

На правах рукописи

Сергеева Екатерина Андреевна

**ВЛИЯНИЕ МОДЕЛИРОВАННОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ НА
МЕГАКАРИОЦИТАРНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO***

3.3.3. Патологическая физиология

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2025 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Научный руководитель:

кандидат биологических наук **Соколовская Алиса Анатольевна**

Официальные оппоненты:

Базарный Владимир Викторович – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела общей патологии Центральной научно-исследовательской лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Макаров Максим Сергеевич – доктор биологических наук, старший научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук

Защита диссертации состоится «26» июня 2025 года в 12 часов на заседании диссертационного совета 24.1.180.01 при ФГБНУ «НИИОПП» по адресу: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИОПП», а также на сайте: <https://niioff.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
Доктор биологических наук



Н.Б. Панкова

Актуальность темы и степень разработанности темы исследования

Космические путешествия являются важной частью человеческой культуры и нашей потребности исследовать неизвестное. Однако космический полет может вызывать серьезные патофизиологические изменения в живом организме: нарушение функций сердечно-сосудистой системы, метаболические и эндокринные нарушения, мышечную атрофию, нарушения в иммунной системе (Grigoriev et al., 2002; Vernikos et al., 2010; Pietsch et al., 2011; ElGindi et al., 2021). Космонавты и астронавты часто страдают от ряда проблем со здоровьем, связанных с воздействием микрогравитации на системном и клеточном уровнях (Grimm, 2002; Van Loon, 2007; Ullrich et al., 2008; Qian et al., 2008; Takeda et al., 2009). Изучение физиологических и патофизиологических процессов в экстремальных условиях помогает лучше понять состояние здорового организма и роль гемостаза (Grigoriev et al., 1994; Grimm, 2002; Barratt 2008; Demontis et al., 2017; Goswami 2021). Значительная часть исследований в области биологии космических полетов посвящена рискам космической среды для здоровья человека, какими являются космическая радиация и микрогравитация (Егоров, 1994; Григорьев, 2007; Garrett-Bakelman et al., 2019).

Влияние микрогравитации на основные функции клеток изучалось в различных модельных системах во время и после космического полета (Russomano et al., 2008; Lewis et al., 2002; Corydon et al., 2016). Несмотря на разные принципы работы наземных устройств, они значительно увеличили потенциал исследований в области моделирования условий космического пространства по сравнению с экспериментами в реальном космосе (Brungs et al., 2016, Aleshcheva et al., 2016). Моделированная микрогравитация вызывает апоптоз в глиальных клетках (Uva, 2002), эндотелиальных (Infanger, 2006), раковых клетках щитовидной железы (Infager 2006b), клетках Jurkat в космосе (Lewis, 2002). Моделированная микрогравитация влияет на цитоскелет и форму эндотелиальных клеток (Grimm et al., 2009; Janmaleki et al., 2016), гепатоцитов (Vinken, 2022) и фибробластов (Beck et al., 2012), приводит к изменениям в морфологии, цитоскелете и функции эмбриоидного тела (Buravkov et al., 2009). Разнообразные эксперименты, сделанные во время космического полёта, также описывают нарушение трансдукции сигнала апоптоза и межклеточной связи в условиях микрогравитации (Battista et al., 2012; Monti et al., 2020).

Недавние исследования показали, что моделированная микрогравитация способна усиливать мегакариопоз и значительно повышать эффективность образования тромбоцитов (Kim et al., 2017). С одной стороны, микрогравитация вызывает геморрагические осложнения, уменьшая количество тромбоцитов и нарушая их функции, с другой стороны, микрогравитация вызывает застой крови в верхней части тела, дисфункцию эндотелия сосудов, изменения объема и вязкости крови – события, которые могут способствовать увеличению случаев тромбообразования (Locatelli et al., 2021). Показано, что в условиях моделируемой микрогравитации происходит ингибирование миграции, задержка прогрессирования клеточного цикла с последующей задержкой роста и нарушением паттернов дифференцировки гемопоэтических предшественников, что может объяснять изменения в количестве тромбоцитов (Plett et al., 2001; Plett et al., 2004). Исследования тромбоцитов в условиях микрогравитации также

проводятся с использованием различных экспериментальных моделей (Locatelli et al., 2021). Сообщается, что в экспериментах *in vivo*, параболический полет вызывал тромбоцитопению у мышей (Fuse et al., 2002). У космонавтов после космических полетов было зарегистрировано несколько случаев тромбоцитопении, хотя причина этого снижения остается неизвестной (Riley et al., 1992; Dai et al., 2009).

Микрогравитация вызывает клеточную и молекулярную адаптацию, изменения в геноме, эпигеноме, протеоме, и эти изменения создают условия для развития ряда патологий (Heather et al., 2006; Demontis et al., 2017; Grimm et al., 2020). В последнее время моделированная микрогравитация всё активнее применяется как уникальная платформа для поиска и создания лекарственных препаратов, клеточной терапии и инженерии, а также для внедрения методов персонализированной терапии (Prasanth et al., 2020; Grimm et al., 2022; Ghani et al., 2024). Учитывая вышеизложенное, становится очевидным, что влияние моделированной микрогравитации на клеточные ответы и физиологическое состояние мегакариоцитов до сих пор не было предметом исследований. Это еще раз говорит об актуальности выбранной темы в понимании механизмов влияния моделированной микрогравитации на физиологию клеток различного генеза в норме и при патологии.

Цель исследования

Изучить влияние RPM-моделированной микрогравитации на морфофункциональные характеристики мегакариобластных клеток человека иммортализованной линии MEG-01.

Задачи исследования

1. Оценить влияние RPM-моделированной микрогравитации на выживаемость и пролиферацию мегакариоцитарных клеток.
2. Изучить влияние RPM-моделированной микрогравитации на фенотипические характеристики мегакариоцитарных клеток.
3. Провести анализ морфологических свойств и цитоскелета мегакариоцитарных клеток в условиях RPM-моделированной микрогравитации.
4. Изучить влияние RPM-моделированной микрогравитации на апоптоз мегакариоцитарных клеток.
5. Исследовать влияние RPM-моделированной микрогравитации на клеточный цикл и регуляторные белки клеточного цикла мегакариоцитов мегакариоцитарных клеток.

Научная новизна исследования

Впервые изучено влияние моделированной микрогравитации на морфофункциональные характеристики мегакариобластной клеточной линии MEG-01, в частности: на жизнеспособность клеток и экспрессию маркера пролиферации Ki-67; на показатели апоптоза и экспрессию основных белков апоптоза (BAX, BAK, цитохрома C) и ингибитора апоптоза Bcl-2; на фенотипические характеристики (общие морфологические свойства и цитоскелет, экспрессию трансмембранных рецепторов CD13, CD19 и CD33), на клеточный цикл и на экспрессию генов циклинов клеточного цикла.

Получены оригинальные данные, свидетельствующие о развитии клеточного стресса в

клетках MEG-01 в условиях моделированной микрогравитации. Были выявлены следующие изменения: снижение выживаемости (после 168 часов) и торможение пролиферации, появление атипичных фенотипических проявлений (изменение размера и формы большинства клеток после 168 часов, накопление альфа-тубулина вокруг ядер клеток, снижение экспрессии CD33 после 196 часов), задержки развития клеточного цикла при переходе в фазу G2/M через 96 часов с последующей адаптацией к условиям невесомости.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость данного исследования заключается в углублении научных знаний о механизмах гемопоэза в условиях невесомости. Выявленные закономерности влияния моделированной микрогравитации на характеристики мегакариоцитарных клеток линии MEG-01 могут быть полезными при изучении эффектов факторов космического полета на физиологию клеток различного генеза в норме и при патологии. Дальнейшие исследования влияния гравитации на клеточные реакции мегакариоцитов помогут понять патогенез заболеваний человека, приобретенных в экстремальных условиях, и указать новые направления поиска методов терапии и профилактики нарушений свертываемости крови.

С другой стороны, полученные данные свидетельствуют о наличии адаптивных реакций организма, развивающихся в ответ на невесомость, что также вносит вклад в понимание пато- и саногенетических процессов во время космических полетов.

Практическая значимость работы заключается в разработке оригинальной модели для исследования влияния моделированной микрогравитации на функционирование организма человека на основе мегакариоцитарной клеточной линии MEG-01, с возможным её использованием для всех пролиферирующих клеток организма. В перспективе, данная клеточная модель может быть использована для тестирования эффектов фармакологических средств *in vitro* и разработки новых методов превентивной медицины.

Научные положения, выносимые на защиту

1. RPM-моделированная микрогравитация ингибирует пролиферацию клеток MEG-01, изменяет их морфологию и экспрессию поверхностных маркеров, и вызывает апоптоз.
2. RPM-моделированная микрогравитация задерживает развитие клеточного цикла в клетках MEG-01, изменяя экспрессию циклинов.

Личный вклад автора

При выполнении работы автор лично участвовала в определении цели работы и постановке задач в экспериментальных исследованиях. Автором самостоятельно проведены все методы исследований (культивирование клеток, RPM-моделированная микрогравитация, метод иммуноферментного анализа, вестерн-блот, метод проточной цитофлуориметрии, микроскопия, ПЦР). Все основные результаты работы получены лично автором. Кроме этого, автор активно принимала участие в обсуждении результатов диссертации, написании статей и тезисов докладов. Результаты исследований докладывались автором на российских и международных конференциях.

Достоверность полученных результатов

Достоверность результатов экспериментов обусловлена достаточным количеством

экспериментов и использованием современных методов исследования. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием общепринятых методов анализа данных.

Апробация работы

Результаты диссертации были представлены и обсуждены на научных мероприятиях: 69th International Astronautical Congress 2018, IAC 2018 (Бремен, Германия, 2018), Нейроиммунопатология. Девятая Российская конференция с международным участием (Москва, Россия, 2022), XVIII конференция по космической биологии и авиакосмической медицине (Москва, Россия, 2023).

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах из перечня ВАК РФ и баз данных Scopus/Web of Science, 3 тезиса докладов.

Структура и объём работы

Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста, включает в себя 27 рисунков и 2 таблицы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов. Список литературы содержит 280 источников, из них 30 на русском и 250 на иностранном языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Клеточная культура. Исследования экспериментальные и проведены на клеточной культуре. В качестве модельной системы использовали иммортализованную линию мегакариобластных клеток человека MEG-01, которая была приобретена в немецкой коллекции клеточных культур (DSMZ, Германия). Для исследований использовали культуральную среду RPMI 1640 (GIBCO, США) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (ФТС) (HyClone, Южная Америка) и 10 мкг/мл гентамицина (Life Technologies, США) в CO₂-инкубаторе (Sanyo, Япония) в стандартных условиях. Клетки выращивали в культуральных флаконах 25 см² (Corning, США) и поддерживали в логарифмической фазе рутинным пассированием каждые 2–3 дня. Для экспериментов экспоненциально растущие клетки MEG-01 собирали и ресуспендировали в свежей культуральной среде.

Моделирование эффектов микрогравитации. Параметры экспериментальной установки. Условия микрогравитации моделировали при помощи устройства для случайного позиционирования – Random Positioning Machine прибора Desktop RPM (Dutch Space, компания Astrium EADS, Лейден, Нидерланды) (Borst, Van Loon 2009). Клетки MEG-01 в количестве 2×10^6 помещали в культуральные флаконы 12,5 см² (Corning, США). Во всех сериях экспериментов в качестве контроля 1g использовали флаконы с культивируемыми клетками в статическом горизонтальном положении, расположенными в этом же инкубаторе. Скорость вращения RPM-платформы случайно изменялась в пределах от 58 до 70 градусов в секунду.

Оценка жизнеспособности клеток. Жизнеспособность клеток оценивали по отсутствию в них витального красителя (трипановый синий, Invitrogen, США) на автоматическом счётчике клеток (Countess™, Invitrogen, США).

Фенотипическая характеристика поверхностных рецепторов клеток с помощью моноклональных антител на проточном цитофлуориметре FACSCalibur. Иммунофенотипирование клеток проводили методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител анти-CD19-FITC, анти-CD33-FITC и анти-CD13-PE (Becton Dickinson, США) (согласно инструкции производителя). Сбор данных и анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

Оценка пролиферативной активности по экспрессии внутриклеточного белка Ki-67. Эффекты микрогравитации на пролиферацию клеток MEG-01 исследовали путем окрашивания внутриклеточного белка Ki-67 согласно инструкции производителя (Dako, США). Сбор данных и анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCalibur.

Анализ клеточного цикла проводили согласно протоколу коммерческого набора (Becton Dickinson, США). Сбор данных и анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCalibur. Анализ данных проточной цитофлуориметрии проводили с помощью программ CELLQuest и ModFit LT.

Анализ апоптоза клеток выполняли с использованием набора, содержащего FITC-конъюгированный аннексин V и PI, в соответствии с инструкцией производителя (Becton Dickinson, США). Образцы анализированы методом проточной цитофлуориметрии на FACSCalibur.

Проточно-цитофлуориметрический анализ экспрессии циклинов клеточного цикла. Для анализа клетки инкубировали с антителами к циклинам A, B, E, D (BD Biosciences США) согласно инструкции производителя. Антитела к иммуноглобулину G1, меченые FITC, использовали в качестве изотипического контроля. Все образцы анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur. Результаты выражали как среднюю интенсивность флуоресценции (MEAN).

Морфологическое исследование клеток (окрашивание по Романовскому – Гимзе). Мазок окрашивали красителем Гимза согласно инструкции производителя (ПанЭко, РФ), клетки исследовали под микроскопом Olympus BX51, оснащенного камерой Olympus XM31 (Olympus, Япония).

Иммуноцитохимическая микроскопия. Исследование проводилось по методике в соответствии с инструкцией производителя антител AbClonal (США). После различных сроков экспозиции на RPM клетки промывали в ФСБ. Осадок клеток фиксировали в 4% параформальдегида и пермеабелизировали 0,5% Saponin (PanReas, Испания). После клетки инкубировали в блокирующем буфере (10% ФТС) 2 часа при комнатной температуре и дополнительно промывали в ФСБ. Для тройного окрашивания к осадку клеток одновременно добавляли антитела к β -Tubulin Alexa Fluor 488 в разведении 1:50 (Becton Dickinson, США) вместе с антителами к циклинам A, B в разведении 1:100 (AbClonal, США), или с антителами к ВАХ или ВАК в разведении 1:500 (AbClonal, США). Образцы со вторичными антителами Goat anti-rabbit Chromeo 546 (AbClonal, США) инкубировали в темноте при комнатной температуре. После клетки промывали в ФСБ и инкубировали с 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) 1:1000 (Becton Dickinson, США). После как двойного, так и тройного окрашивания клетки

трижды промывали в ФСБ и монтировали на стеклянные предметные стекла с помощью монтажной среды (Thermo Fisher, Scientific, Дания). Флуоресценцию визуализировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse Ti2 (Япония) STEDYCON и программы анализа изображений ImageJ.

Анализ белков методом вестерн-блота. Исследование белков методом вестерн-блота проводилось в соответствии с инструкцией компании Bio-Rad. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда с использованием спектрофотометра NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Для полусухого переноса использовали ПВДФ-мембрану 0,45 мкм (Immobilon-P; Millipore, США). Мембраны инкубировали с антителами к циклинам A, B, E, D (AbClonal, США), BAX, BAK (FineTest, Китай), цитохрому C (AbClonal, США), Bcl-2 (Becton Dickinson, США). После инкубации с первичными антителами мембраны промывали буфером ТБСТ, после чего инкубировали со вторичными антителами (иммуноглобулин G, конъюгированный с пероксидазой) (FineTest, Китай). Антитела против β -актина (FineTest, Китай) использовали в качестве контроля нагрузки для нормализации белка. Обнаружение белковых полос осуществлялось с использованием станции изображения Odyssey XF Imaging System, LI-COR (Biosciences, США) и набора для обнаружения вестерн-блоттинга Amersham ECL (GE Healthcare, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Анализ экспрессии генов методом ПЦР. Выделение тотальной РНК проводили добавлением лизирующего реагента ExtractRNA (Евроген, РФ) согласно инструкции производителя. Концентрацию нуклеиновых кислот и эффективность очистки оценивали при помощи спектрофотометра «Nanodrop 2000» (Thermo Fisher, США). Образцы очищали от ДНК с помощью ДНКазы (Thermo Fisher, США), далее синтезировали кДНК, используя MMLV RT kit (Евроген, РФ). Реакцию амплификации проводили с использованием праймеров и qPCRMix-HS SYBR (Евроген, РФ) на приборе Bio-Rad CFX-96 (Bio-Rad, США). Обработку результатов проводили в программах Bio-Rad CFX Manager и Microsoft Excel с использованием метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak, Schmittgen, 2001).

Статистическая обработка. Данные представлены как средние значения $\pm$ стандартное отклонение по крайней мере из трех независимых экспериментов. В методе проточной цитофлуориметрии среднюю интенсивность флуоресценции выражали как MEAN. Выборка соответствует нормальному распределению, что было оценено с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Различия между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна – Уитни. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы «StatSoft Statistica 14» и пакета программ «Microsoft Office 2019».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние моделированной микрогравитации на выживаемость и пролиферацию мегакариоцитарных клеток

По данным наших исследований, анализ жизнеспособности клеток показал, что процент мертвых клеток, окрашенных трипановым синим, увеличивался в условиях моделированной

микрогравитации, по сравнению со статическими контрольными клетками только через одну неделю (168 часов). Не было существенных различий в жизнеспособности клеток MEG-01 в группе RPM и в группе статического контроля через 24 часа, 72 часа или 96 часов, уровень жизнеспособности клеток составлял 90%. Однако через 168 часов процент живых клеток уменьшался в условиях моделированной микрогравитации ($82,0\% \pm 3,4\%$), по сравнению с контрольными клетками ($90,1\% \pm 1,5\%$), $p < 0,05$) (рис. 1).

Анализ маркера внутриклеточной эндогенной пролиферации белка Ki-67 методом проточной цитофлуориметрии показал снижение клеточной пролиферации в группе RPM по сравнению с группой статического контроля через 72 часа (MFI, 12 против 6,3 соответственно; $n = 5$, $p < 0,05$). Через 96 часов и 168 часов не было разницы в процентном содержании клеток Ki-67+ между группой RPM и группой статического контроля (рис.2). По нашим результатам, моделированная микрогравитация ингибирует внутриклеточную экспрессию Ki-67 в клетках MEG-01 через 72 часов, тогда как через 96 часов и 168 часов существенной разницы между группой RPM и группой статического контроля не наблюдалось, что может говорить об адаптации клеток к условиям моделированной микрогравитации

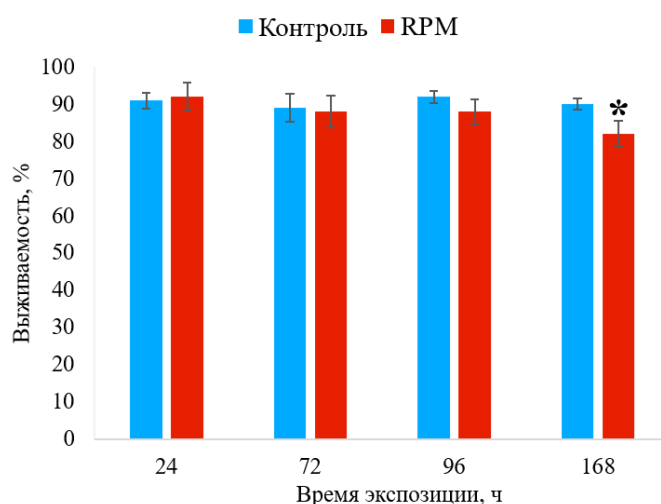


Рисунок 1. Влияние RPM-моделированной микрогравитации на жизнеспособность клеток MEG-01. Результаты выражены в виде средних значений $\pm$ SD, * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n = 20$). *t*-критерий Стьюдента

Анализ наших данных, полученных методом ПЦР, подтвердил, что интенсивность пролиферации клеток снижалась по сравнению с контролем в течение всего времени эксперимента, на что указывает маркер пролиферативной активности опухоли Ki-67. РНК, ответственная за его синтез, была стабильно ниже в RPM группе по сравнению с контролем, составляя $0,84 \pm 0,13$ к 72 часам и $0,78 \pm 0,08$ к 96 часам эксперимента (рис. 2в).

По литературным данным было показано, что пролиферативный потенциал некоторых раковых клеток снижается в условиях моделированной микрогравитации. Так, например, экспрессия антигена Ki-67 и матриксной металлопротеиназы-2 (MMP2) была снижена в клетках аденокарциномы легкого человека A549 в условиях 3D моделированной микрогравитации, по сравнению с контрольными условиями 1g (Chang et al., 2013). Процент жизнеспособных клеток

K562 и клеток в апоптозе, не отличался в популяции, культивируемой в RCCS-моделированной микрогравитации по сравнению с контролем (от 12 до 96 часов). Возможно, что моделированная микрогравитация в данных клетках вызывает временное ингибирование пролиферации, и не всегда приводит к апоптозу (Zong-Chun et al., 2009). Анализ жизнеспособности клеток мезенхимальных стволовых клеток (МСК) после 10-суточной экспозиции на RPM-моделированной микрогравитации показал, что доля живых клеток в экспериментах оставалась достаточно высокой и составляла более 95% (Живодерников, 2022).

Таким образом, можно заключить, что моделированная микрогравитация существенно не влияет на выживаемость мегакариоцитарных клеток MEG-01 на ранних сроках, но уменьшает её после 168 часов. Моделированная микрогравитация ингибирует внутриклеточную экспрессию белка пролиферации Ki-67 в клетках MEG-01 через 72 часа, тогда как через 96 часов и 168 часов существенной разницы между группой RPM и группой статического контроля не наблюдалось, что может говорить об адаптации клеток к условиям моделированной микрогравитации.

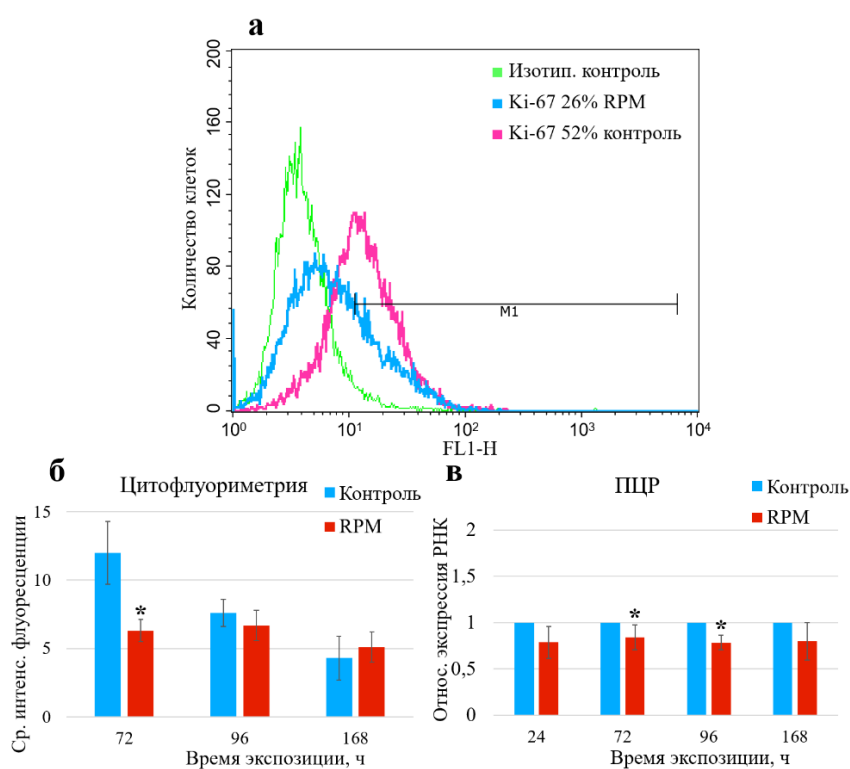


Рисунок 2. Влияние RPM-моделированной микрогравитации на пролиферацию клеток MEG-01. Результаты выражены в виде средних значений $\pm$ SD, * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n = 5$). t -критерий Стьюдента

Влияние моделированной микрогравитации на фенотипические характеристики мегакариоцитарных клеток человека

Первоначально нами было проанализирован поверхностный иммунофенотип клеток MEG-01 с помощью проточной цитофлуориметрии. Как показали наши исследования, уровень экспрессии трансмембранных рецепторов - CD13⁺ и CD19⁺ на клетках MEG-01 в условиях RPM-моделированной микрогравитации не отличался от контроля (Рис. 3). Однако следует отметить, что процент CD33⁺ на клетках MEG-01 в условиях RPM- моделированной микрогравитации был

достоверно снижен, по сравнению с контролем. Так после 196 часов культивирования экспрессия поверхностного маркера CD33 на клетках MEG-01 группы RPM была ниже (MFI, 6,5), чем на клетках MEG-01 в статическом контроле (MFI, 11,2) ($n = 5$, $p < 0,05$) (рис. 3).

Различные профили фенотипических свойств тромбоцитов наблюдались в ходе космических полетов и под влиянием моделируемой микрогравитации. Сообщалось, что поверхностная экспрессия GPIba и его связь с цитоскелетом были значительно снижены в тромбоцитах, подвергшихся воздействию искусственной микрогравитации, но увеличились в тромбоцитах, подвергшихся воздействию гипергравитации (Li et al., 2018). Однако RPM-моделированная микрогравитация не оказала воздействия на экспрессию маркеров фенотипа мезенхимальных стромальных клеток (Живодерников, 2022).

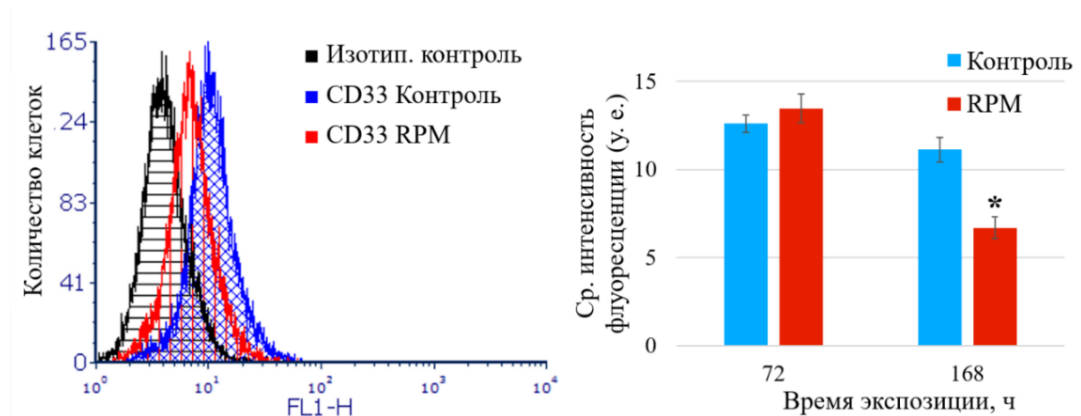


Рисунок 3. Влияние RPM-моделированной микрогравитации на экспрессию поверхностных антигенов клеток MEG-01. Результаты выражены в виде средних значений $\pm$ SD, * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n = 5$).

Таким образом, по нашим данным длительное воздействие моделированной микрогравитации оказывает влияние на экспрессию поверхностного антигена CD33 на клетках MEG-01, тогда как экспрессия других исследуемых антигенов не меняется, что может также говорить об адаптации мегакариоцитов к микрогравитации.

Влияние моделированной микрогравитации на морфологические свойства и цитоскелет мегакариоцитарных клеток

В наших исследованиях RPM-моделированная микрогравитация не оказала существенного влияния на морфологию клеток MEG-01 через 24 часа или 72 часов, демонстрируя, что клетки, выращенные в условиях статической культуры и в условиях микрогравитации, демонстрируют типичную морфологию клеток MEG-01 (рис. 4, а, б).

Однако, после одной недели (168 часов) культивирования, размер и форма большинства клеток изменились. Клетки MEG-01 показали морфологию, сходную с атипичными мегакариоцитами, с аномальной сегментацией ядер, и в группе RPM наблюдались видимые полиплоидные ядра. По сравнению с контрольными клетками размер клеток MEG-01 увеличился, и доля клеток с диаметром >20 мкм увеличивалась после одной недели воздействия моделируемой микрогравитации (рис. 4, в, г).

Для исследования влияния моделируемой микрогравитации на цитоскелет микротрубочек мы применили метод иммуноцитохимии. Анализ экспрессии альфа-тубулина в клетках MEG-01 показал различия между группой RPM и группой статического контроля через 24 часа. Мы обнаружили, что альфа-тубулин накапливается вокруг ядер клеток только в условиях моделируемых микрогравитации, и подобный паттерн отсутствовал в группе статического контроля (рис. 5).

Наиболее заметные изменения в клетках, возникающие после воздействия микрогравитации, это изменения формы, размера, объёма и свойств адгезии. В клетках, находящихся под воздействием микрогравитации, микротрубочки укорочены и изогнуты (Buken et al., 2019; Dietz et al., 2019). Моделирование микрогравитации показало реорганизацию актинового цитоскелета в мезенхимальных стромальных клетках костного мозга человека и изменение профиля адгезивной экспрессии интегриновых белков, что в совокупности указывает на механическую и гравитационную чувствительность клеток (Гершович и др., 2010). В другом исследовании наблюдалось изменение экспрессии молекул межклеточной адгезии (ICAM-1, VCAM-1, E-селектин) в культивируемых эндотелиальных клетках человека, что также свидетельствовало о гравитационной чувствительности эндотелия (Buravkova et al., 2018).

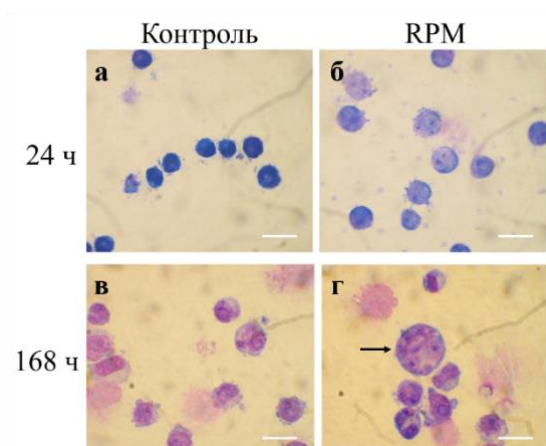


Рисунок 4. Влияния RPM-моделируемой микрогравитации на морфологические свойства мегакариоцитарных клеток. Масштабный отрезок 20 мкм.

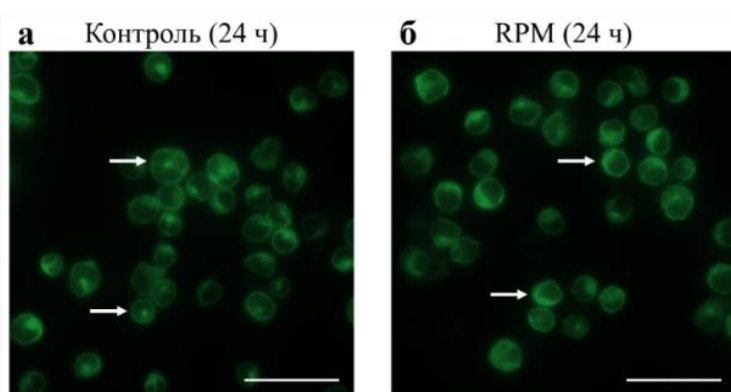


Рисунок 5. Влияние моделированной микрогравитации на цитоскелет микротрубочек клеток MEG-01. В группе RPM α -тубулин накапливался вокруг ядер клеток через 24 часа (белые стрелки). Масштабный отрезок 50 мкм.

Таким образом, на основании полученных нами результатов, существенные изменения морфологии клеток MEG-01 были зарегистрированы в RPM-группе спустя 168 часов. Спустя сутки после начала эксперимента, накопление α -тубулина вокруг клеточных ядер наблюдалось

исключительно в условиях моделированной микрогравитации, тогда как в контрольной группе подобного распределения выявлено не было.

Влияние RPM-моделированной микрогравитации на апоптоз мегакариоцитарных клеток

Признаки апоптоза в различной степени были обнаружены в клетках и тканях, подвергшихся воздействию реальных и моделируемых условий микрогравитации (Grimm et al., 2002; Lewis et al., 1998; Radugina et al., 2018; Infanger et al., 2006). Микрогравитация оказывает влияние на пролиферацию, выживаемость и апоптоз эндотелиальных клеток (ЭК) (Versari et al., 2007). В эндотелиальных клетках человека EA.hy926, культивируемых в условиях RPM, были обнаружены дополнительные признаки апоптоза, такие как активация каспазы-3 и повышенное расщепление PARP (Поли(АДФ-рибоза)-полимеразы) (Dittrich et al., 2018). Кроме того, мононуклеарные клетки периферической крови, культивированные в течение 48 часов на борту МКС, показали повышенные признаки апоптоза, которые также воспроизводились в условиях моделированной микрогравитации (Battista et al. 2012).

Одной из нашей задач также являлось изучение влияния моделированной микрогравитации на апоптоз клеток MEG-01. Для начала, мы провели цитофлуориметрический анализ апоптоза методом окрашивания клеток аннексином V/FITC и пропидий йодидом.

Полученные результаты показали, что апоптоз в клетках MEG-01 был очевиден после одной недели (168 часов) воздействия RPM-моделированной микрогравитации. Процентное содержание всех апоптотических клеток было значительно выше в группе RPM ($47,7\% \pm 5,2\%$), чем в группе статического контроля ($19,1\% \pm 2,3\%$) ($n = 5$, $p < 0,05$) (рис. 6). Таким образом, наши результаты показали, что RPM-моделированная микрогравитация индуцирует апоптоз клеток MEG-01 через 168 часов.

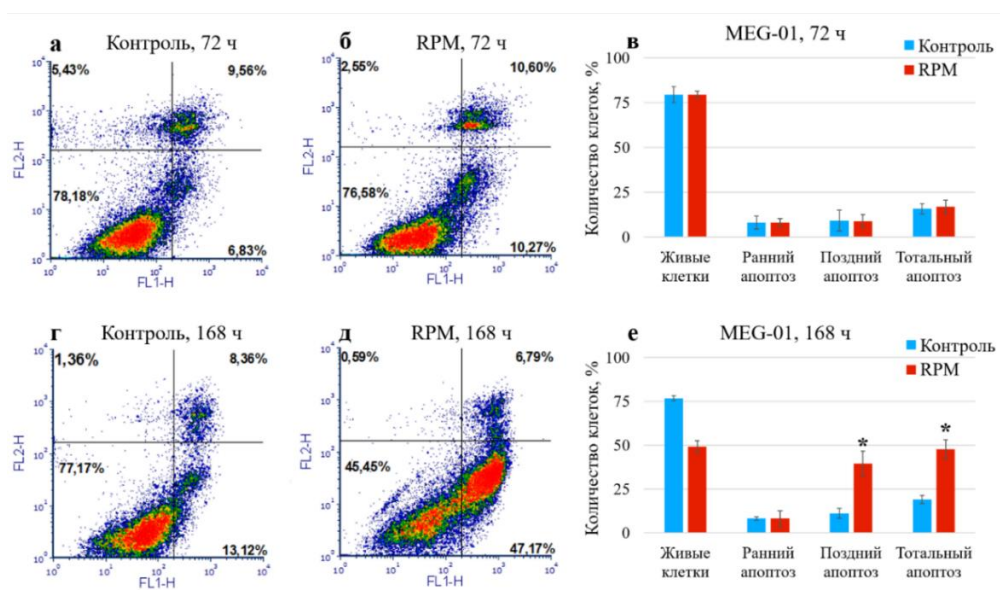


Рисунок 6. Моделированная микрогравитация индуцирует апоптоз клеток MEG-01 через 7 дней. Результаты выражены в виде средних значений $\pm$ SD, * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n = 5$).

Далее мы исследовали влияние RPM-моделированной микрогравитации на экспрессию апоптотических белков и генов в мегакариоцитарных клетках. Снижение экспрессии Bcl-2 и Vnir3 и усиление экспрессии каспазы-3 и -9 было обнаружено в клетках глиомы, подвергнутых воздействию моделированной микрогравитации (Deng et al., 2019). Было обнаружено увеличение апоптоза в клетках меланомы BL6-10 в условиях моделированной микрогравитации, вызванное снижением регуляции двух антиапоптотических белков (Bcl-2 и Vnir3) и повышением регуляции каспазы-3, -7 и -8 (Zhao et al., 2016). Моделируемая микрогравитация вызывала ядерную транслокацию BAX и Bcl-2 в культивируемых глиальных клетках C6 (Bonfiglio et al., 2019).

По нашим данным, основные изменения экспрессии белков апоптоза в мегакариоцитарных клетках в условиях моделируемой микрогравитации были выявлены через 96 часов. Так, например, экспрессия белка BAX в клетках MEG-01 в условиях моделированной микрогравитации показала различия между группой RPM и группой статического контроля ($1,44 \pm 0,18$ против $1,03 \pm 0,13$) (рис. 7).

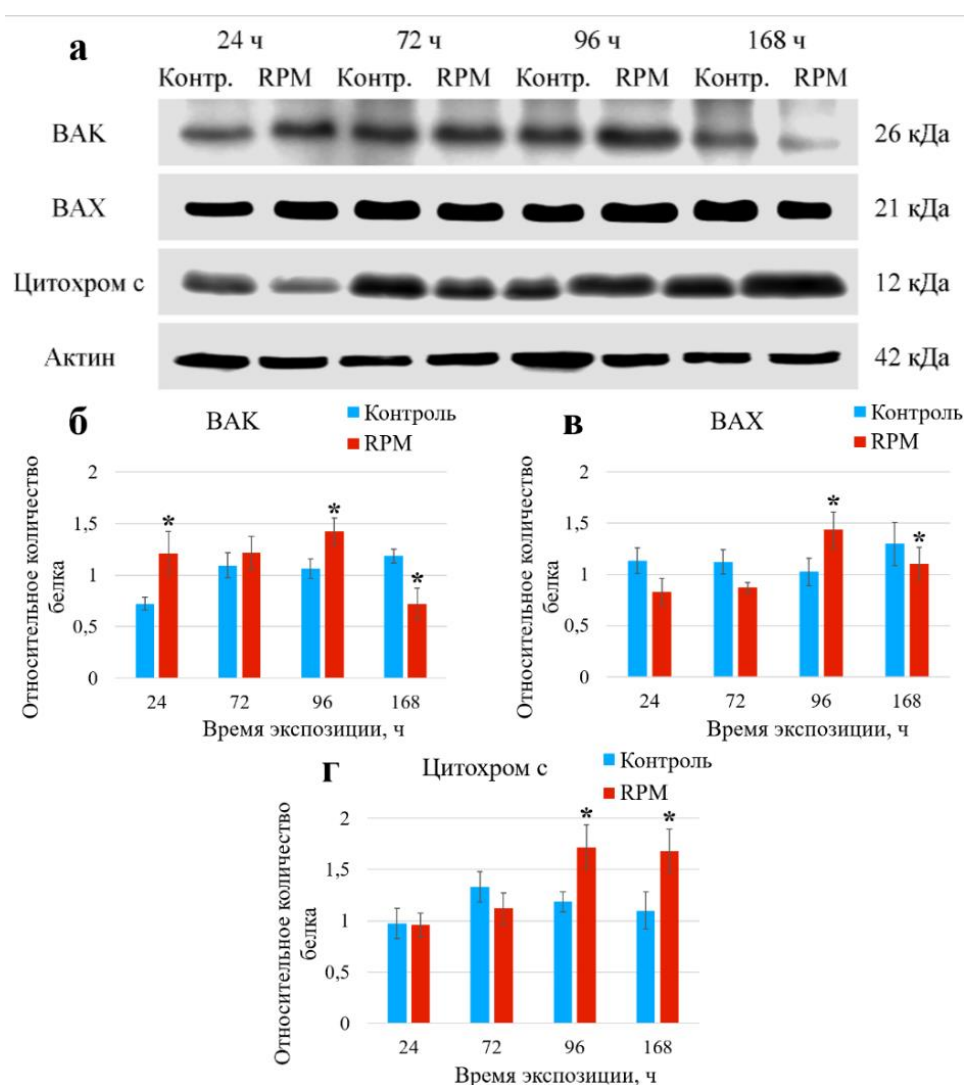


Рисунок 7. Экспрессия апоптотических белков в мегакариоцитарных клетках MEG-01, методом вестерн-блота. Данные представлены как средние значения $\pm$ стандартное отклонение. * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n = 5$).

Экспрессия белка BAK в клетках MEG-01 в условиях моделированной микрогравитации показала различия между группой RPM и группой статического контроля ($1,42 \pm 0,13$ против $1,06$

$\pm 0,1$), при той же временной точке (96 часов). Цитохром С показал различия между группой RPM и группой статического контроля ($1,72 \pm 0,22$ против $1,18 \pm 0,01$, при той же временной точке (96 часов). Также следует отметить, что экспрессия цитохрома С в клетках MEG-01 в условиях моделированной микрогравитации продолжала повышаться через 168 часов в сравнении с другими белками апоптоза, ($1,67 \pm 0,21$ против $1,10 \pm 0,18$) (рис. 7, г).

Экспрессия антиапоптотического белка Bcl-2 в мегакариоцитарных клетках в условиях моделированной микрогравитации спустя 96 часов снижалась по сравнению с экспрессией белка в контрольных клетках ($0,61 \pm 0,09$ против $1,39 \pm 0,13$) (рис. 8).

Что касается исследования влияния моделируемой микрогравитации на экспрессию генов апоптотических белков, то наиболее достоверные данные были получены по белку BAX. РНК, на матрице которого синтезируется белок BAX, по всей видимости, остается на исходном уровне в первые сутки, далее постепенно нарастает, составляя $1,21 \pm 0,09$ от контрольных клеток на 4 день эксперимента (рис. 9).

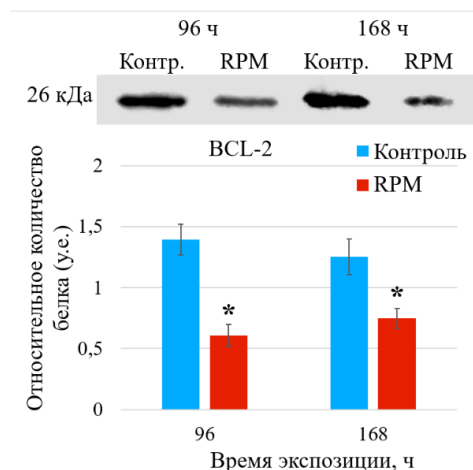


Рисунок 8. Экспрессия анти-апоптотического белка Bcl-2 в мегакариоцитарных клетках MEG-01, методом вестерн-блота. Данные представлены как средние значения $\pm$ стандартное отклонение. * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n=3$).

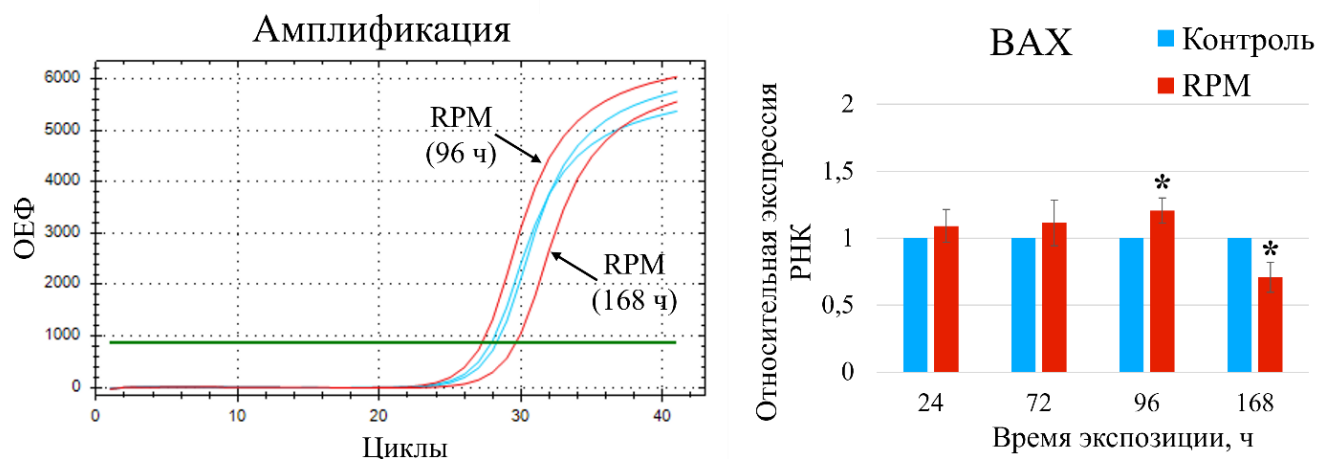


Рисунок 9. Относительная экспрессия гена BAX после воздействия моделированной микрогравитации на клетки MEG-01. Экспрессия в интактном статическом контроле принята за единицу. Достоверные отличия: * $p < 0,05$ - по отношению к статическому контролю, ($n=4$).

Методом флуоресцентной микроскопии было также показано, что наиболее значимые отличия в мегакариоцитарных клетках наблюдались в экспрессии BAX, BAK между группой RPM и группой статического контроля через 96 часов (рис. 10).

Таким образом, наши результаты показали, что моделированная микрогравитация усиливает апоптоз мегакариоцитарных клеток MEG-01 и приводит к увеличению экспрессии как белков апоптоза, так и мРНК, ответственных за их синтез.

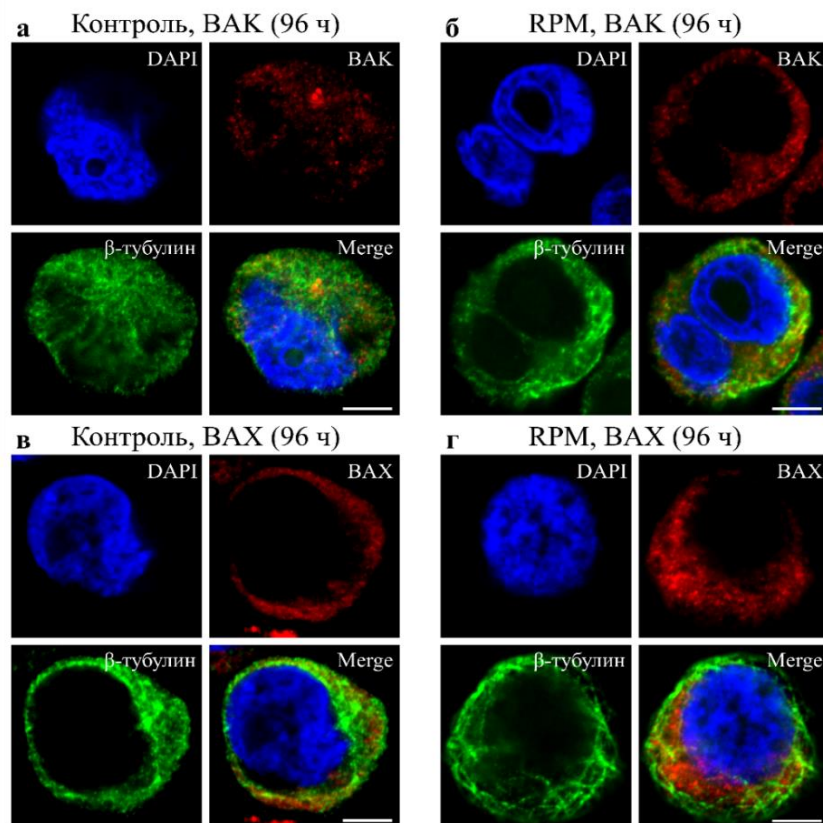


Рисунок 10. Тройное флуоресцентное окрашивание препарата клеток MEG-01. Рисунки (а) и (б) - группа статического контроля; (в) и (г) - группа RPM. Анализ изображений на инвертированном биологическом микроскопе Nikon Eclipse Ti2 - Nikon Instruments. Масштабный отрезок 5 мкм.

Влияние RPM-моделированной микрогравитации на клеточный цикл и циклины клеточного цикла в мегакариоцитарных клетках

По нашим данным, RPM-моделированная микрогравитация ингибирует развитие клеточного цикла MEG-01. Так, проточный цитофлуориметрический анализ показал, что через 24 часа разница между RPM и группой статического контроля была незначительной (рис. 11). Однако через 72 часа культивирования процент клеток в фазе G0/G1 был значительно выше в группе RPM ($72.9\% \pm 1.0\%$) по сравнению с группой статического контроля ($61.4 \pm 1.9\%$) ($n = 5$, $p < 0,05$). (рис. 11, г, д, е). При этом количество клеток в S-фазе группы RPM было значительно ниже ($22,7\% \pm 1,3\%$) по сравнению с группой статического контроля ($33,0\% \pm 1,9\%$) ($n = 5$, $p < 0,05$).) (рис. 11, г, д, е).

После одной недели культивирования (168 часов) процент клеток в фазе G0/G1 в группе RPM снижался $66,3\% \pm 2,6\%$, по сравнению с группой статического контроля ($53,1\% \pm 0,3\%$, $n = 5$, $p < 0,05$). (Рис. 11, ж, з, и). При этом количество клеток в S-фазе группы RPM тоже снижалось и составляло $25,9\% \pm 2,0\%$ против $35,0\% \pm 2,7\%$ в контроле ($n = 5$, $p < 0,05$). (Рис. 11, ж, з, и). Таким образом, результаты показали, что процент клеток MEG-01 в фазе G0/G1 увеличился через

72 часа и 1 неделю. В то же время процент клеток в фазе синтеза ДНК (S-фаза) был снижен в клетках группы RPM по сравнению с клетками группы контроля.

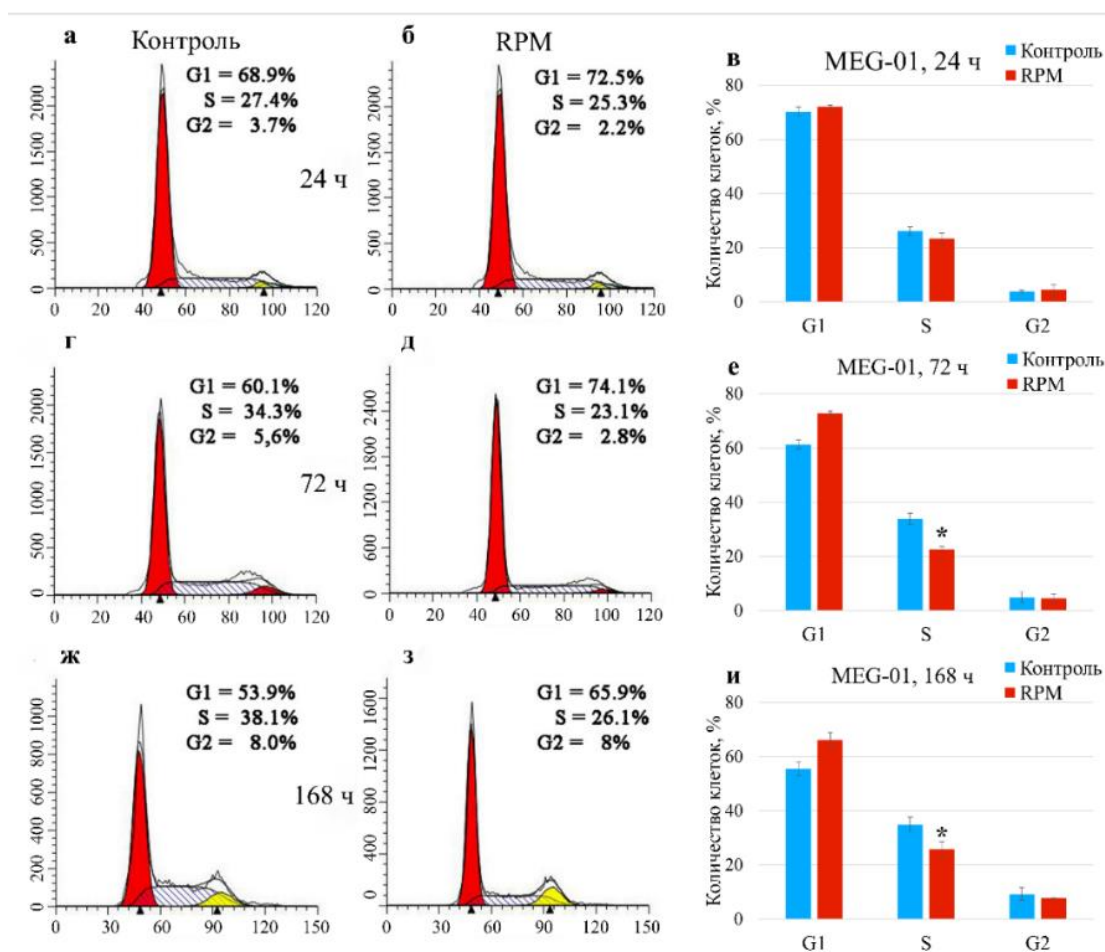


Рисунок 11. RPM-моделированная микрогравитация ингибирует развитие клеточного цикла MEG-01. Результаты выражены как средние значения $\pm$ SD. * $p < 0,05$, по сравнению со статическим контролем ($n = 5$).

Результаты исследований, касающихся остановки клеточного цикла в условиях микрогравитации, до сих пор вызывают споры. Остановка клеточного цикла, вызванная микрогравитацией, частично вызвана ингибированием клеточной пролиферации.

Недавно было продемонстрировано, что моделируемая микрогравитация ингибирует пролиферацию и вызывает апоптоз клеток глиобластомы U-251MG, эффекты, которые частично обусловлены вызванным микрогравитацией подавлением IGFBP-2 (инсулиноподобный фактор роста) и p21-активируемых киназ (Zhao et al., 2020). Предполагают, что замедление скорости пролиферации в миобластах, выращенных в условиях частичной гравитации, связано с задержкой клеточного цикла (Damm et al., 2013). RWV-моделируемая микрогравитация индуцировала изменения в кинетике клеточного цикла в клетках костного мозга, которые характеризовались удлинением S-фазы и снижением экспрессии циклина A (Plett et al., 2004). Моделируемая микрогравитация вызывала частичный арест фазы G1 в клетках феохромоцитомы PC12 крысы (Wang et al., 2009).

Вдобавок, как нормальные гладкомышечные клетки сосудов мышцы, так и неопластические клетки рака молочной железы человека были индуцированы к частичной остановке в G2/M при моделированной микрогравитации (Coinuet et al., 2006). Уровни экспрессии циклинов в клетках K562 в условиях моделированной микрогравитации изменились через 12 ч, включая снижение циклина A и увеличение циклина B, D1 и E (Yi et al., 2009). Экспрессия CDK1 была снижена в MOLT-4 и повышена в DLD-1 (Vidyasekar et al., 2015). В фибробластах человека в условиях моделированной микрогравитации экспрессия генов, подавляющих клеточный цикл (ABL1 и CDKN1A) уменьшалась, а генов, ответственных за клеточный цикл, увеличивались после облучения ионами углерода (Hiroko et al., 2019).

Поэтому, чтобы разобраться в механизме прогрессии клеточного цикла, мы также исследовали экспрессию циклинов клеточного цикла в мегакариобластной клеточной линии в условиях моделированной микрогравитации. Анализ экспрессии циклинов клеточного цикла в клетках MEG-01 методом проточной цитофлуориметрии показал, что наиболее выраженные изменения происходят на 96 часах в условиях моделированной микрогравитации, по сравнению с контрольной группой.

По результатам проточной цитофлуориметрии экспрессия циклина B в клетках MEG-01 в условиях моделированной микрогравитации наиболее выражена была к 96 часам ($13,21 \pm 2,85\%$ в контроле, по сравнению с группой RPM ($18 \pm 3,5\%$). Экспрессия циклина A в контрольной группе ($9,98 \pm 1,1\%$) и группе RPM ($11,62 \pm 1,4\%$). Экспрессия циклина D в контрольной группе ($7,67 \pm 0,6\%$) и группе RPM ($12,21 \pm 1,4\%$). Экспрессия циклина E не показала достоверных изменений между группами (рис. 12).

Экспрессия циклина D в мегакариобластных клетках MEG-01 показывает, что клетки успешно вступают в фазу пролиферации, и число делящихся клеток не меньше, а то и больше по сравнению с контролем. Экспрессия циклина A демонстрирует нарастание в группе RPM в течение первых 4 суток, с последующим снижением, что, вместе с пиком циклина D может указывать на торможение клеточного цикла в фазе G2, до митоза. Падение уровня экспрессии циклинов A и D до уровня контрольной группы или ниже может говорить об адаптации клеток к новым условиям и успешному прохождению клеточного цикла. Экспрессия циклина E в группе RPM в сравнении с контрольной группой не изменялась, что может свидетельствовать об отсутствии препятствий к прохождению синтетической фазы клеточного цикла.

Таким образом, наиболее выраженная экспрессия циклина B в группе моделированной микрогравитации указывает на то, что большинство клеток останавливается в фазе G2.

Наши данные, полученные методом вестерн-блота, подтвердили, что основное изменение экспрессии циклинов клеток MEG-01 происходит через 96 часов в условиях моделированной микрогравитации, по сравнению с контролем (рис. 13).

Отмечено, что происходит нарастание экспрессии циклина A в группе RPM в течение первых четырех суток, с последующим снижением. Нет особо выраженных отличий в экспрессии циклина E между группами RPM в сравнении с контрольной группы (1g).

Экспрессия циклина B в клетках MEG-01 наиболее выражена в группе RPM на 96 часов, как по результатам проточной цитофлуориметрии, так и по результатам вестерн-блота. Оба

метода в совокупности демонстрируют, что основное изменение уровней экспрессии циклинов происходит в условиях моделированной микрогравитации через 96 часов. Так, уровень экспрессии циклина А демонстрирует нарастание в группе RPM в течение первых 4 суток, с последующим снижением, что, вместе с пиком циклина D может указывать на торможение клеточного цикла в фазе G2, до митоза.

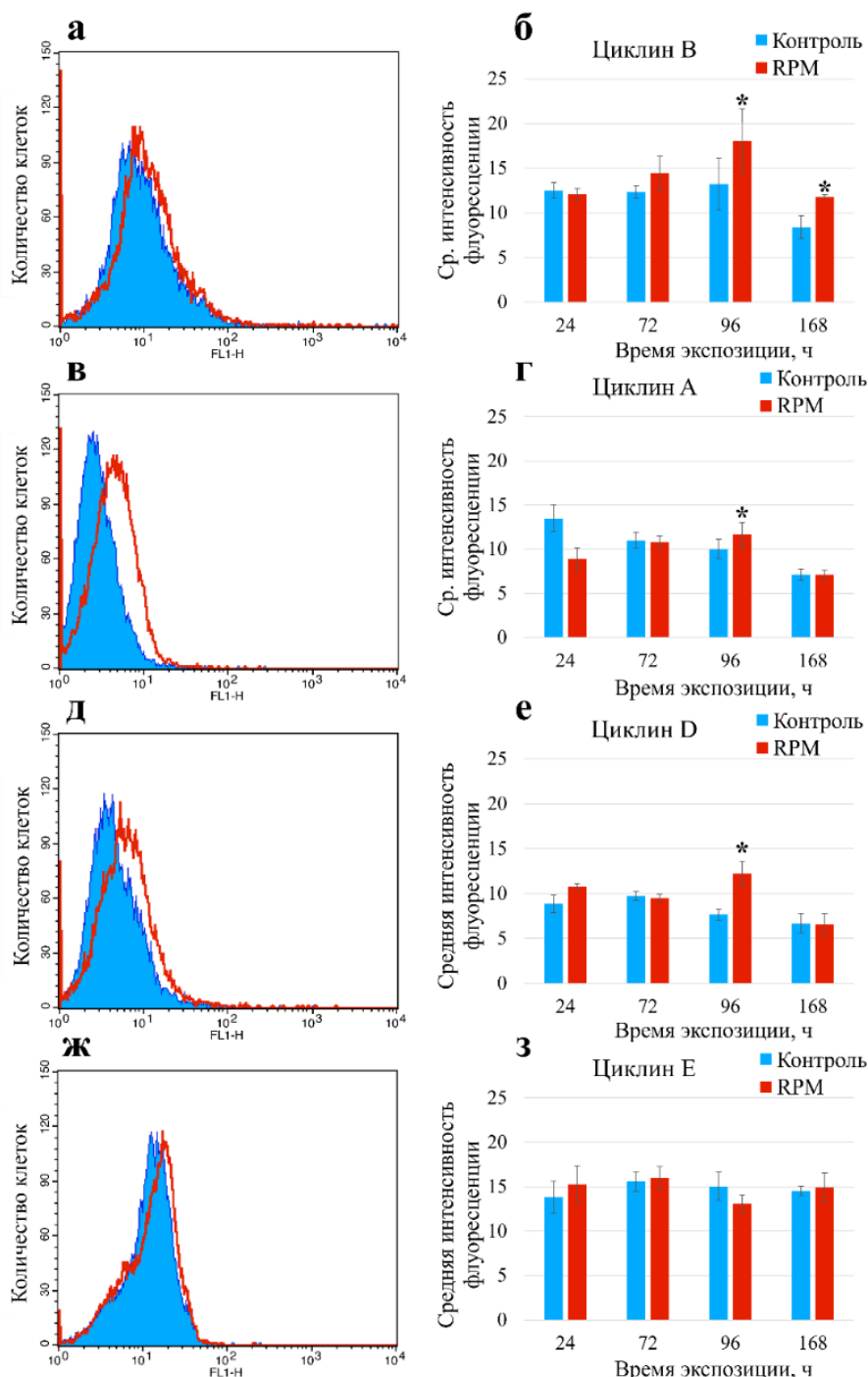


Рисунок 12. Влияние RPM-моделированной микрогравитации на экспрессию циклинов в клетках MEG-01. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCalibur. Данные представлены как средние значения $\pm$ стандартное отклонение. * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n = 3$).

В дополнение, мы провели исследования влияния RPM-моделированной микрогравитации на экспрессию циклинов методом иммунофлуоресцентной микроскопии. Данные, полученные методом STED-микроскопии, подтвердили, что основное изменение

экспрессии циклинов клеток MEG-01 происходит через 96 часов в условиях моделированной микрогравитации по сравнению с контролем. В нашем исследовании в клетках, находящихся в условиях моделированной микрогравитации, наблюдалось увеличение уровня экспрессии циклинов А и В в группе RPM в течение 4 суток (рис. 14).

Следующим этапом работы было исследование влияние моделированной микрогравитации на относительный уровень экспрессии генов циклинов клеточного цикла на клетки MEG-01. Экспрессия генов циклинов, ответственных за отдельные фазы клеточного цикла, была повышена в разные временные точки: мРНК циклина А демонстрирует пик на 72 часах ($1,42 \pm 0,18$) с последующим постепенным снижением к 168 часам ($1,13 \pm 0,13$).

Максимум мРНК циклина В приходится на 96 часов ($1,46 \pm 0,12$), с последующим резким снижением до $0,79 \pm 0,08$ от контрольных клеток (рис. 15, а и б).

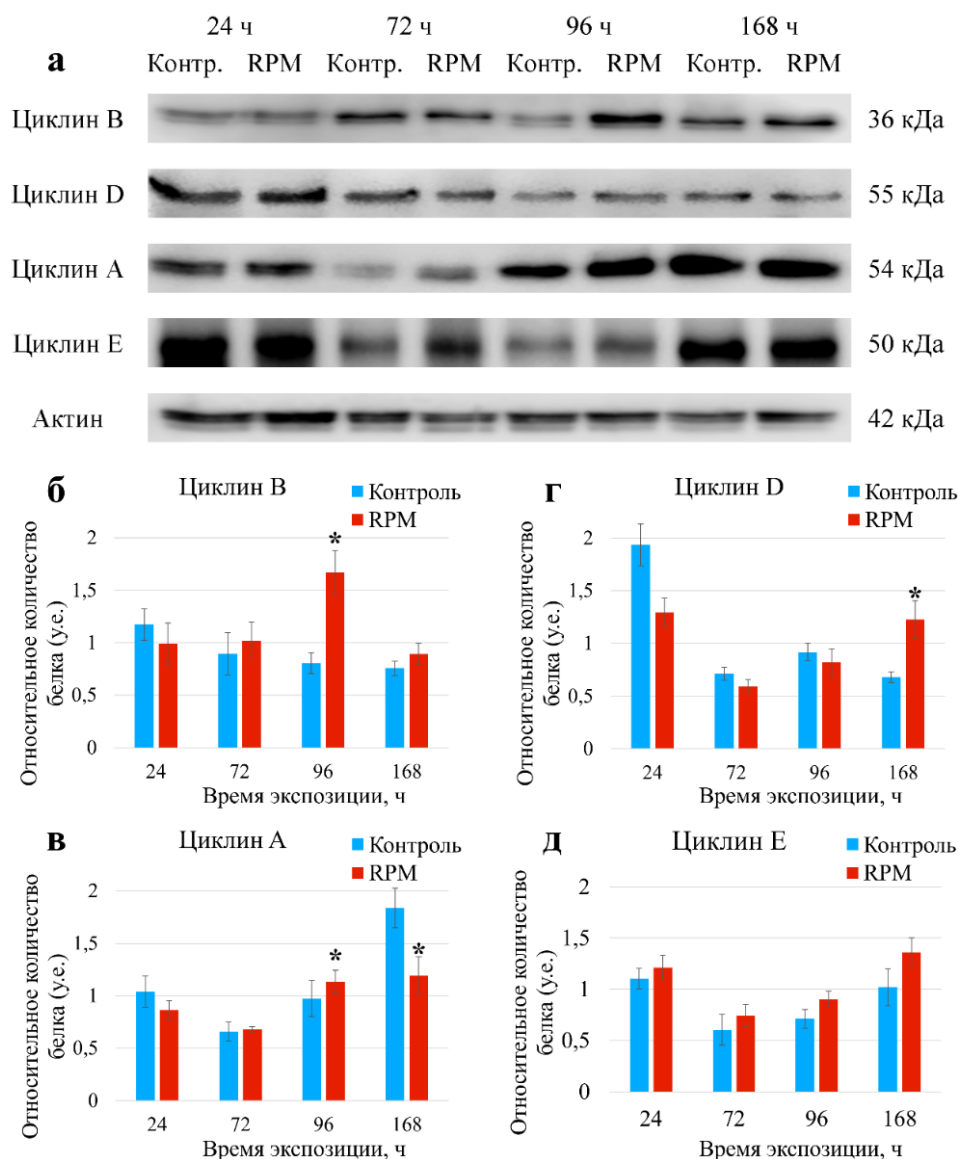


Рисунок 13. Анализ экспрессии циклинов методом вестерн-блота. Данные представлены как средние значения $\pm$ стандартное отклонение. * $p < 0,05$ по сравнению со статическим контролем ($n = 3$).

Таким образом, мы показали, что моделированная микрогравитация нарушает развитие клеточного цикла клеток MEG-01, что приводит к изменению экспрессии как белков циклинов, так и генов, кодирующих эти белки в разные временные точки: под действием микрогравитации

увеличивается экспрессия циклинов А и В через 96 часов; экспрессия циклина D увеличивается через 168 часов, а циклина А – напротив, снижается. Повышенные уровни экспрессии циклинов А и В указывают на торможение клеточного цикла в фазе G2.

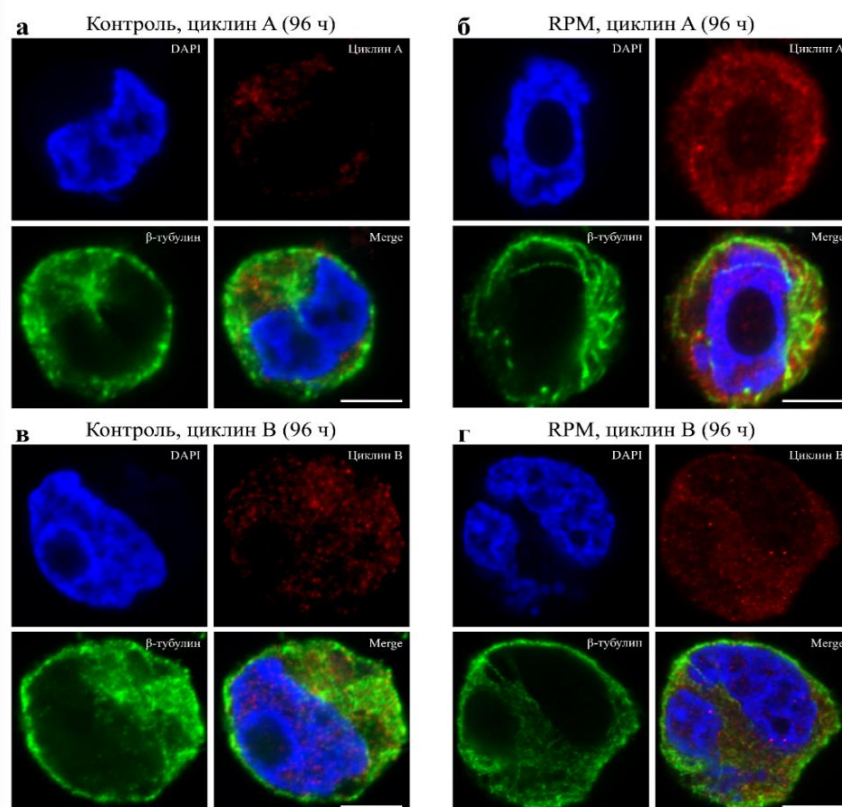


Рисунок 14. Флуоресцентное тройное окрашивание препарата клеток MEG-01. На рисунках (а) и (б) – группа статического контроля; (в) и (г) – группа RPM. Масштабный отрезок 5 мкм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на обширный объем доступной информации, глубокое понимание ключевых процессов, посредством которых микрогравитация воздействует на фундаментальные клеточные функции, по-прежнему представляет собой серьезную научную задачу в области космической биологии и медицины. В нашем исследовании впервые изучено влияние моделированной микрогравитации на морфофункциональные характеристики мегакариобластной клеточной линии MEG-01. Получены оригинальные данные, свидетельствующие о развитии клеточного стресса в клетках MEG-01 в условиях моделированной микрогравитации: снижение выживаемости (после 168 часов) и торможение пролиферации, появление атипичных фенотипических проявлений (изменение размера и формы большинства клеток после 168 часов, накопление α -тубулина вокруг ядер клеток, снижение экспрессии CD33 после 196 часов), задержки развития клеточного цикла при переходе в фазу G2/M через 96 часов с последующей адаптацией к условиям невесомости.

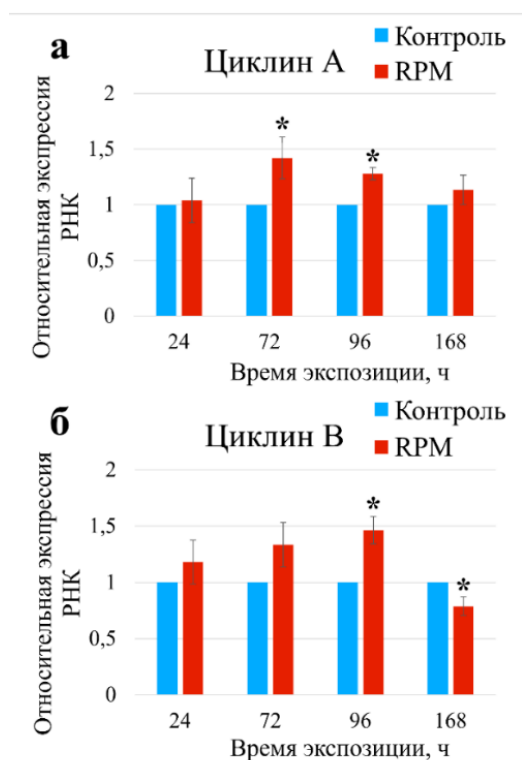


Рисунок 15. Относительная экспрессия генов циклинов клеточного цикла после воздействия RPM-моделируемой микрогравитации на клетки MEG-01. Экспрессия в интактном статическом контроле принята за единицу. Достоверные отличия: * $p < 0,05$ - по отношению к статическому контролю, (n=4).

Необходимо отметить важность данного исследования, которая заключается в углублении научных знаний о механизмах гемопоэза в условиях невесомости. Выявленные закономерности влияния моделированной микрогравитации на характеристики мегакариоцитарных клеток линии MEG-01 могут быть полезными при изучении эффектов факторов космического полета на физиологию клеток различного генеза в норме и при патологии. С другой стороны, полученные данные свидетельствуют о наличии адаптивных реакций организма, развивающихся в ответ на невесомость, что также вносят вклад в понимание пато- и саногенетических процессов во время космических полетов.

Изучение механизмов, определяющих изменения в реакциях организма на невесомость, позволяет выявить потенциальные терапевтические мишени для регуляции активности стволовых клеток, что важно для восстановительной медицины (Andreazzoli et al., 2017; Cao et al., 2019; Ghani et al., 2024). Использование 3D-моделей и мультиклеточных сфероидов в микрогравитационной среде позволит ученым ускорить процесс выявления и разработки новых лекарственных средств, снижая потребность в проведении опытов на животных (Krakos et al., 2022; Grimm et al., 2025). В рамках таких технологий, и в перспективе, клеточная линия человека MEG-01 может быть использована в качестве модели для тестирования фармакологических средств *in vitro*.

Таким образом, настоящее исследование демонстрирует, что моделированная микрогравитация изменяет морфофункциональные характеристики мегакариобластной клеточной линии MEG-01 *in vitro*. Эти изменения проявляются в снижении выживаемости и ингибировании клеточной пролиферации, изменении клеточной морфологии, в усилении апоптоза и увеличении экспрессии проапоптотических белков, а также нарушении регуляции клеточного цикла, циклинов и генов, которые их кодируют (рис. 16). Необходимо также

отметить, что значимость данной работы заключается в разработке оригинальной модели для исследования влияния моделированной микрогравитации на функционирование организма человека на основе мегакариоцитарной клеточной линии MEG-01, с возможным её использованием в отношении всех пролиферирующих клеток организма.

Всё вышесказанное говорит о защитных и приспособительных реакциях организма к невесомости в результате стресса, вызванного микрогравитацией. Поэтому экспериментальные работы в этом направлении позволят расширить фундаментальные представления о нарушениях системы гемостаза у космонавтов и разработать стратегии их профилактики, что имеет принципиальное значение для обеспечения эффективных и безопасных космических полетов.

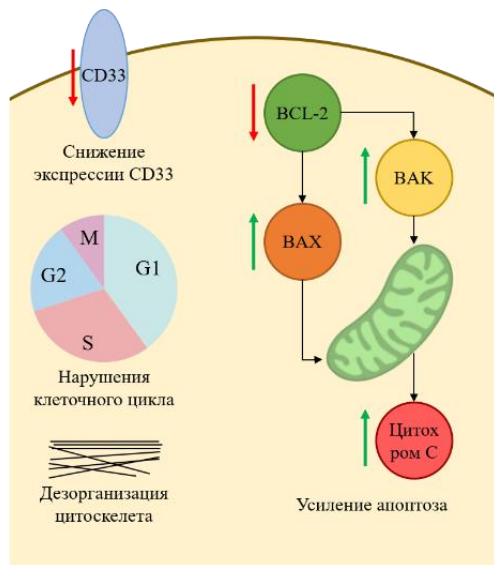


Рисунок 16. Схематическое описание влияния микрогравитации на функции мегакариоцитов.

ВЫВОДЫ

- 1) Моделированная микрогравитация уменьшает выживаемость (после 168 часов) и ингибирует пролиферацию в клетках MEG-01 RPM через 72 часа, тогда как через 96 часов и 168 часов существенной разницы между группой RPM и группой статического контроля не наблюдалось, что может говорить об адаптации клеток к условиям моделированной микрогравитации.
- 2) В клетках MEG-01 моделированная микрогравитация снижает уровень маркера CD33 и не влияет на уровень экспрессии маркеров CD13 и CD19. Изменение профиля фенотипических свойств на клетках MEG-01 указывает на механизм адаптации мегакариоцитов к микрогравитации.
- 3) В условиях моделированной микрогравитации спустя 96 часов клетки MEG-01 становятся морфологически сходными с атипичными мегакариоцитами, демонстрируя аномальную сегментацию ядер.
- 4) Моделированная микрогравитация усиливает апоптоз мегакариоцитарных клеток MEG-01 почти в 2 раза и приводит к увеличению экспрессии проапоптотических белков апоптоза BAX, BAK, и цитохрома C, в то время как экспрессия ингибитора апоптоза Bcl-2, напротив, снижается.

5) Моделированная микрогравитация нарушает развитие клеточного цикла клеток MEG-01, что приводит к изменению экспрессии как белков циклинов, так и генов, кодирующих эти белки в разные временные точки: под действием микрогравитации увеличивается экспрессия циклинов А и В через 96 часов; экспрессия циклина D увеличивается через 168 часов, а циклина А – напротив, снижается. Повышенные уровни экспрессии циклинов А и В указывают на торможение клеточного цикла в фазе G2.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи:

1. Sokolovskaya, A.A.; **Korneeva, E.A.**; Kolesov, D.V.; Moskovtsev, A.A.; Kubatiev, A.A. Inhibition of cell cycle progression and changes in surface markers in MEG-01 megakaryoblastic cells exposed to the random positioning machine // MICROGRAVITY SCIENCE AND TECHNOLOGY. - 2019, P.1-11. DOI:10.1007/s12217-019-09737-3. Q2
2. **Сергеева Е.А.**, Соколовская А.А., Кубатиев А.А. Физиологические особенности биологии клеток в условиях моделированной микрогравитации // Патогенез. – 2021. Т.19, №4, С.15-22. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.04.15-22
3. **Сергеева Е.А.**, Метелкин А.А., Соколовская А.А. Исследование экспрессии циклинов клеточного цикла в мегакариобластной клеточной линии человека при воздействии моделированной микрогравитации // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2023. Т.67. №2. С.17-25. DOI:10.25557/0031-2991.2023.02.17-25
4. **Сергеева Е.А.**, Метелкин А.А., Марченкова А.В., Проценко А.Н., Соколовская А.А. Особенности исследования функций тромбоцитов в условиях микрогравитации. микрогравитации // Патогенез. – 2025. Т.23, №1, С. 17–24. DOI: 10.25557/2310-0435.2025.01.17-24

Тезисы докладов:

1. Sokolovskaya A.A., Moskovtsev A.A., Kolesov D.V., **Korneeva E.A.**, Kubatiev A.A. The simulated microgravity changes surface markers expression and inhibits cell cycle progression of megakaryoblastic cell line MEG-01. Conference Paper: Proceedings of the International Astronautical Congress, IAC" 69rd International Astronautical Congress 2018, IAC 2018". Bremen, Germany, 1-5 October 2018.
2. **Сергеева Е.А.**, Соколовская А.А. Нейроиммунопатология. Девятая Российская конференция (с международным участием). 10-11 ноября 2022 г. «Физиологическая реакция на стресс клеток нейробластомы человека SHSY-5Y в сравнение с эндотелиальными клетками человека EA.Hy926 в условиях моделируемой микрогравитации», Патогенез 202, Т.20, №3, С.123-124.
3. **Сергеева Е.А.**, Метелкин А.А., Попов М.А., Соколовская А.А. Исследование влияния моделированной микрогравитации на экспрессию циклинов клеточного цикла в мегакариоцитарной клеточной линии человека. XVIII конференция по космической биологии и авиакосмической медицине с международным участием, 7–9 ноября 2023 года.