

ПОДГОТОВКА И ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ В ПОЛЕТЕ АВТОМАТИЧЕСКОГО КОСМИЧЕСКОГО АППАРАТА "ФОТОН- М" №2

Е.А. Ильин, М.Г. Таирбеков, М. Скидмор, М. Васкес

ГНЦ РФ- Институт медико-биологических проблем РАН

Эймский исследовательский центр НАСА США

История развития биологических исследований в космосе на борту автоматических космических аппаратов типа «Бион» и «Фотон» насчитывает более трех десятилетий. За этот период были подготовлены и проведены многочисленные эксперименты на различных биологических объектах: микроорганизмах, покоящихся и прорастающих семенах растений, одноклеточных эукариотических организмах, культуре клеток и тканей, беспозвоночных, низших и высших позвоночных животных.

В полетах космических аппаратов «Бион» и «Фотон» были получены данные, на основе которых создавались концепции о механизмах адаптации живых систем к условиям микрогравитации и разрабатывались практические рекомендации для пилотируемой космонавтики. По мнению большинства аналитиков, около 50% имеющейся в мире научной информации о фундаментальных основах жизнедеятельности в условиях космоса получено в ходе реализации программы исследований на КА «Бион» и «Фотон». Многочисленные научные публикации в печати, широкое обсуждение результатов на научных конференциях, симпозиумах и съездах и самое главное, - более глубокое понимание того, как организм реагирует на условия космического полета - таков основной итог исследований с помощью космических аппаратов типа «Бион» и «Фотон». Все это стало возможным благодаря широкой внутренней и международной научной кооперации с ведущими научными учреждениями мира.

В разработке научной программы, методов исследования, бортовой аппаратуры, подготовке полетных экспериментов и в послеполетном анализе биоматериала в разные периоды, начиная с середины 70-х годов, наряду со специалистами нашей страны принимали участие специалисты США и Европы.

В целом итоги исследований в полетах автоматических космических аппаратов «Бион» и «Фотон» позволили наряду с заметными достижениями в решении некоторых фундаментальных проблем, использовать результаты этих исследований в целях практической медицины, в частности для обоснования возможности осуществления безопасного, с точки зрения здоровья, пребывания и активной работы человека в длительном космическом полете.

К настоящему времени накоплен большой экспериментальный материал о влиянии основных физических факторов космического полета (таких как микрогравитация и космическая радиация) на живые организмы. Такие явления как потеря костной и мышечной массы, изменения в иммунной и кроветворной системе, нарушения водно-солевого обмена и пока охарактеризованы в значительной степени на физиологическом и морфологическом уровне. Основная задача проводимых на современном этапе исследований в космосе-приблизиться к пониманию молекулярных механизмов действия факторов космического полета. Одним из адекватных подходов, позволяющим понять механизмы действия физических факторов космического полета на живые системы, является идентификация генов в реагирующих тканях и изучение экспрессии этих генов в ходе космического полета.

Использование молекулярно- биологических методов идентификации генов открывает пути к изучению экспрессии генов в любых тканях организма и в разнообразных

экспериментальных моделях. Изучение экспресс генов на интенсивно разрабатываемых моделях может оказаться удобным и достаточно эффективным способом для расшифровки интегральных механизмов действия факторов космического полета на организм.

В настоящее время в структуре генов идентифицированы регуляторные области, контролирующие как активацию, так и подавление функционирующих генов. Экспрессия генов контролируется внешними и внутренними факторами. Одним из наиболее адекватных подходов к оценке эффектов действия факторов космического полета на экспрессию генов является использование ДНК чипов, позволяющих оценить перестройку экспрессии большого числа генов.

Вместе с тем, несмотря на огромный объем полученной в полетах научной информации многие проблемы космической биологии и физиологии остаются до конца недоученными. Так, например, нет окончательного ответа на такие вопросы как особенности и динамика протекания в условиях микрогравитации таких жизненно важных процессов как клеточное деление и межклеточные взаимодействия, передача наследственной информации, рост, развитие и старение организмов, метаболизм, функциональное состояние физиологических систем, поведенческие характеристики и т.д.

Все перечисленные вопросы ждут своего решения и могут быть решены, главным образом, с использованием наиболее адекватных экспериментальных моделей – по возможности просто организованных живых систем (клеточных культур, беспозвоночных и низших позвоночных животных).

КА «Фотон-М» в настоящее время является практически единственным космическим аппаратом для проведения широкого круга экспериментов по материаловедению, биологии, биотехнологии с ресурсом функционирования от 16 до 30 суток и с массой полезной нагрузки от 600 до 850 кг. на высотах, близких к высотам функционирования МКС и обеспечивающим доставку результатов эксперимента на Землю.

В 2005 году в полете автоматического космического аппарата «Фотон-М» №2 российскими учеными были подготовлены и проведены 4 биологических эксперимента: *«Плазида - Ф2»*, *«Рецептор-Ф2»*, *«Регенерация - Ф2»* и *«Геккон-Ф2»* с использованием в качестве объектов исследования соответственно: микроорганизмов, беспозвоночных и низших позвоночных животных.

В разработке научной программы, подготовке экспериментов и послеполетном анализе биоматериала, принимали участие специалисты Университета штата Монтана и Эймского исследовательского центра НАСА США.

Детальное описание экспериментов, включающее научную программу, цели и задачи каждого из них, описание объектов исследования (их биологии, среды обитания и поведенческих характеристик), методов до- и послеполетного анализа биоматериала, а также принципов и условий взаимодействия специалистов России и США в ходе подготовки и проведения исследований, приведены в совместных публикациях. Космический аппарат «Фотон-М» №2 функционировал на околоземной орбите с 31 мая по 16 июня 2005 г. с параметрами полета : в апогее -304 км., перигее 262 км. угол орбиты 63град., период обращения 90 мин. Барометрическое давление во время полета составляло от 744 до 746 мм. рт. ст. Температура воздуха по данным телеметрии внутри гермообъема спускаемого аппарата (СА) в течение всего времени полета не опускалась ниже 18 С и не поднималась выше 20° С, радиационная обстановка была нормальной.

После приземления СА в заданном районе, полетные контейнеры были доставлены в Москву через 30 часов после окончания полета.

Контрольный (синхронный) эксперимент был выполнен в Государственном научном центре РФ-Институте медико-биологических проблем РАН со сдвигом по времени на 2 суток - со 2 по 18 июня- 2005г.

Сравнительный экспресс-анализ полетных и контрольных образцов биоматериала с использованием определенных методов был проведен совместно со специалистами США в соответствующих научных учреждениях РАН в Москве. После этого часть

зафиксированного или законсервированного при низкой температуре биоматериал была отправлена в США, а другая часть материал анализировалась в Москве.

В эксперименте «*Плазмида-Ф2*» в качестве объекта исследования использовались низшие грибы- актиномицеты *Streptomyces lividans* 66 штамм (pIL 702).

Ответственный исполнитель эксперимента - лаборатория генетики актиномицетов Института генетики и селекции микроорганизмов РФ (Москва), соисполнитель департамент микробиологии Университета Монтана США.

Изучали влияние условий космического полета на стабильность функционирования генетического аппарата клетки.

Сравнительный анализ образцов полетного (экспонированного на борту КА) и контрольного (наземного) материала не обнаружил различий в морфологии первичных и вторичных колоний, а также в отношении характера развития этих образцов культур. Показано, что микрогравитация, умеренный радиационный фон и другие специфические факторы космического полета не оказывают прямого воздействия на генетические структуры бактерий и их экспрессию в условиях кратковременного низкоорбитального полета.

В эксперименте «*Рецептор-Ф2*» объектом исследования были виноградные улитки *Helix lucorum*.

Ответственный исполнитель эксперимента - Институт биологии развития РАН (Москва). В подготовке эксперимента и послеполетном анализе принимали участие специалисты Эймского исследовательского центра НАСА США

Проводилась оценка характера и динамики морфогенеза статоконий в условиях микрогравитации, а также оценка значимости гравитационного фактора в процессах формирования и роста статоконий. Были проведены комплексные исследования с использованием молекулярно-генетических и электрофизиологических методов. Изучали экспрессию гена *preproHPer* методом *in situ* гибридизации.

Суммируя эту часть исследований можно высказать предположение, что 2-х недельная экспозиция улиток в условиях микрогравитации приводит к усилению экспрессии гена *prepro HPer* в волосковых клетках статокония, тогда как экспрессия гена в других нейронах ЦНС оставалась практически без изменений.

В целом, включая также и результаты электрофизиологических исследований, можно констатировать, что улитки, перенесшие космический полет отличались от контрольных, как по поведению, так и на метаболическом уровне. Причем есть основание предполагать, что изменения на метаболическом уровне в системе гравирецепции сохраняются дольше, чем на поведенческом уровне.

В эксперименте «*Регенерация-Ф2*» использовались амфибии - тритоны *Pleurodeles waltii* Ответственный исполнитель эксперимента - Институт биологии развития РАН (Москва). В подготовке эксперимента и послеполетном анализе принимали участие специалисты Эймского исследовательского центра НАСА США.

Основная цель эксперимента - выявление роли гравитационного фактора в процессах регенерации и репарации органов и тканей и системы кроветворения, изучение влияния факторов космического полета на пролиферативную активность клеток. Кроме того, в данном эксперименте впервые предпринята попытка изучения экспрессии регуляторных генов в процессах регенерации и репарации с помощью использования т.н. ДНК-чипов, позволяющих оценить перестройку экспрессии большого числа генов.

Программой эксперимента было запланировано также сравнительное изучение состава цитокинов и стресс белков в регенератах полетных и контрольных животных.

По предварительным данным, полученным к настоящему времени, можно сделать предположение о возрастании экспрессии генов, регулирующих процессы регенерации и репарации органов и тканей в условиях микрогравитации. Что же касается изменений в кроветворной системе, то сравнительный послеполетный анализ биоматериала не выявил существенный различий между полетным и контрольными образцами. Окончательный

вывод в целом по эксперименту можно будет сделать после получения результатов послеполетного анализа выполняемого американскими коллегами.

В эксперименте «Геккон - Ф2» использовали рептилий - ящериц *Pachydactylus bibroni*

Ответственный исполнитель - Институт морфологии человека РАМН (Москва) В подготовке эксперимента и послеполетном анализе биоматериала принимали участие специалисты Эймского исследовательского центра НАСА США

Исследовали влияние микрогравитации на морфо-функциональные параметры нервной системы, скелета и эндокринных органов у животных экспонированных в космосе. Результаты сравнительного анатомического анализа не выявили значительных различий между опытными и контрольными образцами. Исключение составили лишь печень и кишечник. В тканях этих органов у полетных животных были обнаружены заметные изменения по сравнению с контролем.

Таким образом, анатомо-гистологические исследования гекконов, перенесших 16-ти суточный космический полет не выявило глубоких изменений в нервной, скелетной и эндокринной системах животных.

Аппаратура «ПЛАЗМИДА» - бортовой контейнер ББ-1М

Для проведения эксперимента внутри бортового контейнера «Плазмиды», габаритами 175X125x105 мм в специальной укладке из биологически нейтрального материала (пенопласта) размещали 16 чашек Петри из пластика каждая диаметром 60 мм и высотой 10мм. Внутри каждой чашки на твердой агаровой среде высевали культуру *Streptomyces lividans*. Затем чаши закрывали и герметизировали парафильмом. По результатам предполетного лабораторного анализа из 15 первоначально отобранных клонов для полетного и синхронного (контрольного) экспериментов было выбрано 3 клон, имеющих максимальный уровень стабильности плазмиды при репликации (не ниже 99%). С момента заправки контейнера биоматериалом и до размещения в КА «ФОТОН-М» №2, включая и время транспортировки, в нем поддерживалась температура 4 С.

Аппаратура «РЕЦЕПТОР» - бортовой контейнер ББ-1М

В контейнер помещали 35 улиток (20 ювенильных и 15 взрослых особей весом от 20 до 30 г. соответственно) были размещены внутри вкладыша из плексигласа, имеющего размеры, соответствующие внутреннему объему бортового контейнера (175X125x105 мм) Для обеспечения воздухообмена между окружающей средой (гермообъемом СА) в боковых стенках контейнера и вкладыша имелись отверстия 0 5 мм.

Для предотвращения выделения в окружающую среду продуктов жизнедеятельности улиток и запахов при возможной гибели части улиток, контейнер был снабжен фильтром отчистки воздуха. Для обеспечения высокого уровня влажности внутри вкладыша в основании контейнера была размещена пропитанная водой пластина из поливинилформаль, обладающего высокими влагоудерживающими свойствами.

С момента заправки контейнера биоматериалом и его размещения в КА «ФОТОН-М» №2 в контейнере поддерживалась температура 4°С.

Аппаратура «ТРИТОН» - бортовой контейнер Тритон

Для проведения экспериментов использовали контейнера габаритами 345 x 225 x 75 мм. В контейнере были размещены 20 тритонов массой 10-12 г. и длиной до 15см. каждый. Дно контейнера было покрыто пластиной из поливинилформаль содержащего 500 мл воды, что обеспечивало поддержание внутри контейнера 100% влажности. В крышку контейнера было встроена полупроницаемая мембрана из пористого фторопласта площадью около 200см для обеспечения воздухообмена с окружающей средой гермообъема КА.

Аппаратура «УЛИТКА» - бортовой контейнер ББ-1М

Биоматериал (5 особей гекконов 4 самки и 1 -самец) был размещен во вкладыше из нейтрального материала (фторопласта), который помещали в бортовой контейнер

габаритами 175 x 125 x 105. Для обеспечения воздухообмена в боковых стенках контейнера и вкладыша имелись отверстия (каждое диаметром 3-5 мм). Для обеспечения повышенного уровня влажности внутри вкладыша с животными в основании контейнера была помещена смоченная водой пластина из поливинилформала.

Подготовка экспериментов с использованием научной аппаратуры «ПЛАЗМИДА», «ТРИТОН», «УЛИТАМ» «РЕЦЕПТОР» к летно-космическим испытаниям (ЛКИ) на завершающем этапе проходила в лабораториях перечисленных выше Институтах в Москве и продолжалась в сборочно-испытательном комплексе (СБИК) КА «ФОТОН-М» № 2 космодрома Байконур (Казахстан).

Заправленные соответствующими биологическими объектами полетные контейнеры были транспортированы самолетом из Москвы в Байконур и были доставлены в сборочно-испытательный комплекс «ЦСКБ-Прогресс» космодрома Байконур, где был проведен входной контроль, и аттестация бортовой научной аппаратуры по результатам, которых она была допущена к установке в КА «ФОТОН-М»--№2- и размещены внутри спускаемого модуля КА «ФОТОН-М» № 2.

Запуск КА «ФОТОН-М» № 2 состоялся 31 мая в 16ч. 00м. (м. в.)

Космический аппарат «ФОТОН-М» №2 функционировал на околоземной орбите с 31 мая по 16 июня 2005г. на высотах от 304 км. в апогее до 262 км. в перигее, с углом наклона 63°

Барометрическое давление во время полета составило от 744 до 746 см. рт. ст. Температура воздуха, по данным телеметрии внутри гермообъема СА опускалась ниже 18°С и не превышала 20° С. Таким образом, во-первых, температура на всем протяжении полета колебалась в узком диапазоне величин, и, во-вторых, она была ниже ожидаемой. Из сказанного следует, что температурный режим в полете был оптимальным не для всех биологических объектов.

Так, например, если для беспозвоночных (виноградных улиток) и амфибий- тритонов эти условия были вполне комфортными для их роста и функционирования, то для микроорганизмов и рептилий уровень температур был ниже оптимума.

В частности, возможно, именно это явилось причиной снижения темпов развития актиномицет (задержка стадии споруляции) в космическом полете.

Тем не менее, при проведении синхронного (контрольного) эксперимента мы строго придерживались температурных условий космического полета и полностью имитировали данные о температуре, получаемые по каналам телеметрии два раза в сутки.

Кроме того, для дополнительного контроля температуры и уровня радиации, внутри полетных контейнеров были размещены малогабаритные температурные регистраторы для автоматической записью температурных колебаний и миниатюрные радиационные дозиметры. Расшифровка записей с этих приборов после окончания полета дала возможность судить об изменениях температурного режима в непосредственной близости от биологических объектов и оценить суммарную (интегральную) дозу поглощенной биообъектами радиации.

Показания температурных датчиков всех бортовых контейнеров практически не отличались от характера изменения температурного режима, зарегистрированного штатными датчиками внутри гермообъема СА.

Обработка дозиметров выявила следующее распределение дозы поглощенной радиации: Гекконы -200м. рад., актиномицеты -260 м.рад., улитки- 260 м.рад., тритоны -330 м.рад. Приведенные выше дозы ионизирующей космической радиации, по результатам многолетних наблюдений, являются характерными для космических аппаратов типа «ФОТОН» и соответствуют длительности и навигационным параметрам. Кроме того, количества поглощенной радиации биологическими объектами, свидетельствуют о том, что радиационная обстановка во время полета КА «ФОТОН-М» №2 нормальной.

Синхронный (контрольный) эксперимент был выполнен в ГНЦ РФ – Институте медико-биологических проблем РАН со сдвигом на 2 суток в период со 2 по 18 июня.

Типовые контейнера, аналогичные полетным с идентичным биологическим материалом, использованным для полетных экспериментов, были размещены в климатической камере, где на протяжении эксперимента поддерживались значения всех параметров среды, аналогичные значениям в гермообъеме спускаемого модуля (СА) **КА «ФОТОН-М» №2**.

Приземление спускаемого модуля **КА «ФОТОН-М» №2** состоялось в 11ч. 30м. (в.м.) в намеченном районе в 170 км. юго-восточнее г. Кустанай (Казахстан)