к.м.н.
Красавин Е.А., к.м.н., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН
Меденков А.А., к.психол.н., д.м.н., профессор
Сорокин О.Г., к.м.н. – ответственный секретарь
Усов В.М., д.м.н., профессор
Хоменко М.Н., д.м.н., профессор
Mukai Ch., M.D., Ph.D. (Japan)
Sutton J., M.D., Ph.D. (USA)
Suchet L.G., Ph.D. (France)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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.
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 АНРК (Казахстан)
Gerzer R., M.D., Ph.D., professor (Germany)
Gharib C., Ph.D., professor (France)
Yinghui Li, M.D., Ph.D., professor (China)

2024 Т. 58 № 3

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»,
с 1991 г. по настоящее время – «Авиакосмическая и экологическая 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, 2024
© State Research Center RF – Institute of Biomedical Problems Russian Academy of Sciences, 2024

Все права зарегистрированы. Никакая часть журнала не может быть воспроизведена
каким-либо способом без письменного разрешения Издателя
All rights reserved. No part of this journal may be reproduced in any form by any means without
written permission of the Editorial Board

**Метаданные статей, опубликованных в журнале, размещены на сайте журнала journal.imbp.ru
Полные тексты статей доступны в базе данных РИНЦ (www.elibrary.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
Секретарь: Муромцева Т.С., тел.: 8 (499) 195-65-12, эл. почта: arhiv@imbp.ru

Сдано в набор 20.05.2024
Подписано в печать06.2024
Формат 60 × 84 1/8
Гарнитура Tahoma
Печать офсетная
Усл. печ. л. 11,86
Тираж 150 экз
Заказ № ...

Отпечатано в типографии ООО ИПЦ «Научная книга»
Адрес: 394026, г. Воронеж, Московский пр-т, 11/5

Содержание

Contents

Обзоры

Reviews

Суполкина Н.С., Юсупова А.К., Рюмин О.О. Оперативное психологическое сопровождение экипажа в космическом полете: история становления, современное состояние, перспективы развития

5 *Supolkina N.S., Yusupova A.K., Ryumin O.O.* Operational psychological support to crews on space missions: history of evolution, state-of-the-art, prospects

Экспериментальные и общетеоретические исследования

Experimental and Theoretical Investigations

Кутько О.В., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Шмаров В.А., Жирова Э.А., Орлова К.Д., Садова А.А., Власова Д.Д., Шульгина С.М., Лысенко Е.А., Уткин К.В., Пономарёв С.А. Влияние длительного космического полета на становление и развитие Т-клеточного иммунитета человека

12 *Kutko O.V., Rykova M.P., Antropova E.N., Shmarov V.A., Zhirova E.A., Orlova K.D., Sadova A.A., Vlasova D.D., Shulguina S.M., Lysenko E.A., Utkin K.V., Ponomarev S.A.* Effect of long-term space mission on formation and development of the human T-cell immunity

Еськов К.Н. Изменчивость типов инструментального поведения операторов при многократном выполнении методики «Гомеостат»

22 *Eskov K.N.* Variability of the style of instrumental behavior of operators during repeated implementation of procedure «Homeostat»

Фомина Г.А., Сальников А.В., Глебова Т.М., Колотева М.И. Влияние серии вращений на центрифуге короткого радиуса на антиортостатические реакции артериальной гемодинамики здоровых лиц (по данным доплерфлоуметрии)

28 *Fomina G.A., Salnikov A.V., Glebova T.M., Koloteva M.I.* Effect of a series of rotations on a short-arm centrifuge on the anti-orthostatic reactions of arterial hemodynamics in healthy humans (laser doppler flowmetry data)

Дешевая Е.А., Фиалкина С.В., Шубралова Е.В., Смирнов Ю.И. Исследования микрофлоры в зоне модуля МИМ2 Международной космической станции до и после внекорабельной деятельности

35 *Deshevaya E.A., Fialkina S.V., Shubrailova E.V., Smirnov Yu.I.* Microflora investigation in the MIM-2 area on the International space station before and after extravehicular activities

Осипова П.Д., Карпов Д.С., Дымова А.А., Шеф К.А., Жукова Е.А., Ковалев М.А., Поляков Н.Б., Соловьев А.И., Гуридов А.А., Жуховицкий В.Г., Поддубко С.В. Динамика качественного и количественного состава микробиома внутренних поверхностей Международной космической станции за период наблюдений с 2016 по 2022 г.

47 *Osipova P.J., Karpov D.S., Dymova A.A., Shef K.A., Zhukova E.A., Kovalev M.A., Polyakov N.B., Soloviev A.I., Guridov A.A., Zhukhovitsky V.G., Poddubko S.V.* Dynamics of qualitative and quantitative composition of the microbiome of the internal surfaces of the International space station for the observation period from 2016 to 2022

Горбачева Е.Ю., Свентицкая М.А., Бирюков Н.С., Огнева И.В. Влияние краткосрочного антиортостатического вывешивания на овариально-гипофизарную ось у мышей

55 *Gorbacheva E.Yu., Sventitskaya M.A., Biryukov N.S., Ogneva I.V.* Effect of short-term tail-suspension on the hypothalamic-ovarian axis in mice

Солдатов П.Э., Носовский А.М., Тюрин-Кузьмин А.Ю., Шулагин Ю.А. Коррекция кислородного голодания в экспериментах на животных при моделировании эффектов с помощью многокомпонентной газовой смеси на основе комбинации инертных газов **62** *Soldatov P.E., Nosovsky A.M., Tyurin-Kuzmin A.Yu., Shulaguin Yu.A.* Correction of oxygen starvation in experiments with animals when modeling the effects caused by respiratory insufficiency using a multi-component gas mixture based on a combination of inert gases

Ильин В.К., Шеф К.А., Комиссарова Д.В., Усанова Н.А., Сафронова М.А., Коростелева А.Г., Лукичёва Н.А., Гордиенко К.В., Васильева Г.Ю. Оценка эффективности пробиотика, подвергнутого сочетанному воздействию тяжелых частиц и гипомагнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс **68** *Ilyin V.K., Shef K.A., Komissarova D.V., Usanova N.A., Safronova M.A., Korosteleva A.G., Lukicheva N.A., Gordienko K.V., Vasilieva G.Yu.* Assessment of the effectiveness of a probiotic subjected to a combined exposure to heavy charged particles and hypomagnetism in an experiment with suspended rats

Арокина Н.К. Протективное влияние нооклерина и славинорма на кардиореспираторные функции крыс при охлаждении в воде **75** *Arokina N.K.* Protective effects of nooclerin and slavinorm on rat's cardiorespiratory functions during cold-water immersion

Методики

Methods

Переведенцев О.В., Плотников А.Д. Применение сверточных нейронных сетей для автоматизированной первичной диагностики заболеваний кожи в длительных межпланетных космических экспедициях **82** *Perevedentsev O.V., Plotnikov A.D.* Application of convolution neural networks in automated primary diagnostics of skin diseases in long-duration space exploration missions

Рябов В.А., Сиксин В.В., Щеголев И.Ю. Формирование защиты для космических аппаратов от нейтронов **89** *Ryabov V.A., Siksin V.V., Shchegolev I.Y.* Development of a spacecraft shielding from neutrons

Хроника и информация

Chronicle and Information

Орлов О.И., Белаковский М.С., Поляков А.В., Поздняков С.В. Космический врач В.В. Богомолов **96** *Orlov O.I., Belakovskiy M.S., Polyakov A.V., Pozdnyakov S.V.* Space doctor V.V. Bogomolov

ОБЗОРЫ

УДК 159.9:629.7,629.78.07:159.9

ОПЕРАТИВНОЕ ПСИХОЛОГИЧЕСКОЕ СОПРОВОЖДЕНИЕ ЭКИПАЖА В КОСМИЧЕСКОМ ПОЛЕТЕ: ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ, СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ, ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Суполкина Н.С., Юсупова А.К., Рюмин О.О.

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

E-mail: Natalyasupolkina@yandex.ru

Психологическое сопровождение экипажа направлено на создание оптимальных условий для эффективной работы каждого члена экипажа на протяжении всей миссии и включает в себя диагностику психоэмоционального состояния космонавта, разработку и реализацию профилактических мер для снижения степени негативного действия факторов полета, а также психологическую поддержку космонавтов. Усложнение программ полетов, увеличение продолжительности космических миссий выдвигают новые требования к точности получения данных психологического мониторинга с борта космической станции. Развитие цифровых технологий обеспечивает новые возможности для динамичного решения вопросов психологической диагностики человека в новых условиях.

На настоящем этапе практической работы система психологического сопровождения экипажа претерпевает изменения. В обзоре обобщен опыт психологического мониторинга советских и российских космических экипажей, намечены перспективы развития системы психологического сопровождения в новых, постоянно меняющихся условиях, описаны возможные трудности реализации ее новых форм и пути их преодоления.

Ключевые слова; психологическое сопровождение экипажа, мониторинг психоэмоционального состояния, пилотируемые полеты, речевой паспорт, контент-анализ, признаки психоэмоционального напряжения, приватные психологические конференции.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 5–11.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-5-11

Во время космического полета (КП) на психику космонавта действует комплекс неблагоприятных факторов (физиологических, соматогенных, психогенных). Их влияние может быть прямым, а может быть опосредованным, при этом, как правило, имеет кумулятивный характер [1, 2]. Строгая система отбора кандидатов в отряд космонавтов, эффективная система подготовки к полету, а также существующий комплекс медицинских профилактических мер во время работы космонавта на орбите

заметно снижают негативное действие космических стресс-факторов, однако не устраняют их влияние на человека полностью [3].

Начиная с первых полетов в космос, в рамках решения задач обеспечения медицинской безопасности, были поставлены вопросы психологического характера (например, вопрос о границах психического здоровья, в частности, о действии на психику человека такого фактора, как «вид Земли из космоса») [4].

В широком смысле психологическое сопровождение (ПС) экипажа в полете направлено на поддержание максимального уровня работоспособности космонавтов. В настоящее время ПС состоит из 3 самостоятельных направлений оперативной психологической работы, решающих различные задачи и объединенных одной целью (рис. 1). Первое направление – психологический контроль, решает диагностические задачи; второе – мониторинг режима труда и отдыха (РТО) – задачу поддержания оптимального уровня жизнедеятельности человека; третье – психологическая поддержка – направлена на реализацию мер профилактики против действия основных психологических стресс-факторов КП. Каждое из 3 направлений психологической работы имеет свою историю развития. Одним из первых начали разрабатывать подход к анализу РТО, в 60-е годы XX столетия экспериментально на Земле, а в 70-е годы – во время космических полетов. Одной из специфических особенностей полетов на первых орбитальных станциях была переменная длина суток, что требовало от специалистов управления полетом постоянного контроля и обеспечения оптимального РТО космонавтов. Одновременно с данным направлением в 70-е годы формировалась существующая в настоящее время система психоневрологического мониторинга состояния человека в полете, а с увеличением продолжительности пилотируемых экспедиций и развитием технических возможностей в 1977–1978 гг. – направление психологической поддержки [5–7].



Рис. 1. Психологическое сопровождение экипажа в полете и факторы космического полета

Далее, более подробно, в обзоре будут рассмотрены вопросы первого направления психологического сопровождения экипажа, а именно касающиеся мониторинга психоэмоционального состояния космонавтов в полете.

Становление системы психологического сопровождения экипажа в полете

Условия космического полета выдвигают специфические требования к методике диагностики психологического состояния человека на орбите, основное из которых – невмешательство в деятельность космонавта. Классические психологические тесты с этой точки зрения не подходят для космического полета, поскольку на выполнение этих методик требуется выделение отдельного и значительного рабочего времени космонавта, а также в большинстве случаев требует непосредственного участия психолога. Качество результатов при этом прямо зависит от установки обследуемого по отношению к выполняемому тесту. Исходя из этого, в системе психологического сопровождения постепенно актуализировалась необходимость в разработке диагностического инструмента, который позволял бы специалистам-психологам, не отвлекая космонавта от повседневной рабочей деятельности, регулярно получать надежные психологические данные.

По мере развития техники улучшалось качество связи в контуре «борт – Земля». На первый план в качестве источника психологической информации вышли радиопереговоры экипажа и ЦУП, являясь штатной, ежедневной, не навязанной, а привычной рабочей процедурой. Одновременно во время переговоров космонавтов между собой, как и в любом межличностном общении, проявляются личностные качества собеседника, особенности его эмоционального состояния [8].

Обобщая опыт краткосрочных космических полетов на кораблях «Союз 12–18» (1973–1975), сурдокамерных испытаний и результаты специальной парашютной подготовки космонавтов, имитировавших космическую деятельность, группа сотрудников Центра подготовки космонавтов им. Ю.А. Гагарина разработала комплексную оценку речевых показателей – «речевой паспорт» космонавта, позволяющий достаточно надежно оценивать работоспособность и динамику психического состояния человека на орбите. Авторами были выделены 19 основных параметров речи, имеющие диагностическое значение для оперативного психологического контроля (например, «просодика речи», «орфоэпическое произношение», «парафазии» и т. п.). Выявленные единичные проявления объединялись в отдельные речевые синдромы, соответствовавшие наиболее

значимым психическим состояниям, таким как «нормальное рабочее состояние», «состояние утомления», «состояние напряжения, тревожности», «состояние пониженного и повышенного настроения», «состояние раздражения» [9].

Во время 5 экспедиций на орбитальной станции (ОС) «Салют-6» (1978–1981) сложилась система диагностики психоэмоционального состояния космонавта, базирующаяся на понятии «локальная норма», в рамках которого учитывались особенности обследуемых, специфика среды и т. п. Для систематизации диагностического материала специалистами были предложены следующие модели: «кумуляции утомления», «соматогении» и «ноогении», «стрессогении»; не исключалась возможность проявления психотических симптомов. В описании симптомов принималась во внимание степень их выраженности, отдельная роль отводилась проявлению их в речи. При построении комплексной оценки психоэмоционального состояния учитывались не только наличие или отсутствие того или иного симптома, но и порядок его появления и частота встречаемости. Как альтернатива клиническому был выделен подход, в рамках которого проводилась «психологическая оценка поведения», когда зафиксированные изменения в поведении космонавта рассматривались как результат проявления личных его проблем. На основе полученных данных были сформулированы личные проблемы во время полета, требующие пристального внимания специалистов: недовольство объемом рабочей нагрузки, проблема разногласий по вопросу свободного времени [10].

В рамках международной программы «Интеркосмос», реализованной, в частности, на ОС «Салют-6», были проведены психологические эксперименты с применением различных опросников, направленных на изучение аспектов психологической адаптации к условиям космической среды у членов международных экипажей. В результате было выявлено, что психологическая адаптация к факторам КП носит индивидуальный характер и зависит от наличия или отсутствия опыта КП у космонавта. Также полученные результаты показали, что именно утомление имеет наибольшее влияние на самочувствие космонавта во время КП; выявлена ведущая роль в психологической адаптации к невесомости глубинных механизмов энергетического обеспечения психической деятельности [11]. Впервые в рамках международной программы был проведен спектральный анализ произнесения речевого образца (индекса) для получения информации об уровне работоспособности человека на орбите (эксперимент «Речь 1») [11].

Актуальная система мониторинга психического состояния космонавтов на борту сформировалась в период 1986–2000 гг., во время более продолжительных экспедиций на ОС «Мир». В течение этого

периода была разработана схема получения и обработки психологической информации по каналам радио- и телевизионной связи. Впервые комплексная оценка проводилась на основании шкалирования 2 групп речевых показателей: 1) индивидуальных, таких как жалобы, деривационные феномены, различные аспекты поведения, самочувствие; 2) групповых, например, взаимопонимание, сплоченность, внутригрупповое управление (методики «Индивидуальные оценки» и «Поэкипажные оценки»). Каждому признаку, согласно методике, присваивался тот или иной балл, значение которого напрямую зависело от устойчивости проявления, а также от характеризовавшего его субъекта (если о феномене говорил космонавт, то ему присваивался высокий балл). В результате применения методики эксперты получали возможность не только выявлять у членов космического экипажа признаки психического неблагополучия, но и количественно оценивать их выраженность [2].

На основе анализа полетных данных, полученных во время экспедиций на ОС «Мир», была выявлена закономерность проявлений неблагоприятных изменений в зависимости от продолжительности полета. По мере увеличения длительности миссии от нескольких недель до 6 месяцев и выше отмечалось нарастание степени выраженности астенизации от полного отсутствия ее признаков в коротких полетах (продолжительностью менее месяца) до признаков компенсированной и субкомпенсированной симптоматики в полетах длительностью 6 мес и более [12].

Современный опыт психологического сопровождения экипажа в полете

Началом существующего этапа развития системы психологического сопровождения экипажей можно условно определить момент запуска Международной космической станции (МКС) в 2001 г. Полетный мониторинг психоэмоционального состояния космонавта проводится непрерывно [13] и на данный момент осуществляется специалистом-психологом. Ранее как в литературе, так и в практике группы медицинского обеспечения (ГМО) направление психологического сопровождения называлось «психоневрологический контроль» [14]. Непосредственно диагностическую работу проводил специалист-медик, занимавший должность психоневролога, однако в настоящее время данная врачебная должность упразднена [15]. Вместе с тем современное развитие психологической науки, в частности клинической психологии и психодиагностики, дает возможность осуществлять высокий уровень оперативного мониторинга психоэмоционального состояния космонавта наряду с врачами и специалистам-психологам. Такой подход позволяет в ряде случаев дополнительно получать

альтернативный (немедицинский) взгляд на процессы, происходящие как с каждым космонавтом в отдельности, так и с экипажем в целом, что расширяет возможности, повышает объективность коллегиальных оценок и принимаемых на их основе диагностических решений.

Информация с борта МКС по штатным каналам радио- и видеосвязи поступает на Землю (ЦУП), где ее анализируют эксперты психологического сопровождения экипажа Группы медицинского обеспечения Главной оперативной группы управления (ГМО ГОГУ). В качестве источника диагностической информации выступают ежедневные рабочие переговоры космонавтов и специалистов в контуре связи «борт – Земля». Информация, поступающая по другим каналам (IP-телефония, приватные психологические конференции, электронная почта), тоже учитывается. Итоговая оценка психоэмоционального состояния человека на орбите формируется на основе выносимых экспертом индивидуальных оценок (т. е. суждений о поведении экипажа, особенностях психоэмоционального состояния его членов), а также подсчета времени работы, отдыха (в том числе сна) и/или сдвига рабочего графика. Дежурный сменный психолог по сопровождению экипажа в полете на основе полученных оценок обобщает всю информацию и отражает ее в регулярных заключениях (за сутки, неделю и т. п.), а также перед выполнением особенно трудных профессиональных задач (например, внекорабельная деятельность (ВКД), посадка на Землю и др.). В результате формируется комплексное решение о возможности продолжения полета по штатной программе (рис. 2).

Накопленные количественные данные показывают, что наибольшую частоту встречаемости составляют депривационные феномены, обусловленные влиянием сенсорной депривации. Достоверные данные, свидетельствующие о нарастании психического неблагополучия к концу полета у всех космонавтов, на данный момент выявлены не были. Вместе с этим была установлена связь между РТО и психоэмоциональным состоянием: увеличение в РТО количества напряженных (например, операции внекорабельной деятельности) и негативных событий (например, нештатные ситуации, поломки аппаратуры) в полете тем чаще наблюдались проявления психоэмоционального напряжения. В случае отсутствия выраженных проблем с РТО такая зависимость значимо не проявлялась [13].

Необходимо упомянуть существующий ряд нерешенных методических вопросов, обусловленных ограничениями и слабыми сторонами основной штатной процедуры психологического мониторинга, которые в научной литературе известны как проблемы эксперта. Метод балльного шкалирования является частным случаем экспертной оценки,

которая, в свою очередь, зависит от субъективного восприятия (личного опыта) эксперта, от особенностей его текущего функционального состояния (утомление и т. п.), от его личной установки по отношению к обследуемому. Также необходимо отметить, что обучение и подготовка новых экспертов, хорошо понимающих все психологические особенности и детали деятельности космонавта в полете, процесс сложный и требует времени [11].

Отдельный источник для диагностики выявления нюансов психоэмоционального состояния космонавтов в полете – это психологические приватные конференции (обозначаются аббревиатурой PPC – private psychological conference) продолжительностью 10–15 мин, которые проводят психологи по психологическому сопровождению каждые 2 нед с каждым из членов экипажа по закрытому каналу связи. Обычно в таких беседах затрагиваются следующие темы: психологические особенности текущего этапа пребывания на орбите, переживания во время космического полета, качество сна и т. д. В современной практике информация, полученная в результате этих бесед, имеет строго конфиденциальный характер, однако позволяет строить первичные диагностические гипотезы, которые затем проверяются в процессе оперативного мониторинга и сопровождения экипажа.

В качестве альтернативы существующему штатному методу оценки психоэмоционального состояния космонавтов на орбите группой ученых-исследователей ГНЦ РФ – ИМБП РАН была предложена методика, направленная на повышение объективности получаемых данных – контент-анализ (КА) переговоров в контуре «борт – Земля». КА представляет собой экспериментальную процедуру, которая разрабатывалась как более надежный неинвазивный инструмент получения психологической информации в многочисленных наземных модельных исследованиях, проводившихся в течение почти 30 лет, начиная с 1994 г. на базе НЭК ГНЦ РФ – ИМБП РАН (HUBES-94, ECOPSY-95, SFINCSS-99, «Марс-150», «Марс-500», SIRIUS-17) [16]. Методика оформилась как самостоятельный психодиагностический инструмент во время космического эксперимента «Контент» (2015–2018) [17]. Смысл ее заключается в сведении массива текста в ограниченное количество категорий. Предварительно заданные правила кодирования «снимают» так называемую проблему эксперта, оценка происходит не на глазок, но по четко разработанному алгоритму. Полученные данные, таким образом, имеют количественный характер. Опыт проведения КА переговоров экипажа и ЦУП обогатил практическую космическую психологию новыми знаниями применительно:

- коммуникативных стилей космонавта [17];
- влияния рабочей нагрузки на коммуникацию космонавтов и ЦУП [18];

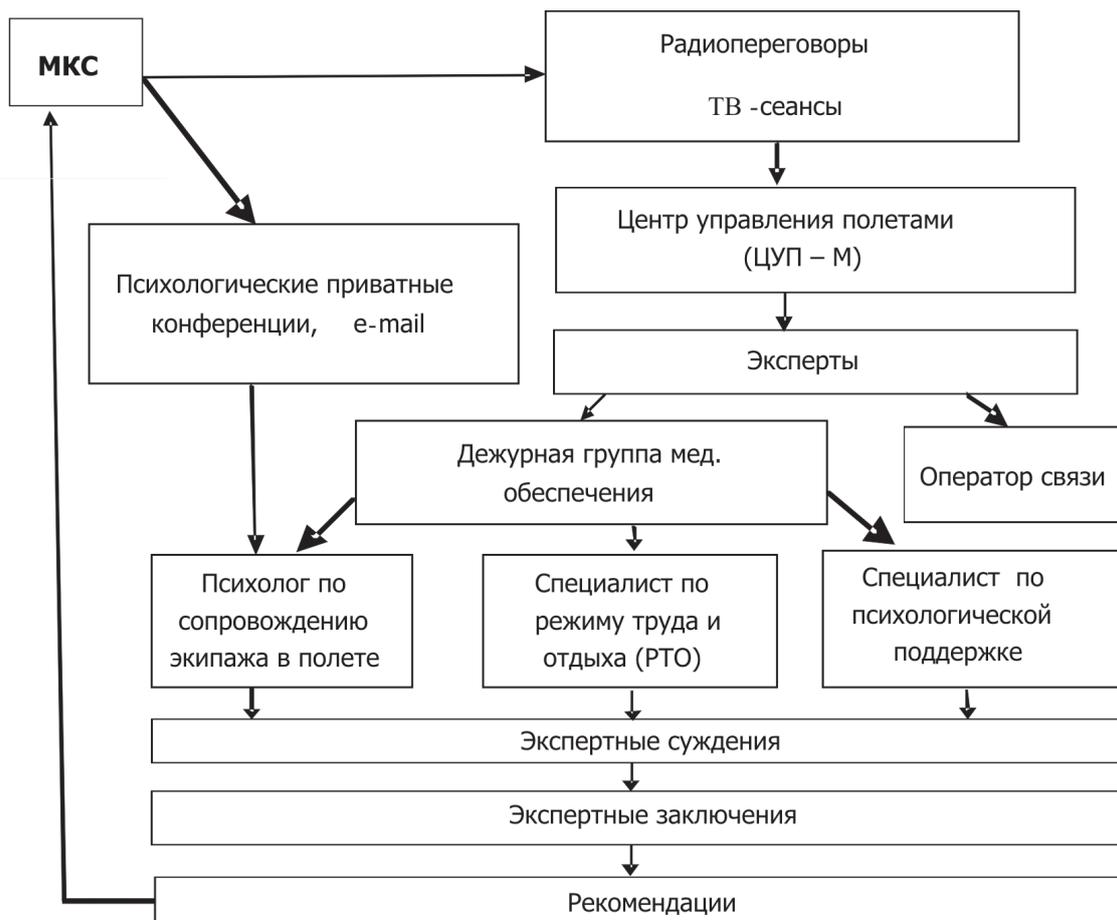


Рис. 2. Схема сбора и анализа медицинской информации с борта МКС

- феномена «трансфера» [19];
- периодов полета [19].

Существующая форма проведения КА переговоров экипажа и специалистов ЦУП имеет практический недостаток: процедура проведения методики достаточно трудоемка и требует много времени для получения первичных оперативных оценочных данных. Кроме этого есть необходимость в одновременном привлечении нескольких параллельно работающих экспертов для минимизации риска потенциальной субъективности оценки. Результаты кодирования зависят от качества текста (степени подробности стенограмм переговоров). Автоматизация процесса кодирования позволит сократить время и объем работы эксперта.

Пути развития системы психологического сопровождения экипажа в полете

Перспективы психологического сопровождения экипажа в полете имеют 2 линии развития: первая (ближайшая перспектива) – в рамках миссий МКС и/или других орбитальных станций; вторая (более дальняя перспектива) – пилотируемые миссии вне низких орбит, например, к Луне, Марсу.

В рамках ближайшей перспективы основным источником диагностической информации остаются переговоры экипажа и специалистов ЦУП, поэтому мы предполагаем внедрить автоматизированный вариант КА в практику оперативного мониторинга психоэмоционального состояния космонавтов во время полета в качестве штатной, стандартной процедуры. Результаты КА дополняют данные, полученные при проведении оценок каждого из сопровождаемых экипажей. Это сравнение, на наш взгляд, позволит выявить наиболее информативные и надежные показатели шкал методики. Количественные данные, полученные с помощью КА, позволят оперативно выявлять закономерности проявления психологических признаков психоэмоционального напряжения космонавтов в КП.

В рамках перспективы осуществления дальних космических полетов требуется перестройка системы психологического сопровождения экипажа. По мере отдаления космического корабля от орбиты Земли нарастает вероятность задержек и/или исчезновения связи с бортом, последовательно сокращаются возможности непосредственного и оперативного общения со специалистами ЦУП, включая

психологов. Следовательно, потребуются автономные (т. е. не требующие непосредственного участия специалиста) инструменты диагностической работы. Один из вариантов таких автономных систем психологической диагностики – «умные помощники». На основе данных, полученных посредством КА, возможна разработка программного обеспечения диагностической системы «умных помощников». В таком случае система психологического сопровождения будет наиболее тесно включена в общую структуру системы психологической поддержки, делая ее работу максимально оперативной за счет поступающей актуальной информации о состоянии космонавтов в полете. На основе диагностической информации об особенностях психологического состояния космонавта, получаемой во время КП, становится возможным индивидуализировать подход при выборе наиболее эффективной формы и содержания поддерживающих мероприятий.

Опыт психологического сопровождения КП можно экстраполировать на области медицинской практики на Земле, например, применять в клинике, в ситуации, когда пациент вынужден долгое время находиться в условиях социальной изоляции (в ходе лечения и восстановления после травм или лечения высококонтагиозных инфекционных заболеваний). Опыт дистанционной диагностики психологического состояния экипажа в КП поможет медицинскому персоналу строить более эффективное общение с пациентами за счет учета их актуального психологического состояния. Это также создаст обстановку эффективного общения врача и пациента в условиях использования средств телемедицины [20].

Выводы

1. Опыт истории отечественной пилотируемой космонавтики убедительно показывает, что надежная работа человека в условиях космического пространства во многом достигается путем эффективной системы медицинского обеспечения экипажей и ее важного элемента – психологического сопровождения космонавтов в КП. Система психологической работы с космонавтами на борту станции развивается вместе с появлением новых задач КП, арсенал инструментальных возможностей специалиста-психолога изменяется, включая в себя актуальные достижения развития информационных, компьютерных и других технологий.

2. Следующий этап исследований в области психологического сопровождения экипажа должен быть направлен на разработку автономной системы диагностики и функционирующего на ее основе комплекса средств психологической поддержки, способных обеспечивать пилотируемые миссии в длительных вне низких орбит/межпланетных экспедициях, а также при оказании медицинской помощи на Земле.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РАН FMFR-2024-0034.

Список литературы

1. Kanas N., Fedderson W.E. Behavioral, psychiatric, and sociological problems of long duration missions. Washington DC: NASA Technical Memorandum X-58067, 1971.
2. Проблема психической астенизации в космическом полете / В.И. Мясников, С.И. Степанова, ред. М., 2000.
The problem of mental asthenia in a long-term space flight / V.I. Myasnikov, S.I. Stepanova, eds. Moscow, 2000.
3. Залевский Г.В. Федор Дмитриевич Горбов и его вклад в развитие медицинской (клинической) психологии // Медицинская психология в России. 2018. Т. 10. № 2. С. 2.
Zalevsky G.V. Fedor Dmitrievich Gorbov and his contribution to the development of medical (clinical) psychology // Meditsinskaya psikhologiya v Rossii. 2018. T. 10. № 2. P. 2.
4. White W.F. The overview effect and creative performance in extreme human // Environments. Front. in Psychol. 2021. March. V. 12.
5. Мясников О.П., Козеренко О.П., Пономарева И.П. и др. Психическое состояние и работоспособность // Результаты медицинских исследований на орбитальном научно-исследовательском комплексе «Салют-6» – «Союз». М., 1986. С. 216–233.
Myasnikov O.P., Kozerenko O.P., Ponomareva I.P. et al. Mental state and performance // Results of medical research at the orbital research complex «Salyut-6» – «Soyuz». Moscow, 1986. P. 216–233.
6. Козеренко О.П., Холланд А.В. Психологическая поддержка экипажей // Космическая биология и медицина». Совм. рос.-амер. изд. М., 2004.
Kozerenko O.P., Holland A.V. Psychological support for crews // Space biology and medicine. (Joint Russian-American publication). Moscow, 2004.
7. Карпова О.И., Розанов И.А., Швед Д.М. и др. Психологическая поддержка экипажей пилотируемой космической техники: история, цели, задачи и эффективность // Авиакосм. и экол. мед. 2021. Т. 55. № 2. С. 5–14.
Karpova O.I., Rozanov I.A., Shved D.M. et al. Psychological support to the crews of piloted space system: history, goals, objectives and effectiveness // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2021. T. 55. № 2. P. 5–14.
8. Ломов Б.Ф. Проблема общения в психологии. М., 1981.
Lomov B.F. The problem of communication in psychology. Moscow, 1981.
9. Замалетдинов И.С., Никонов А.В., Богдашевский Р.Б., Ступницкий В.П. Речь как источник информации о состоянии человека в длительном космическом полете // Пятые Гагаринские чтения «Проблемы

авиационной и космической медицины и биологии». М., 1975. С. 222–234.

Zamaletdinov I.S., Nikonov A.V., Bogdashevsky R.B., Stupnitsky V.P. Speech as a source of information about the human condition in a long-term space flight // Fifth Gagarin Readings «Problems of Aviation and Space Medicine and Biology». Moscow, 1975. P. 222–234.

10. Мясников В.И., Усков Ф.Н., Козеренко О.П., Макаров В.И. Психологическая надежность космонавтов // Результаты медицинских исследований на орбитальном научно-исследовательском комплексе «Салют-6» – «Союз». М., 1986. С. 185–202.

Myasnikov V.I., Uskov F.N., Kozerenko O.P., Makarov V.I. Psychological reliability of cosmonauts // Results of medical research at the orbital research complex «Salyut-6» – «Soyuz». Moscow, 1986. P. 185–202.

11. Усков Ф.Н., Кушнерева О.В., Попов Б.А. и др. Дистанционное наблюдение и экспертная оценка: Общение и коммуникация в задачах мед. контроля. М., 1982.

Uskov F.N., Kushnereva O.V., Popov B.A. et al. Remote observation and expert assessment: Communication and communication in medical control tasks. Moscow, 1982.

12. Мясников В.И., Шапошников Е.А., Замалетдинов И.С. Полетный психоневрологический контроль // Орбитальная станция «Мир». М., 2001. Т. 1. С. 322–333.

Myasnikov V.I., Shaposhnikov E.A., Zamaletdinov I.S. Flight psychoneurological control // Orbital station «Mir». Moscow, 2001. V. 1. P. 322–333.

13. Степанова С.И., Савченко Э.Г., Лаврентьева И.Н. и др. Психическое состояние членов экипажей МКС // Международная космическая станция. Российский сегмент. М., 2011. С. 175–188.

Stepanova S.I., Savchenko E.G., Lavrentieva I.N. et al. Mental state of ISS crew members // International Space Station. Russian segment. М., 2011. P. 175–188.

14. Мясников В.И., Усков Ф.Н., Козеренко О.П., Макаров В.И. Психологическая надежность космонавтов // Результаты медицинских исследований на орбитальном научно-исследовательском комплексе «Салют-6» – «Союз». М., 1986. С. 185–202.

Myasnikov V.I., Uskov F.N., Kozerenko O.P., Makarov V.I. Psychological reliability of cosmonauts // Results of medical research at the orbital research complex «Salyut-6» – «Soyuz». Moscow, 1986. P. 185–202.

15. Приказ Минздрава СССР от 22.07.1982 № 715 «О дополнительных мерах по улучшению нормирования труда в здравоохранении».

Order of the USSR Ministry of Health dated July 22, 1982 № 715 «On additional measures to improve labor standards in healthcare».

16. Юсупова А.К., Гушчин В.И., Ушаков И.Б. Коммуникации космических экипажей в реальных и моделируемых космических полетах. М., 2011.

Yusupova A.K., Gushchin V.I., Ushakov I.B. Communications of space crews in real and simulated space flights. Moscow, 2011.

17. Yusupova A., Shved D., Gushin V. et al. Style features in communication of the crews with Mission Control // Front. Neuroergon. 12 Nov. 2021. V. 2.

18. Yusupova A., Shved D., Gushin V. et al. Crew communication styles under regular and excessive workload // Acta Astronaut. 2022. V. 199. P. 464–470.

19. Гушчин В.И., Суполкина Н.С. и др. Применение контент-анализа для исследования общения космонавтов со специалистами ЦУП при различном уровне полетной нагрузки // Авиакосм. и экол. мед. 2022. Т. 56. № 3. С. 12–18.

Gushchin V.I., Supolkina N.S. et al. Application of content analysis to study communication between cosmonauts and MCC specialists at different levels of flight load // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2022. V. 56. № 3. P. 12–18.

20. Орлов О.И., Куссмауль А.Р., Белаковский М.С. Роль космической медицины в здравоохранении на Земле // Воздушно-космическая сфера. 2020. № 2. С. 26–38.

Orlov O.I., Kussmaul A.R., Belakovsky M.S. The space medicine role in healthcare on Earth // Vozdushno-kosmicheskaya sfera. 2020. № 2. P. 26–38.

Поступила 21.10.2023

OPERATIONAL PSYCHOLOGICAL SUPPORT TO CREWS ON SPACE MISSIONS: HISTORY OF EVOLUTION, STATE-OF-THE-ART, PROSPECTS

Supolkina N.S., Yusupova A.K., Ryumin O.O.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Psychological support to the Russian space crews is aimed to provide an optimal ambience for successful work of each cosmonaut throughout a mission. They include assessment of cosmonaut's mental and emotional state, planning and implementing measures against the negative spaceflight factors, and psychological stress reduction. Complication and extension of mission programs pose new requirements to accuracy of the downloaded psychological data. Advanced digital technologies present a way of getting additional information for dynamic psychological diagnostics.

At the moment, the psychological support practice is undergoing a revision. The paper summarizes the experience of psychological monitoring of the Soviet and Russian space crews, outlines the processes of psychological support attuning to the new, constantly changing conditions, and possible associated difficulties.

Key words; crew psychological support, monitoring of the psycho-emotional state, piloted missions, speech passport, content-analysis, signs of psycho-emotional stress, private psychological conferences.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 5–11.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ОБЩЕТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 612.017.2

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ЧЕЛОВЕКА

Кутько О.В., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Шмаров В.А., Жирова Э.А., Орлова К.Д., Садова А.А., Власова Д.Д., Шульгина С.М., Лысенко Е.А., Уткин К.В., Пономарёв С.А.

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

E-mail: rykovamarina@yandex.ru

Представлены результаты исследования процессов созревания дендритных клеток (ДК), генерированных из CD14⁺-моноцитов, и TCR-активации лимфоцитов периферической крови 9 российских членов экипажей длительных экспедиций на МКС.

*Показано, что пребывание человека в условиях длительного космического полета на низкой околоземной орбите приводит к нарушениям как со стороны ДК, так и со стороны Т-лимфоцитов, о чем свидетельствует снижение содержания зрелых ДК, экспрессирующих молекулы костимуляции семейства B7, и Т-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы позитивной костимуляции CD28. Исследование выявило повышение количества толерогенных ДК с иммунофенотипом CD80⁺CD86⁻ и Т-клеток, экспрессирующих молекулы негативной костимуляции CD152. На фоне TCR-стимуляции лимфоцитов в системе *in vitro* были определены изменения процессов, связанных с дифференцировкой Т-лимфоцитов и синтезом цитокинов. Отмечен выраженный индивидуальный характер реакции иммунной системы на длительное воздействие комплекса факторов космического полета.*

Ключевые слова: космический полет, дендритные клетки, Т-лимфоциты, иммунный синапс, молекулы костимуляции

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 12–21.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-12-21

Освоение человеком космического пространства, в частности небесных тел Солнечной системы, является одним из приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в Российской Федерации. Несомненно, для осуществления полета человека в дальний космос – к Луне, Марсу, ближайшим к Земле астероидам – необходимо решение комплекса проблем, связанных с сохранением здоровья и работоспособности экипажа на всех стадиях проведения экспедиции и после ее завершения, которые частично решаются в настоящее время в околоземных пилотируемых космических полетах и наземных модельных экспериментах. Опыт

пилотируемых полетов на низкой околоземной орбите (НОО) показал, что длительное пребывание на борту космической станции приводит к изменениям функционирования гравитационно-зависимых и регуляторных систем организма, включая систему иммунитета.

Многолетний опыт изучения функций иммунной системы космонавтов до и после завершения орбитальных полетов и испытуемых добровольцев, находившихся в условиях наземного моделирования факторов космического полета, убедительно свидетельствует о появлении негативных количественных и качественных изменений показателей врожденного и адаптивного иммунитета [1–6]. Среди наиболее значимых изменений, которые могут представлять серьезную угрозу срыва всей межпланетной космической экспедиции, можно выделить такие негативные сдвиги, как снижение содержания в периферической крови моноцитов, экспрессирующих сигнальные образраспознающие рецепторы семейства Toll-like, и функциональной активности лимфоцитов-естественных киллеров и Т-лимфоцитов. Поэтому разработка средств и методов профилактики и коррекции дефектов функционирования иммунной системы путем направленного воздействия на различные звенья иммунного ответа является одной из важнейших проблем на этапе создания системы медико-биологического обеспечения при подготовке и выполнении межпланетных космических полетов. Решение этой проблемы невозможно без углубленных комплексных исследований главных игроков иммунного ответа, механизмов взаимодействий между ними и участвующих в реализации иммунного ответа иммунорегуляторных путей у человека, находившегося в условиях околоземных пилотируемых космических полетов.

Иммунный ответ – это многоуровневый и многокомпонентный процесс, протекающий с вовлечением большого числа клеточных факторов врожденного и адаптивного иммунитета, взаимодействующих

между собой посредством поверхностных молекул и секретируемых цитокинов. Так, ключевыми этапами становления и развития Т-клеточного иммунитета являются распознавание антигена → переработка и презентация антигена антигенпрезентирующей клеткой (АПК) → распознавание антигена при взаимодействии АПК и Т-лимфоцита → активация и пролиферация Т-лимфоцитов → формирование Т-клеток памяти и эффекторных Т-лимфоцитов.

Благодаря интенсивным исследованиям в области иммунологии стало известно, что ключевую роль в запуске и регуляции Т-клеточного иммунного ответа играют АПК, среди которых наибольшее внимание привлекают дендритные клетки (ДК). Рецепторный арсенал ДК включает в себя паттерн-распознающие рецепторы (PRR) – Toll-подобные (TLR), Nod-подобные и RIG-подобные рецепторы. Незрелые ДК после встречи с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (pathogen associated molecular patterns – PAMP) или эндогенными молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждением (damage associated molecular patterns – DAMP), расщепляют фагоцитированные патогены до мелких пептидов и подвергают их каскаду превращений. Созревание ДК сопровождается существенными функциональными и морфологическими перестройками, в результате которых повышается их антигенпрезентирующая и костимулирующая активность [7]. При распознавании представленного на ДК антигена Т-лимфоцит активируется и вступает в процесс быстрого размножения (клональной экспансии). Кроме того, мембранные молекулы и цитокины ДК индуцируют дифференцировку размножающихся Т-лимфоцитов в определенные субпопуляции Т-клеток-эффекторов и Т-клеток иммунологической памяти. В результате первоначально малочисленные наивные Т-лимфоциты, способные лишь к распознаванию данного антигена, превращаются в многочисленную армию полноценных иммунокомпетентных клеток, способных к непосредственному участию в иммунном ответе или формированию иммунологической памяти [8].

К сожалению, несмотря на накопленный к настоящему времени фактический материал, свидетельствующий, что факторы реального космического полета могут приводить к развитию Т-клеточной дисфункции, комплексные исследования как индуктивной, так и эффекторной фазы Т-клеточного ответа у космонавтов после завершения космических миссий пока не проводились.

Цель настоящей работы – исследование процессов созревания дендритных клеток и TCR-активации лимфоцитов у российских членов экипажей длительных экспедиций на Международной космической станции.

Методика

Иммунологическое обследование 9 российских космонавтов проводилось до и после завершения длительных (194–204 сут) экспедиций на Международной космической станции (МКС). В соответствии с программой клинико-физиологического обследования космонавтов отбор проб крови для иммунологического анализа проводился из кубитальной вены по стандартной методике в асептических условиях утром натошак в предполетном периоде за 60 сут до старта, а в периоде реадaptации к земным условиям – на 1-е и 7-е сутки после приземления. Забор крови осуществлялся в вакуумные пробирки фирмы Greiner Bio-One (Австрия) со стандартным содержанием антикоагулянта Li гепарин.

Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из гепаринизированной венозной крови путем центрифугирования в градиенте плотности фиколла ($\rho = 1,077$). Фракции CD14⁺-моноцитов (CD14⁺ МНК) и лимфоцитов (CD14⁻ МНК) получали из суспензии МНК путем магнитной сепарации (MS Columns, Miltenyi Biotec, Германия) с использованием технологии MACS (Miltenyi Biotec, Германия).

Для трансформации в ДК моноцитарную клеточную взвесь вносили в плоскодонные 24-луночные планшеты в количестве 1×10^6 клеток в 1 мл. Культивирование осуществлялось в полной питательной среде, содержащей 10%-ную эмбриональную телячью сыворотку, 50 мкг/мл пенициллина-стрептомицина, 0,29 мкг/мл L-глутамин с добавлением цитокинов (IL-4 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора роста – GM-CSF), при температуре 37 °C в CO₂-инкубаторе во влажной атмосфере в течение 8 сут. На 3-и и 6-е сутки культивирования проводили замену среды культивирования. Для индукции терминальной дифференцировки ДК культуру клеток дополнительно стимулировали TNF α . Иммунофенотипирование трансформированных зрелых ДК проводили методом проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (Becton Dickinson, США) с использованием моноклональных антител CD14, CD80, CD83, CD86, HLA-DR. Концентрацию цитокинов и хемокинов (IL-12p70, IL-12p40, IFN α 2, IFN γ , IL-17A, IL-1 α , IL-1 β , IL-10, IL-6, IL-13, IL-15, IL-23, TNF β , MCP-1) определяли в супернатантах клеточных культур на 8-е сутки культивирования методом мультиплексного анализа с использованием коммерческого набора Human Cytokine/Chemokine Panel I (Millipore, Германия), согласно инструкциям производителя.

Выделенные лимфоциты (CD14⁻ МНК) культивировали в стерильных пластиковых пробирках объемом 5 см³ (Falcon, BD) (в концентрации 10^6 клеток в 1 мл) в питательной среде RPMI-1640, содержащей 10%-ную эмбриональную телячью

сыворотку, 50 мкг/мл пенициллина-стрептомицина, 0,29 мкг/мл L-глутамина, в течение 48 ч при температуре 37 °C в CO₂-инкубаторе. В качестве активатора Т-лимфоцитов использовался T Cell TransAct (Miltenyi Biotec, Германия) – полимерный наноматрикс, конъюгированный с антителами к CD3, CD28 человека. После 48 часовой инкубации в культурах нестимулированных и стимулированных T Cell CD3/CD28 TransAct культурах лимфоцитов оценивали содержание CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, экспрессирующих маркеры, характеризующие функциональную активность Т-лимфоцитов – CD25, CD28, CD152, и поверхностные молекулы, характеризующие субпопуляции наивных Т-клеток – T_N (CD45RA⁺CD62L⁺), Т-клеток центральной памяти – T_{CM} (CD45RA⁻CD62L⁺), Т-клеток эффекторной памяти – T_{EM} (CD45RA⁻CD62L⁻), и терминально-дифференцированных эффекторов – T_{EMRA} (CD45RA⁺CD62L⁻). Использовали моноклональные антитела CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD152, CD45RA, CD62L (Miltenyi Biotec, Германия). Нестимулированную и стимулированную T Cell CD3/CD28 TransAct секрецию Т-лимфоцитами цитокинов (IFN γ , IL-2, IL-4, IL-13, IL-10, IL-17A, IL-8, GM-CSF, IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES) оценивали в супернатантах 48-часовых культур с использованием коммерческого набора Human Cytokine/Chemokine Panel I для мультиплексного анализа цитокинов, хемокинов и факторов роста (Merck, Германия).

Результаты эксперимента были обработаны с использованием пакета прикладных программ Statistica v.10.0 for Microsoft Windows. Данные исследования представлены в виде медианы (Me) и интерквартильной широты (q25-q75). Достоверность полученных результатов оценивалась с помощью непараметрического критерия Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

Наиболее важными достижениями начатых еще в 1990-е гг. исследований ДК можно считать разработку методов получения ДК из моноцитов *in vitro*, а также установление характеристик их рецепторного аппарата. Согласно данным литературы, процесс созревания ДК из моноцитов крови человека сопровождается изменением экспрессии поверхностных антигенов – CD14 (маркер моноцитов/макрофагов) и CD83 (маркер терминальной дифференцировки). Поскольку дифференцировка моноцитов в ДК связана с потерей моноцитами CD14-молекул, а созревание незрелых ДК в зрелые – с приобретением маркера терминальной дифференцировки CD83, уменьшение доли CD14⁺-клеток и увеличение CD83⁺-клеток является признаком дифференцировки и созревания ДК. Среди костимулирующих молекул, которые необходимы для представления антигена, на зрелых ДК экспрессируются молекулы

семейства B7 – CD80 (B7-1) и CD86 (B7-2). Уровни экспрессии костимулирующих молекул изменяются по мере созревания ДК. Показано, что экспрессия CD86 на клеточной поверхности обычно слабо выражена на покоящихся ДК и резко увеличивается сразу после их активации, тогда как CD80 экспрессируются лишь на зрелых ДК. Экспрессия CD86 на ранних стадиях активации ДК предполагает, что молекула CD86 наиболее важна для запуска иммунного ответа, причем экспрессия молекул CD80 на поверхности ДК в условиях дефицита молекул CD86 не может компенсировать последний. Более того, в этом случае активационный сигнал является неэффективным [9]. В целом молекулы CD80 и CD86 выполняют аналогичные функции. Несмотря на то что у корецепторов CD80 и CD86, являющихся трансмембранными белками 1-го типа, имеется только 25 % аминокислотной идентичности, они оба связываются с рецепторами CD28 и CTLA-4 (CD152), которые экспрессируются на поверхности как наивных, так и активированных Т-лимфоцитов [10]. Однако считается, что CD80 обладает большим сродством к CTLA-4 Т-лимфоцитов, взаимодействие с которым приводит к развитию толерогенного эффекта [11].

Исследование особенностей фенотипа ДК, дифференцированных *in vitro* из моноцитов периферической крови космонавтов, не выявило в послеполетном периоде снижения количества в культуре ДК с фенотипом CD14⁺CD83⁺ (табл. 1). Однако процентное содержание CD14⁺CD83⁺-клеток, несущих одновременно обе костимуляторные молекулы семейства B7 – CD14⁺CD80⁺CD83⁺CD86⁺ ДК, на 1-е сутки после возвращения космонавтов на Землю было статистически достоверно ниже предполетных значений. Подобные же особенности выявлялись при определении содержания CD14⁺CD80⁺CD83⁺CD86⁺ ДК, экспрессирующих критические для осуществления эффективной антигенпрезентации HLA-DR-рецепторы.

Обращает на себя внимание тот факт, что наряду со снижением числа иммуногенных, т. е. CD14⁺CD80⁺CD86⁺-клеток, в раннем периоде реадaptации наблюдается повышение количества толерогенных CD80⁺CD86⁻ ДК. Таким образом, анализ особенностей иммунофенотипа ДК, дифференцированных из моноцитов периферической крови космонавтов, показал, что после завершения длительных космических полетов в клеточной культуре формируется пул зрелых ДК с низким уровнем костимуляторной и антигенпрезентирующей активности за счет снижения количества клеток, экспрессирующих рецептор CD86.

На сегодняшний день накоплен фактический материал, свидетельствующий о важной роли цитокин-опосредованного пути активации Т-лимфоцитов, который осуществляется

Фенотип дендритных клеток, генерированных из CD14⁺-моноцитов периферической крови космонавтов до и после длительных космических полетов на МКС (M ± m; Me; q25-q75)

Показатель	Время обследования		
	До полета	1-е сутки	7-е сутки
CD14 ⁺ CD80 ⁺	49,5; 44,2-60,6	30,0; 10,2-60,0	48,4; 26,4-60,3
CD14 ⁺ CD80 ⁺	32,8; 17,3-54,6	19,8; 3,1-28,4	31,2; 17,2-47,1
CD14 ⁺ CD83 ⁺	22,7; 15,2-25,9	36,5; 23,5-53,0	41,4* ; 27,2-59,9
CD14 ⁺ CD83 ⁺	1,9; 0,5-2,2	4,7; 1,7-6,6	5,1; 3,2-8,2
CD14 ⁺ CD86 ⁺	23,8; 12,1-45,4	5,8* ; 4,1-10,0	17,7; 11,6-35,3
CD14 ⁺ CD86 ⁺	17,8; 5,1-45,1	0,7* ; 0,4-2,1	1,5; 1,2-3,6
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺	50,1; 35,2-58,9	26,0; 6,4-32,9	58,3; 33,2-70,3
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺	24,5; 18,9-33,0	13,0; 8,1-24,5	19,6; 19,2-32,4
CD14 ⁺ CD83 ⁺ CD80 ⁺	18,1; 14,7-25,8	22,9; 3,6-52,3	37,4; 19,7-43,8
CD14 ⁺ CD83 ⁺ CD80 ⁺	1,9; 0,5-2,1	1,9; 0,5-3,9	4,3; 2,5-7,5
CD14 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁺	11,7; 9,0-22,7	4,0* ; 2,9-5,1	13,3; 10,9-30,8
CD14 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁺	1,2; 0,3-1,7	0,4; 0,1-0,8	0,7; 0,4-1,0
CD14 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁻	6,1; 2,3-16,2	23,3* ; 19,8-49,1	14,3; 11,2-51,0
CD14 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁻	0,04; 0,02-0,43	3,93* ; 0,67-4,69	3,91* ; 2,73-4,42
CD14 ⁺ CD80 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁺	11,2; 8,7-18,1	3,8* ; 1,2-5,0	12,5; 9,8-30,8
CD14 ⁺ CD80 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁺	1,2; 0,3-1,7	0,4; 0,1-0,8	0,7; 0,4-1,0
CD14 ⁺ CD80 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁻	6,1; 2,2-12,0	13,9; 2,4-45,0	10,7; 8,2-16,3
CD14 ⁺ CD80 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁻	0,03; 0,02-0,41	1,85* ; 0,17-2,83	2,73* ; 0,57-4,41
CD14 ⁺ CD83 ⁺ HLA-DR ⁺	15,0; 12,3-21,5	12,8; 2,3-23,5	39,8* ; 26,6-56,1
CD14 ⁺ CD83 ⁺ HLA-DR ⁺	1,1; 0,4-1,9	3,9; 1,1-8,2	4,9* ; 3,5-7,4
CD14 ⁺ CD80 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁺ HLA-DR ⁺	8,3; 6,9-9,4	1,0* ; 0,2-2,0	14,1; 10,6-26,3
CD14 ⁺ CD80 ⁺ CD83 ⁺ CD86 ⁺ HLA-DR ⁺	0,8; 0,4-1,3	0,2; 0,0-0,4	0,6; 0,3-0,8

*Достоверное различие с исходным уровнем (p < 0,05).

цитокинами, секретируемыми активированными ДК. В процессе созревания ДК начинают секретировать цитокины семейства IL-12. Наиболее важной функцией IL-12 является поляризация дифференцировки Th0-клеток в Т-лимфоциты-хелперы типа 1 (Th1) и последующая секреция ими IFN γ . После дифференцировки Th1-клетки перестают нуждаться в IL-12 в качестве сигнала костимуляции. Известна также способность IL-12 подавлять развитие Т-лимфоцитов-хелперов типа 2 (Th2), что сопровождается снижением продукции IgE и IgA. Активный гетеродимер IL-12p70 в своем строении имеет 2 гликозилированные субъединицы – p40 и p35. При этом субъединица IL-12p35 имеет решающее значение для проведения сигнала внутрь Т-лимфоцита и запуска процессов, способствующих

дифференцировке наивных Т-клеток в Th1, а субъединица IL-12p40 участвует в связывании цитокина со специфическим рецептором. Полагают, что высокие концентрации p40 способны формировать неактивные гомодимеры и блокировать рецепторы к цитокинам семейства IL-12, тем самым нарушая процесс сигнальной трансдукции [12]. Помимо секреции цитокинов семейства IL-12 зрелые ДК способны продуцировать также и ряд других цитокинов и хемокинов, необходимых для регуляции дифференцировки и функциональной активности Т-лимфоцитов, например, IL-1, TNF, IL-6, IL-10 [13].

Результаты проведенных исследований показали, что по средним показателям на группу в послеполетном периоде содержание в супернатантах клеточных культур ДК (IFN α 2, IFN γ , IL-10, IL-12p40,

Продукция цитокинов дендритными клетками, генерированными *in vitro* из CD14⁺-моноцитов периферической крови космонавтов до и после длительных космических полетов на МКС (M ± m; Me; q25-q75)

Показатель	Время обследования		
	До полета	1-е сутки	7-е сутки
IFNα2	16,5; 13,8-16,5	22,0; 16,6-22,0	38,8; 25,0-44,3
IFNγ	6,0; 5,7-10,7	5,6; 5,4-169,2	8,6; 6,0-9,4
IL-10	63,7; 56,5-77,6	10,6; 3,3-100,4	31,9; 8,3-640,2
IL-12p40	12,8; 11,3-22,0	9,7; 9,7-12,9	33,2; 23,0-34,2
IL-12p70	3,3; 1,2-3,8	2,1; 1,1-2,9	2,9; 1,1-4,3
IL-13	9,9; 5,4-10,6	8,6; 2,5-17,7	6,1; 3,2-24,2
IL-15	8,1; 3,4-10,2	7,2; 3,4-8,6	7,2; 3,0-15,5
IL-17A	4,8; 4,4-5,0	4,4; 4,0-45,5	5,2; 4,2-5,4
IL-1α	13,8; 13,8-14,9	12,8; 11,7-15,8	21,6; 15,6-24,5
IL-1β	8,3; 7,3-8,5	11,8; 9,3-15,7	8,0; 6,5-8,2
IL-6	1076,0; 847,1-1589,5	390,6; 361,0-595,1	781,5; 529,2-1370,8
MCP-1	1112,0; 704,0-8463,0	2078; 1410-2105	3558; 2260-4766
TNFβ	4,9; 4,0-4,9	3,1; 3,1-11,9	4,2; 3,4-4,6
IL-23	391,5; 391,5-391,5	327,8; 327,8-327,8	329,7; 298,7-360,6

IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-1α, IL-1β, IL-6, TNFβ, IL-23, MCP-1) существенно не отличалось от предполетных значений (табл. 2).

Но при анализе индивидуальной динамики изменений концентраций этих цитокинов был обнаружен ряд интересных особенностей. Во-первых, в ряде случаев в 1-е сутки периода реабилитации отмечено уменьшение секреции такого спектра цитокинов, как IL-12p70, IL-6, IFNγ, свидетельствующее о снижении потенциала полученных дендритных клеток поляризовать иммунный ответ по первому типу – Th1. Во-вторых, у большинства обследованных космонавтов на 1-е сутки после приземления наблюдалось снижение продукции IL-10.

Ключевым моментом в запуске иммунного ответа является образование иммунного синапса между ДК и лимфоцитом, что обусловлено наличием соответствующих поверхностных молекул на обеих клетках. Рецептором для позитивного костимулирующего сигнала на Т-лимфоците служит молекула CD28. При взаимодействии костимуляторных молекул B7 (CD80, CD86) на поверхности ДК с молекулой CD28, конституционно представленной на поверхности всех покоящихся CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, происходит передача импульса, который через сложную серию каскадных реакций приводит к активации ядерных факторов NFκB, NFAT и AP-1, следствием которой является секреция IL-2, клональная

пролиферация и дифференцировка Th0-клеток в клетки-эффекторы. В отсутствие костимуляторного сигнала Т-лимфоциты теряют способность эффективно «отвечать» на антигенные стимулы и подвергаются апоптозу [14]. Вместе с тем на Т-лимфоцитах присутствуют молекулы, связывание которых с костимуляторными молекулами ДК – CD86 и особенно CD80, приводит к подавлению активации Т-клеток. К таким молекулам Т-клеток относится молекула CD152 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated Antigen 4, CTLA-4), обладающая более высоким, чем CD28, сродством к молекулам CD80/CD86. Особое значение CTLA-4 приобретает в активированных регуляторных Т-клетках, где отмечается ее высокая экспрессия. Показано, что связывание молекулы CTLA-4 с молекулами CD86 и особенно CD80 приводит к ингибированию активации Т-лимфоцита и установлению состояния анергии [15].

Изучение рецептор-опосредованной активации Т-лимфоцитов (TCR-активация) в ответ на индукцию CD3/CD28-антирецепторными антителами *in vitro* у космонавтов на этапе подготовки и после завершения экспедиций на МКС позволило установить, что длительные космические полеты приводят к изменениям эффекторной фазы антигенспецифического ответа. Имитируя действие антигенпрезентирующей клетки, используемый в работе T Cell TransAct взаимодействует с Т-клетками через молекулы CD3

и CD28, формируя иммунный синапс, вследствие чего регулируются активация, дифференцировка и пролиферация лимфоцитов. Как показал анализ фенотипических характеристик клеток в 48-часовых культурах с лигандами к CD3- и CD28- антигенам, которые имитируют процесс ДК-стимуляции Т-клеток, была обнаружена индивидуальная вариабельность содержания CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы позитивной (CD28) и негативной (CD152) костимуляции, а также молекулу активации Т-клеток (CD25) (табл. 3).

Примечательно, что на 1-е и 7-е сутки реадаптации к земным условиям в большинстве наблюдений отмечалось повышение процента CD152⁺-клеток и/или снижение процента CD28⁺-клеток среди CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов. Кроме того, наше внимание привлекла следующая деталь: в самый ранний срок послеполетного обследования уровень CD8⁺ Т-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD25 в ответ на индукцию CD3/CD28-антирецепторными антителами, у 4 обследуемых космонавтов снижался, причем в 2 случаях это снижение было весьма значительным (на 34,9 и 59,4 % от фонового уровня).

Из активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов под действием презентуемого ДК антигена дифференцируются клетки иммунологической памяти, которые быстро активируются при повторной встрече с этим же антигеном, что обеспечивает более быстрый иммунный ответ. Нет единого мнения о том, образуются ли Т-клетки памяти непосредственно из Т-эффекторов или из отдельной субпопуляции предшественников Т-клеток памяти, дифференцирующихся из активированных Т-клеток, независимо от эффекторов. Но большинство исследователей сходятся во мнении, что дифференцировка антигенспецифических Т-клеток в периферических лимфоидных органах носит последовательный линейный характер – T_N (наивные Т-клетки), T_{CM} (клетки центральной памяти) и T_{EM} (эффекторной памяти), T_{EMRA} («терминально-дифференцированные» эффекторные клетки) [16]. T_{CM} имеют повышенный пролиферативный потенциал, способность к самообновлению и более длинные теломеры в сравнении с T_{EM}. Для T_{CM} характерна высокая экспрессия антиапоптотических генов, в частности STAT5a, и более низкие уровни проапоптотического белка Bim. Популяции T_{EM} мигрируют преимущественно в нелимфоидные ткани и воспаленные участки и содержат в цитоплазме большое количество перфорина, что обеспечивает их высокую цитотоксическую активность и выраженную способность к немедленной эффекторной функции. Согласно современным представлениям, T_{EM} необходимы при реинфекции для немедленной защиты от патогенной инвазии на периферии, осуществляя быструю элиминацию антигена, тогда как T_{CM} обеспечивают

защиту от системных воздействий, активируясь ДК во вторичных лимфоидных органах, генерируя антигенспецифический клон эффекторов, способных полностью элиминировать патоген. Существуют данные, что при повторном контакте с антигеном T_{CM} могут пополнять пул T_{EMRA} – наиболее дифференцированной субпопуляции Т-лимфоцитов. T_{EMRA} инфильтрируют периферические ткани, обеспечивая клиренс патогена [17]. Исследования феномена иммунологической памяти в области инфекционной иммунологии, онкологии и при аутоиммунной патологии свидетельствуют, что изменения соотношения различных субпопуляций Т-клеток памяти могут играть важную роль в патогенезе хронических вирусных инфекций, а также системных нарушениях функционирования иммунной системы – рассеянный склероз, антифосфолипидный синдром, различного рода васкулиты, ангииты и артерииты, например гранулематоз Вегенера. Так, отсутствие или уменьшение количества наивных Т-клеток указывает на отсутствие или нарушение восстановления Т-клеток. Увеличение числа наивных Т-клеток с соответствующим уменьшением Т-клеток памяти указывает на неспособность к дальнейшей дифференцировке и эффекторной функции или избирательную потерю Т-клеток памяти и как следствие повышенный риск заражения. [18].

Оценка содержания наивных Т-клеток (T_N), Т-лимфоцитов центральной памяти (T_{CM}), Т-клеток эффекторной памяти (T_{EM}) и терминально-дифференцированных эффекторов (T_{EMRA}) в клеточных культурах показала, что в отсутствие TCR-активации в пробах лимфоцитов у космонавтов на 1-е сутки после полета доля T_{CM} среди CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов была существенно выше по сравнению с предполетным периодом. В этих субпопуляциях Т-лимфоцитов в интактных пробах было отмечено статистически достоверное снижение процента T_{EMRA} на 1-е сутки и T_{EM} на 7-е сутки после полета (табл. 3). Говоря о TCR-активированных клеточных культурах, можно заметить, что как в самый ранний срок послеполетного обследования, так и через неделю после приземления наблюдалось достоверное повышение процентного содержания T_{CM} от CD3⁺CD8⁺-клеток. Интересно, что при анализе индивидуальной динамики изменений относительного содержания различных пулов Т-клеток памяти при TCR-активации лимфоцитов была выявлена значительная индивидуальная вариабельность доли T_{EM} и T_{EMRA} в субпопуляциях CD4⁺- и CD8⁺-клеток.

Появление новых высокочувствительных инструментов позволило исследовать более тонкую структурную организацию эффекторных Т-клеток, в первую очередь популяции Т-хелперов (Th). Стало очевидно, что пролиферирующие Т-хелперные клетки, которые развиваются в эффекторные Т-клетки, дифференцируются в ряд основных субпопуляций

Субпопуляционный состав CD3⁺CD4⁺ Т-клеток и CD3⁺CD8⁺ Т-клеток в 48-часовых нестимулированных (ns) и стимулированных (st) T Cell CD3/CD28 TransAct культурах лимфоцитов периферической крови космонавтов до и после длительных космических полетов на МКС (M ± m; Me; q25-q75)

Показатель	Время обследования		
	До полета	1-е сутки	7-е сутки
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Т-клетки [#]			
CD25 ⁺ ns	8,84; 5,79-11,30	6,09; 3,25-8,88	2,69; 1,45-4,23
CD25 ⁺ st	70,16; 56,00-71,44	71,74; 37,01-81,17	64,91; 32,89-80,81
CD28 ⁺ ns	97,49; 85,68-98,5	98,61; 90,65-99,46	97,35; 96,34-98,91
CD28 ⁺ st	96,24; 75,22-97,47	38,66; 7,27-95,13	7,89* ; 1,67-38,35
CD152 ⁺ ns	0,592; 0,54-2,03	1,08; 0,00-5,43	0,33; 0,02-0,71
CD152 ⁺ st	5,18; 2,13-6,65	19,05; 9,44-31,83	1,32; 0,14-2,94
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _N) ns	29,31; 20,57-50,85	21,00; 17,04-26,13	24,58; 14,30-45,83
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _N) st	22,89; 16,55-28,12	13,61; 8,42-20,37	18,90; 14,66-28,05
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{CM}) ns	34,92; 32,51-41,86	56,18* ; 49,09-65,09	31,64-59,46
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{CM}) st	28,83; 21,27-33,77	37,36; 31,98-44,21	26,73; 23,64-38,77
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EM}) ns	30,36; 11,79-37,00	16,14; 12,80-20,59	14,18* ; 10,22-19,45
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EM}) st	36,37; 19,40-44,02	33,15; 27,92-45,93	21,28; 9,99-42,58
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EMRA}) ns	3,09; 1,66-4,18	0,95* ; 0,69-1,26	2,73; 2,45-3,86
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EMRA}) st	9,39; 6,80-13,22	8,28; 7,38-9,84	12,12; 7,63-15,69
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Т-клетки ^{##}			
CD25 ⁺ ns	0,74; 0,50-0,96	1,22; 0,77-3,29	0,38; 0,16-0,69
CD25 ⁺ st	58,18; 45,89-79,69	51,65; 36,05-79,65	61,20; 31,02-70,24
CD28 ⁺ ns	65,93; 51,25-76,15	77,83; 52,97-82,51	61,51; 55,77-68,85
CD28 ⁺ st	62,90; 58,01-70,47	8,45; 1,01-71,38	1,40* ; 0,30-16,88
CD152 ⁺ ns	0,43; 0,27-0,57	0,19; 0,00-0,69	0,26; 0,02-0,65
CD152 ⁺ st	2,37; 1,31-5,73	8,90; 1,56-14,70	0,77; 0,10-2,18
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _N) ns	31,14; 19,57-33,64	26,23; 22,18-42,89	24,33; 21,88-47,23
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _N) st	19,97; 13,55-22,47	23,21; 15,00-33,65	23,56; 12,94-24,62
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{CM}) ns	7,57; 6,37-8,47	13,10* ; 9,66-23,00	10,02; 7,49-17,63
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{CM}) st	4,32; 3,47-5,71	6,68* ; 5,16-9,86	11,35* ; 6,51-14,71
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EM}) ns	47,69; 36,70-48,10	45,04; 27,87-47,37	39,77; 21,68-42,37
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EM}) st	48,44; 36,32-57,38	41,49; 31,66-49,41	42,39; 37,88-52,51
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EMRA}) ns	18,29; 13,46-25,78	9,88* ; 7,89-14,99	13,72; 11,31-23,33
CD45RA ⁺ CD62L ⁺ (T _{EMRA}) st	22,31; 19,01-36,56	24,84; 19,49-31,22	22,69; 17,47-24,68

* Достоверное различие с исходным уровнем (p < 0,05).

[#] Представлены значения относительного числа лимфоцитов после гейтирования по CD4.

^{##} Представлены значения относительного числа лимфоцитов после гейтирования по CD8.

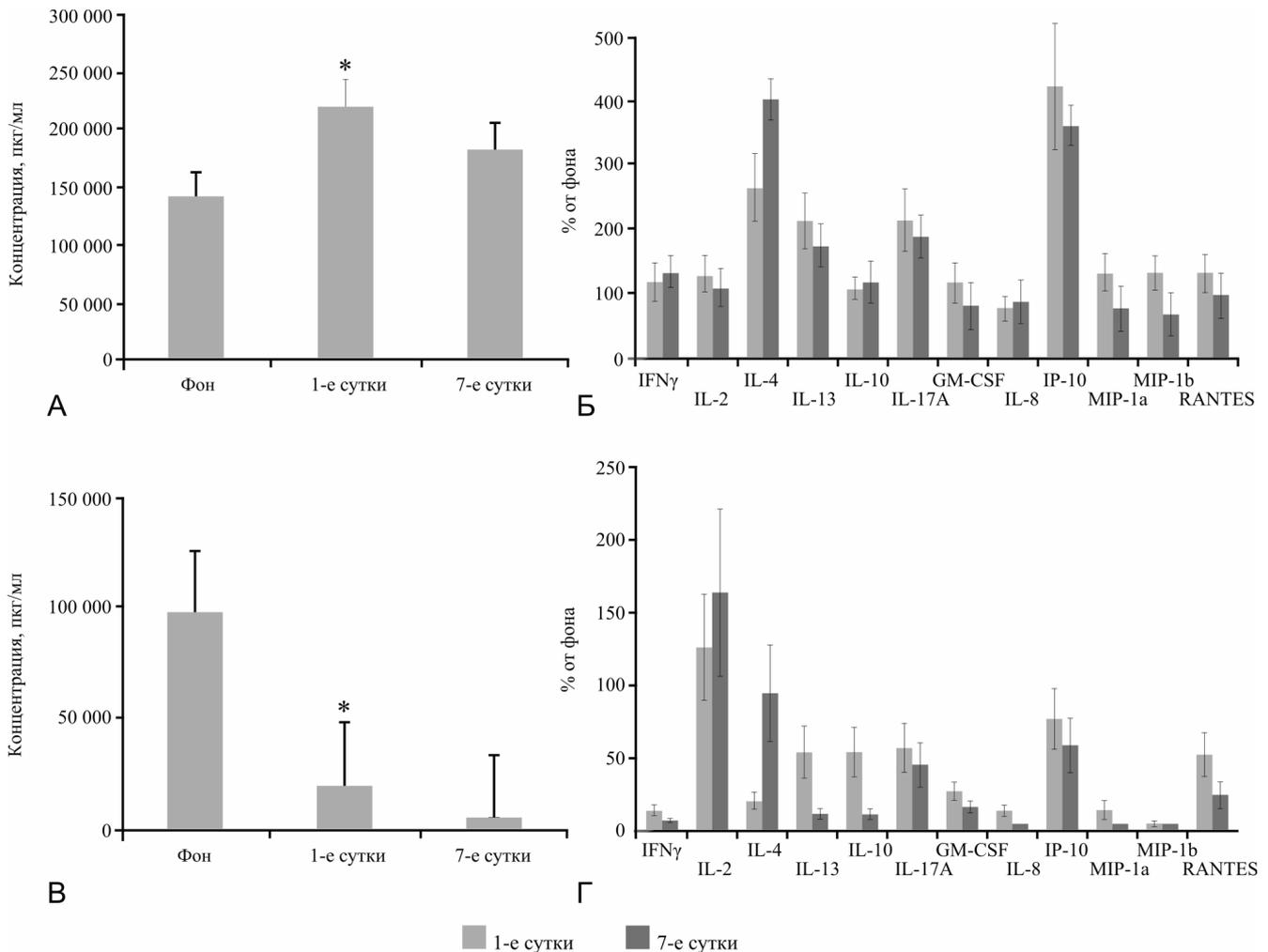


Рис. 1. Изменение концентрации цитокинов в нестимулированных и стимулированных культурах лимфоцитов у космонавтов: А – суммарное содержание цитокинов в 48-часовых стимулированных T Cell CD3/CD28 TransAct культурах лимфоцитов; Б – содержание цитокинов в 48-часовых стимулированных T Cell CD3/CD28 TransAct культурах лимфоцитов (% от фонового уровня); В – суммарное содержание цитокинов в 48-часовых нестимулированных культурах лимфоцитов; Г – содержание цитокинов в 48-часовых нестимулированных культурах лимфоцитов (% от фонового уровня). * Достоверное отличие по сравнению с фоновым значением ($p < 0,05$)

клеток (Th1, Th2, Th9, Th17 и целый ряд других), для которых характерной чертой является продукция специфических цитокинов [19].

Как показали результаты исследования способности лимфоцитов периферической крови секретировать ряд цитокинов (IFN γ , IL-2, IL-4, IL-13, IL-10, IL-17A, IL-8, GM-CSF, IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES) у 5 космонавтов, в раннем периоде реадaptации наблюдались существенные изменения общей паракринной активности Т-клеток: повышение суммарного количества цитокинов в супернатантах стимулированных T Cell CD3/CD28 TransAct культур и, напротив, снижение в супернатантах нестимулированных культур (рис. 1, А, В). При анализе изменения уровня каждого цитокина в отдельности выяснилось, что вклад в динамику достигался за счет

как про-, так и противовоспалительных медиаторов, а также растворимых факторов, участвующих в разных биологических процессах (рис. 1, Б, Г).

Рассмотрение динамики индивидуальных показателей секреции цитокинов, вырабатываемых преимущественно клонами Th-1 (IFN γ , IL-2), Th-2 (IL-4, IL-13, IL-10) и Th-17 (IL-17A) лимфоцитов, на фоне TCR-активации позволило выявить на 1-е и 7-е сутки послеполетного периода у каждого из обследованных космонавтов изменения как в сторону повышения, так и снижения содержания в супернатантах клеточных культур всех изученных Th1-, Th2- и Th17-ассоциированных цитокинов (рис. 2).

Важной характеристикой иммунного ответа Т-клеток, связанной с паракринной активностью, является не только уровень секреции цитокинов, но и

Цитокины	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1-е сутки					7-е сутки					
IFN γ	+	-		-	+	+			+	+
IL-2	+		+		+			+	-	+
IL-4	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
IL-13	+	-		+	+	+	-		+	+
IL-10			+	+	-		+	+	-	-
IL-17A	+		+	+	-	+	+	+	-	-
IFN γ /IL-4		+	-	-	-		+	-	-	-
IFN γ /IL-13	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
IFN γ /IL-10	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
IFN γ /IL-17A	-		-	-	+	-	-	-	+	+
IL-2/IL-4		+	-	-			+	-	-	-
IL-2/IL-13	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-
IL-2/IL-10	+		-	-	+	-	-	-	-	+
IL-2/IL-17A	-		-	-	+	-	-	-	-	+
IL-4/IL-17A	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
IL-13/IL-17A		-	-	+	+		-	-	+	+
IL-10/IL-17A	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+

Изменения по сравнению с фоновыми значениями

Увеличение
 Снижение
 Отсутствие изменений

Рис. 2. «Тепловая карта», характеризующая направленность изменений продукции основных цитокинов в 48-часовых стимулированных T cell CD3/CD28 TransAct культурах лимфоцитов у космонавтов на 1-е и 7-е сутки после завершения длительных космических полетов по сравнению с фоновыми значениями

их баланс. Как известно, разнонаправленность действия медиаторов, продуцируемых Th1-, Th2- и Th17-клетками, обуславливает взаимосупрессорное влияние этих субпопуляций друг на друга, благодаря чему сохраняется динамическое равновесие функций Th1-, Th2- и Th17-клеток, а нарушение данного равновесия может приводить к подавлению иммунного ответа и развитию иммунопатологического состояния [20]. По данным, полученным при оценке индуцированной T Cell CD3/CD28 TransAct продукции цитокинов лимфоцитами периферической крови космонавтов, были рассчитаны коэффициенты баланса Th1 и Th2, Th1 и Th17, Th2 и Th17-цитокинов (рис. 2).

Проведенный анализ позволил отметить смещение баланса цитокинов, продуцируемых 3 типами Т-хелперных клеток – IFN γ /IL-4, IFN γ /IL-13, IFN γ /IL-10, IFN γ /IL-17A, IL-2/IL-4, IL-2/IL-13, IL-2/IL-10, IL-2/IL-17A, IL-4/IL-17A, IL-13/IL-17A, IL-10/IL-17A, по сравнению с фоновыми значениями.

Представленные в данной работе результаты комплексного исследования фенотипических и функциональных свойств ДК, генерированных из CD14⁺-моноцитов, и Т-лимфоцитов при TCR-активации у российских космонавтов показывают, что факторы космического полета приводят к изменениям на ключевых этапах развития иммунного ответа – костимуляторная и антигенпрезентирующая активность ДК, способность Т-лимфоцита распознавать антиген, субпопуляционный состав Т-клеток памяти, цитокинпродуцирующая способность эффекторных клеток. При этом обращает на себя внимание значительная вариабельность величины и направленности изменений, свидетельствующая о роли индивидуальных особенностей организма адаптироваться к экстремальным условиям жизнедеятельности. Выявленный полиморфизм реакций иммунной системы на условия космического полета указывает на необходимость персонализированного подхода к иммунореабилитации космонавтов.

Выводы

Длительные космические полеты оказывают существенное влияние на процесс генерации ДК из моноцитов и реакцию Т-лимфоцитов на TCR-активацию в культурах иммунокомпетентных клеток периферической крови космонавтов. Показано, что наряду со снижением содержания ДК и Т-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы, формирующие иммунный синапс и обеспечивающие позитивную костимуляцию сигнала активации, наблюдается увеличение количества толерогенных ДК и Т-клеток, экспрессирующих молекулы негативной костимуляции. Установлены изменения эффекта TCR-активации на дифференцировку и цитокинпродуцирующую активность Т-лимфоцитов.

Работа выполнена в рамках программ фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН № FMFR-2024-0039.

Список литературы

1. Morukov B.V., Rykova M.P., Antropova E.N. et al. Parameters of the innate and adaptive immunity in cosmonauts after long-term space flight on board the international space station // Hum. Physiol. 2010. V. 36. № 3. P. 264–273.
2. Morukov B., Rykova M., Antropova E. et al. T-cell immunity and cytokine production in cosmonauts after

long-duration space flights // *Acta Astronaut.* 2011. V. 68. № 7–8. P. 739–746.

3. *Crucian B.E., Stowe R.P., Pierson D.L., Sams C.F.* Immune system dysregulation following short- vs long-duration spaceflight // *Aviat. Space Environ. Med.* 2008. V. 79. P. 835–843.

4. *Crucian B.E., Choukèr A., Simpson R.J. et al.* Immune system dysregulation during spaceflight: potential countermeasures for deep space exploration missions // *Front. Immunol.* 2018. V. 9. Art. 1437.

5. *Morukov B.V., Rykova M.P., Antropova E.N. et al.* Immunological aspects of a space flight to Mars // *Hum. Physiol.* 2013. V. 39. № 2. P. 126–135.

6. *Ponomarev S.A., Kutko O.V., Rykova M.P. et al.* Changes in the cellular component of the human innate immunity system in short-term isolation // *Acta Astronaut.* 2020. V. 166. P. 89–92.

7. *Liu K., Nussenzweig M.C.* Origin and development of dendritic cells // *Immunol. Rev.* 2010. V. 234. № 1. P. 45–54.

8. *Tai Y., Wang Q., Korner H., Zhang L., Wei W.* Molecular mechanisms of T-cells activation by dendritic cells in autoimmune diseases // *Front. Pharmacol.* 2018. V. 9. Art. 642.

9. *Greaves P., Gribben J.G.* The role of B-7 family molecules in hematologic malignancy // *Blood.* 2013. V. 121. № 5. P. 734–744.

10. *Collins M., Ling V., Carreno B.M.* The B-7 family of immune-regulatory ligands // *Genome Biol.* 2005. V. 6. № 6. Art. 223.

11. *Sansom D.M., Manzotti C.N., Zheng Y.* What's the difference between CD80 and CD86? // *Trends in Immunol.* 2003. V. 24. № 6. P. 313–318.

12. *Goriely S., Goldman M.* Interleukin-12 family members and the balance between rejection and tolerance // *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2008. V. 13. № 1. P. 4–9.

13. *Blanco P., Palucka A.K., Pascual V., Banchereau J.* Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008. V. 19. № 1. P. 41–52.

14. *Чурина Е.Г.* Факторы иммуносупрессии при различных патологиях // *Бюл. сибирской медицины.* 2011. Т. 10. № 4. С. 103–111.

Churina Ye.G. Immunosuppression factors under various pathologies // *Byulleten' sibirskoy meditsiny.* 2011. V. 10. № 4. P. 103–111.

15. *Walker L.S.K., Sansom D.M.* Confusing signals: Recent progress in CTLA-4 biology // *Trends Immunol.* 2015. V. 36. № 2. P. 63–70.

16. *Lanzavecchia A., Sallusto F.* Understanding the generation and function of memory T-cell subsets // *Curr. Opin. Immunol.* 2005. V. 17. № 3. P. 326–332.

17. *Юрова К.А., Хазиахматова О.Г., Тодосенко Н.М., Литвинова Л.С.* Эффекты γ -цитокинов (IL-2, IL-7 и IL-15) на созревание и дифференцировку CD45RO⁺CD4⁺/CD8⁺-лимфоцитов in vitro // *Мед. иммунология.* 2018. Т. 20. № 1. С. 45–52.

Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Todosenko N.M., Litvinova L.S. Effects of γ -cytokines (IL-2, IL-7 and IL-15) upon in vitro maturation and differentiation of CD45RO⁺CD4⁺/CD8⁺T cells // *Meditinskaya immunologiya.* 2018. V. 20. № 1. P. 45–52.

18. *Кудрявцев И.В.* Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки // *Рос. иммунол. журнал.* 2014. Т. 8. № 4. С. 947–964.

Kudryavtsev I.V. Memory T-cells: major populations and stages of differentiation // *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal.* 2014. V. 8. № 4. P. 947–964.

19. *Tuzlak S., Dejean A.S., Iannacone M. et al.* Repositioning TH-cell polarization from single cytokines to complex help // *Nat. Immunol.* 2021. V. 22. № 10. P. 1210–1217.

20. *Zhu J., Yamane H., Paul W.E.* Differentiation of effector CD4 T0cell populations (*) // *Ann. Rev. Immunol.* 2010. V. 28. P. 445–489.

Поступила 26.02.2024

EFFECT OF LONG-TERM SPACE MISSION ON FORMATION AND DEVELOPMENT OF THE HUMAN T-CELL IMMUNITY

Kutko O.V., Rykova M.P., Antropova E.N., Shmarov V.A., Zhirova E.A, Orlova K.D., Sadova A.A., Vlasova D.D., Shulguina S.M., Lysenko E.A., Utkin K.V., Ponomarev S.A.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

The authors present the results of studying the processes involved in maturation of dendritic cells (DCs) derived from CD14⁺-monocytes and TCR-activation of peripheral blood lymphocytes from 9 ISS Russian crew members.

It was demonstrated that long-term habitation on low Earth's orbits brings about disorders both in DCs and T-lymphocytes evidenced by reductions in mature DCs expressing the B7 family of co-stimulating molecules and also T-lymphocytes expressing the molecules of positive CD28 co-stimulation. The investigation found an increased number of tolerogenic DCs with the CD80⁺CD86⁻ immunophenotype and T-cells expressing the negative co-stimulation molecules CD152. TCR-stimulation of lymphocytes in vitro enabled detection of changes in the processes of associated with T-lymphocyte differentiation and synthesis of cytokines. The immune system reaction to prolonged exposure to the aggregate of spaceflight factors was distinctively individual.

Key words: dendritic cells, T-lymphocytes, immune synapses, co-stimulation molecules.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 12–21.

УДК 613.693:159.9

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТИПОВ ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ ОПЕРАТОРОВ ПРИ МНОГОКРАТНОМ ВЫПОЛНЕНИИ МЕТОДИКИ «ГОМЕОСТАТ»

Еськов К.Н.

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

E-mail: eskov@imbp.ru

Проведено исследование связи между индивидуальными особенностями инструментального поведения операторов и успешностью групповой взаимосвязанной деятельности по методике «Гомеостат».

Ранее было установлено, что при рассмотрении успешности решения гомеостатических задач моторно-активные действия имеют преимущество перед моторно-неактивными, а явно эксцентричные действия (особенно если они моторно-неактивные) не способствуют получению хороших результатов. Были выявлены типы инструментального поведения, которые являются наиболее и наименее эффективными.

Успешному решению гомеостатических задач могли способствовать или препятствовать определенные инструментальные действия операторов при переходе от одной задачи к другой. При проведении исследования все возможные комбинации разделялись на операционно-позитивные, операционно-негативные и операционно-неопределенные. Присутствие в гомеостатических группах операционно-позитивных операторов чаще сопровождало высокой, нежели низкой результативности работы. В то же время присутствие операционно-негативных операторов в гомеостатических группах чаще сопровождало низкой, нежели высокой, результативности деятельности.

Полученные результаты подтверждают наличие связи между индивидуальными особенностями операционного поведения участников группы и успешностью их совместной деятельности. Однако для того чтобы эта связь проявилась, необходимо, чтобы в составе группы численно доминировали либо операционно-позитивные операторы, либо операционно-негативные операторы.

Ключевые слова: групповая взаимозависимая деятельность, методика «Гомеостат», индивидуальные стили инструментального поведения, комбинации типов инструментального поведения, результативность деятельности.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 22–27.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-22-27

Одним из важнейших требований к экипажам пилотируемых космических объектов является способность успешно выполнять групповую взаимозависимую деятельность в сложных условиях

полета. Для выявления такой способности во 2-й половине XX века специалистами нашей страны под руководством Ф.Д. Горбова была создана методика «Гомеостат» [1]. «Гомеостат» Горбова представляет собой сложную биотехническую систему, близкую к «Homeostat» W.R. Ashby [2], в работе которой используются люди-операторы. Аппаратно-программный комплекс «Гомеостат» включает в себя ноутбук, сетевой контроллер и 4 индивидуальных пульта. На пульте расположены: индикаторная линейка (ИЛ) и ручка управления (РУ). Манипулируя РУ на индивидуальном пульте, группа лиц, состоящая из 3 или 4 человек, решает единую операторскую задачу. В процессе ее решения каждый оператор, действуя самостоятельно, оказывает влияние на деятельность партнеров. Задача заключается в том, чтобы привести ИЛ в нулевое положение. Общая задача считается решенной в момент достижения нулевого положения ИЛ одновременно у всех операторов.

Многолетнее использование методики «Гомеостат» в исследовательской практике позволило нам разработать классификацию индивидуальных стилей инструментального поведения, демонстрируемых операторами в процессе выполнения этой методики. Индивидуальный стиль операторской деятельности складывается из своеобразных черт, отраженных в особенностях инструментального поведения, таких как моторная активность (доля времени решения гомеостатической задачи, затраченная оператором на манипулирование РУ) и эксцентрическая активность (доля времени моторной активности оператора, затраченная на действия РУ, совершаемые вопреки инструкции по выполнению методики).

В рамках разработанной классификации были сформированы 6 групп (I–VI), соответствующие 6 стилям, или типам, инструментального поведения. Словесно-описательные характеристики этих типов формировались на основе экспертных представлений, опирающихся на многолетний опыт работы с методикой «Гомеостат». В настоящее время классификация типов инструментального поведения выглядит так: I тип – явно эксцентричный,

моторно-неактивный; II тип – явно эксцентричный, моторно-активный; III тип – неочевидно эксцентричный, моторно-неактивный; IV тип – неочевидно эксцентричный, моторно-активный; V тип – неэксцентричный (педантично следующий инструкции, или, короче, педант), моторно-неактивный; VI тип – неэксцентричный (педант), моторно-активный. Понятие «эксцентричный» отражает тенденцию оператора перемещать ИЛ не к центру шкалы, а к ее периферии, а понятие «моторно-активный» означает стремление оператора к активному вращению РУ.

Мы предположили, что в процессе выполнения методики «Гомеостат», переходя от одной задачи к другой, операторы (возможно, не все, а только некоторые) изменяют тип инструментального поведения.

Цель работы – изучение индивидуальной изменчивости типа инструментального поведения в процессе многократного выполнения методики «Гомеостат». Мы хотели получить ответы на следующие вопросы:

1. Как выглядят конкретные варианты перехода инструментального поведения от одного типа к другому?

2. Существуют ли операторы, сохраняющие стабильный (постоянный, неизменный) тип инструментального поведения в процессе многократного решения гомеостатических задач?

3. Могут ли типологические особенности инструментального поведения, сопровождающие переходы от одной задачи к другой, отражаться в результатах групповой деятельности?

Методика

Мы исходили из того, что оператор демонстрирует единичный факт постоянства типа инструментального поведения, если при решении следующей задачи сохраняет предыдущий тип поведения. Если же тип поведения от предыдущей к последующей задаче меняется, то тем самым демонстрируется факт изменения типа инструментального поведения.

Всего возможных комбинаций 2 типов, отмеченных при последовательном решении 2 задач, насчитывается 36 (I → I, I → II, I → III, I → IV, I → V, I → VI, II → I, II → II, II → III, II → IV, II → V, II → VI, III → I, III → II, III → III, III → IV, III → V, III → VI, IV → I, IV → II, IV → III, IV → IV, IV → V, IV → VI, V → I, V → II, V → III, V → IV, V → V, V → VI, VI → I, VI → II, VI → III, VI → IV, VI → V и VI → VI). Из них вариантов, когда последующий тип повторяет предыдущий (такие комбинации можно условно называть «сохранными»), существует всего 6 (I → I, II → II, III → III, IV → IV, V → V и VI → VI). Таким образом, вариантов перехода к новому типу инструментального поведения («переменных» комбинаций)

теоретически можно насчитать 30 (I → II, I → III, I → IV, I → V, I → VI, II → I, II → III, II → IV, II → V, II → VI, III → I, III → II, III → IV, III → V, III → VI, IV → I, IV → II, IV → III, IV → V, IV → VI, V → I, V → II, V → III, V → IV, V → V, VI → I, VI → II, VI → III, VI → IV и VI → V).

В исследовании использовались данные 55 испытуемых мужчин (возраст от 27 до 43 лет) участников 13 экспериментов с частичной или полной изоляцией от внешнего мира, выполнявших методику «Гомеостат» до и после изоляции, а в отдельных экспериментах, кроме того, и в период изоляции. Каждый испытуемый в составе групп из 3 или 4 человек решал от 4 до 20 гомеостатических задач. Общее количество предъявленных задач более 500.

При обработке полученных результатов использовалась программа Excel 2010.

Была проведена частотная оценка изменчивости типов инструментального поведения для каждого из 55 операторов. Например, если оператор участвовал в решении 11 инструментальных задач и при этом из 10 возможных вариантов комбинации 2 типов оказалось 7 «переменных» и 3 «сохранных», то частотная характеристика изменчивости оценивалась в 70 %.

Результаты и обсуждение

На основе индивидуальных данных нами были сформированы 3 диапазона частотных характеристик изменчивости: диапазон высокой частоты изменчивости – от 71 до 100 % (данную изменчивость демонстрировали 9 операторов); диапазон средней частоты изменчивости – от 29 до 64,3 % (43 оператора); диапазон низкой частоты изменчивости – от 7,7 до 14,3 % (3 оператора).

Таким образом, изменчивость типов инструментального поведения была отмечена у всех без исключения испытуемых, но у одних изменения регистрировались чаще, у других – реже, причем эта разница могла быть очень заметной.

Ранее [3] установлено, что с точки зрения успешности решения гомеостатических задач: 1) моторно-активные действия имеют преимущество перед моторно-неактивными и 2) явно эксцентричные действия (в особенности если они моторно-неактивные) не способствуют получению хороших результатов. Позже [4] мы выяснили, что с той же точки зрения IV и VI типы являются наиболее эффективными, а III и V типы – наименее эффективными. Учитывая всё это, мы предположили, что успешному решению гомеостатических задач могут способствовать:

- а) переход от моторно-неактивных действий к моторно-активным;
- б) сохранность (повторное воспроизведение) моторно-активных действий;
- в) уход от явно эксцентричных действий.

Этим условиям соответствовали такие комбинации типов:

I → IV, II → IV, III → IV, V → IV;
I → VI, II → VI, III → VI, V → VI;
IV → IV, VI → VI, IV → VI, VI → IV.

Эти комбинации нами были названы операционно-позитивными.

Вместе с тем мы предположили, что успешному решению гомеостатических задач могут препятствовать:

а) переход от моторно-активных действий к моторно-неактивным;

б) сохранность моторно-неактивных действий;

в) накопление явно эксцентричных действий.

Этим условиям удовлетворяли следующие комбинации типов:

IV → I; IV → II; IV → III; IV → V;
VI → I; VI → II; VI → III; VI → V;
III → III; V → V; III → V; V → III.

Эти комбинации получили название операционно-негативных.

Надо отметить, что некоторые комбинации мы не смогли отнести ни к операционно-позитивным, ни к операционно-негативным. Эти комбинации были отнесены к операционно-неопределенными.

Затем у каждого оператора из всех зарегистрированных комбинаций всевозможной направленности вычленили операционно-позитивные и операционно-негативные комбинации. Количество тех и других соотносили с общим числом всех комбинаций, результаты выразили в процентах и получили процентные показатели, характеризующие представленность операционно-позитивных и операционно-негативных комбинаций в общей массе комбинаций, зарегистрированных у данного лица в процессе работы.

На основании анализа этих данных выявили 2 категории операторов. У лиц, отнесенных к 1-й категории, высокая представленность позитивных комбинаций сочеталась со сравнительно низкой представленностью негативных комбинаций. Для лиц, отнесенных ко 2-й категории, были характерны обратные взаимоотношения: высокая представленность негативных комбинаций сочеталась у них с низкой представленностью позитивных комбинаций (табл. 1, 2). Можно сказать, что операторы 1-й категории работали скорее в позитивном, нежели в негативном ключе, а операторы 2-й категории не столько в позитивном, сколько в негативном ключе. При этом у операторов, не включенных ни в одну из категорий, операционно-позитивные и операционно-негативные действия в количественном отношении были более или менее сбалансированными.

На следующем этапе анализа мы перешли от индивидуальных к групповым оценкам. Вначале рассмотрели группы в составе 3 человек и определили те из них, в состав которых входил 1 оператор 1-й категории (операционно-позитивный оператор

– ОП) и 2 оператора, не причастные ни к одной из категорий («неопределенные» операторы – Н). Таких групп оказалось всего 2. Далее выделили группы с участием 2 ОП-операторов и 1 Н-оператора. Таких групп тоже оказалось 2. Нашлась 1 группа в составе 3 ОП-операторов. Затем определили аналогичные группы, в составе которых работали операционно-негативные операторы (ОН-операторы) и их «неопределенные» партнеры (Н-операторы). После этого точно такая же работа была проведена с группами из 4 человек.

Совокупность полученных результатов представлена в табл. 3. В этой таблице перечислены все отобранные группы (всего их 18), и каждая из них оценена по результатам деятельности. Видно, что эти результаты отмечены большими межгрупповыми различиями.

Данные, приведенные в табл. 3, потребовали дальнейшей обработки.

Прежде всего распределили табличные показатели результативности ПР – процентного отношения количества решенных в каждом сеансе задач к общему числу предъявленных в соответствующем сеансе задач – по 3 рубрикам: 1 – низкие значения ПР (0–26 %); 2 – средние значения ПР (40–60 %); 3 – высокие значения ПР (64–82 %). В рамках каждой рубрики показатели ПР соотносили с соответствующими им гомеостатическими группами и затем подсчитали суммарное количество операторов каждого из 3 профилей, входящих в данную рубрику. Результаты представлены в табл. 4.

Видно, что в рубрике с низкими значениями ПР количество ОП-операторов было в 2 раза меньше, а ОН-операторов – в 2 раза больше, чем в рубрике с высокими значениями ПР (при этом общая численность операторов, входящих в ту и другую рубрику, была одинаковой). Это значит, что присутствие в гомеостатических группах ОП-операторов чаще сопутствовало высокой, нежели низкой результативности работы. В то же время присутствие ОН-операторов в гомеостатических группах чаще сопутствовало низкой, нежели высокой результативности деятельности.

Эти результаты подтверждают наличие связи между индивидуальными особенностями операционного поведения участников группы и успешностью их совместной деятельности. Судя по данным табл. 3, для того чтобы эта связь проявилась, необходимо, чтобы в составе группы численно доминировали либо ОП-операторы (№ 1–4), либо ОН-операторы (№ 14–17).

Полученные данные вносят вклад в разработку подходов к комплектованию эффективных рабочих групп, предназначенных для совместного выполнения взаимосвязанной деятельности, что имеет особое значение при работе в напряженных и экстремальных условиях [5].

Таблица 1

**Представленность операционно-позитивных и операционно-негативных комбинаций
(в % к общему числу зарегистрированных комбинаций) у лиц 1-й категории**

Операторы (идентификационные номера)	Комбинации	
	операционно-позитивные	операционно-негативные
1	80	13
2	72	19
3	76	20
4	69	20
5	66	34
6	88	12
7	85	5
8	71	21

Таблица 2

**Представленность операционно-позитивных и операционно-негативных комбинаций
(в % к общему числу зарегистрированных комбинаций) у лиц 2-й категории**

Операторы (идентификационные номера)	Инструментальные действия	
	операционно-позитивные	операционно-негативные
11	0	80
12	0	62
13	0	100
14	6	94
15	5	67
16	3	94
17	13	87
18	21	71
19	7	93
20	0	93
21	14	81
22	7	93
23	0	100
24	0	73
25	0	94

Таблица 3

Результативность решения гомеостатических задач в группах разного состава, в %

№ п/п	Состав группы	ПР
1	1 ОП + 2 Н	40
2	1 ОП + 2 Н	20
3	2 ОП + 1 Н	82
4	2 ОП + 1 Н	70
5	3 ОП	60
6	1 ОН + 2 Н	75
7	1 ОН + 2 Н	50
8	1 ОН + 2Н	25
9	2 ОН + 1 Н	67
10	3 Н	64
11	3 Н	75
12	3 Н	50
13	3 Н	50
14	2 ОН + 2 Н	26
15	2 ОН + 2 Н	44
16	3 ОН + 1 Н	40
17	3 ОН + 1 Н	0
18	1 ОП + 3 Н	25

Примечание. Суммарное количество операторов (59) превышает число номинальных участников исследования (55), некоторые операторы работали в составе 2–3 разных групп.

Таблица 4

Количественное распределение операторов различного профиля в рубриках с низкими (1), средними (2) и высокими (3) значениями ПР

Операторы	Рубрики								
	1			2			3		
Профили операторов	ОП	ОН	Н	ОП	ОН	Н	ОП	ОН	Н
Количество операторов	2	6	10	4	6	23	4	3	11

Выводы

1. В процессе решения гомеостатических задач изменчивость типов инструментального поведения была отмечена у всех без исключения операторов.

2. Полученные результаты подтверждают наличие связи между индивидуальными особенностями инструментального поведения операторов и успешностью групповой взаимосвязанной деятельности по методике «Гомеостат».

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РАН FMFR-2024-0034.

Список литературы

1. Цибулевский И.Е., Горбов Ф.Д., Новиков М.А. и др. Устройство для регистрации динамики деятельности // Описание изобретения к авторскому свидетельству. 167002. Опубликовано 12.XII. 1964 г. Бюллетень № 24. [Электронный ресурс]. URL: <http://patents.su/3-167002-ustrojstvo-dlya-registracii-dinamr-p-glti-9-t-1-zh-p-kibamp-l-a.html>.

Tsibulevskiy I.E., Gorbov F.D., Novikov M.A. et al. Device for recording activity dynamics // Description of the invention to the copyright certificate. 167002. Published 12.XII. 1964. Bulletin № 24. [Electronic resource]. URL: <http://patents.su/3-167002-ustrojstvo-dlya-registracii-dinamr-p-glti-9-t-1-zh-p-kibamp-l-a.html>.

2. Эшби У.Р. Конструкция мозга. М., 1962.

Ashby W.R. Design for a brain. Moscow, 1962.

3. Еськов К.Н. Взаимосвязанная операторская деятельность изолированной малой группы: Дис. ... канд. биол. наук. М., 2019.

Eskov K.N. Interconnected operator activities of an isolated small group: Dissertatsiya ... kandidata biologicheskikh nauk. Moscow, 2019.

4. Еськов К.Н. Типы инструментального поведения и результаты взаимозависимой операторской деятельности // Технологии живых систем. 2022. Т. 19. № 1. С. 56–62.

Eskov K.N. Types of Instrumental behavior and results of interdependent operator activities // Tekhnologii zhivyykh sistem. 2022. V. 19. № 1. P. 56–62.

5. Сарычев С.В. Социально-психологическое исследование надежности малых групп в напряженных и экстремальных условиях // Социальная психология и общество. 2011. № 2. С. 5–16.

Sarychev S.V. Socio-psychological study of the reliability of small groups in stressful and extreme conditions // Sotsial'naya psikhologiya i obshchestvo. 2011. № 2. P. 5–16.

Поступила 19.09.2023

VARIABILITY OF THE STYLE OF INSTRUMENTAL BEHAVIOR OF OPERATORS DURING REPEATED IMPLEMENTATION OF PROCEDURE «HOMEOSTAT»

Eskov K.N.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

We investigated the relationship between the personal instrumental behavior of operators and success of group work on the «Homeostat» procedure.

Previously it has been stated that analysis of the efficiency of homeostatic task performance concentrates predominantly on the motor-active activities rather than motor-inactive; obviously eccentric activities, motor-inactive particularly, do not add to the success. Styles of instrumental behavior were distributed into effective and ineffective.

Success was boosted or impeded by certain instrumental activities in the process of passing from one task to another. In our investigation all possible combinations were divided into operation positive, negative and indefinite. More often than not, the presence of operation-positive members predisposed a successful task completion and, conversely, the presence of operation-negative members usually prognosticated a less successful completion.

These observations point to the relationship between styles of instrumental behavior demonstrated by group members and level of success as a task group. However, for the relationship to be evident, a group should be composed with dominance of either operation-positive or operation-negative members.

Key words: group interdependent work, «Homeostat» procedure, personal styles of instrumental behavior, combinations of instrumental behavior styles, successful task implementation.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 22–27.

УДК 612.13

ВЛИЯНИЕ СЕРИИ ВРАЩЕНИЙ НА ЦЕНТРИФУГЕ КОРОТКОГО РАДИУСА НА АНТИОРТОСТАТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ (ПО ДАННЫМ ДОПЛЕРФЛОУМЕТРИИ)

Фомина Г.А., Сальников А.В., Глебова Т.М., Колотева М.И.

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

E-mail: gafomina2011@yandex.ru

Разработка методологии применения центрифуги короткого радиуса (ЦКР) в качестве нового метода профилактики и/или коррекции ортостатических расстройств предусматривает изучение влияния разных схем вращения ЦКР на антиортостатические реакции гемодинамики.

Конечная цель исследований – создание методик применения искусственной силы тяжести (ИСТ), создаваемой с помощью ЦКР, в первую очередь на борту орбитальной космической станции, а также в интересах практического здравоохранения, безопасных для человека и эффективных для решения конкретных задач.

В данной работе, с использованием метода доплерфлоуметрии, проведено исследование реакции гемодинамики на воздействие продольных перегрузок (+Gz) на ЦКР в течение серии из 5 вращений, применялась измененная (сокращенная) по отношению к предыдущим исследованиям схема.

Показано, что сокращение времени вращения до 45 мин (вместо 60 мин в эксперименте 2022 г.) положительно сказалось на общей переносимости воздействия без снижения его эффективности. Установлено, что серия из 5 вращений по укороченной схеме, с чередующимися величинами перегрузок +1,27 и +2,06 Gz оказывала стимулирующее действие на антиортостатические реакции периферической артериальной гемодинамики, что подтверждено как сравнением результатов 1-го и 5-го вращений на ЦКР, так и результатами контрольных пассивных постральных проб. Есть основание полагать, что для решения конкретных задач в дальнейшем может потребоваться разработка разных схем вращений.

Ключевые слова: невесомость, центрифуга короткого радиуса, гемодинамика, ортостатическая устойчивость.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 28–34.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-28-34

Идея об использовании искусственной силы тяжести (ИСТ) для профилактики изменений, вызванных отсутствием в космических полетах (КП) гравитационной нагрузки, в последнее время приобретает все большую популярность. В первую очередь речь идет о профилактике ортостатических расстройств, которые до сих пор остаются

неизбежным последствием пребывания человека в условиях невесомости. Для создания ИСТ наиболее реализуемым способом представляется применение центрифуги короткого радиуса (ЦКР).

Разработка методологии использования ЦКР в качестве метода борьбы с ортостатическими расстройствами активно ведется в ИМБП, где имеется собственный стенд ЦКР. Работа выполняется поэтапно, и на текущий момент однозначно решен только один вопрос – направление действия центробежной силы вдоль оси тела от головы к ногам (+Gz). Другие параметры – положение человека на ЦКР относительно центра вращения, постоянная либо изменяющаяся скорость вращения ЦКР, величина перегрузок, длительность их воздействия в одном сеансе вращения, количество сеансов в одной серии, интервалы между сеансами и между сериями подлежат определению и/или уточнению в экспериментальных условиях [1, 2]. Конечной целью исследований должно стать создание методик применения искусственной силы тяжести (ИСТ), создаваемой с помощью ЦКР, в первую очередь на борту орбитальной космической станции, а также в интересах практического здравоохранения, безопасных для человека и эффективных для решения конкретных задач.

Реакция гемодинамики человека на положение тела, в котором ось тела совпадает с вектором гравитации (так называемое ортостатическое положение) известна и описана в источниках литературы [3, 4].

В норме после принятия вертикального положения наблюдается быстрое перемещение 0,5–1 л крови и ее депонирование в нижней половине тела. В ответ на уменьшение венозного возврата к сердцу запускается каскад барорефлексов, которые снижают тонус блуждающего нерва и повышают активность симпатических волокон. В результате происходит констрикция сосудов кожи, мышц и внутренних органов для стабилизации гемодинамики и запускается еще один механизм поддержания ортостаза – увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС). Это способствует притоку крови к жизненно

важным органам и уменьшает депонирование крови в нижней половине тела. В течение следующих 3–5 мин в работу включается ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), которая участвует в позднем этапе регулирования ортостатического баланса.

Классические симптомы ортостатической неустойчивости: слабость, бледность, головокружение, холодный пот, тахикардия, переходящая в брадикардию, потемнение в глазах, в тяжелых случаях – обморок, по сути, проявления гипоперфузии головного мозга.

При депонировании части крови в сосудах нижней половины тела уменьшенный объем циркулирующей крови распределяется за счет изменения сосудистого тонуса таким образом, чтобы жизненно важные органы (мозг, сердце, легкие, почки) получали достаточное количество крови, а кровоснабжение менее «актуальных» в данный момент областей (например, мышц нижних конечностей) – уменьшилось. Антиортостатическое распределение тонуса на Земле постоянно стимулируется воздействием гравитации. Пребывание в невесомости приводит к детренированности этих механизмов.

Вращение на ЦКР вызывает перемещение крови в нижнюю половину тела за счет центробежной силы, имитируя воздействие гравитации, активирует реакции, препятствующие развитию ортостатических расстройств.

В 2022 г. нами была выполнена серия исследований реакции гемодинамики человека на продольные перегрузки при вращениях на ЦКР [5]. Анализируя результаты той серии, мы учитывали, что испытуемыми были здоровые люди активного возраста (30–45 лет), ведущие обычный образ жизни в условиях земной гравитации, т. е. не имеющие никаких предпосылок для развития ортостатических расстройств. Между тем разрабатываемая методология предусматривает использование ЦКР для поддержания, профилактики ухудшения либо восстановления ортостатической устойчивости (ОУ) у людей, подвергающихся факторам, снижающим ОУ, в частности невесомости. Именно поэтому тенденция к развитию усталости мышц в конце сеанса вращения и ослаблению гемодинамической реакции на перемещение крови в нижнюю половину тела побудила нас изменить схему вращения, уменьшив его длительность. При этом необходимо было оценить, сохраняется ли эффективность воздействия при уменьшении времени действия перегрузок.

Поскольку из 6 добровольцев-испытуемых, участвовавших в серии 2022 г., 4 приняли участие и в серии 2023 г., нам представилась также возможность сравнить реакцию гемодинамики в обеих сериях не только в целом по группе, но и у одних и тех же лиц с целью выявления возможных индивидуальных особенностей.

Цель исследований: методом доплерфлоуметрии определить реакцию гемодинамики при воздействии продольных перегрузок (+Gz) на ЦКР в серии из 5 вращений.

В задачи исследований входило:

- апробировать укороченную (длительностью 45 мин) схему интервального режима воздействия продольных перегрузок на ЦКР и убедиться, что сокращение длительности вращения не приводит к уменьшению реакции гемодинамики на воздействие;

- определить изменения реакции гемодинамики на перегрузки +Gz в течение 1 сеанса вращения длительностью 45 мин и на протяжении серии из 5 сеансов;

- выявить индивидуальные особенности реакции гемодинамики на продольные перегрузки на ЦКР (если таковые имеются) путем сравнения результатов 2 серий исследований на ЦКР (2022 и 2023 г.) у одних и тех же испытуемых.

Методика

Применялась схема вращения на ЦКР с интервальными, чередующимися по величине перегрузками 1,27 и 2,06 G на уровне стоп. Гравитационный градиент (ΔG) = 74,5 % (голова испытуемого находилась на расстоянии 60 см от оси вращения). Скорость разгона ЦКР с градиентом нарастания 0,01 G/c до перегрузки 1,27 ед. (на уровне стоп, с учетом земной гравитации), далее площадка с постоянной скоростью вращения длительностью 5 мин. Затем повторяющийся цикл: разгон ЦКР с градиентом нарастания 0,01 G/c до перегрузки 2,06 ед., площадка 5 мин, торможение ЦКР с градиентом уменьшения 0,01 G/c до перегрузки 1,27 G, площадка длительностью 5 мин. В 1 сеансе цикл повторялся 3 раза. Окончательное торможение ЦКР выполнялось с градиентом уменьшения 0,01 G/c. Общее время воздействия – 45 мин. Схема вращения приведена на рис. 1.

Вращения выполнялись с интервалом в 2 сут, каждый испытуемый участвовал в 5 вращениях. Между исследованиями все обследуемые вели обычный образ жизни. Всего в серии 2023 г. было проанализировано 30 вращений.

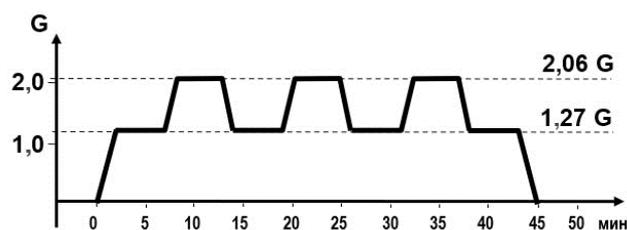


Рис. 1. Профиль перегрузок на ЦКР во время вращения

До начала вращений и после завершения серии была выполнена контрольная пассивная постральная проба с 15-минутным пребыванием в положении, близком к вертикальному (+70°).

В исследованиях приняли участие 6 добровольцев-мужчин в возрасте от 27 до 46 лет (средний возраст $37,8 \pm 3,06$ года). Рост испытуемых – от 1,72 до 1,84 м ($1,78 \pm 0,02$ м); масса тела – от 69 до 81 кг ($77,33 \pm 1,91$ кг). Четыре человека из группы принимали участие в предыдущей серии исследований (в 2022 г.).

Все испытуемые подписали добровольное Информированное согласие на участие в эксперименте. Программа исследований была одобрена Комиссией по биоэтике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 647 от 21.09.2023 г.).

До, во время и после вращения с помощью аппаратуры «Мед-ЦФ» осуществлялся медицинский контроль состояния испытуемых: постоянно регистрировалась ЭКГ в 5 отведениях (3 отведения по Нэбу и 2 однополюсных отведения, V1 и V5); систолическое (АДс) и диастолическое (АДд) артериальное давление на плечевой артерии по методу Короткова с цифровой индикацией значений; систолическое давление в сосудах мочки уха – сфигмограмма сосудов мочки уха (СФГу) с расчетом и цифровой индикацией процентного отношения текущей амплитуды осцилляции СФГу к начальной (АСФГ).

Для исследования периферического кровотока использовался прибор DOPPLER, входящий в комплекс медицинской аппаратуры CARDIOMED (CNES, Франция), оснащенный плоскими доплеровскими датчиками, работающими в импульсно-когерентном режиме, и снабженными системами крепления, позволяющими сохранять неизменное положение датчика в процессе динамического воздействия. Запись велась непрерывно: до, во время и после завершения сеанса вращения. Обработке подвергались все зарегистрированные комплексы (2500–3000 сердечных сокращений за 1 вращение). Реакция гемодинамики на воздействие продольных перегрузок на ЦКР оценивалась по изменениям кровотока в 2 противоположно расположенных областях – средней мозговой (СМА) и бедренной артерий (БА) [6]. Обработка первичных данных (спектров доплеровских сигналов) выполнялась с применением программы PhysioPost (CNES, Франция). Кровоток по БА и СМА (Q_f и Q_c соответственно) определялся как интеграл (площадь под огибающей) доплеровского спектра соответствующего сосуда. Программа определяла также систолическую и диастолическую амплитуду спектров кровотока и время систолического пика кровотока. Данные первичной обработки экспортировались в программу Excel. При дальнейшей обработке вычислялись индексы резистентности для артерий высокого (БА, R_f) и низкого (СМА, R_c) сопротивления по формулам

$$R_f = \text{Адиаст} / \text{Асист};$$

$$R_c = (\text{Асист} - \text{Адиаст}) / \text{Асист},$$

где Асист и Адиаст – амплитуда спектра кровотока соответствующей артерии в систолу и диастолу. Вычислялось также соотношение кровотока МА и БА (индекс распределения кровотока Q_c/Q_f).

Статистическая обработка данных выполнялась методами вариационной статистики для малых выборок. Изменения считались достоверными при вероятности ошибки менее 5 % ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Изменения ЧСС на всем протяжении вращения на ЦКР представлены на рис. 2.

В состоянии покоя перед вращением минимальные зарегистрированные значения ЧСС равнялись 45 уд./мин, максимальные – 79 уд./мин (средние данные по группе – $60,98 \pm 3,52$ уд./мин).

Весьма существенный разброс по величинам ЧСС означал, что в группе из 6 человек были испытуемые с так называемым спортивным типом гемодинамики, для которого в состоянии покоя характерны относительная брадикардия, большой конечно-диастолический объем (КДО) левого желудочка, относительно невысокие величины ударного выброса (УВ) и фракции выброса (ФВ). Типичная реакция на нагрузку (в том числе ортостатическую) в этом случае – увеличение минутного объема кровообращения (МОК) главным образом за счет повышения УВ, так как имеется большой резерв по КДО и ФВ. ЧСС в таких случаях растет весьма умеренно (+25–30 % по сравнению с состоянием покоя). Венозный возврат в случае необходимости может повышаться за счет глубокого дыхания. Такая реакция наблюдалась у 3 из 6 испытуемых.

У 1 из участников эксперимента при исходной ЧСС 70–75 уд./мин на площадках с величиной перегрузки 2,06 G пульс повышался до 105–110 уд./мин (+50–55 % к фону), т. е. реакция шла по симпатическому типу, стабильность кровоснабжения жизненно важных областей обеспечивалась главным образом за счет повышения ЧСС и увеличения венозного возврата за счет глубокого дыхания (присасывающего действия грудной клетки). Отмечена значительная дыхательная аритмия: ЧСС и объемный кровоток в исследуемых сосудах существенно изменялись в соответствии с фазами дыхательного цикла.

У 2 испытуемых реакция представляла собой среднее между 2 вышеописанными вариантами.

Сравнение данных первой (2022) и второй (2023) серий исследований показало, что у каждого из 4 испытуемых, принимавших участие в обеих сериях, индивидуальные особенности гемодинамической реакции на перегрузки +Gz (выраженность

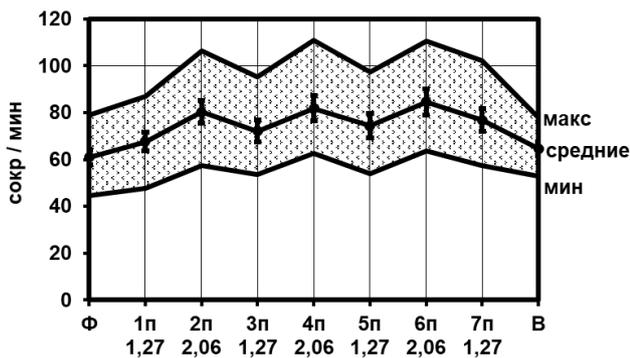


Рис. 2. Изменения частоты сердечных сокращений во время вращений на ЦКР: максимальные (макс), минимальные (мин) и средние значения по группе

изменений ЧСС и параметров периферической артериальной гемодинамики) проявились и в 1-й, и во 2-й серии. По-видимому, если на человека не воздействуют факторы, провоцирующие изменения ОУ, индивидуальные особенности гемодинамических реакций на ортостатическое перераспределение крови или его имитацию являются некой постоянной характеристикой для каждого человека.

Разумеется, при столь малом числе испытуемых делить их на «группы» и «типы реакций» было бы не совсем корректно. Пока мы рассматриваем это как «наблюдения». Тем не менее вполне вероятно, что по мере увеличения числа наблюдений можно будет выделить различные типы реакций.

Отмечены следующие типичные проявления реакции периферической гемодинамики на

перемещение крови в нижнюю половину тела при вращении на ЦКР:

- увеличение резистентности БА (R_f) и значительное уменьшение кровотока в этой области (Q_f);
- небольшое снижение резистентности и кровотока по МА (R_c и Q_c соответственно);
- выраженное увеличение индекса распределения кровотока (соотношения Q_c/Q_f).

Однако, поскольку исходная величина гемодинамических показателей у испытуемых существенно различалась, разброс средних величин показателей по группе был весьма значителен. Именно поэтому для каждого испытуемого мы оценивали изменения анализируемых параметров гемодинамики в процентах по отношению к их индивидуальной средней величине за 5 мин в состоянии покоя перед началом вращения на ЦКР.

В процессе вращения уменьшение индекса резистентности СМА составляло 7–10 % от исходной величины, мозговой кровоток снижался на 10–14 %. Наиболее яркими реакциями гемодинамики на воздействие перегрузок направления +Gz были повышение резистентности БА, резкое уменьшение кровотока по БА и значительное увеличение индекса распределения кровотока между СМА и БА, что и обеспечивало стабильность мозгового кровообращения. Средние данные по 6 испытуемым в 5 сеансах вращений приведены в таблице. Количество испытуемых (N) – 6, общее количество вращений (n) – 30. Из данных таблицы видно, что изменения по отношению к состоянию покоя (фону) имели высокую степень достоверности.

Таблица

Изменения параметров периферического кровотока в процессе вращения на ЦКР в среднем по группе (в % к исходному состоянию до вращения)

Цикл	Резистентность бедренной артерии (R_f)	Кровоток в бедренной артерии (Q_f)	Индекс перераспределения кровотока (Q_c/Q_f)
Фон	$0,00 \pm 0,75$	$0,00 \pm 0,96$	$0,00 \pm 3,58$
1п: 1,27 G	$6,02 \pm 1,16; p < 0,01$	$-40,26 \pm 0,90; p < 0,001$	$74,56 \pm 2,43 p < 0,001$
2п: 2,06 G	$8,90 \pm 1,53; p < 0,01$	$-61,78 \pm 2,01; p < 0,001$	$154,39 \pm 6,64; p < 0,001$
3п: 1,27 G	$4,65 \pm 1,52; p < 0,05$	$-55,09 \pm 1,25; p < 0,001$	$109,00 \pm 5,29; p < 0,001$
4п: 2,06 G	$9,80 \pm 1,25; p < 0,001$	$-65,05 \pm 1,29; p < 0,001$	$163,00 \pm 8,06; p < 0,001$
5п: 1,27 G	$4,84 \pm 1,05; p < 0,05$	$-57,48 \pm 1,30; p < 0,001$	$118,88 \pm 6,37; p < 0,001$
6п: 2,06 G	$9,87 \pm 1,30; p < 0,001$	$-66,19 \pm 1,25; p < 0,001$	$170,97 \pm 8,89; p < 0,001$
7п: 1,27 G	$3,49 \pm 1,23; p > 0,05$	$-58,79 \pm 1,73; p < 0,001$	$118,71 \pm 9,13; p < 0,001$
Восст-е	$-2,18 \pm 1,03; p > 0,05$	$-15,95 \pm 1,82; p < 0,001$	$15,83 \pm 4,15; p > 0,05$

Примечание. 1п, 2п и т.д. – площадки с постоянной скоростью вращения; восст-е – период восстановления после окончания вращения (~ 3–5 мин); вероятность ошибки (p) указана по отношению к фоновым данным.

Нас интересовала не только реакция гемодинамики при вращениях на ЦКР по отношению к фону, но и изменения этой реакции на протяжении серии из 5 вращений. На рис. 3 и 4 показаны данные по резистентности БА и индексу перераспределения кровотока в 1-м и 5-м вращениях.

В 5 вращениях у всех испытуемых изменения параметров гемодинамики были типичными для ортостатических нагрузок и имели высокую степень достоверности по отношению к фоновым данным. Однако в начале серии (1-е вращение) из-за индивидуальных особенностей гемодинамических реакций различия по величине R_f и Q_c/Q_f между «низкими» и «высокими» площадками не были статистически значимы. По мере увеличения количества вращений разброс данных уменьшался, т. е. индивидуальные особенности как бы «сглаживались», и во время 5-го вращения реакция гемодинамики в среднем по группе была более однородной. Усиление реакции гемодинамики на повышение перегрузки на ЦКР до 2,06 G стало выраженным, статистически достоверным и не ослабевало до конца вращения. Аналогичные данные были получены в ходе пассивной постральной пробы (ППП) до и после серии вращений на ЦКР (рис. 5).

На рисунке показаны средние значения индекса Q_c/Q_f у всех испытуемых в течение 5 мин в состоянии покоя лежа на спине перед пробой, с 1-й по 5-ю, с 6-й по 10-ю и с 11-й по 15-ю минуты ортостатического воздействия и в течение 5 мин восстановления после окончания ППП. Величина индекса распределения кровотока в состоянии покоя перед началом пробы принята за 100 %. По данным ППП, выполненной до начала серии вращений на ЦКР, ОУ у всех испытуемых была признана хорошей. Тем не менее можно отметить, что в этой пробе средние значения индекса распределения кровотока между СМА и БА (Q_c/Q_f) с 11-й по 15-ю минуту ортоположения были

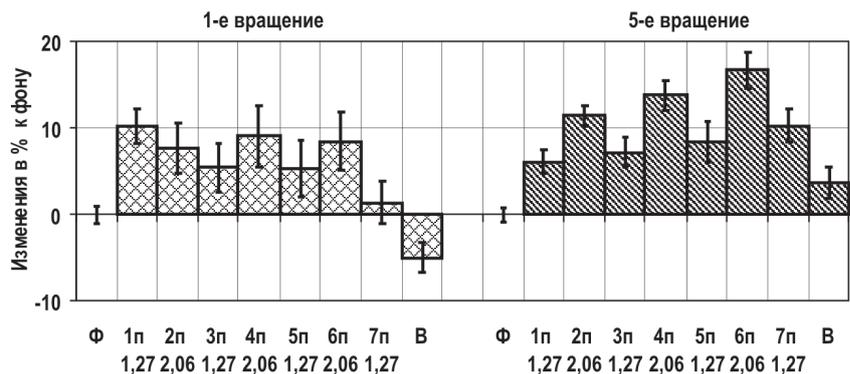


Рис. 3. Изменения индекса резистентности БА в среднем по группе в 1-м и 5-м вращениях на ЦКР (N = 6, n = 30). Здесь и на рис. 4: вероятность ошибки различия средних на площадках с низкими и высокими перегрузками в 1-м вращении $p > 0,05$, в 5-м – $p < 0,05$

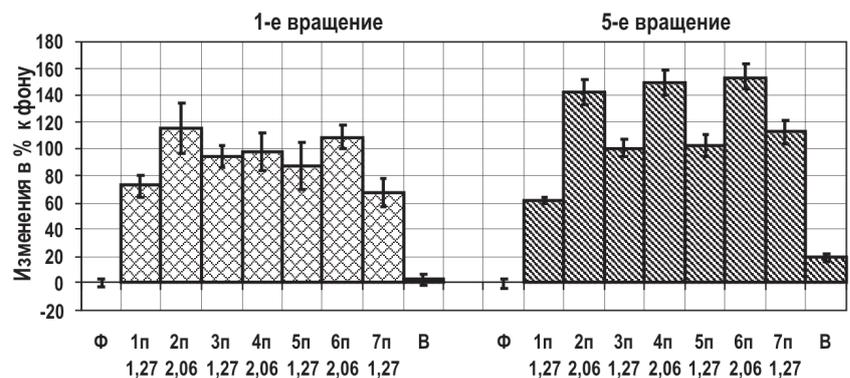


Рис. 4. Изменения индекса распределения кровотока между СМА и БА в среднем по группе в 1-м и 5-м вращениях на ЦКР (N = 6, n = 30)

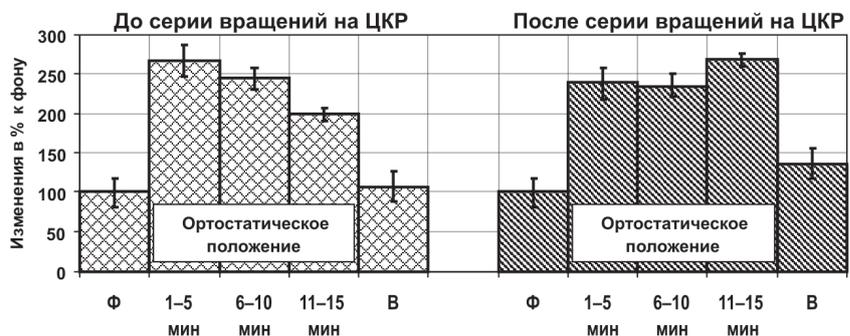


Рис. 5. Изменения индекса распределения кровотока (Q_c/Q_f) при пассивной постральной пробе до и после серии вращений на ЦКР

статистически достоверно ниже по сравнению с периодом с 1-й по 5-ю минуту ($p < 0,05$). После серии из 5 вращений на ЦКР при выполнении ППП индекс Q_c/Q_f удерживался практически на одном уровне на всем протяжении ортостатического положения испытуемых.

Поскольку все участвовавшие в эксперименте испытуемые были здоровыми людьми с хорошей ОУ, ведущими обычный образ жизни в условиях земной гравитации, преждевременно делать однозначный вывод об «улучшении» ОУ после серии вращений на ЦКР. Однако можно отметить стимулирующее действие продольных перегрузок на механизмы антиортостатических реакций гемодинамики. По-видимому, воздействие перегрузок направления $+G_z$ величиной до 2,06 G оказывало активирующее влияние на регуляцию гемодинамических реакций, противодействующих перемещению крови в нижнюю половину тела под действием гравитации и сохраняющих нормальное кровоснабжение головного мозга. Это воздействие можно условно сравнить со спортивными тренировками, задачей которых является улучшение результатов.

Выводы

1. Сокращение общего времени вращения на ЦКР до 45 мин положительно сказалось на общей переносимости воздействия без снижения его эффективности.

2. Серия из 5 вращений длительностью по 45 мин каждое оказывала стимулирующее действие на антиортостатические реакции периферической артериальной гемодинамики, что подтверждено как сравнением результатов 1-го и 5-го вращений на ЦКР, так и результатами контрольных пассивных постральных проб.

3. Сравнение данных, полученных у одних и тех же испытуемых в 1-й (2022), и во 2-й (2023) сериях вращений, показало, что индивидуальные особенности гемодинамических реакций на воздействие перегрузок направления $+G_z$ сохраняются, если на человека не оказывается внешнего воздействия, влияющего на ОУ.

4. Необходимо апробировать применение ЦКР в качестве меры профилактики ортостатических нарушений в ходе наземных экспериментов с имитацией некоторых эффектов невесомости (например, с длительной антиортостатической гипокинезией – АНОГ).

5. Возможна корректировка схем вращений в зависимости от исходной ОУ испытуемых (например, более «мягкое» начало тренировок, с уменьшением в первых вращениях длительности площадок с перегрузками 2,06 G или сокращением количества таких площадок).

Работа выполнена в рамках темы FMFR-2024-0037 Программы фундаментальных научных исследований РАН.

Список литературы

1. *Kotovskaya A.R.* The problem of artificial gravity in piloted space exploration missions // *Acta Astronaut.* 2011. V. 68. № 9–10. P. 1608–1613.

2. *Laing Ch., Green D., Mulder E. et al.* Effect of novel short-arm human centrifugation-induced gravitational gradients upon cardiovascular responses, cerebral perfusion and g-tolerance // *J. Physiol.* 2020. V. 598. № 19. P. 4237–4249.

3. *Хяютин В.М., Шендеров С.М., Захаров А.Г., Рогоза А.Н.* Ортостатическая неустойчивость кровообращения: роль детренированности резистивных сосудов // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1984. Т. 18. № 4. С. 4–12.

Khayutin V.M., Shenderov S.M., Zakharov A.G., Rogoza A.N. Orthostatic instability of blood circulation: the role of detrained resistive vessels // *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina.* 1984. V. 18. № 4. P. 4–12.

4. *Goswami N., White O., Blaber A. et al.* Human physiology adaptation to altered gravity environments // *Acta Astronaut.* 2021. V. 189. P. 216–221.

5. *Фомина Г.А., Сальников А.В., Колотева М.И. и др.* Оценка реакции периферической гемодинамики на воздействие перегрузок направления «голова – ноги» ($+G_z$) на центрифуге короткого радиуса методом доплерфлоуметрии // *Авиакосм. и экол. медицина.* 2023. Т. 57. № 2. С. 27–32.

Fomina G.A., Salnikov A.V., Koloteva M.I. et al. Evaluation of the peripheral hemodynamics reaction to g-loads in the head-to-legs direction ($+G_z$) on a short-arm centrifuge by the method of Doppler flowmetry // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2023. V. 57. № 2. P. 27–32.

6. *Arbeille Ph., Eder V., Herault S., Roumy G.* Cardiovascular echographic and Doppler parameters for the assessment of orthostatic intolerance // *Eur. J. Ultrasound.* 1998. V. 7. P. 53–71.

Поступила 20.12.2023

EFFECT OF A SERIES OF ROTATIONS ON A SHORT-ARM CENTRIFUGE ON THE ANTI-ORTHOSTATIC REACTIONS OF ARTERIAL HEMODYNAMICS IN HEALTHY HUMANS (LASER DOPPLER FLOWMETRY DATA)

Fomina G.A., Salnikov A.V., Glebova T.M., Koloteva M.I.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Methodology of using a short-arm centrifuge (SAC) as a countermeasure and/or correction of orthostatic disorders

will rely on the experimental evidence of the effects produced by various SAC protocols on the antiorthostatic reactions of hemodynamics.

The ultimate purpose of the investigations is to develop artificial gravity (AG) protocols for orbital SAC primarily, and also for the needs of healthcare services.

The paper presents the results of laser Doppler flowmetry (LDF) in a series of 5 SAC rotations (+Gz) with a modified (shortened) protocol.

Reduction of rotation to 45 min (vs 60 min in the session of 2022) was favorable to the general tolerance and did not reduce effectiveness. It was established that a series of 5

rotations with gradual duration reduction and alternating g-values (+1.27 and +2.06 Gz) had a stimulating effect on the antiorthostatic reactions of peripheral arterial hemodynamics. This fact was confirmed by comparison of the records during rotations 1 and 5, and the results of passive postural tests as a control. Conceivably, in future it will be necessary to develop a variety of protocols to meet other specific tasks.

Key words: microgravity, short-arm centrifuge, hemodynamics, orthostatic stability.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 28–34.

УДК 579.22

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ В ЗОНЕ МОДУЛЯ МИМ2 МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ ДО И ПОСЛЕ ВНЕКОРАБЕЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Дешева Е.А.¹, Фиалкина С.В.^{1,3}, Шубралова Е.В.², Смирнов Ю.И.¹

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Центральный научно-исследовательский институт машиностроения, г. Королев, Московская область

³Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва

E-mail: deshevaya@imbp.ru

В рамках космического эксперимента «Тест» проведены микробиологические исследования поверхностей скафандров до и после внекорабельной деятельности космонавтов, в результате которого определены численность, состав и биохимические свойства выделенных микроорганизмов. Выявлены зоны с превышенной численностью бактерий и грибов. Определено наличие маркеров патогенности у выделенных спорообразующих бактерий. Показано наличие особенностей кислотообразования грибов при разных уровнях углеводов.

Ключевые слова: внекорабельная деятельность, бактерии, грибы.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 35–46.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-35-46

В настоящее время на Международной космической станции (МКС) в ходе космического эксперимента (КЭ) «Тест» было показано, что микроорганизмы и структуры ДНК разных таксономических групп периодически могут обнаруживаться на внешних поверхностях МКС [1, 2]. В ходе КЭ, который заключался в том, что на стержни с ватой (без внешней защиты) наносили 3 разновидности микроорганизмов – археи, спорообразующие бактерии и грибы, было установлено, что микроорганизмы, попавшие на поверхность станции, могут достаточно долго, по крайней мере 2 года, сохранять свою жизнеспособность [3].

Полученные данные позволяют сформировать предположение, что микроорганизмы могут сохраняться при действии околообъектовой среды, сформированной около космической станции за счет в том числе утечек из внутренней среды МКС и космической пыли, которая задерживается на внешних поверхностях орбитальной станции. Нахождение в космической пыли биологических структур, имеющих активную способность к сохранению жизнеспособности, является серьезным основанием для тщательного изучения их перемещения.

Это является причиной необходимости проведения исследований возможности занесения на внешней оболочке скафандра внутрь модулей станции жизнеспособной микрофлоры из космического пространства после внекорабельной деятельности (ВКД). Не менее интересен вопрос о транспортировании спорообразующих бактерий и грибов внутренних объемов станции со скафандрами в космическое пространство при проведении ВКД. Указанные аспекты оказывают непосредственное влияние на микробиологические медицинские и технологические риски внешних поверхностей и зоны хранения скафандров.

Цель исследований – определение численности спорообразующих бактерий и грибов до и после ВКД, а также первичное определение характера их биологических свойств.

Методика

Проведение микробиологического анализа отобранных проб с внешней поверхности скафандров, а также мест их хранения до и после ВКД № 48

Космонавты осуществили отбор проб со скафандров № 4 (синий) и № 5 (красный) по схеме (рис. 1 и табл. 1). Отбор микробиологических проб до и после ВКД № 48 проводили с применением 2 комплектов «Укладки с пробирками» Хт.4.160.001 (рис. 2).

При отборе проб космонавт в соответствии с инструкцией выкручивал пробоотборник из пробирки и, поворачивая тампон, тщательно протирал исследуемую поверхность площадью 100 см². После отбора пробы космонавт вставлял пробоотборник в пробирку, закручивая ее до необходимого положения. Потом пробирку помещали в соответствующее гнездо укладки. По завершении полета пробы были доставлены в лабораторию для проведения микробиологических исследований.

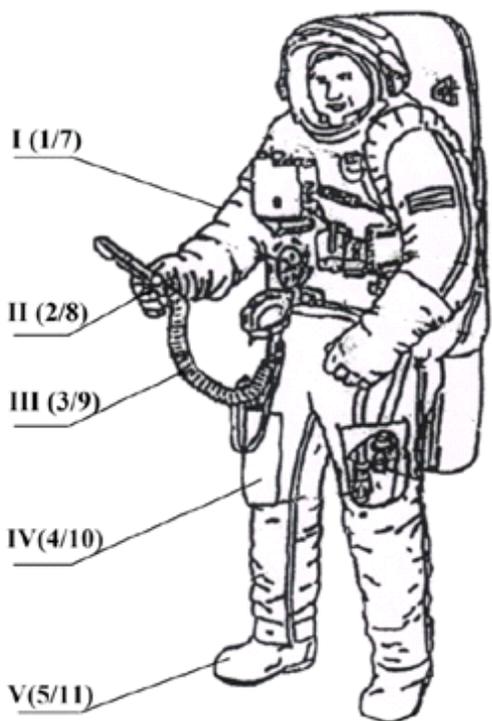


Рис. 1. Зоны отбора проб и соответствующие номера пробирок до и после ВКД



Рис. 2. Расположение и нумерация пробирок в упаковке

Проведение анализа микрофлоры на поверхностях скафандров до и после ВКД № 48

В лаборатории в асептических условиях проводился микробиологический посев проб. Для этого тампоны выкручивали из пробоотборника и помещали в 5 мл фосфатного буфера. Далее пробирки с пробами отбалтывали на вортексе (автоматическом перемешивателе) и проводили поверхностный посев на соответствующие питательные среды. Для обнаружения в пробе бактерий применяли среду ТСА – триптиказо-соевый агар (Himedia, Индия), а для грибов – картофельно-декстрозный агар (Himedia, Индия). На каждую пробу использовали не менее 5 чашек Петри каждой среды. Чашки

Петри с посевами бактерий термостатировали при 32 °С в течение 2 сут, при отсутствии роста оставляли дополнительно на 24 часа, а грибов – при температуре 28 °С в течение 5–7 сут. Затем проводили подсчет выросших колоний.

Идентификацию бактерий проводили молекулярно-генетическим методом на основе амплификации гена 16s рРНК

Экстракция ДНК. Для экстракции ДНК проводили наращивание биомассы изолированных колоний в жидкой питательной среде Лурия – Бертани LB (BD Difco, США) в течение ночи. В отдельных случаях для выделения ДНК использовали биомассу колоний, собранных с чашки Петри. Экстракция ДНК проводилась с применением набора PureLink (Thermo Fisher Scientific, США) и последующей очисткой на колонках, входящих в состав набора, согласно рекомендациям производителя.

Таблица 1

Область отбора проб

Зона	NN Пробирки		Область оболочки скафандра/объекта
	До ВКД	После ВКД	
I	1	7	Предплечье правое и область локтевого сустава
II	2	8	Пальцы и ладонь правой перчатки
III	3	9	В середине страховочного фала переменной длины
IV	4	10	Область колена правого (область кармана)
V	5	11	Носочная часть обуви (нога правая)
VI	6	12	Интерьер в зоне хранения скафандров (на усмотрение экипажа)

Использованные в работе олигонуклеотиды

№ п/п	Название праймера	Нуклеотидная последовательность 5'-3'	Размер ампликонанп	T _m	Ссылки
1	27s	AGAGTTTGATCTGGYTYAGA	1473	55 °C	[4]
2	1492a	ACGYTACCTTGTACGACTTC			
3	<i>Sph-s</i>	CAGCGTGCTGATTTAATTGG	558	50 °C	[5]
4	<i>Sph-a</i>	CAATGTTTTAAACATGGATGCG			
5	<i>entFM-s</i>	TAGCAGCAGCTTCTGTAGCTGG	581	52 °C	Данная работа
6	<i>entFM-s</i>	CGTTAGATACAGCAGAACCACC			
7	<i>nheA-s</i>	AGCGCTTACGCTAAGGAGG	499	50 °C	[5]
8	<i>nheA-a</i>	GTTTTTATTGCTTCATCGGCT			
9	<i>nheB-s</i>	TCTATCAGCACTTATGGCAG	769	50 °C	
10	<i>nheB-a</i>	GACTCCTAGCGGTGTTCCCTG			
11	<i>nheC-s</i>	AACGGTAGTGATTGCTGGG	582	50 °C	
12	<i>nheC-a</i>	CAGCATTCGTACTIONGCCAA			

Амплификация ДНК. Полимеразная цепная реакция проводилась при использовании 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 50 мМ КС1.10 мМ трис-НС1 (рН 8,4), 2,5 мМ Mg Cl₂, 0,2 мМ каждого из dАТФ, dГТФ, dТТФ, dЦТФ, по 5 пмоль каждого праймера, 1,5 U Fusion-polymerase (ThermoFisherScientific, США), с последующей очисткой на колонках, входящих в состав набора, согласно рекомендации производителя. Амплификацию ДНК проводили в соответствии со следующим режимом: первый цикл – 98 °C × 2 мин; последующие 30 циклов – 98 °C × 1 мин, 50–55 °C × 30 сек, 72 °C × 2 мин; завершающий цикл – 72 °C × 5 мин. Для проведения ПЦР использовали праймеры, амплифицирующие нуклеотидные последовательности соответствующих генов (табл. 2).

Анализ продуктов ПЦР проводили с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле при напряженности электрического поля 6 В/см. В качестве маркера молекулярного веса использовали GeneRuler 1 kbPlus (ThermoScientific, США).

Выделение и очистку продуктов ПЦР соответствующего размера проводили из легкоплавкой агарозы с применением набора реактивов WizardPCRPreps (Promega, США), согласно рекомендациям производителя.

Секвенирование ПЦР-фрагментов, полученных при амплификации гена 16s рРНК, проводили по методу Сэнгера с использованием прямого праймера 27s. Секвенирование выполнено в ЗАО «Евроген». Анализ продуктов выполняли с использованием программ VectorNTI и BLAST.

Грибные штаммы были определены по морфологическим признакам с помощью микроскопирования. После подсчета колоний определили их родовую принадлежность, которая соответствовала у штамма Т-12-А – гриба рода *Aspergillus*, а у штамма Т-12-Р – рода *Penicillium*. Для идентификации этих штаммов наносили споры соответствующего вида методом укола на поверхность питательной среды Чапека – Докса (для аспергилла) и сред для определения пеницилла: дрожжевой автолизат Чапека (СУАРИТТ), мальтозный экстракт агар (МЕА) и глицерин-нитратный агар (G25N). После инкубирования посевов в соответствии с определителями и устанавливали видовую идентификацию грибных культур с помощью соответствующих определителей [6–11].

Исследование биологических свойств микроорганизмов, выделенных до и после ВКД № 48 с поверхностей скафандров и в местах их хранения

Исследование гемолитической активности

Оценка гемолитической активности штаммов проводилась на кровяном агаре (КА), содержащем эритроциты крупного рогатого скота. Положительный результат идентифицировали по наличию зоны гемолиза вокруг роста колоний бактерий через 48 ч инкубирования бактериальных штаммов при температуре 37 °C и через 5 сут у грибных культур, термостатированных при температуре 28 °C.

Исследование протеолитической (казеинолитической) активности

Тестирование казеинолитической активности проводили на чашках Петри с казеиновым агаром, для приготовления которого использовали 2%-ный раствор казеина по Гамерстейну, приготовленного на 0,05 М-фосфатном буфере рН8,2. Приготовленный раствор казеина смешивали в равных объемах с 2%-ным агаром (Difco BD, США) и разливали по чашкам Петри. После застывания агара на чашках Петри делали лунки диаметром 4 мм, в которые вносили по 20 мкл бактериальных или грибных суспензий культур тест-штаммов. Чашки Петри с посевами инкубировали в течение 24 ч в термостате при температуре 27 °С (бактериальные культуры) и 28 °С (грибные штаммы), затем зоны протеолиза визуализировали добавлением 1N раствора соляной кислоты. Диаметр зон измеряли в мм.

Тестирование генетических детерминант патогенности

Генетические детерминанты патогенности детектировались методом амплификации целевых генов. В качестве мишеней были выбраны 6 генов, контролирующих продукцию сфингомиелиназы (sph), энтеротоксина FM (entFM) и негемолитического энтеротоксина NHE (nheF, nheB, nheC). В качестве референс-штамма для бактерий использовали *Bacillus cereus*. В качестве контрольных штаммов для грибных культур были взяты штаммы аналогичной видовой принадлежности Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ).

Определение активности кислотообразования грибных штаммов состояло из выявления уровня рН среды в процессе развития данных штаммов в жидких питательных средах. Для этого тест-культуры *Penicillium expansum* и *Aspergillus sydowii*, а также контрольные культуры аналогичной видовой принадлежности Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) выращивали на плотной среде Чапека – Докса в течение 14 сут. Затем готовили суспензии каждой культуры в стерильной дистиллированной воде концентрацией 10^6 колониеобразующих единиц (КОЕ) в мл. В качестве субстрата была выбрана жидкая питательная среда Чапека – Докса с разным содержанием сахарозы в среде – 3 % и 0,3 % и глюкозы – 3 %. Эксперимент начинали с посева 1 мл каждой культуры в отдельную емкость с жидкими средами. Измерение концентрации ионов водорода начинали определять с 4-х суток заражения грибами жидких сред с помощью рН метра фирмы РВІ.

Результаты и обсуждения

В результате лабораторных исследований в отобранных на МКС пробах была определена

численность микроорганизмов. В табл. 3 представлены результаты численности бактерий и грибов в определенных зонах.

Как видно из представленных в таблице данных, на поверхностях красного скафандра после ВКД численность бактерий снизилась в областях предплечья, правой перчатки и правого колена на 2–4 порядка. Тогда как на 2 поверхностях синего скафандра численность бактерий увеличилась на 1–4 порядка после ВКД. На поверхности обоих скафандров штаммов грибов не выявлено. Однако значительная численность спор микромицетов была обнаружена после ВКД в зоне хранения скафандров, которая составляла от $9,1 \pm 0,6 \times 10^3$ КОЕ/100 см² и до $2,1 \pm 0,5 \times 10^4$ КОЕ/100 см².

Все выделенные штаммы бактерий и грибов были пронумерованы. Из этих штаммов сформировали банк коллекционных штаммов (табл. 3).

Все бактериальные штаммы относились к роду *Bacillus*, 7 из них к группе *Bacillus subtilis*, а один не удалось идентифицировать до вида (*Bacillus sp.*).

На основании проведенных молекулярных исследований показано, что штаммы, выделенные с пальцев и ладоней правой перчатки до и после ВКД, принадлежат к группе *Bacillus subtilis* (по результатам секвенирования гена 16s рРНК). Выравнивание фрагментов этих генов длиной 885 н.п. позволило выявить 6 нуклеотидных различий.

Штаммы, выделенные с поверхности красного скафандра № 5 из области правого колена (область кармана) до и после ВКД, также принадлежали к одной группе *Bacillus subtilis*, но имели отличия по 15 нуклеотидам последовательности фрагмента гена 16s рРНК протяженностью 863 н.п., что составляет 1,7 % различий. Эти данные свидетельствуют о неидентичности выделенных штаммов, несмотря на одну видовую принадлежность.

Таким образом, выделено 8 штаммов бактерий, принадлежащих к роду *Bacillus*, виду *Bacillus subtilis*, имеющих отличия по нуклеотидным последовательностям.

Грибы, выделенные после ВКД в зоне хранения скафандров, были идентифицированы как виды: Т-12-А – *Aspergillus sydowii*; Т-12-Р – *Penicillium expansum*.

В результате исследований выявлены изменения численности спорообразующих бактерий рода *Bacillus* на разных скафандрах до и после ВКД. После ВКД в зонах хранения скафандров были обнаружены грибы видов *Aspergillus sydowii* и *Penicillium expansum*. Численность грибов после ВКД в зоне хранения скафандров превышала 10^4 КОЕ/см², а содержание спорных бактерий до ВКД на поверхности перчатки (пальцы и ладонь правой перчатки) также было выше допустимого уровня микробной загрязненности поверхностей МКС, регламентированного документом MORD [12].

**Численность микроорганизмов на исследуемых поверхностях до и после ВКД (КОЕ/100 см²)
и номера выделенных штаммов**

Место отбора	Укладка № 1 – красный скафандр № 5. Количество микроорганизмов (КОЕ/100 см ²)				Укладка № 2 – синий скафандр № 4. Количество микроорганизмов (КОЕ/100 см ²)			
	Бактерии		Грибы		Бактерии		Грибы	
	До ВКД	После ВКД	До ВКД	После ВКД	До ВКД	После ВКД	До ВКД	После ВКД
Предплечье правое и область локтевого сустава	1,3 ± 0,3 × 10 ³ Т1-1	0	0	0	0	0	0	0
Пальцы и ладонь правой перчатки	1,6 ± 0,4 × 10 ⁵ Т1-2	5 ± 0,5 × 10 ¹ Т1-8	0	0	0	5 ± 0,3 × 10 ¹ Т-2-8	0	0
Область правого колена (область кармана)	2 ± 0,5 × 10 ² Т1-4	3 ± 0,4 × 10 ⁰ Т1-10	0	0	0	0	0	0
Носочная часть обуви (нога правая)	0	0	0	0	0	3,5 ± 0,3 × 10 ² Т1-11	0	0
Интерьер в зоне хранения скафандров (на усмотрение экипажа)	0	0	0	9,1 ± 0,6 × 10 ³ Т 1-12	0	1,9 ± 0,5 × 10 ⁴ Т-12-А	0	2,1 ± 0,5 × 10 ⁴ Т-12-Р

Выделенные в ходе данного эксперимента спорообразующие бактерии и грибы можно отнести к сапрофитным, условно-патогенным микроорганизмам и группе биодеструкторов.

Известны случаи повреждения конструкций техники на станции «Мир» и МКС [13].

С целью определения возможности спорообразующих бактерий и мицелиальных грибов, обнаруженных в модуле до и после ВКД № 48, потенциально инициировать медицинские или технологические риски были проведены исследования их биологических свойств.

*Исследование патогенетического потенциала
штаммов бактерий и грибов, выделенных
с поверхностей скафандров на МКС
до и после ВКД*

Под патогенностью принято понимать способность микроорганизмов вызывать заболевание, которая определяется совокупным действием различных факторов патогенности возбудителя, обуславливающих развитие в организме хозяина патологических изменений. Нередко патогенность рассматривают как функцию адаптации микроба к организму хозяина, в основе которой лежит перестройка физиологических и метаболических процессов возбудителя, адекватная новым условиям его существования [14, 15].

Известно, что прокариотические формы жизни обладают высокой геномной пластичностью, в том числе способны приобретать патогенетические

свойства. Изменчивость у микроорганизмов реализуется на генетическом уровне через мутации и генетические рекомбинации. Наиболее быстрыми событиями для изменения свойств бактерий, в том числе и патогенности, являются генетические рекомбинации, так как имеют «скачкообразный» характер и обеспечивают радикальность происходящих превращений микроорганизма. Генетические рекомбинации реализуются через несколько известных механизмов, связанных с IS-элементами (insertionsequences), транспозонами, интегронами, плазмидами, бактериофагами, а также горизонтальным транспортом «островов» патогенности [14–16]. Все эти механизмы приводят к изменению свойств микроорганизмов, включая формирование патогенетического потенциала.

Выделенные нами штаммы рода *Bacillus* тестировались с целью изучения их потенциала вирулентности путем оценки гемолитической и протеолитической активности, а также выявления генетических детерминант патогенности, кодирующих токсины.

Большинство видов рода *Bacillus* относят к сапрофитной флоре и являются обычными обитателями почв, воздуха и объектов окружающей среды. Тем не менее имеются данные о клинических изолятах *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* и родственных микроорганизмов рода *Paenibacillus* [17–19].

Наиболее часто исследуемые нами факторы патогенности встречаются у *Bacillus cereus*, который

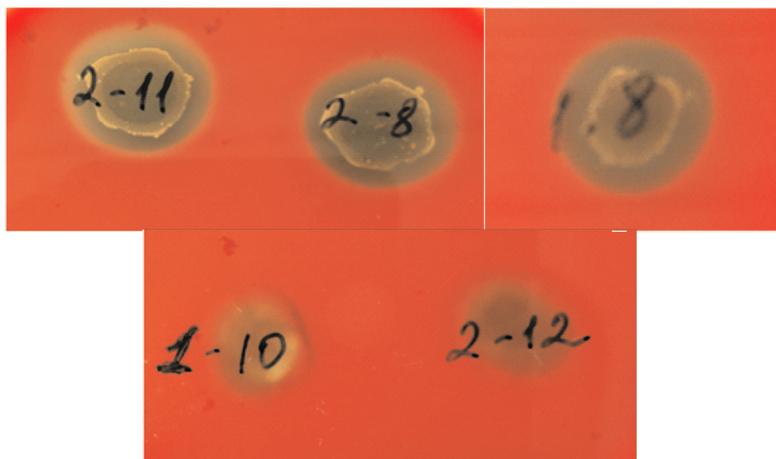


Рис. 3. Зоны гемолиза на кровяном агаре

является оппортунистическим патогеном, вызывая у человека желудочно-кишечные инфекции, а также заболевания глаз, нервной системы, маститы и другие болезни [17]. Исследованные нами факторы патогенности впервые выявлены и хорошо изучены у *B. cereus*, поэтому 3 штамма данного вида использовали в качестве контроля в нашей работе.

В исследование были взяты 8 штаммов рода *Bacillus*, выделенные с поверхностей скафандра и мест их хранения, 2 штамма *Bacillus cereus*, выделенные из среды чистых помещений сборки космических аппаратов и 1 штамм *Bacillus cereus*, имеющийся в коллекции лаборатории.

Гемолизины являются белковыми порообразующими токсинами, оказывающими влияние на структуру клеточных мембран, нарушающими их целостность. Гемолизины оказывают цитотоксическое воздействие на эукариотическую клетку, приводят к нарушению функций митохондрий, способствуют подавлению фагоцитарного механизма защиты микроорганизма. Гемолизины участвуют в патогенезе инфекционного процесса. Наиболее хорошо изучены гемолизины у *B. cereus*: гемолизин I или цереолизин O, гемолизин II, гемолизин III, гемолизин IV или CytK. Гемолитической активностью обладают и энтеротоксины HBL и NHE [19]. Гемолитическая активность также тестировалась у клинических изолятов *B. pumilus* [17].

В результате исследований гемолитической активности бактерий было установлено, что 3 штамма обладали гемолитической активностью, которая визуально детектировалась по появлению зон просветления питательной среды вокруг колоний (рис. 3). Это штаммы Т 2-11, Т 2-8, Т 1-8. У остальных штаммов спорных бактерий гемолитическая активность не выявлена.

Секретируемые протеолитические ферменты патогенности.

Одним из факторов патогенности микроорганизмов является их способность деградировать белковые молекулы. Ферменты патогенности известны для некоторых возбудителей инфекционных процессов различной локализации. Выявление протеолитических (казеинолитических) свойств имеет значение в детекции патогенетического потенциала. Так, рядом авторов предложена скрининговая система индикации дисбактериозов кишечника по уровню протеолитической активности супернатантов фекалий. Высокий уровень протеолитической активности часто встречается у представителей дисбиотической микрофлоры, таких как *Staphylococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, грибов рода *Candida* и др. Высокие уровни бактериальных

протеолитических ферментов образуют ряд медиаторов воспаления, которые способны привести к активации биохимических систем и микробиологическим нарушениям в структуре биотопов открытых полостей и кишечника человека. Среди бактерий рода *Bacillus* протеолитическая активность определяется у большинства видов: *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. flexus*, *B. mycoides* и др. [5].

В табл. 4 представлены результаты исследования протеолитической активности. Семь из 8 протестированных штаммов обладали казеинолитической активностью, один из которых имел зону протеолиза $18 \pm 0,5$ мм, что соответствует высокому уровню протеолитической активности, остальные ($15 \pm 0,3$ и $16 \pm 0,4$ мм) обладали средней активностью, у 1 штамма зоны протеолиза выявлено не было.

Таким образом, большинство изученных нами штаммов способны секретировать внеклеточные протеазы. Это коррелирует с представлением о том, что виды *Bacillus* относятся к наиболее известным группам продуцентов внеклеточных протеаз у бактерий. Секретируемые протеазы, необходимые для пролиферации и роста бактерий, могут расщеплять белки макроорганизма, тем самым играя непосредственную роль в вирулентности бактерий.

Сфингомиелиназа *Bacillus cereus* (SMase) представляет собой внеклеточный гемолизин, относящийся к группе Mg^{2+} -зависимых нейтральных SMases. Сфингомиелиназа *Bacillus cereus* способна вызывать гемолиз овечьих эритроцитов, содержащих большое количество сфингомиелина. Сфингомиелиназа *B. cereus* (SMase) проявляет как гемолитическую, так и фосфолипазную активность, гидролизует сфингомиелин до фосфохолина и церамида. Сфингомиелиназу продуцируют многие патогенны, включая *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori* и *B. anthracis*.

Генетические детерминанты факторов патогенности изолированных штаммов

№ штамма	Вид	Гемолитическая активность	Протеолитическая активность, мм	Генетические детерминанты факторов патогенности				
				sph	entFM	nheA	nheB	nheC
T-1-1	<i>Bacillus subtilis group</i>	-	18 ± 0,5	-	-	-	-	-
T-1-2	<i>Bacillus subtilis group</i>	-	15 ± 0,3	-	-	-	-	+
T21-1-4	<i>Bacillus subtilis group</i>	-	15 ± 0,3	-	-	-	-	-
T21-1-8	<i>Bacillus subtilis group</i>	+	15 ± 0,3	-	-	+	-	-
T21-1-10	<i>Bacillus subtilis group</i>	-	15 ± 0,3	-	-	+	-	-
T21-2-8	<i>Bacillus subtilis group</i>	+	15 ± 0,3	-	-	+	-	-
T21-2-11	<i>Bacillus subtilis group</i>	+	16 ± 0,4	-	-	-	-	-
T21-2-12	<i>Bacillus sp.</i>	-	0	-	-	-	-	-
355	<i>Bacillus cereus</i>	+		-	-	+	+	+
К	<i>Bacillus cereus</i>	+		+	+	+	+	+
Б-1	<i>Bacillus cereus</i>	+		-	+	-	-	-

Примечание: + – наличие сигнала; - – отсутствие сигнала

Ведущая роль в развитии кишечных инфекций, сопровождающихся диарейным синдромом, у *B. cereus* принадлежит энтеротоксинам. Наиболее изученным энтеротоксином является HBL, трехкомпонентный гемолизин, состоящий из 2 литических белков (L1 и L2) и 1 связывающего компонента (В). Этот токсин обладает гемолитической и дермонекротической активностью, повышает проницаемость сосудов, считается основным фактором вирулентности при диарее. Кроме того, негемолитический энтеротоксин (NHE) представляет собой трехкомпонентный комплекс энтеротоксинов, первоначально идентифицированный у штамма *B. cereus*, который явился этиологическим агентом при вспышке кишечной инфекции. Энтеротоксины FM и T являются однокомпонентными токсинами, которые вносят вклад в развитие пищевых токсикоинфекций. Генетические детерминанты NHE обнаружены не только у *B. cereus*, но и *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. flexus*, *B. amyloliticus* [17, 20].

Генетические детерминанты патогенности детектировались методом амплификации целевых генов. В качестве мишеней были выбраны 6 генов, контролирующих продукцию сфингомиелиназы (sph), энтеротоксина FM (entFM) и негемолитического энтеротоксина NHE (nheA, nheB, nheC).

На основании представленных данных можно заключить, что у спорообразующих бактерий до и после ВКД определены детерминанты патогенности, которые в дальнейшем (при получении необходимой статистики) могут быть основой для выявления и построения корреляции медицинских рисков до и после ВКД.

Исследование потенциала патогенности и биодеструктивной активности грибов, выделенных с поверхностей после ВКД

Грибы *Aspergillus sydowi* и *Penicillium expansum* относятся к сапрофитам и являются в основном обитателями почв. По принятой в России классификации возбудителей инфекционных заболеваний данные грибы относятся к низкой III и IV группам патогенности.

Известно, что штаммы гриба *Aspergillus sydowi* способны вовлекаться в патологический процесс, возникающий вследствие микробного обсеменения грибами рода *Aspergillus* и их инвазии. В ряду известных возбудителей инвазивного аспергиллеза на долю *Aspergillus sydowi* приходится 5–9 %. Кроме этого, данный вид плесневых грибов способен вызывать онихомикоз и кератомикоз [21].

Одним из идентификационных признаков гриба *Penicillium expansum* является то, что он не может

выживать при температуре 37 °С, поэтому он относится к плесневым грибам, которые не обнаруживают при первичных инфекциях. Однако в результате своего развития *Penicillium expansum* способен продуцировать токсин патулин, являющийся канцерогенным соединением. Патулин – один из малоизученных микотоксинов [22, 23]. По химической структуре он представляет собой 4-гидрокси-фуropиран. В основе биосинтеза патулина лежит реакция линейной конденсации ацетил-СоА с 3 или более молекулами малонил-СоА с сопутствующим декарбоксилированием без обязательного восстановления промежуточных β-дикарбониллов. Микотоксины наиболее часто вырабатываются грибами в период их развития при стрессовых изменениях в среде обитания [23].

В результате проведенных исследований у обоих штаммов грибов – *Aspergillus sydowi* и *Penicillium expansum* не выявлено исследуемых детерминант патогенности. Гемолитическая и протеолитическая активность обоих грибов отсутствовала. Хотя, по данным литературы, эти виды грибов являются активными продуцентами протеолитических ферментов [24].

Биодеструктивная активность выделенных штаммов грибов

Биоповреждение материалов и коррозия металлов зависят от множества факторов [25]. Давно известно, что грибы *Aspergillus sydowi* и *Penicillium expansum* способны выделять разные ферменты [26], которые способны повреждать различные полимерные материалы. Однако наибольшую роль в биоповреждении материалов и металлов играют органические кислоты. Грибы в качестве продуктов своей жизнедеятельности выделяют целый комплекс органических кислот: щавелевую, фумаровую, янтарную, молочную, яблочную, лимонную, глюконовую, винную, уксусную, итаконовую, коевую и др. [27].

Воздействие на металлы органических кислот создает коррозионно-активную среду, в которой органические кислоты грибов действуют как деполаризаторы или катализаторы коррозионных процессов.

Считается, что наилучшими источниками углерода для образования кислот грибами являются глюкоза или сахароза [28]. В большинстве случаев образование кислот грибами усиливается при увеличении концентрации углеводов в среде.

По интенсивности кислотообразования *Penicillium expansum* можно отнести к грибам промежуточным между грибами, выделяющими большое количество органических кислот (*Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium funiculosum* и др.) и являющимися временными кислотообразователями (в зависимости от необходимости или условий экологии)

[29, 30]. Гриб *Aspergillus sydowi* неизвестен как продуцент кислот.

Определение активности кислотообразования грибных штаммов, выделенных после ВКД, состояло из выявления уровня pH среды в процессе развития данных штаммов в жидких питательных средах.

Результаты исследований продуцирования кислот грибными культурами представлены в табл. 5.

Из представленных данных видно, что выработка кислот пенициллами (экспериментальным и контрольным штаммами) в средах с сахарозой мало отличалась по изменению концентрации ионов водорода в зависимости от содержания сахара в жидкой среде – жидкость питательных сред имела близкий к нейтральному pH. Значимые отличия выявлены при развитии грибов *Penicillium expansum* в среде, в которой в качестве углерода использовали глюкозу. В этой жидкой среде pH при росте пенициллов колебался от pH $5,5 \pm 0,3$ (экспериментальный штамм) до pH $6,2 \pm 0,2$ (контрольный штамм). По данным литературы, представленной выше, можно заключить, что, наряду с другими кислотами, вырабатывалась и щавелевая кислота. Хотя правильная интерпретация этих данных о составе кислот могла бы быть только после хроматографии растворов. Важным уточнением по кислотообразованию этим штаммом по отношению к среде модуля могло бы быть включение в состав питательной среды материалов модуля МИМ2, с которыми имела контакт культура гриба.

По представленным результатам исследований грибы вида *Aspergillus sydowi* при росте на всех питательных средах не продуцировали кислот. Это совпадает с тем, что нет данных в литературе о выработке кислот этим грибом. Следует отметить, что если pH растворов питательных сред с ростом контрольного штамма *Aspergillus sydowi* ВКМ 968 почти везде соответствовала 7, то при развитии в жидких средах штамма, выделенного после ВКД, были значительные отличия от контрольной культуры.

Концентрация ионов водорода жидкой среды, на которой рос экспериментальный штамм *Aspergillus sydowi*, снижалась в зависимости от снижения содержания сахаров в питательной среде. Так, при развитии этого гриба в среде с 3%-ным содержанием сахара, pH раствора была не выше $7,6 \pm 0,4$, а при 0,3%-ной концентрации сахарозы pH достигала показателя $7,9 \pm 0,2$. То есть при развитии *Aspergillus sydowi* в средах со сниженным содержанием сахаров, а возможно, и питательных веществ отмечено защелачивание среды. Можно предположить, что при росте данного аспергилла могут вырабатываться, например, амины, так как они в жидкой среде образуют основания.

Таким образом, в результате данных исследований был выявлен видовой состав микроорганизмов, обнаруженных в зоне хранения скафандров,

Данные об изменении уровня pH среды при развитии грибов в жидких питательных средах

Содержание сахаров в среде Чапека – Докса	Штаммы грибов	Сутки эксперимента								
		4-е	5-е	7-е	8-е	9-е	10-е	11-е	13-е	15-е
3%-ная глюкоза	<i>Penicillium expansum</i> T-12-P	5,8 ± 0,2	5,8 ± 0,1	5,5 ± 0,3	5,6 ± 0,2	5,8 ± 0,3	5,6 ± 0,1	5,7 ± 0,1	5,6 ± 0,1	5,6 ± 0,3
	<i>Penicillium expansum</i> ВКМ 275	6,5 ± 0,1	6,4 ± 0	6,3 ± 0,2	6,4 ± 0,1	6,3 ± 0,1	6,2 ± 0	6,2 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,2 ± 0,2
	<i>Aspergillus sydowi</i> T-12-A	7,1 ± 0,1	6,9 ± 0,2	7,2 ± 0,1	7,3 ± 0,1	7,3 ± 0,2	7,3 ± 0	7,2 ± 0,1	7,2 ± 0,1	7,1 ± 0
	<i>Aspergillus sydowi</i> ВКМ 968	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0
3%-ная сахароза	<i>Penicillium expansum</i> T-12-P	6,6 ± 0,3	6,5 ± 0,1	6,5 ± 0,2	6,5 ± 0,4	6,7 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,5 ± 0,2	6,8 ± 0,2	6,7 ± 0,1
	<i>Penicillium expansum</i> ВКМ 275	7,0 ± 0	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0	6,9 ± 0	6,9 ± 0	6,9 ± 0,2	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0
	<i>Aspergillus sydowi</i> T-12-A	7,4 ± 0,1	7,3 ± 0,2	7,4 ± 0,2	7,5 ± 0,3	7,6 ± 0,4	7,6 ± 0,4	7,6 ± 0,1	7,6 ± 0,2	7,6 ± 0,2
	<i>Aspergillus sydowi</i> ВКМ 968	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0,2	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0,1
0,3%-ная сахароза	<i>Penicillium expansum</i> T-12-P	6,9 ± 0	6,9 ± 0,2	6,8 ± 0,1	6,8 ± 0,3	6,9 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,8 ± 0,3	6,8 ± 0,2	6,9 ± 0,2
	<i>Penicillium expansum</i> ВКМ 275	7,0 ± 0	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0	6,9 ± 0,2	7,0 ± 0	7,0 ± 0	6,9 ± 0
	<i>Aspergillus sydowi</i> T-12-A	7,7 ± 0,3	7,8 ± 0,1	7,9 ± 0,1	7,8 ± 0	7,9 ± 0,2	7,7 ± 0,3	7,8 ± 0,2	7,7 ± 0,2	7,7 ± 0,2
	<i>Aspergillus sydowi</i> ВКМ 968	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0	7,0 ± 0

относящийся к видам, часто встречаемым в среде обитания космических станций [13, 31]. Однако в результате проведенной работы у представленных видов споры бактерий до и после ВКД, а также у грибов после ВКД имелись специфические изменения в биохимической активности.

Обобщенный анализ проведенных исследований биологических свойств микроорганизмов представлен в табл. 6–8.

Результаты проведенных исследований позволили выявить у выделенных штаммов гемолитическую, протеолитическую активность и фрагменты генетических маркеров патогенности: сфингомиелиназы (sph), энтеротоксина FM (entFM) и негемолитического энтеротоксина NHE (nheF, dheB, hneC).

Наиболее часто тестировалась казеинолитическая активность, которой обладали 7 из 8 исследованных штаммов, что составило 87,5 %. При этом все штаммы, выделенные до ВКД, были протеолитически активными (n = 3) и 80 % штаммов, выделенных после ВКД (n = 4). Это коррелирует с представлением о том, что виды *Bacillus* относятся к наиболее известным группам продуцентов внеклеточных протеаз у бактерий. Секретируемые протеазы, необходимые для пролиферации и роста бактерий, могут расщеплять белки микроорганизма, тем самым играя непосредственную роль в вирулентности бактерий. Гемолитическая активность выявлена только у 3 (37,5 %) штаммов, изолированных с поверхностей скафандров после ВКД, бактериальные

Таблица 6

Частота встречаемости факторов патогенности у изолятов бактерий до и после ВКД

Группа штаммов	Количество штаммов	Факторы патогенности						
		Гемолитическая активность	Протеолитическая активность	Генетические детерминанты патогенности				
				sph	entFM	nheA	nheB	nheC
До ВКД	3	0 (0 %)	3 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (33 %)
После ВКД	5	3 (60 %)	4 (80 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (60 %)	1 (20 %)	0 (0 %)
<i>B. cereus</i>	3	-	-	1 (33 %)	2 (67 %)	2 (67 %)	2 (67 %)	2 (67 %)

Таблица 7

Частота встречаемости гемолитической и протеолитической активности у выделенных штаммов бактерий и грибов

Выделенные культуры	Гемолитическая активность	Протеолитическая активность
<i>Bacillus</i> (8 штаммов)	3 штамма – 37,5 %	7 штаммов – 87,5 %
Грибы	0	0

Таблица 8

Частота встречаемости генетических детерминант патогенности

Микроорганизмы (число штаммов)	Генетические детерминанты факторов патогенности				
	sph	entFM	nheA	nheB	nheC
<i>Bacillus sp.</i> (8)	0	0	3 (37,5 %)	0	1 (12,5 %)
<i>Bacillus cereus</i> (3)	1 (33,3 %)	2 (66,7 %)	2 (66,7 %)	2 (66,7 %)	2 (66,7 %)

изоляты из группы до ВКД указанной активностью не обладали. Генетические маркеры патогенности детектировались у 5 штаммов, один из которых был выделен до ВКД, а 4 – после. Чаще других были выявлены фрагменты, полученные путем амплификации участка гена *nheA*, контролирующего субъединицу А негемолитического энтеротоксина NHE. Все 3 позитивных штамма были выделены после ВКД. Детерминанты *nheB* и *nheC* определялись в единичных случаях (1 штамм из группы до ВКД и 1 – после). Фрагменты генов сфингомиелиназы (*sph*) и энтеротоксина FM (*entFM*) выявлены не были. Все изученные генетические детерминанты патогенности обнаружены у *B. cereus*, что согласуется с представлением данного вида как возбудителя оппортунистических инфекций и наиболее часто обладающим разнообразными факторами патогенности [5].

Штаммы грибных культур, выделенные после ВКД в зоне хранения скафандров, по сравнению с контрольными штаммами являются продуцентами органических кислот – *Penicillium expansum*, а

также соединений, имеющих щелочную реакцию, – *Aspergillus sydowi*, в зависимости от концентрации сахаров или доступных органических соединений. Наличие высокого титра обсемененности грибами поверхностей интерьера в зоне хранения скафандров является неблагоприятным фактором, как для модуля, так и для самих скафандров.

Все вышеперечисленное дает основание считать нужным проведение систематических микробиологических исследований поверхностей скафандров и зон их хранения, а также разработку и использование методов их обеззараживания.

Выводы

1. В работе проведен анализ проб, отобранных с внешней поверхности скафандра, а также мест их хранения.

2. Проведенный сравнительный анализ микроорганизмов на поверхности скафандров и мест их хранения до и после ВКД выявил изменение

численности спорообразующих бактерий рода *Bacillus* на разных скафандрах. После ВКД в зонах хранения скафандров были выявлены грибы видов *Aspergillus sydowi* и *Penicillium expansum*. Численность грибов после ВКД в зоне хранения скафандров превышала 10^4 КОЕ/см², а содержание спорных бактерий до ВКД на поверхности перчатки также было выше допустимого уровня микробной загрязненности поверхностей МКС.

3. На основании исследования биологических свойств можно заключить, что у спорных форм бактерий до и после ВКД есть маркеры патогенности, которые в дальнейшем (при получении необходимой статистики) могут быть основой для выявления и построения корреляции медицинских рисков до и после ВКД.

4. В результате проведенных исследований биохимических свойств было показано, что выделенные спорные бактерии до и после ВКД, а также грибы после ВКД имели специфические изменения в метаболической, патогенетической и биохимической активности.

Работа выполнена в рамках СЧ ОКР «МКС (Наука) (Наука-1) Тест_22».

Список литературы

1. Цыганков О.С., Гребенникова Т.В., Дешева Е.А. и др. Исследование мелкодисперсной среды на внешней поверхности международной космической станции в эксперименте «Тест»: обнаружены способные микробиологические объекты // Косм. техника и технологии. 2015. Т. 8 (1). С. 31–41.
2. Tsygankov O.S., Grebennikova T.V., Deshevaya E.A. et al. Investigation of a fine-dispersed medium on the outer surface of the International space Station in the Test experiment: capable microbiological objects // Kosmicheskaya tekhnika i tekhnologii. 2015. V. 8 (1). P. 31–41.
3. Шувалов В.А., Гребенникова Т.В., Дешева Е.А. и др. Анализ образцов мелкодисперсной среды внешней поверхности Российского сегмента Международной космической станции в космическом эксперименте «Тест» // LV Научные чтения памяти К.Э. Циолковского. Калуга, 2020.
4. Shuvalov V.A., Grebennikova T.V., Deshevaya E.A. et al. Analysis of samples of the fine-dispersed medium of the outer surface of the Russian segment of the International Space Station in the space experiment Test // LV Scientific readings in memory of K.E. Tsiolkovsky. Kaluga, 2020.
5. Deshevaya E.A., Fialkina S.V., Shubralova E.V. et al. Survival of microorganisms during two-year exposure in outer space near the ISS // Scientific Reports. 2024. V. 14. P. 334. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49525-z>.
6. Lane D.J. 16S/23S sequencing // Nucleic acid techniques in bacterial systematics / E. Stackebrandt, M. Goodfellow, eds. Chichester, 1991. P. 115–175.
7. Ghelardi E., Celandroni F., Salvetti S. et al. Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolates responsible for two food-poisoning outbreaks // FEMS Microbiol. Lett. 2006. Febr. 19. V. 208 (1). P. 129–134.
8. Pitt J.I. The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. 1979.
9. Pitt J.I. Common *Penicillium* species. 1991.
10. Houbraken J., Samson R.A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families // Studies in Mycol. 2011. V. 70 (1). P. 1–51. DOI: 10.3114/sim.2011.70.01.
11. Houbraken J., Wang L., Lee H.B. et al. New sections in *Penicillium* containing novel species producing patulin, pyripyropens or other bioactive compounds // Persoonia. 2016. V. 36 (1). P. 299–314. DOI: 10.3767/003158516X692040.
12. Raper K.B., Fennell D.I. Baltimore, 1965.
13. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы. 1988.
14. Bilay V.I., Koval E.Z. Aspergilli. 1988.
15. International Space Station Medical Operations Requirements Documents (ISS 50260. MORD) 2003.
16. Новикова Н.Д. Микробное сообщество среды обитания пилотируемых орбитальных комплексов – проблемы, методы контроля и коррекции: Автореф. дис. ... док-ра биол. наук. М., 2002.
17. Novikova N.D. Microbial community of the habitat of manned orbital complexes – problems, methods of control and correction: Avtoreferat dissertatsii ... doktora biologicheskikh nauk. Moscow, 2002.
18. Бондаренко В.М. «Острова» патогенности бактерий // Журнал микробиологии. 2001. № 4. С. 67–74.
19. Bondarenko V.M. «Islands» of bacterial pathogenicity // Zhurnal mikrobiologii. 2001. № 4. P. 67–74.
20. Leitao J.H. Microbial virulence factors // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21 (15). № 8. Art. 5320. DOI: 10.3390/ijms21155320.
21. Ilyas M., Purkait D., Atmakuri K. Genomic islands and their role in fitness traits of two key sepsis-causing bacterial pathogens // Brief Funct. Genomics. 2024. V. 23. № 1. P. 55–68. DOI: 10.1093/bfpg/elac051.
22. Celandroni F., Salvetti S., Gueye S.A. et al. Identification and pathogenic potential of clinical *Bacillus* and *Paenibacillus* isolates // PLoS One. 2016. V. 11. № 3. e0152831.
23. Jeon Y.L., Yang J.J., Kim M.J. et al. Combined *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* infection in a patient with esophageal perforation // J. Med. Microbiol. 2012. V. 61 (Pt 12). P. 1766–1769.
24. Kimouli M., Vrioni G., Papadopoulou M. et al. Two cases of severe sepsis caused by *Bacillus pumilus* in neonatal infants // J. Med. Microbiol. 2012. V. 61 (Pt 4). № 4. P. 596–599.
25. Ramarao N., Sanchis V. The pore-forming haemolysins of *Bacillus cereus*: A review // Toxins. 2013. V. 5. № 6. P. 1119–1139.
26. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М., 2001.

Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. The determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. Moscow, 2001.

22. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины (Медицинские и биологические аспекты) // АМН СССР. М., 1985.

Tutelyan V.A., Kravchenko L.V. Mycotoxins (Medical and biological aspects) // AMN of the USSR. Moscow, 1985.

23. Marin S., Ramos A.I., Cano-Sacdo G., Sanchi S.V. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment // Food and Chem. Toxicol. 2013. № 60. P. 218–237.

24. Закиров М.З. Ферменты плесневых грибов. Ташкент, 1975.

Zakirov M.Z. Enzymes of mold fungi. Tashkent, 1975.

25. Ильичев В.Д. Биоповреждения. М., 1987.

Ilyichev V.D. Biological damage. Moscow, 1987.

26. Анисимов А.А., Фельдман М.С., Высоцкий Л.Б. Ферменты мицелиальных грибов как агрессивные метаболиты // Биоповреждения в промышленности. Горький, 1985.

Anisimov A.A., Feldman M.S., Vysotsky L.B. Enzymes of mycelia fungi as aggressive metabolites // Bio-damage in industry. Gorkiy, 1985.

27. Власов Д.Ю. Сравнительный анализ микобиот природных и искусственных каменистых субстратов // Вестник СПбГУ. 2010. Сер. 3. Вып. 1. С. 22–35.

Vlasov D.Yu. Comparative analysis of mycobiot of natural and artificial rocky substrates // Vestnik SPbGU. 2010. Ser. 3. Is. 1. P. 22–35.

28. Кретович В.Л. Биохимия растений. М., 1980.

Kretovich V.L. Biochemistry of plants. Moscow, 1980.

29. Magnuson J.K., Lasure L.L. Organic acid production by filamentous fungi // Advances in fungal biotechnology for industry, agriculture, and medicine. 2004. P. 307–334.

30. Елинов Н.П. Химическая микробиология. М., 1989.

Elinov N.P. Chemical microbiology. Moscow, 1989.

31. Quagliariello A., Cirigliano A., Rinaldi T. Bacilli in the International Space Station // Microorganisms. 2022. Nov. 22. V. 10. № 12. Art. 2309. DOI: 10.3390/microorganisms10122309.

Поступила 31.01.2024

MICROFLORA INVESTIGATION IN THE MIM-2 AREA ON THE INTERNATIONAL SPACE STATION BEFORE AND AFTER EXTRAVEHICULAR ACTIVITIES

Deshevaya E.A.¹, Fialkina S.V.^{1,3}, Shubrailova E.V.², Smirnov Yu.I.¹

¹Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

²Central Research Institute for Machine Building, Korolev, Moscow region

³National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow

Microbiological investigations of spacesuits' surfaces before and after extravehicular activities were performed as a part of space experiment TEST. The purpose was to determine the numbers, composition, biochemical properties of isolated microbes, and locations with exceeded bacterial and fungal populations. We identified markers for pathogenicity in spore-forming bacteria and some peculiar features of organic acid production by fungi with different levels of carbohydrates.

Key words: extravehicular activities, bacteria, fungi.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 35–46.

УДК 629.78:579.22

ДИНАМИКА КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МИКРОБИОМА ВНУТРЕННИХ ПОВЕРХНОСТЕЙ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ ЗА ПЕРИОД НАБЛЮДЕНИЙ С 2016 ПО 2022 Г.

Осипова П.Д.¹, Карпов Д.С.², Дымова А.А.¹, Шеф. К.А.¹, Жукова Е.А.¹, Ковалев М.А.², Поляков Н.Б.^{3,4}, Соловьев А.И.³, Гуридов А.А.¹, Жуховицкий В.Г.^{3,5}, Поддубко С.В.¹

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

³Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

⁴Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва

⁵Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва

E-mail: osipova.pamila@yandex.ru

Резидентами Международной космической станции (МКС) являются различные виды бактерий, которые могут выступать в роли потенциальных биодеструкторов конструкционных материалов, что влечет за собой нарушения в работе различного оборудования, и опосредовано спровоцировать медицинские риски, повлиять на состояние здоровья членов экипажей при условии сниженного иммунитета. С момента эксплуатации МКС осуществляется санитарно-микробиологический мониторинг среды обитания в целях своевременного выявления и инактивации потенциально опасных штаммов.

Данная работа посвящена исследованию видового состава и динамики численности бактерий, развивающихся на поверхностях интерьера и оборудования российского сегмента (РС) МКС в период с 46-й по 67-ю экспедицию (2016–2022 гг.).

Микробиологические пробы с внутренних поверхностей РС МКС высевали на плотные питательные среды. Выделенные бактериальные штаммы идентифицировали методами секвенирования 16S рибосомальной РНК и MALDI-TOF-масс-спектрометрии.

Полученные результаты показали, что с увеличением сроков эксплуатации РС МКС росло количество видов бактериального сообщества станции. Однако этот рост не носил линейного характера, а являлся волнообразным повторяющимся процессом смены фаз активации и стагнации микробиома. В период работы 46–67-й экспедиций в микробиоме преобладали виды родов *Bacillus* и *Staphylococcus*. Среди представителей рода *Bacillus* доминировал вид *B. licheniformis*. Преобладание бактерий этого рода, по-видимому, обусловлено их высокой устойчивостью к физико-химическим параметрам среды обитания МКС, включая ДНК-повреждающие факторы, такие как повышенный радиационный фон, что, в свою очередь, может быть объяснено их способностью к спорообразованию. Полученные результаты в очередной раз указывают на высокую эволюционную пластичность

штаммов *B. licheniformis*, обнаруженную нами ранее в других исследованиях.

Ключевые слова: Международная космическая станция, *Bacillus*, *Staphylococcus*.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 47–54.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-47-54

На Международной космической станции (МКС) создаются и поддерживаются искусственные условия жизнедеятельности, минимизирующие негативный эффект факторов космического пространства и адекватные потребностям человека. Несмотря на регулярное проведение мероприятий по поддержанию чистоты станции, обработке ее поверхностей антимикробными средствами [1], а также недостаток питательных веществ, поверхности и воздушное пространство МКС заселены микроорганизмами [2, 3]. Среди бактерий, населяющих станцию, обнаруживаются потенциально патогенные штаммы [4]. Наиболее ярким примером таких штаммов, обнаруженных на МКС, могут служить не продуцирующие токсины виды *Bacillus cereus*, которые, однако, по последовательности генома близки к опасному виду *B. anthracis* [5]. Нами [6–8] и другими авторами [9] показана положительная связь между сверхустойчивостью «полетных» штаммов, обнаруженных на МКС, к антибиотикам и их сверхустойчивостью к факторам, вызывающим окислительный стресс.

Другой потенциально опасной группой микроорганизмов являются технофилы, состоящие из биодеструкторов и возбудителей биокоррозии [10]. Эти микроорганизмы способны повреждать конструкционные материалы МКС, что может приводить к выходу из строя оборудования станции. В этой связи большую важность имеют регулярно проводимые мероприятия по оценке и контролю

санитарно-микробиологического состояния среды обитания членов экипажа МКС [3]. Все проводимые исследования включают следующие этапы: отбор проб на борту МКС; посев проб на питательные среды; выращивание посевов; выделение и идентификация «чистых» культур микроорганизмов; формирование коллекции штаммов микроорганизмов для тестирования различных средств и методов противомикробной защиты.

Цель работы – определение видового и количественного состава микробиома внутренних поверхностей МКС в период, охватывающий с 46-й по 67-ю экспедицию (2016–2022 г.).

Методика

Отбор образцов с внутренних поверхностей МКС. Отбор проб с внутренних поверхностей МКС проводился космонавтами путем взятия проб с поверхностей площадью 10 × 10 см с помощью тампонов, входящих в состав «Укладки с пробирками для поверхностей». Укладка состоит из пояса с карманами, в которых находятся фторопластовые пробирки с тампонами, пропитанными специальным консервантом. После получения образцов в наземной лаборатории аликвоты засеивали на чашки Петри с различными питательными средами (триптон-соевый питательный агар, маннитно-солевой агар, агар МакКонки, декстрозный агар Сабуро, кровяной агар, картофельно-декстрозный агар, агар Чапека – Докса). Чашки Петри инкубировали при температуре 37 °С в течение 48 ч. Морфологически различные колонии бактерий отбирали для окрашивания по Граму и последующей идентификации с применением анализа времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) и/или секвенирования 16S рНК.

MALDI-TOF-анализ бактериальных штаммов. Идентификацию бактериальных изолятов проводили, как описано ранее [6, 11]. Клетки, достигшие логарифмической фазы роста, собирали центрифугированием при 3000 × g, промывали водой и инактивировали ресуспендированием в 75%-ном этаноле. Клетки осаждали центрифугированием, после чего проводили экстракцию белков и пептидов из подсушенного осадка клеток с использованием муравьиной кислоты и ацетонитрила. Белковый экстракт использовали в масс-спектрометрическом анализе с помощью приборов UltrafleXtreme (Bruker Daltonik GmbH, Германия) и Microflex LT MALDI-TOF-масс-спектрометре (Bruker Daltonik GmbH, Германия). Сырые спектры снимали в линейном положительном режиме при частоте лазера 20 Гц в диапазоне масс от 2 до 20 кДа. Сглаживание, нормализацию, вычет базовой линии и выбор пиков выполняли автоматически с применением программного комплекса MALDI biotyper Compass Explorer 4.1 (Bruker

Daltonics) с использованием стандартного метода препроцессинга данных (Biotyper Preprocessing Standard Method). Обработанные спектры образцов сравнивали с референсной базой характеристических спектральных профилей. Результаты поиска характеристического профиля выражали как логарифм значений. Значения ниже 1,699 соответствовали ненадежному определению рода, значения 1,700–1,999 – надежному определению рода и, возможно, вида, значения 2,000–2,299 – надежному определению рода и с высокой вероятностью вида, значения 2,300–3,000 – надежной идентификации вида.

Секвенирование рибосомной ДНК. ДНК выделяли из клеток, выращенных до стационарной фазы, как описано выше, и использовали в качестве матрицы для амплификации внутреннего транскрибируемого спейсера 16S–23S. В реакции ПЦР использовали праймеры B008F (5'-AGATTTGATCCTGGCTCAG-3') и B926R (5'-CCGTCAATTCCTTTRAGTTT-3') и условия, описанные в работе [11]. ПЦР-продукт очищали с использованием набора PCR Clean Up (Thermo Fisher Scientific, США). Реакцию секвенирования ПЦР-фрагментов проводили с праймером B008F и набором реагентов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом анализаторе ДНК Applied Biosystems 3730.

Результаты и обсуждение

В ходе непрерывной эксплуатации МКС регулярно проводится контроль бактериальной обсемененности ее интерьера, а именно поверхностей декоративно-отделочных и конструкционных материалов, а также оборудования космических отсеков. К настоящему времени получены данные по 18 экспедициям за период с 2016 по 2022 г. Всего выделено 371 культура бактерий, из них для 339 культур установлена видовая принадлежность с использованием секвенирования 16S рНК и MALDI-TOF (рис. 1).

Согласно полученным данным (см. рис. 1), в процессе длительной эксплуатации МКС изменение численности бактерий и их видового разнообразия не носило линейного характера, а являлось волнообразным циклическим процессом смены фаз активности и стагнации микробиома. Такая закономерность может определяться действием и внутренних биологических механизмов саморегуляции, и внешних, в том числе космофизических факторов. Изменения количественных показателей микробной обсемененности могут свидетельствовать о таком явлении, как экологическая экспансия – развитие процессов колонизации интерьера и оборудования обитаемых отсеков. В свою очередь, экологическая экспансия может происходить из-за процессов адаптации бактерий к условиям космического

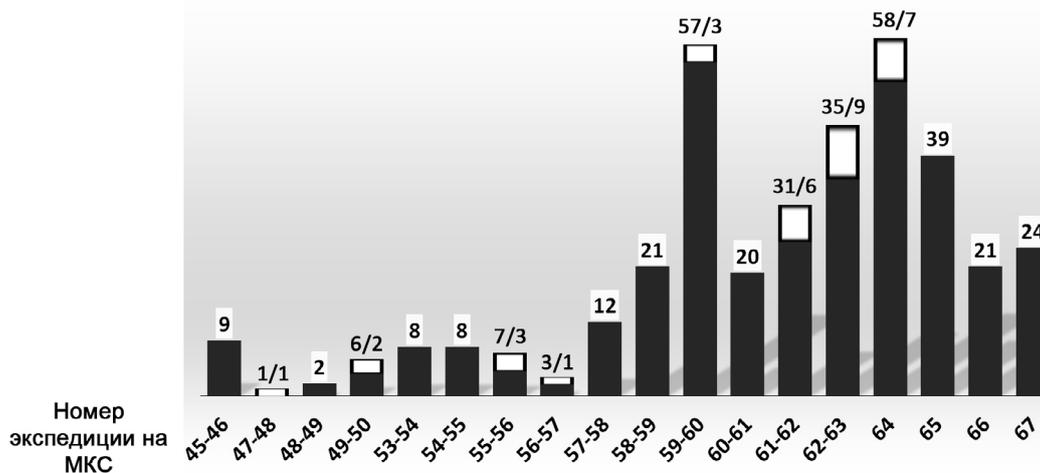


Рис. 1. Количество идентифицированных и неидентифицированных образцов бактериальных культур, выделенных в ходе микробиологического мониторинга РС МКС с 46-й по 67-ю экспедицию (2016–2022 гг.). Доля неидентифицированных культур (при наличии) отмечена белым прямоугольником, их количество – цифрой справа от косой черты

орбитального полета, которые отличаются от благоприятной для жизнедеятельности среды Земли, в результате чего наименее приспособленные виды вымирают и остаются наиболее эволюционно «пригодные» к данной среде штаммы бактерий. Также не стоит исключать повышенную вероятность контаминации внутренних объемов МКС за счет грузопотока с Земли и смены членов экипажа, чья индивидуальная микрофлора кожных поверхностей, дыхательных путей и т. д. может внести свой особый вклад в биоразнообразие микробиома поверхностей и оборудования станции посредством прямого контакта с ними [12].

Можно отметить также, что чем больше количество хорошо определяемых культур бактерий, тем больше и количество неидентифицируемых культур бактерий. Невозможность надежной идентификации культур бактерий может быть вызвана как техническими причинами, связанными с используемым методом идентификации образцов, так и с биологическими причинами, связанными с накоплением мутаций, а также присутствием новых видов бактерий. Наиболее часто технические проблемы идентификации MALDI-TOF-масс-спектрометром возникают в случае спорообразующих культур. Качество видового определения зависит от количества в образце спорных форм. В случае сложно идентифицируемых видов спорообразующих культур, к которым относятся бактерии рода *Bacillus*, необходимо индивидуально оптимизировать условия анализа, включая подбор питательной среды, времени культивирования, подбор условий пробоподготовки и фиксирования образцов на мишени. Выше показано, что оптимальные условия, повышающие надежность идентификации бактерий рода *Bacillus*,

включают выращивание бактерий на среде HiCrome *Bacillus* без полимиксина В, время культивирования в диапазоне от 1 до 24 ч, а также фиксирование матрицей образцов после культивирования в течение 24 ч [13, 14]. Проблемы в идентификации видовой принадлежности могут быть связаны мутациями в геноме и как следствие изменениями в протеоме, вызванные длительной экспозицией мутагенных факторов космоса. Не исключено, что некоторые из неидентифицируемых культур могут представлять собой новые виды бактерий. В литературе описаны выделение и характеристика новых видов бактерий на МКС [15].

В общей сумме за 7 лет микробиологического мониторинга РС МКС выделено 38 видов бактерий, относящихся к 14 родам. Согласно полученным данным, в структуре бактериального компонента микробиома МКС доминируют представители 2 родов – *Bacillus* (44 %) и *Staphylococcus* (44 %). Остальные 12 % составляют представители родов *Micrococcus* (3 %), *Paenibacillus* (2 %), *Klebsiella* (1 %), *Corinebacterium* (1 %), *Kocuria* (1 %), *Fillifactor* (1 %), *Enterococcus* (1 %), *Kosakonia* (1 %), *Proteus* (< 1 %) и *Streptococcus* (< 1 %).

Если рассматривать более детально видовую структуру идентифицированных бактерий, то можно отметить, что в целом наблюдается увеличение количества видов, принадлежащих доминирующим родам – *Bacillus* и *Staphylococcus* (рис. 2, А). В то же время в процентном содержании наблюдается тенденция к доминированию стафилококков (рис. 2, Б).

Увеличению числа видов *Bacillus*, выделенных с поверхностей РС МКС, может способствовать контаминация штаммами на внешней обшивке станции,

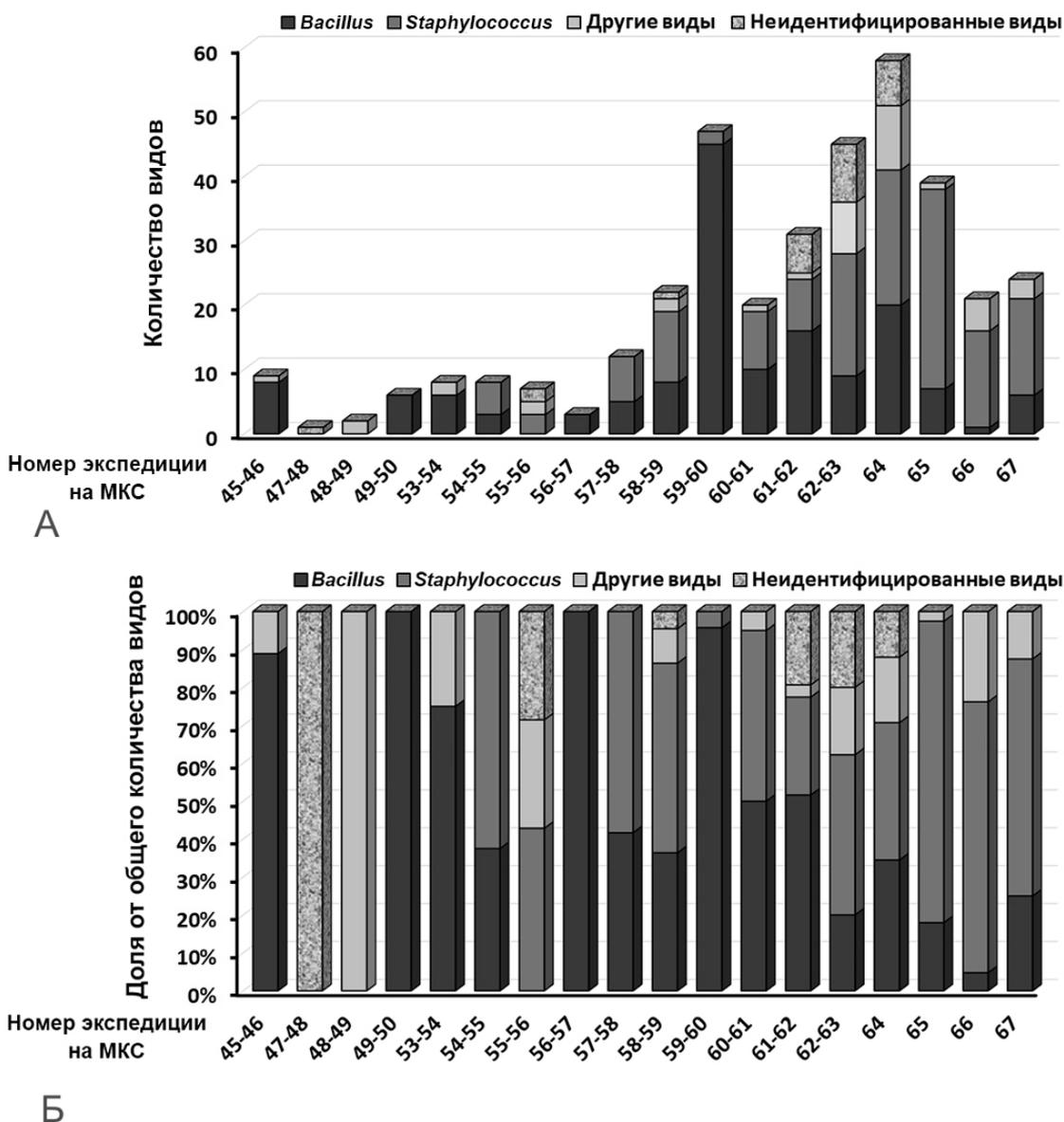


Рис. 2. Видовая структура образцов бактериальных культур, выделенных в ходе микробиологического мониторинга РС МКС с 46-й по 67-ю экспедицию (2016–2022 гг.), выраженная в виде абсолютного количества (А) или в виде процентного содержания (Б) представителей доминирующих родов бактерий

которые потенциально могут стать частью микробиома внутренней космической среды обитания МКС во время внекорабельной деятельности экипажа. Это предположение подтверждается несколькими работами. В одной из них в рамках эксперимента «Тест» в пробе, взятой с поверхности материала экранно-вакуумной теплоизоляции в зоне расположения дренажного клапана, обнаружен жизнеспособный штамм *B. licheniformis* [16]. В другой работе, в рамках того же эксперимента «Тест», показана устойчивость к факторам открытого космоса вида *B. subtilis* и других микроорганизмов, нанесенных на ватный тампон и экспонированный на внешней

стороне РС МКС в течение 2 лет без какой-либо защиты от деструктивных эффектов космической среды на низкой околоземной орбите [17].

В работе по оценке колонизации микробами скафандров показано, что в зоне лучезащитного сустава, внутренней и внешней рукавицы скафандра среди культивируемых видов преобладали представители *Bacillus*, *Arthrobacter* и *Ascomycota* [18]. Интересно отметить, что увеличение количества выделяемых видов бактерий рода *Bacillus* хорошо согласуется с увеличением количества выходов космонавтов в открытый космос. Так, в программах внекорабельной деятельности космонавтов в

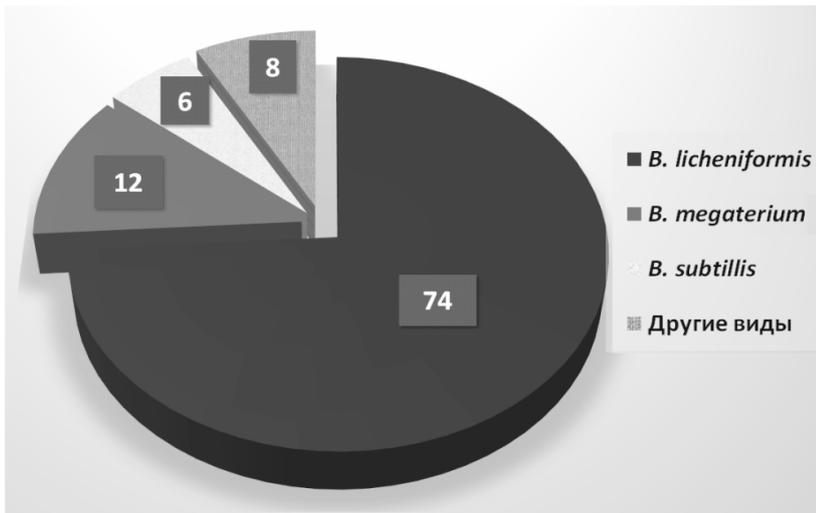


Рис. 3. Видовая структура представителей рода *Bacillus*, выделенных с внутренних поверхностей РС МКС в период с 46-й по 67-ю экспедицию (2016–2022 гг.)

период с 45-й по 58-ю экспедицию проводилось в среднем 2 выхода в открытый космос за экспедицию. Начиная с 59-й экспедиции количество выходов в открытый космос увеличилось в среднем до 4–5 в течение экспедиции. Однако это предположение нуждается в дальнейшей проверке путем сравнения штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных с внешней стороны авторами вышеописанных работ, со штаммами, выделенными внутри МКС.

Кроме того, увеличение разнообразия бактерий может быть связано со стыковкой новых сегментов к РС МКС, таких как усовершенствованный многофункциональный лабораторный модуль «Наука», выведенный на орбиту 21 июля 2021 г., и узловой модуль «Причал», выведенный на орбиту 24 ноября 2021 г., даты которых выпадают на проведение 65-й и 66-й экспедиций.

Возможной причиной увеличения представленности видов из рода *Staphylococcus*, а также *Corynebacterium* и *Bifidobacterium* может быть развитие космического туризма. В работах по исследованию влияния космического полета на микробиом участков кожи и слизистых поверхностей 9 космонавтов в течение 6–12 мес пребывания на МКС было отмечено изменение соотношения микробного состава (уменьшение количества гамма- и бета-протеобактерий) с сопутствующим увеличением фирмикутов, в том числе стафилококков и стрептококков [19]. За последние 3 года на МКС отправились корабли «Союз МС-19» 5 октября 2021 г. с актрисой Юлией Пересильд и режиссером Климом Шипенко, «Союз МС-20» 8 декабря 2021 миллиардером Юсаку Маэдзавой и его режиссером Едзо Хирано, остальные космические туристы отправлялись на МКС на SpaceX AX-1 8 апреля 2022 г. и 21 мая 2023 г.

В представленных ранее данных о микробиологическом мониторинге за 14 предшествующих экспедиций обнаружено аналогичное количество родового и видового разнообразия, однако соотношение частоты встречаемости и распространения отдельных видов бактерий иное [20]. Так, согласно полученным ранее данным, в среде обитания МКС доминируют бактерии рода *Staphylococcus*, частота их обнаружения в пробах, взятых с поверхностей интерьера и оборудования, составляет 84 %, а представители рода *Bacillus* находятся на 2-м месте по встречаемости – 32 % [20]. Значительная доля рода *Staphylococcus*, по-видимому, обусловлена тем, что представители этого рода являются обычным компонентом микрофлоры кожных покровов человека [21–23], и следовательно

они естественным образом становятся обитателями и МКС. Бактерии рода *Bacillus* благодаря образованию спор способны выдерживать различные жесткие стрессовые условия окружающей среды, включая бактерицидную обработку [24].

Видовой состав бактерий, принадлежащих к роду *Bacillus*, отличался значительным разнообразием (рис. 3). В основном обнаруживался *B. licheniformis* (74 %), с начала 64-й экспедиции достаточно часто обнаруживался *B. megaterium* (12 %), следующий по частоте выделения вид *B. subtilis* (6 %), и в оставшиеся 8 % входили такие виды, как *B. endophiticus* (3 %), *B. vallismortis* (1 %), *B. amyloliquefaciens* (1 %), *B. kochii* (1 %), *B. oleronius* (1 %), *B. mycoides* (1 %).

Доминирование штаммов, принадлежащих виду *B. licheniformis*, свидетельствует об эволюционной пластичности этого вида, т. е. способности относительно легко адаптироваться к условиям обитания МКС. В проведенных нами экспериментах установлено, что *B. licheniformis* 24 обладает повышенной устойчивостью к действию различных стрессовых факторов [6]. Кроме того, *B. licheniformis* 24 в виде спор способен выдерживать экспозицию на внешней стороне МКС в течение 13, 18 [25] и 22 [26] месяцев. Эти данные подтверждают способность штаммов *B. licheniformis* к повышенной адаптации к космофизическим факторам.

Выводы

1. Изменения в составе бактериального сообщества МКС в период 46–67-й экспедиций характеризовались волнообразным ростом видового разнообразия бактерий. По мере увеличения срока службы

станции росло также и количество видов микроорганизмов, заселяющих поверхности декоративно-отделочных и конструкционных материалов.

2. Доминирующими видами этого комплекса бактерий всегда являлись представители родов *Staphylococcus* и *Bacillus*. За время исследований с 2016 по 2022 г. наблюдается увеличение представленности видов обоих родов.

3. Увеличение количества бактерий рода *Bacillus* может быть связано с их высокой устойчивостью к экстремальным факторам космического полета, включая ДНК-повреждающие факторы. По-видимому, такая устойчивость является результатом многолетней адаптации и внутривидовой изменчивости этих бактерий, происходящих под влиянием постоянно действующих физико-химических параметров среды обитания МКС. Увеличение количества стафилококков может быть связано с развитием космического туризма.

4. Дальнейшие исследования, направленные на понимание молекулярно-биологических механизмов устойчивости *Bacillus* к разнообразным космическим факторам, помогут на современном уровне оценить принципы функционирования микробного сообщества среды обитания пилотируемых космических комплексов и окажут неоценимую пользу в прогнозировании рисков, влияющих на экологическую безопасность продолжительных космических полетов.

Часть работы выполнена в ИМБП РАН в рамках диссертационной работы П.Д. Осиповой.

Часть работы выполнена в ИМБП РАН в рамках диссертационной работы Е.А. Жуковой.

Работа выполнена при финансовой поддержке бюджетной темы фундаментальных исследований FMFR-2024-0035.

В представленной работе не использовали животных в качестве объектов исследования.

Список литературы

1. Gioia J., Yerrapragada S., Qin X. et al. Paradoxical DNA repair and peroxide resistance gene conservation in *Bacillus pumilus* SAFR-032 // PLoS one. 2007. V. 2. № 9. e928.
2. Novikova N.D., Polikarpov N.A., Poddubko S.V., Deshevaya E.A. Proceedings of the 31st International Conference on Environmental Systems. Orlando, USA, 2001. P. 2001–2310.
3. Пирсон Д.Л., Мак Джиннис М.Р., Викторов А.Н. Микробиологическая обсемененность. Обитаемость космических летательных аппаратов. М., 1994. Т. 2. С. 127–152.
Pirson D.L., Mak Dzinnis M.R., Viktorov A.N. Microbiological contamination. Habitability of spacecrafts. Moscow, 1994. V. 2. P. 127–152.
4. Checinska Sielaff A., Singh N.K., Allen J.E. et al. Draft genome sequences of biosafety level 2 opportunistic pathogens isolated from the environmental surfaces of the International Space Station // Genome Announc. 2016. V. 4. № 6. e01263–01216.
5. Venkateswaran K., Singh N.K., Checinska Sielaff A. et al. Non-toxin-producing *Bacillus cereus* strains belonging to the *B. anthracis* clade isolated from the International Space Station // mSystems. 2017. V. 2. № 3. e00021–00017.
6. Карпов Д.С., Осипова П.Д., Домашин А.И. и др. Сверхустойчивость штамма *Bacillus licheniformis* 24 к окислительному стрессу ассоциирована со сверхэкспрессией генов ферментативной антиоксидантной системы // Мол. биология. 2020. V. 54. С. 858–871.
Karpov D.S., Osipova P.D., Domashin A.I. et al. Hyper-resistance of the *Bacillus licheniformis* 24 strain to oxidative stress is associated with overexpression of enzymatic antioxidant system genes // Molekulyarnaya biologiya. 2020. V. 54. P. 858–871.
7. Осипова П.Д., Карпов Д.С., Домашин А.И. и др. Молекулярные механизмы сверхустойчивости штамма *Bacillus pumilus* 25 к антибиотикам и окислительному стрессу // Авиакосм. и экол. мед. 2022. V. 56. № 6. С. 70–78.
Osipova P.D., Karpov D.S., Domashin A.I. et al. Molecular mechanisms of hyper-resistance of *Bacillus Pumilus* 25 strain to antibiotics and oxidative stress // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2022. V. 56. № 6. P. 70–78.
8. Осипова П., Карпов Д., Поддубко С. Молекулярные механизмы ответственной гиперустойчивости штаммов *Bacilli*, выделенных из Международной космической станции // FEBS Open Bio. 2021. V. 11. № S1. P. 115.
9. Aunins T.R., Erickson K.E., Prasad N. et al. Spaceflight modifies *Escherichia coli* gene expression in response to antibiotic exposure and reveals role of oxidative stress response // Front. in Microbiol. 2018. V. 9. P. 310.
10. Alekhova T.A., Aleksandrova A.A., Novozhilova T.Y. et al. Monitoring of microbial degraders in manned space stations // Appl. Biochem. and Microbiol. 2005. V. 41. № 4. P. 382–389.
11. Карпов Д.С., Домашин А.И., Котлов М.И. и др. Биотехнологический потенциал штамма *Bacillus subtilis* 20 // Мол. биология. 2020. Т. 54. С. 137–145.
Karpov D.S., Domashin A.I., Kotlov M.I. et al. Biotechnological potential of the *Bacillus subtilis* 20 strain // Molekulyarnaya biologiya. 2020. V. 54. P. 137–145.
12. Викторов А.Н., Новикова Н.Д. Особенности формирования микрофлоры на конструкционных материалах, используемых в обитаемых герметично-замкнутых помещениях // Косм. биология и медицина. 1985. Т. 2. С. 66–69.
Viktorov A.N., Novikova N.D. Characteristics of microflora formation on structural materials used in inhabited hermetically closed rooms // Kosmicheskaya biologiya i meditsina. 1985. V. 2. P. 66–69.
13. Fahim N.A.E., Ismail G.A.E., Abdelaleem M.B. et al. Identification, characterization and antibiotic susceptibility

testing for *Bacillus* species // Iran J. Microbiol. 2022. V. 14. № 4. P. 484–494.

14. Janiszewska D., Zloch M., Pomastowski P., Szultka-Mlynska M. Implications of sample preparation methods on the MALDI-TOF MS identification of spore-forming *Bacillus* species from food samples: a closer look at *Bacillus licheniformis*, *Peribacillus simplex*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Bacillus flexus*, and *Bacillus marisflavi* // ACS Omega. 2023. V. 8. № 38. P. 34982–34994.

15. Bijlani S., Singh N.K., Eedara V.V.R. et al. *Methylobacterium ajmalii* sp. nov., isolated from the International Space Station // Front. in Microbiol. 2021. V. 12. e639396.

16. Цыганков О.С., Гребенникова Т.В., Дешева Е.А. и др. Исследования мелкодисперсной среды на внешней поверхности Международной космической станции в эксперименте «Тест»: обнаружены жизнеспособные микробиологические объекты // Косм. техника и технология. 2015. Т. 1. № 8. С. 31–41.

Cygankov O.S., Grebennikova T.V., Deshevaya E.A. et al. Studies of a fine-dispersed environment on the outer surface of the International Space Station in the «Test» experiment: viable microbiological objects were found // Kosmicheskaya tekhnika i tekhnologiya. 2015. V. 1. № 8. P. 31–41.

17. Deshevaya E.A., Fialkina S.V., Shubralova E.V. et al. Survival of microorganisms during two-year exposure in outer space near the ISS // Sci. Rep. 2024. V. 14. № 1. P. 334.

18. Danko D., Malli Mohan G.B., Sierra M.A. et al. Characterization of spacesuit associated microbial communities and their implications for NASA missions // Front. in Microbiol. 2021. V. 12. e608478.

19. Voorhies A.A., Mark Ott C., Mehta S. et al. Study of the impact of long-duration space missions at the International Space Station on the astronaut microbiome // Sci Rep. 2019. V. 9. № 1. e9911.

20. Novikova N., De Boever P., Poddubko S. et al. Survey of environmental biocontamination on board the International Space Station // Res. Microbiol. 2006. V. 157. № 1. P. 5–12.

21. Byrd A.L., Belkaid Y., Segre J.A. The human skin microbiome // Nat. Rev. Microbiol. 2018. V. 16. № 3. P. 143–155.

22. Brown M.M., Horswill A.R. *Staphylococcus epidermidis* – skin friend or foe? // PLoS Pathog. 2020. V. 16. № 11. e1009026.

23. Di Domenico E.G., Cavallo I., Capitanio B. et al. *Staphylococcus aureus* and the cutaneous microbiota biofilms in the pathogenesis of atopic dermatitis // Microorganisms. 2019. V. 7. № 9. e301.

24. Cho W.I., Chung M.S. *Bacillus* spores: a review of their properties and inactivation processing technologies // Food Sci. Biotechnol. 2020. V. 29. № 11. P. 1447–1461.

25. Novikova N., Gusev O., Polikarpov N. et al. Survival of dormant organisms after long-term exposure to the space environment // Acta Astronaut. 2011. V. 68. № 9. P. 1574–1580.

26. Novikova N., Deshevaya E., Levinskikh M. et al. Study of the effects of the outer space environment on

dormant forms of microorganisms, fungi and plants in the 'Expose-R' experiment // Int. J. of Astrobiol. 2015. V. 14. № 1. P. 137–142.

Поступила 23.10.2023

DYNAMICS OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF THE MICROBIOME OF THE INTERNAL SURFACES OF THE INTERNATIONAL SPACE STATION FOR THE OBSERVATION PERIOD FROM 2016 TO 2022

Osipova P.J.¹, Karpov D.S.², Dymova A.A.¹, Shef K.A.¹, Zhukova E.A.¹, Kovalev M.A.², Polyakov N.B.^{3,4}, Soloviev A.I.³, Guridov A.A.¹, Zhukhovitsky V.G.^{3,5}, Poddubko S.V.¹

¹Institute of Biomedical Problems of Russian Academy of Sciences, Moscow

²Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow

³Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology of Ministry of Public Health of Russian Federation, Moscow

⁴Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of Russian Academy of Sciences, Moscow

⁵Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of Ministry of Public Health of Russian Federation, Moscow

Residents of the International Space Station (ISS) are various types of bacteria that can act as potential biodegraders of structural materials, which entails disruptions in the operation of various equipment and, indirectly, provoke medical risks and affect the health of crew members with reduced immunity. Since the beginning of ISS exploitation sanitary and microbiological monitoring of the habitat has been carried out for the purpose of timely detection and inactivation of potentially dangerous strains. The study was conducted to investigate the dynamics of the composition and number of bacterial strain species detected on the internal surfaces of the ISS interior and equipment for the period covering from Expedition 46 to Expedition 67 (2016–2022).

Samples collected from ISS interior surfaces were grown on nutrient media. Strains were identified by 16S RNA sequencing and MALDI-TOF analysis.

*The results obtained showed that the number of bacterial community species increases with the increase of the ISS RS operation period. However, this growth was not linear, but was a wave-like repetitive process of changing phases of activation and stagnation of the microbiome. During the period of work of Expeditions 46–67, species of the genera *Bacillus* and *Staphylococcus* dominated in the microbiome.*

Among representatives of the genus Bacillus, the species B. licheniformis dominated. The predominance of bacteria of this genus, apparently, is due to their high resistance to physical and chemical parameters of the ISS habitat, including DNA-damaging factors, such as increased radiation background, which, in turn, can be explained by their ability to spore formation. The results obtained once again indicate the high

evolutionary plasticity of B. licheniformis strains, which we discovered earlier in other studies.

Key words: International space station, *Bacillus*, *Staphylococcus*.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 47–54.

УДК 591.392

ВЛИЯНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ НА ОВАРИАЛЬНО-ГИПОФИЗАРНУЮ ОСЬ У МЫШЕЙ

Горбачева Е.Ю., Свентицкая М.А., Бирюков Н.С., Огнева И.В.

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

E-mail: iogneva@yandex.ru, iogneva@imbp.ru

С увеличением числа женщин, принимающих участие в реализации космических программ, исследование влияния факторов космического полета на женскую репродуктивную систему становится все более актуальной задачей.

Цель данной работы – определение толщины слоя клеток гранулезы, относительного содержания рецептора лютеинизирующего гормона (ЛГ) в антральных фолликулах яичников, ЛГ и относительного содержания цитоскелетных белков в гипофизе мышей после антиортостатического вывешивания в течение эстрального цикла.

Для определения относительного содержания белков использовали ПААГ-электрофорез с последующим иммуноблоттингом. Количество мРНК оценивали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией. Для определения толщины слоя гранулезы на срезах яичников проводили иммуногистохимический анализ (ИГХ-анализ).

Полученные результаты демонстрируют увеличение числа клеток гранулезы в антральных фолликулах мышей после 96-часового антиортостатического вывешивания, а также увеличение относительного содержания рецептора ЛГ и его мРНК. При этом уровень ЛГ в гипофизе не менялся, хотя мы наблюдали изменение содержания цитоскелетных белков в гипофизе: увеличение актин-связывающих белков (альфа-актинина-1 и -4) и уменьшение альфа-тубулина, а также его ацетилированной формы, что может приводить к изменению внутриклеточного транспорта ЛГ и его высвобождению в кровь.

Ключевые слова: микрогравитация, фолликул, лютеинизирующий гормон, гипофиз, цитоскелет

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 55–61.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-55-61

Исследование органов женской репродуктивной системы применительно к освоению околоземного пространства и, тем более, других тел Солнечной системы долгое время находилось вне первоочередных задач космической медицины. Такой подход был обоснован тем, что развитие жизнеугрожающих состояний в этой системе органов достаточно маловероятно. Кроме того, гендерный сдвиг в сторону мужского пола снижал актуальность подобных

исследований. Однако на сегодняшний день уже почти 70 женщин совершили как минимум один космический полет и в будущем, вероятно, тенденция к гендерному выравниванию будет более отчетливой. В то же время здоровое старение женского организма, в первую очередь, зависит от гормональной функции репродуктивной системы. Поэтому исследование влияния факторов космического полета на женскую репродуктивную систему становится все более актуальным.

Доступность данных о состоянии репродуктивной системы женщин до и после космического полета крайне ограничена, а неоднородность выборки, связанная с различным анамнезом, не дает возможности для сопоставления. Результаты, полученные в наземных экспериментах, проведенных с участием женщин-испытателей, также многочисленны. Так, после 17-суточной антиортостатической гипокинезии не было изменения длины менструального цикла [1], хотя в аналогичном исследовании авторы отмечали недостаточность лютеиновой фазы у 3 из 12 испытуемых путем измерения содержания прогестерона [2]. Другой общепринятой наземной моделью является «сухая» иммерсия и первая, с участием женщин-испытуемых, длительностью 3 сут состоялась в 2020 г. [3]. В следующем подобном эксперименте длительностью 5 сут было показано, что после пребывания в «сухой» иммерсии содержание анти-Мюллера гормона не меняется, но растет ингибин В, который продуцируется клетками гранулезы и может быть маркером увеличения их количества, тем более что размер антральных фолликулов и доминантного фолликула возрастают [4]. Также было отмечено снижение уровня прогестерона и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в крови, что, по нашему мнению, могло быть связано с увеличением захвата последнего из кровотока возросшим числом его рецепторов за счет увеличения числа клеток гранулезы [4], что требует экспериментального подтверждения.

Экспериментов *in vivo*, направленных на исследование репродуктивных тканей самок млекопитающих, экспонированных в условиях микрогравитации

с целью анализа механизмов развития наблюдаемых изменений, представлено крайне мало. После космического полета (миссии шаттлов STS-131, 133, 135), по данным Ronca A. et al., происходит остановка циклирования, потеря желтого тела и снижение экспрессии рецептора эстрогенов в матке [5]. Однако в недавнем исследовании эстрального цикла мышей и экспрессии генов яичников на борту Международной космической станции было показано, что мыши находятся в разных фазах эстрального цикла (10 мышей в летной группе: 6 – эструс, 4 – метаэструс), что, по мнению авторов, свидетельствует о сохранении цикличности и, соответственно, фертильности этих особей [6].

Наземной моделью для проведения такого рода исследований является антиортостатическое вывешивание по методу Ильина – Новикова в модификации Морей-Холтон [7], которое также используется для изучения женской репродуктивной системы в условиях моделируемой микрогравитации, в частности, созревания ооцитов [8], эпигенетической регуляции экспрессии генов в яичниках мышей [9, 10], гормональной регуляции в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе [11].

Основная цель работы – проверка предположения об увеличении числа клеток гранулезы и числа рецепторов к лютеинизирующему гормону в фолликулах мышей при антиортостатическом вывешивании в течение эстрального цикла. Более того, в гипофизе тех же особей мы определили содержание ЛГ и ряда основных цитоскелетных белков.

Методика

Организация эксперимента

Эксперимент проводили на яичниках и гипофизах половозрелых мышей линии BALB/c ($n = 14$). Эффекты невесомости воспроизводили с помощью стандартной модели антиортостатического вывешивания Ильина – Новикова в модификации Морей-Холтон [7]. Все животные находились в стандартных условиях, режим день/ночь составлял 12/12 ч, стандартный виварный корм и воду животные получали *ad libitum*. Вывешивание проводили в течение 96 ч, что примерно соответствовало полному эстральному циклу.

Животные были разделены случайным образом на две группы: контрольная группа – С ($n = 7$, $m = 27,9 \pm 0,6$ г) и группа антиортостатического вывешивания – HS ($n = 7$, $m = 27,1 \pm 0,9$ г).

Животных подвергали эвтаназии с помощью ингаляционного наркоза «Форан» (Эбботт, США), далее выделяли гипофизы и яичники, которые взвешивали, после чего ткани немедленно замораживали для последующего проведения иммуногистохимического анализа (ИГХ-анализ), выделения белка и мРНК.

Все процедуры с животными были одобрены Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (Протокол № 521 от 25 сентября 2019 г.).

Протокол ИГХ-анализа срезов яичников мыши

Срезы обоих яичников каждого животного, толщиной 15 мкм, блокировали в 4 % молоке и окрашивали первичными антителами к рецептору ЛГ (#PA5-21271, Thermo Fisher Scientific, Массачусетс, США) в течение ночи, в качестве вторичных антител использовали козы антитела против кролика с флуоресцентной меткой (#SAB3700884-2MG, Sigma-Aldrich, Миссури, США), которые выдерживали в течение 1 ч при комнатной температуре и отмывали в фосфатном буфере. Изображения получали с помощью инвертированного микроскопа IX73 (Olympus Corporation, Япония) с флуоресцентной системой. В контрольной группе анализировали 42 фолликула, в группе антиортостатического вывешивания – 46 фолликулов с помощью пакета Fiji (<https://imagej.net/Fiji>).

Протокол ПЦР с обратной транскрипцией

Для выделения тотальной мРНК использовали набор RNeasy MicroKit (Qiagen, Германия). Обратную транскрипцию проводили с 500 нг РНК и $d(T)_{15}$, используемого в качестве праймера с помощью набора для синтеза кДНК (Invitrogen, ThermoFisher Scientific, США). Для определения относительного содержания мРНК гена, кодирующего рецептор к ЛГ (Lhcgr), проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) (амплификатор Stratagene, США) в реальном времени с использованием праймера, подобранного с помощью Primer3Plus (табл. 1) с температурой гибридизации 60 °С. Специфичность праймеров контролировали по размеру продукта, кривой плавления и отрицательному контролю без кДНК. Для определения кратности изменения использовали метод $2(-\Delta\Delta C(T))$ [12] с нормализацией на H3f3a.

Протокол ПААГ-электрофореза и иммуоблоттинга

Белок выделяли из замороженных тканей гипофиза каждой группы, которые гомогенизировали в буфере Лэммли с коктейлем ингибиторов протеаз (Calbiochem, США). В соответствии с измеренными концентрациями в каждую лунку помещали одинаковое количество белка, денатурирующий электрофорез проводили на полиакриламидных гелях (BioRad Laboratories, USA). После разделения молекул методом электрофореза, осуществляли перенос на нитроцеллюлозную мембрану [13]. Для определения количества каждого белка использовали специфические первичные моноклональные антитела согласно табл. 2.

В качестве вторичных антител для обнаружения IgG мыши были использованы лошадиные антитела

Таблица 1

Последовательность праймеров и размер продуктов

Ген	Последовательность праймера, прямая/обратная (5'...3')	Размер продукта, пн
Lhcgr	CTGTTACCCCAAGACACTCCA/CAGGTAGAGCCCATGCAAA	232
H3f3a	CCTCGGTGTCAGCCATCTTT/GCCATGGTAAGGACACCTCC	140

Таблица 2

Первичные антитела

Первичные антитела	Молекулярная масса	Разведение	Производитель	Каталожный номер
Бета-актин	42 кДа	1:500	Santa Cruz Biotechnology, Inc., США	#sc-81178
Альфа-актинин-1	103 кДа	1:500	Santa Cruz Biotechnology, Inc., США	#sc-17829
Альфа-актинин-4	102 кДа	1:500	Santa Cruz Biotechnology, Inc., США	#sc-393495
Ацетилированный альфа-тубулин	55 кДа	1:500	Santa Cruz Biotechnology, Inc., США	#sc-23950
Альфа-тубулин	50 кДа	1:1000	Abcam, Великобритания	#ab52866

конъюгированные с пероксидазой хрена для хемилюминесцентного обнаружения (Cell Signaling Technology, Массачусетс, США #7076S) в разведении 1:10 000, для обнаружения IgG кролика – антитела козы конъюгированные с пероксидазой хрена (Cell Signaling Technology, Массачусетс, США #7074S) в разведении 1:10 000, далее мембраны обрабатывали субстратами SuperSignal™ West Femto Maximum Sensitivity Substrate (Thermo Scientific, США) и детектировали с помощью Gel Doc XR⁺ System (Bio-Rad, США). Полученные полосы белков анализировали с помощью пакета Fiji (<https://imagej.net/Fiji>).

Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась с помощью ANOVA с использованием апостериорного t-критерия с уровнем значимости $p < 0,05$ для оценки достоверности различий между группами. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm SE$). Все методы проводились в соответствии с соответствующими методическими указаниями и правилами.

Результаты и обсуждение

После 96-часового антиортостатического вывешивания массы животных контрольной и экспериментальной групп не отличалась ($27,9 \pm 0,6$ г vs. $27,1 \pm 0,9$ г), так же как и масса яичников ($9,6 \pm 0,8$ мг vs. $9,0 \pm 0,6$ мг).

После антиортостатического вывешивания толщина слоя клеток гранулезы (рис. 1, А и 1, Б) в

антральных фолликулах яичников мышей возрастала на 54 % ($p < 0,05$) (рис. 1, В). Растущий ооцит получает питательные вещества в первую очередь из клеток гранулезы, увеличение количества которых является хорошим прогностическим критерием относительно его качества [14]. Взаимодействие ооцита и окружающих его клеток определяет рост фолликула [15]. Можно полагать, что выдвинутое ранее предположение о росте доминантного фолликула после 5-суточной «сухой» иммерсии в результате увеличения слоев гранулезы становится более вероятным [4]. Рост гранулезы в фолликуле млекопитающих контролируется ооцитом путем продукции ростовых факторов, в первую очередь GDF9. Но в условиях космического полета его содержание у самок мышей не меняется [6], что оставляет вопрос о механизме активации деления клеток гранулезы открытым и требующим дальнейшего изучения.

В антральных фолликулах, по мере их роста, на клетках гранулезы появляются рецепторы к ЛГ, под действием которого происходит овуляция [16]. Умеренное увеличение экспрессии рецептора ЛГ на клетках гранулезы приводит к увеличению потенциала развития будущего эмбриона, в то время как увеличение более чем в 2.5 раза – этот потенциал снижает [17].

Полученные при иммуногистохимическом анализе данные (рис. 1, А; 1, Б; 1, Г), свидетельствуют о том, что относительная интенсивность флуоресценции специфичных к рецептору ЛГ антител увеличивается после вывешивания на 71 % ($p < 0,1$). Поскольку нормировку проводили на толщину слоя

клеток гранулезы, то можно предположить, что увеличивается и содержание рецепторов ЛГ на этих клетках. Действительно, данные показывают, что в экспериментальной группе HS содержание

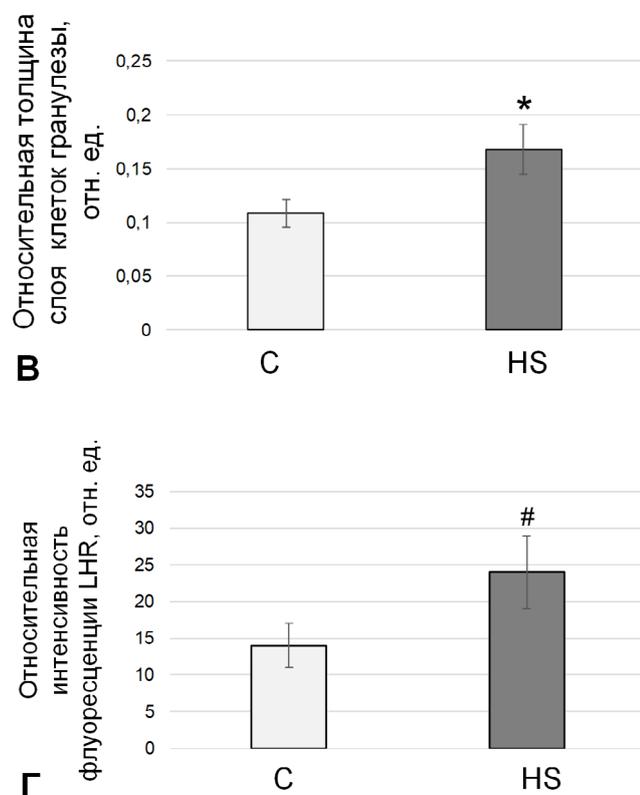
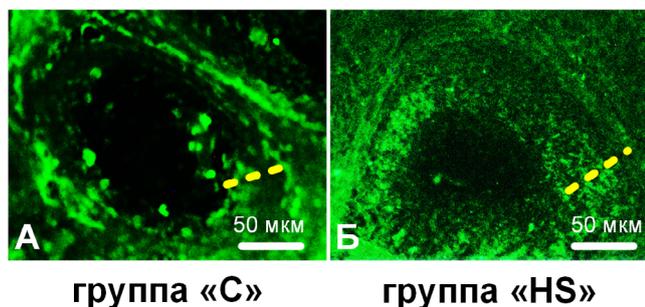


Рис. 1. Распределение рецептора ЛГ в клетках гранулезы антральных фолликулов яичников мыши после 96-часового антиортоstaticкого вывешивания: А – репрезентативное изображение среза яичников контрольной группы С, окрашенного антителами к рецептору ЛГ (LHR), Б – репрезентативное изображение среза яичников группы антиортоstaticкого вывешивания HS с аналогичной окраской. Желтой пунктирной линией обозначен слой клеток гранулезы; В – относительная толщина слоя клеток гранулезы; Г – относительная интенсивность флуоресценции рецептора ЛГ (LHR). С – контрольная группа, HS – группа антиортоstaticкого вывешивания. * – $p < 0,05$ относительно контрольной группы С. # – $p < 0,1$ относительно контрольной группы С

белка было выше на 66 % ($p < 0,05$), чем в контроле (рис. 2, А). Можно полагать, это увеличение связано с увеличением экспрессии кодирующего его гена, поскольку относительное содержание соответствующей мРНК было также выше в 2,1 раза ($p < 0,05$) (рис. 2, Б), что, согласно данным литературы, можно рассматривать как предиктор возрастания потенциала развития будущего эмбриона [17]. Однако остается неясным, с чем может быть связано увеличение экспрессии рецептора ЛГ в фолликулах мыши после 96-часового антиортоstaticкого вывешивания.

Регуляция содержания мРНК рецептора ЛГ находится под контролем его лиганда (ЛГ) по типу отрицательной обратной связи путем вовлечения РНК-стабилизирующего белка LRBP и его микроРНК miR-122 [18]. Поэтому мы предположили, что наблюдавшееся увеличение экспрессии мРНК рецептора ЛГ может быть связано со снижением продукции ЛГ гипофизом.

После 96-часового антиортоstaticкого вывешивания (примерно 1 эстральный цикл) самок мышей мы отметили снижение массы гипофиза на 32 % ($p < 0,05$), но содержание ЛГ в нем не изменилось (рис. 3). По данным Tou J. et al. [11] антиортоstaticкое вывешивание крыс в течение 38 суток (примерно 8 эстральных циклов) привело к снижению концентрации эстрадиола в крови, в то время как содержание гормонов гипофиза (ЛГ и ФСГ) как в крови, так и в гипофизе не менялось, хотя его масса также снижалась. Несмотря на сходство полученных результатов с данными литературы, следует отметить, что в экспериментах был использован разный вид грызунов и, наиболее значимо, длительность вывешивания была принципиально иной.

Существенным недостатком проведенного нами эксперимента являлось отсутствие экспериментальной возможности для определения концентрации ЛГ в крови (равно как и других гормонов), которая, как мы предполагаем, могла снижаться после вывешивания в течение одного эстрального цикла, также как у женщин-испытуемых после 5-суточной «сухой» иммерсии, которая совпадала с поздней фолликулярной фазой одного менструального цикла [4].

Лютеинизирующий гормон синтезируется гонадотропными клетками передней доли гипофиза, накапливается в секреторных везикулах и высвобождается в кровь путем регулируемого кальций-зависимого экзоцитоза [19], причем транспорт везикул к мембране и слияние с ней являются лимитирующими стадиями процесса секреции [20]. Поскольку содержание ЛГ в гипофизе остается неизменным после вывешивания, а экспрессия рецептора ЛГ в яичниках тем не менее растет, то, возможно, снижается секреция накопленного гормона в кровь.

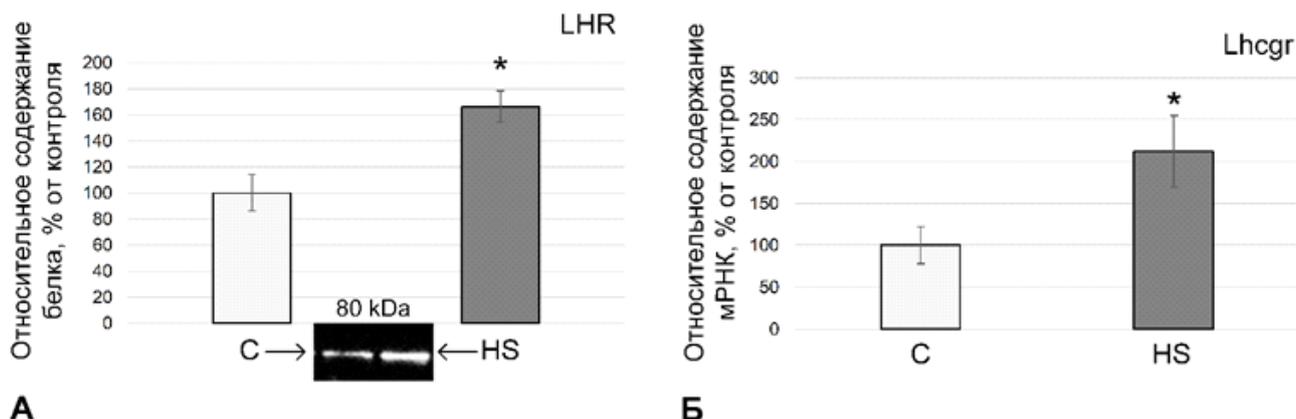


Рис. 2. Относительное содержание белка и мРНК рецептора ЛГ в яичниках мыши после 96-часового антиортостатического вывешивания: А – относительное содержание рецептора ЛГ в тканях яичников с типичным вестерн-блотом, Б – относительное содержание мРНК гена, кодирующего рецептор ЛГ (Lhcgr) в тканях яичников. С – контрольная группа, HS – группа антиортостатического вывешивания. * – $p < 0,05$ относительно контрольной группы С

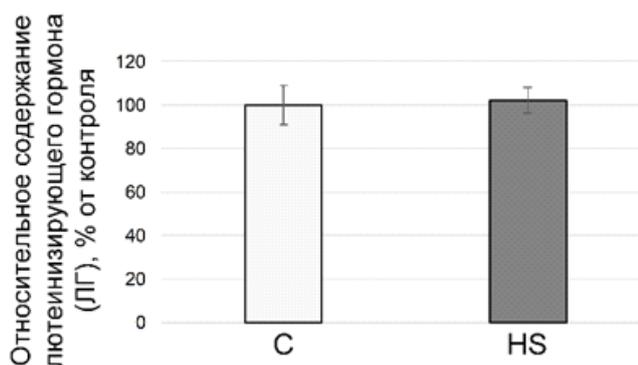


Рис. 3. Относительное содержание ЛГ в гипофизе мышей. С – контрольная группа, HS – группа антиортостатического вывешивания

Поэтому мы определили содержание основных цитоскелетных белков, участвующих в процессе экзоцитоза, в клетках гипофиза (рис. 4).

Относительное содержание бета-актина, основного компонента микрофиламентов, не менялось, в то время как содержание тубулина и его ацетилированной формы, являющейся маркером стабильных микротрубочек, снижалось на 40 % ($p < 0,05$) и 44 % ($p < 0,05$) соответственно, относительно контрольной группы (рис. 4). Оба этих компонента цитоскелета участвуют в везикулярном транспорте и снижение одного из них может приводить к уменьшению эффективности доставки везикул к мембране [21, 22]. Хотя, следует отметить, что внутриклеточный транспорт является лимитирующим звеном базальной секреции ЛГ, не индуцированной гонадотропным релизинг-гормоном [23].

С другой стороны, содержание актин-связывающих белков, альфа-актина-1 и альфа-актина-4 было выше на 64 % ($p < 0,05$) и 49 % ($p < 0,05$) соответственно, по сравнению с контрольной группой. Полученные нами ранее данные на различных типах клеток свидетельствуют о том, что увеличение содержания этих белков ассоциировано с увеличением жесткости клеточной мембраны [24], которое, в свою очередь, снижает динамику процессов экзоцитоза [25].

Таким образом, суммируя полученные результаты, можно предположить, что 96-часовое антиортостатическое вывешивание приводит к увеличению числа клеток гранулы в фолликулах мышей. Более того, в клетках гранулы увеличивается содержание рецептора ЛГ. Содержание соответствующей мРНК также возрастает, но его оценивали в целом яичнике, что является одним из ограничений данного исследования. Поскольку регуляция синтеза рецептора ЛГ в яичниках осуществляется по типу отрицательной обратной связи его лигандом – ЛГ, то можно было предположить снижение содержания ЛГ в гипофизе. Однако это предположение не нашло подтверждения – содержание ЛГ в гипофизе не менялось, однако изменение профиля цитоскелетных белков в гипофизе позволяет выдвигать гипотезы об изменении внутриклеточного транспорта ЛГ и динамики его секреции в кровь в результате антиортостатического вывешивания мышей в течение 96 часов (примерно одного эстрального цикла).

Следует отметить, что в рамках проведенного исследования мы не определяли фазу эстрального цикла мышей перед началом эксперимента. Принятая для этой цели методика, по нашему мнению, может приводить к формированию стрессового

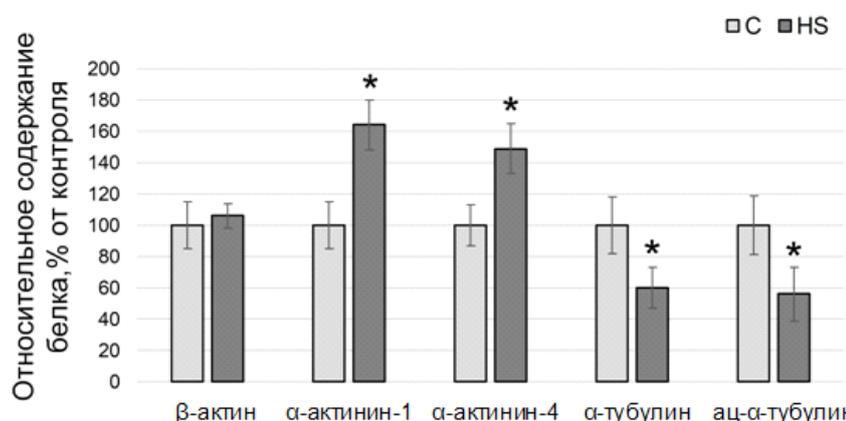


Рис. 4. Относительное содержание цитоскелетных белков в тканях гипофиза после 96-часового антиортостатического вывешивания.

β-актин – основной белок микрофиламентов, α-актинин-1 и -4 – изоформы актин-связывающего белка, α-тубулин – основной белок микротрубочек, ац-α-тубулин – ацетилированная форма альфа-тубулина (маркер стабильных микротрубочек).

С – контрольная группа, HS – группа антиортостатического вывешивания.

* – $p < 0,05$ относительно контрольной группы С

ответа и, таким образом, влиять на результаты эксперимента, продолжительность которого составляла всего 96 часов. Существенно более длительный эксперимент на МКС показал, что циклирование мышей не останавливается [6] и, кроме того, женщины совершают космические полеты как длинные, так и короткие, что соответствует разным фазам цикла в случае, если они его не останавливают. Тем не менее отсутствие данных о фазе цикла в нашем исследовании является его ограничением.

Выводы

В результате антиортостатического вывешивания самок мышей в течение примерно одного эстрального цикла (96 часов) наблюдали:

- увеличение слоев клеток гранулезы в фолликулах;
- увеличение содержания рецептора ЛГ в яичниках;
- изменение профиля цитоскелетных белков в клетках гипофиза при неизменном содержании ЛГ.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН FMFR-2024-0041.

Список литературы

1. Sandler H., Winters D. Physiological Responses of Women to Simulated Weightlessness. A Review of the

Significant Findings of the First Female Bed Rest Study (NASA SP-340) NASA Scientific and Technical Information Office; Washington DC, USA: 1978.

2. Rock J.A., Fortney S.M. Medical and surgical considerations for women in spaceflight // *Obstet Gynecol Surv.* 1984. V. 39. № 8. P. 525–35. doi: 10.1097/00006254-198408000-00022.

3. Tomilovskaya E., Amirova L., Nosikova I., Rukavishnikov I., Chernogorov R., Lebedeva S., Saveko A., Ermakov I., Ponomarev I., Zelenskaya I., Shigueva T., Shishkin N., Kitov V., Riabova A., Brykov V., Abu Sheli N., Vassilieva G., Orlov O. The First Female Dry Immersion (NAIAD-2020): Design and Specifics of a 3-Day Study // *Front Physiol.* 2021. V. 12. P. 661959. doi: 10.3389/fphys.2021.661959.

4. Gorbacheva E.Y., Toniyan K.A., Biriukova Y.A., Lukicheva N.A., Orlov O.I., Boyarintsev V.V., Ogneva I.V. The State of the Organs of the Female Reproductive System after a 5-Day «Dry» Immersion // *Int J Mol Sci.* 2023. V. 24. № 4. P. 4160.

doi: 10.3390/ijms24044160

5. Ronca A.E., Baker E.S., Bavendam T.G., Beck K.D., Miller V.M., Tash J.S., Jenkins M. Effects of sex and gender on adaptations to space: reproductive health // *J Womens Health (Larchmt).* 2014. V. 23. № 11. P. 967–74. doi: 10.1089/jwh.2014.4915.

6. Hong X., Ratri A., Choi S.Y., Tash J.S., Ronca A.E., Alwood J.S., Christenson L.K. Effects of spaceflight aboard the International Space Station on mouse estrous cycle and ovarian gene expression // *NPJ Microgravity.* 2021. V. 7. № 1. P. 11. doi: 10.1038/s41526-021-00139-7.

7. Morey-Holton E., Globus R.K., Kaplansky A., Durnova G. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data // *Adv Space Biol Med.* 2005. V. 10. P. 7–40. doi: 10.1016/s1569-2574(05)10002-1.

8. Wu C., Guo X., Wang F., Li X., Tian X.C., Li L., Wu Z., Zhang S. Simulated microgravity compromises mouse oocyte maturation by disrupting meiotic spindle organization and inducing cytoplasmic blebbing // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 7. P. e22214. doi: 10.1371/journal.pone.0022214.

9. Usik M.A., Ogneva I.V. The regulation of the DNA methylation in the ovaries of mice under 23-days antiorthostatic suspension // *Front. Physiol. Conference Abstract: 39th ISGP Meeting & ESA Life Sciences Meeting.* P. 88–91. doi: 10.3389/conf.fphys.2018.26.00004.

10. Усик М.А., Бирюков Н.С., Жданкина Ю.С., Огнева И.В. Организация цитоскелета в яичниках мышей после 23-суточного антиортостатического вывешивания // *Авиакосмическая и экологическая медицина.* 2019. Т. 53. № 2. С. 1–3.

Usik M.A., Birjukov N.S., Zhdankina Ju.S., Ogneva I.V. Organization of the cytoskeleton in the ovaries of mice after 23-day antiorthostatic hanging // *Aviakosmicheskaja i jekologicheskaja medicina*. 2019. T. 53. № 2. С. 1–3.

11. Tou J.C., Grindeland R.E., Wade C.E. Effects of diet and exposure to hindlimb suspension on estrous cycling in Sprague-Dawley rats // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004. V. 286. № 3. P. E425–33. doi: 10.1152/ajpendo.00287.2003.

12. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C(T)} method // *Methods*. 2001. V. 2. P. 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.

13. Towbin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979. V. 76. № 9. P. 4350–4354.

14. Fan W., Yuan Z., Li M., Zhang Y., Nan F. Decreased oocyte quality in patients with endometriosis is closely related to abnormal granulosa cells // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023. V. 16. № 14. P. 1226687. doi: 10.3389/fendo.2023.1226687.

15. Edson M.A., Nagaraja A.K., Matzuk M.M. The mammalian ovary from genesis to revelation // *Endocr Rev*. 2009. V. 30. № 6. P. 624–712. doi: 10.1210/er.2009-0012.

16. Yding Andersen C. Inhibin-B secretion and FSH isoform distribution may play an integral part of follicular selection in the natural menstrual cycle // *Mol Hum Reprod*. 2017. V. 23. № 1. P. 16–24. doi: 10.1093/molehr/gaw070.

17. Maman E., Yung Y., Kedem A., Yerushalmi G.M., Konopnicki S., Cohen B., Dor J., Hourvitz A. High expression of luteinizing hormone receptors messenger RNA by human cumulus granulosa cells is in correlation with decreased fertilization // *Fertil Steril*. 2012. V. 97. № 3. P. 592–8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.12.027.

18. Menon K.M.J., Menon B., Gulappa T. Regulation of Luteinizing Hormone Receptor mRNA Expression in the Ovary: The Role of miR-122 // *Vitam Horm*. 2018. V. 107. P. 67–87. doi: 10.1016/bs.vh.2018.01.010.

19. McNeilly A.S., Crawford J.L., Taragnat C., Nicol L., McNeilly J.R. The differential secretion of FSH and LH: regulation through genes, feedback and packaging // *Reprod Suppl*. 2003. V. 61. P. 463–76.

20. Constantin S., Bjelobaba I., Stojilkovic S.S. Pituitary gonadotroph-specific patterns of gene expression and hormone secretion // *Curr Opin Pharmacol*. 2022. V. 66. P. 102274. doi: 10.1016/j.coph.2022.102274.

21. Young L.S., Naik S.I., Clayton R.N. Pituitary gonadotrophin-releasing hormone receptor up-regulation in vitro: dependence on calcium and microtubule function // *J Endocrinol*. 1985. V. 107. № 1. P. 49–56. doi: 10.1677/joe.0.1070049.

22. Miklavc P., Frick M. Actin and Myosin in Non-Neuronal Exocytosis // *Cells*. 2020. V. 9. № 6. P. 1455. doi: 10.3390/cells9061455.

23. McIntosh R.P., McIntosh J.E., Starling L. Effects of modifiers of cytoskeletal structures on the dynamics of release of LH from sheep anterior pituitary cells stimulated

with gonadotrophin-releasing hormone, K+ or phorbol ester // *J Endocrinol*. 1987. V. 112. 3 № 2. P. 289–98. doi: 10.1677/joe.0.1120289.

24. Ogneva I.V. Cell mechanosensitivity: mechanical properties and interaction with gravitational field // *Biomed Res Int*. 2013. V. 2013. P. 598461. doi: 10.1155/2013/598461.

25. Wu L., Courtney K.C., Chapman E.R. Cholesterol stabilizes recombinant exocytic fusion pores by altering membrane bending rigidity // *Biophys J*. 2021. V. 120. № 8. P. 1367–1377. doi: 10.1016/j.bpj.2021.02.005.

Поступила 04.12.2023

EFFECT OF SHORT-TERM TAIL-SUSPENSION ON THE HYPOTHALAMIC-OVARIAN AXIS IN MICE

Gorbacheva E.Yu., Sventitskaya M.A., Biryukov N.S., Ogneva I.V.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

With the increasing number of women-participants in piloted space programs, investigations of spaceflight effects on the female reproductive system are becoming vital.

Purpose of the work is to determine thickness of the granulosa cells layer relative to the content of the luteinizing hormone (LH) receptor in antral follicles of the ovary, LH and a relative content of cytoskeletal proteins in the hypophysis of mice following suspension during the estrous cycle.

SDS-PAGE and immunoblotting were used to define the relative proteins content. mRNAs were counted using RT-PCR. IHA was performed to measure thickness of the granulosa cells layer in ovarian sections.

The results demonstrate an increase in the number of granulosa cells in the antral follicles of mice after 96-hr suspension, as well as in the relative content of the LH receptor and its mRNAs. However, the LH level in the hypophysis did not alter, even though we observed some changes in the content of cytoskeletal proteins, namely, an increase in the actin-binding proteins (alpha actinin 1 and 4) and a decrease in alpha tubulin and its acetylated form suggesting, probably, modification of the intracellular LH transport and release into blood.

Key words: microgravity, follicle, luteinizing hormone, hypophysis, cytoskeleton.

Aviakosmicheskaja i Ekologicheskaja Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 55–61.

УДК 613.693+57.084+612.222:661.939

КОРРЕКЦИЯ КИСЛОРОДНОГО ГОЛОДАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭФФЕКТОВ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ОСТРОЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, С ПОМОЩЬЮ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ ГАЗОВОЙ СМЕСИ НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ ИНЕРТНЫХ ГАЗОВ

Солдатов П.Э., Носовский А.М., Тюрин-Кузьмин А.Ю., Шулагин Ю.А.

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

E-mail: soldatov@imbp.ru

При острой дыхательной недостаточности (ОДН) с развитием гипоксемии и гиперкапнии необходимо проведение оксигенотерапии. Избежать нежелательных эффектов оксигенотерапии позволяет гелиоокислородная терапия. Для уменьшения влияния гипоксии на организм ранее нами была показана эффективность введения в дыхательную газовую смесь (ДГС) инертного газа аргона.

Цель работы – оценка возможности коррекции кислородного голодания в острых экспериментах на животных при моделировании эффектов, вызываемых ОДН, с помощью многокомпонентной ДГС на основе комбинации инертных газов.

Моделирование острой гиперкапнической ОДН как в контроле, так и в опыте использовалась ДГС с пониженным содержанием кислорода и высокой концентрацией углекислого газа. В контрольном эксперименте моделировалась обычная кислородная терапия гипероксической кислородно-азотной ДГС, но с добавлением углекислого газа. Для моделирования оксигенотерапии ОДН гипероксической ДГС на основе инертных газов был предложен состав с повышенным содержанием кислорода на основе гелия и аргона с добавлением углекислого газа, что также учитывало необходимость сохранения состояния гиперкапнии.

Эксперимент проведен на 14 лабораторных крысах линии Wistar массой $276 \pm 14,6$ г. Эксперимент состоял из контрольной и опытной серий, по 7 опытов в серии. Для регистрации физиологических показателей использована комплексная неинвазивная методика оценки звеньев транспорта кислорода и его потребления в масштабе реального времени. Каждый опыт проводился индивидуально на каждом животном.

Результаты с большой достоверностью указывают на то, что опытная гипероксическая ДГС на основе гелия и аргона способствует снижению нагрузки на систему внешнего дыхания, более эффективному использованию кислорода в тканях, но за счет увеличения нагрузки на сердечно-сосудистую систему. При использовании контрольной гипероксической ДГС система внешнего дыхания испытывает высокую нагрузку, но работа сердечной мышцы облегчается.

Ключевые слова: острая гиперкапническая дыхательная недостаточность, моделирование на животных, инертные газы.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 62–67.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-62-67

Дыхательная недостаточность — это состояние организма, при котором ограничены возможности как легких, так и мышечного аппарата вентиляции легких для обеспечения нормального газового состава артериальной крови. Она может быть острой (ОДН) и хронической. ОДН развивается в течение минут, часов или дней.

При ОДН с развитием гипоксемии и гиперкапнии (код по МКБ 10 J96) необходима интенсивная терапия. При этом следует учитывать, что многочасовое, тем более многосуточное применение 100%-ного кислорода повреждает дыхательные пути и альвеолы, а также нарушает метаболизм. Поэтому не следует использовать дыхательную концентрацию O_2 свыше 40 % [1].

Избежать нежелательных эффектов оксигенотерапии и значительно облегчить состояние больных позволяет гелиоокислородная терапия. К настоящему времени подтверждена эффективность и безопасность применения смеси гелия и кислорода в соотношении 70 %/30 % при различных легочных заболеваниях, так или иначе сопровождающихся ОДН – обструкции верхних дыхательных путей [2, 3], бронхиальной астме [4], пневмонии [5]. Следует оговориться, что эффективность применения смеси гелия и кислорода подтверждается главным образом описанием отдельных клинических случаев.

В России разработаны несколько нормативных документов по применению подогретой гелиоокислородной смеси при лечении больных дыхательной недостаточностью [6]. Гелиокситерапия может с успехом применяться и при COVID-19, учитывая, что в 70 % смертельных случаев причиной смерти является дыхательная недостаточность с тяжелой гипоксемией [7, 8].

Ранее в нашем институте была показана эффективность введения в ДГС инертного газа аргона для уменьшения влияния гипоксии на организм [9–12].

Цель работы – оценка возможности коррекции кислородного голодания в острых экспериментах на животных при моделировании эффектов, вызываемых дыхательной недостаточностью, с помощью многокомпонентной газовой смеси на основе комбинации инертных газов.

Методика

Для экспериментов по моделированию острой гиперкапнической ОДН как в контроле, так и в опыте использовалась дыхательная газовая смесь (ДГС) с пониженным содержанием кислорода и высокой концентрацией углекислого газа.

В контрольном эксперименте моделировалась обычная кислородная терапия гипероксической кислородно-азотной ДГС, но с добавлением 6,1–6,4 % углекислого газа с учетом его содержания в альвеолярном воздухе при ОДН, что учитывало необходимость сохранения состояния гиперкапнии.

Для моделирования оксигенотерапии ОДН гипероксической ДГС на основе инертных газов был предложен состав с повышенным содержанием кислорода на основе гелия и аргона с добавлением углекислого газа, что также учитывало необходимость сохранения состояния гиперкапнии.

Проведен эксперимент на 14 лабораторных крысах линии Wistar массой 276 ± 14 г, полученных из вивария института. Эксперимент состоял из контрольной и опытной серий по 7 опытов в серии.

Для регистрации физиологических показателей использована разработанная на предыдущих этапах работы комплексная неинвазивная методика оценки звеньев транспорта кислорода и его потребления в масштабе реального времени: основные параметры внешнего дыхания и транспорта кислорода к тканям; оксигенация периферических тканей; содержание O_2 и CO_2 в выдыхаемом воздухе.

Каждый опыт проводился индивидуально на одном животном. Для мягкой фиксации подопытных крыс применялся рестрейнер, использующий ночной рефлекс, что снижало неизбежный стресс. На стопу животного прикреплялся пульсоксиметрический датчик. Оптический датчик оксигенации периферических тканей фиксировался на основании хвоста. Оптический инфракрасный датчик для регистрации частоты дыхания не контактировал с телом животного и закреплялся на внешней стороне рестрейнера в области грудной клетки. После закрепления датчиков рестрейнер с подопытным животным помещался в герметичную камеру малого объема (9,7 л).

Запись физиологических показателей производилась в течение всего опыта. Методика подробно описана ранее [13].

Экспериментальные воздействия осуществлялись путем подачи для дыхания в камеру с подопытным животным заранее подготовленных газовых смесей.

Состав экспериментальных смесей представлен в таблице.

Скорость подачи ДГС составляла 1,2 л/мин. Каждый опыт продолжался 3,5 ч. Последовательность подачи ДГС и временные параметры каждого опыта для наглядности показаны по кислородному профилю на рис. 1.

Были проанализированы следующие показатели: BF – частота дыхания, мин^{-1} ; HR – частота сердечных сокращений, мин^{-1} ; TotalHb – общий гемоглобин тканевой как показатель кровенаполнения тканей, усл. ед.; OxyHb – оксигемоглобин тканевый, усл. ед.; DoxyHb – дезоксигемоглобин тканевый, усл. ед.; StO_2 – насыщение кислородом тканей, усл. ед.; VO_2 – скорость потребления кислорода, мл/кг; VCO_2 – скорость выделения диоксида углерода, мл/кг; RQ – дыхательный коэффициент.

Статистический анализ проводился по методу графического дисперсионного анализа для малых групп по Шеффе [14]. Метод реализован в пакете Statistica13.

Таблица

Газовый состав и основные физические свойства использованных в эксперименте дыхательных смесей

Дыхательная газовая смесь	Газовый состав, % об.					Физические свойства	
	O_2	N_2	CO_2	Ar	He	Плотность, г/л	Теплопроводность, Вт/(м·К) при 0 °С
Воздух	20,8	78,0	0,003	0,95	-	1,29	2,41
Гипоксическая ДГС для моделирования ОДН	8,16	85,44	6,38	0,03	-	1,31	2,37
Гипероксическая ДГС контрольная	34,33	59,38	6,26	0,04	-	1,35	2,37
Гипероксическая ДГС экспериментальная	33,68	1,74	6,10	34,85	29,73	1,30	5,73

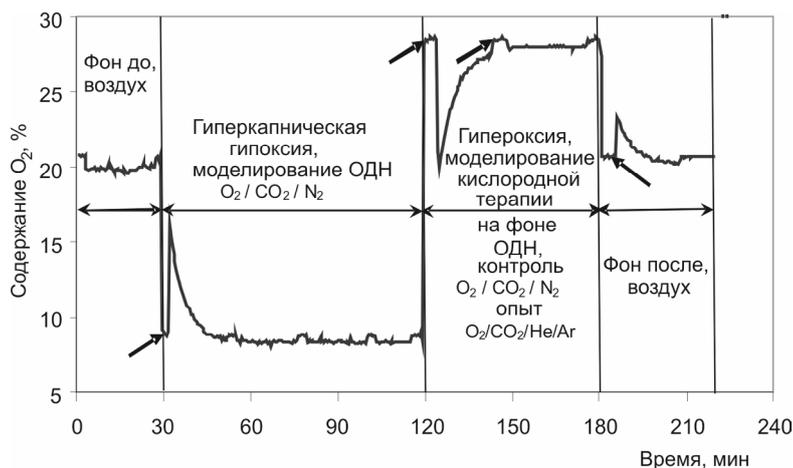


Рис. 1. Динамика содержания кислорода в модельных опытах по оценке возможности кислородной терапии ОДН ДГС с добавлением инертных газов.

Жирными стрелками указаны места подачи ДГС сравнения

Программа эксперимента была одобрена на заседании Комиссии по биоэтике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 449 от 24.04.2017 г.).

Результаты и обсуждение

На рис. 2 представлены основные результаты оценки состояния системы кислородообеспечения организма при моделировании острой кислородной недостаточности и ее кислородной терапии в сочетании с использованием инертных газов.

Приведены значения оцениваемых показателей на разных стадиях опыта в 5-минутном интервале:

– «фон до», через 20÷25 мин дыхания воздухом (20÷25-я минута опыта соответственно);

– «гипоксия», одинаковая как в контрольной, так и в опытной серии, через 40, 55, 70 и 85 мин дыхания гипоксической гиперкапнической ДГС (70, 85, 100 и 115-я минута опыта соответственно);

– «гипероксия», через 40 и 55 мин дыхания гипероксической гиперкапнической контрольной на основе азота или экспериментальной ДГС на основе инертных газов (160-я и 175-я минута опыта соответственно)

– «фон после», через 30-40 мин дыхания воздухом после окончания всех воздействий (215-я минута опыта соответственно).

Для ориентировки по стадиям опыта – «фон до – гипоксия – гипероксия – фон после» и соответствующей шкале времени, одинаковой для всех представленных показателей, на верхней части рисунка показан кислородный профиль опыта.

Результаты измерений при воздействии на подопытных животных гипоксической гиперкапнической ДГС (до 120-й минуты опыта) приведены для

наглядного представления о динамике исследуемых показателей при моделировании собственно ОДН.

Полученные данные представлены в виде средних значений исследуемых показателей с 95%-ным доверительным интервалом, который покрывает исследуемый параметр с указанной вероятностью и более предпочтителен при небольшом объеме выборки, чем точечная его оценка. Различия показателей являются статистически достоверными только в случае, если среднее значение показателя графически не попадает в доверительный интервал сравниваемой величины.

Частота записи при регистрации пульсовой волны составляла 1 кГц при максимально возможной частоте сердечных сокращений у млекопитающих, равной 600 мин⁻¹ (10 Гц) [15], что позволяет полностью описать форму пульсовой волны.

Из формы пульсовой волны можно извлечь различную информацию о деятельности сердца и сосудов. Одним из таких параметров является крутизна переднего фронта, характеризующая сократимость миокарда (преимущественно левого желудочка сердца), суммарную жесткость магистральных артерий, а также «динамическую» нагрузку на стенки сосудов во время прохождения пульсовой волны [16]. Поскольку свойства сосудов у подопытных животных в наших опытах не могли измениться за время опыта, то этот параметр напрямую отражает сократимость левого желудочка. Снижение сократительной способности указывает на увеличение конечного систолического объема и тем самым на уменьшение ударного объема сердца [17].

Из представленных данных следует, что оксигенация периферических тканей в опытной серии достоверно ниже, чем в контрольной.

Однако такой показатель, как потребление O₂ в начале периода имитации кислородной терапии в опытной серии, значительно выше контрольных значений, а в конце гипероксического воздействия становится равным потреблению кислорода в контрольной серии.

Частота дыхания во второй трети периода имитации кислородной терапии (через 40 мин) в опытной серии ниже, чем в контрольной, что свидетельствует о меньшей нагрузке на систему внешнего дыхания, хотя в конце она становится выше, чем в контроле. Однако частота сердечных сокращений в опыте выше, а сократительная способность миокарда (как показатель сердечного выброса) ниже, чем в контроле.

В результате минутный объем кровообращения одинаков в опыте и контроле, о чем также показывает равенство кровенаполнения периферических

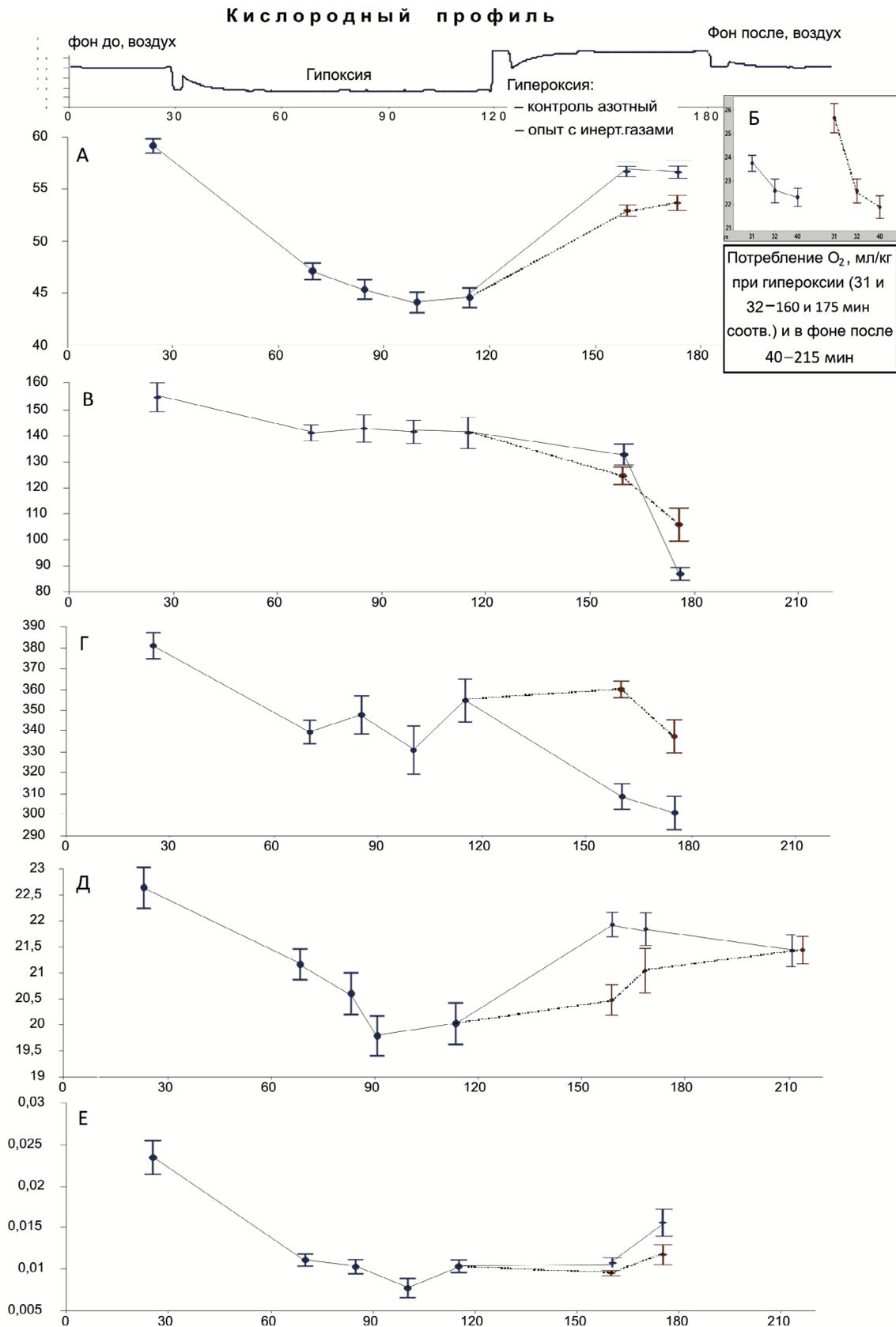


Рис. 2. Оксигенация периферических тканей (А), потребление O_2 (Б), ЧД (В), ЧСС (Г), кровенаполнение тканей (Д), сократительная способность миокарда (Е). Вверху показан кислородный профиль опыта. Значения в опыте – пунктирная линия. Представлены средние значения исследуемых показателей с 95%-ным доверительным интервалом

тканей. Это обстоятельство может свидетельствовать о большей нагрузке на сердечно-сосудистую систему в опытной серии.

Выводы

1. Результаты экспериментальной оценки возможности коррекции кислородного голодания в острых экспериментах на животных при моделировании эффектов, вызываемых дыхательной недостаточностью, с помощью многокомпонентной газовой смеси на основе комбинации инертных газов указывают на то, что опытная гипероксическая ДГС на основе гелия и аргона способствует снижению нагрузки на систему внешнего дыхания, по крайней мере во второй трети гипероксического воздействия, и более эффективному использованию кислорода в тканях, но это происходит за счет увеличения нагрузки на сердечно-сосудистую систему для поддержания адекватного минутного объема кровообращения.

2. При использовании контрольной гипероксической ДГС на основе азота (имитация обычной кислородной терапии на фоне ОДН) система внешнего дыхания испытывает высокую нагрузку, но работа сердца облегчается.

Работа выполнена в рамках фундаментальных исследований по базовой тематике РАН FMFR-2024-0038.

Список литературы

1. Зильбер А.П. Этюды респираторной медицины. М., 2007.

Zil'ber A.P. Sketches of respiratory medicine. Moscow, 2007.

2. Boorstein J.M., Boorstein S.M., Humphries G.N., Johnston C.C. Using helium-oxygen mixtures in the emergency management of acute upper airway obstruction // *Ann. of Emerg. Med.* 1989. V. 18. № 6. P. 688–690.

3. Kirkby S., Robertson M., Evans L. et al. Helium-oxygen mixture to facilitate ventilation in patients with bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation // *Respir. Care.* 2013. V. 58. № 4. P. 42–46.

4. Colebourn C.L., Barber V., Young J.D. Use of helium-oxygen mixture in adult patients presenting with exacerbations of asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review // *Anaesthesia.* 2007. V. 62. № 1. P. 32–42.

5. Павлов Б.Н., Плаксин С.Е., Бойцов С.А. Методика Лечение подогреваемыми кислородно-гелиевыми смесями острых воспалительных и бронхо-обструктивных заболеваний легких с помощью аппарата «Ингалит»: Утверждена ФУ МБЭП при МЗ РФ 26.01.2001. М., 2001.

Pavlov B.N., Plaskin S.E., Boytsov S.A. Methods of treatment with heated oxygen-helium mixtures of acute

inflammatory and broncho-obstructive pulmonary diseases using the «Ingalit» apparatus: Approved by the FU MBEP under the Ministry of Health of the Russian Federation on January 26, 2001. Moscow, 2001.

6. Протокол лечения термическим гелиоксом (t-He/O₂) больных с синдромом острой и обострением хронической дыхательной недостаточности // Российское Респираторное Общество, 15 октября 2018 г. / А.Г. Чучалин, ред.

Treatment protocol with thermal heliox (t-He/O₂) for patients with acute and exacerbation of chronic respiratory failure syndrome // *Russian Respiratory Society*, October 15, 2018 / A.G. Chuchalin, ed.

7. Александрова Н.П. Патогенез дыхательной недостаточности при коронавирусной болезни (COVID-19) // *Интегративная физиология.* 2020. Т. 1. № 4. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-285-293.

Aleksandrova N.P. Pathogenesis of respiratory failure in coronavirus disease (COVID-19) // *Integrativnaya fiziologiya.* 2020. V. 1. № 4. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-285-293.

8. Временные методические рекомендации профилактики, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 12 (21.09.2021): Утверждены заместителем министра здравоохранения Российской Федерации Е.Г. Камкиным. М., 2001. С. 125–127.

Temporary guidelines for prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Version 12 (09/21/2021): Approved by the Deputy Minister of Health of the Russian Federation E.G. Kamkin. Moscow, 2001. P. 125–127.

9. Солдатов П.Э., Дьяченко А.М., Павлов Б.Н. и др. Выживаемость лабораторных животных в аргон-содержащих гипоксических газовых смесях // *Авиакосм. и экол. мед.* 1998. Т. 32. № 4. С. 33–37.

Soldatov P.E., D'yachenko A.M., Pavlov B.N. et al. Survival of animals in argon-containing hypoxic gaseous environments // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 1998. V. 32. № 4. P. 33–37.

10. Солдатов П.Э., Смирнов И.А., Смоленская Т.С. Метод коррекции гипоксических состояний организма с использованием физиологически активных газовых смесей на основе аргона // *Авиакосм. и экол. мед.* 2007. Т. 41. № 6/1. P. 64–66.

Soldatov P.E., Smirnov I.A., Smolenskaya T.S. Method for correcting hypoxic conditions of the body using physiologically active gas mixtures based on argon // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2007. V. 41. № 6/1. P. 33–37.

11. Вдовин А.В., Ноздрачева Л.В., Павлов Б.Н. Показатели энергетического метаболизма мозга крыс при дыхании гипоксическими смесями, содержащими азот или аргон // *Бюл. exper. биологии и медицины.* 1998. № 6. С. 618–619.

Vdovin A.V., Nozdracheva L.V., Pavlov B.N. Indicators of the energy metabolism of the rat brain when breathing hypoxic mixtures containing nitrogen or argon // *Byulleten'*

eksperimental'noy biologii i meditsiny. 1998. № 6. P. 618–619.

12. Smit K.F., Weber N.C., Hollmann M.W., Precke B. Noble gases as cardioprotectants – translatability and mechanism // Brit. J. of Pharmacol. 2015. V. 172. Is. 8. April. P. 2062–2073. DOI: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.12994/full>, 2015.

13. Солдатов П.Э., Шулагин Ю.А., Тюрин-Кузьмин А.Ю. и др. Комплексная мониторинговая оценка кардиореспираторной системы и газообмена подопытных животных при дыхании гипоксическими дыхательными смесями, содержащими инертные газы // Авиакосм. и экол. мед. 2019. Т. 53. № 5. С. 65–76. DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-65-76.

Soldatov P.E., Shulaguin Yu.A., Tyurin-Kuzmin A.Yu. et al. Complex monitoringbased evaluation of the cardiorespiratory system and gas exchange in laboratory animals breathing hypoxic breathing mixtures containing inertial gasses // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2019. V. 53. № 5. P. 65–76. DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-65-76.

14. Шеффе Г. Дисперсионный анализ. М., 1980.

Scheffé G. The analysis of variance. Moscow, 1980.

15. Шмидт-Ниельсен К. Размеры животных. Почему они так важны? М., 1987.

Schmidt-Nielsen K. Why is animal size so important? Moscow, 1987.

16. Germano G., Angotti S., Muscolo M. et al. The (dP/dt) max derived from arterial pulse waveforms during 24hr blood pressure oscillometric recording // Blood Pressure Monitoring. 1998. V. 3. № 3. P. 213–216.

17. Малов Ю.С., Яровенко И.И. Ценность фракции выброса левого желудочка в диагностике сердечной недостаточности // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2018. № 1. С. 68–74. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma12211>.

Malov Yu.S., Yarovenko I.I. The value of the left ventricular ejection fraction in the diagnosis of heart failure // Vestnik Rossiiskoy voenno-meditsinskoy akademii. 2018. № 1. P. 68–74. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma12211>.

Поступила 04.10.2023

CORRECTION OF OXYGEN STARVATION IN EXPERIMENTS WITH ANIMALS WHEN MODELING THE EFFECTS CAUSED BY RESPIRATORY INSUFFICIENCY USING A MULTI-COMPONENT GAS MIXTURE BASED ON A COMBINATION OF INERT GASES

Soldatov P.E., Nosovsky A.M., Tyurin-Kuzmin A.Yu., Shulaguin Yu.A.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Acute respiratory insufficiency (ARI) accompanied with hypoxemia and hypercapnia requires oxygen therapy. The helium-oxygen therapy secures from the undesirable effects of oxygen therapy. Earlier we showed that introduction of argon in a breathing mixture (BM) reduces the effect of hypoxia.

Purpose of the work is to test the potentiality of BM containing a combination of inert gases to counteract oxygen starvation in acute ARI-provoking experiments with animals. Fourteen Wistar rats with a body mass of 276 ± 14.6 grams were divided into two groups. An integral noninvasive technology was used for real-time assessment of oxygen transport and consumption in each animal.

Both the experiment and control animals breathed a mixture with a low O_2 and high CO_2 concentration. The control animals received a routine therapy by a hyperoxic mixture containing nitrogen and carbon dioxide. The experimental animals were treated with a hyperoxic mixture containing helium and argon, and carbon dioxide to induce hypercapnia.

The results demonstrated reliably that the hyperoxic helium-argon mixture reduces burden on the external respiration and favors oxygen utilization in tissues; however, this happens at the expense of a greater stress to the cardiovascular system. In contrast, the hyperoxic mixture used in the control stressed the external respiration rather than the cardiac muscle.

Key words: acute hypercapnic respiratory insufficiency, modeling with animals, inert gases.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 62–67.

УДК 579.65

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОБИОТИКА, ПОДВЕРГНУТОГО СОЧЕТАННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ ЧАСТИЦ И ГИПОМАГНИТНОЙ СРЕДЫ, В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ВЫВЕШИВАНИЕМ КРЫС

Ильин В.К., Шеф К.А., Комиссарова Д.В., Усанова Н.А., Сафронова М.А., Коростелёва А.Г., Лукичёва Н.А., Гордиенко К.В., Васильева Г.Ю.

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

E-mail: kirillshf@imbp.ru

Рассмотрена возможность применения пробиотического препарата, подвергнутого сочетанному воздействию отдельных факторов космического полета (гипомагнитная среда и протонное излучение) в качестве средства профилактики негативных изменений, вызванных моделируемыми эффектами космического полета.

Эксперимент проводился на 36 крысах-самцах линии Wistar, 18 из которых подверглись воздействию гипогравитации посредством антиортостатического вывешивания по методу Новикова – Ильина в модификации Морей-Холтон в течение 21 сут (опытная группа), а 18 крыс содержались в индивидуальных клетках без вывешивания (контрольная группа). Каждая группа была поделена на 3 подгруппы, в зависимости от скормливаемого препарата: плацебо; препарат, не подвергавшийся воздействию отдельных факторов космического полета; препарат, подвергшийся сочетанному воздействию гипомагнитной среды и протонного облучения.

В результате проведенных исследований было установлено, что вывешивание является стрессовым фактором, вызывающим снижение количества большинства протективных видов в кишечной микрофлоре, а использование средств профилактики достоверно нивелирует данные негативные изменения. В группе вывешенных крыс, которым скормливали препарат, подвергшийся воздействию гипомагнитной среды и протонного облучения, количество лактобацилл достоверно не изменялось на протяжении всего эксперимента, что свидетельствует о стабилизирующем действии препарата на кишечную микрофлору в условиях вывешивания. Препарат, подвергшийся воздействию отдельных факторов космического полета, по эффективности был близок к обычному препарату.

Ключевые слова: микробиология, кишечная микрофлора, пробиотики, гипомагнитная среда, протонное облучение

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 68–74.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-68-74

Нормальная флора кишечника человека содержит 10^{14} КОЕ/мл микроорганизмов и включает

не только бактерии, но и грибы, археи, вирусы и простейшие [1, 2]. Подавляющее большинство представителей бактериальной флоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются облигатными анаэробами, относящимися к родам *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Faecalibacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia* и *Veillonella*. Основными представителями протективного компонента микрофлоры являются бактерии родов *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Enterococcus spp.* [3, 4]. Дисбаланс микрофлоры кишечника, проявляющийся в снижении доли протективных микроорганизмов и увеличении доли условно-патогенных, может быть вызван воздействием различных стресс-факторов на организм хозяина, например, сменой режима питания, психоэмоциональным напряжением, агрессивным микробным обменом в замкнутом помещении. Со всеми этими факторами неизбежно сталкиваются люди в космических полетах, и еще большую актуальность это приобретает в свете планирования длительных космических миссий, в которых экипаж будет находиться в безопорном состоянии в течение длительного времени в замкнутом, ограниченном пространстве космического корабля.

В экспериментах с изоляцией и «сухой» иммерсией, в которых имитируются отдельные факторы космического полета, было показано, что микрофлора кишечника испытывает негативные изменения: нарушается баланс протективной и условно-патогенной микрофлоры и наблюдается заселение биотопов организма испытуемого чуждыми ему микроорганизмами в результате воздействия вышеупомянутых стресс-факторов [5, 6]. Восстановить баланс микрофлоры можно с помощью пробиотиков и пребиотиков. Пробиотики – это микроорганизмы, которые производят метаболитические вещества, оказывающие благотворное влияние на биологические функции и модулирующие иммунитет хозяина [7, 8]. Кроме того, установлено, что кишечный микробиом, в котором сбалансирована

доля протективных и условно-патогенных микроорганизмов, чему способствует прием пробиотических препаратов, благотворно влияет на абсорбцию кальция и магния, что также актуально в условиях гипогравитации [9, 10].

Использование пробиотических средств с различной композицией доказало свою эффективность в ряде наземных модельных экспериментов [11].

В космическом полете на живые организмы воздействует целый ряд факторов, нетипичных для земных условий: гипомагнитная среда, воздействие протонов и других частиц космического излучения. Известно, что гипомагнитная среда оказывает существенное влияние на биологические процессы в живом организме [12, 13], например, вызывает каскад реакций в клетке, сходный с тем, что происходит при повреждении ДНК, оказывает негативное влияние на фертильность как растений, так и животных и, по-видимому, влияет на клеточную передачу сигналов на уровне транспорта ионов [14].

Негативные эффекты, основным из которых является повреждение структуры ДНК, оказываемые протонным излучением на клетку, также широко известны [15].

Микроорганизмы, являющиеся частью биосферы Земли, так же как и остальные живые существа планеты, имеют ДНК и схожие с другими организмами вещества (например, чувствительное к магнитному полю железо в составе биомолекул) [16], а также происходящие в клетке процессы, поэтому, как и другие живые существа, могут быть подвержены действию как гипомагнитной среды, так и протонного излучения.

Использование пробиотических штаммов в качестве средств профилактики и коррекции дисбиозов кишечника в длительных космических полетах предполагает запас пробиотических средств на борту космического корабля. Соответственно во время полета данные штаммы будут подвергаться описанному выше спектру воздействий космической среды. В связи с этим встает вопрос о том, насколько эффективными будут пробиотики после пребывания в гипомагнитной среде и воздействия на них протонного излучения и насколько безопасным будет прием данных средств для организма.

Цель данной работы – оценка возможности применения пробиотического средства, подвергнутого сочетанному воздействию отдельных факторов космического полета (гипомагнитная среда и протонное излучение), в качестве средства профилактики негативных изменений в кишечной микрофлоре, вызванных моделируемыми эффектами микрогравитации.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Экспериментально апробировать пробиотическое средство, подвергнутое воздействию

отдельных факторов космического полета, предназначенное для предотвращения негативных изменений, вызванных опорной разгрузкой (антиортостатическое вывешивание).

2. Оценить изменения видового и количественного составов микрофлоры кишечника после 21-суточного антиортостатического вывешивания (АВ) с применением пробиотического средства, подвергнутого воздействию отдельных факторов космического полета, и пробиотического средства без предварительного воздействия.

3. Оценить действие пробиотического средства, подвергнутого воздействию отдельных факторов космического полета, на скорость восстановления негативных изменений, вызванных АВ.

Методика

Программа научных исследований была одобрена Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 633 от 08.02.2023).

В эксперименте использована модель антиортостатического вывешивания по методу Новикова – Ильина в модификации Морей-Холтон [17, 18].

В эксперименте использовались 36 крыс-самцов линии Wistar массой 200–220 г. Во время эксперимента не было предусмотрено никаких ограничений для животных в пище и воде. Крысы содержались в отдельном помещении, могли свободно передвигаться по клетке, за ними осуществлялся ежедневный уход. Температурный режим во время эксперимента поддерживался на уровне 19–22 °С.

Животные получали плацебо или пробиотическое средство перорально ежедневно в дозе не менее 5×10^8 КОЕ *Bifidobacterium sp.* и *L. acidophilus sp. (L. gasser)* не менее $4,5 \times 10^7$ КОЕ, вида *B. infantis* не менее 3×10^7 КОЕ, вида *E. faecium* не менее $4,5 \times 10^7$ КОЕ из расчета массы тела животного.

Пробиотические препараты облучались на протонном пучке фазотрона Объединенного института ядерных исследований (лаборатория ядерных проблем им. В.П. Джелепова) в дозе, эквивалентной 1 Гр, и экспонировались в течение 7 сут на научной установке «Сатурн» ГНЦ РФ – ИМБП РАН, позволяющей снижать МП Земли до 190 нТл.

В зависимости от типа воздействия на пробиотические препараты, которые принимали опытные животные, а также от того, были ли они вывешены, или нет, крысы были разделены на 6 групп:

- невывешенные крысы, принимавшие плацебо-препарат (Контроль + плацебо);
- вывешенные крысы, принимавшие плацебо-препарат (Вывешивание + плацебо);
- невывешенные крысы, принимавшие препарат, не подвергнутый воздействию отдельных факторов космического полета (Контроль + препарат);

– вывешенные крысы, принимавшие препарат, не подвергнутый воздействию отдельных факторов космического полета (Вывешивание + препарат);

– невывешенные крысы, принимавшие препарат, подвергнутый воздействию отдельных факторов космического полета (Контроль + препарат КП);

– вывешенные крысы, принимавшие препарат, подвергнутый воздействию отдельных факторов космического полета (Вывешивание + препарат КП).

Все 6 групп содержались одновременно в течение 21 сут в индивидуальных клетках. Отбор проб кала для изучения состава кишечной микрофлоры проводился до начала эксперимента, на 7, 14 и 21-е сутки.

После забора анализа 1 г нативного препарата гомогенизировался в физиологическом растворе или фосфатном буфере, получая исходное разведение материала (10^{-1}). Все манипуляции проводились в боксе микробиологической безопасности.

Из исходного разведения были сделаны 100-кратные разведения материала в физиологическом растворе (10^{-1} – 10^{-7}). Из приготовленных разведений были проведены дозированные посеvy на следующие питательные среды для культивирования различных групп микроорганизмов: агар Сабуро; кровяной агар (СНА); среда Эндо; солевой агар с маннитом (МСА, MSA); энтерококкагар; цитрат симмонса; МРС агар – MRS agar *Lactobacillus* agar асс.; бифидум – среда; агар SPS (Сульфит Полимиксин Сульфадиазин) (производитель всех сред – Himedia, Индия).

Все посеvy культивировались при температуре 37 °С 24–48 ч; для культивирования анаэробов использовались анаэроостаты.

Пробоподготовка осуществлялась методом прямого нанесения. Идентификация микроорганизмов проводилась с применением масс-спектрометрии [19]. Идентификация в системе MALDI Biotyper основана на анализе экспрессии константных белков микроорганизма с применением масс-спектрометрии. Полученные масс-спектры анализируемых образцов сравниваются с масс-спектрами референсных микроорганизмов, находящимися в базе данных.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с применением непараметрических критериев Краскела – Уоллиса, Фридмана и критерия хи-квадрат в программе Statistica 12 [20].

Результаты и обсуждение

При анализе данных в 6 группах с различной комбинацией препаратов были получены достоверные различия по некоторым микроорганизмам в разные периоды эксперимента.

На 7-е сутки в группе «Вывешивание + препарат КП» количество бифидобактерий было

меньше, чем в группе «Вывешивание + препарат» (рис. 1). Однако при сравнении групп без вывешивания с опытными можно заметить, что в плацебо-группе количество как бифидобактерий, так и представителей семейства *Lactobacillaceae* у вывешенных крыс меньше, что свидетельствует о негативном эффекте условий вывешивания. При этом в группах с обоими препаратами количество вышеупомянутых микроорганизмов в кишечной микрофлоре у вывешенных и невывешенных крыс достоверно не различалось, что показывает относительно одинаковую эффективность обоих препаратов.

На 14-е сутки количество *Bifidobacterium* spp. в группах «Вывешивание + препарат» и «Вывешивание + препарат КП» достоверно не различалось между собой, но отличалось от контрольных групп с соответствующим препаратом (рис. 2). В вывешенных группах количество данного рода микроорганизмов было выше, чем в контроле. В группах «Контроль + плацебо» и «Вывешивание + плацебо», однако, отмечена противоположная ситуация: количество бифидобактерий в вывешенной группе заметно ниже, чем в контрольной, что подтверждает негативное влияние безопорного состояния на кишечную микрофлору крыс.

По количеству энтерококков группы «Вывешивание + препарат» и «Вывешивание + препарат КП» достоверно не различались, однако обе группы отличались от своих контрольных групп – в контроле количество *Enterococcus faecalis* выше. В плацебо-группах по энтерококкам достоверных различий между контролем и вывешиванием не наблюдалось, однако количество энтерококка достоверно ниже, чем в остальных 4 группах, т. е. оба препарата оказывают стимулирующее действие на микрофлору кишечника.

Как видно на рис. 3, на 21-е сутки эксперимента в плацебо-группах количество лактобацилл достоверно было ниже, чем в группах с использованием препаратов, за исключением контрольной группы с препаратом КП, но необходимо отметить, что группа «Вывешивание + препарат КП» при этом не отличалась от группы «Вывешивание + препарат».

В плацебо-группе также отмечено большее количество энтерококков у вывешенных крыс, чем у контрольных. В группах с обоими препаратами большее количество данного микроорганизма наблюдали в контрольных группах, причем наименьшее количество отмечено в группе «Вывешивание + препарат КП».

При сравнении динамики численности различных микроорганизмов в группах в течение всего эксперимента с помощью критерия Фридмана для зависимых выборок были выявлены достоверные различия между периодами эксперимента в отношении содержания лактобацилл в

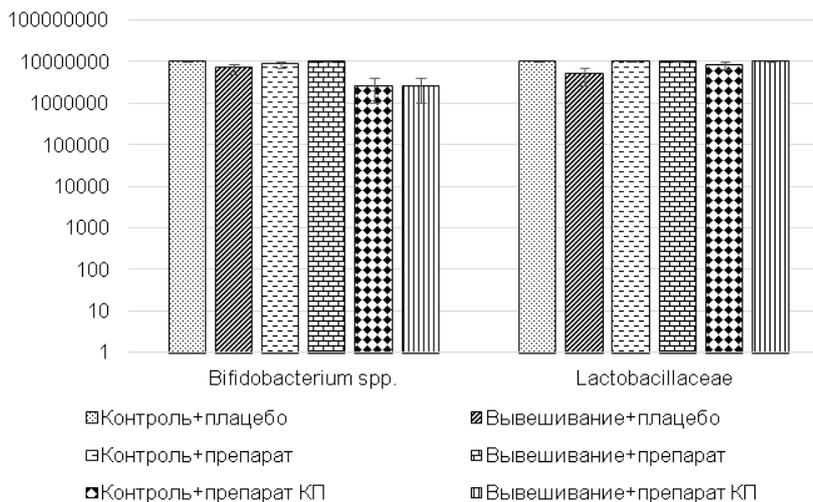


Рис. 1. Количество *Lactobacillaceae* и *Bifidobacterium spp.* в группах с различной комбинацией препаратов на 7-е сутки эксперимента

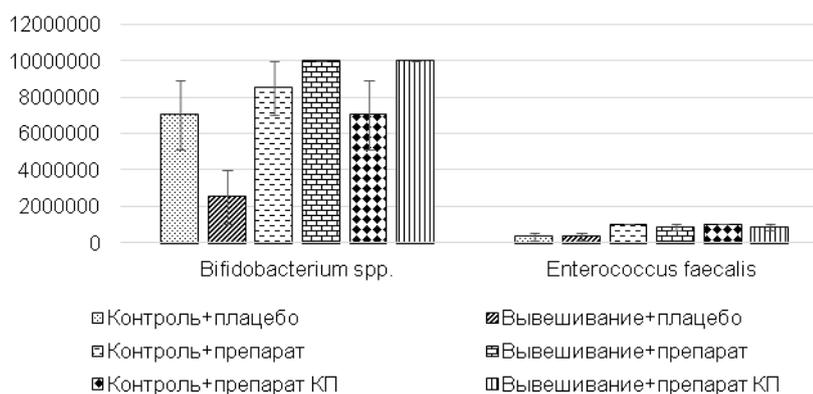


Рис. 2. Количество *Bifidobacterium spp.* и *Enterococcus faecalis* в группах с различной комбинацией препаратов на 14-е сутки эксперимента

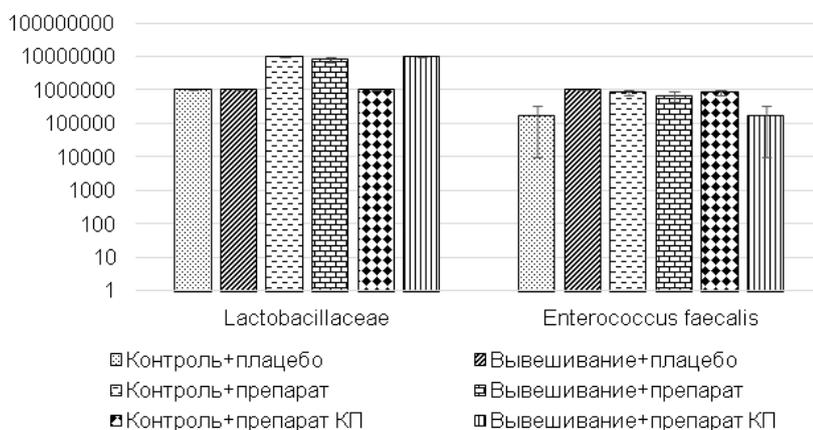


Рис. 3. Количество *Lactobacillaceae* и *Enterococcus faecalis* в группах с различной комбинацией препаратов на 21-е сутки эксперимента

3 группах – «Контроль + плацебо», «Вывешивание + плацебо» и «Контроль + препарат КП». Коэффициент конкордации для всех 3 групп составил более 0,65, это означает, что изменения в содержании лактобацилл происходили в основном одинаково для всех крыс.

Так, количество лактобацилл в вышеупомянутых 3 группах снизилось к 21-м суткам, при этом в группе «Вывешивание + плацебо» отмечалось снижение лактобацилл уже на 7-е сутки, в то время как в других 2 группах падение численности *Lactobacillaceae* произошло только к 21-м суткам (рис. 4). Учитывая, что в группе «Вывешивание + препарат КП» (как и в группах с обычным препаратом) достоверных различий между лактобациллами не было на протяжении всего эксперимента, оба препарата следует рассматривать как эффективные средства профилактики.

Также достоверные различия были выявлены по энтерококкам в группах «Контроль + плацебо» и «Вывешивание + препарат КП» (рис. 5). Согласно коэффициенту конкордации, изменение количества энтерококков в большинстве групп было согласованным.

К 21-м суткам численность *Enterococcus faecalis* в группах «Контроль + плацебо» и «Вывешивание + препарат КП» снизилась, однако количество энтерококков в группе с препаратом было все равно выше, чем в плацебной группе, к тому же высокое количество энтерококков сохранялось практически на протяжении всего эксперимента, в то время как в плацебной группе оно снизилось гораздо быстрее, на 14-е сутки.

Еще одним дополнительным способом анализа полученных данных был расчет зубиотического индекса (рис. 6). Статистическая обработка данных проводилась с использованием хи-критерия.

Как видно из рис. 6, наибольшее значение индекса было зафиксировано в группе «Вывешивание + препарат КП» на 14-е сутки, при этом в контрольной группе в тот же самый период индекс повысился, но все равно оставался почти в 2 раза меньше,

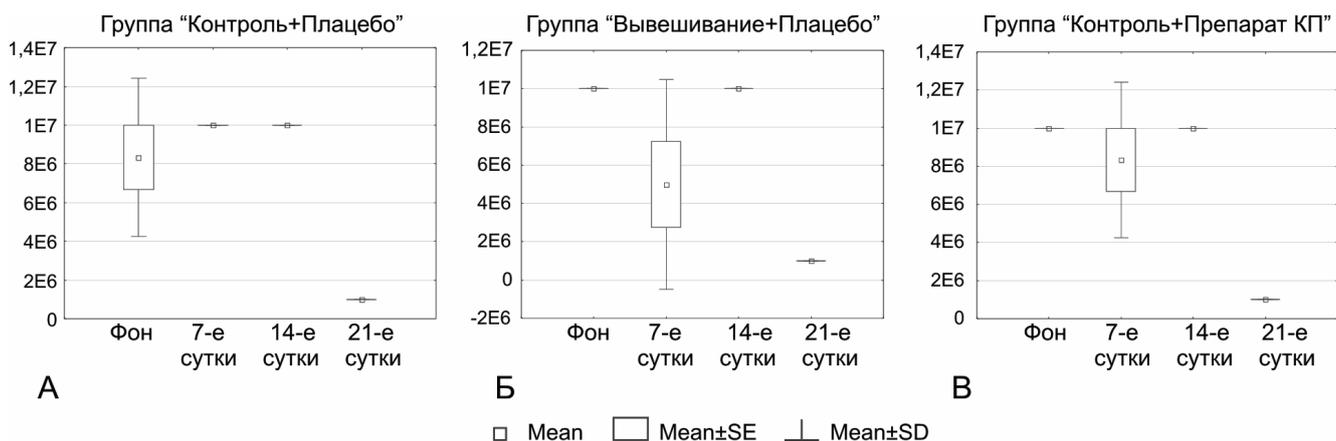


Рис. 4. Динамика численности лактобацилл в течение эксперимента в 3 группах «Контроль + плацебо» (А), «Вывешивание + плацебо» (Б) и «Контроль + препарат КП» (В).

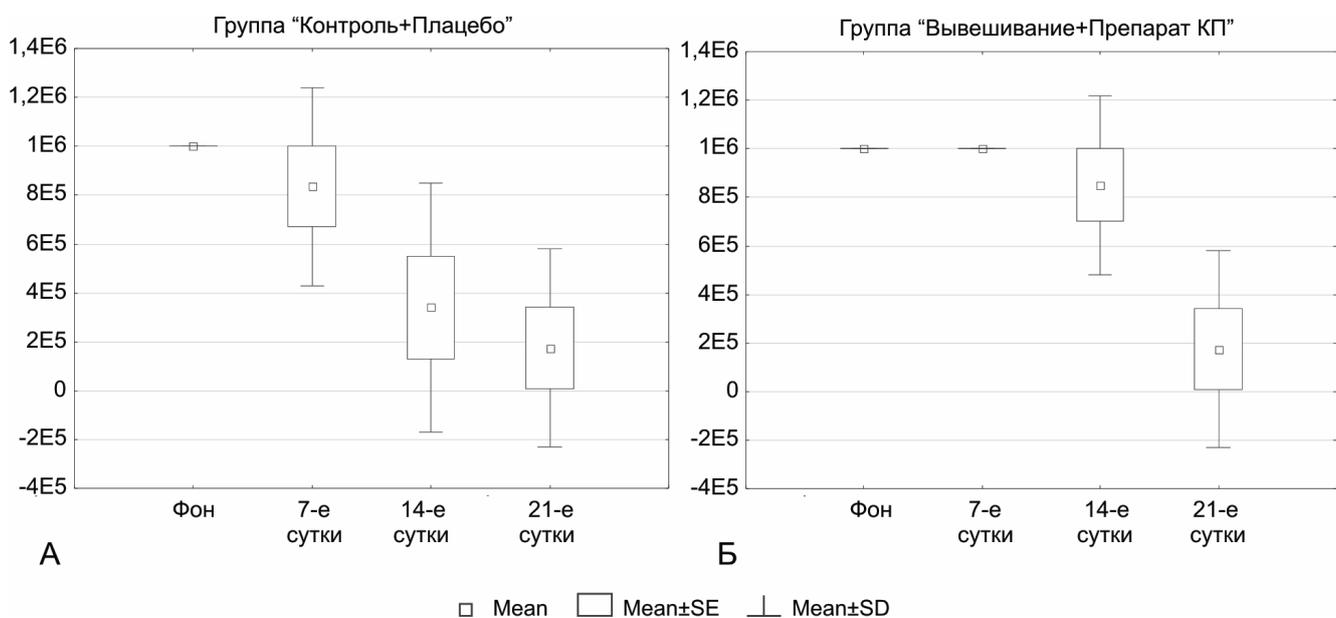


Рис. 5. Динамика численности *Enterococcus faecalis* в группах «Контроль + плацебо» (А) и «Вывешивание + препарат КП» (Б)

чем в вывешенной группе. К 21-м суткам индекс во всех группах, кроме «Вывешивание + плацебо», снизился, при этом в группах с разными препаратами наибольшее значение отмечалось для обычного препарата. Тем не менее в группе с препаратом КП значение индекса было близко к 1, т. е. количество положительных изменений в микрофлоре было примерно равно количеству отрицательных, что свидетельствует об эффективности данного препарата.

Выводы

1. Вывешивание является стрессовым фактором, вызывающим снижение количества большинства протективных видов кишечной микрофлоры.
2. Использование средств профилактики достоверно нивелирует негативные изменения в кишечной микрофлоре.
3. В группе «Вывешивание + препарат КП» количество лактобацилл достоверно не изменялось на протяжении всего эксперимента, что

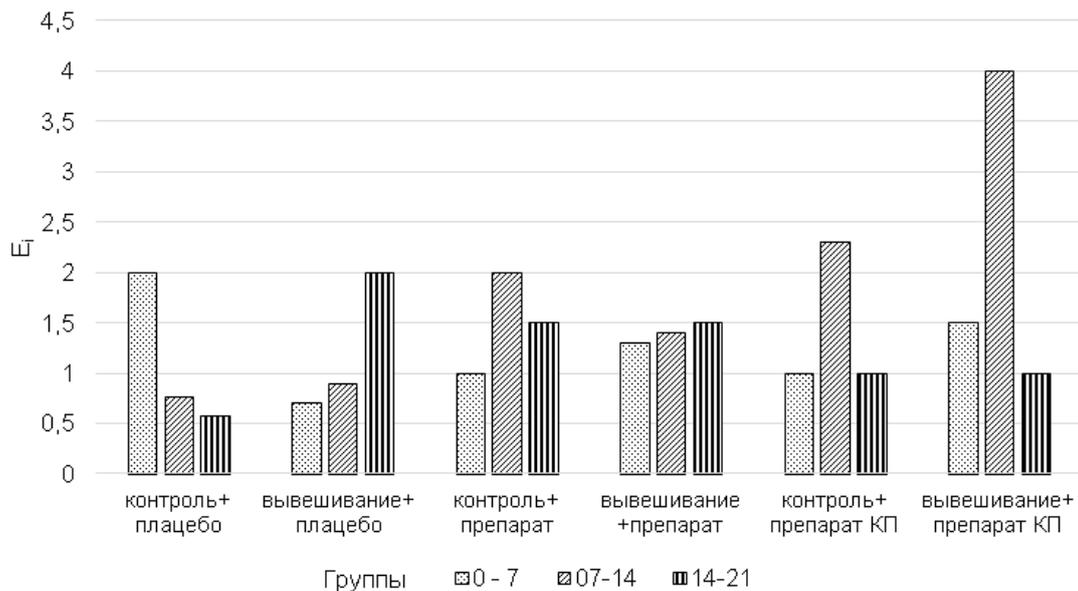


Рис. 6. Динамика эубиотического индекса в группах с различными препаратами

свидетельствует о стабилизирующем действии препарата, подвергнутого воздействию отдельных факторов космического полета, в условиях вывешивания.

4. Препарат, подвергшийся воздействию отдельных факторов космического полета, по эффективности близок к обычному, поскольку единственный вид микроорганизмов, количество которого снизилось к 21-м суткам, – *Enterococcus faecalis*. На 14-е сутки эубиотический индекс в группе, принимавшей препарат, подвергшийся воздействию отдельных факторов космического полета, был максимальным на тот временной период, что демонстрирует даже большую эффективность данного препарата, чем у необлученного.

Данная работа выполнена в рамках тем FMFR-2024-0035 фундаментальных научных исследований РАН.

Список литературы

1. Thursby E., Juge N. Introduction to the human gut microbiota // *Biochem J.* 2017. V. 474. № 11. P. 1823–1836. DOI: 10.1042/BCJ20160510.
2. Kho Z.Y., Lal S.K. The human gut microbiome – a potential controller of wellness and disease // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. e1835. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01835.
3. Ших Е.В., Махова А.А., Астаповский А.А., Перков А.В. Перспективы пробиотических штаммов бифидобактерий и энтерококков в лечении и профилактике заболеваний гастроэнтерологического профиля // *Вопросы питания.* 2021. Т. 90. № 2. С. 15–22. DOI: 10.33029/0042-8833-2021-90-2-15-25.

Shikh E.V., Mahova A.A., Astapovskiy A.A., Perkov A.V. Prospects for probiotic strains of bifidobacteria and enterococci in the treatment and prevention of gastroenterological diseases // *Voprosy pitaniya.* 2021. V. 90. № 2. P. 15–22.

4. Воробьев А.А., Лыкова Е.А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции // *ЖМЭИ.* 1999. № 6. С. 102–105.

Vorob'ev A.A., Lykova E.A. Bacteria of normal microflora: biological properties and protective functions // *ZMEI.* 1999. № 6. P. 102–105.

5. Ильин В.К., Комиссарова Д.В., Усанова Н.А. и др. Исследования микрофлоры профессиональных испытуемых и волонтеров в длительных гермокамерных экспериментах // *Авиакосм. и экол. мед.* 2022. Т. 56. № 1. С. 62–67.

Ilyin V.K., Komissarova D.V., Usanova N.A. et al. Studies of the microflora of professional subjects and volunteers in long-term hermetic chamber experiments // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2022. V. 56. № 1. P. 62–67.

6. Ильин В.К., Комиссарова Д.В., Морозова Ю.А., Жиганшина А.А. Изменения микрофлоры кишечника, верхних дыхательных путей и вагинальных слизистых оболочек у добровольцев в эксперименте с 3-суточной «сухой» иммерсией // *Матер. 56-х Науч. чтений, посвященных разработке научного наследия и развития идей К.Э. Циолковского.* Калуга, 2021. С. 297–301.

Ilyin V.K., Komissarova D.V., Morozova Yu.A., Zhiganshina A.A. Changes in the microflora of the intestines, upper respiratory tract and vaginal mucous membranes in volunteers in the experiment with 3-day dry immersion // *The material of 56th Scientific readings devoted to the development of scientific heritage and the development of K.E. Tsiolkovsky's ideas.* Kaluga, 2021. P. 297–301.

7. Кайбышева В.О., Никонов Е.Л. Пробиотики с позиции доказательной медицины // Доказательная гастроэнтерология. 2019. Т. 8. № 3. С. 45–54.

Kaybysheva V.O., Nikonov E.L. Probiotics from the standpoint of evidence-based medicine // Dokazatel'naya gastroenterologiya. 2019. V. 8. № 3. P. 45–54.

8. Salmine S., Isolauri E., Salmine E. Clinical use of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges // Antonie Van Leeuwenhoek. 1996. № 70. P. 347–358. DOI: 10.1007/BF00395941.

9. Schepper J.D., Irwin R., Kang J., Dagenais K. et al. Probiotics in gut-bone signaling // Adv. Exp. Med. Biol. 2017. № 1033. P. 225–247. DOI: 10.1007/978-3-319-66653-2_11.

10. Sire A., Sire R., Curci C. et al. Role of dietary supplements and probiotics in modulating microbiota and bone health: the gut-bone axis // Cells. 2022. V. 11. № 4. DOI: 10.3390/cells11040743.

11. Ильин В.К., Комиссарова Д.В., Усанова Н.А., Морозова Ю.А. Пробиотики, пребиотики и ферментные препараты в профилактике нарушений колонизационной резистентности у человека в искусственной среде обитания // Матер. Первого российского конгресса по медицинской микробиологии и инфектологии. М., 2023. С. 74–76.

Il'yn V.K., Komissarova D.V., Usanova N.A., Morozova Yu.A. Probiotics, prebiotics and enzyme preparations in the prevention of colonization resistance disorders in humans in an artificial habitat // Materials of the First Russian Congress on Medical Microbiology and Infectology. Moscow, 2023. P. 74–76.

12. Куранова М.Л., Павлов А.Е., Спивак И.М. и др. Воздействие гипомангнитного поля на живые системы // Вестник СПбГУ. 2010. № 4. С. 99–107.

Kuranova M.L., Pavlov A.E., Spivak I.M. et al. The impact of the hypomagnetic field on living systems // Vestnik SPbGU. 2010. № 4. P. 99–107.

13. Гуль Е.В. Поведение и функциональное состояние ЦНС крыс после пребывания в моделируемых гипогеомагнитных условиях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2014.

Gul' E.V. Behavior and functional state of the CNS of rats after staying in simulated hypogeomagnetic conditions: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata biologicheskikh nauk. Tomsk, 2014.

14. Binhi V.N., Prato F.S. Biological effects of the hypomagnetic field: An analytical review of experiments and theories // PLoS One. 2017. V. 12. № 6.

15. Alan Mitteer R., Wang Y., Shah J. et al. Proton beam radiation induces DNA damage and cell apoptosis in glioma stem cells through reactive oxygen species // Sci. Rep. 2015. № 5.

16. Brost B., Pajon R., Jayaprakash T., Kusalik A. Comparing the similarity of different groups of bacteria to the human proteome. // PLoS One. 2012. V. 7. № 4.

17. Ильин Е.А., Новиков В.Е. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных условиях // Косм. биол. и мед. 1980. Т. 14. № 3. С. 79–80.

Il'yn E.A., Novikov V.E. Stand for modeling the physiological effects of weightlessness in the laboratory // Kosmicheskaya bioloiya i meditsina. 1980. V. 14. № 3. P. 79–80.

18. Morey-Holton E.R., Globus R.K. Hindlimb unloading rodent model: Technical aspects // J. Appl. Physiol. 2002. V. 92. № 4. P. 1367–1377.

19. Singhal N., Kumar M., Kanaujia P.K., Viridi J.S. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis // Front. Microbiol. 2015. V. 6.

20. Кулаичев А.П. Методы и средства комплексного статистического анализа данных: Учеб. пособие. 5-е изд., перераб. и доп. М., 2017.

Kulaichev A.P. Methods and means of complex statistical data analysis: Study guide. 5th ed. Moscow, 2017.

Поступила 06.07.2023

ASSESSMENT OF THE EFFECTIVENESS OF A PROBIOTIC SUBJECTED TO A COMBINED EXPOSURE TO HEAVY CHARGED PARTICLES AND HYPOMAGNETISM IN AN EXPERIMENT WITH SUSPENDED RATS

Ilyin V.K., Shef K.A., Komissarova D.V., Usanova N.A., Safronova M.A., Korosteleva A.G., Lukicheva N.A., Gordienko K.V., Vasilieva G.Yu.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

A probiotic food subjected to a combined exposure to hypomagnetism and heavy charged particles was tested for the ability to counteract the negative effects of these spaceflight factors.

The experiment was conducted with 36 male Wistar rats. The experimental group of animals (n = 18) was tail-suspended for 21 days in order to experience a modeled hypogravity. Their controls were held in individual cages without suspension. Both groups were divided into 3 subgroups depending on which supplement they consumed, i.e. placebo, a probiotic food that had been or had not been exposed to proton radiation and hypomagnetism.

As a result, it was established that suspension, as a stressor, causes reductions in the majority of intestinal protective microflora and that the preventive food levels the negative changes significantly. The number of lactobacilli in the suspended group fed with the probiotic food exposed to radiation and hypomagnetism remained unchanged throughout the experiment. This fact points to the stabilizing effect of the food on intestinal microflora. Effectiveness of the exposed food was close to that of usual.

Key words: microbiology, intestinal microflora, prebiotics, hypomagnetism, proton radiation.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 68–74.

УДК 612.592+612.2+612.17+615.03

ПРОТЕКТИВНОЕ ВЛИЯНИЕ НООКЛЕРИНА И СЛАВИНОРМА НА КАРДИОРЕСПИРАТОРНЫЕ ФУНКЦИИ КРЫС ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ В ВОДЕ

Арокина Н.К.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: ArokinaNK@infran.ru

Проведен сравнительный анализ влияния нооклерина (деанола ацеглумат) и славинорма (полипептидный комплекс сосудов) на характер изменения частоты дыхания и сердечных сокращений у крыс линии Вистар в процессе развития гипотермии. Животных охлаждали в воде ($9 \pm 0,4$ °С). Регистрировали частоту дыхания (ЧД), сердечных сокращений (ЧСС), ректальную температуру (Т_р) и температуру в пищеводе (Т_п), степень сатурации гемоглобина артериальной крови кислородом (SpO₂).

В опытных группах крыс на начальной стадии развития гипотермии ЧД находилась на высоком уровне при более низких значениях Т_р по сравнению с контрольными крысами. Нооклерин не повлиял на ход кривой зависимости ЧСС от значений Т_р, в то время как славинорм вызвал сдвиг этой кривой в сторону более высоких значений ЧСС, способствовал увеличению продолжительности жизни животных до остановки дыхания более чем в 2 раза. Это происходило за счет перехода крыс при низкой температуре тела в состояние гипометаболизма: при редком дыхании поддерживалась работа сердца.

Исследования показали, что нооклерин и славинорм способствуют поддержанию жизнеспособности организма при гипотермии, усиливают и продлевают стадию активизации дыхания в начале охлаждения в сравнении с контролем. Введение нооклерина и славинорма перед охлаждением способствует мобилизации защитных сил организма, уменьшает патологическое влияние холодового фактора на организм при глубокой гипотермии.

Ключевые слова: гипотермия, частота дыхания и сердцебиений, крысы, нооклерин, славинорм.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 75–81.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-75-81

Известно, что в состоянии гипометаболизма гомойотермные организмы устойчивы к различным повреждающим факторам. Механизмы гипобиоза могут быть использованы при решении проблем экологии и трансплантологии, перевода человека в состояние гипометаболизма; искусственная гибернация человека может найти применение при длительных космических полетах [1, 2]. В экспериментах на животных для перевода организма в состояние гибернации применяют методы торможения

симпатической нервной системы, что вызывает ослабление гомеостатических реакций организма [3], используют препараты, снижающие скорость метаболизма [4]; биологически активные вещества (пептиды), выделяемые из различных органов зимоспящих животных [1].

При глубокой гипотермии развивается холодовой паралич дыхательного центра, что приводит к остановке дыхания, затем сердца и гибели организма. У человека дыхание останавливается при снижении температуры тела до 24–22 °С, описаны случаи спасения людей при более низких температурах тела, около 12 °С [5, 6]. У крыс остановка дыхания наблюдается при температуре 17–14 °С [7], восстановление жизнедеятельности возможно после охлаждения крыс до температуры 3 °С [8]. У некоторых гомойотермных животных, которые зимой переходят в состояние гибернации, или спячки, наблюдается естественный гипометаболизм, происходит контролируемое подавление метаболизма. Температура тела значительно снижается (до 2–3 °С), частота дыхания и сокращений сердца поддерживаются на минимуме, при этом нарушений функций клеток не происходит. При выходе из спячки животные за несколько часов восстанавливают нормальную температуру тела, а также все функции организма [1]. Вероятно, что предки млекопитающих были гетеротермическими; потенциальная способность к оцепенению в неблагоприятные сезоны является базовой стратегией живых организмов, которая может реализовываться в неблагоприятных условиях [9]. Возможно, что механизмы защиты клеток от холодового повреждения не утрачены и у человека.

При глубокой гипотермии под действием холода нарушается синтез АТФ, недостаточное снабжение клетки энергией приводит к снижению скорости «откачивания» ионов кальция из цитозоля клетки в околоточную среду, которое требует очень много энергии [5, 10]. В организме активируются свободно-радикальные процессы, патологическое окисление липидов, в клетках нарушаются ионные мембранные градиенты, происходит гипервозбуждение глутаматных рецепторов, возникает

перегрузка клеток $[Ca^{2+}]$, угнетается работа митохондрий, истощается антиоксидантная система организма [8, 11–13]. Вполне вероятно, что, если найти способы замедления этих патологических процессов с помощью фармакологических препаратов, можно снизить холодовой порог гибели человека и животных при глубокой гипотермии.

В этом отношении представляет интерес славинорм, который обладает ангиопротективными, антиаритмическими, антиоксидантными свойствами [14]. Ранее мы обнаружили его активирующее влияние на кардиореспираторные характеристики в процессе охлаждения крыс [15]. Другой препарат, который обладает антиоксидантной и противогипоксической активностью, а также кардиопротективным действием, – нооклерин [16]. В наших исследованиях было обнаружено, что у крыс, которым вводили нооклерин, подключение искусственного дыхания после наступления холодового паралича собственного дыхания активировало работу сердца, причем реакция наступала быстрее и была интенсивнее, чем в контроле. Было сделано заключение, что нооклерин повышает устойчивость сердца к гипоксии и охлаждению, однако характер изменения кардиореспираторных характеристик в процессе охлаждения этих крыс не изучали [7].

Цель данной работы – проведение сравнительного анализа влияния нооклерина и славинорма на изменения кардиореспираторных характеристик в процессе охлаждения крыс до холодовой остановки дыхания. Были поставлены задачи провести анализ изменения частоты дыхания и сердечных сокращений в зависимости от температуры тела, а также оценить влияние этих препаратов на температурные пороги остановки дыхания.

Методика

Эксперименты были выполнены на 27 белых крысах-самцах линии Вистар массой 280–320 г. Животные были получены из биокolleкции «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Животных наркотизировали с помощью уретана (125 мг/100 г массы тела, внутривентриально). Крыс содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (заключение № 08/02 от 08.02.2021). Охлаждение крыс производили в ванне с водой ($9 \pm 0,4$ °C); животные были фиксированы на площадке

так, что голова находилась над водой. Ректальную температуру (T_r) и в пищеводе (T_p) регистрировали с помощью медно-константановых термопар. Частоту сердечных сокращений (ЧСС) определяли по электрокардиограмме (второе отведение); частоту дыхания (ЧД) регистрировали с применением датчика, закрепленным вокруг грудной клетки. Сатурацию гемоглобина артериальной крови кислородом (SpO_2) определяли пульсоксиметром BP-12C (Biocare) на передней лапе.

Крысы были разделены на 3 группы: контрольная группа ($n = 12$), опытные группы № 1 ($n = 10$) и № 2 ($n = 5$). Животным опытной группы № 1 за 15 мин до охлаждения внутривентриально вводили 20%-ный раствор нооклерина (ПИК-фарма, деанола ацеглумат, nooclerin), 100 мг/кг массы тела. В группе № 2 крысам внутривентриально вводили славинорм – ПКС (ООО Самсон-мед, полипептидный комплекс сосудов, slavinorm); 15,6 мг/кг массы тела, за 1 ч до погружения в холодную воду. В контрольных группах физиологический раствор (0,9 % NaCl, 1 мл) вводили крысам за 15 мин до начала охлаждения.

Для регистрации данных использовали внешний модуль АЦП E14-140-M (L-Card, Россия) и программу PowerGraph. Достоверность различий оценивали с помощью параметрического критерия Тьюки, программы Statistica 6.0, InStat 3.02 (GraphPad Software Inc., США). Данные представлены как среднее \pm ошибка среднего ($M \pm m$), различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исходные значения изучаемых параметров до охлаждения крыс были следующие: ректальная температура – $35,4 \pm 0,3$ °C, температура в пищеводе – $36,1 \pm 0,3$ °C, ЧСС – 440 ± 7 уд./мин, ЧД – 119 ± 8 цикл./мин, SpO_2 – 97 ± 2 %. Время охлаждения контрольных животных до остановки дыхания составляло 61 ± 6 мин. У животных, которым вводили нооклерин (группа № 1), остановка дыхания регистрировалась в среднем через 59 ± 5 мин от начала охлаждения. В отличие от этого, у крыс опытной группы № 2 (введение славинорма) это время увеличилось примерно в 2 раза, до 125 ± 9 мин.

Скорость снижения T_r и T_p у контрольных животных в первые 30 мин охлаждения в среднем составляла: T_r – $0,33 \pm 0,02$ °C/мин, T_p – $0,29 \pm 0,02$ °C/мин. В течение следующих 30 мин наблюдалось постепенное снижение скорости до $0,11 \pm 0,01$ °C/мин. У крыс опытной группы № 1 T_r в первые 30 мин снижалась со скоростью $0,37 \pm 0,03$ °C/мин, а в пищеводе $0,33 \pm 0,02$ °C/мин; затем T_r и T_p снижались со скоростью $0,12 \pm 0,01$ °C/мин.

В группе животных № 2 скорости снижения T_r и T_p в течение первого часа не отличались от

контроля и группы № 1. Первоначальная скорость снижения температуры была $T_p 0,35 \pm 0,01$ °С/мин, $T_r 0,30 \pm 0,02$ °С/мин, а в следующие 30 мин наблюдалось снижение этих показателей до $0,12 \pm 0,01$ °С. У крыс этой группы процесс охлаждения до остановки дыхания был более длительным за счет последней фазы, которая длилась около 60 ± 7 мин. На этом этапе охлаждения скорость снижения T_r и T_p замедлялась до $0,07 \pm 0,01$ °С/мин, при этом наблюдалось редкое дыхание, сердце продолжало сокращаться.

Скорость уменьшения ЧСС в контроле в первые 30 мин охлаждения была $9,6 \pm 2,8$ уд./мин, последующие 30 мин – $2,8 \pm 0,3$ уд./мин. У крыс группы № 1 в первые 30 мин охлаждения значения ЧСС понижались со скоростью $9,4 \pm 1,5$ уд./мин, последующие 30 мин – $2,9 \pm 0,2$ уд./мин. В группе животных № 2 скорость снижения ЧСС в первые 30 мин составила $9,5 \pm 2,2$, в следующие 30 мин – $2,7 \pm 0,5$ уд./мин. А в последние 60 мин охлаждения скорость снижения ЧСС у крыс этой группы уменьшалась до $0,7 \pm 0,03$ уд./мин.

Скорость снижения ЧД у контрольных крыс в первые 30 мин охлаждения была $3,2 \pm 0,5$ цикл./мин, следующие 30 мин – $2,8 \pm 0,4$ цикл./мин. В опытной группе № 1 скорость уменьшения ЧД в первые 30 мин охлаждения была $3,5 \pm 0,3$ цикл./мин, а в последующие 30 мин – $3,1 \pm 0,5$ цикл./мин. В группе № 2 уменьшение ЧД происходило со скоростью в первые 30 мин охлаждения $3,1 \pm 0,5$ цикл./мин, следующие 30 мин – $2,7 \pm 0,4$ цикл./мин. А в течение последних 60 мин охлаждения, перед остановкой дыхания, ЧД уменьшалась очень медленно – $0,2 \pm 0,02$ цикл./мин.

Таким образом, во всех группах охлаждение крыс до состояния глубокой гипотермии осуществлялось практически в одинаковых условиях, скорости снижения T_r и T_p были примерно одинаковы в контроле и опытных группах ($p > 0,05$). Это дает основание для проведения сравнительного анализа исследованных групп животных.

Поскольку все процессы в организме зависят от температуры, то и оценку изменений ЧСС и ЧД во всех 3 группах крыс проводили, сопоставляя их с изменениями ректальной T_r . В процессе охлаждения у животных значения ЧСС снижались линейно, в соответствии с законом Аррениуса. Кривая зависимости ЧСС от значений T_r в группе № 1 (нооклерин) не отличалась от контроля ($p > 0,05$). В то время как у крыс группы № 2 (славинорм) достоверно более высокий уровень ЧСС наблюдался от $T_r 32$ °С в сравнении с контролем и группой № 1 ($p < 0,05$) (рис. 1). Кроме того, у крыс группы № 2 время

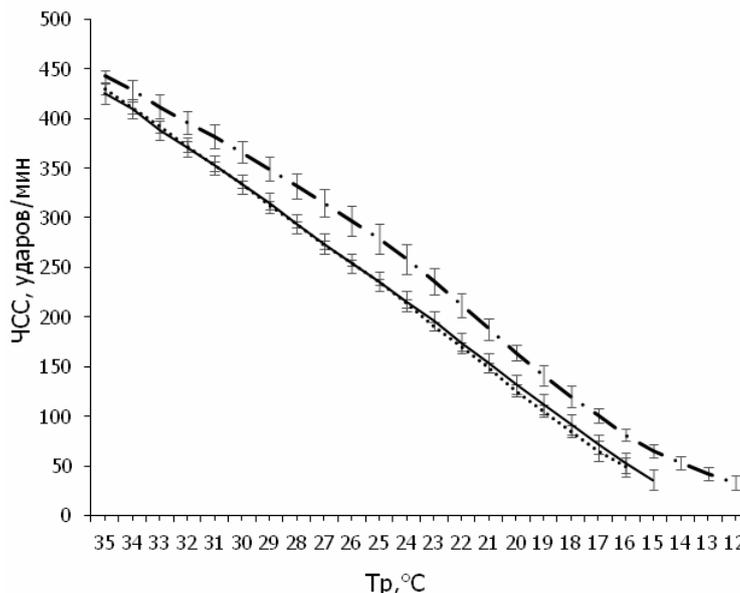


Рис. 1. Изменение частоты сердечных сокращений в зависимости от ректальной температуры (T_r) в процессе охлаждения крыс в контроле, опытных группах № 1 (нооклерин) и № 2 (славинорм). Контроль – точечная линия ($n = 12$); группа № 1 – сплошная линия ($n = 10$); группа № 2 – пунктир с точкой ($n = 5$). ЧД – частота дыхания, T_r – температура в пищеводе

охлаждения до остановки дыхания увеличилось в 2 раза в сравнении с контролем и группой № 1. В течение второго часа охлаждения у крыс группы № 2 снижение температуры тела значительно замедлялось, при этом все еще наблюдалось редкое дыхание, сердце продолжало сокращаться.

В начале охлаждения, хотя температура тела понижалась, ЧД у опытных групп крыс возрастала и держалась на повышенном уровне до более низких температур тела, чем в контроле ($p < 0,05$). На рис. 2 представлены графики изменения ЧД в зависимости от значений T_r у исследованных групп крыс. В контрольной группе после погружения крыс в холодную воду ЧД возрастала до 139 ± 8 цикл./мин, при $32-30$ °С держалась на этом уровне, затем наблюдалось постепенное снижение ЧД. В опытной группе № 1 первоначальная активизация дыхания при охлаждении была более выражена, ЧД при $T_r 30$ °С достигала значений 171 ± 9 цикл./мин, с $T_r 29$ °С значения ЧД начинали уменьшаться. При $T_r 31-22$ °С значения ЧД в группе № 1 были достоверно выше в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

У крыс группы № 2 максимальное значение ЧД 154 ± 4 цикл./мин наблюдалось при $T_r 30$ °С. Примерно на этом же уровне значения ЧД держались вплоть до $T_r 26$ °С, затем постепенно снижались. У крыс этой группы значения ЧД были достоверно выше, чем в контроле, начиная с $T_r 31$ °С ($p < 0,05$). Было проведено сравнение кривых

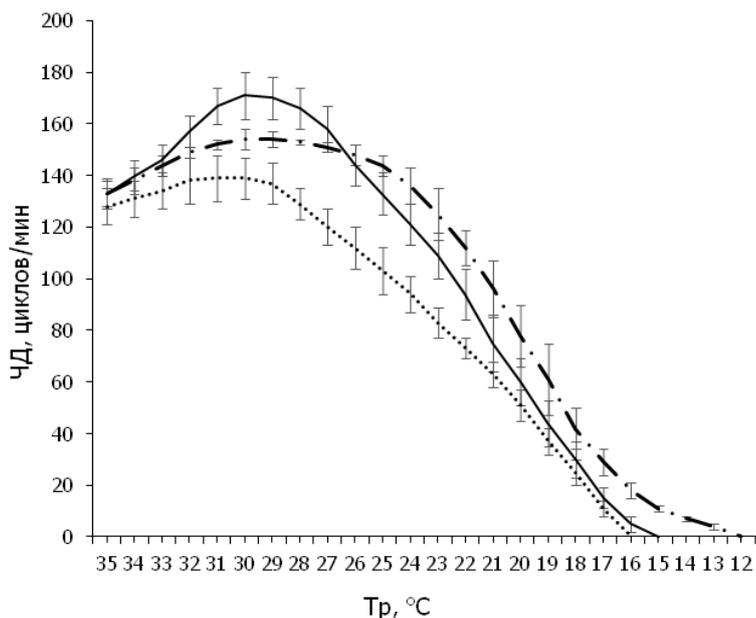


Рис. 2. Изменение частоты дыхания в зависимости от ректальной температуры (T_r) в процессе охлаждения крыс в контроле, опытных группах № 1 (нооклерин) и № 2 (славинорм). Контроль – точечная линия ($n = 12$); группа № 1 – сплошная линия ($n = 10$); группа № 2 – пунктир с точкой ($n = 5$). ЧД – частота дыхания, T_r – температура в пищеводе

изменения ЧД в процессе охлаждения крыс в опытных группах № 1 и № 2: при T_r 35–18 °C не было выявлено достоверных различий, при T_r 17–16 °C значения ЧД в группе № 2 были выше контроля ($p < 0,05$).

Очевидно, что у крыс, которым вводили нооклерин или славинорм, на стадии относительной компенсации включение защитных реакций терморегуляции и активация симпатoadренальной системы организма на холод были более выражены. У этих крыс позднее наблюдалась стадия декомпенсации, которая характеризовалась постепенным снижением ЧД и ЧСС.

Показатель насыщения крови кислородом (SpO_2) у всех групп крыс в диапазоне T_r 35–25 °C держался на уровне 86–96 %, затем при снижении T_r до 20 °C наблюдались его колебания от 60 до 80 %. При T_r 19–17 °C значения SpO_2 еще снижались до 40–70 %. В группе крыс № 2 на последней стадии охлаждения при редком дыхании сохранялась работа сердца, после каждого дыхательного движения регистрировались значения SpO_2 80–90 %, а в периоды между отдельными дыханиями насыщение гемоглобина крови кислородом падало до 0 %.

Остановка дыхания у контрольных животных наблюдалась при T_r $16,1 \pm 0,3$ °C, при T_p – $19,2 \pm 0,4$ °C, при этом ЧСС была 23 ± 3 уд./мин. В опытной группе крыс № 1 дыхание прекращалось при T_r $15,6 \pm 0,4$ °C, T_p $19,0 \pm 0,4$ °C, ЧСС – 26 ± 4 уд./мин. В

группе крыс № 2 остановка дыхания происходила при более низких температурах: T_r $11,6 \pm 0,3$ °C, T_p $14,1 \pm 0,3$ °C, ЧСС – 23 ± 6 уд./мин ($p < 0,05$), что впервые было отмечено нами ранее [15].

Следует отметить, что в контроле и в группе № 1 снижение ЧД и ЧСС перед остановкой дыхания происходило быстро; остановка дыхания наступала при более высоких значениях T_r и T_p , чем у крыс, которым вводили славинорм. Время охлаждения крыс опытной группы № 2 было около 2 ч, в течение последних 60 мин охлаждения T_r снижалась медленно, но при этом сохранялось дыхание и поддерживалась работа сердца. Эта стадия охлаждения начиналась после достижения T_r 15–16 °C, когда у контрольных и у крыс группы № 1 происходила остановка дыхания. На рис. 3 представлены графики, отражающие изменения T_r , ЧСС и ЧД на этой стадии охлаждения. В течение второго часа охлаждения ЧД постепенно снижалась от $11,4 \pm 1,5$ цикл./мин до нуля, ЧСС понижалась от 77 ± 5 до 23 ± 6 уд./мин при остановке дыхания.

Ранее уже было отмечено, что нооклерин повышает устойчивость сердца к гипоксии и охлаждению [16]. В данном исследовании у крыс, которым до охлаждения вводили нооклерин, в процессе охлаждения до остановки дыхания было выявлено более длительное поддержание фазы активизации дыхания в сравнении с контролем, но не было выявлено существенных отличий в характере изменения ЧСС в зависимости от значений T_r , а также в температурном пороге остановки дыхания. Нооклерин по химической структуре близок к естественным метаболитам мозга (ГАМК и глутаминовая кислота). Можно полагать, что обнаруженные эффекты нооклерина, выражающиеся в активизации дыхания, повышении устойчивости сердца к гипоксии и охлаждению, могут быть обусловлены различными причинами: усилением антиоксидантной защиты клеток, уменьшением скорости образования активных форм кислорода, снижением интенсивности перекисного окисления липидов [7, 13, 16], влиянием на тонус мускулатуры дыхательных путей [17].

В наших экспериментах обнаружено, что славинорм повлиял на характер изменения ЧСС и ЧД в процессе охлаждения крыс группы № 2, что проявилось в сдвиге кривых зависимости ЧСС и ЧД от значений T_r в область более высоких значений. Кроме того, на последнем этапе охлаждения у крыс наблюдался переход в гипометаболическое состояние, когда при низкой температуре тела (T_r 14–12 °C) сохранялось редкое дыхание, которое обеспечивало работу сердца до более низких температур, чем

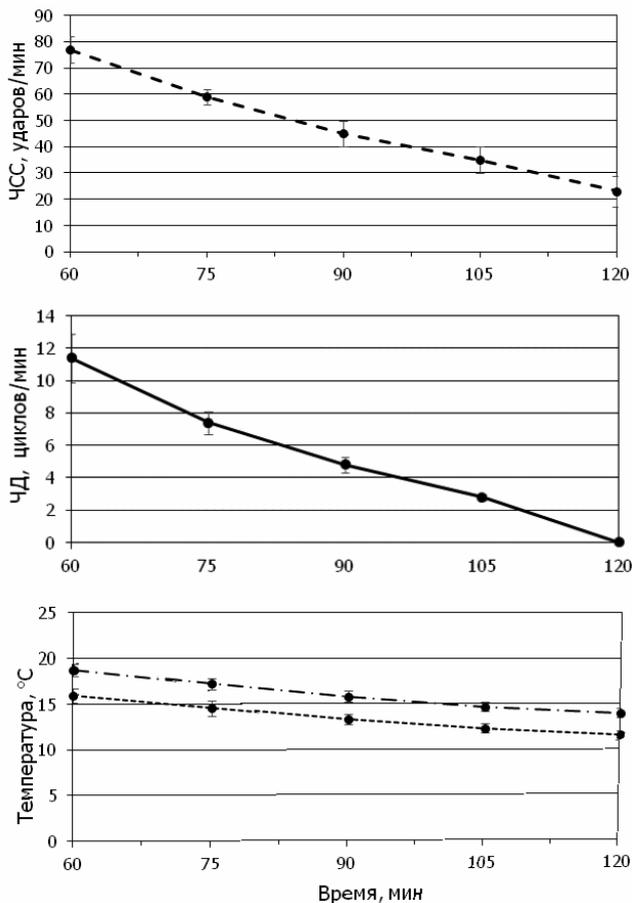


Рис. 3. Графики изменения ЧСС (А), ЧД (Б) и Тр, Тп (В) у крыс опытной группы № 2 (славинорм) на последнем этапе охлаждения (от 60-й минуты охлаждения).

По оси абсцисс – время, мин; по оси ординат: А – ЧСС – частота сердечных сокращений, уд./мин; Б – ЧД – частота дыхания, цикл./мин; В – Тр – ректальная температура, пунктирная линия; Тп – температура в пищеводе, пунктир с точкой

у контрольных животных. Очевидно, что на этом этапе глубокого охлаждения метаболизм крыс поддерживался на минимальном уровне, потребность в кислороде была снижена, поэтому для поддержания работы сердца достаточно было редкого дыхания. Эти данные заслуживают особого внимания. Известно, что у животных в состоянии гипометаболизма снижается частота сердечных сокращений, практически на 80–90 % уменьшается мозговой кровоток, метаболизм мозга и потребность его в кислороде снижается; происходит перестройка работы клеток, органов [1, 2]. Вполне вероятно, что славинорм способствовал включению у крыс сходной программы адаптации к низким температурам на молекулярном, клеточном уровне.

Эффекты славинорма могут быть объяснены тем, что в его состав входят трипептиды, которые могли

влиять на синтез белков апоптоза и др. [18]. А как известно, пептиды могут участвовать в регуляции перестроек на клеточном уровне при переходе зимоспящих животных в состояние спячки, в выходе из него, регулировать процессы энергообеспечения [1]. Возможно, славинорм способствовал включению механизмов адаптации нейронов к недостатку энергии при низкой температуре тела. Кроме того, славинорм, как и нооклерин, обладает антиоксидантными свойствами, поэтому мог усиливать антиоксидантную защитную систему, которая при охлаждении угнетается.

Можно полагать, что обнаруженные в наших исследованиях отличия в действии препаратов обусловлены различиями в механизмах их влияния на процессы, происходящие в организме. Они могли оказывать воздействие на один или несколько из ряда процессов, возникающих при повреждающих воздействиях на организм: скорость образования свободных радикалов, расходования АТФ, рост $[Ca^{2+}]$, выброс глутамата, процессы перекисного окисления липидов, способствовать снижению клеточного метаболизма, замедлять развитие патологических сдвигов в клетках [2, 4, 13]. Можно также предположить, что славинорм вызвал перестройки в клетках центров головного мозга, регулирующих дыхательную и сердечно-сосудистую функции, повысив их устойчивость к охлаждению. Это может объяснить более высокие значения ЧСС и ЧД в процессе снижения температуры тела, в сравнении с контролем и группой № 1 (нооклерин), а также понижение температурного порога остановки дыхания. Можно предположить, что мишенью нооклерина были кардиомиоциты и он способствовал повышению их устойчивости к охлаждению и гипоксии.

Выводы

1. Сравнительная оценка влияния нооклерина и славинорма на кардиореспираторные функции организма показала, что оба препарата усиливают и продлевают стадию активизации дыхания в начале охлаждения в сравнении с контролем.

2. Славинорм одновременно с активизацией дыхания оказывает протективное влияние на работу сердца: при сходных значениях температуры тела частота сердечных сокращений достоверно выше, чем в контроле и в группе животных с введением нооклерина. Славинорм продлевает время охлаждения организма до остановки дыхания за счет перехода организма на уровень гипометаболизма, когда за счет редких дыханий поддерживается работа сердца до более низкой температуры тела.

3. Введение нооклерина и славинорма перед охлаждением способствует мобилизации защитных сил организма, уменьшает патологическое влияние холодового фактора на организм при глубокой гипотермии.

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (№ 1021062411787-0-3.1.8).

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю благодарность Скачиловой Софии Яковлевне, д.х.н., профессору, разработчику лекарственных препаратов за рекомендацию исследовать в условиях гипотермии отечественный препарат нооклерин, за ценные советы в его применении.

Хавинсону Владимиру Хацкелевичу, д.м.н., профессору, разработчику пептидных регуляторов клеточных систем и функций организма, его коллегам за предоставление препарата славинорм для испытания при гипотермии.

Список литературы

1. Крамарова Л.И., Зиганшин Р.Х., Гахова Э.Н. Эндогенные гипометаболические–гипотермические факторы и их возможное применение для жизни в холоде // Биоорганическая химия. 2009. Т. 35. № 5. С. 597–609.
Kramarova L.I., Ziganshin R.Kh., Gakhova E.N. Endogenous hypometabolic-hypothermic factors and their possible application to life in the cold // *Bioorganicheskaya khimiya*. 2009. V. 35. № 5. P. 597–609.
2. Ким А.Е., Ганапольский В.П., Головкин К.П., Шустов Е.Б. Основные направления применения терапевтической гибернации в клинической и военной медицине (обзор литературы) // Рос. биомед. исследования. 2022. Т. 7. № 3. С. 51–61.
Kim A.E., Ganapolsky V.P., Golovko K.P., Shustov E.B. Main directions for the application of therapeutic hibernation in clinical and military medicine (literature review) // *Rossiyskie biomeditsinskie issledovaniya* 2022. V. 7. № 3. P. 51–61.
3. Макаров А.Ф., Ткачук Ю.В., Тоншин А.А., Бухтияров И.В. Искусственный гипобиоз как способ защиты организма в условиях острой гипобарической гипоксии // Медицина труда и промышленная экология. 2023. Т. 63. № 2. С. 102–108.
Makarov A.F., Tkachuk Yu.V., Tonshin A.A., Bukhtiyarov I.V. Artificial hypobiosis as a method of acute altitude illness negative impact reduction // *Meditina truda i promyshlennaya ekologiya* 2023. V. 63. № 2. P. 102–108.
4. Zakharova N.M., Tarahovsky Y.S., Komelina N. et al. Pharmacological torpor prolongs rat survival in lethal normobaric hypoxia // *J. Thermal. Biology*. 2021. V. 98. Art. 102906.
5. Иванов К.П. Возвращение к жизни после холодной остановки дыхания физиологическими методами без отогревания тела // Вестник РАМН. 2014. № 7–8. С. 5–9.
Ivanov K.P. Resuscitation of vital activity after cold arrest of respiration by physiological methods without rewarming the body // *Vestnik RAMN*. 2014. № 7–8. P. 5–9.
6. Mroczek T., Gladki M., Skalski J. Successful resuscitation from accidental hypothermia of 11.8 °C: where is the lower bound for human beings? // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2020. V. 58. № 5. P. 1091–1092.
7. Гагаринский Е.Л., Аверин А.С. Восстановление жизненных функций крыс после клинической смерти, индуцированной погружением в ледяную воду // Биофизика. 2021. Т. 66. № 6. С. 1203–1209.
Gagarinskiy E.L., Averin A.S. Restoration of vital function in rats after clinical death caused by cold water submersion // *Biofizika*. 2021. V. 66. № 6. P. 1203–1209.
8. Lowegrove B.G. A single origin of heterothermy in mammals // *Living in a seasonal world (thermoregulatory and metabolic adaptations)* / T. Ruf, C. Biebe, W. Arnold, E. Millesi, eds. Berlin; Heidelberg, 2012. P. 3–12.
9. Асланиди К.Б., Асланиди Г.В., Вацадзе Д.М. и др. О возможном участии ионного стресса в холодной гибели клеток // Биол. мембраны. 1997. Т. 14. № 1. С. 50–64.
Aslanidi K.B., Aslanidi G.V., Vachadze D.M. et al. A possible role of the cold-induced ionic stress in the cold-induced cell death // *Biologicheskie membrany*. 1997. V. 14. № 1. P. 50–64.
10. Шевелев О.А., Петрова М.В., Саидов Ш.Х. и др. Механизмы нейропротекции при церебральной гипотермии (обзор) // Общая реаниматология. 2019. Т. 15. № 6. С. 94–114.
Shevelev O.A., Petrova M.V., Saidov Sh.Kh. et al. Neuroprotection mechanisms in cerebral hypothermia (review) // *Obshchaya reanimatologiya*. 2019. V. 15. № 6. P. 94–114.
11. Gunn A.J., Laptook A.R., Robertson N.J. et al. Therapeutic hypothermia translates from ancient history in to practice // *Pediatr. Res.* 2017. V. 81. № 1–2. P. 202–209.
12. Семенов Д.Г., Беляков А.В., Рыбникова Е.А. Экспериментальное моделирование повреждающей и протективной гипоксии мозга млекопитающих // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. 2022. Т. 108. № 12. С. 1592–1609.
Semenov D.G., Belyakov A.V., Rybnikova E.A. Experimental modeling of damaging and protective hypoxia of the mammalian brain // *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2022. V. 108. № 12. P. 1592–1609.
13. Kuznik B.I., Ryzhak G.A., Khavinson V.K. Polypeptide vessel complex and its role in physiology function regulation in aging pathology // *Adv. Gerontol.* 2019. V. 32. № 1–2. P. 174–179.
14. Носков Д.С., Поройков В.В., Ших Е.В., Яснецов В.В. Деанола ацеглумат (нооклерин): клинико-фармакологические аспекты и актуальность применения в лечебной практике // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2013. Т. 113. № 11. С. 97–99.
Noskov D.S., Poroykov V.V., Shikh E.V., Yasnetsov V.V. Deanol aceglumate (nooclerin): clinical/pharmacological aspects and relevance in clinical practice // *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2013. V. 113. № 11. P. 97–99.
15. Арокина Н.К., Хавинсон В.Х., Чалисова Н.И. и др. Влияние полипептидного комплекса сосудов на

жизнеустойчивость крыс при холодовом стрессе // Якут. мед. журнал. 2022. Т. 2. № 78. С. 47–50.

Arokina N.K., Khavinson V., Chalisova N.I. et al. The influence of the vascular polypeptide complex on the viability of rats under cold stress // Yakutskiy meditsinskiy zhurnal. 2022. V. 2. № 78. P. 47–50.

16. Арокина Н.К. Влияние деанола ацеглюмата на работу сердца крыс при искусственной вентиляции легких в условиях холодового паралича дыхания // Эксперим. и клин. фармакология. 2021. Т. 84. № 10. С. 15–18.

Arokina N.K. Effect of deanol aceglumate on the heart function of rats with mechanical lung ventilation under conditions of cold respiratory paralysis // Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya 2021. V. 84. № 10. P. 15–18.

17. Шелудько Е.Г., Наумов Д.Е. ГАМК и ее роль в регуляции тонуса дыхательных путей // Бюл. физиологии и патологии дыхания. 2020. Т. 76. С. 97–106.

Sheludko E.G., Naumov D.E. GABA and its role in the regulation of the airway tone // Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya. 2020. V. 76. P. 97–106.

18. Khavinson V., Ilina A., Krasovskaya N. et al. Neuroprotective effects of tripeptides – epigenic regulators in mouse model of Alzheimer's disease // Pharmaceuticals (Basel). 2021. V. 14. № 6. P. 515.

Поступила 18.09.2023

PROTECTIVE EFFECTS OF NOOCLERIN AND SLAVINORM ON RAT'S CARDIORESPIRATORY FUNCTIONS DURING COLD-WATER IMMERSION

Arokina N.K.

I.P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg, Russian Federation

Effects of nooclerin (deanol aceglumate) and slavinorm (vascular polypeptide complex) on the breathing and heart rates were compared in Wistar rats in the course of progressive hypothermia.

The animals were immersed in water at 9 ± 0.4 °C. The parameters under study were breathing rate (BR), heart rate (HR), rectal temperature (Tr), esophageal temperature (Tes), and arterial saturation (SpO₂).

In comparison to controls, at the beginning of hypothermia BR in experimental rats was high at lower Tr values. Nooclerin did not change the trend of HR curve dependence on Tr, whereas slavinorm shifted the trend toward high HR values; besides, it more than doubled life duration before the respiratory arrest. This occurred as a result of rats' transition in the state of cold-hypometabolism when the cardiac activity was maintained by slow breathing.

The investigation showed that nooclerin and slavinorm are able to preserve the viability of organisms in hypothermic environment. Both drugs enhance and extend the stage of breathing activation at the beginning of cold immersion in the experimental rats in comparison to their controls. Injection of nooclerin and slavinorm mobilizes the defenses of organism and reduces the pathological effects of deep hypothermia.

Key words: hypothermia, breathing rate, heart rate, rats, nooclerin, slavinorm.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 75–81.

МЕТОДИКИ

УДК 57.087,004.032.26

ПРИМЕНЕНИЕ СВЕРТОЧНЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ ДЛЯ АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ ПЕРВИЧНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОЖИ В ДЛИТЕЛЬНЫХ МЕЖПЛАНЕТНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ЭКСПЕДИЦИЯХ

Переведенцев О.В., Плотников А.Д.

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

E-mail: perevol@imbpr.ru

По сравнению с орбитальными полетами в длительных межпланетных космических экспедициях риск развития различных дерматологических заболеваний увеличивается. Использование технологий искусственного интеллекта позволяет в условиях повышенной автономности решить задачу поддержки космонавтов при первичной диагностике заболеваний. Было проведено исследование, показавшее возможность модификации архитектуры сверточной нейронной сети VGG16 таким образом, что ее использование позволяет провести диагностику кожных заболеваний по медицинским изображениям с точностью не менее 0,88. Подобные решения могут найти применение в перспективной системе медицинского обеспечения дальних пилотируемых космических полетов в целях раннего выявления патологических изменений кожных покровов.

Ключевые слова: искусственная нейронная сеть, медицинская экспертная система, теледерматология, космический полет, кожное заболевание.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 82–88.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-82-88

Кожа, являясь наружным покровом человеческого тела, не только ограничивает внутренние органы от внешней среды, но и, взаимодействуя с нервной, эндокринной и иммунной системами человека, обеспечивает поддержание внутреннего гомеостаза организма. Кожа тесно связана с внутренними органами через кровеносную, лимфатическую и нервную системы. Поэтому заболевания других органов и систем могут послужить причиной патологического процесса в коже. В развитии патологического процесса исключительно важную роль играют индивидуальная предрасположенность и степень сопротивляемости организма. Исходя из этого, кожные болезни нельзя рассматривать только как местные процессы, они являются заболеваниями всего организма.

При попадании человека в экстремальные условия весь организм испытывает стресс, который проявляется в том числе снижением резистентной

функции кожных покровов. Например, длительное пребывание подводников в замкнутых условиях объекта военной техники создает экстремальные условия, в которых морякам приходится осуществлять свою военно-профессиональную деятельность. У моряков-подводников в длительных морских походах заболевания кожи и подкожной клетчатки составляют до 15 % в общей структуре заболеваемости, входя в тройку наиболее частых заболеваний вместе с болезнями органов дыхания и пищеварения [1]. Происходит патологическое изменение состава аутомикрофлоры кожи, угнетение факторов неспецифической резистентности организма, ухудшаются показатели функционального состояния неспецифического иммунитета, в результате чего повышается уровень заболеваний кожи и подкожной клетчатки [2]. Среди кожных заболеваний чаще всего встречаются инфекции кожи и подкожной клетчатки, а также грибковые поражения кожи, составляющие 41,2 % случаев у российских и 38,4 % у американских военных подводников [3].

Во время космических полетов на орбитальных космических станциях также отмечаются проблемы с кожей у космонавтов и астронавтов. Наиболее частыми проблемами после травматических повреждений кожи являются контактный и атопический дерматит, кожные инфекции, сухость и зуд кожи. Дополнительный дискомфорт доставляет замедленное заживление даже незначительных ран и поверхностных повреждений кожи. На это влияет не только замкнутая среда космического корабля и сложности с поддержанием гигиены на привычном уровне, но и микрогравитация, которая влияет на иммунную систему, снижая производительность иммунных клеток, провоцируя аллергии и активизируя вирусы герпеса [4].

В ряде исследований на борту Международной космической станции (МКС) были обнаружены микроорганизмы, ассоциированные с кожей, и некоторые потенциально патогенные грибы. Помимо риска заражения на борту космических аппаратов

существует повышенный риск прямой передачи кожной инфекции от человека к человеку, как, например, во время космических полетов часто сообщалось о колонизации и последующей передаче *S. aureus* между членами экипажа. Члены космических экипажей во время длительных экспедиций становятся более склонными к инфекциям по различным причинам, включая нарушение регуляции иммунной системы, ограничения гигиены, повышенную вирулентность микробной флоры и загрязнение внутренней среды космических аппаратов. К таким инфекциям относятся как грибковые инфекции, так и реактивация простого и опоясывающего герпеса. Наконец, еще одним из возможных заболеваний может быть крапивница, которая чаще всего вызывается аллергической реакцией, но также может возникать в ответ на декомпрессионную болезнь [5].

В случае межпланетных пилотируемых экспедиций помимо уже известных факторов космического полета на здоровье космонавтов дополнительное влияние начинает оказывать повышенный уровень радиации. Ранние эффекты изменения клеток эпидермиса проявляются при 1200–1700 сГр, при более высоких дозах возникают более серьезные повреждения покровной ткани, вплоть до хронических воспалений и некрозов, которые в дальнейшем могут перерасти в незаживающие язвы и злокачественные опухоли [6].

Клинические признаки кожных болезней складываются из симптомов различного характера. Их можно разделить на общие, субъективные и объективные симптомы, которые являются внешним выражением патологических процессов, происходящих в коже. Различные виды сыпи на коже могут отражать как патологические изменения в самой коже, так и органические и функциональные сдвиги в других органах и системах. Первичный диагноз основывается в первую очередь на анамнезе и осмотре кожных покровов, при необходимости применяются инструментальные и лабораторные методы диагностики.

По сравнению с земной медициной в случае межпланетных пилотируемых полетов возможности проведения микроскопических исследований и лабораторной диагностики существенно сокращены. Для успешного выполнения дальних пилотируемых космических полетов, а также обеспечения эффективной длительной работы космонавтов на околопланетных орбитальных станциях и на планетных базах необходимо в медицинском сопровождении совместно с возможностями теледерматологии использовать различные технологии искусственного интеллекта [7, 8].

В настоящее время используются 2 основных подхода к автоматизации процесса диагностики кожных заболеваний – медицинские экспертные системы (МЭС) и искусственные нейронные сети (ИНС).

В первом случае формируется база знаний, основанная на мнениях экспертов в предметной области, научных публикациях и других источниках информации. Пользователь, взаимодействуя с такой системой, указывает известные ему факты, например симптомы заболевания, и система на основе анализа этих фактов и базы знаний выдает вероятный диагноз. Например, работая с «Интеллектуальной системой дерматовенерологической диагностики Logoderm», врач выбирает симптомы, обнаруженные у пациента, путем сопоставления их со стандартизированными изображениями дерматологических заболеваний и их кратким описанием, размещенным в базе данных. После заполнения обязательных полей система выдает перечень из 10 диагнозов с указанием их вероятностей. В ходе сравнительного тестирования точности диагностики Logoderm и практикующих врачей доля правильных диагнозов при 95%-ном доверительном интервале у практикующих врачей составила 68,8 %, а у системы Logoderm – 82,0 %. Установлено статистически значимое ($p < 0,05$) превышение точности работы системы Logoderm по сравнению с результатами диагностики практикующего врача. Следует отметить, что при совместной работе врача и экспертной системы удалось дополнительно увеличить долю правильных диагнозов до 92,7 % [9].

Подход, основанный на использовании ИНС, напротив, ориентирован на то, чтобы нейросеть самостоятельно выявила характерные признаки в обучающих наборах данных, устанавливая соответствия между входными данными и результатами. Тогда в будущем, работая с новыми данными, ИНС сможет самостоятельно обнаруживать эти признаки и относить входные данные к той или иной результирующей категории.

В случае заболеваний кожи ИНС осуществляет анализ изображений пораженных участков и выдает свое заключение. Для анализа изображений в настоящее время разработан класс многослойных ИНС, называемый сверточными нейронными сетями (СНС). Работа такой сети может быть описана как переход от конкретных особенностей изображения ко все более абстрактным деталям. При этом сеть в процессе обучения адаптируется и вырабатывает иерархию абстрактных признаков, фильтруя маловажные детали и выделяя существенные. Следует отметить, что выделенные СНС-признаки настолько трудны для интерпретации человеком, что на практике их никто не пытается понять, а тем более вручную оптимизировать. Для улучшения результатов работы СНС разработчики оптимизируют состав обучающих данных, меняют архитектуру и отдельные параметры самой СНС.

В качестве примера применения СНС в дерматологии можно рассмотреть результат работы СНС Moleanalyzer-Pro®, которая использовалась для

классификации 6 наборов дерматоскопических изображений, содержащих по 30 меланом и 100 доброкачественных очагов аналогичной локализации и морфологий: поверхностно распространяющиеся меланомы и макулярные невусы; меланомы лентиго; злокачественные и солнечные лентиго / себорейные кератозы / невусы; узловые меланомы и папилломатозный / дермальный / синий невус; меланомы слизистой оболочки и образования слизистой / пятна / невусы; акролентигинозная меланома и врожденные невусы; подногтевые меланомы и подногтевые врожденные невусы / лентигоны / пигментация этнического типа. СНС продемонстрировала высокую эффективность на изображениях кожи (чувствительность $\geq 83,3$ %, специфичность > 65 %, ROC-AUC $> 0,93$). Существенно худшие результаты были получены для изображений слизистой оболочки (чувствительность $93,3$ %, специфичность $38,0$ %, ROC-AUC $0,75$) и ногтя (чувствительность $53,3$ %, специфичность $68,0$ %, ROC-AUC $0,62$) [10].

Обучение СНС требует достаточно больших массивов изображений. Так, набор данных ImageNet, используемый для обучения СНС распознавать объекты реального мира, содержит изображения 1000 классов объектов. В настоящее время в него входят 1 281 167 обучающих изображений и 50 000 проверочных изображений. Не всегда есть возможность подготовить обучающие наборы данных такой размерности. Для решения этой проблемы используют подход трансферного обучения, идея которого заключается в том, что за основу берется ИНС, обученная на похожих данных, которая дообучается на предметном наборе данных. В результате требуется существенно меньший набор данных для получения от ИНС требуемой точности.

Можно выбрать стандартную модель СНС, предварительно обученную на популярном наборе данных, например ImageNet, и точно настроить сеть для решения конкретной задачи. Вопреки предположениям, что СНС, предварительно обученная на изображениях реального мира, может плохо обрабатывать специфические медицинские изображения, исследования показали, что предварительно обученные на наборе ImageNet модели обеспечивают точность диагностики кожных заболеваний на уровне практикующих врачей-дерматологов [11].

Чаще всего для трансферного обучения в дерматологии применяются СНС типа ResNet, Inception, VGG и EfficientNet. С их помощью диагностируются такие кожные заболевания, как меланомы различного вида, язвы, псориаз и ряд других. Например, предварительно обученная СНС EfficientNetB7 показала точность $99,3$ % при бинарной классификации меланомы. Следует отметить, что в исследованиях по использованию СНС в дерматологии использовалась преимущественно бинарная классификация, т. е. присутствует или нет на предъявляемом

нейросети изображении конкретное заболевание. В этом случае в большинстве исследований точность диагностики была не ниже 90 % [12].

При множественной диагностике, когда необходимо определить одно из нескольких заболеваний на предъявляемом изображении, СНС показывает худшие результаты. Например, при диагностике среди 7 заболеваний: меланома, меланоцитарные невусы, доброкачественный кератоз, интраэпителиальная карцинома, дерматофиброма, сосудистые поражения, андатиичные невусы – с использованием сети Inceptionv3 удалось добиться точности $69,6$ % и AUC-ROC на уровне $0,9$ [13].

В случае диагностики с использованием сети ResNet50 для 5 видов изображений чувствительность и специфичность составили $56,5$ и $98,8$ %. Следует отметить, что для тех же изображений, проанализированных врачами-дерматологами, чувствительность и специфичность диагностики составили $56,5$ и $89,2$ % соответственно [14].

В случае диагностики 10 заболеваний по дерматологическим изображениям с использованием модифицированной сети AlexNet была получена точность $78,1$ % на наборе из 1300 изображений [15]. Как видно, с увеличением числа классов точность работы СНС снижается.

Цель работы – поиск такой модификации одной из стандартных архитектур СНС, при которой качество работы СНС после трансферного обучения будет удовлетворительным. Качество оценивается по критерию F1-мера, причем удовлетворительным в данной работе принят уровень $F1 > 0,8$.

Методика

Для множественной диагностики были выбраны 5 групп кожных заболеваний: грибковые и вирусные заболевания, фолликулит, фурункулы, карбункулы, крапивница. Данный выбор обусловлен следующими факторами: указанные заболевания присутствуют в перечне заболеваний документа «Методические указания для операторов по оказанию само- и взаимопомощи», используемого космонавтами российского сегмента МКС, а также риск их развития во время длительных космических экспедиций подтверждается результатами исследований, описанных выше. Крапивница добавлена дополнительно в связи с тем, что существует достаточно высокая вероятность того, что в новых условиях межпланетного пилотируемого полета, когда к уже известным отрицательным факторам добавляется повышенный уровень радиации и гипомагнитные условия, у космонавтов могут чаще возникать аллергические реакции, в том числе и на фармакологические препараты, использование которых в более привычных условиях не вызывает побочной аллергической реакции.

Таблица 1

Размерность наборов данных

№	Категория	Кол-во изображений для обучения	Кол-во изображений для валидации
1	Карбункулы и фурункулы	70	18
2	Фолликулиты	54	14
3	Грибковая инфекция	80	19
4	Вирусная инфекция	59	15
5	Крапивница	62	17

Были сформированы наборы данных, содержащие изображения, полученные из открытых интернет-источников, объемы которых представлены в табл. 1.

Общий объем обучающих данных составил 325 изображений, валидационный набор данных содержал 83 изображения, что существенно меньше по сравнению с данными других исследований, содержащих сотни изображений, так что изначально было понятно, что потребуется оптимизировать архитектуру исходной СНС для достижения желаемого результата.

В качестве инструмента разработки применялся язык программирования Python с открытой программной библиотекой для машинного обучения TensorFlow, разработанной компанией Google, и библиотекой с открытым исходным кодом Kera, которая предоставляет удобный интерфейс к TensorFlow для работы с искусственными нейронными сетями.

Исследование проводилось с использованием СНС типа VGG16, которая была предложена К. Simonyan и А. Zisserman из Оксфордского университета в 2015 г. [16]. Данная модель достигает точности 92,7 % в задаче распознавания объектов на изображении на наборе ImageNet.

Для оценки качества диагностики использовались 3 метрики – точность (precision), полнота (recall) и F1-мера.

Точность – доля объектов, которые СНС правильно идентифицировала.

Полнота показывает, какую долю объектов положительного класса из всех объектов положительного класса нашла СНС.

F1-мера – агрегированный критерий качества СНС, объединяющий точность и полноту. Расчет F1 осуществляется по формуле

$$F1 = 2 \cdot \frac{precision \cdot recall}{precision + recall}$$

Задачей данного исследования является поиск такой конфигурации СНС, при которой показатель F1 будет не меньше 0,8.

Дополнительно изучался вопрос зависимости точности нейронной сети от количества диагностируемых заболеваний.

Результаты и обсуждение

Первоначально было проверено качество бинарной классификации с использованием СНС типа VGG16, у которой выходные слои с большим количеством нейронов были заменены на слой с одним нейроном. После этого проводилось трансферное обучение модифицированной сети на подготовленных наборах изображений. Результаты показаны в табл. 2.

Из приведенной таблицы видно, что выбранная СНС, достаточно хорошо справляется с бинарным распознаванием выбранных кожных заболеваний, обеспечивая уровень $F1 \geq 0,85$.

Использование стандартной архитектуры VGG16, в которой выходные слои были заменены на слой из 5 нейронов для диагностики 5 групп заболеваний, показало неудовлетворительный результат: $F1 \leq 0,7$, полнота = 0,72, точность = 0,69.

С целью улучшения качества диагностики архитектура СНС была доработана следующим образом. Из модели VGG16 были удалены выходные полносвязные (плотные) слои, в которых все нейроны предыдущего и следующего слоев связаны, и вместо них были добавлены 6 новых слоев. Причем веса нейронов сети VGG16 в процессе дообучения не менялись, а обучение проводилось только для новых слоев нейронов.

Был добавлен слой MaxPooling, который вычисляет максимальные значения, понижая размерность выходного тензора, в результате чего уменьшается объем информации при сохранении основных функций, необходимых для распознавания изображений, что в том числе помогает предотвратить переобучение модели.

За ним шел слой Flatten, обеспечивающий преобразование многомерного входного тензора в одномерный вектор, что позволяет в дальнейшем его объединять с полносвязными слоями.

Затем следует чередование слоев Dropout и Dense. Слой Dropout случайным образом устанавливает входные единицы равными 0 с заданной частотой на каждом шаге обучения, что помогает предотвратить переобучение.

Также осуществлялся подбор параметров слоев Dropout (в диапазоне от 0,2 до 0,4) и первого

Качество бинарной классификации

№	Категория	Полнота	Точность	F1-мера
1	Карбункулы и фурункулы	0,89	0,95	0,91
2	Фолликулиты	0,93	0,94	0,93
3	Грибковая инфекция	0,90	0,80	0,85
4	Вирусная инфекция	0,93	0,89	0,91
5	Крапивница	0,77	1,00	0,87

полносвязного слоя Dense (от 10 до 50 нейронов) с целью дальнейшей оптимизации архитектуры модели.

Лучший результат получился для архитектуры, показанной на рис. 1.

При использовании описанной выше СНС для диагностирования 5 групп заболеваний по дерматологическим изображениям была получена точность 0,88, полнота 0,78 и F1-мера 0,83. Как и в приведенных выше результатах других исследований, точность классификации меньше значений, полученных при бинарной классификации, тем не менее полученный результат превосходит результаты других исследований, в которых использовались нейронные сети без дополнительной модификации, притом что размер обучающей и валидационной выборки был существенно меньше тех, которые использовались другими исследователями.

Для оценки зависимости качества диагностики с применением СНС от количества заболеваний последовательно увеличивалось количество групп заболеваний. Так, после оценки качества бинарной классификации для карбункулов и фурункулов были добавлены изображения с фолликулитами. Затем последовательно добавлялись изображения поражений кожи при грибковых инфекциях, вирусных инфекциях и крапивнице. Для каждой новой группы изображений проводилось дообучение СНС и вычислялись показатели качества.

Дополнительно была протестирована точность диагностики с применением СНС для 2 новых групп – аллергического контактного дерматита и ожогов. Набор данных для аллергического контактного дерматита составил 82 изображения для обучения и 20 для валидации, а для ожогов соответственно 63 и 17 изображений.

На рис. 2 показан график изменения точности классификации и F1-меры в зависимости от количества заболеваний в диагностируемом наборе изображений.

Видно, что с увеличением количества диагностируемых заболеваний качество работы СНС снижается и для количества заболеваний, превышающих 5, F1-мера становится ниже заданного уровня.

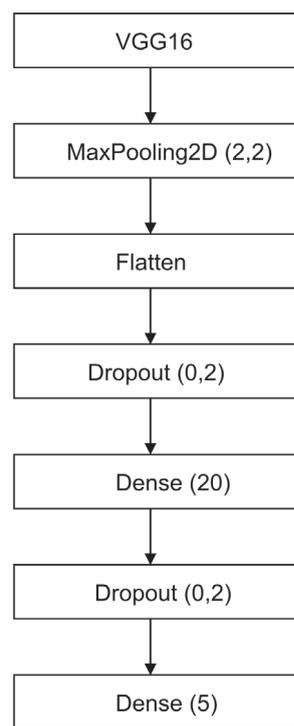


Рис. 1. Архитектура модифицированной СНС

Одним из способов повышения точности диагностики может быть объединение технологий ИНС и МЭС. В этом случае МЭС оценивает общие и субъективные симптомы, например, повышение температуры тела и наличие кожного зуда, а СНС обрабатывает изображения, осуществляя поиск на них объективных симптомов изменения кожных покровов, также передавая свою оценку в МЭС. На выходе МЭС может дать более точную оценку наличия того или иного дерматологического заболевания. По результатам диагностики можно начинать лечение, а при доступности связи контроль процесса лечения можно осуществлять средствами теледерматологии.

Таким образом, применение СНС для автоматической диагностики дерматологических заболеваний по изображениям пораженных участков кожи позволит автономным коллективам, в том числе

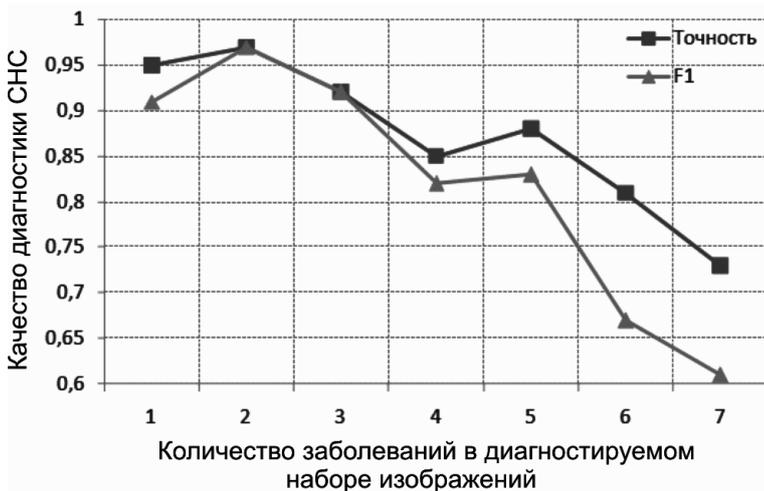


Рис. 2. Зависимость качества диагностики СНС от количества групп заболеваний

членам космических экипажей, самостоятельно проводить первичную диагностику.

Выводы

1. Использование трансферного обучения позволяет при достаточно небольших объемах обучающих изображений достичь точности диагностики с применением СНС на уровне, приемлемом для первичной диагностики ограниченной группы дерматологических заболеваний.

2. Модификация модели VGG16 путем добавления слоев MaxPooling, Dropout и дополнительного полносвязного слоя Dense позволила увеличить точность работы СНС до 0,88 при $F1 = 0,83$.

3. Применение СНС в системе медицинского обеспечения межпланетных космических экспедиций позволяет в автономном режиме оказывать поддержку космическому экипажу при первичной диагностике кожных заболеваний по изображениям участков кожи с морфологическими элементами, характеризующими заболевание.

Работа выполнена в рамках базовой темы FMFR-2024-0039.

Список литературы

1. Мызников И.Л., Бурцев Н.Н., Бондаренко Н.В., Хамидуллина А.Я. Заболеваемость моряков из состава экипажей подводной лодки в длительных морских походах // *Авиакосм. и экол. мед.* 2015. Т. 49. № 4. С. 42–46.

Myznikov I.L., Burtsev N.N., Bondarenko N.V., Khamidullina A.Ya. Morbidity of sailors from submarine crews on long sea voyages // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2015. V. 49. № 4. P. 42–46.

2. Мызников И.Л., Махров М.Г., Рогованов Д.Ю. Периодизация рабочего цикла и особенности заболеваемости подводников в длительных автономных походах // *Авиакосм. и экол. мед.* 2001. Т. 35. № 3. С. 3–6.

Myznikov I.L., Makhrov M.G., Rogovanov D.Yu. Periodization of the work cycle and features of morbidity among submariners during long autonomous voyages // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2001. V. 35. № 3. P. 3–6.

3. Вакулова И.Н., Мызников И.Л., Кутелев Г.М., Копылова Н.С. Эпидемиология микозов у подводников в условиях Кольского Заполярья // *Авиакосм. и экол. мед.* 2003. Т. 37. № 3. С. 23–26.

Vakulova I.N., Myznikov I.L., Kutelev G.M., Kopylova N.S. Epidemiology of mycoses in submariners in the Kola Arctic // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2003. V. 37. № 3. P. 23–26.

4. Dobney W., Mols L., Mistry D. et al. Evaluation of deep space exploration risks and mitigations against radiation and microgravity // *Front. in Nuclear Med.* 2023. V. 3. <https://doi.org/10.3389/fnume.2023.1225034>. [Electronic resource]. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnume.2023.1225034/full> (access date: 07.01.2024).

5. Dunn C., Boyd M., Orengo I. Dermatologic manifestations in spaceflight: A review // *Dermatol. Online J.* 2018. V. 24. № 11. P. 1–8. <http://dx.doi.org/10.5070/D3241104> 2001. [Electronic resource]. URL: <https://escholarship.org/uc/item/9dw087tt> (access date: 07.01.2024).

6. Фарбер Ю.В., Шафиркин А.В. Отдаленные последствия воздействия ионизирующего излучения на кожу в зависимости от дозы // *Авиакосм. и экол. мед.* 2000. Т. 34. № 5. С. 38–42.

Farber Yu.V., Shafirkin A.V. Long-term consequences of exposure to ionizing radiation on the skin depending on the dose // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2000. V. 34. № 5. P. 38–42.

7. Орлов О.И., Попова И.И., Ревякин Ю.Г. Использование телемедицинских методов и средств получения видеoinформации от космонавтов // *Авиакосм. и экол. мед.* 2021. Т. 55. № 6. С. 13–18.

Orlov O.I., Popova I.I., Revyakin Yu.G. Use of telemedicine methods and means of obtaining video information from cosmonauts // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2021. V. 55. № 6. P. 13–18.

8. Терентьева Е.В., Мухамедьярова Д.Э., Терентьева Н.Г. Сопоставительный анализ инструментария теледерматологии как элемента системы электронного здравоохранения // *Современные технологии управления.* 2020. № 2. [Электронный ресурс]. URL: <https://sovman.ru/article/9209/> (дата обращения: 07.01.2024).

Terentyeva E.V., Mukhamedyarova D.E., Terentyeva N.G. Comparative analysis of teledermatology tools as an element of the electronic health care system // *Modern management*

technologies. 2020. № 2. [Electronic resource]. URL: <https://sovman.ru/article/9209/> (access date: 01.07.2024).

9. Купеева И.А., Разнатовский К.И., Раводин Р.А. Оценка клинической эффективности диагностического модуля интеллектуальной системы Logoderm // Проблемы медицинской микологии. 2016. Т. 18. № 4. С. 13–18.

Kupееva I.A., Raznatovsky K.I., Ravodin R.A. Evaluation of the clinical effectiveness of the diagnostic module of the Logoderm intellectual system // Problemy meditsinskoj mikologii. 2016. V. 18. № 4. P. 13–18.

10. Winkler J.K., Sies K., Fink C. et al. Melanoma recognition by a deep learning convolutional neural network – Performance in different melanoma subtypes and localizations // Eur. J. of Cancer. 2020. V. 127. P. 21–29. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.11.020.

11. Haenssle H.A., Fink C., Toberer F. et al. Man against machine reloaded: performance of a market-approved convolutional neural network in classifying a broad spectrum of skin lesions in comparison with 96 dermatologists working under less artificial conditions // Ann. of Oncol. 2020. V. 31. Is. 1. P. 137–143.

12. Jeong H.K., Park C., Henao R., Kheterpal M. Deep learning in dermatology: a systematic review of current approaches, outcomes, and limitations // JID Innovations. 2022. V. 3. Is. 1. [Electronic resource]. URL: [https://www.jidinnovations.org/article/S2667-0267\(22\)00058-3/fulltext](https://www.jidinnovations.org/article/S2667-0267(22)00058-3/fulltext). (access date: 07.01.2024).

13. Kawahara J., Daneshvar S., Argenziano G., Hamarneh G. Seven-point checklist and skin lesion classification using multitask multimodal neural nets // IEEE J. of Biomed. and Health Inform. 2019. V. 23. № 2. P. 538–546. DOI: 10.1109/JBHI.2018.2824327.

14. Maron R.C., Weichenthal M., Utikal J.S. et al. Systematic outperformance of 112 dermatologists in multiclass skin cancer image classification by convolutional neural networks // Eur. J. of Cancer. 2019. V. 119. P. 57–65.

15. Sun X., Yang J., Sun M., Wang K. A benchmark for automatic visual classification of clinical skin disease images //

Eur. Conference on Computer Vision. 2016. V. 9910. P. 206–222. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-319-46466-4_13.

16. Simonyan K., Zisserman A. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition // 3rd International Conference on Learning Representations. 2015. [Electronic resource]. URL: <https://ora.ox.ac.uk/objects/uuid:60713f18-a6d1-4d97-8f45-b60ad8aebbce> (access date: 11.01.2024).

Поступила 13.02.2024

APPLICATION OF CONVOLUTION NEURAL NETWORKS IN AUTOMATED PRIMARY DIAGNOSTICS OF SKIN DISEASES IN LONG-DURATION SPACE EXPLORATION MISSIONS

Perevedentsev O.V., Plotnikov A.D.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Unlike the orbital missions, in exploration missions the risk of various dermatologic diseases will grow. Artificial intelligence technologies will be instrumental in primary diagnostics of cosmonauts in the conditions of high autonomy. Our investigation demonstrated the feasibility to modify the architecture of convolution neural network VGG16 so that it could be used in diagnostics of skin diseases by medical images with an accuracy of no less than 0.88. In future, this approach could be integrated in a medical care system of space exploration mission for early detection of skin pathologies.

Key words: artificial neural network, medical consulting system, tele-dermatology, space mission, skin disease.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 82–88.

УДК 001.891.53[629.786.2+539.125]

ФОРМИРОВАНИЕ ЗАЩИТЫ ДЛЯ КОСМИЧЕСКИХ АППАРАТОВ ОТ НЕЙТРОНОВ

Рябов В.А.¹, Сиксин В.В.¹, Щеголев И.Ю.²

¹Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва

²АО «Авангард», г. Сафоново, Смоленская область

E-mail: antktech@inbox.ru

Совместно с Физическим институтом им. П.Н. Лебедева (ФИАН) в исследовательской лаборатории АО «Авангард» разработан новый защитный материал от нейтронов с разным процентным соотношением ¹⁰B под названием wikineutron.

Проведено экспериментальное сравнение нового защитного материала с синтезированными керамическими материалами на основе карбида бора и борида вольфрама. Материал wikineutron обладает массово-габаритными показателями, превышающими существующие аналоги защитных материалов от нейтронов, и может быть рекомендован для защиты космических аппаратов.

Ключевые слова: композитный нейтронопоглощающий материал, эпитепловые и быстрые нейтроны.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 89–95.

DOI: 10.21687/0233-528X-2024-58-3-89-95

При облучении космических аппаратов галактическими космическими лучами и протонами радиационных поясов Земли в веществе защиты непрерывно образуются вторичные нейтроны в широком диапазоне энергий. Дополнительное увеличение потока нейтронов может быть обусловлено взаимодействием с веществом защиты протонов высокой энергии, образующимися в периоды солнечных протонных событий, а также непосредственно приходом на орбиту Земли от Солнца нейтронов высоких энергий. Для защиты электронного оборудования и космонавтов необходимы защитные материалы, эффективно ослабляющие вклад в дозу от нейтронов. Эти материалы могут использоваться при конструировании интерьеров кают, в том числе при создании радиационного убежища на борту пилотируемого космического аппарата.

В исследовательской лаборатории АО «Авангард» совместно с Физическим институтом им. П.Н. Лебедева (ФИАН) были разработаны защитные материалы от нейтронов на основе борированных сферопластиков, которые обладают большими коэффициентами ослабления для нейтронов и малым весом. Для формирования нейтронного канала на комплексе протонной терапии (КПТ) «Прометеус» были применены разработанные

авторами статьи еще 2 новых нейтронопоглощающих материала: сверхвысокомолекулярный полиэтилен (СВМПЭ) с добавлением аморфного бора, названный как материал Т, и материал Т+ – это материал Т с добавлением вольфрама (W). Новый материал wikineutron, содержащий карбид бора и сферопластики, был изготовлен 2 видов: wiki-1 (wikineutron с добавлением компонентов ¹⁰B 10 %) и wiki-2 (wikineutron с добавлением компонентов ¹⁰B 20 %).

Цель работы – экспериментальное получение на ускорительном источнике нейтронов защитных характеристик от нейтронного излучения для разработанных авторами защитных материалов в сравнении с синтезированными керамическими материалами на основе карбида бора и бориды вольфрама.

Боросодержащие сферопластики на основе эпоксиуретанового связующего: материал wikineutron

На основе работ, проведенных в исследовательской лаборатории АО «Авангард», были разработаны связующие на основе эпоксидных смол горячего отверждения с повышенными эксплуатационными характеристиками по термостойкости [1]. В результате проделанных работ были разработаны и запатентованы связующие [1], а на их основе изготовлены совместно с ФИАН композиционные сферопластики wikineutron. Наполненные сферопластики wikineutron были изготовлены на основе боросодержащего эпоксиуретанового связующего (№ 32, ТУ 20.59-041-075211831); стеклянной микросферы МС-ВП-А 9 гр. 3, ТУ 6-48-91 и карбида бора, ГОСТ 5744-85. Полученные при испытании материалов результаты приведены в табл. 1.

Согласно данным литературы [2, 3] радиационную стойкость органических материалов принято определять величиной радиационно-химического выхода продуктов радиолитического распада при поглощении 100 эВ энергии ионизирующего излучения. Взаимодействие ионизирующего излучения с органическими соединениями сопровождается образованием активных частиц: деструкцией, окислением, сшиванием, газообразованием,

Результаты, полученные при испытании материалов

№ п/п	Показатель испытания	Сферопластик на основе борсодержащего эпоксипуретанового связующего			
		без бора	10 % бора	15 % бора	20 % бора
1	2	3	4	5	6
1	Плотность, г/см ³ , ГОСТ 409, не более	0,45	0,5	0,55	0,60
2	Содержание бора в 100 см ³ сферопластика, г, не менее	0	6,3	10,3	14,8
3	Разрушающее напряжение при сжатии, МПа, ОСТ 92-1460, не менее	15	16	26	24
4	Теплопроводность (λ), Вт/м·К ⁰ , ГОСТ 7076	0,10	0,12	0,14	0,15
5	Тепловое сопротивление (R), м ² К ⁰ /Вт, ГОСТ 7076	0,14	0,11	0,10	0,08
6	Энергия активации, кДж/моль, ГОСТ Р 56722	215	224	228	242

деполимеризацией и т. д. Наличие в молекуле двойных и сопряженных связей, ароматических колец и гетероциклов увеличивает радиационную стойкость.

Выбор в качестве основы бромсодержащего эпоксипуретанового связующего, кроме высокой тепло-, термо- и огнестойкости, обусловлен наличием в нем после отверждения высокого содержания ароматических колец и гетероциклов, что увеличивает его радиационную стойкость. Наличие в полимере стеклянного наполнителя также приводит к увеличению его стойкости к ионизирующему излучению. Поэтому в качестве наполнителя применили стеклянную микросферу марки МС-ВЛ-А 9 гр. 3, что позволило получить материалы с низкой плотностью и теплопроводностью. Для испытаний на ускорителе были изготовлены пластины размеров 250×250×40 мм 2 видов wiki-1 (содержащий 10 % бора) и wiki-2 (содержащий 20 % бора).

Материал ПОВ-40 относится к композиционным материалам, обладающим преимуществами многослойной защиты по массогабаритным показателям, которые сначала замедляют быстрые нейтроны до тепловых энергий, а затем поглощают замедленные нейтроны борсодержащей компонентой. Материал ПОВ-40 с обозначением 21ф с прослойкой 17ф на ткани бельтинг ОСТ В36038-86 относится к самозатухающим композициям на основе полиэтилена.

Методика измерений коэффициентов ослабления разработанных защитных материалов

Для измерения коэффициентов ослабления разработанных защитных материалов применялись цифровой детектор получения изображений (ЦДПИ) [4, 5] и блок детектирования для измерения мощности дозы нейтронного излучения (БДМН-100) производства НПП «Доза». Энергия пучка устанавливалась 100 МэВ для сопоставления с предыдущими экспериментами.

ЦДПИ использовался для правильного наведения пучка протонов на водный фантом длиной 300 мм и обеспечивал получение «мгновенных» ортогональных нейтронов для измерения коэффициентов ослабления $K_{осл}$. Применяя ЦДПИ, можно было определять нахождение пика Брэгга в водном фантоме. При прохождении пучка протонов через водный фантом возможно возникновение фотонов света в видимой и ультрафиолетовой областях спектра в результате 2 основных явлений – свечения Вавилова – Черенкова и радиолюминесценции [6] вследствие образования электронно-возбужденных частиц. ЦДПИ позволяет попиксельно измерять область энерговыведения при прохождении протонного пучка через водный фантом и может применяться также для калибровки протонного ускорителя перед сеансами протонной терапии.

ЦДПИ, разработанный и испытанный при калибровочных работах на ускорителе типа «Прометеус», предназначен для быстрой и оперативной оценки качества протонных пучков в терапевтическом диапазоне энергий. ЦДПИ имел чувствительность канала детектора телевизионного типа на уровне $\sim (1 \div 3) \cdot 10^{-5}$ лк. На рис. 1 показан рабочий кадр ЦДПИ с результатом попиксельного измерения длины «области свечения» при энергии пучка протонов 195 МэВ, которая определяет точку остановки протона в водном фантоме, зафиксированную ЦДПИ по вспышке в конце пути протона. Кадр был снят во время сеанса облучения. Попиксельные измерения глубины пика Брэгга проведены с использованием программы OSC-16, окна которой также показаны на рис. 1.

Работа БДМН-100 основана на регистрации вторичных частиц, образующихся в результате взаимодействия нейтронов с атомными ядрами [7]. Для регистрации тепловых и эпитепловых нейтронов пригодны ядерные реакции с вылетом заряженных

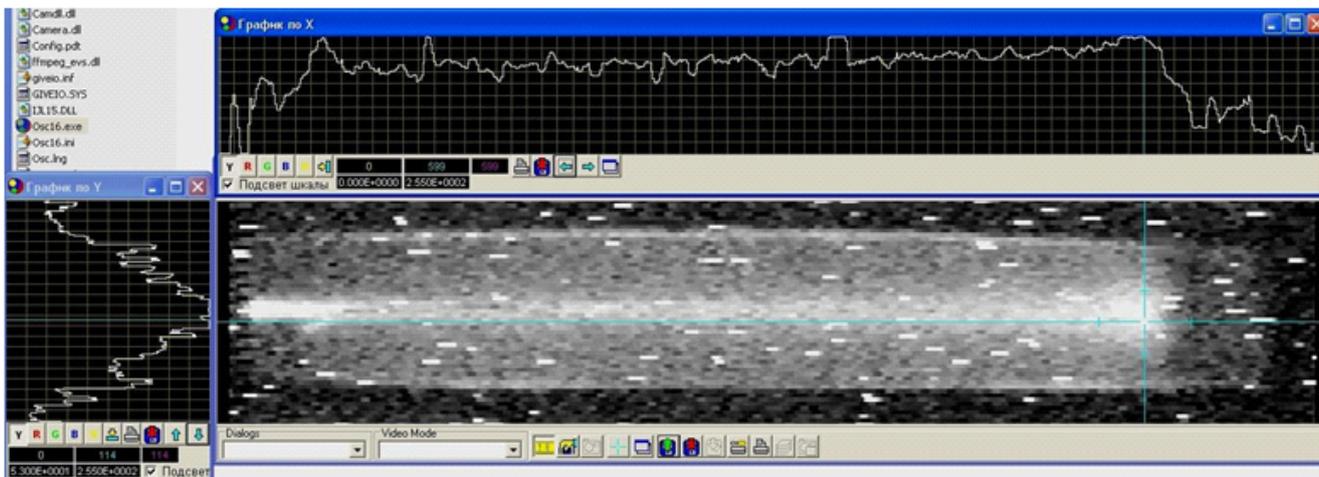


Рис. 1. Рабочий кадр процесса измерения траектории пучка протонов с энергией 195 МэВ в водном фантоме ЦДПИ

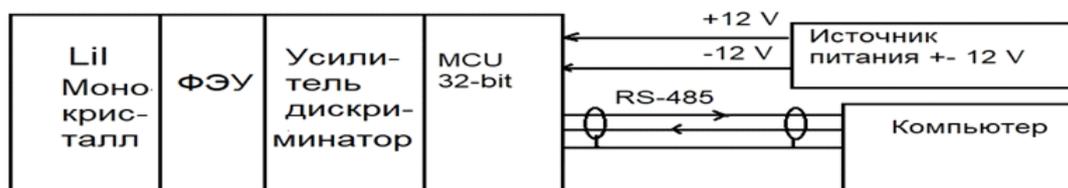
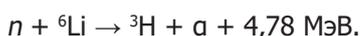


Рис. 2. Устройство БДМН-100

частиц. Регистрация нейтронов БДМН-100 осуществляется по реакции



На рис. 2 представлено устройство детекторного блока, который применялся в эксперименте.

Детектор состоит из сцинтиллятора диаметром 20 мм, толщиной 4 мм, кремниевого фотоумножителя и встроенного делителя напряжения. Сцинтиллятор в детекторном блоке собран из монокристалла LiI, который имеет большое сечение захвата для эпитепловых и быстрых нейтронов. На плате в детекторном блоке установлен усилитель-дискриминатор и микроконтроллер MCU. В MCU происходит обработка и преобразование измеренной информации, поступающей в виде последовательности статистически распределенных нормализованных импульсов с фотоэлектронного умножителя (ФЭУ).

Эффективность БДМН-100 для регистрации нейтронов на несколько порядков выше, чем для фотонов. Детектор регистрирует только несколько процентов пролетающих через него фотонов и более 90 % пролетающих через него нейтронов.

Продукты реакции – α-частицы – вызывают в сцинтилляторе детекторного блока импульсы

сцинтилляции длительностью около 50 нс, регистрируемые ФЭУ. По дуплексной связи RS-485 информация с блока детектирования передавалась по кабелям из комнаты пациента, где проводился эксперимент, в пульттовую на компьютер оператора. Информация на компьютере представлялась в виде амбиентной дозы за установленное оператором время 180 с.

Схема эксперимента приведена на рис. 3. ЦДПИ размещен внутри светозащитного кожуха 9 и содержит цифровую телевизионную камеру 11 на ПЗС-матрице. Телевизионная камера 11 выполнена с возможностью объединения сигналов от группы пикселей ПЗС-матрицы (бининг) и суммирования кадров (накопление) до выходного каскада ПЗС-матрицы. Объектив оптической системы 10 обращен на водный фантом 3 перпендикулярно его продольной оси.

Водный фантом длиной 300 мм установлен внутри светозащитного кожуха 9 и обращен своей продольной осью на входной фланец, выполненный из материала, непроницаемого для света, но пропускающего испускаемый ускорителем пучок протонов 2. Телевизионная камера 11 через интерфейс видеоввода 12 подключена соединительными кабелями 13 к вычислителю 14. В качестве вычислителя 14 использовался персональный компьютер.

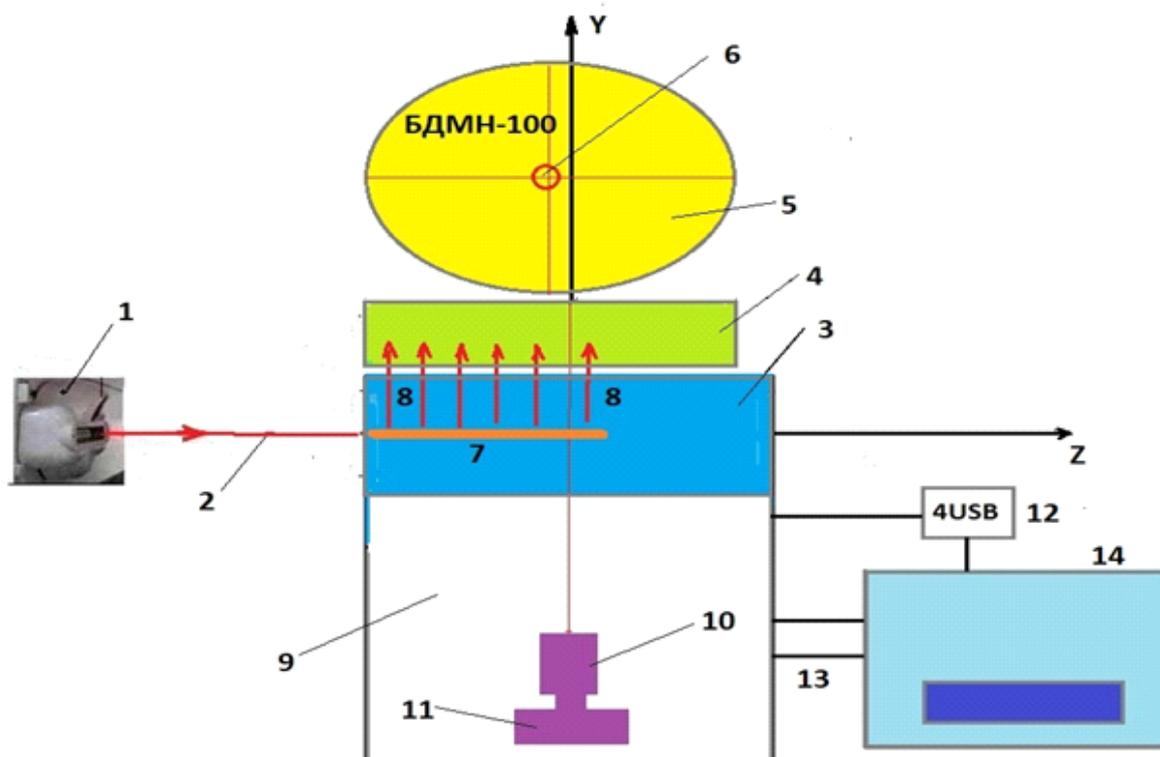


Рис. 3. Схема эксперимента при измерениях МЭД от нейтронного излучения в сеансах 2023 г.: 1 – ускоритель протонов; 2 – пучок протонов; 3 – водный фантом ЦДПИ; 4 – исследуемый образец защитного материала (защитный экран); 5 – шар замедлитель нейтронов БДМН-100; 6 – детекторный блок БДМН-100; 7 – пик Брэгга регистрируемый детектором ЦДПИ; 8 – ортогональные «мгновенные» нейтроны

Вычислительное средство 14 осуществляет вычисление геометрических размеров светящейся области 7, регистрируемой телевизионной камерой 11 и появляющейся в фантоме 3 при его облучении пучком протонов. Интенсивность пучка протонов с энергией 100 МэВ составляла 10^9 протонов за импульс при длительности импульса 300 мс.

Результаты измерения коэффициентов ослабления защитных материалов на ускорителях «Прометеус» и «Пахра»

Коэффициент ослабления равен отношению измеренной мощности эквивалентной дозы (МЭД) детекторным блоком БДМН-100 без установки защитного экрана к МЭД за защитным экраном: $K_{осл} = DOZA (без экрана) / DOZA (за экраном)$.

Новые защитные материалы условно обозначались как Т+, Т, wiki-2, wiki-1 и ПОВ. Ортогонально пучку протонов из водного фантома вылетали «мгновенные» нейтроны, которые регистрировались установленным вплотную или через защитный материал, нейтронным детектором БДМН-100 (рис. 3).

Пучок γ -квантов тормозного излучения на электронном синхротроне «Пахра» был получен при взаимодействии ускоренного пучка электронов с

внутренней вольфрамовой мишенью толщиной 0,22 радиационной длины, помещенной внутрь вакуумной камеры ускорителя [8]. Пучок γ -квантов использовался для получения нейтронного излучения и измерения Косл/ на ускорителе «Пахра».

В табл. 2 приведены усредненные результаты измерений Косл нейтронного излучения для 5 защитных материалов, полученные в сеансах на ускорителях «Прометеус» и «Пахра» в 2023 г., а также результаты других авторов [9], [10].

В табл. 2 кроме новых представленных в этой статье материалов приводятся известные, измеренные результаты из работ [9, 10]. В работе [9] приводятся предыдущие измерения авторов для известного материала ПОВ-40. В работе [10] методом синтеза были изготовлены новые керамические материалы на основе борида вольфрама (WB) и карбида бора (B_4C). В работе [10] определялась зависимость коэффициента ослабления потоков быстрых нейтронов от геометрической и массовой толщины исследуемых борсодержащих материалов на основе B_4C , WB и графита.

На рис. 4 экспериментальные точки и зависимости 1, 2, 3 взяты из работы [10] и на этот рисунок нанесены экспериментальные результаты из

Усредненные результаты измерений $K_{осл}$ нейтронного излучения для 5 защитных материалов

Название материала	$K_{осл}$ «Прометеус»	$K_{осл}$ «Пахра»	$K_{осл}$ (среднее значение)	Размеры образца (высота ×, длина × толщина), мм	Плотность, г/см ³	Массовая толщина образца, г/см ²
T+	1,55	1,67	1,61	340 × 340 × 30	2,018	6,054
T	1,4	1,44	1,42 1,42	340 × 340 × 30	0,98	2,94
wiki-2	1,76	1,54	1,65 1,65	250 × 250 × 40	0,6	2,4
wiki-1	1,5	1,36	1,43	250 × 250 × 40	0,5	2,0
ПОВ-40	1,26	1,3	1,28	250 × 250 × 40	1,0	4,0
ПОВ-40 [9]			1,26	250 × 250 × 40	1,0	4,0
B ₄ C [10]			1,35	30 × 30 × 40	1,32	5,28
WB [10]			1,1	30 × 30 × 40	5,2	20,8
C [10]			1,15	30 × 30 × 40	2,23	8,92

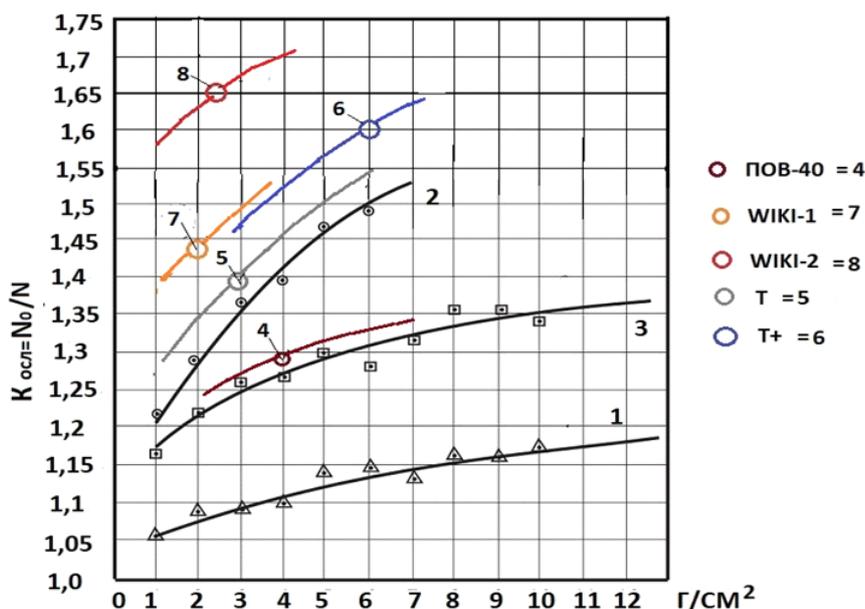


Рис. 4. Коэффициент ослабления нейтронного пучка в зависимости от массовой толщины исследуемых материалов: N_0 – скорость счета в отсутствие защитного экрана; N – за защитным экраном; 1 – графит [10]; 2 – карбид бора [10]; 3 – борид вольфрама [10]; 4 – результаты нашего эксперимента для ПОВ; 5–8 – результаты для новых разработанных материалов: 5 – Т = СВМПЭ с добавлением 5%-ного аморфного бора; 6 – Т+ – Т, в который добавлены компоненты W; 7 – сферопластик wiki-1; 8 – сферопластик wiki-2

табл. 2. На рис. 4 приведен коэффициент ослабления нейтронного пучка в зависимости от массовой толщины исследуемых материалов. В работе [10] были введены обозначения: N_0 – поток нейтронов, измеренный без защитного материала, и N – поток

нейтронов за защитным материалом после его введения.

Эксперименты показали, что использование борсодержащих сферопластиков wikineutron при защите от потоков быстрых нейтронов дает выигрыш по

массо-габаритным показателям. Это иллюстрируется зависимостями, приведенными на рис. 4.

Кривые, проведенные на рис. 4 через экспериментальные точки 4, 5, 6, 7 и 8, – теоретические оценочные кривые зависимости $K_{осн}$ от массовой толщины исследуемых материалов. Так, например, из анализа данных, представленных на рис. 4, следует, что в диапазоне массовой толщины от 2 до 6 г/см² все новые защитные материалы, представленные в этой статье, превосходят по коэффициенту ослабления все известные материалы из работ [9–10].

Кроме этого, ввиду малого веса борсодержащих сферопластиков wikineutron его можно применять на терапевтических установках, и это существенно повысит безопасность проведения сеансов протонной и нейтронной терапии. Также wikineutron повысит безопасность для персонала, обслуживающего канал в момент проведения сеансов нейтронной терапии.

Из результатов проведенной работы видно, что оптимальным по массо-габаритным показателям материалом при защите от быстрых нейтронов является материал wiki-2: это сферопластик, содержащий 20 % объемных бора на основе связующего № 32 [1].

Выводы

1. Совместно с ФИАН в исследовательской лаборатории АО «Авангард» разработан новый защитный материал от нейтронов с разным процентным соотношением ¹⁰B под названием wikineutron.

2. Проведено экспериментальное сравнение нового защитного материала с синтезированными керамическими материалами на основе карбида бора и борида вольфрама. Материал wikineutron в модификации wiki-2 (сферопластик, содержащий 20 % (объемных) бора на основе борсодержащего эпоксиуретанового связующего) обладает массо-габаритными показателями, превышающими существующие аналоги защитных материалов от нейтронов, и может быть рекомендован для защиты космических аппаратов.

3. Разработанный защитный материал может эффективно защищать от нейтронов на комплексах протонной терапии при формировании нейтронных каналов, что позволит повысить безопасность пациентов и обслуживающего персонала.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Соглашения № 075-15-202.

Авторы выражают благодарность И.Н. Завестовской за обсуждение аспектов технического решения по проектированию исследовательского канала на нейтронах для возможностей

применения на терапевтическом ускорителе «Прометеус»; В.Е. Балакину за обсуждение аспектов по проектированию исследовательского канала на нейтронах для биологических экспериментов на ускорителе «Прометеус»; А.И. Львову за обсуждение испытания детектора нейтронов камеры МИК на ускорителе «Пахра» в 2023 г.

Список литературы

1. Щеголев И.Ю., Емельянов В.М. Эпоксиуретановое связующее с увеличенной огнестойкостью, тепло- и термостойкостью. Патент № 2712044, АО «Авангард», Российская Федерация. 2020. Бюл. № 3.
Shchegolev I.Yu., Emel'yanov V.M. Epoxyurethane binder with increased fire resistance, heat and temperature resistance. Patent № 2712044, JSC «Avangard», Russian Federation. 2020. Bul. № 3.
2. Бормотов А.Н., Прошин А.П., Баженов Ю.М. и др. Полимерные композиционные материалы для защиты от радиации. М., 2006.
Bormotov A.N., Proshin A.P., Bazhenov Yu.M. et al. Polymer composite materials for radiation protection. Moscow, 2006.
3. Милинчук В.К. Радиационная химия // Соросовский образовательный журнал. 2000. № 4. С. 26.
Milinchuk V.K. Radiation chemistry // Sorovskiy obrazovatel'ny zhurnal. 2000. № 4. P. 26.
4. Сиксин В.В. Пути совершенствования детектора DTeT // Краткие сообщения по физике ФИАН. 2018. Т. 45. № 12. С. 78–82. DOI: 10.3103/S1068335619010068.
Siksin V.V. Ways to improve the DTeT detector // Kratkie soobshcheniya po fizike FIAN. 2018. V. 45. № 12. P. 78–82. DOI: 10.3103/S1068335619010068.
5. Сиксин В.В. Измерение профилей пиков Брэгга детектором DTeT // Краткие сообщения по физике ФИАН. 2019. Т. 46. № 2. С. 47–52. DOI: 10.3103/S1068335619020076.
Siksin V.V. Measuring Bragg peak profiles with a DTeT detector // Kratkie soobshcheniya po fizike FIAN. 2018. V. 46. № 2. P. 47–52. DOI: 10.3103/S1068335619020076.
6. Казаков В.П., Шарипов Г.Л. Радиолюминесценция водных растворов. М., 1986.
Kazakov V.P., Sharipov G.L. Radioluminescence of aqueous solutions. Moscow, 1986.
7. Широков М., Юдин Н.П. Ядерная физика. М., 1980.
Shirokov M., Yudin N.P. Nuclear physics. Moscow, 1980.
8. Алексеев В.И., Басков В.А., Дронов В.А. и др. Калибровочный квазимонохроматический пучок вторичных электронов ускорителя «Пахра» // Приборы и техника эксперимента. 2019. № 2. С. 5–11. DOI: 10.1134/S0032816219020162.
Alekseev V.I., Baskov V.A., Dronov V.A. et al. Calibration quasi-monochromatic beam of secondary electrons of accelerator «Pakhra» // Pribory i tekhnika eksperimenta. 2019. № 2. P. 5–11. DOI: 10.1134/S0032816219020162.

9. Малютин Е.В., Сиксин В.В., Шемяков А.Е., Щеголев И.Ю. Защитные свойства материалов POV-40 в условиях облучения вторичными нейтронами и гамма-квантами // Мед. физика. 2019. № 4. С. 75–79.

Malyutin E.V., Siksin V.V., Shemyakov A.E., Shchegolev I.Yu. Protective properties of POV-40 materials under conditions of irradiation with secondary neutrons and gamma-quanta // *Meditinskaya fizika*. 2019. № 4. P. 75–79.

10. Бойко В.И., Демянюк Д.Г., Долматов О.Ю. и др. Использование материалов, полученных в режиме технологического горения, в технике радиационной защиты. // Известия Томского политехнического университета. 2005. Т. 308. № 5. С. 77–81.

Boyko V.I., Demyanyuk D.G., Dolmatov O.Yu. et al. The use of materials obtained in the process combustion mode in radiation protection technology. *Gorenje* // *Proceedings of Tomsk Polytechnic University*. 2005. V. 308. № 5. P. 77–81.

Поступила 26.06.2023

DEVELOPMENT OF A SPACECRAFT SHIELDING FROM NEUTRONS

Ryabov V.A.¹, Siksin V.V.¹, Shchegolev I.Y.²

¹P.N. Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow

²JSC "Avangard", Safonovo, Smolensk region

Together with the Lebedev Physical Institute, the research laboratory of JSC Avangard has developed a new shielding material against neutrons with different percentages of ¹⁰B called "wikineutron". An experimental comparison of the new shielding material with synthesized ceramic materials based on boron carbide and tungsten boride was carried out. The "wikineutron" material has mass-dimensional characteristics that exceed existing analogues of shielding materials against neutrons, and can be recommended for the spacecraft shielding.

Key words: composite neutron-absorbing material, epithermal and fast neutrons.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2024. V. 58. № 3. P. 89–95.

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

КОСМИЧЕСКИЙ ВРАЧ В.В. БОГОМОЛОВ

Орлов О.И., Белаковский М.С., Поляков А.В., Поздняков С.В.

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

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2024. Т. 58. № 3. С. 96–101.

E-mail: info@imbp.ru



Богомолов Валерий Васильевич – доктор медицинских наук, заслуженный врач Российской Федерации, действительный член Российской академии космонавтики им. К.Э. Циолковского и Международной академии астронавтики.

Валерий Васильевич родился 5 июля 1944 г. в г. Вельске, Архангельская область, умер 8 мая 2023 г.

В 1961 г. он окончил среднюю школу № 1028 Московской области и поступил на первый курс лечебного факультета Первого Московского медицинского института им. И.М. Сеченова. Одновременно с 1963 г. работал санитаром, затем медбратом операционного корпуса института им. Н.В. Склифосовского. С 1967 г. после окончания медицинского института работал врачом-ординатором реанимационно-анестезиологического отдела. С 1968 г. – младший научный сотрудник того же отдела.

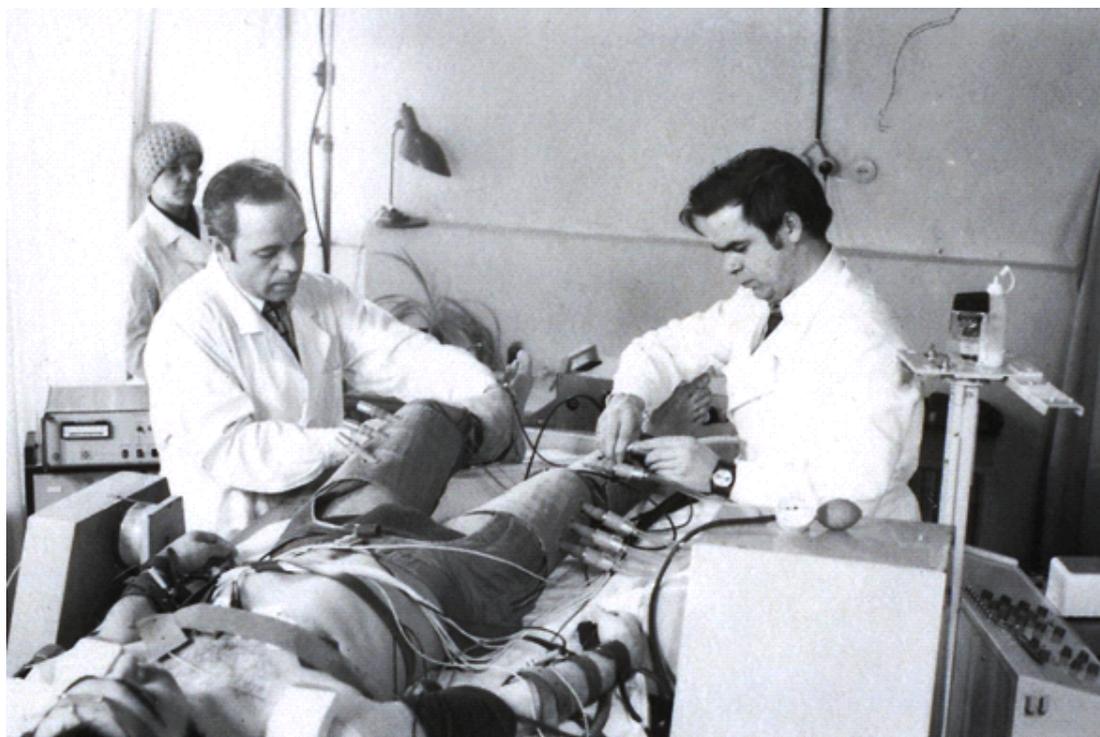
В 1970 г. В.В. Богомолов защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Изменения электрокардиограммы в посленаркозном периоде».

В 1972 г. по указанию заместителя министра здравоохранения СССР А.И. Бурназяна в составе группы врачей-реаниматологов В.В. Богомолов был направлен в Институт медико-биологических проблем Минздрава СССР (ИМБП) с целью развертывания работ по оказанию специализированной медицинской помощи космонавтам на месте посадки космических аппаратов. В 1972 г., после трагической гибели членов экипажа космического корабля «Союз-11» Георгия Тимофеевича Добровольского, Владислава Николаевича Волкова и Виктора Ивановича Пацаева в 1971 г., было принято решение о создании в структуре клинического отдела ИМБП (руководитель отдела профессор Крупина Татьяна Николаевна) лаборатории разработки методов и средств оказания специализированной медицинской помощи для различных этапов пилотируемых космических полетов. Руководить лабораторией было поручено Левану Лонгинозовичу Стажадзе, занимавшему в это время должность заведующего отделением реанимации НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. Как впоследствии вспоминал сам Л.Л. Стажадзе, существенную роль в создании и становлении лаборатории, а затем и отдела по разработке методов и средств медицинского обеспечения пилотируемых космических полетов, сыграли молодые врачи, профессиональные анестезиологи-реаниматологи Валерий Васильевич Богомолов и Игорь Борисович Гончаров, пришедшие в Институт из НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. До перехода в ИМБП они уже имели опыт работы медицинского обеспечения пилотируемых космических полетов в качестве врачей анестезиологов-реаниматологов бригад неотложной хирургической помощи в составе поисково-спасательной службы ВВС.

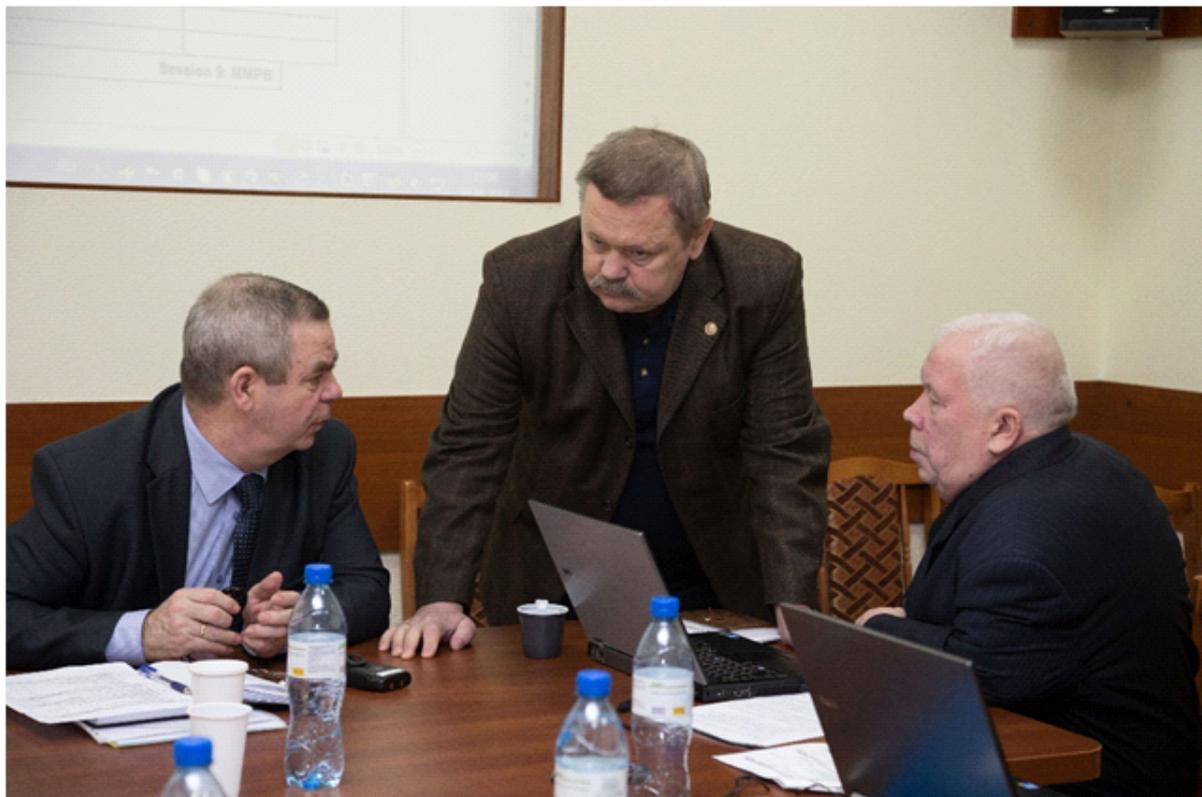
В.В. Богомолов работал в ИМБП старшим научным сотрудником, заведующим лабораторией, заведующим отделом, помощником директора по летно-космическим испытаниям. Как врач-реаниматолог участвовал в работах по поиску и спасению экипажей космических кораблей в составе бригад неотложной медицинской помощи.



В.В. Богомолов (в центре), Т.Д. Васильева, Н.Б. Гончаров и медсестра Т.И. Ильина в НИИ им. Склифосовского проводят эксперимент с применением наркоза после 49-суточной антиортостатической гипокинезии



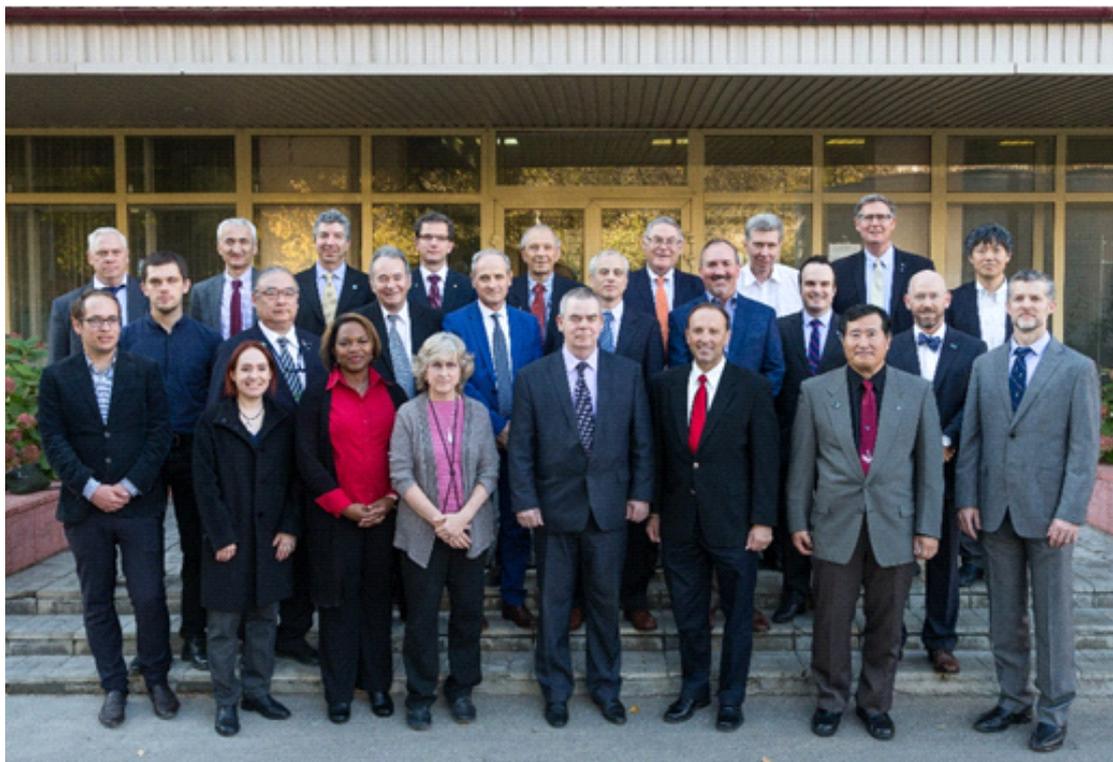
В.В. Богомолов выполняет регистрацию электромиограммы в эксперименте с антиортостатической гипокинезией



Обмен мнениями. Слева направо: В.В. Богомолов, космонавт Б.В. Моруков, Г.И. Самарин



На заседании Совета по медицинской политике МКС. Москва, ИМБП, 2018.
Стоят: О.И. Орлов, В.В. Богомолов



Участники рабочей встречи многосторонних медицинских групп МКС – ММОП, MSMB и MMPB в ИМБП, 2018. В центре – В.В. Богомолов



Многосторонняя медицинская операционная группа. Декабрь 2014, Хьюстон, США. В центре – В.В. Богомолов



Ведущие врачи космической медицины. Слева направо: А.В. Поляков (ИМБП), В.В. Моргун («Роскосмос»), В.И. Почуев (ЦПК им. Ю.А. Гагарина), В.В. Богомолов (ИМБП)



В.В. Богомолов с астронавтом NASA Пегги Уитсон (Peggy Whitson)

В 1990 г. Валерий Васильевич успешно защитил диссертацию на ученую степень доктора медицинских наук по специальности «космическая биология и медицина», «анестезиология и реаниматология» – «Реанимационно-анестезиологическая помощь в системе медицинского обеспечения пилотируемых космических полетов».

С января 1994 г. по ноябрь 2020 г. Валерий Васильевич – заместитель директора по научной работе, с ноября 2020 г. – руководитель одного из важнейших научных направлений Института – медицинского обеспечения пилотируемых космических полетов. Важным направлением в деятельности В.В. Богомолова было проведение работ по медицинской реабилитации космонавтов в послеполетном периоде. На него была возложена ответственность за организацию в Институте и координацию со смежными организациями и международными партнерами работ по подготовке и осуществлению медицинского и санитарно-гигиенического обеспечения здоровья; безопасности и работоспособности экипажей до, во время и после пилотируемых космических полетов; за организацию в Институте и координацию со смежными организациями и международными партнерами работ по разработке и совершенствованию комплекса средств и методов медицинского и санитарно-гигиенического обеспечения здоровья, безопасности и работоспособности экипажей до, во время и после пилотируемых космических полетов; за координацию научно-организационной деятельности подразделений Института по медицинскому обеспечению пилотируемых космических полетов, а также участие в работе межведомственных советов по реализации полетных программ и в деятельности международных медицинских органов по космической медицине и медицинскому обеспечению пилотируемых космических программ.

В.В. Богомолов являлся организатором и научным руководителем по подготовке и реализации исследований и экспериментов на кораблях «Союз», орбитальной станции «Салют» и «Мир». Принимал активное участие в разработке и реализации международных космических проектов по направлению космическая медицина, таких как «Мир – Шаттл», «Мир – NASA», Международная космическая станция (МКС).

В качестве заместителя председателя и председателя многие годы Валерий Васильевич был официальным представителем ИМБП в Главной медицинской комиссии по отбору и освидетельствованию здоровья кандидатов в космонавты, космонавтов и инструкторов космонавтов. Под его непосредственным руководством были отобраны многие российские и международные экипажи космических станций.

Как ответственный представитель Российского космического агентства в Многостороннем комитете по медицинским операциям МКС возглавлял научные работы ИМБП в кооперации с другими российскими организациями и международными партнерами по разработке и реализации требований к медицинскому обеспечению здоровья и работоспособности экипажей МКС, медицинской реабилитации космонавтов после длительных космических полетов.

Многие годы В.В. Богомолов являлся председателем координационного совета по МКС, председателем секции космической медицины ученого совета ИМБП, председателем комиссии по приему экзаменов по специальности «Авиационная, космическая и морская медицина».

В.В. Богомолов – автор и соавтор более 80 научных публикаций, 2 монографий, 6 изобретений. Научно-практическая деятельность В.В. Богомолова заслужила признание и награды: орден Трудового Красного знамени, медаль ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, медаль «В память 850-летия Москвы», ведомственные награды Роскосмоса, РАН, ФМБА России, ФК России.

Поступила 15.04.2024

SPACE DOCTOR V.V. BOGOMOLOV

**Orlov O.I., Belakovskiy M.S., Polyakov A.V.,
Pozdnyakov S.V.**

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).
2024. V. 58. № 3. P. 96–101.

Редколлегия журнала сердечно поздравляет
с юбилейными датами сотрудников ГНЦ РФ – ИМБП РАН:

Агапцеву Татьяну Николаевну

Бакаеву Ларису Вячеславовну

Кузнецову Ольгу Семеновну

Овчинникова Валерия Васильевича

Платову Наталию Геннадьевну

Соколова Сергея Константиновича

Добрые вам пожелания и плодотворной работы!