

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ИНСТИТУТ МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Горбачева Елена Юрьевна

**Влияние факторов космического полета на структурно-
функциональные характеристики яичников млекопитающих**

1.5.5 Физиология человека и животных

3.1.4 Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Огнева Ирина Владимировна

доктор физико-математических наук, профессор

Научный консультант:

Бояринцев Валерий Владимирович

доктор медицинских наук, профессор

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Фолликулогенез.....	12
1.1.1 История изучения	12
1.1.2 Классы фолликулов, стадии фолликулогенеза	13
1.1.3 Рост и развитие примордиальных фолликулов	16
1.1.4 Рост и развитие преантрального фолликула.....	17
1.1.5 Рост антральных фолликулов.....	18
1.1.6 Селекция доминантного фолликула.....	21
1.1.7 Овуляция.....	21
1.2 ФАКТОРЫ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЁТА, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ.....	22
1.3 СПОСОБЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ НЕВЕСОМОСТИ	28
1.3.1. Антиортостатическая гипокинезия.....	28
1.3.2 «Сухая» иммерсия.....	30
1.3.3 Антиортостатическое вывешивание.....	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
2.1 КОСМИЧЕСКИЙ ПОЛЕТ.....	34
2.1.1 Магнитно-резонансная томография (МРТ).....	37
2.1.2 Взятие крови и измерение концентрации гормонов	37
2.1.3 Тесты на овуляцию	38
2.1.4 Статистический анализ.....	38
2.2 СУХАЯ ИММЕРСИЯ. ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА.	38
2.2.1 Взятие крови и определение гормонов	41
2.2.2 Ультразвуковое исследование	41
2.2.3 Статистический анализ.....	42
2.3 АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЕ ВЫВЕШИВАНИЕ. ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА.	42

2.3.1. Измерение клеточного дыхания методом полярографии..	43
2.3.2. Измерение относительного содержания белка методом вестерн-блоттинга	44
2.3.3. Оценка относительного содержания мРНК методом ПЦР с обратной транскрипцией.....	46
2.3.4. Протокол ИГХ-анализа срезов яичников мыши.....	48
2.3.5 Статистический анализ.....	49
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	50
3.1 КОСМИЧЕСКИЙ ПОЛЁТ.....	50
3.1.1 Длительность менструального цикла и овуляция.....	50
3.1.2 Параметры органов малого таза.....	56
3.1.3 Содержание гормонов в крови	57
3.1.4. Размер и количество антральных фолликулов.....	58
3.2 СУХАЯ ИММЕРСИЯ.	63
3.2.1 Содержание гормонов, участвующих в функционировании репродуктивной системы.....	63
3.2.2. Результаты ультразвукового исследования органов репродуктивной системы.....	70
3.3 АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЕ ВЫВЕШИВАНИЕ	77
3.3.1. Скорость поглощения кислорода тканью яичников мышей, содержание белков, формирующих комплексы дыхательной цепи, и содержание мРНК соответствующих генов.....	77
3.3.2 Относительное содержание цитоскелетных белков и мРНК, кодирующих их гены	81
3.3.3. Содержание мРНК гена <i>Gdf9</i> в яичниках мышей после антиортостатического вывешивания.....	83
3.3.4. Иммуногистохимическое окрашивание	88
4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	90
4.1 КОСМИЧЕСКИЙ ПОЛЁТ.....	90

4.2 5-СУТОЧНАЯ «СУХАЯ» ИММЕРСИЯ.....	94
4.3 96-ЧАСОВОЕ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЕ ВЫВЕШИВАНИЕ МЫШЕЙ.....	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	105
ВЫВОДЫ.....	106
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	107

ВВЕДЕНИЕ

Космический полет отрицательно влияет на все физиологические системы организма (Газенко О.Г., 1984), и в настоящее время, его ведущим негативным фактором является пребывание в условиях невесомости. В частности, с её действием связывают атрофические изменения в постуральных мышцах (Ohira T. et al., 2022; Lee P.H.U. et al., 2022), и в костной ткани, которые после возвращения к силе тяжести затрудняют поддержание позы и снижают работоспособность (Ohira T. et al., 2015; Oganov V.S., 2004; Vico L., Hargens A., 2018). Сдвиг жидкости в краниальном направлении в условиях невесомости приводит к изменению работы сердца и сердечно-сосудистой системы (Hargens A.R., Watenpaugh D.E., 1996; Baevsky R.M. et al., 1998; Delp M.D. et al., 2016; Baran R. Et al., 2021). Большое число работ посвящено изучению негативного воздействия микрогравитации на нервную и другие системы (Sofronova S.I. et al., 2015; Mao X.W. et al., 2020). На сегодняшний день система профилактики возможных изменений основана на использовании диет и, в первую очередь, на системе физических тренировок (Kozlovskaya I.B. 2002; Smith S.M. et al., 2012). Однако в условиях невесомости и/или последующего возвращения к силе тяжести происходят негативные изменения не только на уровне тканей и органов, но и на клеточном уровне: в мышечных волокнах (Fitts R.H. et al., 2010; Ogneva I.V. et al., 2014, 2015), в кардиомиоцитах (Ogneva I.V. et al., 2014, 2015 ; Schlueter K., Piper H.M., 1999; Walls S. et al., 2020), в нейронах (Kohn F.P.M.m Ritzmann R., 2017; Mann V. et al., 2019), остеоцитах (Iandolo D. et al., 2021) и др. Поэтому можно предположить, что разработка перспективных методов защиты организма во время длительного космического полета должна базироваться, в основном, на клеточном уровне.

Вместе с этим в литературе представлено очень мало данных, посвященных изменениям в репродуктивной системе в целом и в гаметах в частности. Подобный сдвиг фокуса исследований, вероятно, связан с низкой

вероятностью развития в репродуктивной системе жизнеугрожающих состояний. Кроме того, большая часть и без того малочисленных результатов по этой теме получена на мужчинах, или самцах млекопитающих, что может быть объяснено исторически большей долей мужчин-космонавтов и астронавтов.

Однако, несмотря на гендерный сдвиг в сторону мужчин, уже более 100 женщин совершили хотя бы один космический полет, причем для них состояние репродуктивной системы имеет принципиальное значение. С одной стороны, средний возраст женщин, совершивших свой первый полет, составляет 38 лет (Ronca A.E. et al., 2014), который сам по себе является поздним репродуктивным возрастом, но большинство, из-за сложности и интенсивности подготовки, откладывает рождение детей до этого момента; с другой стороны здоровое долголетие женщин тесно связано с состоянием репродуктивной системы (Dong L., 2023).

В последние годы увеличивается длительность космических полетов, что отчасти связано с планами по освоению дальнего космического пространства. В перспективе освоения дальнего космоса возникает необходимость изучения возможности сохранения и реализации репродуктивной функции после длительного космического полета, а также с целью разработки индивидуальных рекомендаций в случае планирования реализации репродуктивной функции, в том числе, с помощью вспомогательных репродуктивных технологий в позднем репродуктивном возрасте.

В связи с вышеизложенным, **целью работы** являлось определение влияния факторов космического полета на структурно-функциональные характеристики яичников млекопитающих.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Определить длительность менструального цикла и наличие овуляции у женщины-космонавта во время 157-суточного космического полета.

2. Определить структурные параметры женской репродуктивной системы методом магнитно-резонансной томографии (МРТ) и гормональный статус женщины-космонавта до и после 157-суточного космического полёта.
3. Определить структурные параметры женской репродуктивной системы методом трансвагинального ультразвукового исследования (УЗИ) и гормональный статус женщин-испытуемых до и после 5-суточной «сухой» иммерсии.
4. Определить структурно-функциональные характеристики ткани яичников мыши после 96-часового антиортостатического вывешивания.
5. Определить содержание лютеинизирующего гормона (ЛГ) и ключевых цитоскелетных белков, участвующих в его секреции, в гипофизе мыши после 96-часового антиортостатического вывешивания.

Научная новизна

Впервые продемонстрировано, что у женщины с неотягощенным гинекологическим анамнезом в условиях длительного космического полета не изменяется длительность менструального цикла и сохраняется овуляция.

Впервые выявлено, что невесомость, реальная или симулируемая, у человека приводит к уменьшению концентрации ЛГ и прогестерона в крови в раннюю фолликулярную фазу, возрастанию диаметра активно растущих фолликулов, сопровождающемуся достоверным увеличением содержания ингибина В ($p < 0,05$) и в эксперименте на мышах показано, что это обусловлено увеличением толщины слоя клеток гранулезы, которое приводит к интенсификации окислительного фосфорилирования в ткани яичников.

Впервые показано, что у самок мышей после антиортостатического вывешивания синтез ЛГ в гипофизе не меняется, однако наблюдаются изменения клеточных структур, участвующих в его секреции.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты данной работы вносят вклад в понимание влияния факторов длительного космического полета на женскую репродуктивную систему, на последующую возможную реализацию репродуктивной функции и здоровое долголетие. Кроме того, результаты исследования могут быть важны для анализа фундаментальной роли силы тяжести в эволюции репродуктивной системы и, в целом, вида, что может быть актуально при рассмотрении возможности создания обитаемых баз на других телах Солнечной системы.

Полученные данные о неизменности менструального цикла и наличии овуляции косвенно свидетельствуют о возможности нормального функционирования женской репродуктивной системы в условиях длительного космического полета, что снижает настороженность в отношении гормонального дисбаланса при увеличении длительности пребывания в условиях невесомости.

В то же время, снижение содержания ЛГ и прогестерона в раннюю фолликулярную фазу в период реадaptации формирует настороженность в вопросе поддержания имплантации при реализации репродуктивной функции после космического полета.

Интенсификация клеточного дыхания, увеличение толщины слоя клеток гранулезы у мышей и диаметра растущих фолликулов у женщин в результате действия реальной или симулированной невесомости являются положительными прогностическими критериями качества созревающих ооцитов.

Анализ влияния симулированной невесомости, созданной путем экспозиции в условиях «сухой» иммерсии, показал, что от фазы менструального цикла, на которую приходится начало экспозиции, зависит конечный эффект воздействия, который может проявляться либо увеличением количества антральных фолликулов, либо увеличением диаметра доминантного фолликула. В результате этого анализа, разработан

метод немедикаментозной овариальной стимуляции, основанный на воздействии моделируемой невесомости на клетки гранулезы, в рамках которого реализуется метод индивидуального подхода к стимуляции яичников в зависимости от дня менструального цикла при различных гинекологических патологиях. Данный метод защищён Евразийским патентом №047544 «Способ немедикаментозной овариальной стимуляции», свидетельствующий в пользу того, что полученные результаты потенциально могут быть использованы для разработки новых подходов во вспомогательных репродуктивных технологиях, поддержания здоровья женской репродуктивной системы, а также профилактики и лечения гинекологических заболеваний.

Положения, выносимые на защиту:

- У женщины-космонавта, в условиях 157-суточного космического полета не было нарушений менструального цикла и сохранялась овуляция. В послеполетный период не было выявлено клинически значимых изменений репродуктивной системы, однако отмечали снижение ЛГ и прогестерона в крови в раннюю фолликулярную фазу, снижение числа малых антральных фолликулов и увеличение среднего диаметра в когорте больших антральных фолликулов, сопровождавшееся увеличением концентрации ингибина В.
- Экспозиция в условиях 5-суточной «сухой» иммерсии приводит, в среднем по выборке испытуемых, к снижению ЛГ и прогестерона в раннюю фолликулярную фазу, увеличению диаметра доминантного фолликула и возрастанию ингибина В. Начало экспозиции в средне-фолликулярную фазу приводит к увеличению количества антральных фолликулов в следующем менструальном цикле, в позднюю фолликулярную фазу – к возрастанию диаметра доминантного фолликула.

- После 96-часового антиортостатического вывешивания самок-мышей увеличивается толщина слоя клеток гранулезы вокруг ооцитов в фолликулах, интенсифицируется клеточное дыхание ткани яичников, не меняется содержание ЛГ в гипофизе, но уменьшается относительное содержание цитоскелетных белков, необходимых для секреции.

Личный вклад автора. Основные результаты диссертационной работы получены лично автором. Автор принимал непосредственное участие в подготовке и проведении всех представленных в работе экспериментов. Обработка данных и подготовка результатов к публикации в рецензируемых журналах проводилась лично автором, тогда как тексты публикаций были подготовлены совместно с соавторами.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы докладывались на российских и международных конференциях и съездах, в том числе: XLVII Академические чтения по космонавтике, посвященные памяти академика С.П. Королева и других выдающихся отечественных ученых – пионеров освоения космического пространства «Королёвские чтения», 2023, Москва, Россия; VII Съезд биофизиков России, 2023, Краснодар, Россия; 42nd Annual International Gravitational Meeting, 2023, Antwerpen, Belgium; XVIII Конференция по космической биологии и авиакосмической медицине, 2023, Москва, Россия; XLVIII Академические чтения по космонавтике, посвященные памяти академика С.П. Королева и других выдающихся отечественных ученых – пионеров освоения космического пространства «Королёвские чтения», 2024, Москва, Россия; 43rd Annual International Gravitational Meeting, 2024 Dubai, UAE; VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы, 2024, Саратов, Россия; XLIX Академические чтения по космонавтике, посвященные памяти академика С.П. Королева и других выдающихся отечественных ученых – пионеров освоения космического пространства «Королёвские чтения», 2025, Москва,

Россия; VIII Съезд физиологов СНГ, 2025, Сочи, Россия; 44th Annual International Gravitational Meeting, 2025 Sapporo, Japan; XXXVIII Международный конгресс с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний», 2025, Москва, Россия; XVIII Региональный научно-образовательный форум «Мать и Дитя» и Пленум Правления РОАГ, 2025, Санкт-Петербург, Россия; XXXV Ежегодная международная конференция РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра», 2025, Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия.

Результаты диссертации опубликованы в 21 печатной работе, в числе которых 6 статей в российских и международных рецензируемых журналах из перечня журналов ВАК РФ (K1, K2) и баз данных Scopus/Web of Science, 14 тезисов докладов на научных конференциях и 1 патент.

Объем и структура диссертации

Работа включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение результатов и их обсуждение, а также выводы. Диссертационная работа изложена на 123 страницах, содержит 30 рисунков, 4 таблицы и список цитируемой литературы из 123 источника.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Фолликулогенез

1.1.1 История изучения

Функционирование репродуктивной системы тесно связано с процессом фолликулогенеза в яичниках. При этом, большая часть современных знаний о функции яичников получена из исследований, проведенных на животных моделях, таких как приматы, сельскохозяйственные животные и грызуны, так Пинкус изучал оогенез млекопитающих в 1936 году (Pincus G., 1936). С тех пор было получено много новых данных о процессах созревания яйцеклеток и его регулирования, взаимодействиях между яйцеклетками, гранулезными клетками и организации самих яйцеклеток. Ранние исследования развития фолликулов у женщин проводились с применением гистологического анализа тканей яичников, полученных после смерти или хирургического удаления. Благодаря проведенным исследованиям определили, что полная продолжительность фолликулогенеза у человека, от примордиального фолликула до преовуляторной стадии, составляет примерно 175 дней (Gougeon A., 1986), процессы фолликулогенеза начинают иницироваться еще внутриутробно уже на четвертом месяце внутриутробной жизни (Baker T., 1963). Число фолликулов, входящих в резерв, оценивается в 7 миллионов на 20-й неделе беременности (Baker T., 1963). Наибольшее количество примордиальных фолликулов теряется в результате апоптоза в последние месяцы внутриутробного развития. К менархе в яичниках девочки насчитывается 260 000–450 000 примордиальных фолликулов. Из них в течение жизни могут достигать овуляции только около 400–500, остальные подвергаются атрезии на различных стадиях развития (Westergaard L. G. et al., 2001).

Гистологические исследование тканей яичников предоставили достаточно обширные микроскопические данные о структуре и функциональном состоянии фолликулов в определённый момент времени, используя и по сей день, они тем не менее остаются инвазивными и исключают возможность проведения наблюдений в динамике. За последние 60 лет гистологические методы были дополнены новыми неинвазивными методами диагностики функции яичников у женщин. (Baerwald A.R. et al., 2012). Только в конце 1979 года после появления трансабдоминальной ультразвуковой диагностики стала доступна визуализация роста и регресса фолликулов. В конце 1980 года стали использовать трансвагинальные датчики в ультразвуковой диагностике, что позволило, визуализировать антральные фолликулы размером от 2 мм, одновременно появились работы, посвящённые динамике роста отдельно взятых фолликулов. Тем не менее данных, получаемых в рамках ультразвуковой диагностики все еще недостаточно для полной оценки репродуктивной функции: в частности, измерения размера фолликулов (т.е. диаметра, объема) сами по себе представляют только ограниченную информацию не позволяя объяснять наблюдаемые эффекты. Однако доплеровские ультразвуковые измерения кровотока и данные КТ могут предоставить более обширную информацию о физиологических аспектах функции яичников.

1.1.2 Классы фолликулов, стадии фолликулогенеза

Gougeon A. Выделил 8 классов фолликулов (Gougeon A. 2010), в которых:

- 1-й класс - преантральный фолликул, размерами 0,1–0,2 мм
- 2-й класс - ранний антральный фолликул, размерами 0,2–0,4 мм
- 3-й класс - размер фолликула 0,5–0,9 мм
- 4-й класс - размер фолликула 0,9–2,0 мм
- 5-й класс - антральный фолликул, размерами фолликула 2–5 мм

6-й класс - большой антральный (графов) фолликул, размерами 5 -10 мм

7-й класс - ранний доминантный фолликул, размерами 10–16 мм

8-й класс - предовуляторный (доминантный) фолликул, размерами 16–20 мм

При этом тот же автор выделил 4 стадии фолликулогенеза:

1 стадия - стадия инициации примордиальных фолликулов

2 стадия - стадия раннего фолликулярного роста (развитие преантральных фолликулов)

3 стадия - стадия отбора и роста антральных фолликулов (5,6 класс фолликулов) (1-4 класс фолликулов)

4 стадия - стадия созревания предовуляторного фолликула (7,8 класс фолликулов) (Рис.1)

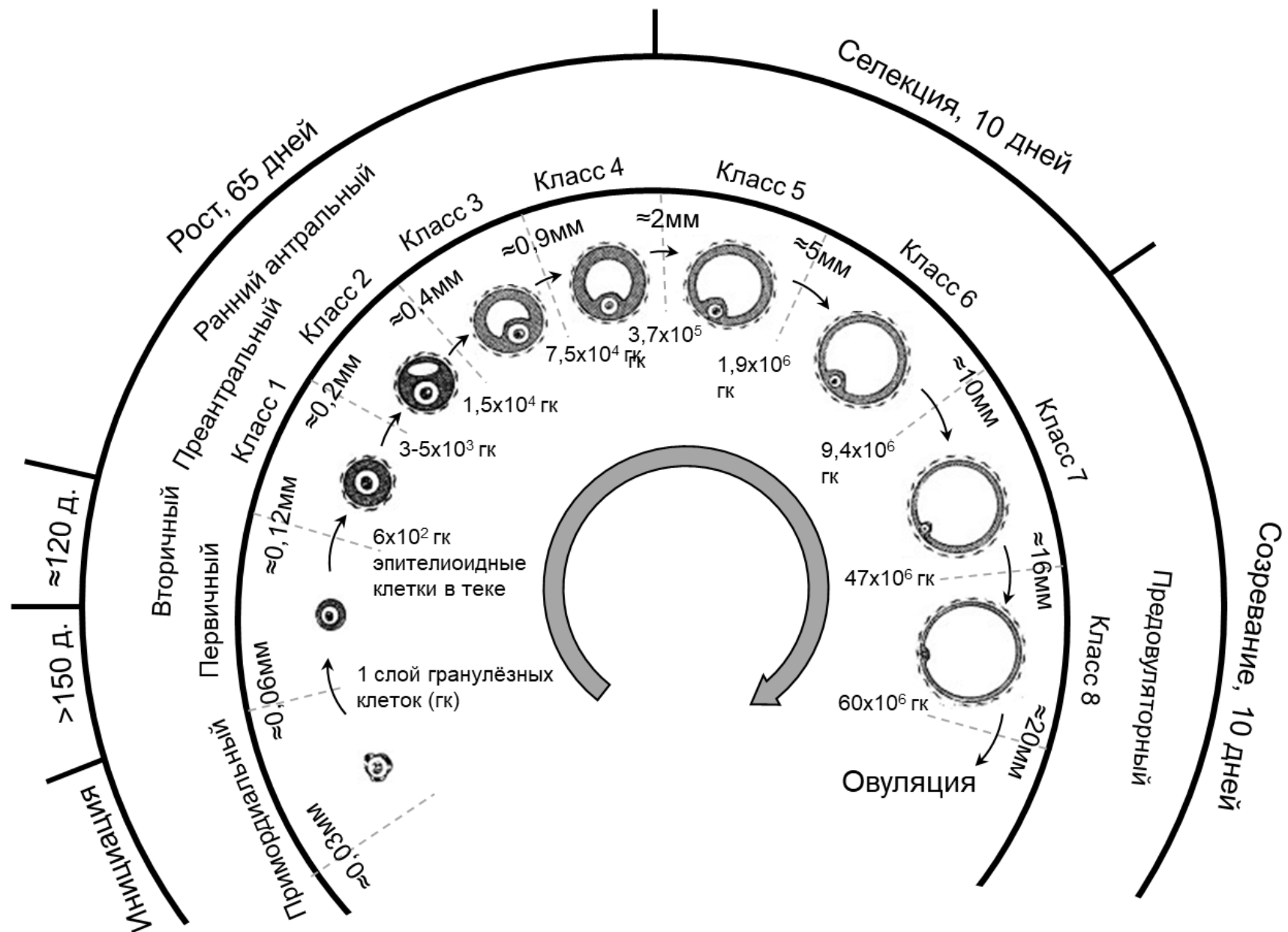


Рисунок 1. Стадии созревания фолликулов человека. Адаптировано из Gougeon A., 2010.

Если говорить о росте фолликула, то существует три фазы роста, а именно: первая фаза, гормонально-нечувствительная, так как рост фолликула не зависит от гормона ФСГ во время фазы роста от примордиального до преантрального фолликула. Длительность такой фазы достаточно велика и может занимать до 120 дней. Далее наступает гонадотропин-чувствительная (гормонально-чувствительная) фаза роста, которая подразумевает под собой фазу развития от преантрального фолликула. Следующая стадия начинается с роста антрального фолликула и происходит под воздействием гонадотропных гормонов: ФСГ (фолликулостимулирующего гормона) и ЛГ (лютеинизирующего гормона). Данная стадия подразумевает под собой селекцию фолликула, из которой произойдет выборка доминантного фолликула.

Из-за продолжительности фазы роста фолликул претерпевает значительные изменения уровня воздействия различных гормонов. Такое циклическое гормональное воздействие может влиять на фолликул, станет ли он дальше развиваться и превратится в доминантный фолликул, либо же произойдет его атрезия. При анализе количества преантральных фолликулов на протяжении менструального цикла, обнаруживают, что их количество более или менее постоянно. Это может подразумевать, что попадание фолликулов в этот класс происходит непрерывно на протяжении всего менструального цикла. Таким образом можно говорить о наличии последовательности волн или групп растущих фолликулов во время менструального цикла.

1.1.3 Рост и развитие примордиальных фолликулов

Примордиальные фолликулы являются основными репродуктивными единицами яичника. Переход от состояния покоя до стадии роста называется рекрутированием, или активацией.

Гистологически примордиальный фолликул содержит незрелый ооцит ($d = 20\text{--}25$ мкм), находящийся на стадии профазы 1 мейоза,

окруженный одним слоем плоских гранулезных клеток, тесно соединенных с ооцитом и базальной мембраной.

Развитие и рост примордиальных фолликулов осуществляется благодаря взаимообусловленным воздействием цитокинов и факторов роста между ооцитом и клетками гранулезы. Клетки гранулезы экспрессируют фактор стволовых клеток (SCF), фактор роста фибробластов-2 (FGF-2) и лейкоингибирующий фактор (LIF) (Nobrega J.J. et al., 2012; Van den Hurk R. et al., 2005) в то время как клетки теки и ооциты синтезируют фактор роста фибробластов-7 (FGF-7), и тем самым способствуют развитию примордиального фолликула (Kezele P. et al., 2005). Так же клетки гранулезы продуцируют антимюллеров гормон (АМГ), который в свою очередь ингибирует переход примордиальных фолликулов в первичные фолликулы. Высокая концентрация CDF-9 (фактор дифференцировки клеток) в клетках гранулезы способствует их высокой митотической активности и экспрессии инсулиноподобного фактора роста I (IGF-I). Более низкая концентрация CDF-9 вызывает экспрессию рецептора к лютеинизирующему гормону (ЛГ), что негативно отражается на развитии фолликулов. (Андреева Е.А., и др. 2017)

1.1.4 Рост и развитие преантрального фолликула

В преантральном фолликуле происходит дальнейшая пролиферация кубических гранулезных клеток, происходит увеличение числа слоев клеток гранулезы, внутри от базальной мембраны формируются клетки теки интерна, снаружи – теки экстерна. В регуляции преантрального фолликулогенеза наибольшая роль отводится факторам GDF9 и BMP15 (Juengel J.L. et al., 2004). Оба фактора вырабатываются ооцитами, стимулируют пролиферацию клеток гранулезы и развитие теки. Так же в растущих фолликулах формируется блестящая оболочка между плазматической мембраной ооцита и внутренним слоем гранулезных клеток. В отличие от примордиальных фолликулов, в преантральных

фолликулах обнаружены рецепторы ФСГ, и по мере роста фолликулы становятся все более гонадотропин чувствительными. Увеличение количества рецепторов ФСГ стимулируется повышением роста уровня ФСГ, активин, трансформирующим фактором роста бета (TGF- β) и цАМФ (Findlay J.K. et al., 1999). В фолликулах между гранулезными клетками и ооцитом развиваются межклеточные связи, создавая большую поверхность для диффузии. Щелевые контакты, межклеточные белковые каналы, обеспечивают диффузию регуляторных и питательных веществ между соседними клетками.

1.1.5 Рост антральных фолликулов

Формирование пула антральных фолликулов — гормонально зависимая стадия фолликулогенеза, которая регулируется ФСГ. На данном этапе происходит селекция фолликулов и последующая селекция доминантного фолликула (Dumesic D.A. et al., 2015). В следующей стадии в антральном фолликуле формируется полость, заполняющаяся фолликулярной жидкостью, происходит дальнейшее увеличение теки, что сопровождается образованием многочисленных мелких кровеносных сосудов. На клетках теки антрального фолликула, присутствуют рецепторы к ЛГ и инсулину.

В антральном фолликуле выделяют два типа гранулезных клеток: муральные, расположенные на стенке фолликула, и кумулюсные, окружающие ооцит.

Во время данной фазы стимулируется экспрессия генов рецепторов к ФСГ, но типы гранулезных клеток имеют различную реакцию на стимуляцию ФСГ, тем самым влияя на стероидогенез и экспрессию рецепторов ЛГ. На этой стадии роста фолликулов осуществляются этапы синтеза гормонов из холестерина. В дальнейшем холестерин преобразуется в прегненолон, трансформируется в прогестерон, далее переходит в андростендион. В клетках теки андростендион превращается в тестостерон.

В клетках гранулезы андростендион под действием ароматазы трансформируется в эстрон, а тестостерон – в эстрадиол (Ganesan S. et al., 2020)

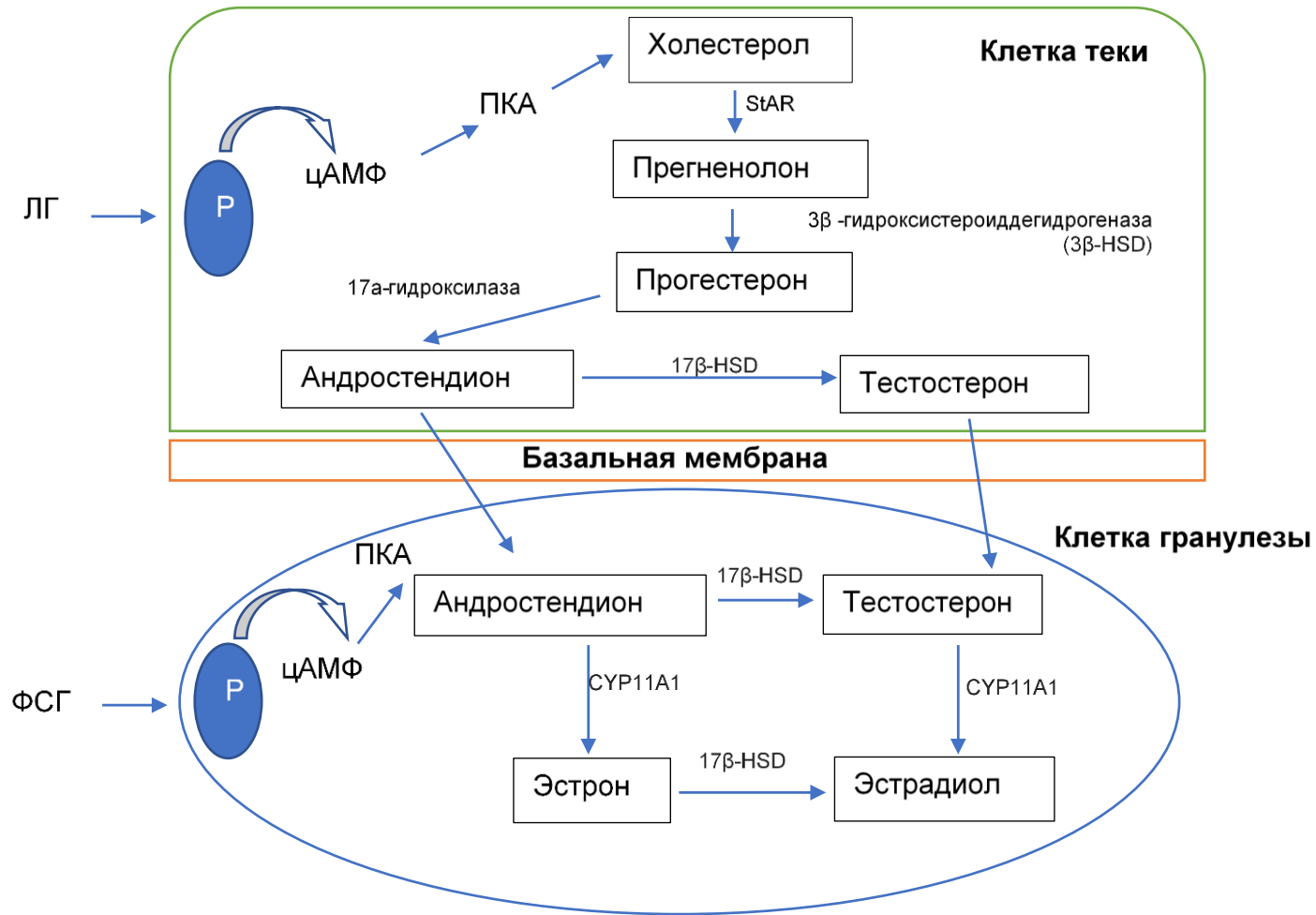


Рисунок 2. цАМФ – циклический аденозинмонофосфат; Р – рецепторы; StAR - белок острого стероидогенного ответа; PKA- Протеинкиназа А, 17 β -HSD- 17 β -гидроксистероиддегидрогеназа.

1.1.6 Селекция доминантного фолликула

В первую неделю фолликулярной фазы сохраняется высокая концентрация ФСГ, что способствует росту фолликула и способствует механизму селекции доминантного фолликула. По мере роста фолликула за счет стимуляции ФСГ и увеличения уровня эстрогенов приходит в действие механизм обратной связи – тормозится продукция ФСГ, что ведет к уменьшению ароматазной активности фолликула и что приводит к невосприимчивости преантральных и ранних антральных фолликулов к ФСГ, способствуя атрезии фолликулов. Гранулезные клетки начинают вырабатывать ингибин А, который также снижает уровень ФСГ, что также способствует атрезии фолликулов (Gougeon A., 2010). Доминантный фолликул приобретает способность реагировать на выброс ЛГ/ФСГ.

1.1.7 Овуляция

Процесс овуляции характеризуется разрывом стенки доминантного фолликула и выходом ооцита. Во время овуляции происходит формирование аваскулярной области в месте будущего разрыва. Данный процесс можно рассматривать как воспалительную реакцию, для которой характерен приток лейкоцитов, продуцирующих протеазы, которые способствуют разрушению стенки фолликула. Овуляции предшествует предовуляторный выброс ЛГ, который происходит за 36 ч до самой овуляции, после чего уровень эстрогенов быстро снижается. После всплеска ЛГ ооцит возобновляет мейоз и переходит от профазы 1 к метафазе 2 во время овуляции (Gougeon A., 2010). После овуляции происходит увеличение гранулезных клеток, в них формируются полости, в которых накапливается лютеин и таким образом образуется желтое тело. Желтое тело вырабатывает прогестерон и эстрадиол в течение первой недели лютеиновой фазы. Уровень прогестерона достигает максимума примерно на 8 день после овуляции. Если беременность не наступает, желтое тело

дегенерирует путем лютеолиза с образованием белого тела. Уровни эстрогена и прогестерона падают и начинается новый менструальный цикл. Таким образом, регрессия желтого тела ведет к снижению уровня эстрадиола, прогестерона и ингибина. Снижение уровня ингибина снимает его подавляющее влияние на ФСГ; снижение эстрадиола и прогестерона позволяет очень быстро восстановить секрецию ГнРГ и убрать механизм обратной связи с гипофиза. Снижение уровней ингибина и эстрадиола совместно с увеличением ГнРГ дает превалирование ФСГ над ЛГ. Увеличение уровня ФСГ приводит к росту фолликулов с последующим выбором доминантного фолликула, и начинается новый цикл – и в том случае, если не наступила беременность (Сидельникова В. М., 2007).

Таким образом, рост и развитие антрального фолликула, его превращение в доминантный – гормонально зависимые процессы, определяющие в частности качество яйцеклетки, а в целом - возможности реализации репродуктивной функции. Причем, на разных этапах созревания фолликула основную роль играют и гонадотропные гормоны, и гормоны, вырабатываемые клетками гранулёзы. Иными словами, для объяснения изменений в фолликулах необходимо учитывать изменения и в клетках гранулёзы, и в клетках гипофиза.

1.2 ФАКТОРЫ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЁТА, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ

Организм наиболее приспособлен к тем окружающим условиям, в которых он живёт и развивается. Изменение этих условий обычно влияет на выживаемость вида, как минимум, на некотором временном промежутке, во время которого происходит адаптация к новым условиям. Причем, одна из стратегий выживания подразумевает миграцию в ареал с условиями наиболее похожими на прежние. С другой стороны, медленные, квазистационарные изменения могут индуцировать эволюцию вида наряду с естественным отбором. Резкие же изменения часто приводят к гибели

большей части популяции вида. Кроме того, известные условия и биоразнообразие формируют образ живых организмов и среду их существования, чьи критерии были заложены в поисковые миссии такие как Kepler, 2009-2018гг., США. Вместе с тем, исследователи-астробиологи планируют поиски каких-то форм жизни в принципиально иных условиях, как например на спутниках Сатурна и Юпитера. Понимание механизмов приспособления живых организмов к меняющимся внешним условиям поможет с одной стороны предсказать возможный облик жизни, существующей во внеземных условиях, с другой – решить задачу адаптации, лечения и профилактики заболеваний, вызванных пребыванием в экстремальных условиях на Земле, а также научиться лучше понимать механизмы приспособляемости живых организмов, что может быть применено в самых разных отраслях.

На данный момент, одна из наиболее чуждых сред для земных организмов та, с которой они сталкиваются во время космического полёта. Выделяют широкий спектр действующих факторов, однако чаще всего в качестве основных, влияющих на большинство систем организма, выделяют радиацию и невесомость. Под радиацией чаще всего понимают космическое излучение, представленное потоком высокоэнергетических заряженных частиц, источником которых может быть Солнце и центры галактик, включая центр нашей галактики. Такое ионизирующее излучение приводит к достаточно хорошо изученным последствиям для живого организма, исследование которых ведётся уже более 50 лет, считая масштабный «Хронический эксперимент». Несмотря на то, что многие сигнальные пути и каскады реакций всё ещё изучены не полностью, в целом, ионизирующее излучение приводит к повреждениям в биологических макромолекулах, в том числе в ДНК, индуцирует образование радикалов, нарушающих нормальное течение биохимических реакций и вызывает некоторые другие эффекты (Bright S., Kadhim M., 2018). Другая серьезная проблема заключается в том, что галактическая космическая радиация, которой будут

подвергаться космонавты, выходя за пределы магнитосферы Земли, может оказать негативное влияние на функцию ЦНС. Исследования на грызунах указывают на потенциальное разрушительное воздействие космической радиации на целостность гематоэнцефалического барьера и структуры мозга (Seidler R.D., et al. 2024)

Вместе с тем, эффекты действия невесомости обнаружить намного сложнее из-за отсутствия очевидных мишеней и деструктивного действия, и последствия, вызванные именно пребыванием в состоянии невесомости намного сложнее отследить. Одним из наиболее важных эффектов, приводящих к мультисистемному ответу, называют сдвиг жидкостей в краниальном направлении. Так, например, у человека краниальное смещение жидкости, вызванное невесомостью, приводит к расширению желудочков, смещению мозга в черепной коробке вверх и перестройке серого и белого вещества. Эти изменения коррелируют с изменениями периваскулярного пространства и нервно-глазным синдромом, связанным с космическим полетом. Микрогравитация изменяет вестибулярную обработку наклона головы и приводит к снижению тактильных и проприоцептивных ощущений во время космического полета. Сенсорная адаптация отражается на послеполетных эффектах, проявляющихся в кратковременных сенсомоторных нарушениях (Seidler R.D. et al. 2024).

Изменения в печени так же приписывают действию невесомости, к ним относят повреждения печени и воспаление, связанные с апоптозом и окислительным стрессом, изменения углеводного обмена в печени, приводящие к возникновению диабетогенного фенотипа, изменения липидного обмена в печени, приводящие к ранней неалкогольной жировой болезни печени, и изменение механизма биотрансформации ксенобиотиков (Vinken M., 2022).

Многими исследователями показана также подверженность влиянию факторов космического полёта эндокринной системы. В частности, Stein T.P. et al показал в рамках 2 полётов шаттлов, что динамика различных

гормонов охватывает весь возможный спектр изменений, причём возможно наблюдать отсроченный эффект увеличения уровня, например, адренокортикотропного гормона (АКТГ) в послеполётный период, в то время как во время полёта его уровень не отличался от предполётного (Stein T.P. et al., 1999)

В то же время (Macho L. et al., 2001) показали, при морфологическом исследовании гипофиза крыс после космического полета (>14 дней) повышенную активность кортикотропинов. Однако уровень АКТГ в плазме крови крыс не был повышен через 6 часов после космического полета. Эти изменения уровня гормонов в плазме крови влияли на активность ферментов, участвующих в метаболизме аминокислот в печени и липолизе в жировой ткани. После космического полета уровень тестостерона и трийодтиронина в плазме крови снизился, что свидетельствовало о подавлении активности щитовидной железы и половых желез. После космического полета у крыс было обнаружено повышение уровня инсулина и глюкозы в плазме крови, но уровень глюкагона не изменился. Сравнение этих результатов у крыс после космического полёта, с животными, подвергавшимися острому или повторному стрессу, показывает, что длительное пребывание в условиях микрогравитации не является очень интенсивным стрессогенным стимулом для коры надпочечников и симпатoadреномедуллярной системы, а гормональные изменения, наблюдаемые после космического полета, могут быть вызваны острым гравитационным стрессом, возникающим в результате возвращения к земной гравитации.

Более поздняя работа Strollo F. (Strollo F. et al., 2022), посвящённая проблеме ухудшения процесса ранозаживления в условиях космического полёта, так же связывает этот эффект с нарушением гормональной функции. Конкретно, данные исследователи предположили, что связь инсулинорезистентности и ухудшения заживления ран обусловлена некоторыми дисметаболическими состояниями, такими как

метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа и абдоминальное/висцеральное ожирение, при которых нарушение метаболизма глюкозы и липидов, усиление воспаления низкой степени выраженности, изменение секреции адипокинов и дисфункция адипоцитов приводят к системным эффектам, которые негативно сказываются на состоянии здоровья, в частности на заживлении ран.

Репродуктивная система – одна из систем организма, для которых нормальная работа гормонов критически важна. В условиях космического полета и в модельных экспериментах количество зрелых сперматозоидов в придатке яичка уменьшается, а в условиях имитируемой невесомости это уменьшение более выражено (Серова Л.В. и др., 1982; Serova L.V. et al., 1989; Merrill A.H. et al., 1992, Amann R.P. et al., 1992). Более того, количество клеток-предшественников, сперматогоний, уменьшается в семенных канальцах крыс после 13-14-дневных космических полетов спутников "КОСМОС 1887" (Sapp W.J. et al., 1990) и "КОСМОС 2044" (Amann R.P. et al., 1992). Из источников известно о влиянии невесомости на беременных самок крыс, находившихся в условиях космического полета в течение 5 дней с 13 по 18 день беременности, после воздействия невесомости наблюдалась задержка в наборе массы, снижение массы печени и концентрации гемоглобина. В результате эксперимента обнаружили, что плод крысы, подвергшийся влиянию невесомости в конце беременности, может нормально расти и развиваться (Серова Л.В. и др., 1985). При сравнении данных, полученных в результате эксперимента, во время которого беременные самки крыс подвергались воздействию факторов космического полета в течение 11 дней с 9 по 20 дни беременности и данных аналогичного эксперимента полета спутника "КОСМОС 1514", оказалось, что не было выявлено достоверных структурных изменений в плоде в результате увеличения продолжительности полета (Серова Л.В. и др., 1996). Согласно данным радиационной дозиметрии, этот эффект снижения не в полной мере связан с ионизирующим излучением (Sapp W.J. et al., 1990). С другой

стороны, снижение концентрации тестостерона наблюдается при кратковременном пребывании в невесомости (Deaver D.R. et al., 1992; Hadley J.A. et al., 1992), но этот эффект становится значительным, когда концентрация гормона снижается более чем на 70% (Zirkin B.R. et al., 1989). Однако антиортостатическое вывешивание мышей B6D2F1 в течение 7 дней приводило к менее резкому снижению уровня тестостерона в сыворотке крови, но нарушало сперматогенез. Доля подвижных сперматозоидов в разных группах не различалась, но средняя скорость передвижения была статистически значимо снижена у вывешенных мышей (Kamiya H. et al., 2003).

Важно так же отметить, что влияние факторов космического полёта, в частности невесомости, реализуется не только целиком в ткани, но и на уровне отдельных клеток (Ogneva I.V., 2022). В этой же работе отмечено, что эффекты действия невесомости проявляются как в соматических клетках, так и в гаметах, как в полностью дифференцированных клетках, так и в плюрипотентных.

Предложенный Ogneva I.V. (2022) механизм способен описывать не только явления, наблюдаемые в невесомости, но также и те, что имеют место при перегрузках, что оказывается немаловажным в виду, например, динамики космического полёта, особенно во время взлёта и посадки. Влияние перегрузок отмечено и другими исследователями. В работе Casey et al. (Casey T. et al., 2012) отмечается, например, кратное снижение окисления глюкозы в условиях перегрузок в тканях молочных желез и в ткани печени крыс вместе с рядом других эффектов.

Те же авторы (Casey T. et al., 2015) предполагают, что изменения в силе тяжести повлияли на экспрессию генов, которые регулируют циркадные ритмы и активируют пути механотрансдукции. Изменения в этих системах могут объяснить глобальные изменения экспрессии генов в иммунном ответе, метаболизме и пролиферации клеток. Изменённые механические условия повлияли на экспрессию генов, которые

модифицируют структуру хроматина и метилирование, что позволяет предположить, что адаптация к изменениям силы тяжести может происходить путем эпигенетических изменений.

1.3 СПОСОБЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ НЕВЕСОМОСТИ

1.3.1. Антиортостатическая гипокинезия

Одной из самых простых моделей, симулирующих эффекты действия невесомость, оказывается антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) (Рис. 3). Подход заключается в иммобилизации испытуемого на кушетке, наклонённой на 6° к горизонтали, причем голова оказывается в нижней точке. Таким образом, достигается отсутствие опорной стимуляции стопы, сдвиг физиологических жидкостей в краниальном направлении, а также отсутствие необходимости поддерживать позу постуральными мышцами, те эффекты, которые считаются ответственными за запуск ряда негативных изменений в человеческом организме. Стоит так же отметить, что, изменяя угол наклона, можно имитировать силу притяжения, действующую на небесных телах с гравитацией меньше земной, а не только гравитационную разгрузку.

Эту модель использовали для изучения состояния женской репродуктивной системы (Morgan J.L. et al., 1985), но полученные данные очень немногочисленны и противоречивы. После 17-суточного пребывания в условиях АНОГ не было изменения длины менструального цикла (Koryak Y.A. et al., 2014). В другом исследовании, авторы отмечали недостаточность лютеиновой фазы у 3 из 12 испытуемых путем измерения содержания прогестерона (Holt J.A. et al., 2016). Однако, несмотря на то, что в комплексных экспериментах с гипокинезией участвуют женщины-испытуемые (Frett T. et al., 2020; Navasiolava N.M. et al, 2011; Watenpaugh D.E. et al., 2016; Tomilovskaya E. et al., 2019), репродуктивная система не является основным приоритетом.

1.3.2 «Сухая» иммерсия

Моделью, которая наиболее близко подходит к симуляции эффектов невесомости, вероятно, можно назвать «сухую» иммерсию. Суть метода заключается в погружении тела испытуемого в жидкость, воду, без непосредственного контакта с ней. Взаимная компенсация силы тяжести и выталкивающей силы воды (силы Архимеда), действующих на тело, приводит к тому, что человек плавает. Изоляцию от непосредственного соприкосновения с жидкостью обеспечивает прочная высокоэластичная ткань. Кроме того, вода в иммерсионной ванне постоянно поддерживается определённой температуры (порядка 34°C) во избежание возникновения эффектов, вызванных перегревом, или переохлаждением тела, т.к. ткань, обеспечивающая барьер не является полностью теплоизолирующей (Шульженко Е.Б., Виль-Вильямс И.Ф., 1976). (Рис.4)

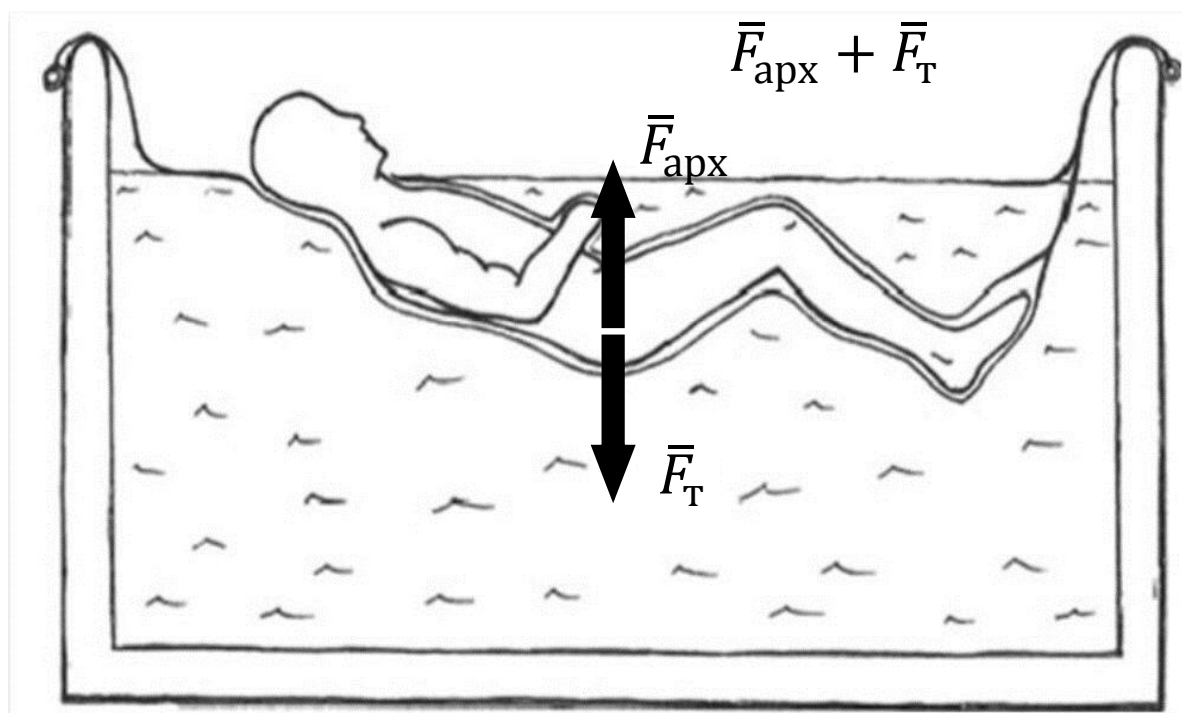


Рисунок 4. Основные силы действующие на тело человека в иммерсионной ванне (адаптировано из Kulchitsky V.A. et al., 2010)

Хотя данное состояние не является состоянием невесомости, эффекты, имеющие место, после пребывания в условиях «сухой» иммерсии

повторяют физиологические эффекты, наблюдаемые у космонавтов во время и после космического полёта (Navasiolava N.M. et al., 2011), в частности отмечают влияние на нервно-мышечную и сенсомоторную системы, водно-электролитную регуляцию, сердечно-сосудистую систему, обмен веществ, кровеносную и иммунные системы, дыхание и терморегуляцию (Linossier M.T. et al., 2022; Tomilovskaya E. et al., 2021). Вместе с этим, так же как и в случае с АНОГ исследованиям репродуктивной системы, в частности женской, внимание почти не уделялось, так первая сухая иммерсия с участием женщин как испытуемых длительностью 3 суток состоялась лишь в 2020 году (Tomilovskaya E. et al., 2021).

Несмотря на наличие подходов, моделирование эффектов невесомости в наземных экспериментах на человеке оказывается трудоёмкой задачей. Причем решение этой задачи предоставляет относительно небольшой объём данных, требующих тщательной статистической обработки и осторожной интерпретации, что вызвано высокими индивидуальными различиями между испытуемыми. Поэтому наряду с перечисленными методами существует набор подходов для моделирования условий действия невесомости на более классических объектах исследования: культурах клеток и животных.

1.3.3 Антиортостатическое вывешивание

Отдельной задачей оказывается моделирование условий невесомости на высших животных, в том числе, грызунах. Чтобы сделать возможным изучение механизмов, реакций и методов профилактики неблагоприятных последствий космического полета Ильином-Новиковым была разработана модель разгрузки задних конечностей грызунов, которая затем была модифицирована Морей-Холтон (Novikov V.E., Ilyin E.A. 1981; Morey-Holton E. et al., 2005) (Рис.5). В ряде исследований было показано, что

данная модель даёт результаты, сопоставимые с реальным космическим полётом (Morey-Holton E. et al., 2005; Ray C.A. et al., 2001; Sayet I. et al., 1995), а также позволяет проводить исследования, которые невозможно осуществить на человеческом организме по этическим соображениям, что делает её хорошей моделью для исследования эффектов микрогравитации в наземных условиях (Globus R.K. et al., 2016). Исследуемое животное помещают в специальную клетку, которая позволяет подвесить его за хвост, чтобы задние конечности не касались опоры. При этом, с помощью передних конечностей животное способно передвигаться по клетке. Угол расположения тела животного обычно не превышает 30°. Так достигается безопорность задних конечностей, причем, для мышц голени состояние оказывается практически состоянием невесомости. Вместе с тем, из-за антиортостатического положения можно наблюдать эффекты характерные для АНОГ, т.е. изменения затрагивают не только мышцы голени задних конечностей, но и многие другие системы организма. Распространённой претензией к данному методу высказывают возможное наличие стресса у животных из-за пребывания в нехарактерном положении, несмотря на то, что многие исследователи, в том числе Ogneva I.V. et al. (2014) показали, что уровень гормона стресса, в целом, достоверно не отличается от контрольных значений.

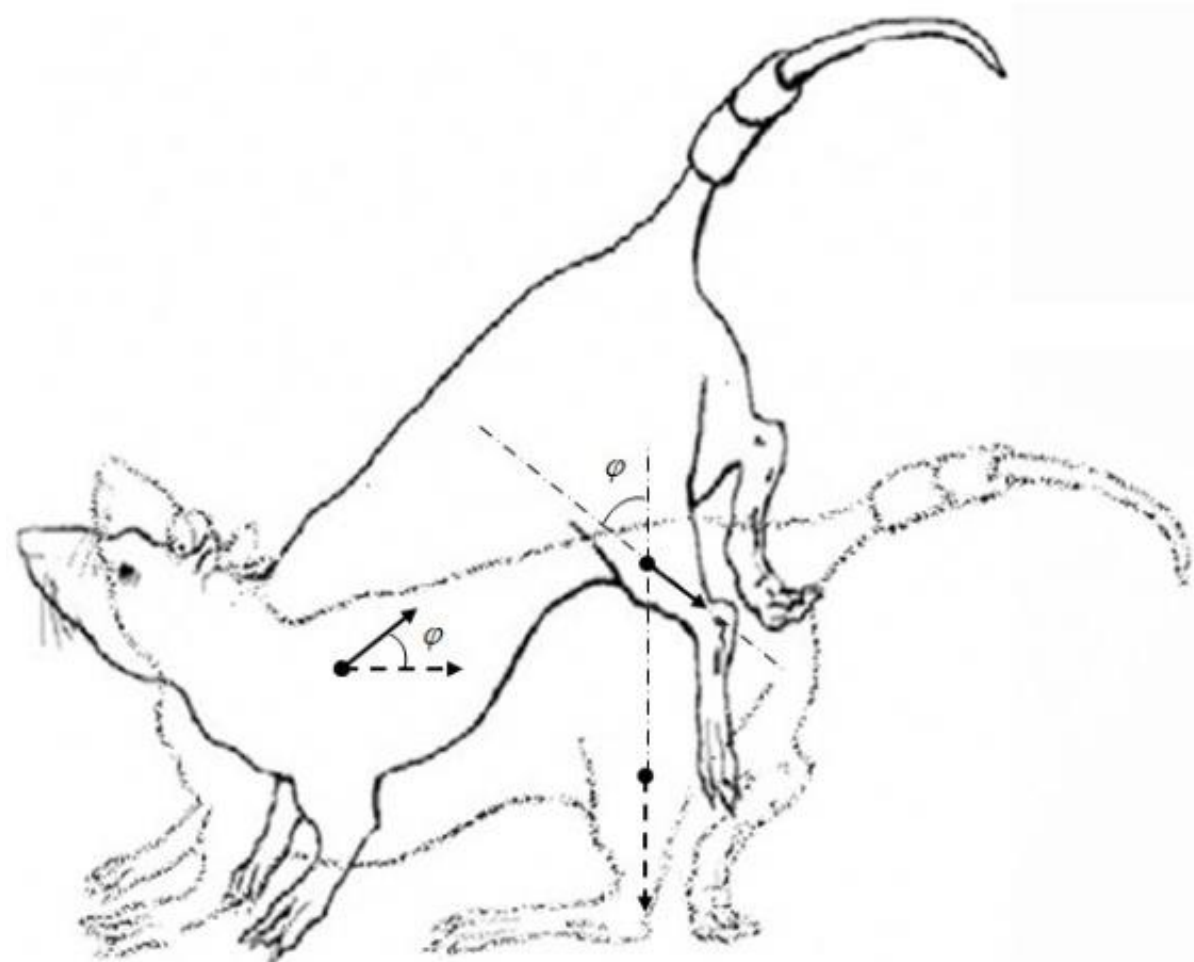


Рисунок 5. Антиортостатическое вывешивание по методу Ильина-Новикова, в модификации Морей-Холтон (Ogneva I.V., Biryukov N.S., 2013).

Большинство эффектов в живом организме, наблюдаемых после космического полёта, связывают со сдвигом физиологических жидкостей в краниальном направлении. В то же время показано, что даже переориентация клетки в поле силы тяжести приводит к аналогичным эффектам. Существующие наземные модельные подходы, в целом повторяют, эффекты пребывания в невесомости. Таким образом, изменения, произошедшие в рамках пилотируемого космического полёта, могут быть повторены и более подробно изучены на человеке с использованием метода «сухой» иммерсии, а на животных - при помощи антиортостатического вывешивания.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач мы провели 3 эксперимента.

2.1 КОСМИЧЕСКИЙ ПОЛЕТ

Полет женщины-космонавта, 38 лет, специалиста полета в составе экипажа миссии SpaceX Crew-5 и бортинженера экспедиций МКС-68 / МКС-69 стартовал на американском частном многоразовом космическом корабле Crew Dragon «Endurance» компании SpaceX, который был выведен на орбиту с помощью тяжёлой ракеты-носителя Falcon 9 со стартового комплекса 39А Космического центра имени Джона Ф. Кеннеди к Международной космической станции 5 октября 2022 г. Корабль успешно состыковался с узловым модулем Harmony американского сегмента МКС 6 октября. Описываемый полёт был первым для космонавта и длился 157 суток. 11 марта 2023 года корабль отстыковался от адаптера РМА2 модуля Harmony американского сегмента МКС и 12 марта 2023 года «Endurance» с экипажем миссии Crew-5 приводнился в расчетной точке Мексиканского залива возле города Тампа, штат Флорида, США. В анамнезе обследуемая женщина-космонавт никогда не использовала оральные контрацептивы, беременности не наступали. Сбор исходных данных начался за год до запуска (предполетный период) (Рис. 6). Космонавт делала тесты на овуляцию в течение 3 последовательных месяцев с 12-го по 16-й день менструального цикла до полета, во время полета и дважды после полета. Поскольку период роста фолликулов от примордиального до овуляторного составляет приблизительно 200 дней, мы разделили послеполетный период на два: ранний и поздний послеполетные периоды.

В наземных исследованиях до и после полета кровь для определения концентрации гормонов забирали в 3-й день менструального цикла в предполетный период (за 117 дней до запуска), дважды в раннем послеполетном периоде (через 19 и 136 дней после посадки) и один раз в позднем послеполетном периоде (через 226 дней после посадки).

Исследования органов малого таза при помощи магнитно-резонансной томографии проводились обычно во 2-й день менструального цикла перед запуском (–88 дней) и после посадки (+135 и +225 дней). Дополнительное МРТ малого таза незадолго после посадки (+12 дней) выполнялось на 29-й день менструального цикла (поздняя лютеиновая фаза), что было связано с крайне плотным графиком космонавта. Для всех статистически значимых сравнений между "до" и "после" использовались непараметрические методы, при уровне статистической значимости $p < 0,05$ и тенденции при $p < 0,1$. Перед каждым взятием крови и МРТ малого таза у космонавта получали письменное информированное согласие. Дизайн и процедуры исследования были утверждены Многосторонним комитетом по медицинским исследованиям на людях (HRMRB, протокол №21-005, подписан 27 октября 2021 года) и соответствуют Декларации Хельсинки.

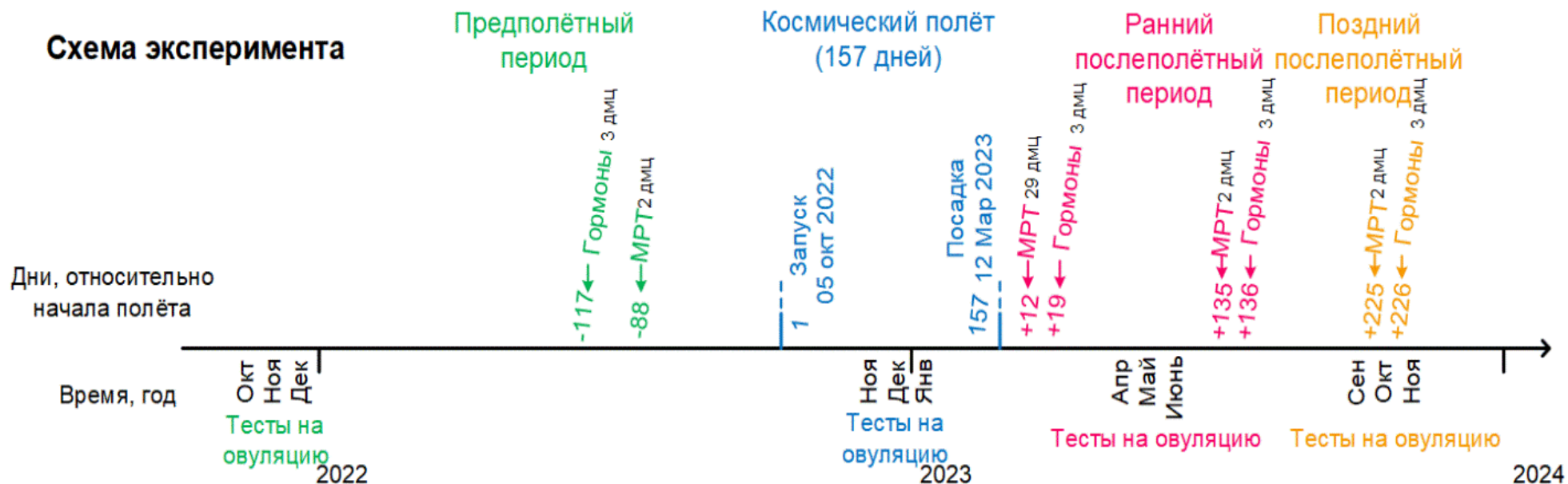


Рисунок 6. Временные точки сбора данных в ходе исследования. Предполетный период (зеленый) — период до запуска, космический полет (синий) — от запуска до приземления, ранний послеполетный период (розовый) - в течение 200 дней после приземления, поздний послеполетный период (оранжевый) — от 200 дней после приземления до 325 дней. Концентрацию гормонов в образцах крови определяли на 3-й день менструального цикла (дмц). МРТ обычно проводилась на 2-й дмц, обычно сразу после космического полета - первая МРТ в раннем послеполетном периоде была проведена на 29-й дмц. Тесты на овуляцию проводились с 12 по 16 дмц в течение 3 месяцев, в рамках каждого периода сбора данных.

2.1.1 Магнитно-резонансная томография (МРТ)

Все исследования МРТ таза проводились без специальной подготовки на 2-й день менструального цикла, за исключением МРТ, выполненного через 19 дней после полета (29-й день; поздняя лютеиновая фаза), учитывая чрезвычайно загруженный график космонавта. Все изображения были получены на МРТ-сканере Siemens Magnetom (3 Тл) с использованием стандартных последовательностей: T1, T2, T2 stir, диффузионно-взвешенная визуализация (DWI) с картированием коэффициента очевидной диффузии (ADC) в аксиальных, корональных и сагиттальных плоскостях с толщиной среза 4 мм. Для определения структурных параметров репродуктивной системы (размер матки и яичников, толщина эндометрия, диаметр фолликулов и их количество) все изображения обрабатывались с использованием встроенного DICOM-просмотрщика SyngoVia. Результаты МРТ сканирования получены и интерпретированы совместно с врачом-рентгенологом, кандидатом медицинских наук М.С. Матросовой.

2.1.2 Взятие крови и измерение концентрации гормонов

Образцы крови отбирались около 8:30 утра натощак на 3-й день менструального цикла без силовой тренировки накануне. Сыворотка отделялась путем центрифугирования, и измерения проводились немедленно без замораживания в сертифицированной клинической лаборатории. Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), прогестерон (ПГ), 17-гидроксипрогестерон (17-ОП), андростендион, свободный и общий тестостерон, эстрадиол (17 β -эстрадиол, E2), глобулин, связывающий половые гормоны, антимюллеров гормон (АМГ) определялись методом хемилюминесцентного иммуноанализа. Дегидроэпиандростерон сульфат (ДГЭА-С) и ингибин В измерялись методом иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе.

2.1.3 Тесты на овуляцию

На борту Российского сегмента Международной космической станции не было возможности для взятия крови и измерения концентрации половых гормонов. Поэтому было решено использовать тесты на овуляцию для оценки относительного содержания лютеинизирующего гормона в моче. Коммерчески доступные тесты с чувствительностью на уровне 25 мМЕ/мл использовались в предполётный период, во время космического полета, в раннем и позднем постполетных периодах в течение 3 месяцев подряд с 12-го по 16-й день менструального цикла (фаза овуляции). Изображения тестов анализировались с помощью программы Fiji. Интенсивность цвета целевой полоски и эталонной полоски измерялась, затем вычислялось их соотношение в процентах

2.1.4 Статистический анализ

Для сравнения "до" и "после" использовались непараметрические методы статистики. Для повторных измерений относительного содержания лютеинизирующего гормона по данным тестов на овуляцию использовался критерий знаковых рангов Уилкоксона. Для сравнения диаметра фолликулов между группами данных использовался критерий Краскела-Уоллиса. В обоих случаях статистическая значимость определялась на уровне $p < 0,05$ и тенденция — на уровне $p < 0,1$. Данные представлены как медиана \pm диапазон.

2.2 СУХАЯ ИММЕРСИЯ. ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

В эксперименте приняли участие 16 здоровых женщин. Для исследования репродуктивной системы были отобраны 12 испытуемых, 4 участницы были исключены, поскольку принимали оральные контрацептивы. Из оставшихся 12 участниц 6 получали препарат лактоферрина 1 раз в день с 1 по 29 день эксперимента, остальные 6 получали плацебо. В ходе исследования не было выявлено никаких

различий между параметрами участниц, получавших препарат и получавших плацебо. Поэтому мы рассматривали общую группу – 12 отобранных испытуемых.

Возраст испытуемых составлял от 22,7 до 40,8 лет, средний возраст в группе – 27,8 лет (Рисунок 7, А). Длительность менструального цикла во время эксперимента была от 26 до 32 дней, со средней продолжительностью 29 дней. Участницы не заметили изменения в продолжительности своих менструальных циклов в ходе эксперимента. (Рисунок 7, Б).

Экспозиция проводилась на оборудовании для «сухой» иммерсии Института медико-биологических проблем Российской академии наук (Tomilovskaya E. et al., 2019, 2021). Испытуемые, одетые в майку и трусы, были помещены на водонепроницаемую ткань и погружены в глубокую ванну до уровня шеи в положении лежа на спине (температура воды в ванне поддерживалась на уровне $32,5 \pm 2$ °C для предотвращения охлаждения организма через водонепроницаемую ткань). Площадь поверхности ткани значительно превышала площадь поверхности воды. Высокие свойства упругости ткани искусственно создавали условия, аналогичные невесомости при плавании. Складки водонепроницаемой ткани свободно обволакивали тело человека со всех сторон и позволяли избегать любого контакта тела с водой. Испытуемые находились в иммерсионной ванне без каких-либо физических нагрузок. Среднее время, проведенное вне иммерсионной ванны (для гигиенических процедур и определенных экспериментальных исследований), не превышало 30 минут в день. Команда, состоящая из врача, помощника и техника, обеспечивала круглосуточный мониторинг здоровья участниц и работу технического оборудования (Nosikova I. et al., 2021). Начало экспозиции в условиях "сухой" иммерсии у 7 испытуемых было на 10-й день менструального цикла, у 3 испытуемых - на 12 день менструального цикла, у 1 испытуемой - на 13 день менструального цикла, у 1 испытуемого - на 15 день менструального цикла. Все испытуемые на 4 день менструального цикла сдавали кровь

(строго натощак) для оценки уровня гормонов и ультразвуковое исследование для оценки антральных фолликулов. На 9 день менструального цикла проводилось только ультразвуковое исследование для оценки доминирующего фолликула. Исследование проводили до и после пребывания в условиях сухой иммерсии (Рисунок 7, В).

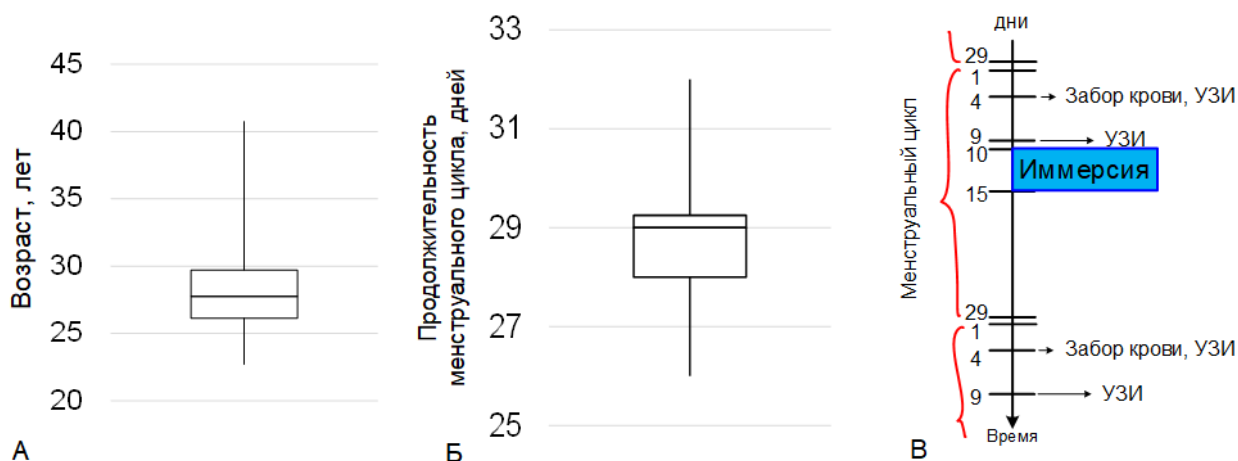


Рисунок 7. Характеристики группы испытуемых. (А) Средний возраст испытуемых. (Б) Продолжительность менструального цикла. (В) Циклограмма исследования состояния репродуктивной системы. ДМЦ — день менструального цикла, УЗИ — ультразвуковое исследование. Циклограмма дана для средней продолжительности менструального цикла в группе испытуемых (29 дней) и начала иммерсии на 10 ДМЦ.

Для исследования репродуктивной системы все испытуемые были обследованы в Гинекологическом отделении Клинической больницы № 1 (Волынская больница, Москва, Россия). Все участницы эксперимента клинически были стабильны, без клинических, микробиологических или лабораторных признаков инфекции, энцефалопатии, почечной недостаточности или сопутствующих заболеваний, включая сердечную недостаточность, заболевания легких, злокачественные опухоли или сахарный диабет. У каждой участницы эксперимента было получено письменное информированное согласие перед участием в исследовании.

Дизайн исследования и процедуры исследования были утверждены комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем Российской академии наук (Секция физиологии Российского биоэтического комитета, Национальная комиссия России по ЮНЕСКО, Разрешение №615/МСК/06/06/22) и соответствовали Декларации Хельсинки.

2.2.1 Взятие крови и определение гормонов

Кровь брали у всех испытуемых около 8:30 утра на 4-ый день менструального цикла, в котором начиналась экспозиция в условиях «сухой» иммерсии, и на 4-ый день цикла, следующего за тем, в котором проводилась иммерсия. Сыворотка была отделена путем центрифугирования, и измерения проводились немедленно без замораживания. Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), антимюллеров гормон (АМГ), прогестерон (ПГ) определяли методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа (реагенты Elecsys® и анализатор Cobas e411, Roche Diagnostics Ltd., Роткройц, Швейцария). Ингибин В определяли с помощью набора для ферментоиммунного анализа (#A81303, Beckman Coulter, Inc., Бреа, Калифорния, США) на автоматическом анализаторе (Personal LAB, Adaltis S.r.l., Рим, Италия).

2.2.2 Ультразвуковое исследование

Ультразвуковое исследование органов репродуктивной системы проводилось на 4 день менструального цикла и на 9 день менструального цикла до и после «сухой» иммерсии с использованием ультразвуковой системы EPIQ7 с широкополосным конвексным датчиком с технологией кристаллов PureWave C10-3v (Philips, Амстердам, Нидерланды). Построение изображений для определения размеров матки и яичников, диаметра фолликулов и подсчета их числа проводили с помощью

интегрированной системы визуализации nSIGHT (Philips, Амстердам, Нидерланды). Результаты УЗИ-исследования получены и интерпретированы совместно с врачом Ю.А. Бирюковой.

2.2.3 Статистический анализ

Мы использовали непараметрическую статистику из-за небольшого количества испытуемых, высокой изменчивости уровня базовых параметров и ненормального распределения. Для сравнения "до" и "после" использовались тесты Уилкоксона для пост-хок сравнений с уровнем статистической значимости $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы \pm диапазона.

2.3 АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЕ ВЫВЕШИВАНИЕ. ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Эксперимент проводили на яичниках и гипофизах мышей возрастом 12 недель линии BALB/c ($n = 14$). Эффекты микрогравитации воспроизводили с использованием стандартной модели антиортостатического вывешивания Ильина-Новикова, в модификации Морей-Холтон (Morey-Holton E. et al., 2005). В данном случае животное подвешивалось за хвост так, чтобы задние конечности не касались опоры, то есть тело находилось под углом 30° к горизонтальной плоскости, и животное могло свободно перемещаться по клетке на передних конечностях. Животные получали стандартный виварный корм и воду ad libitum, световой режим составлял 12/12 часов. Антиортостатическое вывешивание проводилось в течение 96 часов, что составляет полный эстральный цикл. Были сформированы две группы: контрольная группа «С» ($n = 7$, $m = 27,9 \pm 0,6$ г) и группа подвешивания задних конечностей «HS» ($n = 7$, $m = 27,1 \pm 0,9$ г). Животных усыпляли ингаляционным наркозом «Форран» (Abbott, Аламеда, Калифорния, США), далее извлекали яичники и гипофизы, взвешивали. Ткани гипофиза незамедлительно замораживали.

Один из яичников использовали для оценки клеточного дыхания, а другой – немедленно замораживали в жидком азоте для последующей изоляции белков и мРНК.

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

2.3.1. Измерение клеточного дыхания методом полярографии

Для анализа клеточного дыхания использовали половину яичника мыши из каждой экспериментальной группы, как описано в работе Кузнецова и соавторов (Kuznetsov A.V. et al., 2008). Непосредственно после удаления, яичники подвергались измельчению и инкубировались с 10 мкг/мл сапонины (при 25 °C и встряхивании). Затем образцы добавляли в полярографическую кювету, и проводилось измерение концентрации кислорода при помощи полярографа Oxygraph+ (Hansatech Instruments, Ltd., Норфолк, Великобритания) при температуре +25 °C.

Чтобы оценить вклад каждого комплекса дыхательной цепи, ингибиторы и субстраты добавлялись последовательно (Kuznetsov, A.V. et al. 2008) с некоторыми модификациями (Ogneva I.V. et al. 2020). Вкратце, в начале измерения каждого образца мы измеряли V_0 — базальную скорость поглощения кислорода. Затем мы добавляли субстраты НАДН-дегидрогеназы — 10 mM глутамат и 5 mM малат — и регистрировали $V_{glu+mal}$, а после добавления 2 mM АДФ — максимальную скорость дыхания V_{max} . После этого мы последовательно добавляли 0,5 mM ротенона (ингибирует комплекс I), 10 mM сукцинат (субстрат сукцинатдегидрогеназы — измеряли скорость V_{II}), 5 mM антимицин А (ингибирует цитохром c-редуктазу), 0,5 mM ТМПД + 2 mM аскорбат (искусственные субстраты цитохром c-оксидазы — измеряли скорость V_{IV}). Чтобы избежать артефактов, связанных с повреждением внешней митохондриальной мембраны при обработке образцов сапонином, ее

целостность была проверена добавлением 10 мМ цитохрома. Исследуемый образец затем целиком извлекали из кюветы, высушивали и взвешивали. Скорость поглощения кислорода измерялась в пмоль O₂ на мл в минуту на мг сухой массы.

2.3.2. Измерение относительного содержания белка методом вестерн-блоттинга

Общий белок выделяли из замороженной ткани. Ткани разрезали на тонкие срезы толщиной 10 нм при помощи микротомы, собирали в пробирку, а затем гомогенизировали в буфере Лэммли с коктейлем ингибиторов протеаз (Calbiochem, Сан-Диего, Калифорния, США). SDS-электрофорез проводили в полиакриламидном геле (Bio-Rad Laboratories, Геркулес, Калифорния, США). После измерения концентрации общего белка в каждом образце равные количества белка помещали в каждую лунку в геле. После электрофореза белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Towbin H. et al., 1979). Мы использовали окрашивание Ponceau S, а также гистона H3 для контроля загрузки. Для определения количества каждого белка использовали специфические первичные моноклональные антитела в соответствии с Таблицей 1.

В качестве вторичных антител для обнаружения IgG мыши были использованы лошадиные антитела конъюгированные с пероксидазой хрена для хемилюминесцентного обнаружения (#7076S, Cell Signaling Technology, США) в разведении 1:10 000, для обнаружения IgG кролика - антитела козы конъюгированные с пероксидазой хрена (#7074S, Cell Signaling Technology, США) в разведении 1:10 000, далее мембраны обрабатывали субстратами SuperSignal™ West Femto Maximum Sensitivity Substrate (Thermo Scientific, США) и детектировали при помощи системы ChemiDoc (Bio-Rad Laboratories, США), полученные изображения анализировали с помощью пакета Fiji (<https://imagej.net/Fiji>).

Таблица 1. 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, Cambridge, Великобритан ия	#ab52866
Цитохром с-1	13,5 кДа	5мкг/мл	Abcam, Cambridge, Великобритан ия	#ab13575
АТФ синтаза F1	53 кДа	1мкг/мл	Abcam, Cambridge,	#ab14748

			Великобритан ия	
Гамма-актин	42кДа	1:500	Santa Cruz Biotechnology, Inc., США	#sc-65638
Гистон H3	15кДа	1 мкг/мл	Abcam, Cambridge, Великобритан ия	#ab10799

2.3.3. Оценка относительного содержания мРНК методом ПЦР с обратной транскрипцией

Для выделения тотальной мРНК из замороженных проб использовали набор RNeasy MicroKit (Qiagen, Германия). Обратную транскрипцию проводили с 500 нг РНК и d(T)₁₅, используемого в качестве праймера. Для определения относительного содержания мРНК гена, кодирующего рецептор к лютеинизирующему гормону (Lhcgr), проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени с использованием праймеров, подобранных с помощью Primer3Plus (таблица 2). Специфичность праймеров контролировали по размеру продукта, кривой плавления и отрицательному контролю без кДНК. Для определения кратности изменения использовали метод 2-ΔΔСТ. (Towbin, H. et al., 1979) с нормализацией на H3f3a.

Таблица 2. Последовательность праймеров и размер продуктов

Ген	Последовательность праймера, прямая/обратная (5'...3')	Размер продукта, пн
Lhcgr	CTGTTCACCCAAGA CACTCCA/CAGGTAG AGCCCCATGCAAA	232
H3f3a	CCTCGGTGTCAGCC ATCTTT/GCCATGGT AAGGACACCTCC	140
Cyc1	GTGGAACCCTGG AACCCATA/CAA ACAGTGCTGCCA GGTTTT	106
Cox4i1	CTTCCCTGATTC CCGCGATG/ACA CTCCCATGTGCT CGAAG	208
ATP5a1	GGCAACCACAA GGTCGATTC/CG GACGACTGGCAC AAAATG	241
Gapdh	TCCCAGCTTAGG TTCATCAGG/AT GAAGGGGTCGTT GATGGC	165

Actb	TGAGCTGCGTTTT ACACCCT/TTTGG GGGATGTTTGCTC CA	231
Actg1	CTGGTGGATCTC TGTGAGCA/TCA GGAGGGAAGAA ACCAGA	184
Actn1	AAACCTGAACAC GGCCTTTG/ATTG ACCGCCAACACT TTGC	199
Actn4	AATCCAATGAGC ACCTTCGC/TGGT GTGCTTGTTGTC GAAG	243
Tuba1c	GGCTCGCCTAGA TCACAAGT/CTC ATCGTCTCCTTC AGCACT	172
Gdf9	CCTCTACAATAC CGTCCGGC/CTGT AAAGGCCTCCAG GTGG	511

2.3.4. Протокол ИГХ-анализа срезов яичников мыши

ИГХ-анализ проводили по стандартному протоколу, тонкие срезы яичников блокировали в 4% молоке и окрашивали первичными антителами

к рецептору лютеинизирующего гормона (#PA5-21271, Thermo Fisher Scientific, Массачусетс, США) в течение ночи, в качестве вторичных антител использовали козы анти тела 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. Полученные результаты анализировали с помощью пакета Fiji (<https://imagej.net/Fiji>)

2.3.5 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.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 КОСМИЧЕСКИЙ ПОЛЁТ

Согласно личной дозиметрии, накопленная поглощенная доза, полученная обследуемой женщиной-космонавтом в течение 157-суточного космического полета, составила 60,24 мГр. Продолжительность менструального цикла оставалась неизменной на протяжении всего исследования, включая космический полет, и составляла в среднем 29-30 дней (Рис. 11).

3.1.1 Длительность менструального цикла и овуляция

Овуляция, оцениваемая по пику ЛГ, происходила в каждом цикле (рис. 9-10). Во время космического полета относительные пиковые уровни ЛГ (в соответствии с тестами на овуляцию) могли быть несколько ниже по сравнению с исходным периодом ($p = 0,17$, рис. 8), но эта разница не была достоверной. После космического полета, в ранний послеполетный период, пиковое относительное содержание ЛГ достоверно возросло ($p = 0,04$) по сравнению с периодом полета и снизилось в поздний послеполетный период, оставаясь, однако, выше ($p = 0,10$), чем во время полета (рис. 8).

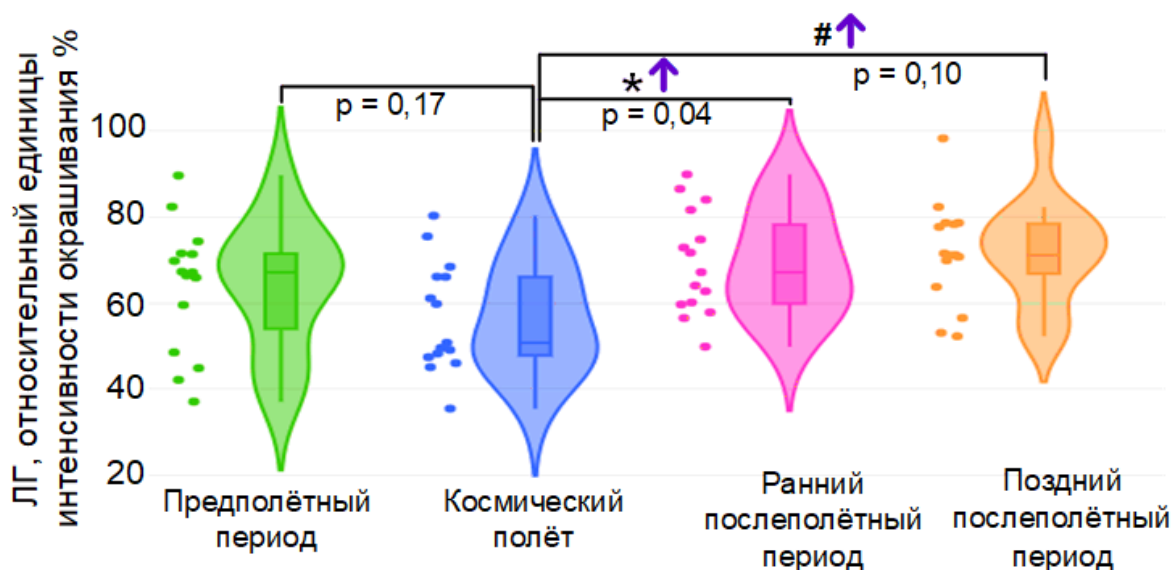
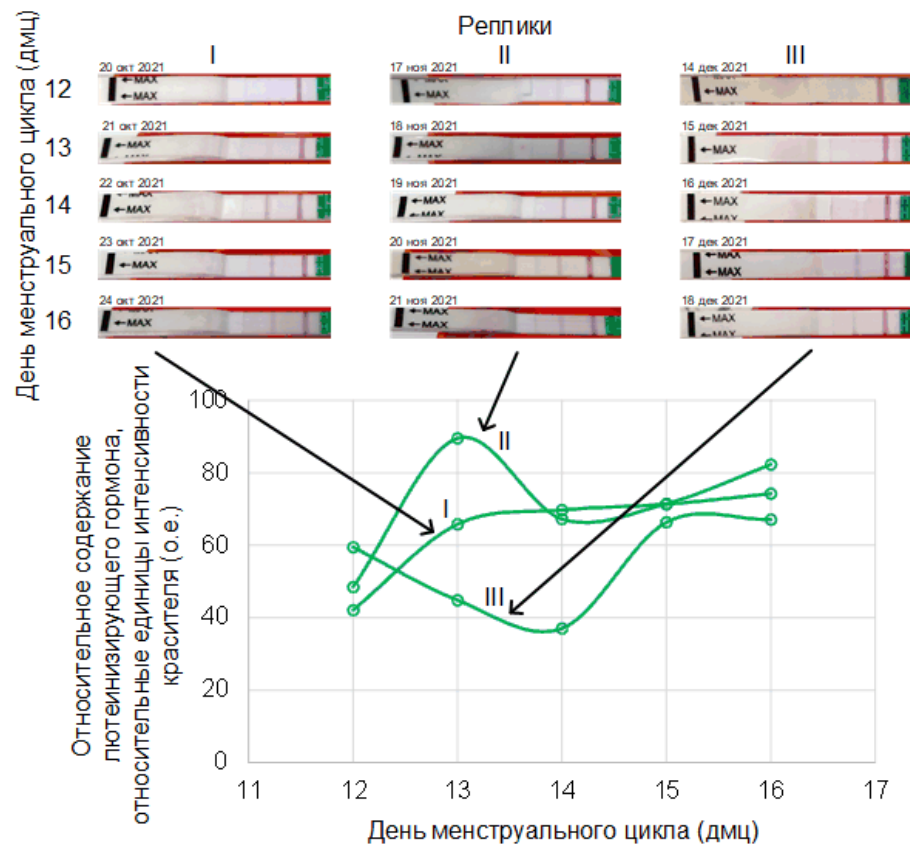


Рисунок 8. Показана относительная концентрация лютеинизирующего гормона по данным тестов на овуляцию в овуляторной фазе менструального цикла. * – $p < 0,05$ — достоверная разница между периодом космического полета и ранним послеполетным периодом, # – $p = 0,1$ — тенденция между периодом космического полета и поздним послеполетным периодом. Адаптировано из (Kikina A.Y., et al. 2024)

Более подробно см. рис.9-10.

Предполётный период



Полет

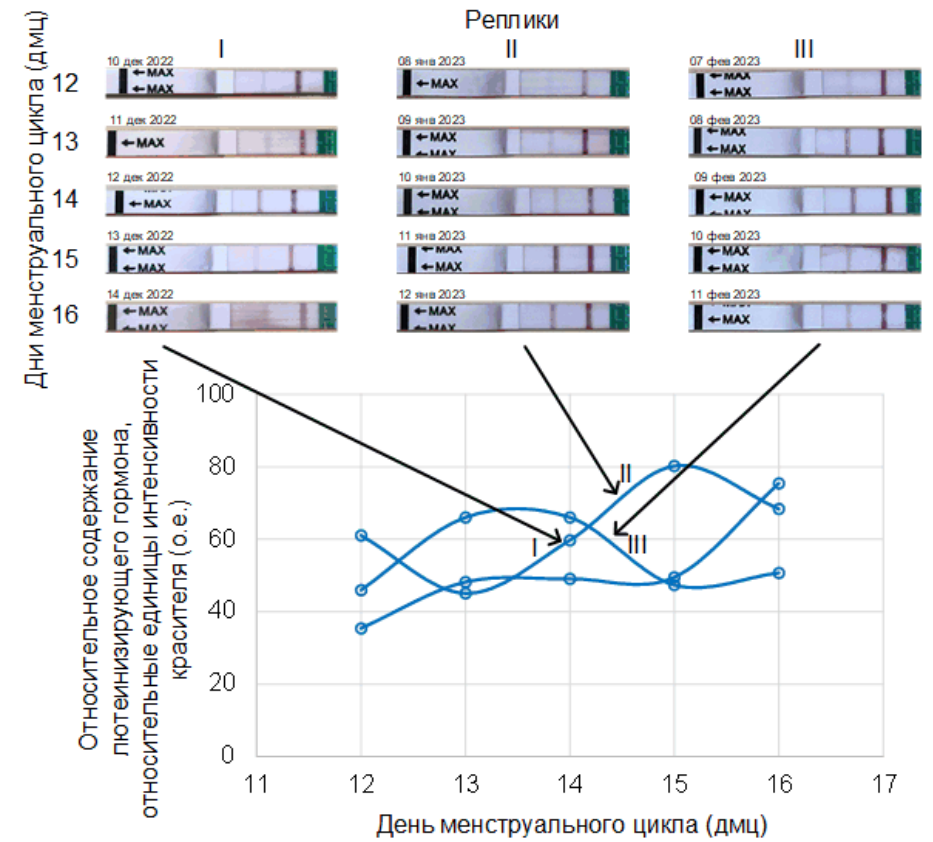
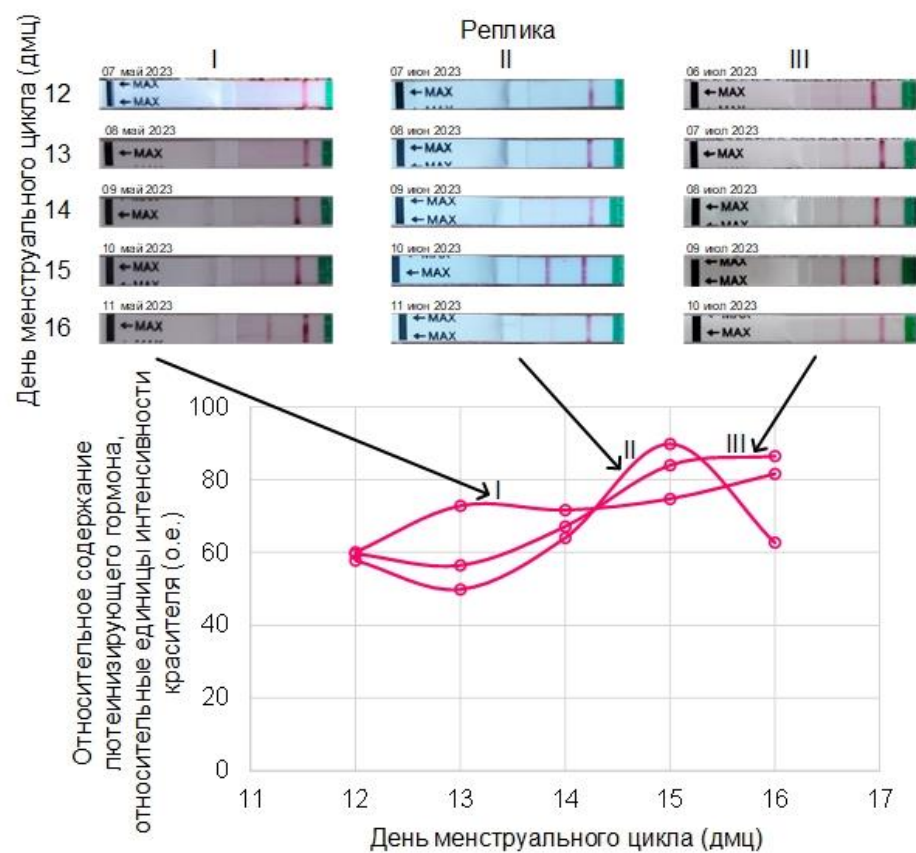


Рисунок 9. Данные тестов на овуляцию в предполетном периоде и во время полета, адаптировано из (Kikina A.Y. et al., 2024).

Ранний послеполютный период



Поздний послеполютный период

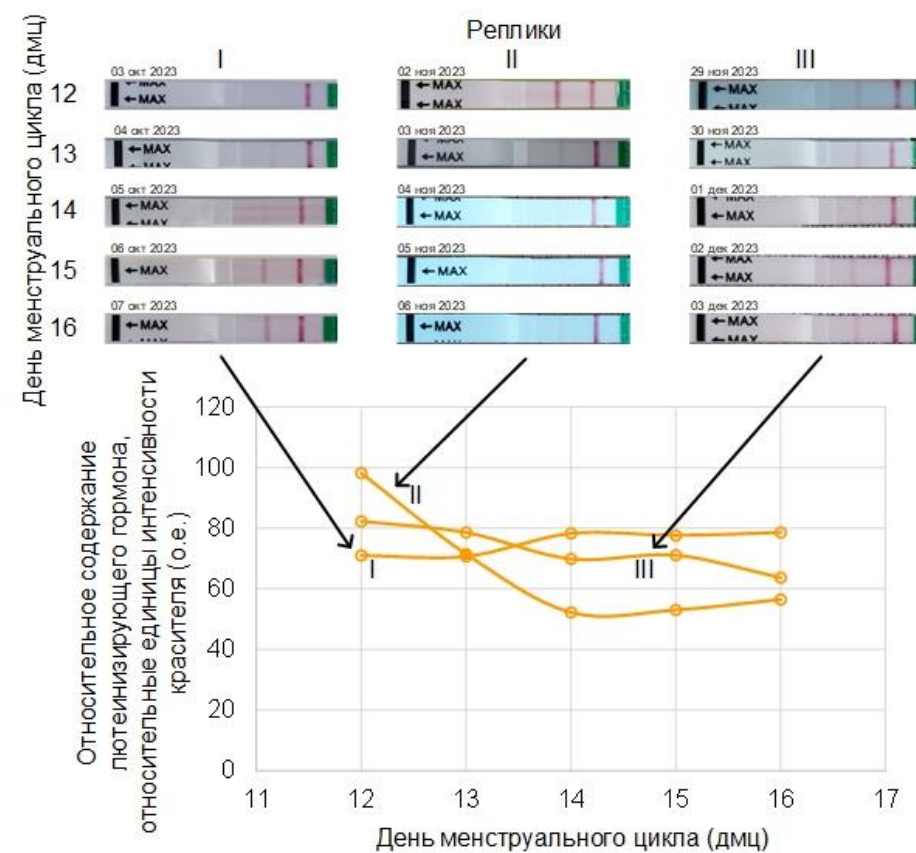


Рисунок 10. Данные тестов на овуляцию во время раннего послеполютного периода и позднего послеполютного периода. Адаптировано из (Kikina A.Y. et al., 2024).

На рисунках 9, 10 приведены первичные изображения тестов на овуляцию, которые были сделаны с 12 -го по 16-й дмц, с указанием точных дат во время сбора исходных данных, космического полета, раннего и позднего послеполетного периода. Чтобы оценить относительное содержание лютеинизирующего гормона, мы использовали полуколичественный метод: левая полоса в тесте является целевой, правая - контрольной. Мы оценили интенсивность окрашивания каждой полосы и нормализовали для каждого теста левую полосу к правой полосе и выразили эту оценку в процентах. Эти данные были использованы для построения графиков, представленных в рамках тестов. В течение каждого периода сбора данных, три месяца подряд, проводились тесты, и для каждого месяца представлялись графики.

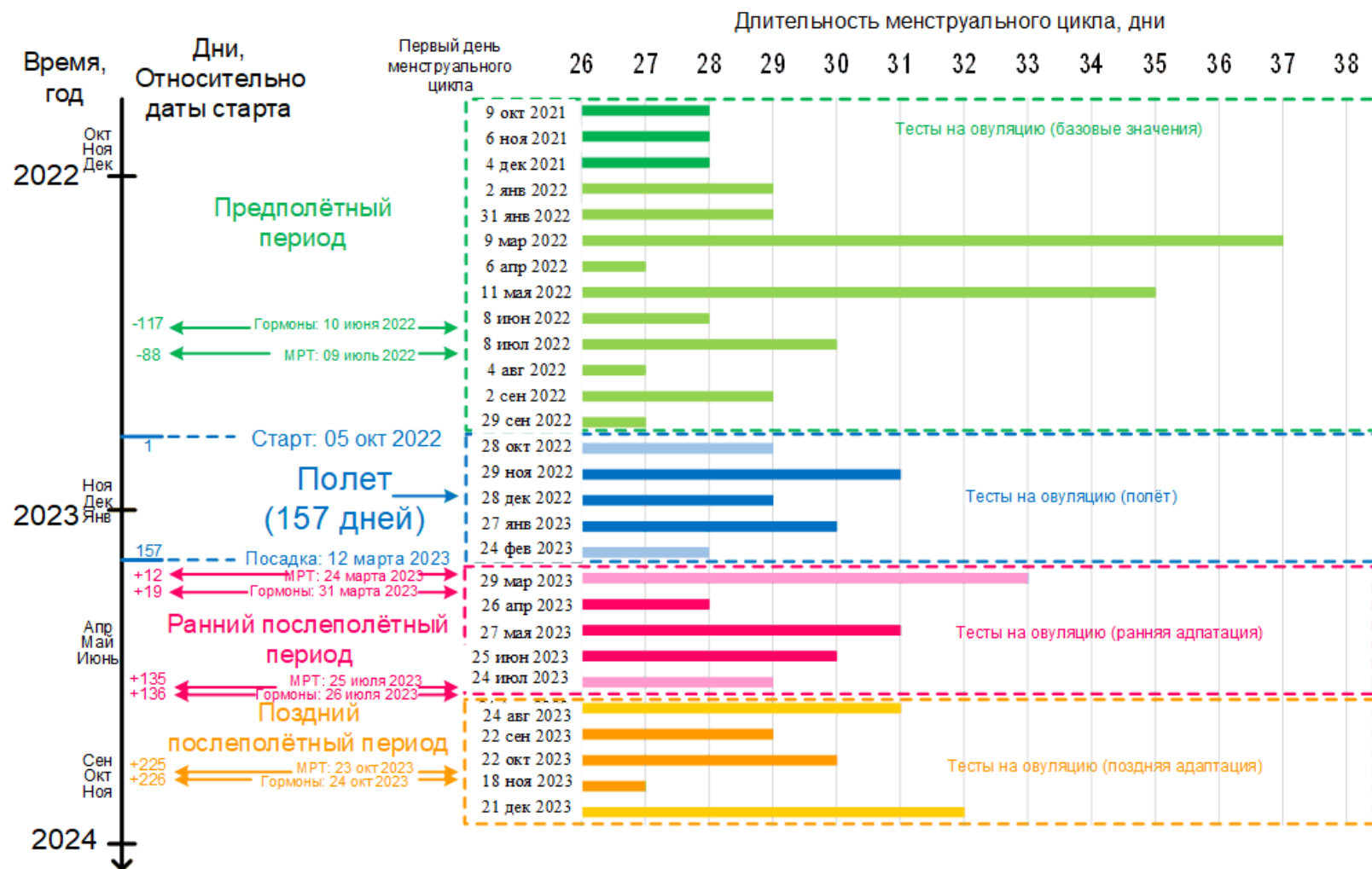


Рисунок 11. Подробный план исследования в зависимости от менструального цикла. Здесь мы приводим полный график исследования с точными датами взятия крови для определения уровня гормонов, МРТ и тестов на овуляцию в зависимости от дней менструального цикла. На гистограмме столбцы, выделенные более насыщенным (тёмным) цветом, означают месяцы, в которые проводились тесты на овуляцию. Адаптировано из (Kikina A.Y. et al., 2024).

3.1.2 Параметры органов малого таза

По данным МРТ, структурные параметры органов репродуктивной системы до и после космического полета не отличались, оставаясь в пределах нормы для соответствующего дня менструального цикла (табл. 3).

Таблица 3. Структурные параметры органов репродуктивной системы, полученные при помощи МРТ

Этап эксперимента	Предполётный период	Ранний послеполётный период		Поздний послеполётный период
Параметр/ временная отметка	-88 день, 2 дмц	+12 день, 29 дмц	+135 день, 2 дмц	+225 день, 2 дмц
Размер матки, мм	62*33*41	60*33*60	55*28*40	51*31*43
Толщина эндометрия, мм	4,88	8,75	4,00	5,30
Размер правого яичника, мм	38*27*27	35*18*19	37*20*27	38*22*23
Объём правого яичника, мл	14,5	6,3	10,5	9,8
Размер левого яичника, мм	31*19*23	46*26*22	35*17*29	38*20*25
Объём левого яичника, мл	6,8	13,8	9,0	9,9
Средний объём яичника, мл	10,6	10,0	9,7	9,9
Максимальный диаметр	7,8	6,8	8,1	7,5

фолликула в правом яичнике, мм				
Максимальный диаметр фолликула в левом яичнике, мм	6,2	23 (жёлтое тело)	7,7	9,1

3.1.3 Содержание гормонов в крови

Перед космическим полетом уровень концентрации антимюллерова гормона (АМГ) был несколько выше верхней границы нормы (таблица 4). После космического полета уровень концентрации АМГ снизился примерно на 20% и больше не менялся в течение всего послеполетного периода. Уровень концентрации ингибина В в течение первого цикла после полета был в 2 раза выше исходного уровня, затем снижался, но даже в поздний послеполетный период оставался в 1,5 раза выше предполетных значений. Уровень концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) увеличился на 30% в раннем послеполетном периоде, но затем возвращался к исходному уровню. Однако базальный уровень ЛГ (Здмц) через 19 дней после полета был на 20% ниже, чем до полета и на 40% ниже как через 136, так и через 226 дней в послеполётном периоде. Перед полетом базовый уровень гормона прогестерона был более чем в два раза выше нормального значения для этого дня менструального цикла, но после полета этот уровень снизился примерно на 25%, оставаясь тем не менее выше нормальных контрольных значений. В то же время его метаболит, 17-ОН-прогестерон, который также был выше нормы перед полетом, повысился еще больше через 19 дней после приземления, но нормализовался через 136 дней. Уровень андростендиона, хотя и оставался в пределах нормы, в послеполетный период колебался относительно исходных данных. Уровень

метаболита тестостерона, 17β -эстрадиола, был на 50% выше через 19 дней после полета по сравнению с уровнем до полета, через 136 дней он более чем в два раза превышал исходный уровень, к значениям которого возвращался через 226 дней.

3.1.4. Размер и количество антральных фолликулов

Не было обнаружено существенных изменений в среднем диаметре всех антральных фолликулов, однако после космического полета их общее количество уменьшилось на 15-20% (рис. 12). Чтобы определить вклад различных подгрупп, мы отдельно проанализировали диаметры и количество (рис. 12 В-Г) фолликулов в этих подгруппах. Средний диаметр и количество ранних антральных фолликулов ($0,5\text{мм} \leq d \leq 4\text{ мм}$) сразу после космического полета и в начале послеполетного периода соответствовали таковым в исходный период. Но в поздний послеполетный период их количество уменьшалось примерно на 15% при достоверном ($p = 0,02$) уменьшении их среднего диаметра. Не было выявлено достоверных изменений в диаметре фолликулов в когорте антральных фолликулов среднего размера ($4\text{ мм} < d < 6\text{ мм}$). Эти данные собирались в 29 день менструального цикла, но поскольку рост этой группы начинается в поздней лютеиновой фазе, мы все еще можем учитывать данные второго МРТ несмотря на то, что исследование проводилось в другой день менструального цикла. Однако количество фолликулов в этой когорте сократилось на 25% во всех точках сбора данных

Таблица 4. Содержание гормонов, участвующих в регуляции женской репродуктивной системы.

Гормон	Нормальное значение, или диапазон	Предполётный период	Ранний послеполётный период		Поздний послеполётный период
	3 дмц	-117 день	+19 день	+136 день	+226 день
АМГ, нг/мл	0,03-7,15	7,24	5,51	5,84	5,79
Ингибин В, пкг/мл	<139	83,1	163,3	126,3	123,5
ФСГ, мМЕ/мл	3,03-8,08	4,42	5,18	5,74	4,84
ЛГ, мМЕ/мл	1,80-11,78	8,41	6,82	4,97	5,01
Прогестерон, нг/мл	<0,1-0,3	0,69	0,39	0,53	0,47
17-ОН-прогестерон, нмоль/л	0,3-2,4	2,76	3,47	2,15	1,82
ДЭА-SO ₄ , мкг/дл	74,8-410,2	207,0	165,8	184,4	203,3

Андростендион, нг/мл	0,40-4,10	2,01	1,2	2,48	0,89
Тестостерон свободный, нмоль/л	0,0045-0,0194	0,0109	0,0100	0,0132	0,0114
Тестостерон общий, нмоль/л	0,480-1,850	1,420	1,397	1,453	1,285
Эстрадиол (17 β -эстрадиол), пкмоль/л	77,07-921	90,0	146,6	213,6	95,5
Глобулин, связывающий половые гормоны, нмоль/л	14,7-122,5	108,3	117,4	87,4	90,0

после космического полёта. При сравнении раннего послеполетного периода (+135 дней) с предполетным (-88 дней), общее количество активно растущих фолликулов (диаметром ≥ 6 мм) сократилось вдвое (5 по сравнению с 11), на фоне того, что их средний диаметр был достоверно выше ($p = 0,04$). Однако, в позднем послеполетном периоде, ни количество (10 против 11), ни диаметр ($p = 0,08$) активно растущих фолликулов не отличались достоверно от показателей до полета.

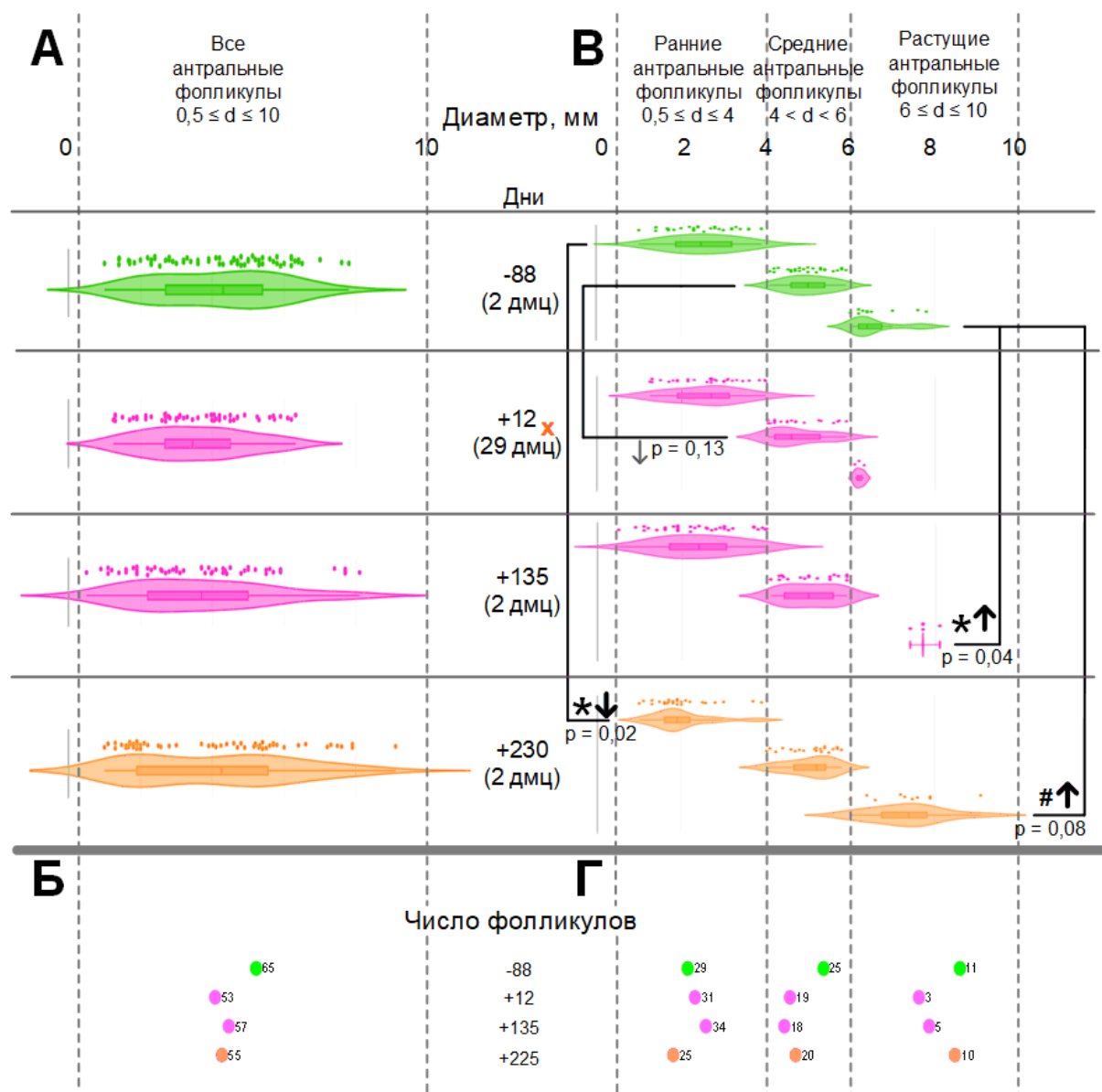


Рисунок 12. Исходные данные (за 88 дней до космического полета) выделены зеленым цветом, ранние послеполетные периоды (19 дней и 135 дней после космического полета) – розовым, поздние послеполетные периоды (225 дней после космического полета) – оранжевым. * – $p < 0,05$

по сравнению с исходными данными. # – $p < 0,1$ по сравнению с исходными данными. Все МРТ–снимки были сделаны во 2-й дмц – в ранней фолликулярной фазе, за исключением ранней послеполетной МРТ (через 12 дней после приземления) – она была сделана в 29 дмц (обозначена крестиком) – поздней лютеиновой фазы. Для антральных фолликулов раннего и среднего размера данные повторной МРТ были пригодны для соответствующего сравнения с исходными данными. Растущие антральные фолликулы вовлекаются в ФСГ–зависимый рост в течение текущего менструального цикла. Следовательно, данные второй МРТ не актуальны из-за другой фазы менструального цикла. Чтобы избежать путаницы, мы не проводили статистический анализ как для всей когорты антральных фолликулов, так и для подгруппы растущих антральных фолликулов (Kikina A.Y. et al., 2024).

3.2 СУХАЯ ИММЕРСИЯ

3.2.1 Содержание гормонов, участвующих в функционировании репродуктивной системы

Антимюллеров гормон является маркером овариального резерва, в частности, пула первичных фолликулов. Медианное значение концентраций антимюллерова гормона (АМГ) в сыворотке крови до и после иммерсии не отличалось значительно (рис. 13А). Индивидуальные данные показали, что концентрация АМГ до и после иммерсии не выходила за пределы референсных значений, за исключением результатов у двух участниц эксперимента. У этих участниц концентрации АМГ до иммерсии были выше верхней границы нормы; после иммерсии эти уровни снизились, но не достигли нормального уровня.

Как и АМГ, ингибин В является маркером овариального резерва, но он отвечает за пул вторичных, преантральных и антральных фолликулов. После иммерсии концентрация ингибина В увеличилась; медианное значение после иммерсии было на 35% выше ($p < 0,05$), чем до погружения (рис. 13Б). Индивидуальные данные показали, что концентрация ингибина В до и после иммерсии оставалась в пределах нормы у всех субъектов. Средняя концентрация фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) после иммерсии не изменилась; у всех участниц эксперимента значения до и после сухой иммерсии находились в пределах нормы (рис. 13В).

У 10 из 12 участниц эксперимента концентрация лютеинизирующего гормона (ЛГ) снизилась после сухой иммерсии; у одной участницы она не изменилась, и у одной участницы увеличилась (рис. 13Г). Медианное значение после иммерсии было на 12% ниже ($p < 0,05$), чем до иммерсии. У одной испытуемой концентрация ЛГ превышала референтный уровень до сухой иммерсии; однако, после иммерсии она снизилась и соответствовала

норме. Концентрация прогестерона (ПГ) в целом снизилась после иммерсии среди испытуемых, и у 8 из 12 участниц эксперимента она упала ниже нижней границы нормы (рис. 13Д). Однако у пяти испытуемых даже до иммерсии концентрация ПГ была ниже нормы. Медианное значение после иммерсии было ниже, чем до иммерсии, на 52% ($p < 0,05$).

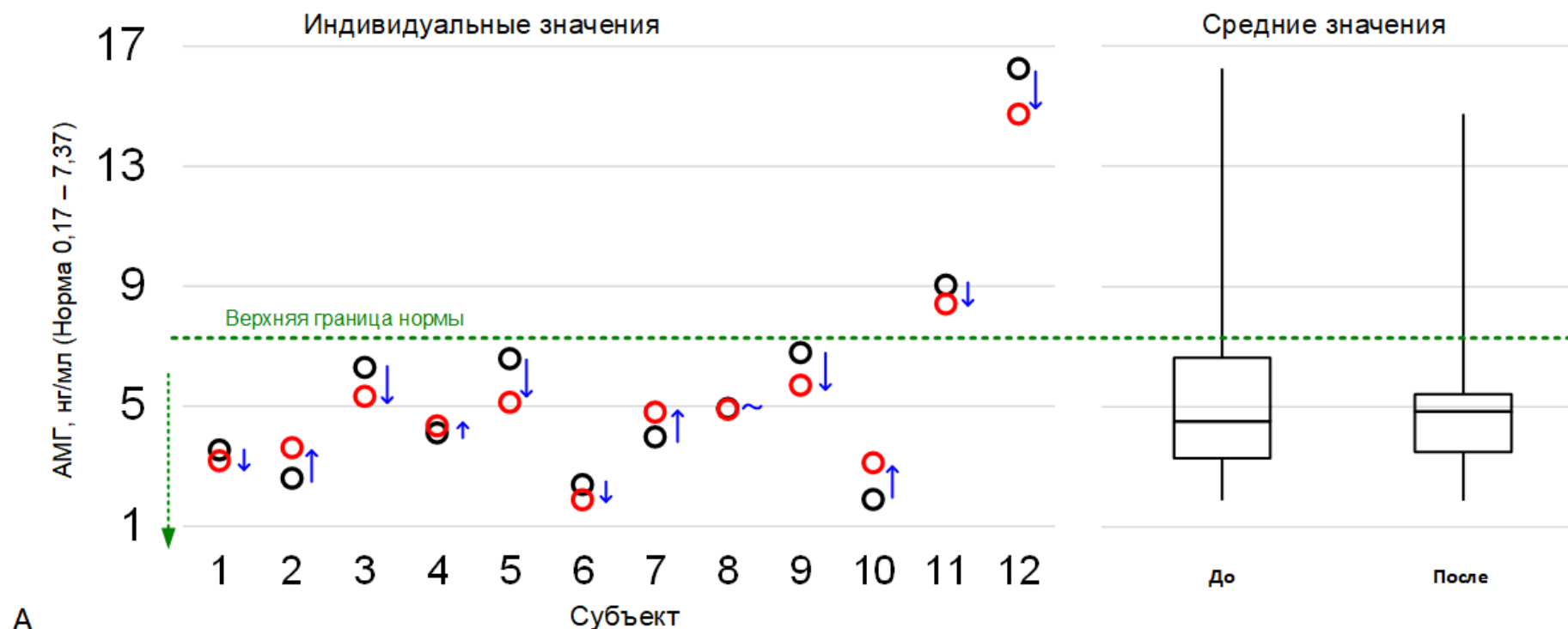


Рисунок 13А. Содержание АМГ у испытуемых в рамках проведения 5-суточной «сухой» иммерсии (Gorbacheva E.Y. et al., 2023). (1–12 — условные номера испытательниц, черные круги - значения до иммерсии, красные круги — значения после иммерсии, а направление изменения обозначено синим цветом (↑ — увеличение, ↓ — уменьшение, ~ — без изменений). Справа на каждой панели указаны данные для группы среднее значение \pm диапазон. До — значение до иммерсии. После — значение после иммерсии. * $p < 0.05$ по сравнению с "до". Зеленые пунктирные линии указывают верхнюю или нижнюю границу нормы, если у некоторых испытуемых, значения выходили за пределы референсных диапазонов. Для каждого гормона референсная концентрация показана на вертикальной шкале.

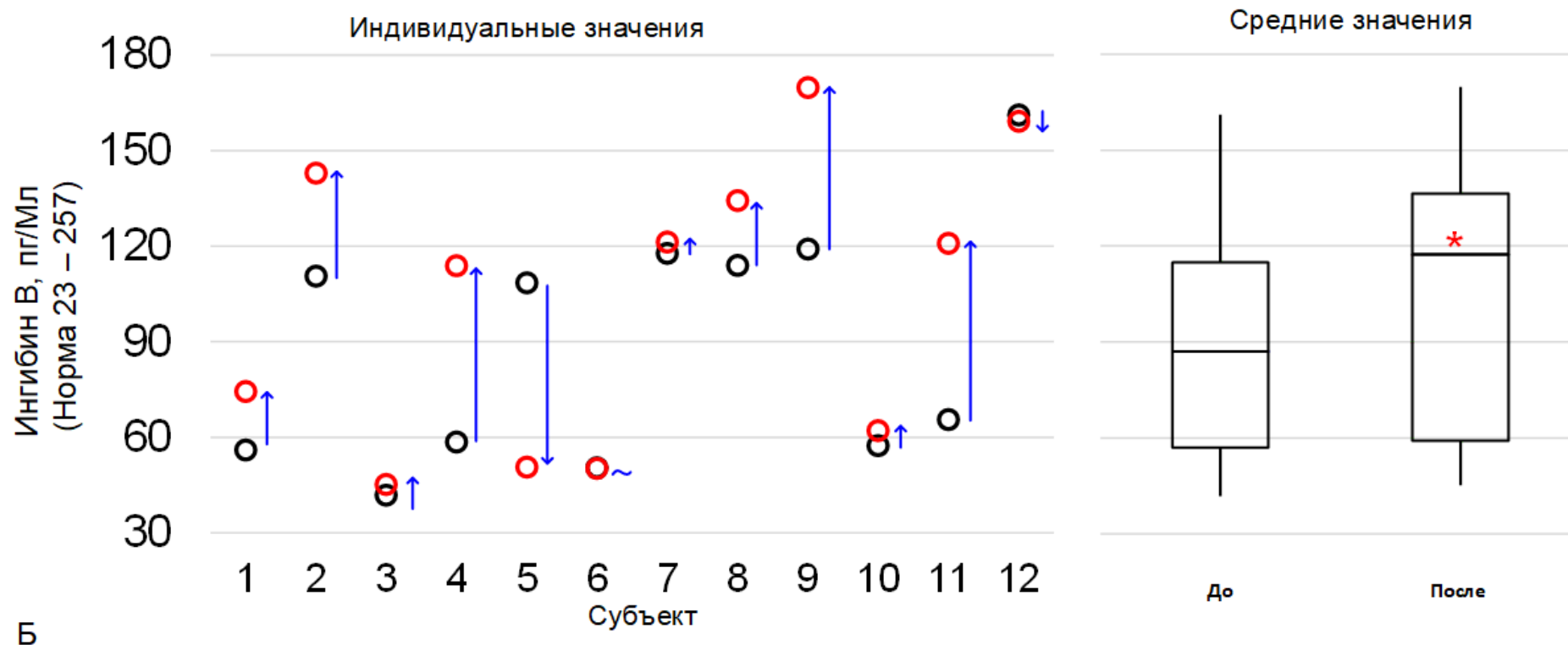


Рисунок 13Б. Содержание ингибина В у испытуемых в рамках проведения 5-суточной «сухой» иммерсии (Gorbacheva E.Y. et al., 2023). Данные участниц эксперимента представлены слева (1–12 — условные номера испытательниц). Черные круги указывают значения до иммерсии, красные круги — значения после иммерсии, а направление изменения обозначено синим цветом (↑ — увеличение, ↓ — уменьшение, ~ — без изменений). Справа на каждой панели указаны данные для группы среднее значение ± диапазон. До — значение до иммерсии. После — значение после иммерсии. * $p < 0.05$ по сравнению с "до". Зеленые пунктирные линии указывают верхнюю или нижнюю границу нормы, если у некоторых испытуемых, значения выходили за пределы референсных диапазонов. Для каждого гормона референсная концентрация показана на вертикальной шкале.

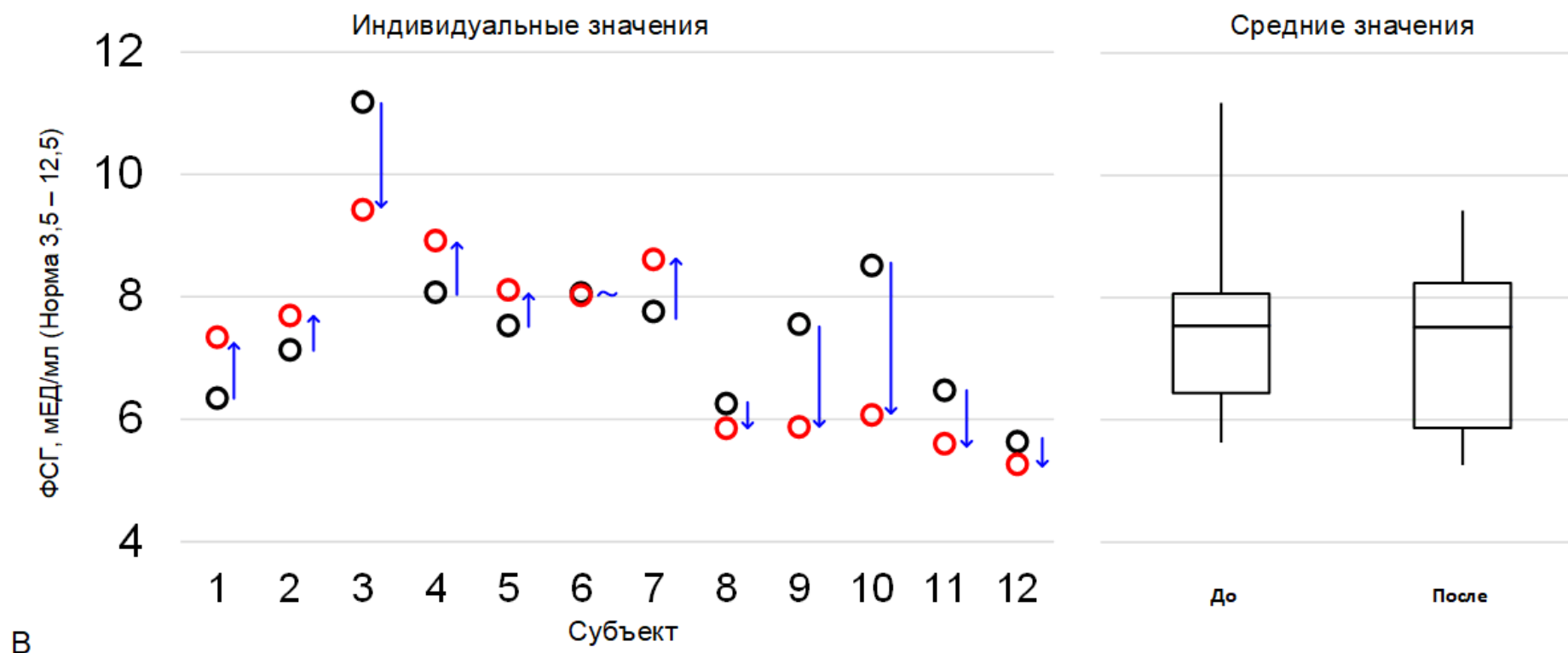


Рисунок 13В. Содержание ФСГ у испытуемых в рамках проведения 5-суточной «сухой» иммерсии (Gorbacheva E.Y. et al., 2023). Данные участниц эксперимента представлены слева (1–12 — условные номера испытательниц). Черные круги указывают значения до иммерсии, красные круги — значения после иммерсии, а направление изменения обозначено синим цветом (↑ — увеличение, ↓ — уменьшение, ~ — без изменений). Справа на каждой панели указаны данные для группы среднее значение ± диапазон. До — значение до иммерсии. После — значение после иммерсии. * $p < 0.05$ по сравнению с "до". Зеленые пунктирные линии указывают верхнюю или нижнюю границу нормы, если у некоторых испытуемых, значения выходили за пределы референсных диапазонов. Для каждого гормона референсная концентрация показана на вертикальной шкале.

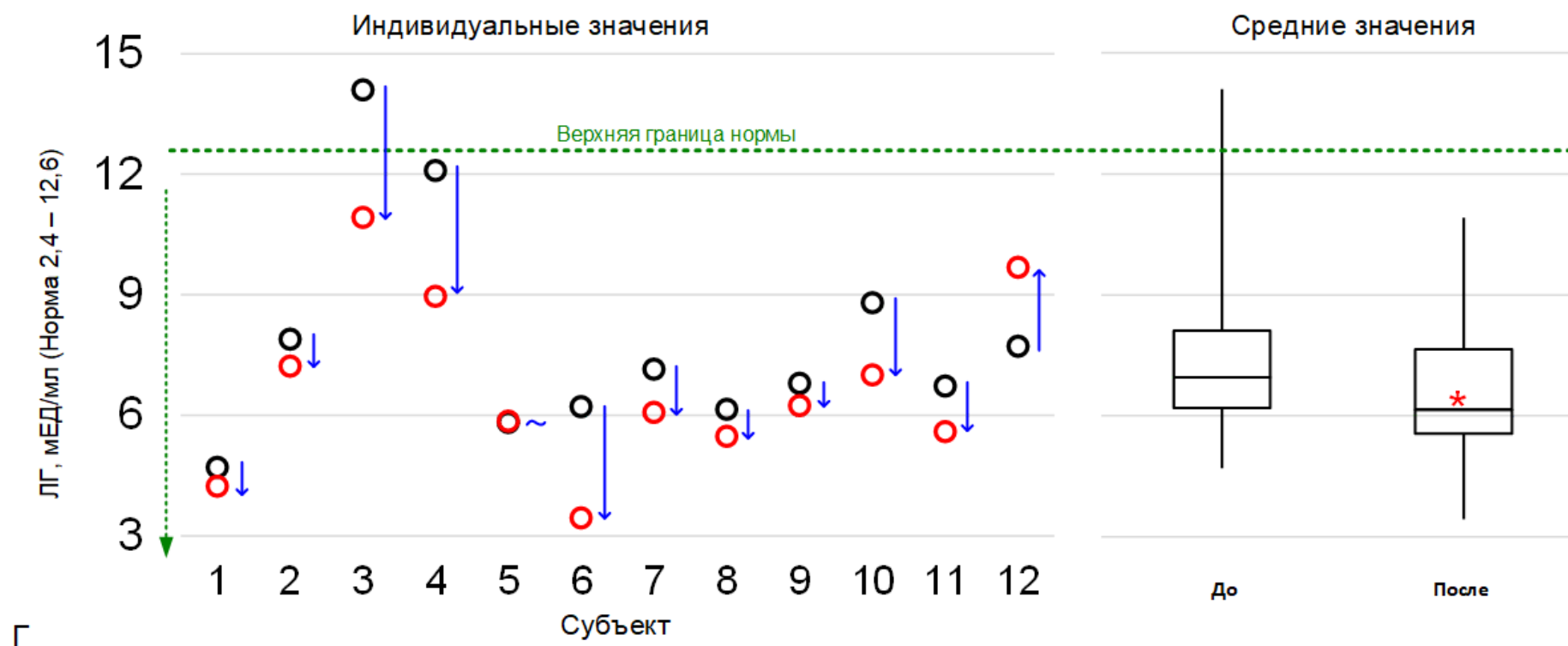


Рисунок 13Г. Содержание ЛГ у испытуемых в рамках проведения 5-суточной «сухой» иммерсии (Gorbacheva E.Y. et al., 2023). Данные участниц эксперимента представлены слева (1–12 — условные номера испытательниц). Черные круги указывают значения до иммерсии, красные круги — значения после иммерсии, а направление изменения обозначено синим цветом (↑ — увеличение, ↓ — уменьшение, ~ — без изменений). Справа на каждой панели указаны данные для группы среднее значение ± диапазон. До — значение до иммерсии. После — значение после иммерсии. * $p < 0.05$ по сравнению с "до". Зеленые пунктирные линии указывают верхнюю или нижнюю границу нормы, если у некоторых испытуемых, значения выходили за пределы референсных диапазонов. Для каждого гормона референсная концентрация показана на вертикальной шкале.

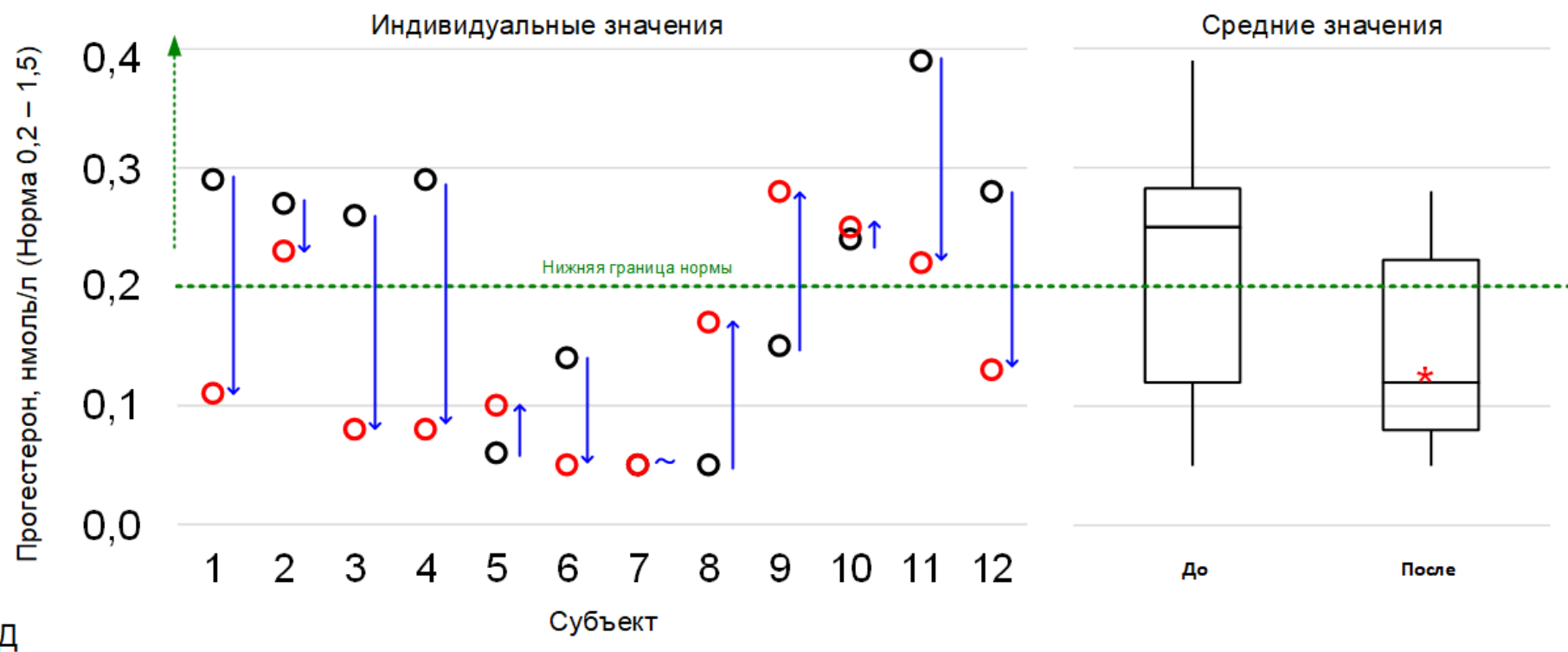


Рисунок 13Д. Содержание прогестерона у испытуемых в рамках проведения 5-суточной «сухой» иммерсии (Gorbacheva E.Y. et al., 2023). Данные участниц эксперимента представлены слева (1–12 — условные номера испытательниц). Черные круги указывают значения до иммерсии, красные круги — значения после иммерсии, а направление изменения обозначено синим цветом (↑ — увеличение, ↓ — уменьшение, ~ — без изменений). Справа на каждой панели указаны данные для группы среднее значение \pm диапазон. До — значение до иммерсии. После — значение после иммерсии. * $p < 0.05$ по сравнению с "до". Зеленые пунктирные линии указывают верхнюю или нижнюю границу нормы, если у некоторых испытуемых, значения выходили за пределы референсных диапазонов. Для каждого гормона референсная концентрация показана на вертикальной шкале.

3.2.2. Результаты ультразвукового исследования органов репродуктивной системы

Согласно данным ультразвукового исследования, размеры матки до и после иммерсии не изменялись как на четвертый, так и на девятый день менструального цикла (рис. 14А). Толщина эндометрия также не изменилась до и после иммерсии в соответствующие дни менструального цикла (рис. 14Б).

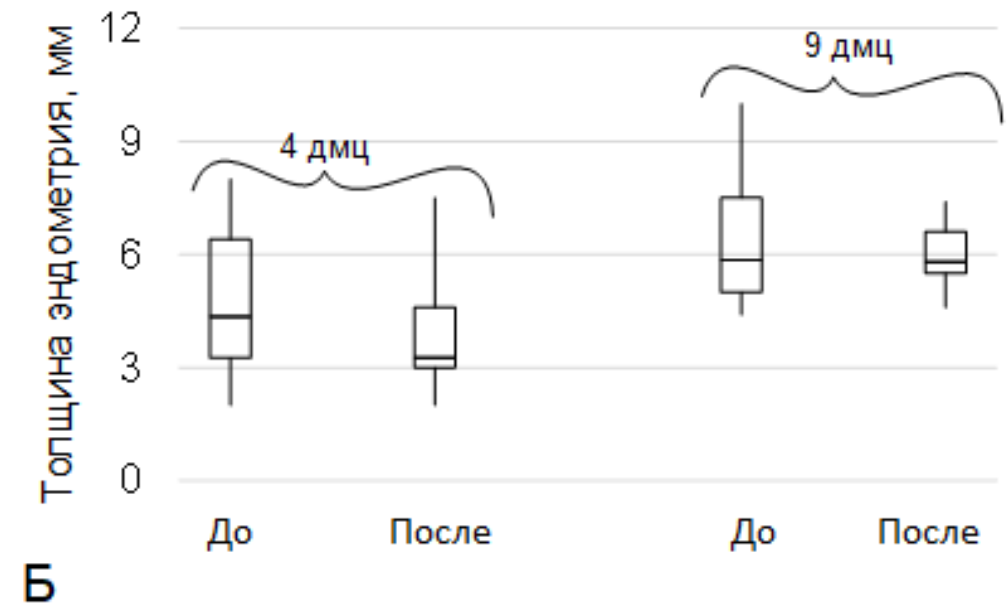
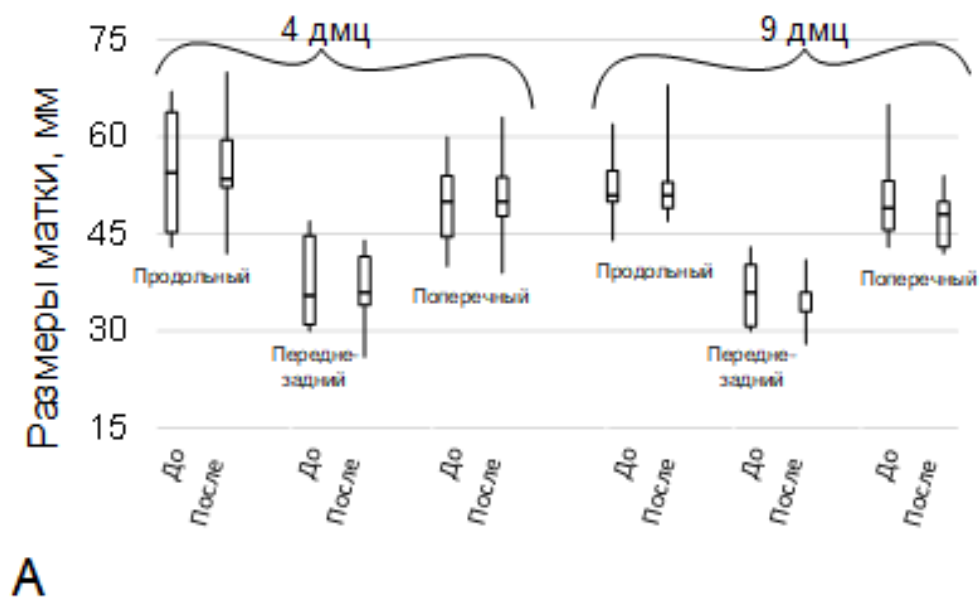


Рисунок 14. Размеры матки (А) и толщина эндометрия (Б) на 4-ый и 9-ый день менструального цикла до и после 5-суточной «сухой» иммерсии. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

Средний объем яичников участниц на четвертый день менструального цикла не отличался до и после 5-суточной «сухой» иммерсии. Однако на девятый день менструального цикла средний объем яичников после иммерсии уменьшился в среднем для группы; медианное значение после иммерсии было на 22% ниже ($p < 0,05$), чем до иммерсии (рис. 15 и 16).

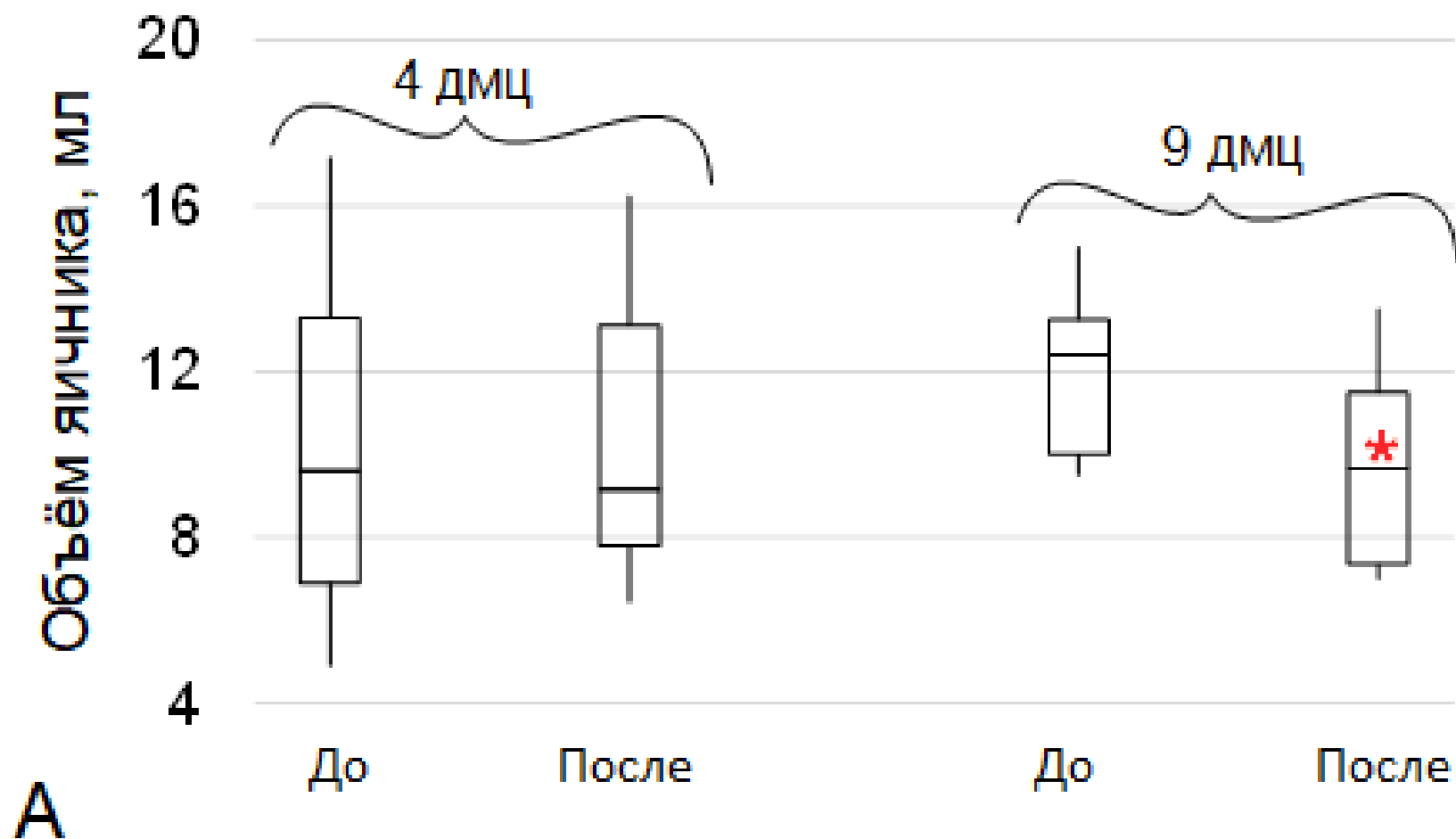


Рисунок 15. Средний объем яичника в группе до и после 5-суточной «сухой» иммерсии на 4-ый и 9-ый день менструального цикла. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

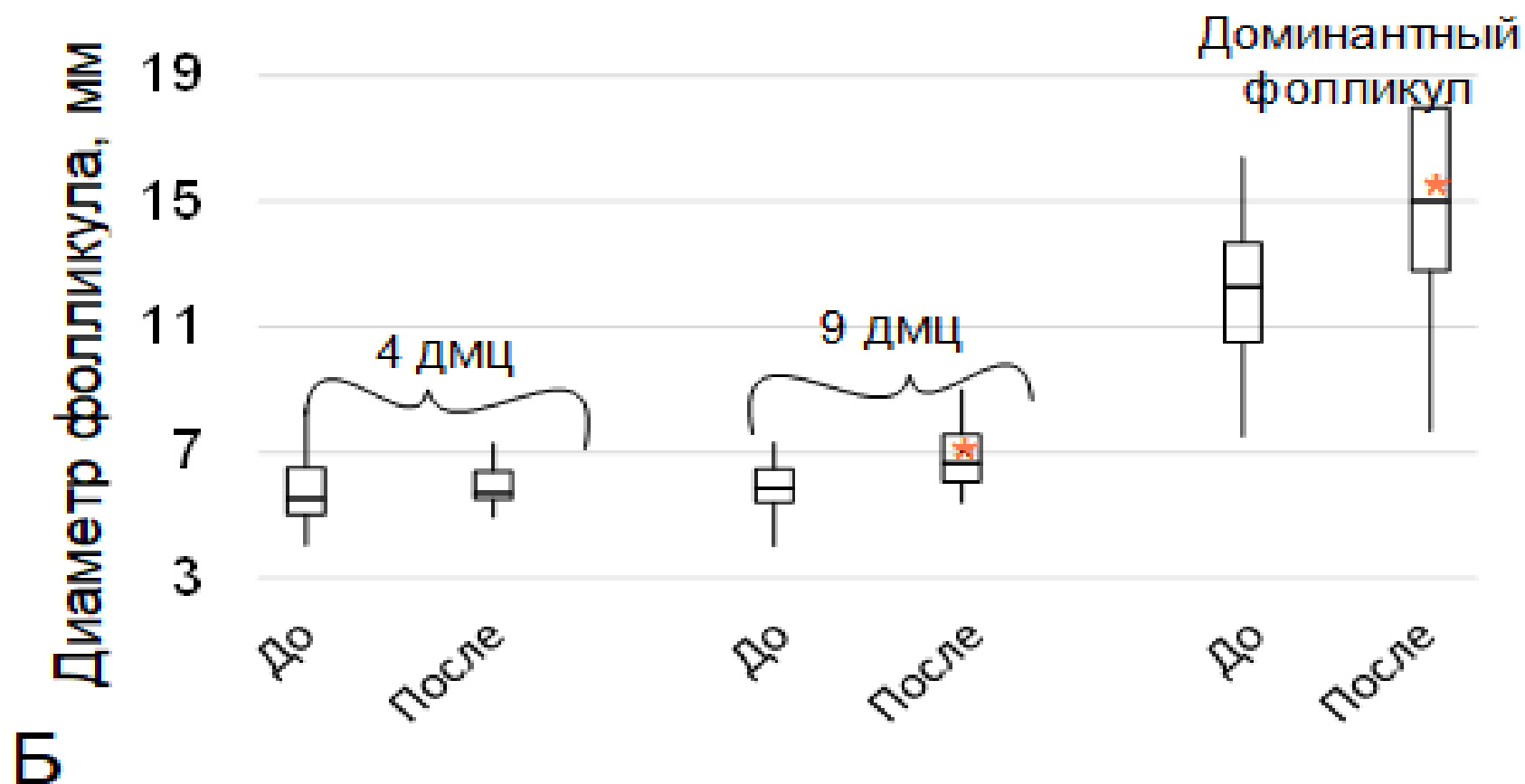


Рисунок 16. Средний диаметр фолликула для группы до и после 5-суточной «сухой» иммерсии на 4-ый и 9-ый день менструального цикла. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

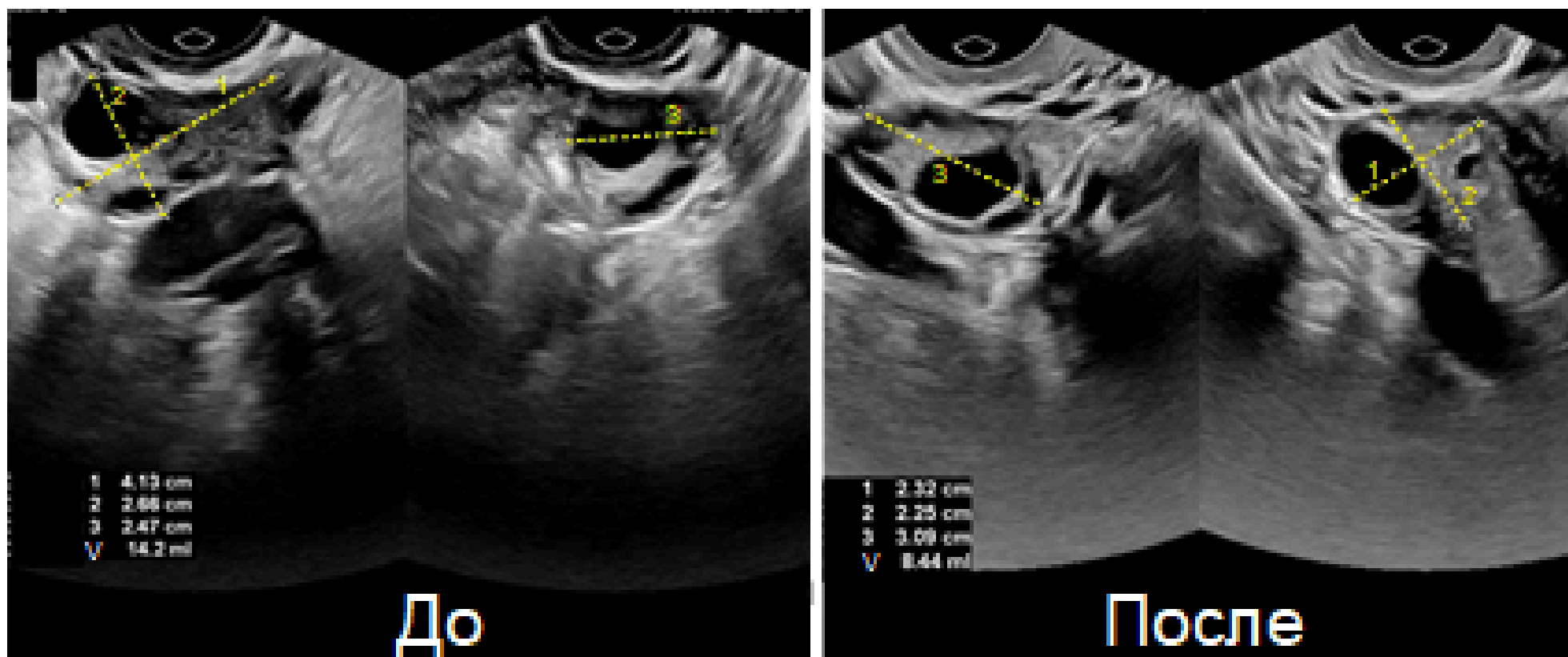


Рисунок 17. В качестве примера ультразвукового изображения: правый яичник, 9-ый день менструального цикла, одна и та же испытуемая до и после иммерсии, объём яичника уменьшился с 14мл до 8,4 мл, жёлтая пунктирная линия показывает размеры яичника в трёх проекциях, которые обозначены цифрами 1, 2, 3 на изображении. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

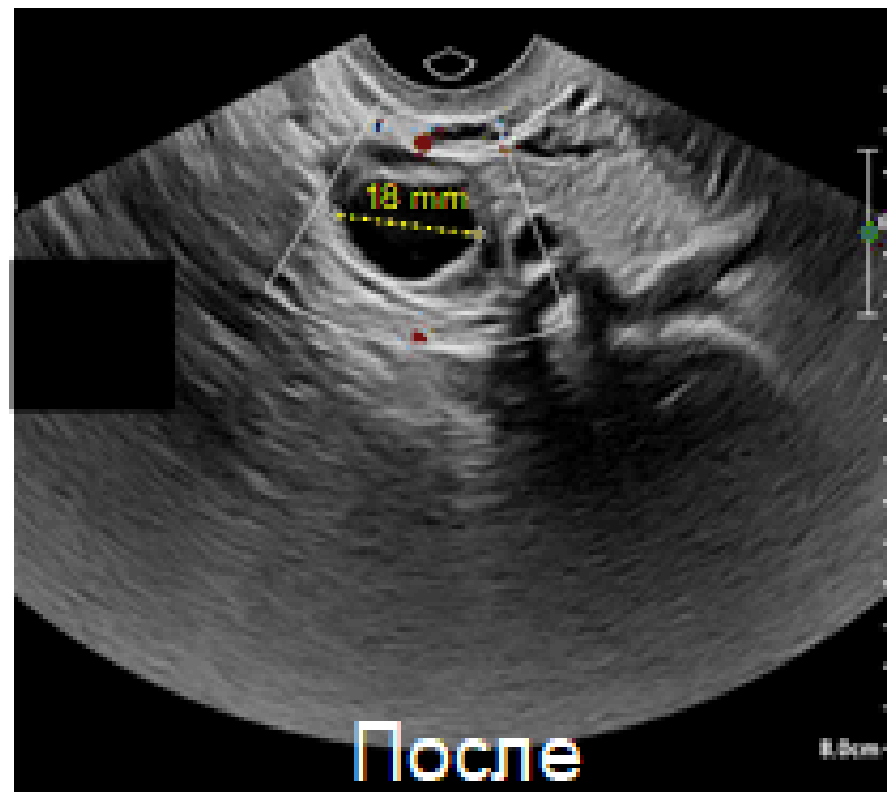
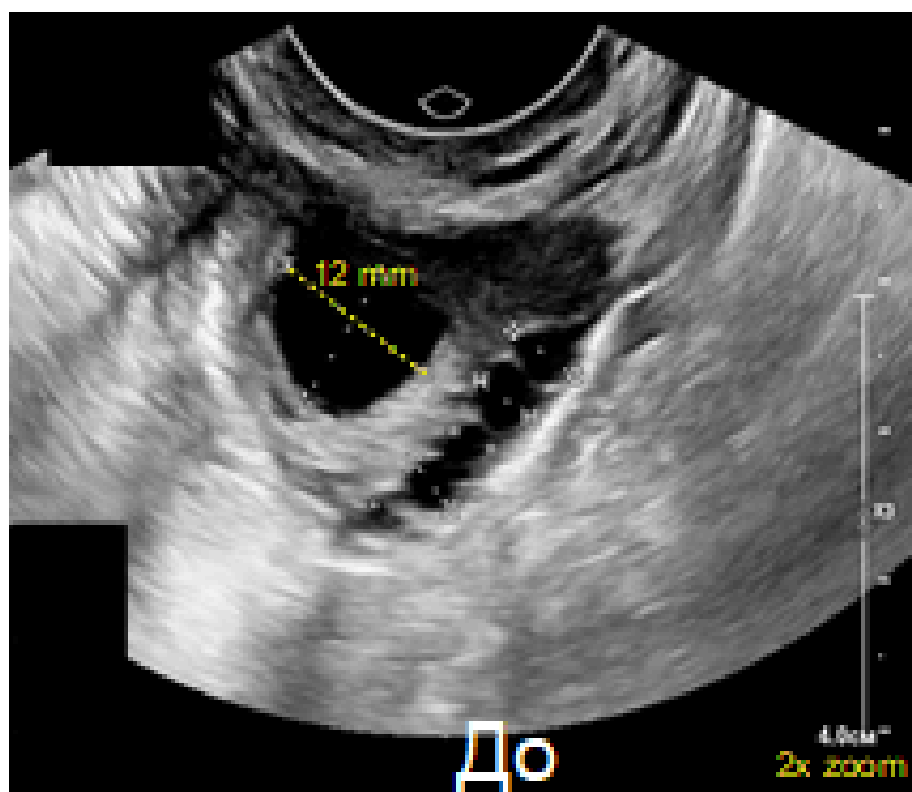


Рисунок 18. Пример ультразвукового изображения: 9-й день менструального цикла той же участницы эксперимента до и после иммерсии — диаметр доминирующего фолликула увеличился с 12 мм до 18 мм. Желтые пунктирные линии показывают размер доминирующего фолликула (в картинке "до" было использовано двухкратное увеличение). * $p < 0,05$ в сравнении с группой "до" в тот же день менструального цикла (ДМЦ). Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

Средний диаметр антральных фолликулов на четвертый день менструального цикла до и после иммерсии значительно не отличался, но на девятый день цикла после иммерсии он увеличился на 14% ($p < 0,05$), так же как и диаметр доминирующего фолликула на 22% ($p < 0,05$).

3.3 АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЕ ВЫВЕШИВАНИЕ

Вес яичников мышей после антиортостатического вывешивания в течение полного эстрального цикла (96 часов) не изменился: $9,6 \pm 0,8$ мг в контрольной группе и $9,0 \pm 0,6$ мг в группе мышей после антиортостатического вывешивания, также как и масса животных контрольной и экспериментальной групп не отличалась ($27,9 \pm 0,6$ г vs. $27,1 \pm 0,9$ г). Однако, масса гипофиза в группе вывешивания оказалась в среднем ниже, чем в контрольной группе на 32% ($p < 0,05$).

3.3.1. Скорость поглощения кислорода тканью яичников мышей, содержание белков, формирующих комплексы дыхательной цепи, и содержание мРНК соответствующих генов

После антиортостатического вывешивания самок мышей базальная скорость поглощения кислорода пермеабелизованными яичниками V0 увеличилась на 81% ($p < 0,05$), скорость Vglu+mal (после добавления субстратов комплекса I) — на 169% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (рис. 19). При добавлении АДФ максимальная скорость дыхания Vmax также увеличилась на 133% ($p < 0,05$) (рис. 19). Мы не наблюдали статистически значимых различий между скоростями потребления кислорода после ингибирования комплекса НАДН-дегидрогеназы и добавления субстратов второго комплекса дыхательной цепи, а также после ингибирования цитохром с-оксидазы и добавления субстратов комплекса IV (рис. 19).

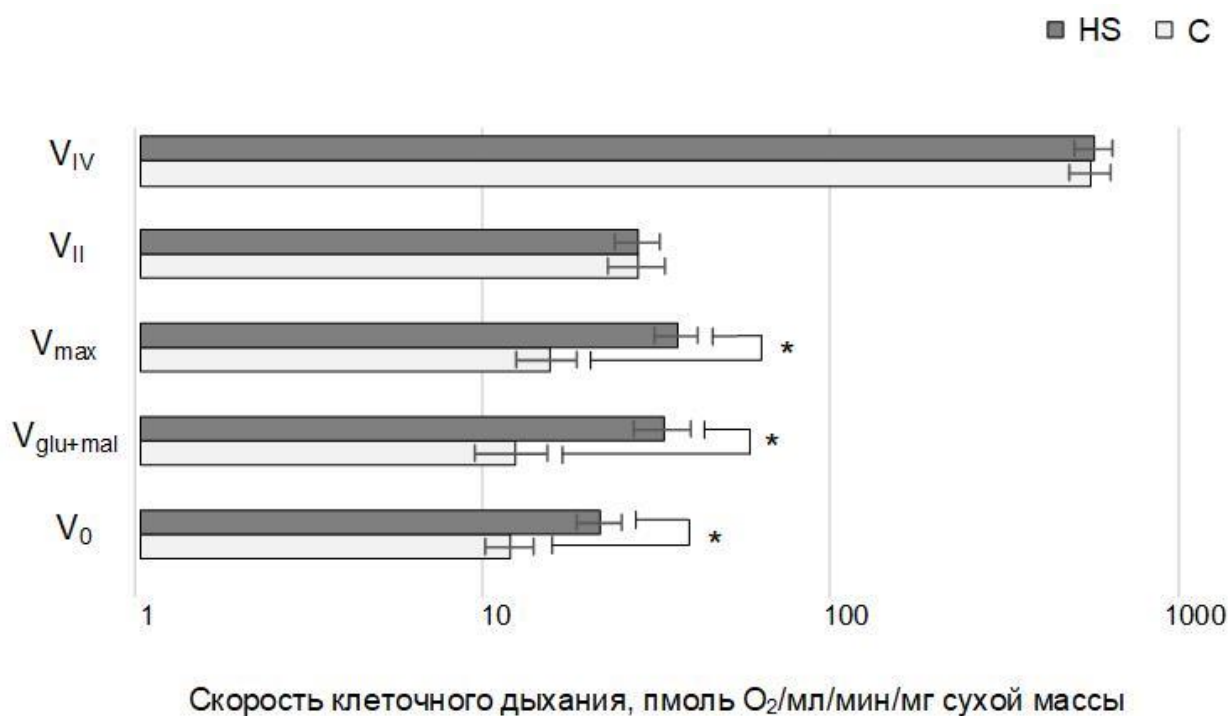


Рисунок 19. Скорость поглощения кислорода клетками яичников С – контрольная группа, HS – группа после антиортостатического вывешивания. V₀, Glu+mal, V_{max}, V_{II}, V_{IV} - это измеренные скорости поглощения кислорода при анализе соотношения субстрат-ингибитор (подробное описание приведено в материалах и методах). * - p<0,05 по сравнению с контрольной группой С. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

Относительное содержание белка, транспортирующего электроны, цитохром с, увеличилось после антиортостатического вывешивания на 31% (p < 0,05) по сравнению с контрольной группой (рис. 20). Также в группе антиортостатического вывешивания наблюдалось увеличение относительного содержания каталитической субъединицы F(1) АТФ-синтазы на 45% (p < 0,05) по сравнению с контрольной группой С (рис. 20).

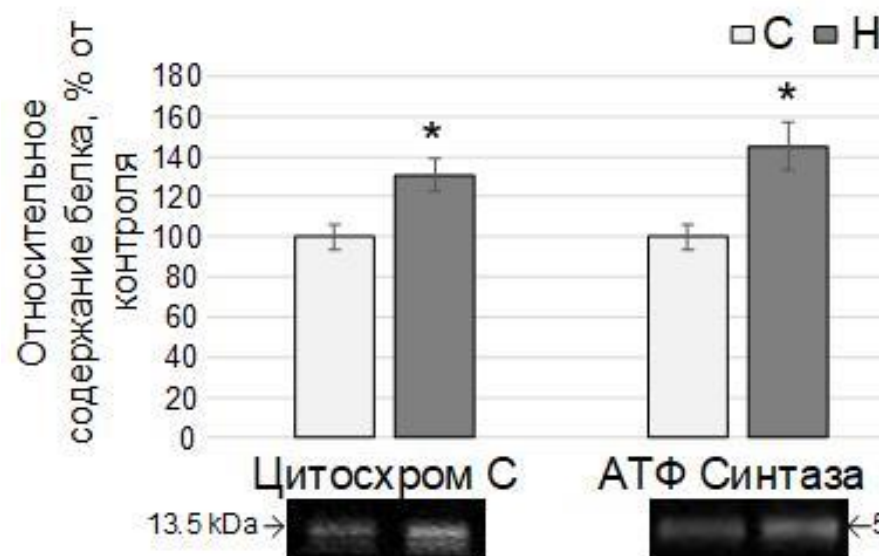


Рисунок 20. Относительное содержание белка в комплексах дыхательной цепи, * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

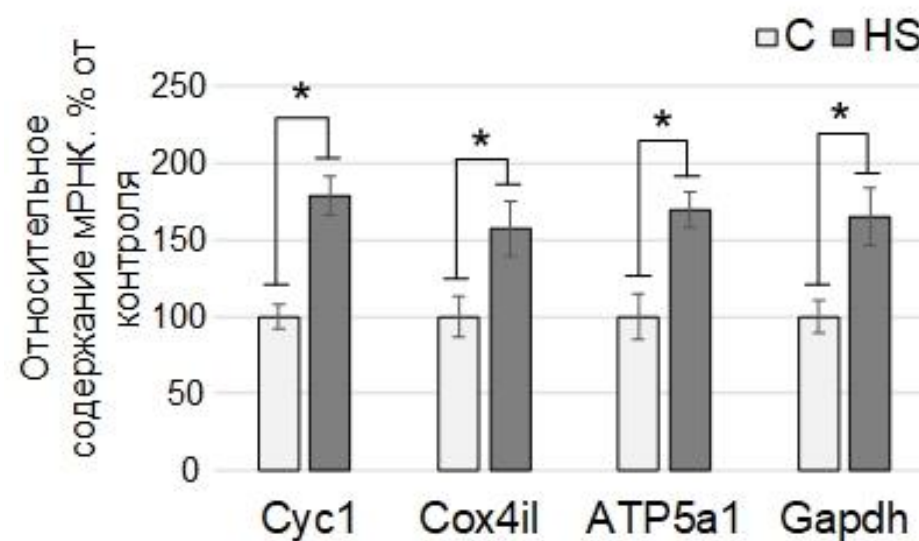


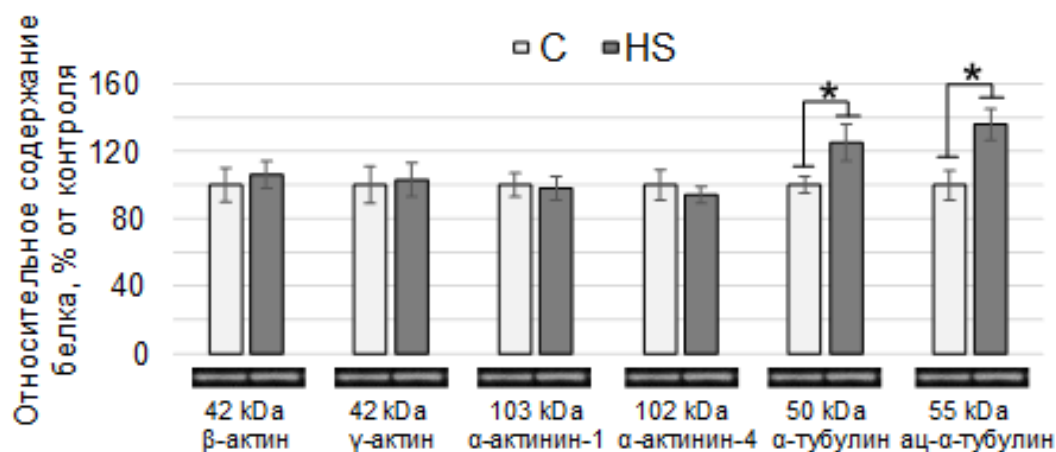
Рисунок 21. Относительное содержание мРНК в комплексах дыхательной цепи: Cys1 – цитохром с, Cox4il – цитохром с-оксидаза, ATP5a1 – субъединица F1 АТФ-синтазы, Gapdh - глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

Содержание мРНК генов, кодирующих белки цепи переноса электронов, *Cyc1*, *Cox4i1* и *ATP5a1*, увеличилось на 78% ($p < 0,05$), 56% ($p < 0,05$) и 69% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем (рис. 21). Кроме того, количество мРНК гена, кодирующего фермент, катализирующий обратимое окислительное фосфорилирование глицеральдегида-3-фосфата, *Gardh*, увеличилось на 65% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (рис. 21).

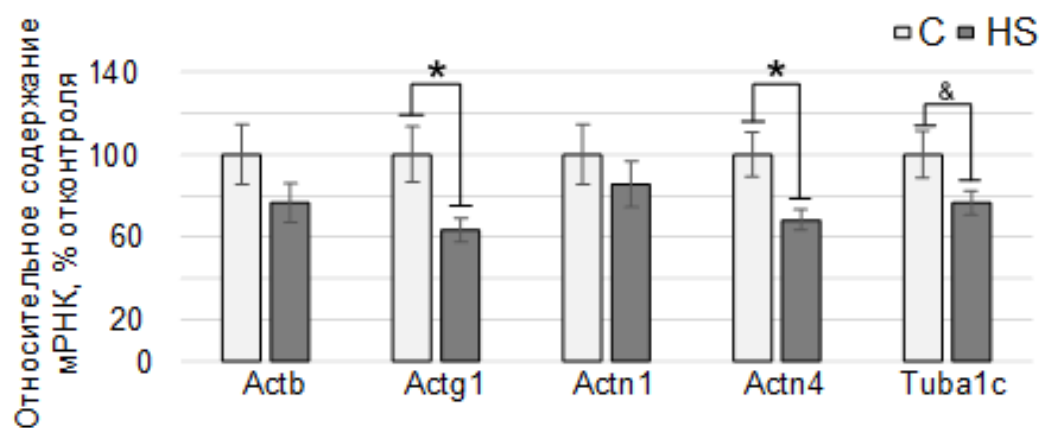
3.3.2 Относительное содержание цитоскелетных белков и мРНК, кодирующих их гены

Относительное содержание изоформ актина (бета и гамма) и актин-связывающих белков: альфа-актинин-1 и альфа-актинин-4, не изменилось после антиортостатического вывешивания по сравнению с контрольной группой (рис. 22А). В то же время мы наблюдали увеличение относительного содержания ацетилированной изоформы альфа-тубулина на 36% ($p < 0,05$) после воздействия условий, имитирующих эффекты невесомости. Содержание альфа-тубулина увеличилось на 25% ($p < 0,05$) в группе антиортостатического вывешивания (HS) по сравнению с контролем (рис. 22А).

Содержание мРНК гена *Actb*, кодирующего бета-актин, не изменилось на фоне снижения содержания мРНК гена, кодирующего гамма-актин, на 37% ($p < 0,05$) в группе антиортостатического вывешивания (HS) по сравнению с контролем (рис. 22Б). Содержание мРНК генов, кодирующих альфа-актинин-1, также осталось неизменным, в то время как относительное содержание мРНК гена, кодирующего альфа-актинин-4, уменьшилось на 32% ($p < 0,05$) в группе антиортостатического вывешивания по сравнению с контрольной группой. Содержание мРНК генов, кодирующих альфа-тубулин, значительно не изменилось в экспериментальной группе, но имело тенденцию к снижению ($p = 0,1$) (рис. 22Б).



A



Б

Рисунок 22. Относительное содержание белков цитоскелета и соответствующих мРНК в тканях яичников мышей. С – контрольная группа, HS – группа антиортоstaticеского вывешивания. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой С, & - $p = 0,1$ по сравнению с контрольной группой С. **А.** Содержание белка – бета-актина (42 кДа), гамма-актина (42 кДа), альфа-актинина-1 (103 кДа), альфа-актинина-4 (102 кДа). кДа), альфа-тубулин (50 кДа), ацетилированный альфа-тубулин (55 кДа). **Б.** Относительное содержание мРНК генов, кодирующих белки цитоскелета Actb, Actg1, Actn1, Actn4, Tuba1c – бета- и гамма-актин, альфа-актинин 1 и -4 и альфа-тубулин, соответственно. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

3.3.3. Содержание мРНК гена *Gdf9* в яичниках мышей после антиортостатического вывешивания

Содержание мРНК гена, кодирующего фактор дифференцировки роста 9 (GDF9), не изменилось в условиях, имитирующих воздействие невесомости, по сравнению с контрольной группой С (рис.23)

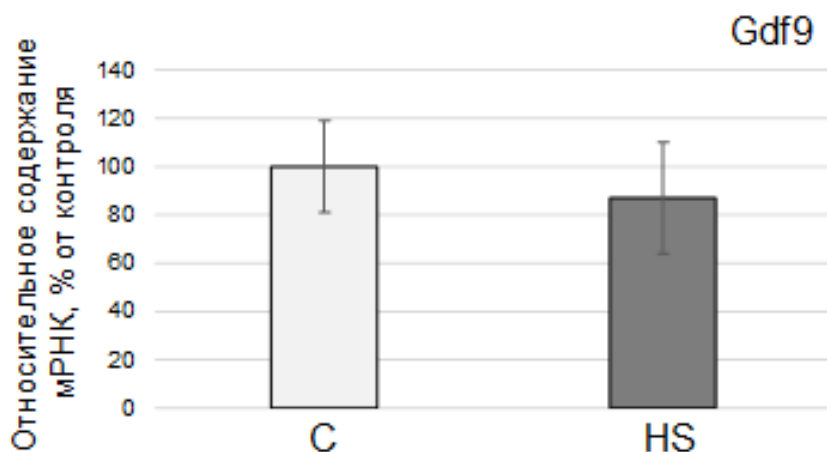


Рисунок 23. Относительное содержание мРНК гена, кодирующего GDF-9. С – контрольная группа, HS – группа, подверженная антиортостатическому вывешиванию. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al, 2023.

Содержание рецептора ЛГ в яичниках, согласно данным гелевого электрофореза, также увеличивалось в группе вывешивания, но на 66% ($p < 0,05$) (рис. 24А). В то же время содержание ЛГ в гипофизе после 96 часов антиортостатического вывешивания не отличалось от контрольного уровня (рис. 24Б). Вместе с тем увеличивалось и содержание мРНК гена *Lhcgr*, кодирующего рецептор ЛГ, в 2,1 раза ($p < 0,05$) по сравнению с тем же показателем в контрольной группе (рис.25Б).

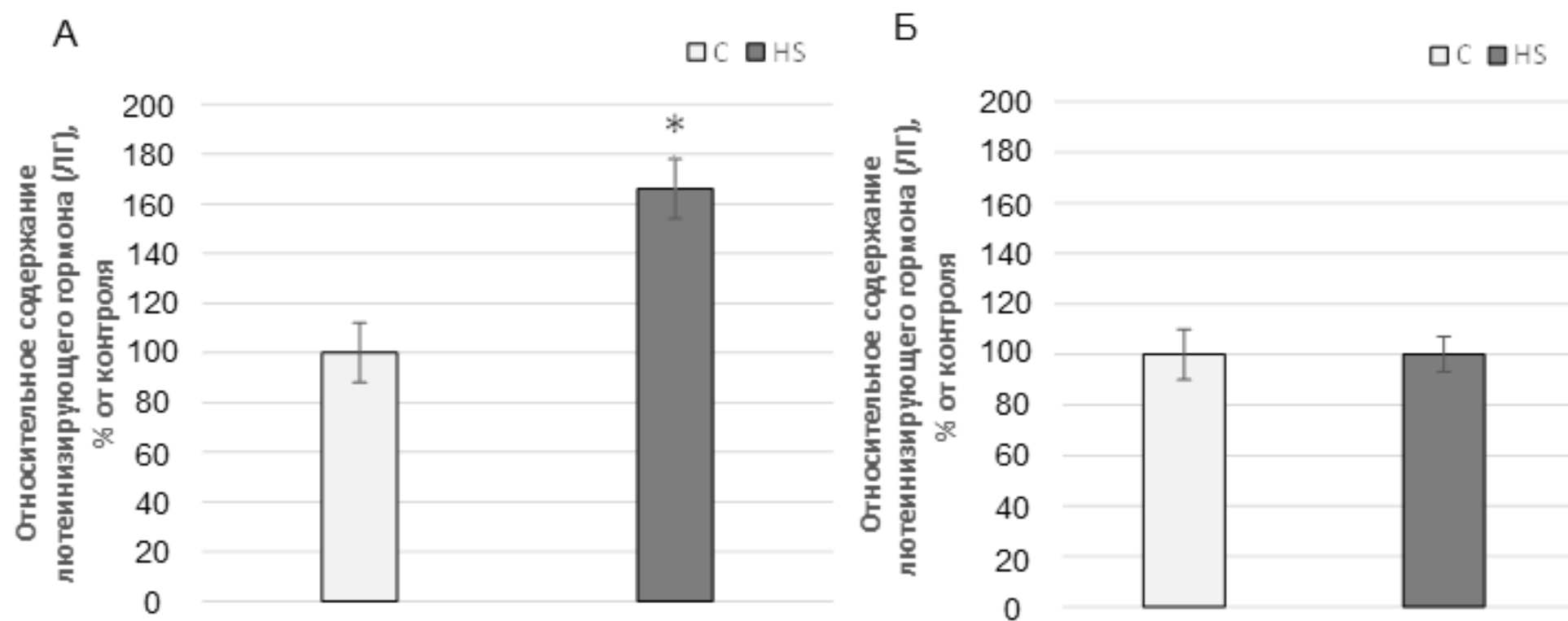


Рисунок 24. Относительное содержание лютеинизирующего гормона в яичниках (А) и в гипоталамусе (Б).

(Горбачева Е.Ю. и др. 2024)

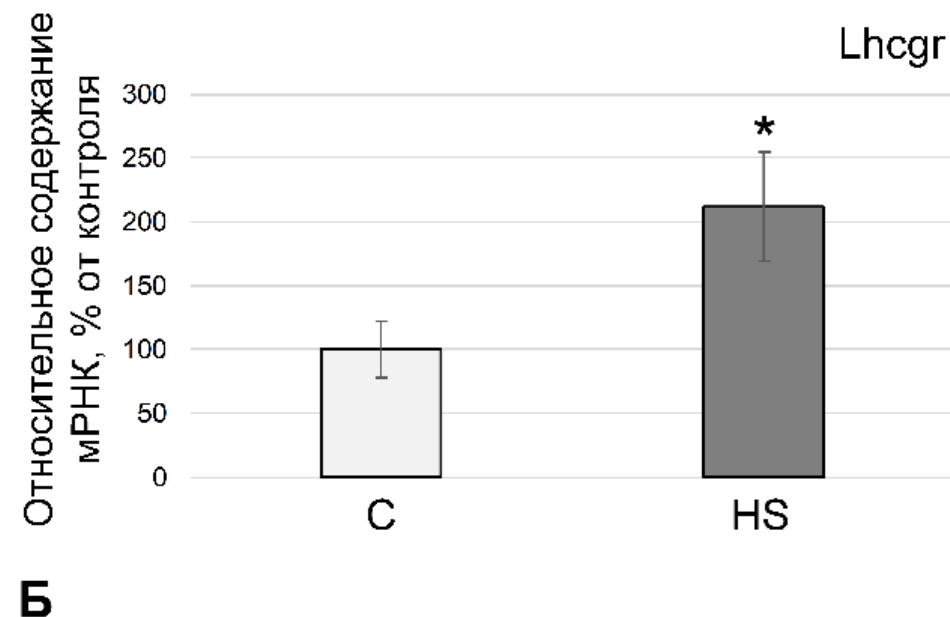
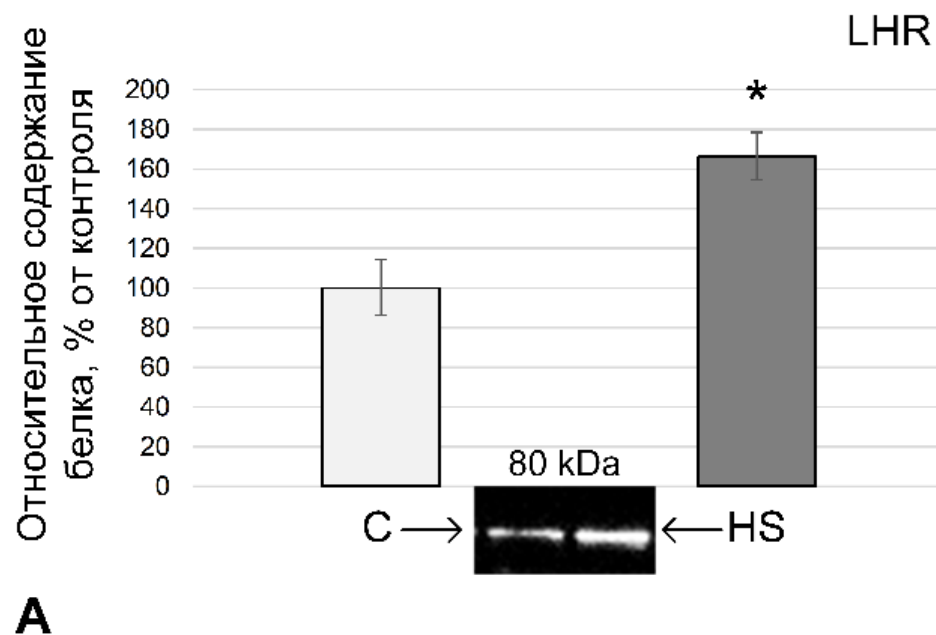


Рисунок 25. Относительное содержание белка и мРНК рецептора лютеинизирующего гормона в яичниках мыши после 96-часового антиортостатического вывешивания. (Горбачева Е.Ю. и др. 2024)

А – относительное содержание рецептора ЛГ в тканях яичников с типичным вестерн-блотом, Б – относительное содержание мРНК гена, кодирующего рецептор лютеинизирующего гормона (Lhcgr) в тканях яичников. С – контрольная группа, HS – группа антиортостатического вывешивания. * - $p < 0,05$ относительно контрольной группы С.

Относительное содержание бета-актина, не менялось, в то время, как содержание тубулина и его ацетилированной формы снижалось на 40% ($p < 0,05$) и 44% ($p < 0,05$) соответственно, относительно контрольной группы. 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. (рис. 26).

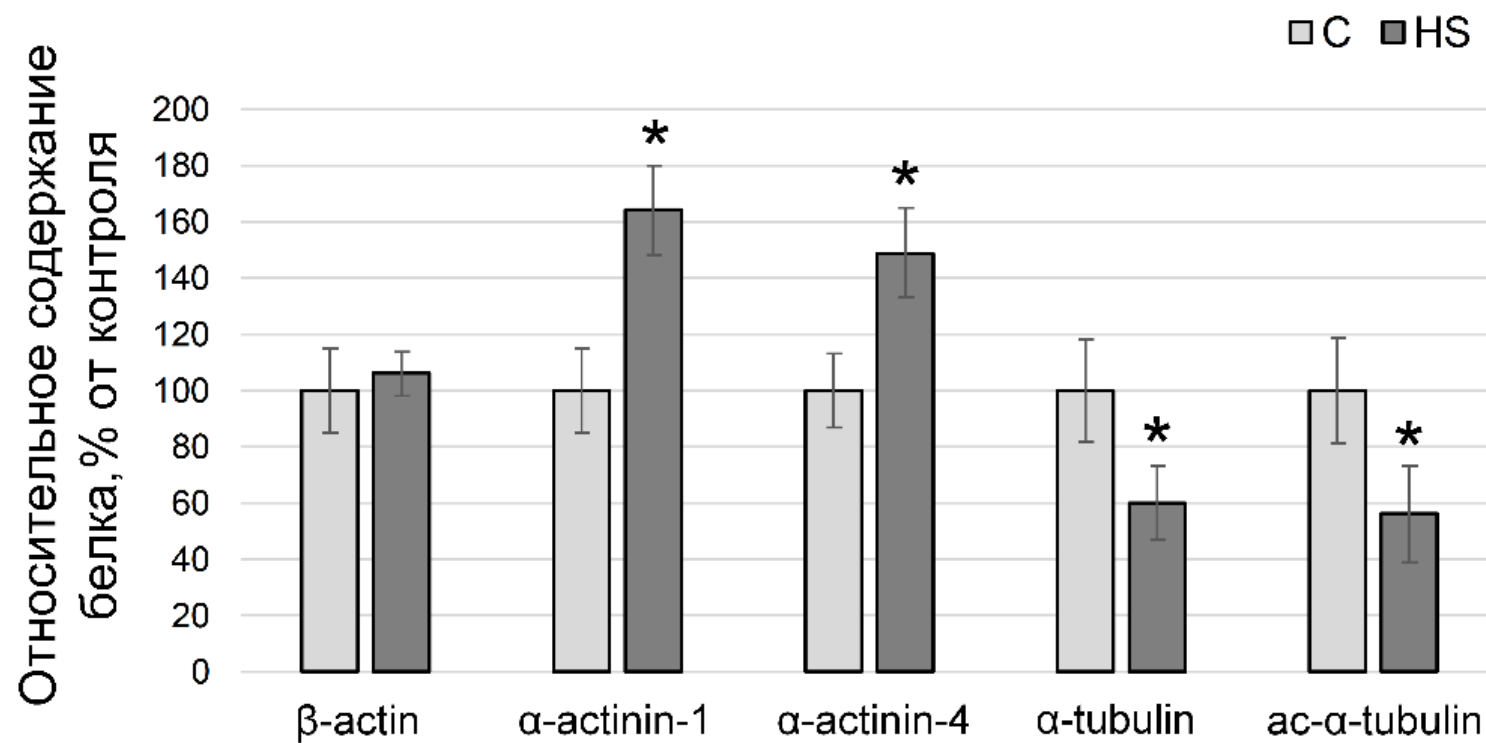
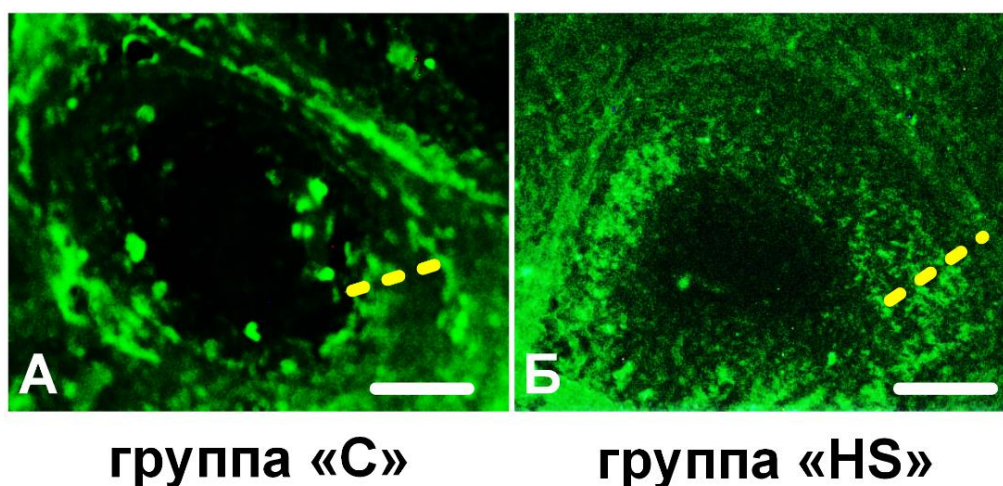


Рисунок 26. Относительное содержание цитоскелетных белков в тканях гипофиза после 96-часового антиортостатического вывешивания. (Горбачева Е.Ю. и др. 2024)

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.

3.3.4. Иммуногистохимическое окрашивание

Толщина слоя клеток гранулёзы (рис. 27 А и Б) в антральных фолликулах яичников мышей возрастала на 54% ($p < 0,05$) (рис. 28), а интенсивность флуоресценции в результате вывешивания увеличивалась на 71% ($p < 0,1$) по сравнению с контрольной группой (рис. 29).



Масштабная линейка соответствует 50 мкм

Рисунок 27. Репрезентативные изображения иммуноокрашивания тонких срезов ткани яичника антителами к рецептору ЛГ, конъюгированными с красителем FITC. Виден фолликул, а также разница в толщине окрашенного слоя между группами вокруг него. С – контрольная группа, HS – группа антиортостатического вывешивания (Горбачева Е.Ю. и др. 2024).

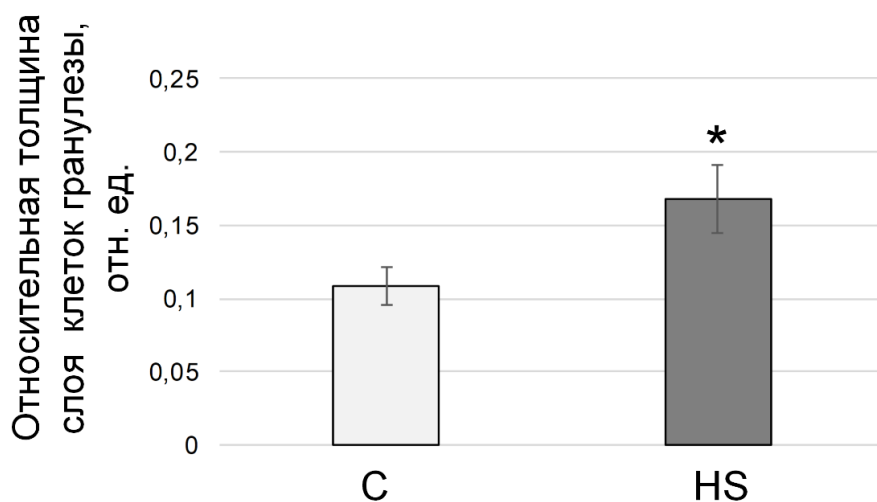


Рисунок 28. Относительная толщина клеток гранулёзы. Относительную толщину определяли как отношение толщины кольцевого слоя к размеру фолликула. C – контрольная группа, HS – группа антиортостатического вывешивания. * - $p < 0,05$ относительно контрольной группы C (Горбачева Е.Ю. и др. 2024)

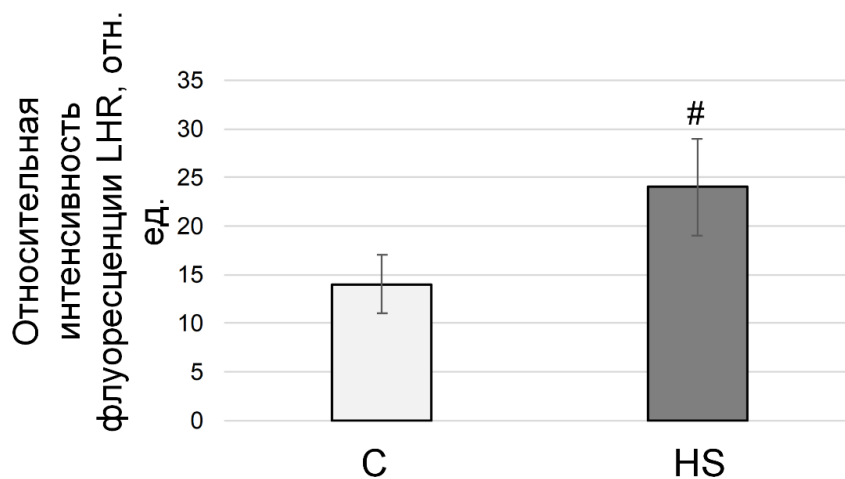


Рисунок 29. Относительная интенсивность флуоресценции после окрашивания рецептора ЛГ. Показатель определяли как отношение флуоресцентного сигнала к площади, с которой он излучался. C – контрольная группа, HS – группа антиортостатического вывешивания. # - $p < 0,1$ относительно контрольной группы C (Горбачева Е.Ю. и др. 2024)

4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1 КОСМИЧЕСКИЙ ПОЛЁТ

Данные, полученные в ходе подготовки к полёту, а также во время и после 157-суточного полёта женщины-космонавта позволяют сделать предположение о влиянии факторов космического полёта на процесс созревания фолликулов, на что указывают изменения в содержании гормонов, вовлеченных в процесс созревания и рекрутизации фолликулов, а также их диаметр.

Цикл роста фолликула от примордиального до овуляторного занимает около 175 дней (Gougeon A., 1986), то есть около 6–7 менструальных циклов. Единой точки зрения на динамику роста рекрутированных фолликулов нет (Baerwald A.R. et al., 2012), в связи с этим важно проводить наблюдение в течение длительного времени, что и было сделано в рассматриваемом эксперименте, вследствие чего мы можем анализировать процесс рекрутизации.

В результате космического полета мы обнаружили снижение общего числа антральных фолликулов на 15-20% (Рис.12). Анализируя ранний послеполетный период, мы оценивали фолликулы, рекрутированные к росту в начале космического полета, и их количество увеличилось (Рис. 12, Г), возможно ввиду снижения концентрации АМГ (Таблица 4), который в норме подавляет рекрутирование примордиальных фолликулов (Durlinger A.L. et al. 2002). В то же время количество средних и растущих фолликулов было меньше, чем до полета (Рис. 12, Г), что может указывать на повреждающее действие ионизирующего излучения и снижение эффективности перехода к активному ФСГ-зависимому росту. Можно предположить, что последнее связано со снижением числа рецепторов ФСГ на клетках гранулёзы ранних антральных фолликулов, что приводит к уменьшению

поглощения и, следовательно, к увеличению концентрации ФСГ в крови, наблюдавшемуся в этом случае (Таблица 4).

Однако фолликулы, которые все же переходили в стадию активного роста (подгруппа с диаметром ≥ 6 мм), имели средний диаметр больше, чем до полета (Рис. 12В). Увеличение содержания ингибина В (Таблица 4) в этот период указывает на то, что увеличение диаметра так же связано с большим количеством клеток гранулёзы. В этих же клетках происходит синтез эстрадиола, что может объяснять его увеличение в крови (Таблица 4). В свою очередь, повышение синтеза эстрадиола должно вести увеличению количества его предшественников. Прямыми предшественниками эстрадиола являются тестостерон, концентрация которого не менялась, и андростендион (через эстрон), уровень которого в ранний послеполетный период снижался почти на 40% после полёта по сравнению с исходными данными, затем увеличивался и снова снижался (Таблица 4). Предшественники андростендиона, прогестерон и 17-ОН-прогестерон, также имели немонотонную динамику: сначала увеличивалось содержание 17-ОН-прогестерона одновременно со снижением прогестерона, а затем происходило обратное. Другими словами, на основании данных о динамике содержания гормонов можно предположить, что эффективность стероидогенеза по оси прогестерон - 17-ОН-прогестерон - андростендион - 17 β -эстрадиол увеличивалась, приводя к волнообразному накоплению каждого последующего продукта.

Стоит, однако, отметить, что в предполетный период у обследуемой женщины-космонавта уровень прогестерона был почти в 2 раза выше установленной популяционной нормы для соответствующей фазы менструального цикла. Мы предполагаем, что наблюдаемые изменения могли быть связаны с изменениями в режиме физической активности после назначения в экипаж, так как другие показатели репродуктивной функции оставались в пределах нормальных значений.

Прогестерон синтезируется клетками теки в ЛГ-зависимом порядке. Следовательно, в ранней фолликулярной фазе поглощение ЛГ должно увеличиваться, что, вероятно, приводило к наблюдаемому снижению его концентрации в крови (Таблица 4). Подобное снижение должно вести к усилению синтеза ЛГ гипофизом, что, предположительно, в овуляторной фазе может отражаться в увеличении его относительной пиковой концентрации (Рис. 8).

Кроме того, из данных позднего послеполетного периода следует, что не все, а только некоторые фолликулы диаметром более 6 мм были рекрутированы во время космического полета – средний диаметр этой подгруппы уменьшался по сравнению с ранним послеполетным периодом, но оставался немного выше, чем до полета (Рис. 12В). Аналогично, ингибин В также оставался выше, хотя уровень эстрадиола возвращался к исходному значению (Таблица 4).

В то же время количество фолликулов в когорте активно растущих фолликулов позднего послеполётного периода не отличалось от того же показателя до полёта и оказывалось выше, чем в двух других когортах (Рис. 12). Этот эффект наблюдался на фоне снижения концентрации ФСГ также до предполетного значения (Таблица 4). Однако в когорте ранних антральных фолликулов (которые были рекрутированы для роста после посадки) как количество, так и средний диаметр снижались относительно предполётного периода (Рис. 12 В, Г), несмотря на то, что уровень АМГ оставался сниженным, как и в ранний послеполетный период.

Мы полагаем, что снижение числа фолликулов, в основном, может быть связано с действием ионизирующего излучения, источниками которого на околоземной орбите служат выбросы солнечного вещества (СВ), а также галактическое излучение (ГКЛ). В виду отсутствия чётких границ магнитосферы, отклоняющие высокоэнергетические заряженные частицы, большая часть данных, присутствующих в литературе посвящена полётам за пределы низкой околоземной орбиты. Однако, эти данные можно

использовать для оценки вероятности влияния ионизирующего излучения на организм космонавта.

Основываясь на расчетах, даже крупные СВ, по прогнозам, будут доставлять дозы $<0,5$ Гр-экв во внутренние органы и дозы на кожу $<2,5$ Гр, при этом интенсивность достигает максимума при мощности дозы приблизительно $0,12$ Гр-экв/час в кроветворные органы (Kim M., et al., 1989, Hu. S., Cucinotta F.A. 2011). В случае СВ, аналогичного по величине событию 1972 года, экипаж астронавтов получил бы внутрикорабельную дозу облучения кожи, примерно равную допустимому пределу облучения, установленному НАСА, в течение 1 года космического полета ($3,0$ Гр-экв для кожи и 500 мГр-экв для кроветворных органов) (Cucinotta F.A., Durante M., 2009)

Согласно докладу Cohen et al. (Cohen M.M. et al., 2012) описанные дозы равны предельно допустимым дозам излучения, которые астронавт может получить за всё время карьеры, или превосходят их, причем допустимая доза для мужчин считается примерно в два раза большей, чем для женщин. Разница допустимых норм обусловлена, прежде всего, различием гаметогенеза. У мужчин формирование зрелых половых клеток сопровождается интенсивным клеточным делением, что делает их чувствительными к действию ионизирующего излучения. Такие особенности связывают с высокой вероятностью возникновения повреждений в ДНК и невозможностью их своевременного исправления специализированными ферментами. Описанные повреждения могут быть очень разнообразными от нарушения метилирования, ведущего к нарушению цепи эпигенетических событий (Miousse I.R. et al., 2017) до возникновения двуцепочечных разрывов (Li C.-Y., 2023) или наоборот неправильных перекрестных связей между нитями (Dextraze M.-E. et al., 2010). Однако женщины изначально имеют ограниченный, невозполняемый запас примордиальных фолликулов и любое их повреждение приводит к атрезии и снижению овариального резерва.

Тем не менее, можно полагать, что наблюдаемые в рамках рассматриваемого полёта эффекты на фолликулогенез обусловлены, в первую очередь, влиянием невесомости. В пользу этого говорит и тот факт, что количество фолликулов, рекрутированных в последнюю четверть полета, даже превышало исходный уровень, то есть не происходило ожидаемого вследствие излучения существенного угнетения рекрутизации.

Таким образом, в результате анализа влияния 157-суточного космического полета на репродуктивную систему женщины-космонавта было показано, что длительность менструального цикла не менялась, в течение всего периода наблюдения происходила овуляция. Сразу после космического полета наблюдалось увеличение диаметра активно растущих фолликулов и содержания ингибина В при снижении концентрации ЛГ и прогестерона в раннюю фолликулярную фазу. Можно полагать, что подобные изменения связаны с увеличением числа клеток гранулёзы, окружающих растущий ооцит, особенно в гормон-зависимую фазу роста. Поскольку длительность этой фазы составляет около 50 дней (Gougeon A., 2010), то можно предположить, что воздействие невесомости в одном менструальном цикле может привести к увеличению числа гранулёзы в доминантном фолликуле, созревающем в следующем цикле. Проверку этого предположения мы провели в эксперименте с участием женщин-испытуемых – 5-суточная «сухая» иммерсия.

4.2 5-СУТОЧНАЯ «СУХАЯ» ИММЕРСИЯ

В рамках развития предположения о влиянии эффектов невесомости на процесс созревания фолликулов мы использовали данные, полученные в ходе эксперимента «сухая» иммерсия» длительностью 5 дней. Мы оценивали динамику содержания ряда гормонов в крови, а также размер яичников и доминантного фолликула. Полученные результаты

свидетельствуют о том, что содержание АМГ не различалось до и после иммерсии (Рисунок 13, А), что может указывать на то, что рекрутирование пула спящих примордиальных фолликулов не изменилось. Следует ещё раз отметить, что возможное влияние 5-дневной иммерсии на пул примордиальных фолликулов можно было бы оценить только через 5-6 месяцев из-за продолжительности цикла роста фолликулов, однако ввиду организационных сложностей это было невозможно.

Однако, содержание ингибина В значительно увеличилось после иммерсии (Рисунок 13, Б). Ингибин В синтезируется гранулезными клетками растущих фолликулов, поэтому можно предположить увеличение числа клеток и/или увеличение экспрессии гена ингибина В. Последнее кажется более вероятным, поскольку диаметр фолликула, согласно данным ультразвукового исследования, не изменился на четвертый день цикла до и после иммерсии (Рисунок 16). До стадии малого антрального фолликула как АМГ, так и ингибин В синтезируются гранулезными клетками растущего фолликула (Rimon-Dahari N. et al., 2016; Gershon E., Dekel N., 2020), но мы не наблюдали изменений в содержании АМГ. Продукция ингибина В продолжается на стадии большого антрального фолликула, поэтому можно предположить, что изменения в гранулезных клетках происходят в то же время.

Пик содержания ингибина В наблюдается при диаметре фолликула около 11 мм (Andersen C.Y., 2017), и, как и эстрадиол, ингибин В подавляет синтез ФСГ в середине фолликулярной фазы (Andersen C.Y., 2017). Мы проанализировали содержание ФСГ на четвертый день цикла и не обнаружили изменений в результате иммерсии (Рисунок 13, В). Однако на девятый день цикла после иммерсии диаметр антральных фолликулов был достоверно больше, как и размер доминантного фолликула (Рисунок 18). Более того, диаметр доминантного фолликула в среднем превышал 15 мм, что может косвенно указывать на укорочение фолликулярной фазы и приближение овуляции. Однако следует отметить, что испытуемые не

заметили изменения продолжительности менструального цикла, во время которого они находились в условиях «сухой» иммерсии. При этом уровень ЛГ в крови на четвертый день цикла был значительно ниже после иммерсии, чем до него (Рисунок 13, Г). Снижение ЛГ может быть связано со снижением его секреции гипофизом, но мы не нашли в литературе данных подтверждающих этот эффект у людей в результате действия невесомости. Вместе с тем, у грызунов после антиортостатического вывешивания наблюдалось уменьшение массы гипофиза, хотя без изменения содержания гонадотропинов (Tou J.C.L. et al., 2004). С другой стороны, снижение ЛГ в крови может быть связано с увеличением его утилизации в ткани яичника. Ингибин В ингибирует действие активина, который подавляет синтез рецепторов ЛГ (Edson M.A. et al., 2009). Другими словами, ингибин В оказывает стимулирующее действие на экспрессию гена рецептора ЛГ клетками теки, что, в свою очередь, может привести к увеличению поглощения ЛГ из крови и снижению его концентрации в ней.

Лютеинизирующий гормон приводит к образованию желтого тела и контролирует синтез им прогестерона. Соответственно, снижение ЛГ может объяснить снижение уровня прогестерона в крови, наблюдаемое после иммерсии (Рис. 13Д). Более того, после пребывания в постельном режиме у женщин также отмечалось снижение уровня прогестерона (Rock J.A. et al., 1984), а у мышей после космического полета - отсутствие формирования желтого тела (Frett T. et al., 2020). Однако на четвертый день менструального цикла, когда мы проводили исследование, желтое тело предыдущего цикла регрессировало, а новое ещё не сформировывалось.

Синтез прогестерона клетками гранулезы начинается даже до овуляторного пика ЛГ через рецепторный путь простагландина E2/EP2, стимулируемый GDF9 (Elvin J.A. et al., 2000; Vitt U. et al., 2000; Otsuka F. et al., 2011), но, следует отметить, что прогестерон в минимальных количествах также синтезируется в соматических тканях, которые мы не исследовали, что ограничивает наши предположения.

Обобщая полученные результаты, мы можем предложить возможную последовательность событий (рис. 30), которые приводят к увеличению диаметра доминантного фолликула, увеличению концентрации ингибина В в крови и снижению концентрации ЛГ и прогестерона.

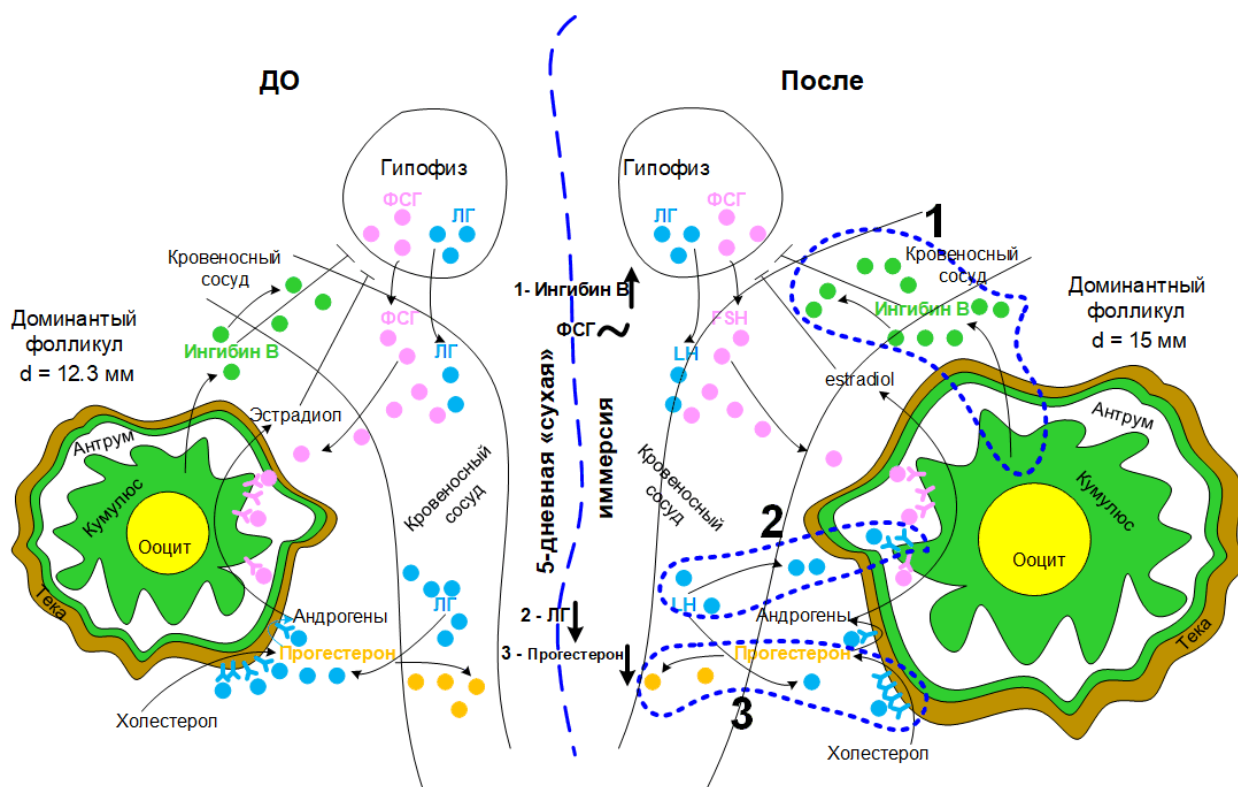


Рисунок 30. Возможная схема событий, приводящих к изменению концентрации гормонов и диаметра доминантного фолликула после 5-суточной «сухой» иммерсии. Изменения содержания гормонов обозначены следующим образом: ↑—увеличение, ↓—уменьшение, ~—без изменений. Адаптировано из Gorbacheva E.Y. et al., 2023. В результате пребывания в «сухой» иммерсии в течение 5 суток в следующем менструальном цикле происходит увеличение количества гранулезных клеток растущих антральных фолликулов. Это приводит к усилению роста доминантного фолликула в следующем цикле и ускорению его созревания. Таким образом, увеличивается диаметр доминантного фолликула, а за счет увеличения количества гранулезных клеток повышается продукция ингибина В (обозначено маленьким зеленым кружочком), а также его концентрация в

крови. (2) Ускоренное созревание фолликула приводит к более раннему появлению рецепторов к ЛГ на гранулезных клетках и, как следствие, к его большей утилизации из кровотока. Соответственно, концентрация ЛГ (обозначена маленьким голубым кружочком) в крови снижается. (3) Снижение концентрации ЛГ в крови приводит к его дефициту для рецепторов, расположенных на клетках теки, и, как следствие, к уменьшению синтеза прогестерона (обозначено маленьким желтым кружочком) и снижению его концентрации в крови. Стрелки обозначают миграцию гормонов, синяя пунктирная линия — потоки, изменившиеся после иммерсии.

Ввиду организационных сложностей женщин размещали в иммерсионной ванне на 10-12 день менструального цикла, без учета данных ультразвукового исследования, что определило неоднородность полученных результатов и разброс по выборке испытуемых. Однако, проспективный анализ результатов показывает, что в случае, если испытуемую помещали в условия «сухой» иммерсии в средне-фолликулярную фазу (на 10-й день менструального цикла), то стимуляция деления клеток гранулезы в пуле малых антральных фолликулов приводит к следующему менструальному циклу к увеличению пула антральных фолликулов. Такое воздействие можно использовать при ранних формах ПНЯ (преждевременной недостаточности яичников), когда число антральных фолликулов резко снижено. В случае, если воздействие невесомости имело место в поздне-фолликулярную — овуляторную — лютеиновую фазу (на 12-й день менструального цикла), то увеличение числа клеток гранулезы и, соответственно, числа рецепторов к ФСГ, приводит к увеличению диаметра доминантного фолликула. Такой подход может быть востребован при синдром поликистозных яичников (СПКЯ), характеризующимся нарушением процесса фолликулогенеза.

4.3 96-ЧАСОВОЕ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЕ ВЫВЕШИВАНИЕ МЫШЕЙ

Итак, в исследовании гормонального статуса женщин после 5-дневного пребывания в условиях, имитирующих невесомость («сухая» иммерсия), показали, что концентрация ингибина В в крови и диаметр доминантного фолликула были увеличены в следующем за иммерсией менструальном цикле. Аналогичные данные, а именно увеличение содержания ингибина В и увеличение среднего диаметра активно растущего фолликула, были получены в ходе обследования женщины-космонавта после 157-суточного космического полета. Суммируя эти результаты, можно предположить, что невесомость, реальная или симулированная, стимулирует деление клеток гранулезы, которые обеспечивают растущий в фолликуле ооцит питательными веществами, повышая его потенциал к последующему развитию зиготы (Andersen C.Y., 2017). Однако, оценить функциональное состояние ткани яичника в экспериментах с участием человека как испытуемого невозможно. В то же время, в экспериментах на *Drosophila melanogaster*, подвергнутых условиям имитирующим действие невесомости на протяжении 79 часов (соответствующим оогенезу у плодовой мушки), наблюдалось увеличение интенсивности окислительного фосфорилирования (OXPHOS), что является индикатором функциональной активности ткани (Ogneva I.V. et al., 2021). Но, существующие различия в типе оогенеза и гормональном регулировании не позволяют экстраполировать эти результаты на млекопитающих. Поэтому для оценки функционального статуса яичников млекопитающих мы подвергали самок мышей антиортостатическому вывешиванию в течение полного эстрального цикла, отражающего гормон-зависимую стадию роста фолликулов (96 часов).

Вес и животных, и яичников в контрольной и экспериментальной группах не отличался, но скорость поглощения кислорода яичниками

мышей после антиортостатического вывешивания значительно росла (рис. 19). Субстрат-ингибиторный анализ показал, что интенсификация процесса окислительного фосфорилирования происходит из-за комплекса I дыхательной цепи митохондрий. Усиление OXPHOS из-за комплекса I указывает на то, что в ткани яичников мышей под действием невесомости не происходит эффекта Варбурга, который, например, проявляется в яичниках плодовых мушек в аналогичных условиях (Ogneva I.V. et al., 2021) и усиливает обычный тип энергоснабжения.

Необходимо отметить, что комплекс I является основным источником активных форм кислорода (АФК) в клетке (Lambert A.J. et al., 2009), Соответственно, усиление окислительного фосфорилирования, особенно из-за комплекса I, может привести к увеличению содержания РФК, что было продемонстрировано *in vitro* в эксперименте, когда овариальные фолликулы были подвергнуты условиям, имитирующим невесомость (Cheng K. et al., 2023). Кроме того, следует отметить, что увеличение окислительного стресса сопряжено с уменьшением синтеза белков, формирующих комплексы I, III и IV дыхательной цепи митохондрий в гиппокампе крыс после антиортостатического вывешивания (Wang Y. et al., 2016). Однако, с другой стороны, развитие окислительного стресса происходит при нарушении баланса производства АФК и антиоксидантной системы (Nguyen H.P. et al., 2021). и, кроме того, может привести к аномальному митохондриальному делению (Youle R.J. et al., 2012). Согласно данным электронной микроскопии, когда клетки подвергались эффектам действия невесомости, происходила их фрагментация, но количество митохондрий не изменялось (Miglietta S. et al., 2023).

Описанное явление может происходить в результате увеличения содержания других комплексов дыхательной цепи. Чтобы проверить это предположение, мы определили содержание ключевых компонентов дыхательной цепи - цитохрома с и АТФ-синтазы, и обнаружили увеличение их содержания (рис. 20), вероятно, из-за увеличения содержания мРНК

соответствующих генов (рис. 21). Похожая стратегия повышения интенсивности OXPHOS за счет увеличения числа копий мРНК генов, кодирующих комплексы дыхательной цепи, также характерна для других тканей мышей, в частности, для сердца (Fernández-Vizarra E. et al., 2011; Herbers E. et al., 2019).

Однако, остается вопрос о механизме, при котором содержание мРНК митохондриальных белков увеличивается под действием невесомости. Регуляция структурного и функционального рисунка митохондрий у разных видов и в разных тканях часто определяется их взаимодействием с цитоскелетом (Bartolák-Suki E. et al., 2017; Shah M. et al., 2021; Fernández Casafuz A.B. et al., 2023). Например, в клетках культивированных человеческих лимфоцитов (типа Jurkat) при реальных условиях невесомости происходит изменение митохондриальной локализации из-за деградации цитоскелетных белков, и наблюдаются изменения морфологии крист, что может указывать на нарушение функции митохондрий (Schatten H. et al., 2001).

Поэтому мы определили содержание ключевых цитоскелетных белков в тканях яичников. Актин вовлечен в митохондриальную локализацию (Fung T.S. et al., 2023), но его содержание в ткани яичников мыши не изменилось после антиортостатического вывешивания (рис. 22 А), как не изменилось содержание белков, связывающих актин, которые организуют микрофиламенты в сеть - альфа-актинина-1 и альфа-актинина-4. Микротрубочки, образуемые тубулином, вовлечены в транспорт митохондрий и установку их локализации (Bartolák-Suki E. et al., 2017; Heggeness M.H. et al., 1978). После 96 часового антиортостатического вывешивания содержание альфа-тубулина (рис. 22 А) и его ацетилированной изоформы (маркера стабильных микротрубочек) увеличилось в тканях яичников, что соответствует наблюдаемому увеличению интенсивности OXPHOS.

Аналогично увеличению содержания белков, формирующих комплексы дыхательной цепи, мы предположили, что увеличение содержания альфа-тубулина может быть связано с увеличением содержания мРНК его гена. Оказалось, содержание мРНК *Tuba1c* в ткани яичника мыши после 96 часов вывешивания достоверно не отличалось от контроля, но имело слабую тенденцию к снижению (рис. 22Б). Кроме того, на фоне неизменности содержания актина и актин-связывающих белков, содержание мРНК гамма-актина и альфа-актинина-4 падает (рис. 22 Б).

Этот белок-мРНК-паттерн может указывать на регуляцию содержания цитоскелетных белков на уровне трансляции/протеолиза. В то же время, антиортостатическое вывешивание на более продолжительный срок, 23 дня, приводит к изменению этого баланса: на фоне постоянства содержания цитоскелетных белков: содержание их мРНК становится выше, чем в контроле (Usik M.A. et al., 2019). Мы можем предположить, что такая динамика изменений содержания мРНК может быть связана с эпигенетическими событиями, в частности, с установлением гипометилированного статуса ДНК в яичниках мыши после 23 дней антиортостатического вывешивания (Usik M.A. et al., 2019). Это предположение спекулятивно, хотя было показано, что во время космического полета уровень метилирования ДНК в предимплантационных эмбрионах снижается (Lei X. et al., 2020). Кроме того, были показаны динамика изменений 5hmC и снижение уровня метилирования определенных областей ДНК в клетках лимфомы человека (Chowdhury B. et al., 2016), возможно, в результате увеличения активности деметилаз, которое было продемонстрировано в лимфоцитах при моделировании эффектов невесомости (Singh K.P. et al., 2010).

При этом, на фоне увеличения клеточного дыхания ткани яичников для анализа возможных повреждений ооцита мы определили содержание мРНК *GDF9* – маркера состояния, который производится самим ооцитом и регулирует рост клеток гранулезы (de Castro F.C. et al., 2016), и не нашли

различий между группой после 96 часов вывешивания и контрольной группой (рис. 23), что свидетельствует об интактности ооцита.

Окрашивание срезов яичников антителами к ЛГ, которые экспрессируются, прежде всего на клетках гранулезы показало достоверное увеличение толщины слоя гранулёзных клеток в антральных фолликулах в группе вывешивания по сравнению с аналогичными параметрами в контрольной группе (Рис. 29), что подтвердило наше предположение, выдвинутое после анализа данных космического полета и «сухой» иммерсии – реальная или симулированная невесомость приводит к стимуляции деления клеток гранулезы, которые синтезируют ингибин В, и объясняет увеличение последнего в крови женщин, описанное выше.

Кроме того, увеличение содержания рецептора лютеинизирующего гормона в кумулюсе фолликулов может приводить к повышению эффективности захвата ЛГ из крови и, соответственно, к отмеченному у женщин снижению его концентрации в крови в раннюю фолликулярную фазу. Но вероятным остается и предположение о снижении синтеза ЛГ в гипофизе, что мы проверили в этом же эксперименте.

Антиортостатическое вывешивание приводило к уменьшению массы гипофиза, что отмечали и ранее (Tou J.C.L. et al., 2004), но, несмотря на это, содержание ЛГ в его тканях не изменялось. Данное обстоятельство может свидетельствовать об интактности системы секреции ЛГ в гипофизе. Однако в гипофизе мышей группы антиортостатического вывешивания было снижено содержание тубулина (Рис. 26) – основного компонента микротрубочек, которые обеспечивают внутриклеточный транспорт везикул с ЛГ к клеточной мембране для их секреции (Young L.S. et al., 1985; Miklavc P., Frick M., 2020). При этом увеличение содержания актин-связывающих белков в ткани гипофиза этой группы мышей (Рис. 26) может приводить к увеличению жесткости подмембранного цитоскелета (Ogneva I.V. 2013), который обеспечивает слияние везикул, и, таким образом, замедлять скорость экзоцитоза (Wu L. et al., 2021) Таким образом, с одной

стороны увеличение рецепторов ЛГ на клетках гранулезы, а с другой – предполагаемое снижение секреции ЛГ в крови на фоне его неизменного синтеза могут объяснять уменьшение концентрации этого гормона в крови женщин после космического полета и пребывания в условиях «сухой» иммерсии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном исследовании было показано, что реальный космический полета снижает количество антральных фолликулов, по-видимому, в результате действия ионизирующего излучения. В то же время, клинических значимых изменений женской репродуктивной системы у женщины-космонавта с неотягощенным гинекологическим анамнезом не обнаружено, во время полета сохранялся нормальный менструальный цикл и был пик ЛГ, свидетельствующий об овуляции. Невесомость приводила к возрастанию концентрации ингибина В в крови и увеличению диаметра антральных фолликулов, которые вступили в фазу гормон-зависимого роста, что было подтверждено в модельном эксперименте 5-суточная «сухая» иммерсия, причем в зависимости от фазы начала экспозиции удавалось получить либо увеличение числа антральных фолликулов, либо - диаметра доминантного фолликула. Однако концентрация ЛГ и прогестерона в раннюю фолликулярную фазу снижаются, что, хотя и не является клинически значимым при оценке в этот период цикла, но формирует настороженность относительно возможной последующей имплантации и требует дополнительных исследований. Проведенное антиорто статическое вывешивание мышей в течение полного эстрального цикла, которое отражает гормон-зависимое созревание фолликулов показало, что увеличение диаметра, отмеченное в исследованиях с участием женщин, обусловлено увеличением числа клеток гранулезы, которые питают растущий ооцит, что является хорошим прогностическим критерием относительно его качества. Соответственно, увеличение числа рецепторов к ЛГ в фолликуле может объяснять снижение его концентрации в крови, однако, полученные данные свидетельствуют о возможном снижении секреции ЛГ в гипофизе на фоне неизменного синтеза в результате нарушения процессов везикулярного транспорта и экзоцитоза.

ВЫВОДЫ

1. Космический полёт в течение 157 суток не приводит к клинически значимым изменениям в органах малого таза и к изменениям в длительности менструального цикла. В условиях космического полета сохранялась овуляция.
2. Условия реальной и моделируемой невесомости приводят к увеличению диаметра антральных фолликулов, ассоциированного с ростом ингибина В у человека.
3. Антиортостатическое вывешивание приводит к увеличению числа клеток гранулезы и интенсификации окислительного фосфорилирования в ткани яичников у мышей.
4. Пребывание в невесомости сопровождается снижением уровня лютеинизирующего гормона и прогестерона в крови у женщин.
5. Антиортостатическое вывешивание приводит к уменьшению массы гипофиза при неизменном содержании ЛГ в нем и к снижению содержания некоторых цитоскелетных белков, участвующих в везикулярном транспорте и экзоцитозе.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Amann R.P., Deaver D.R., Zirkin B.R., Grills G.S., Sapp W.J., Veeramachaneni D.N., Clemens J.W., Banerjee S.D., Folmer J., Gruppi C.M., et al. Effects of microgravity or simulated launch on testicular function in rats // *Journal of Applied Physiology*. — 1992. — Vol. 73. — P. S174–S185. — DOI: 10.1152/jappl.1992.73.6.S174
2. Baerwald A.R., Adams G.P., Pierson R.A. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review // *Human Reproduction Update*. — 2012. — Vol. 18, No. 1. — P. 73–91. — DOI: 10.1093/humupd/dmr039.
3. Baevsky R.M., Moser M., Nikulina G.A., Polyakov V.V., Funtova I.I., Chernikova A.G. Autonomic regulation of circulation and cardiac contractility during a 14-month space flight // *Acta Astronautica*. — 1998. — Vol. 42. — P. 159–173. — DOI:10.1016/S0094-5765(98)00114-3
4. Baker T. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. — 1963. — Vol. 158. — P. 417–433.
5. Baran R., Marchal S., Campos S.G., Rehnberg E., Tabury K., Baselet B., Wehland M., Grimm D., Baatout S. The Cardiovascular System in Space: Focus on In Vivo and In Vitro Studies // *Biomedicines*. — 2021. — Vol. 10. — Article 59. — DOI: 10.3390/biomedicines10010059
6. Bartolák-Suki E., Imsirovic J., Nishibori Y., Krishnan R., Suki B. Regulation of Mitochondrial Structure and Dynamics by the Cytoskeleton and Mechanical Factors // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2017. — Vol. 18, No. 8. — Article 1812. — DOI: 10.3390/ijms18081812.
7. Bright S., Kadhim M. The future impacts of non-targeted effects // *International Journal of Radiation Biology*. — 2018. — Vol. 94, No. 8. — P. 727–736. — DOI: 10.1080/09553002.2018.1454617.

8. Casey T., Patel O.V., Plaut K. Transcriptomes reveal alterations in gravity impact circadian clocks and activate mechanotransduction pathways with adaptation through epigenetic change. // *Physiol Genomics*. — 2015. — Apr. — Vol. 47, No. 4. — P. 113-128. — DOI:10.1152/physiolgenomics.00117.2014.
9. Casey T., Zakrzewska E.I., Maple R.L., Lintault L., Wade C.E., Baer L.A., Ronca A.E., Plaut K. Hypergravity disruption of homeorhetic adaptations to lactation in rat dams include changes in circadian clocks. // *Biol Open*. — 2012. — Jun 15. — Vol. 1, No. 6. — P. 570-581. — DOI: 10.1242/bio.2012687.
10. Cheng K., Feng X., Yang C., Ma C., Niu S., Jia L., Yang X., Liang J., Bo Y., Geng K., et al. Simulated microgravity reduces quality of ovarian follicles and oocytes by disrupting communications of follicle cells. // *NPJ Microgravity*. — 2023. — Vol. 9. — P. 7. — DOI: <https://doi.org/10.1038/s41526-023-00248-5>
11. Chowdhury B., Seetharam A., Wang Z., Liu Y., Lossie A.C., Thimmapuram J., Irudayaraj J. A Study of Alterations in DNA Epigenetic Modifications (5mC and 5hmC) and Gene Expression Influenced by Simulated Microgravity in Human Lymphoblastoid Cells. // *PLoS ONE*. — 2016. — Vol. 11. — e0147514. — DOI: 10.1371/journal.pone.0147514.
12. Clément G.R., Bukley A.P., Paloski W.H. Artificial gravity as a countermeasure for mitigating physiological deconditioning during long-duration space missions. // *Front Syst Neurosci*. — 2015. — Jun 17. — Vol. 9. — P. 92. — DOI: 10.3389/fnsys.2015.00092.
13. Cohen M.M., O'Donnell D.J., Becker R.E., Brody A. Interstellar sweat equity. // *100 Year Starship 2012 Public Symposium Proceedings*. — 2012.
14. Cucinotta F.A., Durante M. Risk of radiation carcinogenesis. // *Human health and performance risks of space exploration missions*. — NASA SP-2009-3405. — Houston: National Aeronautics and Space Administration, 2009. — P. 119-170.

15. de Castro F.C., Cruz M.H., Leal C.L. Role of Growth Differentiation Factor 9 and Bone Morphogenetic Protein 15 in Ovarian Function and Their Importance in Mammalian Female Fertility — A Review. // Asian Australas. J. Anim. Sci. — 2016. — Vol. 29. — P. 1065–1074. — DOI: 10.5713/ajas.15.0797
16. Deaver D.R., Amann R.P., Hammerstedt R.H., Ball R., Veeramachaneni D.N., Musacchia X.J. Effects of caudal elevation on testicular function in rats. Separation of effects on spermatogenesis and steroidogenesis. // J. Androl. — 1992. — Vol. 13. — P. 224–231.
17. Delp M.D., Charvat J.M., Limoli C.L., Globus R.K., Ghosh P. Apollo Lunar Astronauts Show Higher Cardiovascular Disease Mortality: Possible Deep Space Radiation Effects on the Vascular Endothelium. // Sci. Rep. — 2016. — Vol. 6. — P. 29901. <https://doi.org/10.1038/srep29901>
18. Dextraze M. E., Gantchev T., Girouard S., Hunting D. DNA interstrand cross-links induced by ionizing radiation: an unsung lesion // Mutation Research. — 2010. — Apr-Jun. — Vol. 704, Iss. 1-3. — P. 101–107. — DOI: 10.1016/j.mrrev.2009.12.007.
19. Dong L., Teh D. B. L., Kennedy B. K., Huang Z. Unraveling female reproductive senescence to enhance healthy longevity // Cell Research. — 2023. — Jan. — Vol. 33, No. 1. — P. 11–29. — DOI: 10.1038/s41422-022-00718-7.
20. Dumesic D. A., Meldrum D. R., Katz-Jaffe M. G., Krisher R. L., Schoolcraft W. B. Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health // Fertility and Sterility. — 2015. — Vol. 103, No. 2. — P. 303–316. — DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.11.015.
21. Durlinger A. L., Gruijters M. J., Kramer P., Karels B., Ingraham H. A., Nachtigal M. W., et al. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary // Endocrinology. — 2002. — Vol. 143. — P. 1076–1084. — DOI: 10.1210/endo.143.3.8691.

22. Edson M. A., Nagaraja A. K., Matzuk M. M. The Mammalian Ovary from Genesis to Revelation // *Endocrine Reviews*. — 2009. — Vol. 30. — P. 624–712. — DOI: 10.1210/er.2009-0012.
23. Elvin J. A., Yan C., Matzuk M. M. Growth differentiation factor-9 stimulates progesterone synthesis in granulosa cells via a prostaglandin E2 / EP2 receptor pathway // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2000. — Vol. 97. — P. 10288–10293. — DOI: 10.1073/pnas.180295197.
24. Fernández Casafuz A. B., De Rossi M. C., Bruno L. Mitochondrial cellular organization and shape fluctuations are differentially modulated by cytoskeletal networks // *Scientific Reports*. — 2023. — Vol. 13. — P. 7543. — DOI: 10.1038/s41598-023-34566-1.
25. Fernández-Vizarra E., Enríquez J. A., Pérez-Martos A., Montoya J., Fernández-Silva P. Tissue-specific differences in mitochondrial activity and biogenesis // *Mitochondrion*. — 2011. — Jan. — Vol. 11, No. 1. — P. 207–213. — DOI: 10.1016/j.mito.2010.09.011.
26. Findlay J. K., Drummond A. E. Regulation of the FSH Receptor in the Ovary // *Trends in Endocrinology and Metabolism*. — 1999. — Vol. 10, No. 5. — P. 183–188. — DOI: 10.1016/s1043-2760(98)00144-1.
27. Fitts R. H., Trappe S. W., Costill D. L., Gallagher P. M., Creer A. C., Colloton P. A., Peters J. R., Romatowski J. G., Bain J. L., Riley D. A. Prolonged space flight-induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres // *The Journal of Physiology*. — 2010. — Vol. 588. — P. 3567–3592. — DOI: 10.1113/jphysiol.2010.188508.
28. Frett T., Green D. A., Mulder E., Noppe A., Arz M., Pustowalow W., Petrat G., Tegtbur U., Jordan J. Tolerability of daily intermittent or continuous short-arm centrifugation during 60-day 60 head down bed rest (AGBRESA study) // *PLoS ONE*. — 2020. — Vol. 15, No. 9. — P. e0239228. — DOI: 10.1371/journal.pone.0239228.

29. Fung T. S., Chakrabarti R., Higgs H. N. The multiple links between actin and mitochondria // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. — 2023. — Vol. 24. — P. 651–667. — DOI: 10.1038/s41580-023-00632-9.
30. Ganesan S., Keating A. F. Ovarian mitochondrial and oxidative stress proteins are altered by glyphosate exposure in mice // *Toxicology and Applied Pharmacology*. — 2020. — Sep 1. — Vol. 402. — P. 115116. — DOI: 10.1016/j.taap.2020.115116.
31. Gershon E., Dekel N. Newly Identified Regulators of Ovarian Folliculogenesis and Ovulation // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2020. — Vol. 21, No. 13. — P. 4565.— DOI: 10.3390/ijms21134565.
32. Globus R. K., Morey-Holton E. Hindlimb unloading: rodent analog for microgravity // *Journal of Applied Physiology* (1985). — 2016. — May 15. — Vol. 120, No. 10. — P. 1196–1206. — DOI: 10.1152/japplphysiol.00997.2015.
33. 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 // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2023. — Vol. 24, No. 13. — P. 4160. — DOI: 10.3390/ijms24134160.
34. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results // *Human Reproduction*. — 1986. — Feb. — Vol. 1, No. 2. — P. 81–87. — DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136365.
35. Gougeon A. Human ovarian follicular development: from activation of resting follicles to preovulatory maturation // *Annales d’Endocrinologie*. — 2010. — Vol. 71, No. 3. — P. 132–143. — DOI: 10.1016/j.ando.2010.02.021.
36. Hadley J. A., Hall J. C., O’Brien A., Ball R. Effects of a simulated microgravity model on cell structure and function in rat testis and

- epididymis // *Journal of Applied Physiology*. — 1992. — Vol. 72. — P. 748–759. — DOI: 10.1152/jappphysiol.1992.72.3.748.
37. Hargens A. R., Watenpaugh D. E. Cardiovascular adaptation to spaceflight // *Medicine and Science in Sports and Exercise*. — 1996. — Vol. 28. — P. 977–982. — DOI: 10.1097/00005768-199608000-00011.
 38. Heggeness M. H., Simon M., Singer S. J. Association of mitochondria with microtubules in cultured cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1978. — Aug. — Vol. 75, No. 8. — P. 3863–3866. — DOI: 10.1073/pnas.75.8.3863.
 39. Herbers E., Kekäläinen N. J., Hargas A., Pohjoismäki J. L., Goffart S. Tissue specific differences in mitochondrial DNA maintenance and expression // *Mitochondrion*. — 2019. — Vol. 44. — P. 85–92. — DOI: 10.1016/j.mito.2018.11.003.
 40. Holt J. A., Macias B. R., Schneider S. M., Watenpaugh D. E., Lee S. M., Chang D. G., Hargens A. R. WISE 2005: Aerobic and resistive countermeasures prevent paraspinal muscle deconditioning during 60-day bed rest in women // *Journal of Applied Physiology* (1985). — 2016. — Vol. 120, No. 10. — P. 1215–1222. — DOI: 10.1152/jappphysiol.00532.2015.
 41. Hu S., Cucinotta F. A. Characterization of the radiation-damaged precursor cells in bone marrow based on modeling of the peripheral blood granulocytes response // *Health Physics*. — 2011. — Vol. 101, No. 1. — P. 67–78. — DOI: 10.1097/HP.0b013e31821690d4.
 42. Iandolo D., Strigini M., Guignandon A., Vico L. Osteocytes and Weightlessness // *Current Osteoporosis Reports*. — 2021. — Vol. 19. — P. 626–636. — DOI: 10.1007/s11914-021-00626-5.
 43. Juengel J. L., Bodensteiner K. J., Heath D. A., et al. Physiology of GDF9 and BMP15 signalling molecules // *Animal Reproduction Science*. — 2004. — Vol. 82. — P. 447–460. — DOI: 10.1016/j.anireprosci.2004.04.021.

44. Kamiya H., Sasaki S., Ikeuchi T., Umemoto Y., Tatsura H., Hayashi Y., Kaneko S., Kohri K. Effect of Simulated Microgravity on Testosterone and Sperm Motility in Mice // *Journal of Andrology*. — 2003. — Vol. 24. — P. 885–890. — DOI: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02129.x.
45. Kezele P., Nilsson E. E., Skinner M. K. Keratinocyte growth factor acts as a mesenchymal factor that promotes ovarian primordial to primary follicle transition // *Biology of Reproduction*. — 2005. — Vol. 73, No. 5. — P. 967–973. — DOI: 10.1095/biolreprod.105.043117.
46. Kikina A. Y., Matrosova M. S., Gorbacheva E. Y., Gogichaeva K. K., Toniyan K. A., Boyarintsev V. V., Kotov O. V., Ogneva I. V. Weightlessness leads to an increase of granulosa cells in the growing follicle // *NPJ Microgravity*. — 2024. — Jun. — Vol. 10. — Article 70. — DOI: 10.1038/s41526-024-00413-4.
47. Kim M., Wilson J., Cucinotta F., Simonsen L., Atwell W., Badavi, F., Miller J., Contribution of high charge and energy (HZE) Ions during solar-particle event of September 29, 1989 // *Radiation Research*. — 2023.
48. Kohn F. P. M., Ritzmann R. Gravity and neuronal adaptation, in vitro and in vivo—From neuronal cells up to neuromuscular responses: A first model // *European Biophysics Journal*. — 2017. — Vol. 47. — P. 97–107. — DOI: 10.1007/s00249-017-1166-2.
49. Koryak Y. A. Influence of simulated microgravity on mechanical properties in the human triceps surae muscle in vivo. I: effect of 120 days of bed-rest without physical training on human muscle musculo-tendinous stiffness and contractile properties in young women // *European Journal of Applied Physiology*. — 2014. — Vol. 114, No. 5. — P. 1025–1036. — DOI: 10.1007/s00421-014-2818-9.
50. Kozlovskaya I. B. Countermeasures for long-term space flights, lessons learned from the Russian space program // *Journal of Gravitational Physiology*. — 2002. — Vol. 9. — P. 313–317. — DOI: 10.1055/s-0038-1636971.

51. Kuznetsov A. V., Veksler V., Gellerich F. N., Saks V., Margreiter R., Kunz W. S. Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells // *Nature Protocols*. — 2008. — Vol. 3, No. 6. — P. 965–976. — DOI: 10.1038/nprot.2008.68.
52. Lambert A. J., Brand M. D. Reactive oxygen species production by mitochondria // *Methods in Molecular Biology*. — 2009. — Vol. 554. — P. 165–181. — DOI: 10.1007/978-1-59745-521-3_11.
53. Lee P. H. U., Chung M., Ren Z., Mair D. B., Kim D.-H. Factors mediating spaceflight-induced skeletal muscle atrophy // *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. — 2022. — Vol. 322, No. 5. — P. C567–C580. — DOI: 10.1152/ajpcell.00356.2021.
54. Lei X., Cao Y., Ma B., Zhang Y., Ning L., Qian J., Zhang L., Qu Y., Zhang T., Li D., et al. Development of mouse preimplantation embryos in space // *National Science Review*. — 2020. — Vol. 7, No. 9. — P. 1437–1446. — DOI: 10.1093/nsr/nwz212.
55. Li C. Y. Non-canonical roles of apoptotic and DNA double-strand break repair factors in mediating cellular response to ionizing radiation // *International Journal of Radiation Biology*. — 2023. — Vol. 99, No. 6. — P. 915–924. — DOI: 10.1080/09553002.2021.1948139.
56. Linossier M. T., Peurière L., Fernandez P., Normand M., Beck A., Bareille M. P., Bonneau C., Gauquelin-Koch G., Vico L. DI-5-Cuffs: Bone Remodelling and Associated Metabolism Markers in Humans After Five Days of Dry Immersion to Simulate Microgravity // *Frontiers in Physiology*. — 2022. — Apr 27. — Vol. 13. — Article 801448. — DOI: 10.3389/fphys.2022.801448.
57. Macho L., Kvetnansky R., Fickova M., Popova I. A., Grigoriev A. Effects of exposure to space flight on endocrine regulations in experimental animals // *Endocrine Regulations*. — 2001. — Jun. — Vol. 35, No. 2. — P. 101–114.

58. Mann V., Sundaresan A., Chaganti M. Cellular changes in the nervous system when exposed to gravitational variation // *Neurology India*. — 2019. — Vol. 67. — P. 684–691. — DOI: 10.4103/0028-3886.261795.
59. Mao X.W., Nishiyama N.C., Byrum S.D., Stanbouly S., Jones T., Holley J., Sridharan V., Boerma M., Tackett A.J., Willey J.S., et al. Spaceflight induces oxidative damage to blood-brain barrier integrity in a mouse model // *FASEB Journal*. — 2020. — Vol. 34. — P. 15516–15530. — DOI: 10.1096/fj.202000747R.
60. Merrill A.H. Jr., Wang E., Mullins R.E., Grindeland R.E., Popova I.A. Analyses of plasma for metabolic and hormonal changes in rats flown aboard COSMOS 2044 // *Journal of Applied Physiology*. — 1992. — Vol. 73. — P. S132–S135. — DOI: 10.1152/jappphysiol.1992.73.5.S132.
61. Miglietta S., Cristiano L., Espinola M.S.B., Masiello M.G., Micara G., Battaglione E., Linari A., Palmerini M.G., Familiari G., Aragona C., et al. Effects of Simulated Microgravity In Vitro on Human Metaphase II Oocytes: An Electron Microscopy-Based Study // *Cells*. — 2023. — Vol. 12, No. 5. — Article 1346. — DOI: 10.3390/cells12051346.
62. Miklavc P., Frick M. Actin and Myosin in Non-Neuronal Exocytosis // *Cells*. — 2020. — Vol. 9, No. 6. — Article 1455. — DOI: 10.3390/cells9061455.
63. Miousse I.R., Kutanzi K.R., Koturbash I. Effects of ionizing radiation on DNA methylation: from experimental biology to clinical applications // *International Journal of Radiation Biology*. — 2017. — Vol. 93, No. 5. — P. 457–469. — DOI: 10.1080/09553002.2017.1287454.
64. 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 // *Advances in Space Biology and Medicine*. — 2005. — Vol. 10. — P. 7–40. — DOI: 10.1016/s1569-2574(05)10002-1.
65. Morgan J.L., Zwart S.R., Heer M., Ploutz-Snyder R., Ericson K., Smith S.M. Bone metabolism and nutritional status during 30-day head-down-tilt

- bed rest // *Journal of Applied Physiology* (1985). — 2012. — Vol. 113, No. 10. — P. 1519–1529. — DOI: 10.1152/japplphysiol.01064.2012.
66. Navasiolava N.M., Custaud M.A., Tomilovskaya E.S., Larina I.M., Mano T., Gauquelin-Koch G., Gharib C., Kozlovskaya I.B. Long-term dry immersion: review and prospects // *European Journal of Applied Physiology*. — 2011. — Vol. 111, No. 7. — P. 1235–1260. — DOI: 10.1007/s00421-010-1750-x.
 67. Nguyen H.P., Tran P.H., Kim K.S., Yang S.G. The effects of real and simulated microgravity on cellular mitochondrial function // *NPJ Microgravity*. — 2021. — Vol. 7. — Article 44. — DOI: 10.1038/s41526-021-00117-0.
 68. Nóbrega J.J., Goncalves P.B., Chaves R.N., Magalhães D.M., Rossetto R., Lima-Verde I.B., Pereira G.R., Campello C.C., Figueiredo J.R., Oliveira J.F. Leukemia inhibitory factor stimulates the transition of primordial to primary follicle and supports the goat primordial follicle viability in vitro // *Zygote*. — 2012. — Vol. 20, No. 1. — P. 73–78. — DOI: 10.1017/s0967199411000074.
 69. Nosikova I., Riabova A., Amirova L., Kitov V., Tomilovskaya E. NAIAD-2020: Characteristics of Motor Evoked Potentials After 3-Day Exposure to Dry Immersion in Women // *Frontiers in Human Neuroscience*. — 2021. — Vol. 15. — Article 753259. — DOI: 10.3389/fnhum.2021.753259.
 70. Novikov V.E., Ilyin E.A. Age-related reactions of rat bones to their unloading // *Aviation, Space, and Environmental Medicine*. — 1981. — Vol. 52, No. 9. — P. 551–553.
 71. Oganov V.S. Modern analysis of bone loss mechanisms in microgravity // *Journal of Gravitational Physiology*. — 2004. — Vol. 11. — P. 143–146.
 72. Ogneva I., Biryukov N. Mathematical Modeling of Cardiomyocytes' and Skeletal Muscle Fibers' Membrane: Interaction with External Mechanical Field // *Applied Mathematics*. — 2013. — Vol. 4. — P. 1–6. — DOI: 10.4236/am.2013.48A001.

73. Ogneva I.V. Cell mechanosensitivity: mechanical properties and interaction with gravitational field // *Biomedical Research International*. — 2013. — Vol. 2013. — Article 598461. — DOI: 10.1155/2013/598461
74. Ogneva I.V. Single Cell in a Gravity Field // *Life (Basel)*. — 2022. — Oct 14. — Vol. 12, No. 10. — Article 1601. — DOI: 10.3390/life12101601.
75. Ogneva I.V., Gnyubkin V., Laroche N., Maximova M.V., Larina I.M., Vico L. Structure of the cortical cytoskeleton in fibers of postural muscles and cardiomyocytes of mice after 30-day 2-g centrifugation // *Journal of Applied Physiology*. — 2015. — Vol. 118. — P. 613–623. — DOI: 10.1152/japplphysiol.00677.2014.
76. Ogneva I.V., Maximova M.V., Larina I.M. Structure of cortical cytoskeleton in fibers of mouse muscle cells after being exposed to a 30-day space flight on board the BION-M1 biosatellite // *Journal of Applied Physiology*. — 2014. — Vol. 116. — P. 1315–1323. — DOI: 10.1152/japplphysiol.00801.2013.
77. Ogneva I.V., Usik M.A. Mitochondrial respiration in drosophila ovaries after a full cycle of oogenesis under simulated microgravity // *Current Issues in Molecular Biology*. — 2021. — Vol. 43. — P. 176–186. — DOI: 10.21775/cimb.043.176.
78. Ogneva I.V., Usik M.A., Biryukov N.S., Zhdankina Y.S. Sperm motility of mice under simulated microgravity and hypergravity // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2020. — Vol. 21, No. 14. — Article 5054. — DOI: 10.3390/ijms21145054.
79. Ohira T., Kawano F., Goto K., Kaji H., Ohira Y. Responses of neuromuscular properties to unloading and potential countermeasures during space exploration missions // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. — 2022. — Vol. 136. — Article 104617. — DOI: 10.1016/j.neubiorev.2022.104617.
80. Ohira T., Kawano F., Ohira T., Goto K., Ohira Y. Responses of skeletal muscles to gravitational unloading and/or reloading // *Journal of*

- Physiology and Science. — 2015. — Vol. 65, No. 3. — P. 293–310. — DOI: 10.1007/s12576-015-0387-9.
81. Otsuka F., McTavish K.J., Shimasaki S. Integral role of GDF-9 and BMP-15 in ovarian function // *Molecular Reproduction and Development*. — 2011. — Vol. 78, No. 1. — P. 9–21. — DOI: 10.1002/mrd.21290.
 82. Pincus G. The eggs of mammals. *Experimental Biology Monographs*. New York, NY: The Macmillian Company; 1936.
 83. Ray C.A., Vasques M., Miller T.A., Wilkerson M.K., Delp M.D. Effect of short-term microgravity and long-term hindlimb unloading on rat cardiac mass and function // *Journal of Applied Physiology* (1985). — 2001 Sep. — Vol. 91, No. 3. — P. 1207–1213. — DOI: 10.1152/jappl.2001.91.3.1207.
 84. Rimón-Dahari N., Yerushalmi-Heinemann L., Alyagor L., Dekel N. Ovarian Folliculogenesis // *Results and Problems in Cell Differentiation*. — 2016. — Vol. 58. — P. 167–190. — DOI: 10.1007/978-3-319-31973-5_7.
 85. Rock J.A., Fortney S.M. Medical and surgical considerations for women in spaceflight // *Obstetrics and Gynecology Surveys*. — 1984. — Vol. 39, No. 8. — P. 525–535. — DOI: 10.1097/00006254-198408000-00022.
 86. 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 // *Journal of Women's Health*. — 2014. — Vol. 23, No. 12. — P. 967–974. — DOI: 10.1089/jwh.2014.4916.
 87. Sapp W.J., Philpott D.E., Williams C.S., Kato K., Stevenson J., Vasquez M., Serova L.V. Effects of spaceflight on the spermatogonial population of rat seminiferous epithelium // *FASEB Journal*. — 1990. — Vol. 4. — P. 101–104. — DOI: 10.1096/fasebj.4.1.2295370.
 88. Sayet I., Neuilly G., Mironneau J., Mironneau C. Influence of spaceflight, hindlimb suspension, and venous occlusion on alpha 1-adrenoceptors in rat

- vena cava // *Journal of Applied Physiology* (1985). — 1995 May. — Vol. 78, No. 5. — P. 1882–1888. — DOI: 10.1152/jappl.1995.78.5.1882.
89. Schatten H., Lewis M.L., Chakrabarti A. Spaceflight and clinorotation cause cytoskeleton and mitochondria changes and increases in apoptosis in cultured cells // *Acta Astronautica*. — 2001. — Vol. 49. — P. 399–418. — DOI: 10.1016/S0094-5765(01)00187-4.
 90. Schlüter K., Piper H.M. Regulation of growth in the adult cardiomyocytes // *FASEB Journal*. — 1999. — Vol. 13, No. 1. — P. S17–S22. — DOI: 10.1096/fasebj.13.9001.s17.
 91. Seidler R.D., Mao X.W., Tays G.D., Wang T., Zu Eulenburg P. Effects of spaceflight on the brain // *Lancet Neurology*. — 2024 Aug. — Vol. 23, No. 8. — P. 826–835. — DOI: 10.1016/S1474-4422(24)00224-2.
 92. Serova L.V., Denisova L.A., Baikova O.V. The effect of microgravity on the reproductive function of male rats // *Physiologist*. — 1989. — Vol. 32. — P. S29–S30.
 93. Shah M., Chacko L.A., Joseph J.P., Ananthanarayanan V. Mitochondrial dynamics, positioning and function mediated by cytoskeletal interactions // *Cellular and Molecular Life Sciences*. — 2021. — Vol. 78, No. 8. — P. 3969–3986. — DOI: 10.1007/s00018-021-03795-6.
 94. Singh K.P., Kumari R., Dumond J.W. Simulated microgravity-induced epigenetic changes in human lymphocytes // *Journal of Cellular Biochemistry*. — 2010 Sep. — Vol. 111, No. 1. — P. 123–129. — DOI: 10.1002/jcb.22674.
 95. Smith S.M., Heer M.A., Shackelford L.C., Sibonga J.D., Ploutz-Snyder L., Zwart S.R. Benefits for bone from resistance exercise and nutrition in long-duration spaceflight: Evidence from biochemistry and densitometry // *Journal of Bone and Mineral Research*. — 2012. — Vol. 27, No. 9. — P. 1896–1906. — DOI: 10.1002/jbmr.1614.
 96. Sofronova S.I., Tarasova O.S., Gaynullina D., Borzykh A.A., Behnke B.J., Stabley J.N., McCullough D.J., Maraj J.J., Hanna M., Muller-Delp J.M.,

- Vinogradova O.L., Delp M.D.. Spaceflight on the Bion-M1 biosatellite alters cerebral artery vasomotor and mechanical properties in mice // *Journal of Applied Physiology*. — 2015. — Vol. 118. — P. 830–838. — DOI: 10.1152/japplphysiol.00976.2014.
97. Stein T.P., Schluter M.D., Moldawer L.L. Endocrine relationships during human spaceflight // *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. — 1999 Jan. — Vol. 276, No. 1 Pt 1. — P. E155–E162. — DOI: 10.1152/ajpendo.1999.276.1.e155.
 98. Strollo F., Gentile S., Pipicelli A.M.V., Mambro A., Monici M., Magni P. Space Flight-Promoted Insulin Resistance as a Possible Disruptor of Wound Healing // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. — 2022 May 13. — Vol. 10. — Article 868999. — DOI: 10.3389/fbioe.2022.868999.
 99. 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 // *Frontiers in Physiology*. — 2021. — Vol. 12. — Article 661959. — DOI: 10.3389/fphys.2021.661959.
 100. Tomilovskaya E., Shigueva T., Sayenko D., Rukavishnikov I., Kozlovskaya I. Dry Immersion as a Ground-Based Model of Microgravity Physiological Effects // *Frontiers in Physiology*. — 2019. — Vol. 10. — Article 284. — DOI: 10.3389/fphys.2019.00284.
 101. Tou J.C., Grindeland R.E., Wade C.E. Effects of diet and exposure to hindlimb suspension on estrous cycling in Sprague-Dawley rats // *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. — 2004. — Vol. 286. — P. E425–E433. — DOI: 10.1152/ajpendo.00472.2003.
 102. Towbin H., Staehlin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some application

- // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 1979. — Vol. 76. — P. 4350–4354. — DOI: 10.1073/pnas.76.9.4350
103. Usik M.A., Ogneva I.V. The regulation of the DNA methylation in the ovaries of mice under 23-days hindlimb suspension // *Frontiers in Physiology*. — 2019. — P. 88–91. — DOI: 10.3389/fphys.2019.00521.
 104. Van den Hurk R., Zhao J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles // *Theriogenology*. — 2005. — Vol. 63. — P. 1717–1751. — DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.10.013.
 105. Vico L., Hargens A. Skeletal changes during and after // *Nature Reviews Rheumatology*. — 2018. — Vol. 14. — P. 229–245. — DOI: 10.1038/s41584-018-0003-4.
 106. Vinken M. Hepatology in space: Effects of spaceflight and simulated microgravity on the liver // *Liver International*. — 2022 Dec. — Vol. 42, No. 12. — P. 2599–2606. — DOI: 10.1111/liv.15444.
 107. Vitt U., Hayashi M., Klein C., Hsueh A. Growth Differentiation Factor-9 Stimulates Proliferation but Suppresses the Follicle-Stimulating Hormone-Induced Differentiation of Cultured Granulosa Cells from Small Antral and Preovulatory Rat Follicles // *Biology of Reproduction*. — 2000. — Vol. 62, No. 2. — P. 370–377. — DOI: 10.1095/biolreprod62.2.370.
 108. Walls S., Diop S., Birse R., Elmen L., Gan Z., Kalvakuri S., Pineda S., Reddy C., Taylor E., Trinh B., et al. Prolonged Exposure to Microgravity Reduces Cardiac Contractility and Initiates Remodeling in *Drosophila* // *Cell Reports*. — 2020. — Vol. 33, Article 108445. — DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108445.
 109. Wang Y., Javed I., Liu Y., Lu S., Peng G., Zhang Y., Qing H., Deng Y. Effect of Prolonged Simulated Microgravity on Metabolic Proteins in Rat Hippocampus: Steps toward Safe Space Travel // *Journal of Proteome Research*. — 2016. — Vol. 15, No. 1. — P. 29–37. — DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b00777.

110. Watenpaugh D.E. Analogs of microgravity: head-down tilt and water immersion // *Journal of Applied Physiology*. — 2016 Apr 15. — Vol. 120, No. 8. — P. 904–914. — DOI: 10.1152/japplphysiol.00986.2015
111. Westergaard L.G., Erb K., Laursen S.B., Rex S., Rasmussen P.E. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in normogonadotropic women down-regulated with a gonadotropin-releasing hormone agonist who were undergoing in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomized study // *Fertility and Sterility*. — 2001 Sep. — Vol. 76, No. 3. — P. 543–549. — DOI: 10.1016/s0015-0282(01)01973-2.
112. Wu L., Courtney K.C., Chapman E.R. Cholesterol stabilizes recombinant exocytic fusion pores by altering membrane bending rigidity // *Biophys J*. — 2021. — Vol. 120, No. 8. — P. 1367–1377. — DOI: 10.1016/j.bpj.2021.02.005.
113. 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. — Vol. 23. — P. 16–24. — DOI: 10.1093/molehr/gaw079.
114. Youle R.J., van der Blik A.M. Mitochondrial fission, fusion, and stress // *Science*. — 2012. — Vol. 337. — P. 1062–1065. — DOI: 10.1126/science.1219855.
115. 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. — Vol. 107, No. 1. — P. 49–56. — DOI: 10.1677/joe.0.1070049.
116. Zirkin B.R., Santulli R., Awoniyi C.A., Ewing L.L. Maintenance of Advanced Spermatogenic Cells in the Adult Rat Testis: Quantitative Relationship to Testosterone Concentration within the Testis //

- Endocrinology. – 1989. – Vol. 124. – P. 3043–3049. — DOI: 10.1210/endo-124-6-3043.
117. Андреева Е.А., Хонина Н.А., Пасман Н.М., Черных Е.Р. Цитокины в регуляции овариального фолликулогенеза (обзор литературы) // Проблемы репродукции. — 2017. — Vol. 23, No. 1. — P. 8–14. — DOI: 10.17116/repro20172318-14.
118. Газенко О.Г. Безопасность и надёжность человека в космических полётах // Наука и жизнь. — 1984.
119. Серова Л.В., Денисова Л.А., Апанасенко З.И., Кузнецова М.А., Мейзеров Е.С. Репродуктивная функция крыс-самцов после полета на биоспутнике «Космос-1129» // Космическая биология и авиакосмическая медицина. 1982. – Т. 16. № 5. – С. 62 – 65.
120. Серова Л.В., Денисова Л.А., Апанасенко З.И., Брянцева Л.А., Чельная Н.А. Общая характеристика эксперимента по изучению онтогенеза крыс на биоспутнике «Космос-1514» // Космическая биология и авиакосмическая медицина. 1985. —Т. 19. — С. 62-65.
121. Серова Л.В., Наточин Ю.В., Носовский А.М., Шахматова Е.И., Фаст Т. Влияние невесомости на систему мать – плод (результаты эмбриологического эксперимента NIH-R1 на борту Space Shuttle) // Авиакосмическая и экологическая медицина. 1996. – Т. 30. № 6. – С. 4 – 8.
122. Сидельникова В.М. Эндокринология беременности в норме и при патологии— М.: МЕДпресс-информ, 2007. — С. 9–26.
123. Шульженко Е.Б., Виль-Вильямс И.Ф. Возможность проведения длительной водной иммерсии методом сухого погружения // Журнал космической биологии и авиакосмической медицины. – 1976. – Т. 10. № 2. – С. 82–84.