

УДК 616-092

Моделируемая микрогравитация в биомедицине

Соколовская А.А.¹, Московцев А.А.^{1,2}, Вирюс Э.Д.¹, Кубатиев А.А.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Федеральное Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская Академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

123995, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

Биомедицинские исследования в космосе способствуют прогрессу и появлению технологических разработок с большим прикладным потенциалом в медицине, фармакологии и тканевой инженерии. Исследования, выполняемые в условиях микрогравитации, являются важной частью космической биологии и физиологии человека. Наземные объекты моделирования / симуляции микрогравитации с использованием различных культур клеток и тканей направлены, в том числе, на подготовку будущих космических миссий. Моделирование микрогравитации позволяет исследовать молекулярные и клеточные механизмы биологических эффектов явлений клеточного стресса и трансформации нормальных и опухолевых клеток при изменении гравитации. С другой стороны, клеточные биологические исследования в космосе обеспечили лучшее понимание физиологического функционирования клеток и организмов. В данном обзоре суммируются сведения последних лет о клеточных изменениях при микрогравитации и обсуждаются перспективы применения метода моделируемой микрогравитации в биомедицине.

Ключевые слова: моделирование микрогравитации; космическая биотехнология; физиология клетки.

Для цитирования: Соколовская А.А., Московцев А.А., Вирюс Э.Д., Кубатиев А.А. Моделируемая микрогравитация в биомедицине. Патогенез. 2018; 16(4): 97-103

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.97-103

Для корреспонденции: Соколовская Алиса Анатольевна, e-mail: alice.sokolovskaya@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила: 16.08.2018

Simulated microgravity in biomedicine

Sokolovskaya A.A.¹, Moskovtsev A.A.^{1,2}, Virus E.D.¹, Kubatiev A.A.^{1,2}

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Continuing Vocational Education, Barrikadnaya Str. 2/1, Moscow 123995, Russian Federation

Biotechnological research in space has led to significant scientific breakthroughs and technological developments with a great applied potential in medicine, pharmacology and tissue engineering. Microgravity research is an important part of space biology and human physiology. Ground-based modeling of simulated microgravity using different cell and tissue cultures is aimed at preparing future space missions. Simulated microgravity allows exploring molecular and cellular mechanisms of biological effects on cell stress and transformations of normal and tumor cells under changed gravity. Cell biology research in space provided a better understanding of cell and body physiology. This review presents information of recent years about cell changes in microgravity and discusses the prospects for using simulated microgravity in space biotechnology.

Key words: simulated microgravity; space biotechnology; cell physiology

For citation: Sokolovskaya A.A., Moskovtsev A.A., Virus E.D., Kubatiev A.A. Simulated microgravity in biomedicine. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(4): 97-103 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.97-103

For correspondence: Sokolovskaya Alisa Anatolievna, e-mail: alice.sokolovskaya@gmail.com

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 16.08.2018

Введение

Современные исследования условий космоса, особенно таких, как микрогравитация и радиация, актуальны не только в области физики и космологии, но и в различных областях науки о жизни. Гравитация – постоянный физический фактор, существующий на Земле с момента ее возникновения и действующий на живые системы. Невесомость впервые стала предметом исследования в биомедицине с момента начала космических полетов.

Исследования многосуточных орбитальных миссий показали, что долгосрочный космический полет вызывает у многих космонавтов различные проблемы со здоровьем [1-5]. Интересно, что пребывание в космическом пространстве вызывает патофизиологические изменения в организме человека, схожие с ускоренным старением и некоторыми возрастными заболеваниями [2, 3]. В условиях микрогравитации изучались такие проблемы, как нарушение равновесия, расстройства

сердечно-сосудистой системы, снижение минерализации костей, атрофия мышц в результате сниженной двигательной активности, метаболические и эндокринные нарушения, нарушения циркадных ритмов, проблемы со зрением и др. [1, 6-9].

Международная Космическая Станция (МКС), а также ряд специализированных наземных биомедицинских комплексов дают уникальные возможности для изучения реакции человеческого организма в экстремальной окружающей обстановке, включая его адаптационные возможности. С другой стороны, изучение реакций человеческого организма на экстремальные условия помогают расширить наши представления о патогенезе различных заболеваний. Исследования последних пятидесяти лет показали, что люди могут адаптироваться к космическим условиям, и продолжительность пребывания в космосе без существенного ущерба для здоровья может достигать одного года, возможно, и дольше [3, 6-9].

С учетом экономических факторов и ограниченных технических возможностей по выведению массивных аппаратов в космос, наземные исследования, позволяющие воссоздать или имитировать условия микрогравитации, являются крайне важной частью космической физиологии и патофизиологии.

Микрогравитация оказывает заметное влияние на биологию клеток. В клетках млекопитающих микрогравитация способна индуцировать и модулировать протекание таких ключевых процессов, как апоптоз, пролиферация, миграция и адгезия, менять организацию цитоскелета и передачу сигналов [10-14].

Эксперименты, выполняемые в условиях микрогравитации, в последнее время вызывают всё больший интерес во многих областях биомедицины, таких, как онкология, метаболизм, сердечно-сосудистых заболеваний, регенеративная медицина, иммунология, эмбриология, офтальмология [9-14]. Активно развивающимися областями космической биомедицины являются тканевая инженерия, «космическая» фармакология.

Целью данного обзора является краткое введение в современные методы моделирования микрогравитации. В работе суммирована актуальная информация о том, какие клеточные изменения происходят при микрогравитации, и как эти изменения приводят или могут приводить к клинически значимым проблемам со здоровьем у космонавтов.

Платформы для моделирования микрогравитации

Важнейшей платформой для космических экспериментов является МКС. Она поддерживается на круговой орбите, на средней высоте 330 км. На МКС расположена платформа для долгосрочных научных экспериментов, имеющая в своем составе центрифугу с центробежным ускорением 1 g для создания веса объектов, эквивалентного земному.

Однако, организация полета на МКС для исследования влияния космических условий на человека крайне ресурсоемка, научные проекты на МКС дорогостоящи. Медицинские исследования по программе длительных пилотируемых полетов проводились на орбитальном

комплексе «Салют-7» – «Союз-Т» [5]. Полеты на шаттлах США также использовались для исследований в космосе, но НАСА вышло из программы в 2011 году [14]. Сегодня ряд частных компаний запускает спутники и беспилотные космические корабли, на которых есть возможность проведения экспериментальных биологических исследований в космическом пространстве. В подобных экспериментах используют культуры про- и эукариотических клеток, растения, мелких животных. Соответственно, беспилотные комплексы требуют проведения экспериментов в отсутствие оператора в полностью автоматическом режиме.

Для создания условий реальной микрогравитации, продолжительностью до нескольких минут, применяют ракеты, используемые в зондировании – на них устанавливают приборы с культивируемыми или фиксированными клетками, которые также должны быть автоматизированы. Примерами могут быть ракеты TEXUS и MAXUS, разработанные фирмами «Airbus» и «Space» (бывший «Astrium») (Германия) [11, 15, 16].

Важным элементом программы подготовки космонавтов являются параболические полеты, которые являются примером реальных условий микрогравитации [17, 19]. Параболический полет состоит из тестовой параболы и 30 парабол, которые обеспечивают 22 секунды условий реальной микрогравитации. Параболический полет начинается со стационарной фазы устойчивого полета, равной 1 g, затем происходит резкий набор высоты, при этом самолет испытывает перегрузки – на борту имеет место гипергравитация, равная 1,8 g и длящаяся примерно 20 секунд. Когда угол подъема достигает 47°, тягу выключают, и в течение следующих 20 секунд самолет оказывается в состоянии невесомости. Далее самолет выравнивают, и в течение очередных 20 секунд организм человека испытывает дополнительную перегрузку до 1,8 g, после чего самолет снова переходит в стационарное состояние 1 g.

Для создания невесомости за счет свободного падения могут использоваться не только полеты (ракеты для зондирования, параболические полеты), но и наземные конструкции. К последним принадлежит «the Bremen Drop Tower» – «Бременская Башня для Физического Падения», установленная в Университете Бремена, Германия (The Center of Applied Space Technology and Microgravity, ZARM). Бременская башня позволяет создавать условия микрогравитации, продолжительностью до 9 секунд. Полезная нагрузка заключена в капсуле, которую запускает катапульта по металлической трубе на высоту около 110 м, затем капсула падает под действием силы тяжести [19].

Перечисленные платформы для моделирования условий микрогравитации, как динамические, так и статические, также дорогостоящи и непригодны для большого количества серийных исследований.

Для моделирования на Земле условий микрогравитации были разработаны различные устройства и комплексы [20-24]. Сегодня для исследований различных биологических объектов используются следующие системы: 2D клинстат; устройство для случайного позиционирования (RPM – Random positioning machine);

биореактор в виде вращающихся сосудов для суспензионных культур (RWV – Rotating Wall Vessel); диамагнитная левитация.

Особо широко используются 2D клиностаг и RPM, основанные на принципе изменения положения культивируемых клеток в поле сил. В 2D клиностаге действующая на клетку результирующая сила усредняется во времени вокруг значений, близких к нулевым при вращении культур клеток с постоянной скоростью, тогда как в RPM тот же результат достигается путем постоянного случайного перемещения клеточного слоя. В процессе работы RPM рандомизация положения объекта осуществляется за счет разнонаправленного вращения двух взаимоперпендикулярных рамок, к которым крепится платформа с экспериментальными образцами. Таким образом, при неизменной силе тяжести имитируется эффект ее снижения. Следует также подчеркнуть, что понятие «3D клиностаг» употребляется, когда устройство работает с постоянной скоростью и в постоянном заданном направлении. Когда вращение рамок происходит с разной скоростью и по разным направлениям, следует использовать термин «устройство для случайного позиционирования» (RPM) [20-25].

Приборы для моделирования условий микрогравитации успешно используются в различных лабораториях по всему миру [10, 11, 23, 24]. С недавнего времени, наземные объекты моделирования/симуляции микрогравитации используются в рамках научной программы Европейского космического агентства (ESA) и направлены на подготовку будущих космических миссий [25].

Что касается самого термина «микрогравитация», то было предложено использовать его исключительно для тех экспериментов, которые были выполнены на МКС, спутниках, зондирующих ракетах, башнях падения или во время параболического полета. Термин «моделируемая микрогравитация» должен использоваться в отношении экспериментов, выполняемых на наземных устройствах, когда уровень гравитации может быть усреднен, но не уравновешен одновременно [22, 23].

Действие моделируемой микрогравитации на биологические объекты

Важными объектами для изучения эффектов моделируемой микрогравитации являются изолированные клетки и ткани. Первичные культуры и линии трансформированных клеток позволяют выявить реакции нормальных и злокачественных клеток на микрогравитацию. В основном для космических экспериментов используют адгезивные культуры клеток, такие как, кератиноциты [26], остеобласты [27], эндотелиальные клетки [10, 17, 28], клетки эпителия [29], фибробласты [30]. Кроме того, изучаются также опухолевые клетки разного генеза [31, 32], стволовые клетки [13] и суспензии пролиферирующих лимфоцитов [33].

Показано, что при усреднении результирующей действующей сил на механочувствительные клетки, такие, как остециты, фибробласты, миоциты, эндотелиальные клетки, меняются их морфофункциональные свойства, пролиферация, цитоскелет и экспрессия генов [6, 10, 27, 28].

Первые биологические эффекты моделируемой и реальной микрогравитации были исследованы на лимфоцитах человека. В серии экспериментов, проведенных в космосе, а также на моделях в условиях низкой гравитации на Земле было показано *in vitro*, что митогенная активация лимфоцитов человека подавляется. Наблюдения показали изменения в активации клеток и трансдукции сигналов, а также в подвижности клеток и образовании агрегатов, что могло быть связано с изменением в цитоскелете [34]. При использовании иммунокомпетентных клеток крови были выявлены триггеры, ответственные за снижение функций иммунной системы в космическом полете [9].

В ряде экспериментов, сделанных во время космического полета, обнаружено нарушение трансдукции проапоптотических сигналов и межклеточной сигнализации в условиях микрогравитации [12, 35].

В экспериментах на МКС в человеческих лимфоцитах *in vitro* в условиях реальной микрогравитации наблюдалась фрагментация ДНК через 24 часа и 48 часов в 0 g образцах по сравнению 1 g или наземными образцами. Расщепление PARP, одного из главных маркеров апоптоза, было обнаружено уже через 4 часа [33].

Микрогравитация оказывала влияние на про- и антиапоптотические молекулярные пути в мононуклеарных клетках человека, в клетках линии фолликулярного рака щитовидной железы ML-1 [34]. В других исследованиях, на культурах хондроцитов микрогравитация приводила к увеличению экспрессии апоптотических белков Fas/APO-1, p53, Вах и снижению антиапоптотического белка Bcl-2 [36]. Интересно, что повышенная экспрессия белка Fas в Т-клеточной лимфобластоидной линии человека Jurkat, была также отмечена и в космических полетах на Шатлах STS-80 и STS-95. Было сделано заключение, что изменения в цитоскелете и метаболизме лимфоцитов, задержка их роста во время космического полета, сопряжены с увеличением апоптоза и с временной гиперэкспрессией апоптотического белка Fas/APO-1 [37].

Недавние исследования показали, что моделируемая невесомость индуцирует трехмерный рост (3D) нормальных и опухолевых клеток [27, 38-42].

В условиях микрогравитации опухолевые клетки отделяются от дна пластиковой посуды и образуют многоклеточный трехмерный агрегат. Эти многоклеточные сфероиды имитируют небольшие метастазы и имеют структуру, подобную опухолям *in vivo* [41]. Поэтому такие клеточные культуры часто используются для изучения биологических процессов и для тестирования фармакологических препаратов [41, 42].

Формирование сфероидов наблюдали на клеточной линии фолликулярного рака щитовидной железы ML-1, культивируемых в 3D клиностаге. Были отмечены эффекты микрогравитации на цитоскелет, клеточный метаболизм, продукцию белков внеклеточного матрикса, и секреторную активность. Полученные данные также указывают на то, что микрогравитация может вызывать гибель клеток рака щитовидной железы по механизму апоптоза [24].

Под влиянием микрогравитации клетки-предшественники сердца формировали 3D культуры. При этом

была отмечена повышенная пролиферация и жизнеспособность клеток, а также повышенная экспрессия генов, отвечающих за выживание клеток на ранней стадии дифференцировки. Всё это позволяет сделать заключение о том, что образование 3D культуры в условиях микрогравитации может быть использовано для создания тканевых культур кардиомиоцитов [40].

Эндотелиальные клетки человека EA.hy926, которые при стандартном статическом культивировании формируют монослой, при культивировании в RPM образуют удлиненные балки или трубчочкоподобные структуры [41]. Как правило, трехмерные клеточные агрегаты в культуре клеток EA.hy926 становятся видимыми после 1-7 дней культивирования в условиях RPM-моделируемой микрогравитации, и рост таких агрегатов можно наблюдать до 4 недель [28, 41, 42]. Таким образом, процесс формирования агрегатов зависит от типа клеток.

Опухолевые клетки рака щитовидной железы и рака предстательной железы, культивируемые в условиях микрогравитации, образовывали сферы или сфериды [43, 44], в то же время клетки рака молочной железы MCF-7 образовывали каналоподобные структуры [45]. Интересно, что после отмены условий микрогравитации форма агрегатов, образовавшихся из клеток здоровых тканей, напоминала структуры органов, из которых они были получены [46, 47].

В хондроцитах после 24 часов культивирования в условиях микрогравитации наблюдали апоптотические клетки и накопление компонентов внеклеточного матрикса. Кроме этого, была зафиксирована клеточная агрегация, трехмерный рост хондроцитов и перестройка белков цитоскелета [28].

Хондроциты формировали 3D-структуры на 5, 10 и 18 дни. Примечательно, что исследования на культурах хондроцитов показали, что эти клетки весьма устойчивы к стрессу, индуцированному микрогравитацией [28]. В других исследованиях хондроциты человека, подвергнутые RPM-моделируемой микрогравитации, продемонстрировали ранние изменения цитоскелета в течение 30 мин. После более длительного воздействия микрогравитации изменения цитоскелета хондроцитов приводили к образованию трехмерных клеточных агрегатов [18, 19].

Зависимость развития апоптоза от времени действия моделируемой микрогравитации показана в культуре глиальных клеток в условиях микрогравитации (0 g) с использованием трехмерного клиноста Фоккера. Было обнаружено, что количество апоптотических ядер резко сокращалось между 20 и 32 часами от начала воздействия [46]. Наличие типичных событий для апоптоза позволило предположить, что апоптоз, индуцированный микрогравитацией, происходит через известную серию морфологических событий.

Однако нельзя исключать, что такие события могут произойти и по другому пути: изменение цитоскелета может быть одним из индукторов гибели клеток. Взаимодействие между центральными веретенами микротрубочек и кортикальными нитями актина ведет к цитокинезу. При любом из этих нарушений структур деление клеток подавляется, формируются двуядерные клетки, и

может быть индуцирована гибель клеток. Согласно этой точке зрения, изменения цитоскелета, наблюдаемые в лимфоцитах и глиальных клетках при действии невесомости, стимулируют запуск апоптоза. Тем не менее, клетки способны адаптироваться к изменениям в гравитационном поле, а также осуществлять реорганизацию цитоскелета [47, 48].

Цитоскелет клетки выполняет ведущую роль в рецепции механических сигналов и их трансдукции в клетку. В основе этих процессов лежат изменения в пространственной организации актиновых микрофиламентов, которые возникают под действием механических факторов, а также напряжения в фокальных комплексах адгезии, ответственных за взаимодействие клетки с субстратом [49]. У клеток нейробластомы человека SH-SY5Y действие измененной гравитации в клиностае вызывало модификации в актиновом цитоскелете и в системе микротрубочек [50].

В экспериментах на эндотелиальных клетках человека EA.hy926 через 12 часов микрогравитации обнаружено увеличение количества белков внеклеточного матрикса (ЕСМР), компонентов цитоскелета – микротрубочек (альфа-тубулина) и промежуточных филаментов (цитокератин). Через 4 часа детектировали апоптотические клетки, число которых возросло после 72 часов в условиях клиностаирования. Через 72 часа большинство выживших эндотелиальных клеток собирались в трехмерные трубчатые структуры. Таким образом, микрогравитация индуцировала апоптоз и приводила к увеличению ЕСМР [51].

Моделирование эффектов микрогравитации приводило к реорганизации актинового цитоскелета мезенхимальных стромальных клеток костного мозга человека и изменяло адгезионный профиль экспрессии белков интегринов, что свидетельствовало о механической и гравитационной чувствительности клеток [13]. Результаты, полученные при исследовании экспрессии межклеточных молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, E-селектина) в культивируемых эндотелиальных клетках человека, также свидетельствовали о гравитационной чувствительности эндотелия [10].

По результатам наших экспериментов клетки линии нейробластомы человека SHSY-5Y оказались более устойчивы к микрогравитации по сравнению с клетками эндотелиальной линии человека EA.Hy926. RPM-моделируемая микрогравитация ингибировала прогрессию клеточного цикла в клетках EA.Hy926 от фазы G0/G1 к S фазе на более ранних сроках экспозиции, по сравнению с воздействием на клетки нейробластомы человека SHSY-5Y. По результатам морфологических исследований клетки EA.Hy926 изменяли свои адгезионные свойства и после 72 часов экспозиции жизнеспособные клетки откреплялись от дна культурального пластика и собирались в трубчатые конструкции [52].

Перспективы

Трехмерное культивирование клеток в условиях микрогравитации *in vitro* может использоваться как система для тестирования противоопухолевых препаратов.

Такие системы больше схожи с ситуацией *in vivo*, чем раковые клетки, выращенные в монослойных культурах. Сфероиды, образованные из клеток здоровых тканей, таких, как эндотелиальные клетки или хондроциты, могут быть хорошим инструментом для разработки небольших сосудов или кусочков хрящей [27, 36, 53]. В настоящее время образование таких трехмерных клеточных агрегатов *in vitro*, пригодных для трансплантации, получены только в исследовательских целях, но вполне ожидаемо их масштабирование в ближайшем будущем.

В последние годы накопилось большое количество доказательств того, что проблемы со здоровьем космонавтов, возникающие во время космических полетов, связаны с изменениями в экспрессии генов и белков в различных типах клеток [11, 13, 29, 32, 37, 54-58]. Многопараметрические анализы – транскриптомный, геномный и протеомный – все более активно применяются для изучения эффектов микрогравитации. В экспериментах с естественной микрогравитацией – на МКС, на беспилотных космических кораблях [54-57], как и с использованием наземных устройств – 2D-клиностата, роторной системы RWV и RPM – уже выполнен ряд комплексных исследований с использованием вестерн-блоттинга, масс-спектрометрии [55], qPCR [56] и высокопроизводительных методов функциональной геномики. Идентифицировано более 1600 генов с измененной экспрессией после воздействия микрогравитации на клетки [57, 58]. При этом было выявлено 66 различных биологических процессов, 19 из которых могут играть роль в адаптации клеток к условиям микрогравитации. Эти 19 процессов были разделены на три части: первая часть описывает такие процессы, как клеточная адгезия, миграция клеток, организация внеклеточного матрикса, свертывание крови, и реакция на механические раздражители, и это те процессы, когда клетки образуют сфероиды (эндотелиальные клетки, раковые клетки щитовидной железы, хондроциты) [42, 57]. Вторая часть – это процессы, регулирующие апоптоз, пролиферацию клеток и экспрессию генов, и они не зависят от того, растут эти клетки отдельно или внутри образуемых агрегатов [58]. Третья часть указывает на биологические процессы, которые играют лишь незначительную роль в клеточной адаптации к микрогравитации и/или, пока, не оказывают никакого влияния на клетки.

Данные подобных транскриптомных исследований могут помочь идентифицировать белки, участвующие в адаптации клеток к микрогравитации [57]. Однако существует проблема большого разнообразия экспериментальных условий и варибельности биологических объектов. Использование биоинформатического анализа поможет сопоставить данные, полученные в различных экспериментах.

Безусловно, широкое поле для применения микрогравитации открывается для биотехнологий. Например, кристаллы, выращенные в условиях микрогравитации, позволяют получать комплексы белков-мишеней для разработки фармацевтических препаратов нового поколения, предназначенных для лечения хронических и инфекционных заболеваний, таких как, Т-клеточная

лимфома, ВИЧ, псориаз, инсульт и другие сердечно-сосудистые заболевания, грипп и ревматоидный артрит [41, 59, 60].

Заключение

Таким образом, моделирование эффектов микрогравитации становится все более актуальным и востребованным методом. Дальнейшая разработка и применение биомедицинских клеточных технологий способствуют лучшему пониманию физиологии клеток и организмов в условиях микрогравитации, что, в свою очередь, приведет к значительным научным прорывам в тканевой инженерии и «космической» фармакологии.

В обозримой перспективе, исследования в космосе будут проводиться не только на МКС или околоземных спутниках, но и станут возможны на таких внеземных территориях, как Луна или Марс. С этой точки зрения именно наземные объекты моделирования / стимуляции микрогравитации с использованием различных культур клеток и тканей позволят лучше оценить неблагоприятные воздействия гравитации на здоровье человека и сыграть свою роль в подготовке будущих космических миссий.

Список литературы / References

1. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Егоров А.Д. Физиологические эффекты действия невесомости на человека в условиях космического полета. *Физиология человека*. 1997; 23(2): 138-146. / Gazenko O.G., Grigor'ev A.I., Egorov A.D. [Physiologic effects of weightlessness on man under spaceflight conditions]. *Fiziologiya Cheloveka. [Human physiology]*. 1997; 23(2): 138-146. (in Russian)
2. Vernikos J., Schneider V.S. Space, gravity and the physiology of aging: parallel or convergent disciplines? A mini-review. *Gerontology*. 2010; 56(2): 157-166. DOI: 10.1159/000252852
3. Demontis G.C., Germani M.M., Caiani E.G., Barravecchia I., Passino C., Angeloni D. Human Pathophysiological Adaptations to the Space Environment. *Front. Physiol.* 2017; 8: 547. DOI: 10.3389/fphys.2017.00547
4. Григорьев А.И., Котовская А.Р., Фомина Г.А. Особенности функционирования сердечно-сосудистой системы человека в условиях космического полета. В Сб.: «Сердечно-сосудистая патология. Современное состояние проблемы». Media Medica; 2009: 38-52. / Grigoriev A. I., Kotovskaya A.R., Phomina G.A. *The human cardiovascular system under the conditions of a space flight*. In.: Cardiovascular disease. Current state of the problem. Media Medica; 2009: 38-52. (in Russian)
5. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Егоров А.Д. Медицинские исследования по программе длительных пилотируемых полетов на орбитальном комплексе «Салют-7» – «Союз-Т». *Космическая биология и авиакосмическая медицина*. 1990; 24(2): 9-15. / Gazenko O.G., Grigor'ev A.I., Egorov A.D. [Medical studies concerning the program of long-term manned space flights on «Saliut-7» – «Soiuz-T» orbital complex]. *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina. [Space Biology and Aerospace Medicine]*. 1990; 24(2): 9–15. (in Russian)
6. Буравкова Л.Б., Григорьева О.В., Константинова Н.А., Гершович Ю.Г., Гершович П.М. Межклеточные взаимодействия в условиях микрогравитации: эксперименты *in vitro*. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2013; 47(1): 68-72. / Buravkova L.B., Grigorieva O.V., Konstantinova N.A., Gershovich Y.G., Gershovich P.M. [Cell-to-cell interactions in microgravity: experiments *in vitro*]. *Aviakosmicheskaya i ehkologicheskaya medicina [Aerospace and Environmental Medicine]*. 2013; 47(1): 68-72. (in Russian)
7. Pietsch J., Bauer J., Egli M., Infanger M., Wise P., Ulbrich C., Grimm D. The effects of weightlessness on the human organism and mammalian cells. *Curr. Mol. Med.* 2011; 11(5): 350-364.

8. Grimm D., Grosse J., Wehland M., Mann V., Reseland J.E., Sundaresan A., Corydon T.J. The impact of microgravity on bone in humans. *Bone*. 2016; 87: 44-56. DOI: 10.1016/j.bone.2015.12.057
9. Grigoriev A. I., Kalinin Y.T., Buravkova L.B. and Mitichkin O.V. Space cell physiology and space biotechnology in Russia. *Adv.Space Biol. Med.* 2002; 8: 215-236. DOI: 10.1016/S1569-2574(02)08021-8
10. Buravkova L.B., Rudimov E.G., Andreeva E.R., Grigoriev A.I. The ICAM-1 expression level determines the susceptibility of human endothelial cells to simulated microgravity. *J. Cell Biochem.* 2018; 119(3): 2875-2885. DOI: 10.1002/jcb.26465.
11. Aleshcheva G., Sahana J., Ma, X., Hauslage J., Hemmersbach R., Egli M., Infanger M., Bauer J., Grimm D. Changes in morphology, gene expression and protein content in chondrocytes cultured on a random positioning machine. *PLoS One*. 2013; 8(11): e79057. DOI: 10.1371/journal.pone.0079057
12. Grimm D. Corydon T.J., Kopp S., Krueger M., Infanger M. *Human cells in space*. In: Proceedings of the 23rd ESA Symposium on European Rocket and Balloon Programmes and Related Research, At Visby, Sweden, September 2017.
13. Гершович П.М., Гершович Ю.Г., Буравкова Л.Б. Цитоскелет и адгезия культивируемых стромальных клеток-предшественников костного мозга человека при моделировании эффектов микрогравитации. *Цитология*. 2009; 51(11): 896-904. / Gershovich P.M., Gershovich Yu.G., Buravkova L.B. [Cytoskeleton and adhesion of cultured stromal progenitor cells of human bone marrow in simulating the effects of microgravity]. *Tsitilogija [Cytology]*. 2009; 51(11): 896-904. (in Russian)
14. NASA's Bioreactor: Growing Cells in a Microgravity Environment EB-2002-12-187-MSFC. https://er.jsc.nasa.gov/seh/cell_growth_in_zero_g.pdf Дата обращения / Retrieved: 10.08.2018
15. Boonstra J. Growth factor-induced signal transduction in adherent mammalian cells is sensitive to gravity. *FASEB J.* 1999; 13 Suppl: S35-42.
16. Corydon T.J., Kopp S., Wehland M., Braun M., Schutte A., Mayer T., Hulsing T., Oltmann H., Schmitz B., Hemmersbach R., Grimm D. Alterations of the cytoskeleton in human cells in space proved by life-cell imaging. *Sci. Rep.* 2016; 6: 20043. DOI: 10.1038/srep20043
17. Grosse J., Wehland M., Pietsch J., Ma, X., Ulbrich C., Schulz, H., Saar, K., Hubner, N., Hauslage, J., Hemmersbach, R., Braun, M., Van Loon, J., Vagt, N., Infanger, M., Eilles, C., Egli, M., Richter, P., Baltz, T., Einspanier, R., Sharbati, S., Grimm, D. Short-term weightlessness produced by parabolic flight maneuvers altered gene expression patterns in human endothelial cells. *FASEB J.* 2012; 26(2): 639-655. DOI: 10.1096/fj.11-194886
18. Aleshcheva G., Wehland M., Sahana J., Bauer J., Corydon T.J., Hemmersbach R., Frett T., Egli M., Infanger M., Grosse J., Grimm D. Moderate alterations of the cytoskeleton in human chondrocytes after short-term microgravity produced by parabolic flight maneuvers could be prevented by up-regulation of BMP-2 and SOX-9. *FASEB J.* 2015; 29(6): 2303-2314. DOI: 10.1096/fj.14-268151.
19. Grimm D. *Cell Biology in Space*. In: Biotechnology in Space. Springer Briefs in Space Life Sciences: 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-64054-9_5
20. Herranz R., Anken R., Boonstra J., Braun M., Christianen P.C., de Geest J., Hauslage R.H., Hill R.J., Lebert M., Medina F.J., Vagt N., Ullrich O., van Loon J.J., Hemmersbach R. Ground-based facilities for simulation of microgravity: organism-specific recommendations for their use, and recommended terminology. *Astrobiology*. 2013; 13: 1-17.
21. Becker J.L., Souza G.R. Using space-based investigations to inform cancer research on Earth. *Nat. Rev. Cancer*. 2013; 13(5): 315-327. DOI: 10.1038/nrc3507
22. Borst A.G., van Loon J.J.W.A. Technology and Developments for the Random Positioning Machine RPM. *Microgravity Sci. Technol.* 2009; 21: 287-292. DOI: 10.1007/s12217-008-9043-2
23. Svejgaard B., Wehland M., Ma X., Kopp S., Sahana J., Warnke E., Aleshcheva G., Hemmersbach R., Hauslage J., Grosse J., Bauer J., Corydon T.J., Islam T., Infanger M., Grimm, D. Common Effects on Cancer Cells Exerted by a Random Positioning Machine and a 2D Clinostat. 2015; 10(8): e0135157. DOI: 10.1371/journal.pone0135157
24. Warnke E., Pietsch J., Wehland M., Bauer, J., Infanger M., Gorog M., Hemmersbach R., Braun M., Ma X., Sahana J., Grimm D. Spheroid formation of human thyroid cancer cells under simulated microgravity: a possible role of CTGF and CAV1. *Cell Commun. Signal.* 2014; 12: 32. DOI: 10.1186/1478-811X-12-32
25. Brungs S., Egli M., Wuest S.L., Christianen P.C. M., van Loon J.J.W. A., Ngo T. J. Facilities for Simulation of Microgravity in the ESA. Ground-Based Facility Programme. *Microgravity Sci. Technol.* DOI: 10.1007/s12217-015-9471-8
26. Ranieri D., Proietti S., Dinicola S., Masiello M.G., Rosato B., Ricci G., Cucina A., Catizone, A., Bizzarri M., Torrisi M.R. Simulated microgravity triggers epithelial mesenchymal transition in human keratinocytes. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 538. DOI: 10.1038/s41598-017-00602-0
27. Prodanov L., Van Loon J.J., Te Riet J., Jansen J.A., Walboomers X.F. Nanostructured substrate conformation can decrease osteoblastlike cell dysfunction in simulated microgravity conditions. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2014; 8(12), 978-988. DOI: 10.1002/term.1600
28. Grimm D., Infanger M., Westphal K. A delayed type of three dimensional growth of human endothelial cells under simulated weightlessness. *Tissue Eng. Part A.* 2009; 15(8): 2267-2275. DOI: 10.1089/ten.tea.2008.0576.
29. Corydon T.J., Mann V., Slumstrup L., Kopp S., Sahana J., Askou A.L., Magnusson N.E., Echegoyen, D., Bek, T., Sundaresan, A., Riwaldt, S., Bauer, J., Infanger, M., Grimm, D. Reduced Expression of Cytoskeletal and Extracellular Matrix Genes in Human Adult Retinal Pigment Epithelium Cells Exposed to Simulated Microgravity. *Cell Physiol. Biochem.* 2016; 40(1-2): 1-17. DOI: 10.1159/000452520
30. Ulbrich C., Leder A., Pietsch J., Flick B., Wehland M., Grimm D. The impact of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on cardiac fibroblasts grown under altered gravity conditions. *Cell Physiol. Biochem.* 2010; 26(6): 1011-1022.
31. Kopp S., Warnke E., Wehland M., Aleshcheva G., Magnusson N.E., Hemmersbach R., Corydon T.J., Bauer J., Infanger M., Grimm D. Mechanisms of three-dimensional growth of thyroid cells during long-term simulated microgravity. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16691. DOI: 10.1038/srep16691
32. Bauer J., Kopp S., Schlagberger E.M., Grosse J., Sahana J., Riwaldt S., Wehland M., Luetzenberg R., Infanger M., Grimm D. Proteome Analysis of Human Follicular Thyroid Cancer Cells Exposed to the Random Positioning Machine. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(3): 546. DOI: 10.3390/ijms18030546
33. Maccarone M., Battista N., Meloni M., Bari M., Galleri G., Pippia P., Cogoli A., Finazzi-Agro A. Creating conditions similar to those that occur during exposure of cells to microgravity induces apoptosis in human lymphocytes by 5-lipoxygenase-mediated mitochondrial uncoupling and cytochrome c release. *J Leukoc. Biol.* 2003; 73(4): 472-481.
34. Cogoli-Greuter M. Effect of gravity changes on the cytoskeleton in humans. *Gravit. Space Biol. Bul.* 2004; 17(2): 27-38.
35. Yuge L., Kajiume T., Tahara H., Kawahara Y., Umeda C., Yoshimoto R. Microgravity potentiates stem cell proliferation while sustaining the capability of differentiation. *Stem Cells Dev.* 2006; 15(6): 921-929. DOI: 10.1089/scd.2006.15.921
36. Ulbrich C., Westphal K., Pietsch J. Winkler H.D.F., Leder A., Bauer J., Kossmehl P., Grosse J., Schoenberger J., Infanger M., Egli M., Grimm D. Characterization of human chondrocytes exposed to simulated microgravity. *Cell Physiol. Biochem.* 2010; 25(4-5): 551-560. <https://doi.org/10.1159/000303059>
37. Lewis M., The Cytoskeleton, apoptosis, and gene expression in T lymphocytes and other mammalian cells exposed to altered gravity. *Adv. Space Biol.* 2002; (8): 77-128.
38. Penolazzi L., Lolli A., Sardelli L., Lambertini E., Trombelli L., Ciarpella F., Vecchiattini R., Piva R. Establishment of a 3D-dynamic osteoblasts-osteoblasts co-culture model to simulate the jaw bone microenvironment in vitro. *Life Science.* 2016; 152: 82-93. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.03.035
39. Ratushnyy A., Ezdakova M., Yakubets D., Buravkova L. Angiogenic activity of human adipose-derived mesenchymal stem cells under simulated microgravity. *Stem Cells Dev.* 2018; 27(12): 831-837. DOI: 10.1089/scd.2017.0262
40. Jha R., Wu Q., Singh M., Preininger M.K., Han Pe., Ding G., Cho H.C., Jo H., Maher K.O., Wagner M.B., Xu C. Simulated Microgravity and 3D Culture Enhance Induction, Viability, Proliferation and Differentiation of Cardiac Progenitors from Human Pluripotent Stem Cells. *Sci. Rep.* 2016; 6: 30956. DOI: 10.1038/srep30956
41. Grimm D., Wehland M., Pietsch J. Growing tissues in real and simulated microgravity: new methods for tissue engineering. *Tissue Eng.* 2014; 20(6): 555-566. DOI: 10.1089/ten
42. Kroger M., Bauer J. and Grimm D. *Cancer research in Space*. In:

- Biotechnology in Space. SpringerBriefs in Space Life Sciences. 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-64054-9_5
43. Svejgaard B., Wehland M., Ma X., Kopp S., Sahana J., Warnke E., Aleshcheva G., Hemmersbach R., Hauslage J., Grosse J., Bauer J., Corydon T.J., Islam T., Infanger M., Grimm D. Common effects on cancer cells exerted by a random positioning machine and a 2D clinostat. *PLoS One*. 2015; 10(8): e0135157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135157>
 44. Grimm D. *Cell Biology in Space*. In: Biotechnology in Space. SpringerBriefs in Space Life Sciences. 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-64054-9_5
 45. Kopp S., Slumstrup S., Corydon T. J. et al. Identifications of novel mechanisms in human breast cancer cells involving duct-like multicellular spheroid formation under simulated microgravity. *Sci. Rep.* 2016; 6: 26887. DOI: 10.1038/srep26887
 46. Hsu S.H., Kuo C.C., Yen H.J., Whu S.W., Tsai C.L. The effect of two different bioreactors on the neocartilage formation in type II collagen modified polyester scaffolds seeded with chondrocytes. *Artificial Organs*. 2005; (29): 467-474.
 47. Uva B.M. Microgravity-induced apoptosis in cultured glial cells. *Eur. J. Histochem.* 2002; (46): 209-214.
 48. Gatti A.U., Giansanti M., Bonaccorsi S. Relationship between the central spindle and the contractile ring during cytokinesis in animal cells. *Microsc. Res. Tech.* 2000; (49): 202-208.
 49. Bershinsky A.D., Balaban N.Q., Geiger B. Adhesion-dependent cell mechanosensitivity. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2003; 19: 677-95. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.19.111301.153011
 50. Rosner H., Wassermann T., Moller W., Hanke W. Effects of altered gravity on the actin and microtubule cytoskeleton of human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Protoplasma*. 2006; 229: 225-234.
 51. Infanger M. Induction of three dimensional assembly and increase in apoptosis of human endothelial cells by simulated microgravity: impact of vascular endothelial growth. *Apoptosis*. 2006; 11(5): 749.
 52. Sokolovskaya A.A. Ignashkova T., Bochenkova A., Moskovtsev A., Baranov V., Kubatiev A. Effects of simulated microgravity on cell cycle in human endothelial cells. *Acta Astronautica*. 2014; 99: 16-23. DOI: 10.1016/j.actaastro.2014.01.032
 53. Riwaldt S., Pietsch J., Sickmann A. Identification of proteins involved in inhibition of spheroid formation under microgravity. *Proteomics*. 2015; 15(17): 2945-2952. DOI: 10.1002/pmic.201500067
 54. Ruyter G., Braun M., Betzel C., Grimm D. *Outlook: Future Potential of Biotechnology Research in Space*. In: Biotechnology in Space. SpringerBriefs in Space Life Sciences: 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-64054-9_8
 55. Pietsch J., Ma X., Wehland M. Spheroid formation of human thyroid cancer cells in an automated culturing system during the Shenzhou-8 space mission. *Biomaterials*. 2013; 34(31): 7694-7705. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.06.054
 56. Pietsch J., Bauer J., Weber G., Nissum M., Westphal K., Egli M., Grosse J., Schönberger J., Eilles C., Infanger M. Proteome analysis of thyroid cancer cells after long-term exposure to a random positioning machine. *Microgravity Sci. Technol.* 2011; 23(4): 381-390. DOI: 10.1007/s12217-011-9258-5
 57. Bauer J., Bussen M., Wise P., Wehland M., Schneider S., Grimm D. Searching the literature for proteins facilitates the identification of biological processes, if advanced methods of analysis are linked: a case study on microgravity-caused changes in cells. *Expert Rev. Proteomics*. 2016; 13(7): 697-705. DOI: 10.1080/14789450.2016.1197775
 58. Riwaldt S., Pietsch J., Sickmann A. Identification of proteins involved in inhibition of spheroid formation under microgravity. *Proteomics*. 2015; 15(17): 2945-2952. DOI: 10.1002/pmic.201500067
 59. Aleshcheva G., Bauer J., Hemmersbach R. Scaffold-free tissue formation under real and simulated microgravity conditions. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2016; DOI: 10.1111/bcpt.12561
 60. Betzel C., Martirosyan A. *Drug Design*. In: Biotechnology in Space. SpringerBriefs in Space Life Sciences: 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-64054-9_4

Сведения об авторах:

Соколовская Алиса Анатольевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт патологии и патофизиологии»

Московцев Алексей Александрович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; доцент кафедры общей патологии и патофизиологии Федерального Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская Академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Вирюс Эдуард Даниэлевич – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной ангиопротеомики и метаболомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Кубатиев Аслан Амирханович – доктор медицинских наук, академик РАН, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; заведующий кафедрой общей патологии и патофизиологии Федерального Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская Академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации