

УДК 577.2

ПРИМЕНЕНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ С ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ В ХВОСТОВЫХ ГРУППАХ ПОЗВОЛЯЕТ ПРЕДОТВРАТИТЬ СНИЖЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЛОДОВОЙ МУШКИ *Drosophila melanogaster* В РАННИЙ ПЕРИОД РЕАДАПТАЦИИ ПОСЛЕ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

© 2024 г. И.В. Огнева*,#, К.К. Гогичаева*, Ю.С. Жданкина*, О.В. Котов*

*Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем РАН,
Хорошевское шоссе, 76а, Москва, 123007, Россия

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

Поступила в редакцию 01.07.2024 г.

После доработки 07.07.2024 г.

Принята к публикации 17.07.2024 г.

Целью работы была попытка предотвратить возникающее в ранний период реадaptации после космического полета снижение подвижности сперматозоидов плодовой мушки *Drosophila melanogaster* путем добавления в питательную среду фосфолипидов с полиненасыщенными жирными кислотами в хвостовых группах (эссенциальные фосфолипиды). Исследование проводили в рамках космических полетов на борту российского сегмента МКС в период 15 сентября 2023 – 27 сентября 2023 (экспедиция МКС-69) и 23 марта 2024 – 06 апреля 2024 (экспедиция МКС-70). Определяли содержание цитоскелетных белков в семенниках методом вестерн-блоттинга и подвижность сперматозоидов путем записи видео и последующего анализа. Результаты показали, что модификация питательной среды путем добавления эссенциальных фосфолипидов приводит к снижению содержания холестерина и увеличению содержания актина. Это предотвращает снижение содержания тубулина и уменьшение скорости движения сперматозоидов плодовой мушки в ранний период реадaptации (вплоть до 16 ч) после космического полета. Полученные данные, с одной стороны, демонстрируют возможный механизм запуска механотрансдукции, а с другой – позволяют предложить эссенциальные фосфолипиды как одно из средств защиты от негативных изменений, связанных с изменением поля силы тяжести, действующего на клетку.

Ключевые слова: механочувствительность клетки, невесомость, цитоскелет, подвижность сперматозоидов, *Drosophila melanogaster*.

DOI: 10.31857/S0006302924060079, EDN: NLPTEL

Освоение дальнего космоса, в частности, других тел Солнечной системы, вероятнее всего, приведет к увеличению продолжительности космических полетов и, в связи с этим, разработке принципиально новых средств поддержания здоровья и работоспособности человека в этих условиях. Развитие негативных изменений в различных органах и тканях начинается на клеточном уровне, однако механизм взаимодействия клетки и гравитационного поля до сих пор остается одним из нерешенных в современной биофизике. Более того, эволюционный аспект этой проблемы требует исследования не только сформировавшихся организмов, но и зародышей, в первую

очередь, ранних эмбрионов и половых клеток, которые у большинства видов функционируют как одиночные.

Изменение структуры цитоскелета различных типов клеток, вне зависимости от степени дифференцировки, в условиях реальной или симулируемой невесомости, также, как и в условиях гипергравитации является хорошо документированным фактом [1]. Нарушение структуры микротрубочек, промежуточных филаментов и микрофиламентов отмечают во многих исследованиях [2–10]. Однако подобные изменения в мужских половых клетках – сперматозоидах, могут привести к снижению эффективности поддержания популяции.

Сперматозоиды различных видов животных достаточно сильно отличаются друг от друга, од-

Сокращение: МКС – Международная космическая станция.

нако, сравнивая мужские половые клетки стандартных объектов экспериментальной биологии, мышей и мух, следует отметить, что основные структурно-функциональные параметры у них достаточно схожи (например, строение сперматозоида, строение аксонемы, высокая гомология структурных белков аксонемы).

Для мышей показано, что условия космического полета, также, как и симулированная невесомость, снижают число зрелых сперматозоидов [11–13], уменьшается скорость движения и доля подвижных сперматозоидов, отмечаются изменения в содержании белков цитоскелета и мРНК соответствующих генов [14, 15].

Для мух в условиях симулированной невесомости было показано, что в отличие от мышей, скорость движения сперматозоидов в коротких экспериментах возрастает, но различие, вероятно, обусловлено разной регуляцией фосфорилирования /дефосфорилирования моторных белков, а не механизмом запуска изменений [16].

Однако космический полет имеет целый ряд факторов, сочетанное действие которых может отличаться от действия только невесомости. При полете на низких орбитах, как у Международной космической станции (МКС), вклад ионизирующего излучения не столь велик. Основное действие в этом случае оказывают невесомость и перегрузки на пуске и посадке, а также период адаптации к силе тяжести Земли.

Одним из наиболее удобных объектов для изучения влияния силы тяжести на гаметогенез и развитие многоклеточного организма, причем нескольких последовательных поколений, является плодовая мушка *Drosophila melanogaster* ввиду неприхотливости в содержании, что позволяет реализовать такого рода исследования в условиях реальной невесомости. Поэтому целый ряд экспериментов в условиях космического полета был проведен на разных линиях *Drosophila melanogaster* [17–19].

В предыдущих сеансах эксперимента «Цитомеханариум», который проводят на борту Российского сегмента МКС в ходе экспедиций МКС-65 и МКС-66 мы получили данные о подвижности сперматозоидов плодовой мушки *Drosophila melanogaster* после 12-суточного космического полета [20]. Исследование двигательной активности осуществляли в условиях лаборатории через 16 ч после посадки и увидели, что скорость в полетной группе достоверно ($p < 0.05$) ниже контрольного уровня на 20%, что, исходя из данных симуляционного эксперимента с воспроизведением всех факторов космического полета (кроме ионизирующего излучения), связано с действием посадочных перегрузок и 16-часового пребывания в условиях силы тяжести Земли [20].

Мы предполагаем, что рецепция изменения поля силы тяжести, действующего на клетку, связана с деформацией кортикального цитоскелета, поэтому увеличение числа филаментов актина в нем способно снизить или даже предотвратить запуск механотрансдукции [1, 21]. Большинство препаратов, которые приводят к подобному результату, например, каликулин А, невозможно использовать *in vivo*. В ряде случаев к аналогичному эффекту, то есть к сдвигу соотношения F/G-актин в подмембранном цитоскелете в сторону F-актина, приводит экстракция из мембран холестерина [22, 23]. Поэтому мы предположили, что модификация липидного состава клеточных мембран путем введения в состав питательной среды насыщающего количества фосфолипидов с полиненасыщенными жирными кислотами в хвостовых группах (эссенциальные фосфолипиды) может снизить содержание холестерина в клеточных мембранах, привести к формированию более устойчивого к деформации кортикального цитоскелета и помочь предотвратить изменения подвижности сперматозоидов плодовой мушки, которые мы наблюдали в предыдущих сеансах космического эксперимента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Организация эксперимента. В эксперименте использовали два типа плодовой мушки *Drosophila melanogaster* линии Canton S, один из которых культивировали на стандартной для разведения дрозофилы среде следующего состава: вода — 1000 мл, агар-агар — 7 г, сахарный песок — 40 г, манная крупа — 40 г, пекарские дрожжи — 25 г, пропионовая кислота — 10 мл. Второй тип культивировали на среде модифицированного состава, в которую кроме стандартных компонентов добавляли эссенциальные фосфолипиды в виде препарата EssentialeR Forte N (A.NATTERMANN and Cie. GmbH, Германия) в дозировке 500 мг/кг среды, причем введение эссенциальных фосфолипидов начинали не менее чем за 3 поколения перед экспериментом таким образом, чтобы все стадии развития половых клеток проходили на модифицированной питательной среде.

До начала основного эксперимента (космического полета) провели исследование эффективности применения эссенциальных фосфолипидов — в группе мух, которых культивировали на стандартной немодифицированной среде (группа С) и в группе мух, которых культивировали на среде с добавлением эссенциальных фосфолипидов (группа СЕ) выделяли семенники и немедленно начинали окрашивание для определения содержания холестерина (методику см. ниже).

Циклограмму проводимого эксперимента составляли соответственно циклограмме предыдущего исследования, в котором обнаружили сни-

жение подвижности сперматозоидов в ранний период реадaptации [20]. За 11 суток до начала космического полета пятьдесят пар виргинных имаго плодовой мушки *Drosophila melanogaster* линии Canton S возрастом 2 суток помещали в пробирки типа Falcon объемом 50 мл с воздухопроницаемой крышкой и средой соответствующего состава. В течение 1 суток мухи откладывали яйца, затем их удаляли из пробирок, оставляя только яйца. Далее эти пробирки экспонировали либо в условиях космического полета, либо в синхронном контроле на Земле. Вылет мух был на второй день пребывания в условиях космического полета или наземного контроля.

Космический эксперимент «Цитомеханариум» был проведен два раза с четырьмя биологическими репликами каждый (для каждого определяемого параметра были получены результаты как минимум трех биологических реплик) в рамках космических полетов на борту Российского сегмента МКС в период 15 сентября 2023 г. – 27 сентября 2023 г. (экспедиция МКС-69) и 23 марта 2024 г. – 06 апреля 2024 г. (экспедиция МКС-70).

В реальном космическом полете и соответствующем синхронном контроле у части самцов семенники извлекали на месте посадки и немедленно замораживали для последующего определения содержания белков. Ввиду невозможности проведения прижизненных исследований на месте посадки не проводили определение параметров двигательной активности. У оставшихся самцов семенники извлекали в лаборатории (через 16 и 24 ч после посадки): часть из них замораживали для последующего выделения белка, оставшиеся использовали для определения параметров двигательной активности.

Были сформированы 12 групп исследования, из которых 6 групп культивировали на стандартной среде:

– S и F – группы синхронного контроля и полета, соответственно, семенники в которых замораживали на месте посадки, подвижность сперматозоидов не определяли;

– S+16h и F+16h – группы синхронного контроля и полета, семенники которых извлекали через 16 ч после посадки спускаемого аппарата, проводили измерения подвижности и замораживали для последующего определения содержания белков;

– S+24h и F+24h – как и выше, но все манипуляции проводили через 24 ч после посадки космического корабля.

Аналогично, были сформированы такие же 6 групп исследования, плодную мушку которых культивировали на среде с добавлением эссенциальных фосфолипидов (E): SE и FE, SE+16h и FE+16h, SE+24h и FE+24h.

Все группы имели одинаковый температурный режим, который соблюдали по графику температуры группы космического полета.

Определение относительного содержания холестерина в семенниках. Семенники плодовой мушки *Drosophila melanogaster* выделяли в физиологическом растворе для насекомых (0.65% хлорида натрия). Затем переносили в 4%-й забуференный параформальдегид, инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, промывали фосфатно-солевым буфером и далее окрашивали Filipin III в концентрации 100 мкг/мл (SC-205323A; Santa Cruz Biotechnology, США) в течение 1.5 ч. Далее снова промывали фосфатно-солевым буфером и переносили в среду Fluoroshield (#F6057, Sigma, США). Флуоресценцию наблюдали с помощью флуоресцентного микроскопа IX73 (Olympus Corp., Япония), изображения обрабатывали в программном пакете Fiji (открытый доступ <https://imagej.net>).

Определение относительного содержания белков. Для одной биологической реплики использовали семенники двадцати мух каждой группы исследования. Для каждой группы исследования были получены результаты как минимум трех биологических реплик. Семенники выделяли, немедленно замораживали и хранили при температуре -60°C вплоть до выделения белков.

Для выделения белка замороженные пробы гомогенизировали в буфере Лэммли с добавлением смеси ингибиторов протеаз (Calbiochem, США). Измеряли концентрацию общего белка в полученных пробах и наносили одинаковое количество в каждую лунку полиакриламидного геля, в котором проводили электрофорез в денатурирующих условиях (Bio-Rad Laboratories, США) с последующим переносом на нитроцеллюлозную мембрану, эффективность которого контролировали окраской Понсо. После переноса мембраны блокировали в 4%-м молоке (Skim milk powder #70166-500G, Sigma-Aldrich, Германия) и окрашивали с использованием первичных антител к актину (1 : 5000, #ab227387, Abcam, Великобритания), к альфа-тубулину (1 : 10000, #ab52866, Abcam, Великобритания), ацетилированному альфа-тубулину (1 : 500, #sc-23950, Santa Cruz Biotechnology, Inc., США), динеину (5 мкг/мл, eBioscience™ #14-9772-80, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, США) и соответствующих им HRP-конъюгированных вторичных антител (anti-rabbit #7074S, anti-mouse #7076S, все – от Cell Signaling Technology, США). Далее мембраны обрабатывали субстратами (SuperSignal™ West Femto Maximum Sensitivity Substrate, Thermo Scientific, США), детектировали с помощью ChemiDoc XRS+ imaging system (Bio-Rad Laboratories, США) и анализировали, используя Image Lab Software (Bio-Rad Laboratories, США).

Определение параметров двигательной активности сперматозоидов. Скорость движения сперматозоидов плодовой мушки измеряли в соответствии с методикой, подробно описанной нами ранее [16, 20].

Вкратце: семенники мух каждой группы исследования выделяли, разрезали в физиологическом растворе для насекомых (0.65% хлорида натрия) с целью высвобождения сперматозоидов и переносили в камеру Маклера (Sefi Medical Instruments Ltd., Израиль), которую размещали под фазово-контрастным объективом микроскопа Eclipse E200 MV (Nikon, Япония) с общим увеличением 200×. Записывали видео движения сперматозоидов с частотой 60 кадров в секунду с разрешением 2 мегапикселя (цветная камера Basler puA1600-60uc с сенсором e2V EV76C570 CMOS, Basler AG, Германия). Для анализа видеоизображений использовали программный пакет Fiji с плагином Manual Tracking (открытый доступ <https://imagej.net/software/fiji/>). Определяли скорость движения (в мкм/с) как расстояние, пройденное концом хвоста за секунду.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Относительное содержание холестерина. Для определения влияния эссенциальных фосфолипидов на содержание холестерина в семенниках плодовой мушки *Drosophila melanogaster* проводили окрашивание красителем Filipin III.

Полученные результаты (рис. 1) свидетельствуют о том, что у мух, предыдущие три поколения которых культивировали на среде, содержащей эссенциальные фосфолипиды (группа СЕ), относительное содержание холестерина в семенниках снижено на 35% ($p < 0.05$) по сравнению с группой, культивирование которой проходило на стандартной немодифицированной среде (группа С).

Относительное содержание цитоскелетных белков. Относительное содержание актина (Рис. 2, А) в группе F не отличалось от уровня контроля (группа S). Через 16 ч реадаптации к силе тяжести оно было ниже соответствующего контроля на 43% ($p < 0.05$), но через 24 ч возрастало, хотя уровень контроля не достигало и оставалось ниже на 22% ($p < 0.05$). В семенниках мух, которые получали эссенциальные фосфолипиды в питательной среде, относительное содержание актина в контрольной группе SE было на 42% выше ($p < 0.05$), чем в группе S. Столь же высоким оно оставалось после космического полета и в течение всего периода реадаптации.

Относительное содержание динеина (рис. 2б) не менялось ни в одной из групп исследования, включая группы, которые культивировали на мо-

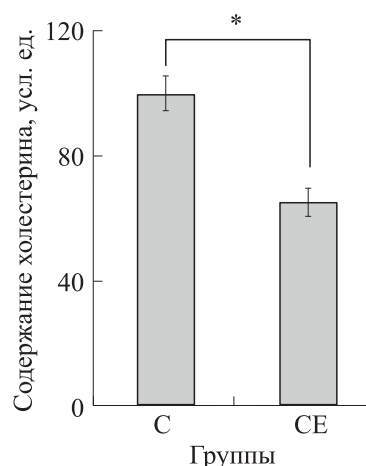


Рис. 1. Содержание холестерина в семенниках плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Группа С — семенники мух, которых культивировали на стандартной среде; группа СЕ — семенники мух, которых культивировали на среде с добавлением эссенциальных фосфолипидов; * — $p < 0.05$ по сравнению с группой С.

дифицированной среде с добавлением эссенциальных фосфолипидов.

Относительное содержание альфа-тубулина (рис. 2в) и ацетилированного альфа-тубулина (рис. 2г) в группе F возрастало в условиях космического полета на 50% и 25% ($p < 0.05$), соответственно. Через 16 ч реадаптации, в группе F+16h, содержание альфа-тубулина и его ацетилированной формы было ниже соответствующего контроля на 37% и 29% ($p < 0.05$), соответственно, но через 24 ч восстановления от уровня контроля эти параметры не отличались. При этом в группах, получавших эссенциальные фосфолипиды, ни в контрольной группе SE по сравнению с группой S, ни в группах полета (FE) и восстановления (FE+16h и FE+24h) изменений не было.

Подвижность сперматозоидов. Ввиду технической невозможности организации условий для осуществления методики на месте посадки космического корабля определение двигательной активности сперматозоидов проводили через 16 и 24 ч пребывания в условиях силы тяжести Земли, то есть в период реадаптации.

Следует отметить, что скорость движения сперматозоидов мух групп синхронного контроля S+16h и S+24h не отличалась (рис. 3). Более того, в контрольных группах мух, которые получали эссенциальные фосфолипиды, SE+16h и SE+24h, скорость была такой же как в группах S+16h и S+24h.

В полетной группе F+16h скорость движения конца хвоста сперматозоида снижена на 33% ($p < 0.05$) по сравнению с соответствующей группой синхронного контроля S+16h, но через 24 ч ре-

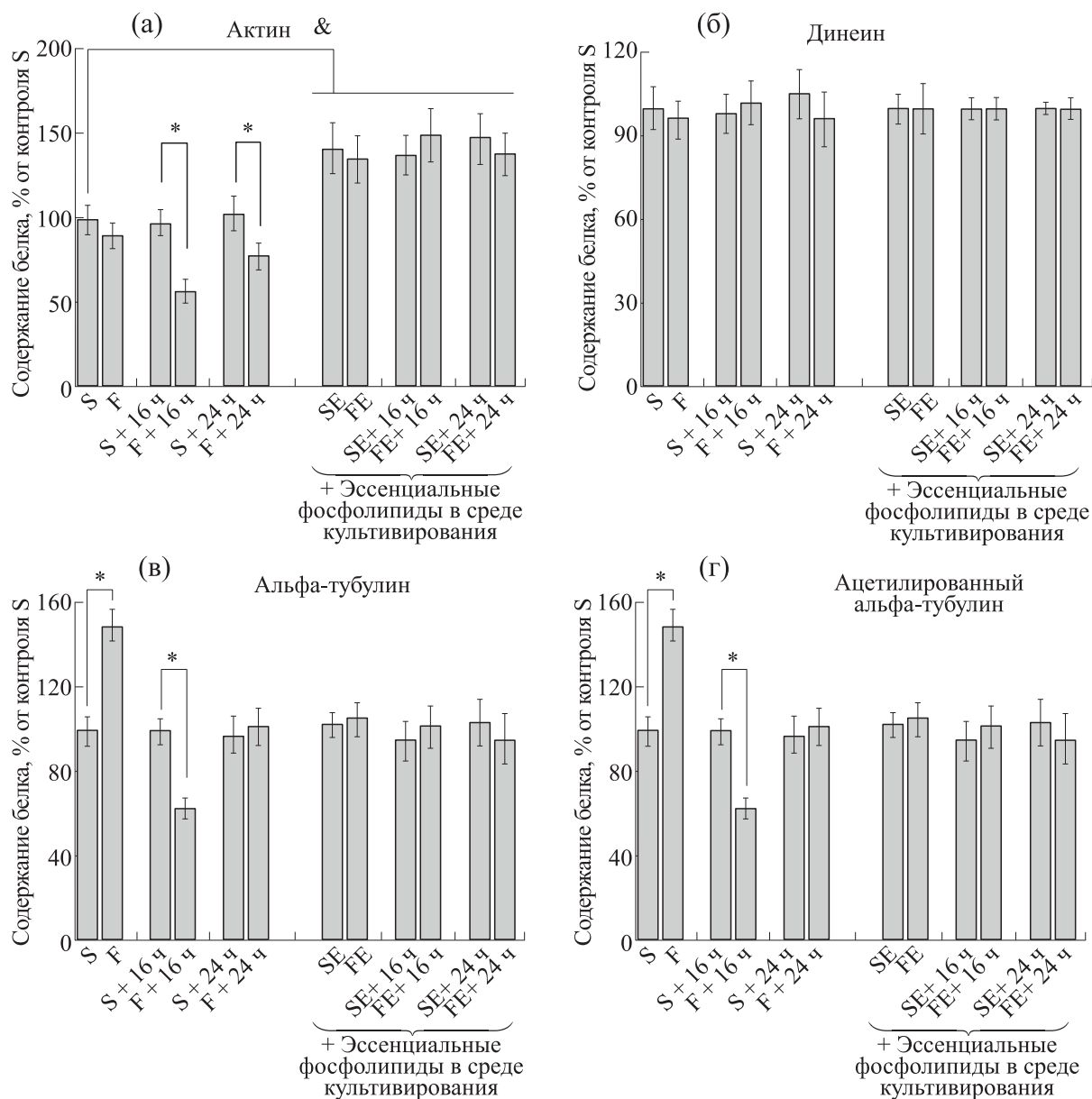


Рис. 2. Относительное содержание цитоскелетных белков в семенниках плодовой мушки *Drosophila melanogaster* после космического полета: (а) — относительно содержание актина, (б) — динеина, (в) — альфа-тубулина, (г) — ацетилированного альфа-тубулина; & — $p < 0.05$ по сравнению с группой S, * — $p < 0.05$ по сравнению с соответствующей группой синхронного контроля.

адаптации достоверных отличий не было (группа F+24h vs. группа S+24h). Однако, в полетных группах мух, которые получали эссенциальные фосфолипиды отличий скорости движения сперматозоидов от уровня синхронного контроля не было ни через 16 ч реадаптации (FE+16h vs. SE+16h), ни через 24 ч (FE+24h vs. SE+24h).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данное исследование было предпринято с целью проверки возможности использования эс-

сенциальных фосфолипидов как протекторного средства, позволяющего сохранить подвижность сперматозоидов плодовой мушки *Drosophila melanogaster* в ранний период адаптации к силе тяжести Земли после космического полета.

Для проверки эффективности введения в состав питательной среды и используемой концентрации эссенциальных фосфолипидов в среде культивирования до начала применения в условиях космического полета провели окрашивание семенников мух Filipin III, что позволило определить относительное содержание холестерина. Ре-

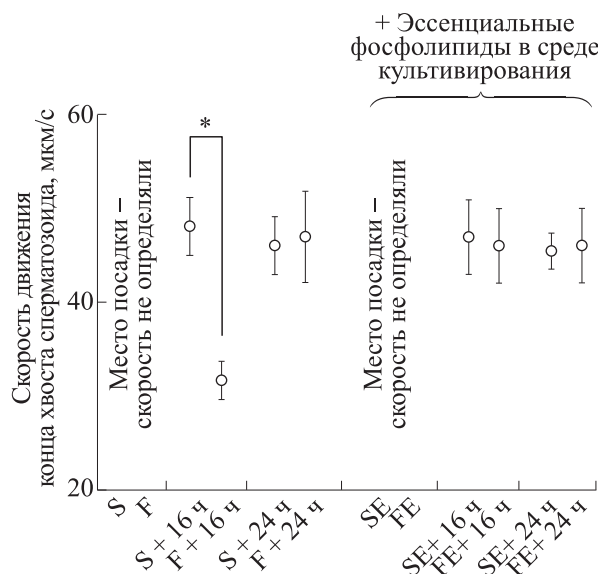


Рис. 3. Подвижность сперматозоидов плодовой мушки *Drosophila melanogaster* после космического полета. Представлены данные, полученные после раннего периода реадaptации (через 16 и 24 ч); * — $p < 0.05$ по сравнению с соответствующей группой синхронного контроля.

зультаты показали (рис. 1), что, действительно, введение эссенциальных фосфолипидов с питательной средой снижает содержание холестерина в семенниках плодовой мушки. Следует отметить, что эффект снижения содержания холестерина при введении использованного нами препарата отмечали и в других типах клеток, в частности, в мозге и эритроцитах крыс [24].

Снижение холестерина в клеточной мембране приводит к перестройкам цитоскелета [25–27] и, в зависимости от типа клеток, в ряде случаев, к увеличению содержания актина [22, 23]. Поэтому сравнили относительное содержание актина в контрольных группах S и SE и обнаружили его достоверное увеличение на фоне получения эссенциальных фосфолипидов с питательной средой (рис. 2а).

Поскольку мы предполагаем, что изменение действующей на клетку силы тяжести приводит к ее деформации [1, 21], то конденсация кортикального актина может увеличить устойчивость к изменению внешнего механического напряжения [21] и, соответственно, защитить от его негативного воздействия. Полученные данные показывают, что содержание актина в семенниках плодовой мушки, полетной группы, которую содержали на стандартной среде, снижается через 16 ч после космического полета, и хотя через 24 ч возрастает, но уровня контроля, тем не менее, не достигает (рис. 2а). При этом на фоне получения эссенциальных фосфолипидов изменения содержания актина в семенниках полетной группы, по сравнению с соответствующими группами синхронного контроля не было (рис. 2а), что свиде-

тельствовало о вероятном протективном действии полиненасыщенных жирных кислот.

Действительно, в предыдущем эксперименте [20] мы показали, что в семенниках плодовой мушки в невесомости содержание альфа-тубулина и его ацетилированной формы увеличивается, но через 16 ч реадaptации к силе тяжести Земли достоверно уменьшается ниже контрольного уровня, причем снижается и скорость движения сперматозоидов на фоне неизменного содержания динеина, что имело место и в этом эксперименте (рис. 2б–г и рис. 3). Но применение эссенциальных фосфолипидов позволило предотвратить эти изменения.

Следует отметить, что в более поздний период реадaptации (через 24 ч после окончания космического полета) даже без применения эссенциальных фосфолипидов содержание тубулина и скорость движения сперматозоидов не отличались от уровня контроля, что свидетельствует о пластичности внутриклеточных механизмов регуляции подвижности, по крайней мере, у плодовой мушки. Однако использование эссенциальных фосфолипидов позволило продемонстрировать вероятный механизм рецепции изменения поля силы тяжести, действующего на клетку.

Таким образом, в данном эксперименте нам удалось показать эффективность применения эссенциальных фосфолипидов для поддержания цитоскелетного профиля в семенниках и скорости движения сперматозоидов плодовой мушки *Drosophila melanogaster* в космическом полете и в ранний период реадaptации.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН FMFR-2024-0041 и финансированием Госкорпорации «Роскосмос».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, связанных с изложенными в статье данными.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все экспериментальные процедуры были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 521 от 25 сентября 2019 года).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ogneva I. V. Single cell in a gravity field. *Life (Basel)*, **12** (10), 1601 (2022). DOI: 10.3390/life12101601
- Schatten H., Lewis M. L., and Chakrabarti A. Spaceflight and clinorotation cause cytoskeleton and mitochondria changes and increases in apoptosis in cultured cells. *Acta Astronaut.*, **49** (3–10), 399–418 (2001). DOI: 10.1016/s0094-5765(01)00116-3
- Uva B. M., Masini M. A., Sturla M., Prato P., Passalacqua M., Giuliani M., Tagliaferro G., and Strollo F. Clinorotation-induced weightlessness influences the cytoskeleton of glial cells in culture. *Brain Res.*, **934** (2), 132–139 (2002). DOI: 10.1016/s0006-8993(02)02415-0
- Gaboyard S., Blanchard M. P., Travo C., Viso M., Sans A., and Lehouelleur J. Weightlessness affects cytoskeleton of rat utricular hair cells during maturation *in vitro*. *Neuroreport*, **13** (16), 2139–2142 (2002). DOI: 10.1097/00001756-200211150-00030
- Kacena M. A., Todd P. and Landis W. J. Osteoblasts subjected to spaceflight and simulated space shuttle launch conditions. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, **39** (10), 454–459 (2003). DOI: 10.1290/1543-706X(2003)039<0454:OSTSAS>2.0.CO;2
- Crawford-Young S. J. Effects of microgravity on cell cytoskeleton and embryogenesis. *Int. J. Dev. Biol.*, **50** (2–3), 183–191 (2006). DOI: 10.1387/ijdb.052077sc
- Corydon T. J., Kopp S., Wehland M., Braun M., Schutte A., Mayer T., Halsing T., Oltmann H., Schmitz B., Hemmersbach R., and Grimm D. Alterations of the cytoskeleton in human cells in space proved by life-cell imaging. *Sci. Rep.*, **6**, 20043 (2016). DOI: 10.1038/srep20043
- Thiel C. S., de Zolicourt D., Tauber S., Adrian A., Franz M., Simmet D. M., Schoppmann K., Hauschild S., Krammer S., Christen M., Bradacs G., Paulsen K., Wolf S. A., Braun M., Hatton J., Kurtcuoglu V., Franke S., Tanner S., Cristoforetti S., Sick B., Hock B., and Ullrich O. Rapid adaptation to microgravity in mammalian macrophage cells. *Sci. Rep.*, **7** (1), 43 (2017). DOI: 10.1038/s41598-017-00119-6
- Thiel C. S., Tauber S., Seebacher C., Schropp M., Uhl R., Lauber B., Polzer J., Neelam S., Zhang Y., and Ullrich O. Real-time 3D high-resolution microscopy of human cells on the international space station. *Int. J. Mol. Sci.*, **20** (8), 2033 (2019). DOI: 10.3390/ijms20082033
- Thiel C. S., Tauber S., Lauber B., Polzer J., Seebacher C., Uhl R., Neelam S., Zhang Y., Levine H., and Ullrich O. Rapid morphological and cytoskeletal response to microgravity in human primary macrophages. *Int. J. Mol. Sci.*, **20** (10), 2402 (2019). DOI: 10.3390/ijms20102402
- Serova L. V. and Denisova L. A. The effect of weightlessness on the reproductive function of mammals. *Physiologist*, **25** (6), S9–S12 (1982).
- Serova L. V., Denisova L. A., and Baikova O. V. The effect of microgravity on the reproductive function of male-rats. *Physiologist*, **32** (1 Suppl.), S29–S30 (1989).
- Tash J. S., Johnson D. C., and Enders G. C. Long-term (6-wk) hindlimb suspension inhibits spermatogenesis in adult male rats. *J. Appl. Physiol.*, **92** (3), 1191–1198 (2002). DOI: 10.1152/jappphysiol.00931.2001
- Usik M. A. and Ogneva I. V. Cytoskeleton structure in mouse sperm and testes after 30 days of hindlimb unloading and 12 hours of recovery. *Cell. Physiol. Biochem.*, **51** (1), 375–392 (2018). DOI: 10.1159/000495235
- Ogneva I. V., Usik M. A., Loktev S. S., Zhdankina Yu. S., Biryukov N. S., Orlov O. I., and Sychev V. N. Testes and duct deferens of mice during space flight: cytoskeleton structure, sperm-specific proteins and epigenetic events. *Sci. Rep.*, **9**, 9730 (2019). DOI: 10.1038/s41598-019-46324-3
- Ogneva I. V. Mouse and fly sperm motility changes differently under modelling microgravity. *Curr. Issues Mol. Biol.*, **43** (1), 590–604 (2021). DOI: 10.3390/cimb43020043
- Parfyonov G. P., Platonova R. N., Tairbekov M. G., Zhvalikovskaya V. P., Mozgovaya I. E., Rostopshina A. V., and Rozov A. N. Biological experiments carried out aboard the biological satellite Cosmos-936. *Life Sci. Space Res.*, **17**, 297–299 (1979). DOI: 10.1016/B978-0-08-023416-8.50044-1
- Marco R., Bengura A., Sanchez J., and de Juan E. Effects of the space environment on *Drosophila melanogaster* development. Implications of the IML-2 experiment. *J. Biotechnol.*, **47** (2–3), 179–189 (1996). DOI: 10.1016/0168-1656(96)01408-3
- Ogneva I. V., Belyakin S. N., and Sarantseva S. V. The development of *Drosophila melanogaster* under different duration space flight and subsequent adaptation to earth gravity. *PLoS One*, **11** (11), e0166885 (2016). DOI: 10.1371/journal.pone.0166885
- Ogneva I. V., Zhdankina Y. S., and Kotov O. V. Sperm of fruit fly *Drosophila melanogaster* under space flight. *Int J Mol Sci*, **23** (14), 7498 (2022). DOI: 10.3390/ijms23147498

21. Ogneva I. V. The Mechanoreception in *Drosophila melanogaster* oocyte under modeling micro- and hypergravity. *Cells*, **12** (14), 1819 (2023). DOI: 10.3390/cells12141819
22. Morachevskaya E., Sudarikova A., and Negulyaev Y. Mechanosensitive channel activity and F-actin organization in cholesterol-depleted human leukaemia cells. *Cell Biol. Int.*, **31** (4), 374–381 (2007). DOI: 10.1016/j.cellbi.2007.01.024
23. Chubinskiy-Nadezhdin V. I., Negulyaev Y. A., and Morachevskaya E. A. Cholesterol depletion-induced inhibition of stretch-activated channels is mediated via actin rearrangement. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **412** (1), 80–85 (2011). DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.07.046
24. Jayaraman T., Kannappan S., Ravichandran M. K., and Anuradha C. V. Impact of Essentiale L on ethanol-induced changes in rat brain and erythrocytes. *Singapore Med. J.*, **49** (4), 320–327 (2008).
25. Harder T. and Simons K. Clusters of glycolipid and glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in lymphoid cells: accumulation of actin regulated by local tyrosine phosphorylation. *Eur. J. Immunol.*, **29** (2), 556–562 (1999). DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199902)29:02<556::AID-IMMU556>3.0.CO;2-2
26. Brown D. A. and London E. Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts. *J. Biol. Chem.*, **275** (23), 17221–17224 (2000). DOI: 10.1074/jbc.R000005200
27. Brown DA. Lipid rafts, detergent-resistant membranes, and raft targeting signals. *Physiology (Bethesda)*, **21**, 430–439 (2006). DOI: 10.1152/physiol.00032.2006

The Administration of Phospholipids with Polyunsaturated Fatty Acids in the Tail Groups Makes It Possible to Prevent the Decrease of Sperm Motility of the Fruit Fly *Drosophila melanogaster* in the Early Period of Readaptation after Space Flight

I.V. Ogneva, K.K. Gogichaeva, Yu.S. Zhdankina, and O.V. Kotov

SSC RF Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Khoroshevskoye shosse 76a, Moscow, 123007 Russia

The aim of the study was the attempt to prevent the decrease in sperm motility of the fruit fly *Drosophila melanogaster* that occurs in the early period of readaptation after space flight by adding phospholipids with polyunsaturated fatty acids in the tail groups (essential phospholipids) to the nutrient medium. The study was carried out as part of space flights on board the Russian segment of the International Space Station during the period September 15, 2023 – September 27, 2023 (ISS-69) and March 23, 2024 – April 6, 2024 (ISS-70). The content of cytoskeletal proteins in the testes was determined by Western blotting and sperm motility by video recording and subsequent analysis. The results of the study show that modification of the nutrient medium by adding essential phospholipids leads to a decrease in cholesterol content and an increase in actin content, which prevents a decrease in tubulin content and a decrease in the speed of movement of fruit fly sperm in the early period of readaptation (up to 16 hours) after space flight. The data obtained, on the one hand, demonstrate a possible mechanism for triggering mechanotransduction, and on the other, allow us to propose essential phospholipids as one of the means of protection against negative changes associated with changes in the gravity field acting on the cell.

Keywords: cell mechanosensitivity, weightlessness, cytoskeleton, sperm motility, Drosophila melanogaster