

Заявка 20(д) № 2020-20(д)-2895-7138

Заявка на разработку:

комплексной научно-технической программы

Наименование органа государственной власти, организации реального сектора экономики, общественного объединения, института развития, иной организации, являющегося инициатором комплексной программы/комплексного проекта, или ФИО члена совета по приоритетным направлениям научно-технологического развития Российской Федерации

Кафедра физиологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н. И. Пирогова» Министерства Здравоохранения РФ

Название

Разработка технологии снижения степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, на человека путем управления работой механоправляемых ионных каналов мембран биологических клеток.

1. Цель комплексной программы/комплексного проекта (конечные результаты, соответствующие приоритетам научно-технологического развития Российской Федерации)

Добиться значимых мультипликативных эффектов от создания универсальной технологической платформы, на основе которой можно будет создавать линейку фармакологических препаратов, регулирующих работу механоправляемых ионных каналов мембран клеток на молекулярном уровне, методы снижения действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на человека и их апробацию для отраслевых задач обеспечения жизнедеятельности.

Известно негативное влияние на организм ряда физических техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления. Изучение механизмов действия этих факторов на биологические объекты на клеточном и молекулярном уровнях, с учетом проведенных многолетних исследований, определивших мишени действия этих факторов – механоправляемые ионные каналы, в современных условиях позволяет создать принципиально новое практико - ориентированное научное направление и разработать технологию снижения степени действия этих физических факторов на человека. Приоритетное научно-технологическое направление является междисциплинарным, в котором в соответствии Указом Президента РФ от 7 июля 2011 г. № 899 взаимодействуют следующие критические технологии:

№ 3. «Биокаталитические, биосинтетические и биосенсорные технологии»,
№ 6. «Клеточные технологии»,

№21 «Технологии предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера».

№22 «Технологии снижения потерь от социально значимых заболеваний».

2. Обоснование актуальности комплексной программы/комплексного проекта (важность реализации комплексной программы, комплексного проекта для достижения результатов, указанных в пункте 1 настоящей заявки).

Создание принципиально нового направления науки жизнеобеспечения человека, основанного на последних достижениях медицины - клеточных и молекулярных технологиях в условиях нарастающих техногенных катастроф и нестабильной внешнеполитической обстановки является крайне актуальной.

Негативное воздействие на организм техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, известно давно, однако нет единого представления о механизмах действия этих факторов, и тем более, не хватает системных знаний, которые позволили бы снизить степень действия или предотвратить действие техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, на биологические объекты.

Одним из примеров быстрого изменения давления в обычной среде является волна сжатия, при которой быстро меняется давление. Кроме того, известны волны, перемещающиеся в среде и своими перемещениями создающие механические колебания. В большинстве случаев борьба с этими факторами является малоэффективной. (Детализация техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления и их особенности представлены на бумажном носителе в Паспорте программы).

В основе восприятия организмом техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, по мнению ученых, занимающихся изучением этой проблематики, лежат структуры клеток, воспринимающие механическую энергию (растяжение или сжатие) как полноценный для себя сигнал, так называемые, механоуправляемые ионные каналы. Именно эти структуры являются мишенью для действия физических факторов. Активация работы этих каналов или увеличение их экспрессии приводят к существенным нарушениям в работе органов и тканей. В этом случае фармакологическая коррекция работы механоуправляемых ионных каналов может привести к снижению степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, на биологические объекты. При этом может рассматриваться ослабление действия физических факторов на фоне их применения и последствий их применения. Это принципиально новый путь решения проблемы.

Совершенно очевидно, что снижение степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на биологические объекты на основе целенаправленной

регуляции работы механоуправляемых ионных каналов, являющихся мишенью для этих физических факторов, и разработка технологии снижения степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на человека обеспечит технологический суверенитет и лидерство России на мировом уровне.

Решение этой проблемы имеет значение также для перехода к персонализированной медицине и высокотехнологичному здравоохранению поскольку применение фармакологических препаратов, модулирующих работу механоуправляемых ионных каналов или меняющих величину экспрессии ионных каналов, позволяет предотвратить негативный эффект при хроническом течении гипертонической болезни, рисков возникновения механоиндуцированных аритмий вплоть до фибрилляции, что имеет существенное значение в медицине. Наконец, полученные результаты Программы могут быть использованы для создания технологии ранней диагностики возникновения аритмий, что важно для РЖД, гражданской авиации и спорта в Российской Федерации.

Для дальнейшего развития различных тематических инновационных приложений в разных отраслях экономики соответствующим образом будут оформлены результаты интеллектуальной деятельности (РИД), чтобы обеспечить апробацию технологии совместно с профильными испытательными центрами и индустриальными партнерами для решения прикладных отраслевых задач. Например, создание алгоритма ранней диагностики возникновения механо-индуцированных аритмий (при возрастной гипертрофии, гипертрофии в результате систематических повышенных нагрузок и т.д.), что может найти применение в здравоохранении и спорте.

Также будет создан соответствующий учебный курс фармакологической коррекции нарушений функций организма по исследуемой тематике. Формирование научно-методического образовательного комплекса для обеспечения подготовки кадров и формирование гибких образовательных программ по электрофизиологии для повышения безопасности государственных служб и гражданского населения, уровня боеготовности Вооруженных Сил, повышения эффективности работы МЧС и гражданской авиации.

3. Комплексные задачи, на решение которых направлены комплексная программа (необходимые и достаточные для достижения соответствующей цели комплексной программы, а также обоснование необходимости проведения фундаментальных научных исследований).

Программа направлена на решение следующих комплексных задач:

1. Формирование опережающего научно-технического задела в области прорывных технологий жизнеобеспечения.
2. Определение новых соединений, ингибирующих работу механоуправляемых ионных каналов и других типов основных каналов, обладающих механосенситивностью, исследование их устойчивости, проведение токсикологических исследований и других доклинических исследований.

3. Создание необходимой инфраструктуры, позволяющей проводить исследования мирового уровня по различным аспектам и степени защищенности человека при техногенных опасностях и катастрофических ситуациях.
4. Разработка технологии снижения степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на человека и оформление результатов интеллектуальной деятельности (РИД) совместно с профильными испытательными центрами и индустриальным партнером.
5. Апробация технологии и подготовка к внедрению продукции нового поколения, создающей основу технологического лидерства и суверенитета страны, российского оборонно-промышленного комплекса, медицины, МЧС.
6. Создание алгоритма ранней диагностики возникновения механо-индуцированных аритмий (например, при возрастной гипертрофии, гипертрофии в результате систематических повышенных нагрузок и т.д.) для решения прикладных задач двойного назначения, что может найти применение в здравоохранении и спорте.
7. Обеспечение подготовки кадров и формирование гибких образовательных программ по электрофизиологии для повышения уровня боеготовности Вооруженных Сил, безопасности государственных служб и гражданского населения, повышения эффективности работы МЧС и гражданской авиации.

Проведенный анализ существующего уровня научных исследований и разработок показал следующее:

Идея снижения степени действия или предотвращения действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, на биологические объекты посредством изменения работы механоуправляемых ионных каналов является принципиально новой. По существу, это впервые сформулированное направление исследований для повышения уровня боеготовности Вооруженных Сил Российской Федерации, обеспечение безопасности государственных служб и гражданского населения.

Идея основывается на работах, которые с начала 80-х годов прошлого столетия проводили в лаборатории электрофизиологии кафедры физиологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И. Пирогова (организация заявитель). В начале 80-х годов Камкин А. Г. выдвинул предположение о том, что для ряда физических фактов, действующих на организм, должны быть специфические мишени на клеточном и молекулярном уровне, которые переводят тот или иной механический сигнал в электрический, характерный для всех клеток организма. И уже в 1982 году он впервые экспериментально показал, что фибробласты сердца в организме представляют собой механоэлектрические преобразователи с мембранной системой, чувствительной к механическим влияниям, которая, по-видимому, связана с ионными каналами [1,2,3]. А в 1984 году он показал, что при растяжении ткани предсердия у потенциалов действия возникает пролонгирование фазы реполяризации и увеличение ее амплитуды, которое при дальнейшем растяжении ткани переходит в hump-like деполяризацию и экстра-потенциалы действия [4]. Эти данные позволили Камкину А.Г. предположить, что существуют специальные ионные каналы, реагирующие на механический стресс клеток. Возможно, что этими каналами были найденные Sachs F.

(USA) в 1984 год методом patch-clamp в конфигурации cell-attached и outside-out patch каналы, реагирующие на изменение давления в patch-пипетке, которые он назвал условно stretch-activated channels [5]. После многочисленных исследований лабораторией А.Г. Камкина впервые в мире были зарегистрированы механоуправляемые ионные токи, протекающие через механоуправляемые ионные каналы на модели изолированных кардиомиоцитов [6-9] и показана их корреляция с механоиндуцированными потенциалами типа hump-like деполяризации [10,11]. Зарегистрированы механосенситивные потенциалы [12-16] и механоуправляемые ионные токи и у сердечных фибробластов [17,18], которые, по существу, являются механоэлектрическими преобразователями. В этих и других работах были напрямую растянуты изолированные кардиомиоциты и экспериментально доказано возникновение механоуправляемых токов при растяжении клеток, показана связь механоуправляемых токов с механоиндуцируемыми изменениями потенциалов клеток, а у клеток гипертрофированного миокарда наблюдается экспрессия механоуправляемых каналов, что, например, в сердце, объясняет механизм механоиндуцированных аритмий. Установлено межклеточное взаимодействие фибробластов и кардиомиоцитов и сформулирована теория их совместной работы в норме и патологии. Впрямую установлена связь механоуправляемых каналов с механоуправляемыми токами и потенциалами клеток, то есть решена основная проблема работы клеток и их регуляции.

Вместе с тем оставался открытым вопрос о возможной регуляции активности механоуправляемых каналов. Только при решении этого вопроса можно было предлагать настоящую Программу. В 2001 году А.Г. Камкин обратил внимание, что оксид азота (NO) регулирует ряд функций клеток [19], но лишь спустя 10 лет было однозначно показано и стал известен характер действия NO на механоуправляемые ионные каналы.

В 2010 году лаборатория электрофизиологии А.Г. Камкина впервые в мире представила работы о том, что доноры NO эффективно регулируют работу механоуправляемых каналов [20,21]. Далее (2011) было показано, что доноры NO активируют механоуправляемые ионные каналы и индуцируют механоуправляемые ионные токи у нерастянутых клеток. В противоположность этому растянутые клетки, у которых активированы механоуправляемые каналы доноры NO инактивируют и ингибируют механоуправляемые токи. Применение хелаторов NO полностью блокирует механоуправляемые токи у растянутых клеток и не дает вызвать эффект растяжения у нерастянутых клеток. Блокаторы NO синтаз полностью блокируют механоуправляемые каналы. Растяжение изолированных кардиомиоцитов от *wild type* мышей и от NOS1(-/-)- и NOS2(-/-) не препятствует развитию механоуправляемых токов. Тогда как растяжение кардиомиоцитов то NOS3(-/-) не продуцирует механоуправляемые токи. Это свидетельствует о регуляторной роли NO. На уровне регистрации канальной активности кардиомиоцитов было показано, что для активации механоуправляемых каналов необходимо наличие NO, который в низких концентрациях позволяет открывать механоуправляемые каналы при изменении натяжения мембраны клетки, а при высоких концентрациях блокирует возможность активации механоуправляемых каналов. Это принципиальное общебиологическое явление, найденное Камкиным А.Г. и его лабораторией [22,23]. Далее при помощи микроэлектродной техники с возможностью

дискретного растяжения ткани было показано, что доноры NO модифицируют фазу реполяризации потенциалов действия приводя к, так называемой, "hump-like" деполяризации, вызывающей экстрасистолы потенциалы действия и аритмию. Блокатор механоуправляемых каналов Gd(3+) блокировал эффект NO. Таким образом, низкая концентрация NO регулирует активацию механоуправляемых каналов, в то время как высокая их инактивирует [24]. Наконец, были показаны дозо-зависимые эффекты NO и его кинетика [25,26]. Кроме того, в многочисленных работах лаборатории под руководством Камкина А.Г. было впервые показано, что интерлейкины регулируют работу механоуправляемых ионных каналов [27-36].

В результате проведенных и изложенных выше экспериментов возникла идея/гипотеза исследования механизма действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, опосредованного через механо-управляемые ионные каналы клеток и при помощи, например, NO, снижение степени действия или предотвращение действия этих физических факторов на биологические объекты.

Дальнейшие исследования, выполненные к настоящему времени, показали зависимость активации и инактивации механоуправляемых каналов от концентрации NO и определили, что механизм модуляции работы механоуправляемых каналов при помощи NO, определяется, прежде всего, работой NO-гуанилатциклазной сигнальной системы (sGC), поскольку эффект и динамика развития эффекта при применении донора NO – SNAP и стимулятора sGC – BAY 41-2272 на IMGChNS сходные. Большой спектр интерлейкинов также модулирует работу механоуправляемых ионных каналов через NO-гуанилатциклазную систему [46-58].

Наконец была обнаружена роль механоуправляемых ионных каналов в развитии аритмий у пациентов с гипертонической болезнью и разработан способ прогнозирования развития жизнеопасных предсердных аритмий у пациентов с гипертонической болезнью [59]. Кроме того, применение соединений, модулирующих работу механоуправляемых ионных каналов или меняющих величину экспрессии ионных каналов, позволяет предотвратить негативный эффект при хроническом течении гипертонической болезни, рисков возникновения механоиндуцированных аритмий вплоть до фибрилляции, что имеет существенное значение в медицине.

До сегодняшнего дня, начиная с 2005 года, по механосенситивным каналам в мире командой под руководством Камкина А.Г. опубликовано 9 книг [37-45]. Одна монография издана в РФ на русском языке [37], вторая на английском [38] и семь издательством Springer на английском языке [39-45], из них шесть выпущены концерном Springer под редакцией Камкина А.Г., как одного из лидеров этого направления в науке [39,41-45].

Дальнейшие исследования, выполненные к настоящему времени, показали зависимость активации и инактивации механоуправляемых каналов от концентрации NO и определили, что механизм модуляции работы механоуправляемых каналов при помощи NO, определяется, прежде всего, работой NO-гуанилатциклазной сигнальной системы (sGC), поскольку эффект и динамика развития эффекта при применении донора NO –

SNAP и стимулятора sGC – BAY 41-2272 на IMGCh,NS сходные. Большой спектр интерлейкинов также модулирует работу механоуправляемых ионных каналов через NO-гуанилатциклазную систему [46-58].

Наконец была обнаружена роль механоуправляемых ионных каналов в развитии аритмий у пациентов с гипертонической болезнью и разработан способ прогнозирования развития жизнеопасных предсердных аритмий у пациентов с гипертонической болезнью [59].

В Приложении 1 представлены библиографические данные цитированных научных работ авторов в отечественных и зарубежных периодических изданиях.

Таким образом, предлагаемая к разработке Комплексна научно-технологическая программа полного инновационного цикла полностью соответствует реализации Приоритета научно-технологического развития Российской Федерации 20Д «Противодействие техногенным, биогенным, социокультурным угрозам, терроризму и идеологическому экстремизму, а также киберугрозам и иным источникам опасности для общества, экономики и государства» в соответствии с Постановлением Правительства РФ № 162 от 19.02.2019г.

4. Предполагаемые сроки и этапы реализации комплексной программы/комплексного проекта

Сроки выполнения Программы 2021-2025 г.

Комплексная программа структурирована в 3 блока, выполнение которых позволит обеспечить успешную реализацию, а именно:

Блок 1. Исследование механизмов изменения работы механоуправляемых ионных каналов клеток биологических объектов при действиях, связанных с быстрым изменением давления - **2021-2022 год**

Блок 2. Разработка технологии снижения степени действия быстрого изменения давления на человека за счет выявления соединений, ингибирующих работу механоуправляемых ионных каналов и других типов основных каналов, обладающих механосенситивностью - **2023-2025 год**

Блок 3. Апробация технологии и подготовка к внедрению продукции нового поколения совместно с профильными испытательными центрами и индустриальными партнерами и оформление результатов интеллектуальной деятельности (РИД) - **2024-2025 год**

Блок 1 – Исследование механизмов изменения работы механоуправляемых ионных каналов клеток биологических объектов при действиях, связанных с быстрым изменением давления – представляет собой фундаментальные научные исследования, необходимые для выполнения исследовательских работ и наработки баз данных по механизмам действия быстрого изменения давления на механоуправляемые ионные каналы и на потенциалуправляемые ионные каналы, обладающие механочувствительностью. Также не ясно, какие белки и в какие временные периоды на фоне или после воздействия экспрессируются в клетках организма.

Для получения **фундаментальных научных данных и проведения научно-исследовательских работ** поставлены подзадачи, решение каждой из которых позволит получить необходимую и достаточную информацию, в том числе:

1.1. Будет проведено исследование влияния техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на экспрессию и функции механоуправляемых ионных каналов мембран клеток и других типов основных каналов, обладающих механосенситивностью.

1.2. Будет исследовано влияние техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на NO-гуанилатциклазную систему, регулирующую функции механоуправляемых ионных каналов.

1.3. Изучение роли техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления в модификации процессов пролиферации и апоптоза клеток.

1.4. Будет исследовано влияние техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на полнотранскриптомные профили экспрессии генов в разных тканях (полнотранскриптомный анализ).

1.5. В целом будет показано, является ли действие физических факторов на механоуправляемые ионные каналы прямым, или оно связано с изменением экспрессии механоуправляемых ионных каналов, или оно опосредовано системой вторичных мессенджеров и/или других регуляторных механизмов, или все эти механизмы вносят вклад в развитие эффекта действия.

Блок 2 – Разработка технологии снижения степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на человека за счет выявления соединений, ингибирующих работу механоуправляемых ионных каналов и других типов основных каналов, обладающих механосенситивностью – позволит выявить соединения, которые меняют реакцию белковых структур клеток и, прежде всего, экспрессируемых на фоне физических факторов воздействия механоуправляемых ионных каналов, активируя или ингибируя их, что позволит создать платформу по изучению соединений, на базе которой можно будет создать линейку препаратов, применение которых может привести к снижению степени действия этих факторов и разработать технологию применения отобранных соединений.

Для решения **научно-исследовательских и опытно-конструкторских прикладных задач** поставлены подзадачи, решение каждой из которых позволит получить необходимую и достаточную информацию, в том числе:

2.1. Будет проведен отбор соединений, в том числе соединений, являющихся донорами NO, регулирующих функции экспрессируемых механоуправляемых ионных каналов мембран клеток и других типов основных каналов, обладающих механосенситивностью и для отобранных кандидатов исследовать механизмы их действия, взяв за основу доноры NO, отдающие оксид азота в водной среде в присутствии следовых количеств переходных металлов, в атомах которых появляются электроны на d- и f-орбиталях, доноры NO, отдающие оксид азота под действием ферментов эндотелия и препараты, активирующие или ингибирующие NO-синтазы (NOS).

2.2. Будет проведен полнотранскриптомный анализ экспрессии генов в тканях, выбранных на основании исследований блока 1, при воздействии препаратов - доноров NO и/или активиров/ингибиторов NOS или фосфодиэстераз; для генов, уровни экспрессии которых

изменяются под действием исследуемых препаратов, будет оценено наличие изменений в уровнях их белковых продуктов при неблагоприятных воздействиях до и после использования препаратов.

2.3. Будет создана платформа по изучению соединений, на базе которой можно будет создать линейку препаратов, применение которых может привести к снижению степени действия этих факторов.

2.4. Будет показана возможность снижения степени действия или предотвращения действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления донорами оксида азота (NO), или(и) интерлейкинами, или препаратами, ингибирующими экспрессию механоправляемых ионных каналов, или препаратами, ингибирующими экспрессию белков, участвующих в цепях вторичных мессенджеров механоправляемых ионных каналов. Это является качественно новым, прорывным результатом для обеспечения технологического суверенитета и лидерства страны.

2.5. Будет разработана технология применения отобранных соединений для ослабления действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления.

Блок 3 – Апробация технологии и подготовка к внедрению продукции нового поколения совместно с профильными испытательными центрами и промышленными партнерами и оформление результатов интеллектуальной деятельности – позволит провести исследования отобранных соединений для различных аспектов и степени защищенности человека при техногенных опасностях и катастрофических ситуациях и подготовить учебный курс фармакологической коррекции нарушений функций организма по исследуемой тематике.

Для решения **технологических, методологических и образовательных задач** поставлены подзадачи, каждая из которых позволит получить необходимые продукты и услуги, в том числе:

3.1 Будут проведены исследования отобранных соединений для различных аспектов и степени защищенности человека при техногенных опасностях и катастрофических ситуациях на устойчивость; токсикологические исследования и полный цикл доклинических исследований.

3.2. Апробация технологии и подготовка к внедрению продукции нового поколения совместно с профильными испытательными центрами и промышленными партнерами и оформление результатов интеллектуальной деятельности (РИД), в том числе по созданию алгоритма ранней диагностики возникновения механо- индуцированных аритмий (например, возрастной гипертрофии, гипертрофии в результате систематических повышенных нагрузок и т .д.) для решения прикладных задач двойного назначения, что может найти применение в здравоохранении и спорте.

3.3. Формирование научно-методического образовательного комплекса для обеспечения подготовки кадров, подготовка соответствующего учебного курса по электрофизиологии и учебного курса по фармакологической коррекции нарушений функций организма по исследуемой тематике для обеспечения подготовки специалистов и формирование гибких образовательных программ для повышения уровня боеготовности Вооруженных Сил, безопасности государственных служб и гражданского населения, повышения эффективности работы МЧС, РЖД и гражданской авиации.

Таким образом, в результате выполнения программы будет сформирована платформа по изучению соединений, на базе которой можно будет создать линейку препаратов, применение которых может привести к снижению степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, что не только соответствует мировым аналогам, но и превышает их. Кроме того, будет впервые создана технология ранней диагностики аритмий.

Подробные мероприятия по годам и блокам представлены в Приложении 2.

5. Предполагаемый ответственный исполнитель-координатор комплексной программы/комплексного проекта (федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий функции по выработке государственной политики и нормативно-правовому регулированию в сфере, соответствующей направлениям реализации комплексной программы, комплексного проекта, или иной главный распорядитель средств федерального бюджета в сфере научно-технической или производственной деятельности, соответствующей направлениям реализации комплексной программы/комплексного проекта, отвечающий за их реализацию и достижение целевых показателей)

Министерство Здравоохранения Российской Федерации.

См. Приложение 3 на 1 стр.

6. Предполагаемый соисполнитель комплексной программы, комплексного проекта (федеральный орган исполнительной власти и (или) иной главный распорядитель средств федерального бюджета, отвечающий за реализацию комплексной программы, комплексного проекта и достижение их целевых показателей)

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации.

7. Предполагаемые органы государственной власти, научные и образовательные организации, иные организации различных форм собственности, институты развития, являющиеся участниками комплексной программы/комплексного проекта

1. Кафедра физиологии и лаборатория электрофизиологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И.Пирогова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ).

2. Кафедра молекулярной биологии и медицинской биотехнологии и лаборатория медицинской геномики ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И. Пирогова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова МЗ РФ).

3. Кафедра физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (ФГБОУ ВО МГУ им. М.В.Ломоносова).
4. ЦКП «Научно-образовательный центр по исследованию молекулярных и клеточных механизмов гипоксии и ишемии» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И.Пирогова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова МЗ РФ).
5. Лаборатория молекулярной нейробиологии ФГБУН Института Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии Российской Академии Наук (ФГБУН ИВНДиНФ РАН)

См. Приложение 4. От РНИМУ на 2 стр. От МГУ на 1 стр.

8. Потенциальные заказчики комплексной программы/комплексного проекта (организации реального сектора экономики, заинтересованные в использовании научных, научно-технических результатов комплексной программы/комплексного проекта и участвующие в выполнении и реализации их мероприятий с целью производства продукции и оказания услуг), а также перечни потенциальных рынков, на которых будут востребованы предлагаемые к разработке и производству продукты и технологии, а также предлагаемые к оказанию услуг.

Генеральный индустриальный партнер Программы

Государственная корпорация «Ростех» (письмо прилагается)

Индустриальные партнеры Программы

ОАО "РЖД"

ФКУ "Центр стратегических исследований гражданской защиты МЧС России"

Московский государственный технический университет гражданской авиации

НИИЦ авиационной, космической медицины и военной эргономики ЦНИИ ВВС Министерства обороны России

9. Оценка ресурсов, необходимых для реализации комплексной программы/комплексного проекта

В основе Комплексной Программы лежит научное направление, определяемое многолетними работами Лаборатории электрофизиологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И.Пирогова» и, позднее, Кафедры физиологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И.Пирогова». Именно эти подразделения, работая в комплексе, создали существенный научно-технический задел, который, в последние годы, развивался в совместных работах с Кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский

государственный университет имени М.В.Ломоносова» и ЦКП «Научно-образовательный центр по исследованию молекулярных и клеточных механизмов гипоксии и ишемии» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И. Пирогова».

1.Лаборатория электрофизиологии, Кафедра физиологии и ЦКП «Научно-образовательный центр по исследованию молекулярных и клеточных механизмов гипоксии и ишемии» ФГАОУ ВО «Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова» Министерства Здравоохранения РФ обладает необходимой для реализации программы материально – технической и инновационной инфраструктурой, а также в её распоряжении возможности научно-образовательного и лабораторного центров по физиологии. При этом в Лаборатории электрофизиологии и ЦКП «Научно-образовательный центр по исследованию молекулярных и клеточных механизмов гипоксии и ишемии» выполняются фундаментальные научные и прикладные исследования, а кафедра физиологии осуществляет внедрение полученных результатов в образовательный процесс.

Научно-исследовательский комплекс ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И.Пирогова», представленный этими участниками Программы, обладает современной материально-технической базой для выполнения задач в рамках цели исследований. В число основных приборов и устройств, позволяющих выполнять исследования на механоуправляемых ионных каналах и потенциал-управляемых ионных каналах, проявляющих механосенситивность, входят:

- Три установки для регистрации потенциалов клеток, суммарных ионных токов, протекающих через мембраны клеток и, ионных токов, протекающих через ионные каналы. Так называемые установки «patch-clamp» включают в себя:
 1. Усилители Axopatch 200B
 2. ЦАП Digidata 1440A
 3. Микроскопы люминесцентные Olympus IX71
 4. Микроманипуляторы Sutter Instrument MP-285
 5. Микроманипуляторы Narishige WR-6
 6. Антивибрационные столы с камерами Фарадея Kinetic Systems Vibraplane
 7. Приборы для изготовления микропипеток (patch-пипеток) Sutter Instrument P-97 и Narishige PC-10
 8. Приборы для оплавления пипеток Narishige MF-830.и дополнены разработанным в лаборатории оборудованием для растяжения и сжатия изолированных клеток.
- Установка для микроэлектродного исследования клеток в ткани, включающая в себя:
 1. Манипулятор Sutter MP-285
 2. Механоэлектрический преобразователь Hugo Sacks Elektroniks D79232
 3. Усилитель Hugo Sacks Elektroniks Type 603 D7806
 4. Усилитель Warner Instruments IE210

5. Внешнее АЦП

и дополнены разработанным в лаборатории оборудованием для растяжения и сжатия биологической ткани.

- Установка для флюорисцентного имиджинга включает в себя:
 1. Микроскоп флуоресцентный Olympus IX81
 2. Источник излучения Olympus MT20
 3. Камера Olympus F-View
 4. Усилитель Axorpatch 200B
 5. ЦАП Digidata 1550A
 6. Микроманипулятор Sutter Instrument MP-285
 7. Микроманипуляторы Narishige WR-6
 8. Антивибрационный стол с камерой Фарадея Kinetic Systems Vibraplane
 9. Приборы для изготовления микропипеток (patch-пипеток) Sutter Instrument P-97 и Narishige PC-10
 10. Приборы для оплавления пипеток Narishige MF-830.и дополнена разработанным в лаборатории оборудованием для растяжения и сжатия изолированных клеток.

- Установка для конфокальной микроскопии
 1. Конфокальный лазерный сканирующий микроскоп LSM-700 (Zeiss, Germany).
 2. Моторизованный инвертированный штатив микроскопа AxioObserver.Z1
 3. LSM700 сканирующий модуль с одним каналом, контроллер и лазерный модуль.
 4. Лазерные линии 405, 488, 555 и 639нм (Lasos, Germany).
 5. Основной и градиентный вторичный делитель лучей.
 6. Оборудование для эпифлуоресценции.
 7. Объективы: калибровочный объектив, объективы 10x и 20x планполуапохроматические, объектив 63x планполуапохроматический иммерсионный.
 8. Система инкубации, температура/CO₂-Module S (Zeiss)
 9. Температурный модуль для термостатирования образцов с PECON с обогревателем TempModuleS (Zeiss).
 10. Компьютерная станция и пакет программного обеспечения LSM 700 ZEN 2012 LC3.
 11. Двухканальный перистальтический насос BT100-F (Boadin Longer, China)

- Оборудование для биохимического определения активности ферментов и концентраций белковых молекул.
 1. Планшетный фотометр iMark. Диапазон 400-750 нм, предустановленные фильтры - 415, 450, 490, 595, 655 и 750 нм, бортовой шейкер, термопринтер.
 2. Гомогенизатор Bertin Technologies Minilys
 3. Высокоскоростная центрифуга для субклеточного фракционирования, выделения белков, с охлаждением. Beckman Coulter Allegra 64R.

4. 8-канальное промывочное устройство для микропланшетов всех типов с программируемыми режимами промывки. Thermo Scientific WELLWASH.

- Оборудование для анализа транскриптома.
 - 1 Вычислительная станция Dell Precision T5820 (Xeon W-2125 (3.2)/32Gb/2Tb 7.2k/SSD256Gb/P4000 8Gb/DVDRW/Windows 7 Professional) для анализа данных.
 - 2 Автоматический роботизированный раскапывающий аппарат Opentrons OT-2.

2. Кафедра физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Участник Программы – научная группа Кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» имеет большой опыт проведения исследований в области электрофизиологии сердца и в течение последних 10 лет группа проводит интенсивные исследования с использованием метода внутриклеточной регистрации электрической активности с помощью внутриклеточных стеклянных микроэлектродов, а результаты представлены, по меньшей мере, следующими недавними публикациями [например, 60-62], что позволит исследовать влияние техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на параметры электрической активности в препаратах миокарда из любых отделов сердца (в т.ч. из пейсмекера) млекопитающих на любых стадиях онтогенеза (от эмбрионов в конце внутриутробного развития до взрослых животных). На кафедре физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» также проводятся исследования ионных токов в кардиомиоцитах методом patch-clamp, например, в области сравнительной физиологии сердца, пуринаргической регуляции ионных токов в кардиомиоцитах, электрофизиологии кардиотропных фармакологических средств [например, 63, 64]. Имеется опыт успешной работы методом patch-clamp с регистрацией основных видов ионных токов (IK1, INa, ICaL, IKr, IKs, Ito, IKur, If, INCX) в клетках млекопитающих. Предполагается, что с помощью метода patch-clamp будет исследовано вероятное влияние техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на параметры перечисленных ионных токов в предсердных и желудочковых миоцитах млекопитающих. В последнее время налажена работа с культурами клеток. Имеется непосредственный опыт выращивания линий клеток, используемых в качестве гетерологических экспрессионных систем (CHO, COS), их трансфекции плазмидами, содержащими гены ионных каналов, и последующего электрофизиологического исследования методом patch-clamp [например, 65, 66]. Коллектив владеет технологией выращивания и трансфекции клеточных культур, имеет опыт регистрации ионных токов в клетках CHO и НЕК.

В Приложении 1 представлены библиографические данные цитированных научных работ авторов в отечественных и зарубежных периодических изданиях.

Кафедра физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» обладает

современной материально-технической базой для выполнения задач в рамках цели исследований. В число основных приборов и устройств, позволяющих выполнять исследования на потенциал-управляемых ионных каналах, входят:

- Три установки для микроэлектродных исследований потенциалов клеток в многоклеточных препаратах, включающие в себя:
 1. Усилитель Hugo Sacks Elektroniks Type 603 D7806
 2. Усилитель AMSystems Neuroprobe 1600 и Warner Instruments IE-210 Манипуляторы Sutter MP-285
 3. Внешнее АЦП
 4. Приборы для изготовления острых стеклянных микроэлектродов Sutter P-30.
 5. Электростимуляторы, бинокулярные микроскопы, жидкостные термостаты, камеры Фарадея, инфузоры и перистальтические насосы, жидкостные термостаты, баллоны высокого давления с редукторами.

- Две установки для регистрации потенциалов клеток, суммарных ионных токов, протекающих через мембраны клеток и, ионных токов, протекающих через ионные каналы. Так называемые установки «patch-clamp» включают в себя:
 1. Усилители Axopatch 200B и Heka 800USB
 2. АЦП National Instruments
 3. Микроскопы инвертирующие Nikon Eclipse Ti-S
 4. Микроманипуляторы Sutter Instrument MP-285
 5. Микроманипуляторы Narishige WR-6
 6. Антивибрационные столы с камерами Фарадея Kinetic Systems Vibraplane
 7. Приборы для изготовления микропипеток (patch-пипеток) Sutter Instrument P-97 и Narishige PC-10
 8. Приборы для оплавления пипеток Narishige MF-830.и дополнены разработанным в лаборатории оборудованием для растяжения и сжатия клеток.

- В распоряжении коллектива имеется аппаратура для культивирования клеток, в том числе, ламинар (Ламинарные Системы БМБ-II-1,2) и CO₂-инкубатор (Sanyo MCO-19AIC).

3. Кафедра молекулярной биологии и медицинской биотехнологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И. Пирогова».

Участник Программы – Кафедра молекулярной биологии и медицинской биотехнологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И. Пирогова» и Лаборатория Медицинской геномики ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский Университет им. Н.И. Пирогова» имеют многолетний опыт исследований в области генетических, эпигенетических и транскриптомных исследований сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваний, а также использования различных методов биоинформатического анализа. Коллективы

выполняли и выполняют работы, в которых осуществляется анализ экспрессии генов в различных биологических материалах с использованием высокопроизводительного секвенирования и гибридизационных чипов высокой плотности. В ходе работ, посвященных фармакогеномным исследованиям, накоплен обширный опыт изучения изменений полнотранскриптомных профилей экспрессии белок-кодирующих и белок-некодирующих генов в ответ на воздействие терапевтических препаратов с последующим комплексным анализом полученных результатов с целью выявления молекулярных механизмов действия используемых препаратов. Коллектив располагает платформой для высокопроизводительного секвенирования MiSeq (Illumina) и детектирующими амплификаторами StepOnePlus (ThermoFisher Scientific), необходимыми для валидации данных о дифференциальной экспрессии. Результаты полнотранскриптомного анализа экспрессии регуляторных молекул микроРНК в разных биологических материалах и при разных патологиях, полученные с использованием этих приборов, опубликованы в различных российских и международных научных журналах [например, 67-69]. Многолетний опыт работы коллектива в области регуляторных некодирующих РНК отражен в обзорных статьях [например, 70, 71]. Результаты исследований в описываемом направлении были представлены на десятках всероссийских и международных научных конференций. Планируемый в настоящей Программе биоинформатический анализ данных полнотранскриптомного анализа будет опираться на успешный опыт его применения для предсказания функциональной роли биомолекул. У коллектива имеются готовые решения для построения сетей ген-генов взаимодействий и их анализа с использованием средств библиотеки NetworkX языка программирования Python с привлечением информации из сторонних баз данных. Имеющийся инструментарий активно используются членами коллектива для углубления знаний о молекулярных механизмах развития сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваний путем выявления функциональных модулей генов и сигнальных путей, обогащенных дифференциально экспрессирующимися генами и/или находящимися под их регуляцией [например, 67,68,72,73].

В Приложении 1 представлены библиографические данные цитированных научных работ авторов в отечественных и зарубежных периодических изданиях.

- Коллектив располагает платформой для высокопроизводительного секвенирования MiSeq (Illumina) и детектирующими амплификаторами StepOnePlus (ThermoFisher Scientific), необходимыми для валидации данных о дифференциальной экспрессии.

4. Лаборатория молекулярной нейробиологии Института Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН

Участник Программы – Лаборатория молекулярной нейробиологии Института Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН имеет обширный опыт выполнения исследований, направленных на анализ молекулярных механизмов, вовлеченных в формирование патологий головного мозга [Например, в 2019 году, 74-78].

В ряде исследований был проведен анализ развития нейровоспалительной реакции после нанесения черепно-мозговой травмы, после развития фокального инсульта, а также после

дегенерации базальных холинергических ядер Альцгеймеровского типа, как примеров патологических процессов, которые могут инициироваться воздействием внешних физических факторов, таких как техногенные факторы, связанные с быстрым изменением давления. В результате исследований выявлены временные рамки развития нейровоспалительного ответа в моделях инсульта и черепно-мозговой травмы. Показано, что дегенерация холинергических нейронов базальных ядер приводит в некоторых случаях к развитию продолжительного нейровоспаления. Исследования, выполняемые в лаборатории, проводятся с использованием современных молекулярно-биологических методов, включая ПЦР в реальном времени, иммуноферментный анализ, и Вестерн блоттинг. Кроме того, в лаборатории есть продолжительный (более 5 лет) опыт работы, а также все необходимое оборудование для работы с клеточными культурами, включая линейные клетки и первичные нейрональные культуры. В дополнение к указанным методам лаборатория также владеет иммуногистохимическими методами и оборудована флуоресцентным микроскопом с фотокамерой для визуализации и протоколирования результатов иммунохимических исследований.

В Приложении 1 представлены библиографические данные цитированных научных работ авторов в отечественных и зарубежных периодических изданиях.

Лаборатория молекулярной нейробиологии Института Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН обладает современной материально-технической базой для выполнения задач в рамках цели исследований. В число основных приборов и устройств входят:

- вибротомы Leica и термостаты для приготовления срезов мозга.
- биохимическое оборудование для проведения иммунохимического окрашивания, ИФА и Вестерн блоттинга (планшетный фотометр Tecan, камеры для Вестерн блоттинга и оборудование для регистрации гелей Chemidoc).
- оборудование для выделения и работы с РНК, проведения обратной транскрипции, ПЦР в реальном времени (термостаты и охлаждаемые центрифуги Eppendorf, Hitachi).
- флуоресцентный микроскоп Leica с фотокамерой для визуализации и протоколирования результатов иммунохимических исследований.
- оборудованная операционная для проведения стереотаксических инъекций в исследуемые структуры ЦНС.
- виварий для длительного содержания экспериментальных животных.
- культуральный бокс с 3 ламинарами и 2 CO₂ инкубаторами

Кадровое обеспечение потенциальных участников (наличие у них работников, способных решать задачи комплексной программы).

Кадровое обеспечение перечисленных объектов инфраструктуры потенциальных участников (наличие работников, способных решать задачи комплексной программы) находится на крайне высоком уровне. На всех перечисленных объектах инфраструктуры работают высокопрофессиональные специалисты (специалисты высшего класса 16 докторов наук), прошедшие в разные года стажировки или находившиеся в длительных

командировках в ведущих университетах мира, научные работы которых опубликованы в ведущих международных профильных журналах с высоким импакт-фактором, относящихся к категории Q1. Специалисты имеют также высокие индексы Хирша, характерные для высококвалифицированных зарубежных специалистов в профильных областях.

При выполнении программы будет создано более 60 новых высокотехнологичных рабочих мест, что приведет также к увеличению налоговых отчислений в бюджеты бюджетной системы РФ. Кроме того, ежегодно будут проходить обучение более 2000 студентов.

10. Предложения об источниках финансирования комплексной программы/комплексного проекта


Ориентировочный объем финансирования на 2021-2025 годы за счет федерального бюджета составит 1 516 млн. рублей.

Объем финансирования из средств внебюджетных источников/индустриальных партнеров составит 480 млн. рублей.

Затраты на выполнение организационно-производственных задач и закупки оборудования приведены в Приложении 5

*Инициатор комплексной
программы заведующий кафедрой
физиологии ФГАОУ ВО РНИМУ
им. Н.И.Пирогова, профессор*

(уполномоченное лицо)



(подпись) (Камкин А. Г.)

Основные публикации участников проекта:

- [1] Камкин А.Г. и соавт. (1986) Новый тип клеток в предсердиях лягушки? Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Сборник научных трудов. Москва. с.11.
- [2] Камкин А.Г. и соавт. (1986) Электротоническая связь между двумя близлежащими клетками предсердий лягушки Доклады Академии Наук СССР 291(3): 735-737.
- [3] Kamkin A et al. (1987) Bioelectric activity of frog atrium cells with non-typical activity. *Abhandlungen der Akademie der Wissenschaften der DDR.*; 1:103–106 (English).
- [4] Камкин А.Г. и соавт. (1986) Межклеточные электротонические связи в предсердиях лягушки. IV Всесоюзный Съезд кардиологов. Москва. 1986:73.
- [5] Sachs F, Morris CE. (1998) Mechanosensitive ion channels in nonspecialized cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 132:1-77.
- [6] Kamkin A. et al (2000) Stretch-activated currents in ventricular myocytes: amplitude and arrhythmogenic effects increase with hypertrophy. *Cardiovasc.Res.* 48: 409-420.
- [7] Kamkin A. et al (2003) Differential effects of stretch and compression on membrane currents and $[Na^+]_i$ in ventricular myocytes. *Prog Biophys Mol Biol.* 82(1-3):43-56.
- [8] Kamkin A. et al (2003) Ion selectivity of stretch-activated cation currents in mouse ventricular myocytes. *Pflugers Arch.* 446(2):220-231.
- [9] Kamkin A. et al (2003) Characterization of stretch-activated ion currents in isolated atrial myocytes from human hearts. *Pflugers Arch.* 446(3):339-346.
- [10] Kamkin A. et al (2000) Mechanoelectric feedback after left ventricular infarction in rats. *Cardiovasc Res.* 14;45(2):370-8.
- [11] Kamkin A. et al (2000) Mechano-electric feedback in right atrium after left ventricular infarction in rats. *J Mol Cell Cardiol.* 32(3):465-77.
- [12] Kamkin A et al. (1992) Mechanosensitive cells in the atrium of frog heart. *Exp Physiol.* 1992 Jan;77(1):213-216.
- [13] Kamkin A et al. (1994) Mechanosensitive fibroblasts in the sino-atrial node region of rat heart: interaction with cardiomyocytes and possible role. *Exp Physiol.* 79(6):943-956.
- [14] Kamkin A et al. (1998) Electrophysiological properties of mechanosensitive atrial fibroblasts from chronic infarcted rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1998 Jun;30(6):1083-93.
- [15] Kamkin A et al. (1999) Mechanically induced potentials in fibroblasts from human right atrium. *Exp Physiol.*;84(2):347-56.
- [16] Kamkin A et al. (2001) Mechanically induced potentials in rat atrial fibroblasts depend on actin and tubulin polymerisation. *Pflugers Arch.*;442(4):487-97.
- [17] Kamkin A. et al (2003) Activation and inactivation of a non-selective cation conductance by local mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res* 57(3):793-803.

- [18] Kamkin A. et al (2010) Single mechano-gated channels activated by mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts from rats. *Acta Physiol (Oxf)* 199(3):277-292.
- [19] Kamkin A. et al (2001) Inotropic response to beta-adrenergic receptor stimulation and anti-adrenergic effect of ACh in endothelial NO synthase-deficient mouse hearts. *J Physiol*; 532 (Pt 1):195-204.
- [20] Kamkin A. et al (2010) Role of nitric oxide in activity control of mechanically gated ionic channels in cardiomyocytes: NO-donor study. *Bull Exp Biol Med.* 150(1):1-5.
- [21] Kamkin A. et al (2010) Role of nitric oxide in the regulation of mechanosensitive ionic channels in cardiomyocytes: contribution of NO-synthases. *Bull Exp Biol Med.* 150(2):263-267.
- [22] Kamkin A. et al (2011) The role of nitric oxide in regulation of mechanically gated channels in the heart. *Mechanosensitivity in Cells and Tissues.* 4: 109-140.
- [23] Kamkin A. et al (2012) The Role of nitric oxide in the regulation of ion channels in the cardiomyocytes: Link to mechanically gated channels. *Mechanosensitivity in Cells and Tissues.* 6:245-262.
- [24] Kamkin A. et al (2012) Effect of nitric oxide on mechanoelectric feedback in rat right atrium. *Bull Exp Biol Med.* 153(1):32-35.
- [25] Kamkin A. et al (2017) Discrete stretch eliminates electrophysiological dose-dependent effects of nitric oxide donor SNAP in rat atrium. *Bull Exp Biol Med.*;163(6):705-709.
- [26] Kamkin A. et al (2017) Kinetics of mechanical stretch-induced nitric oxide production in rat ventricular cardiac myocytes. *Bull Exp Biol Med.*;163(5):583-585.
- [27] Mitrokhin V, Kazanski V, Kalsin V, Mladenov M, Kamkin A. (2017) Interleukin-6 induced activation of a non-selective outward cation conductance in human cardiac fibroblasts. *Cytokine.* 97:117-122.
- [28] Kazanski V, Mitrokhin VM, Mladenov MI, Kamkin AG. (2017) Cytokine effects on mechano-Induced Electrical Activity in Atrial Myocardium. *Immunol Invest.* 46(1):22-37.
- [29] Ovchinnikov RS, Mitrokhin VM, Mladenov MI. (2015) Effects of vascular endothelial growth factor-b on the bioelectric activity of rat atrial myocardium under normal conditions and during gradual stretching. *J Biol Regul Homeost Agents.* 29(4):835-40.
- [30] Mitrokhin VM, Mladenov MI, Kamkin AG. (2015) IL-1 provokes electrical abnormalities in rat atrial myocardium. *Int Immunopharmacol.* 28(1):780-4.
- [31] Ovchinnikov RS, Mitrokhin VM, Mladenov MI. (2015) Effects of interleukin-17A on the bioelectric activity of rat atrial myocardium under normal conditions and during gradual stretching. *Cytokine.* 76(2):561-565.
- [32] Aksyonov A, Mitrokhin VM, Mladenov MI. (2015) Effects of interleukin-2 on bioelectric activity of rat atrial myocardium under normal conditions and during gradual stretching. *Immunol Lett.* 167(1):23-8.
- [33] Mitrokhin VM, Mladenov MI, Kamkin AG. (2015) Effects of interleukin-6 on the bioelectric activity of rat atrial tissue under normal conditions and during gradual stretching. *Immunobiology.* 220(9):1107-12.

- [34] Filatova T, Mitrokhin V, Kamkina O, Lovchikova I, Mladenov M, Kamkin A. (2019) Long-term IL-2 incubation-induced L-type calcium channels activation in rat ventricle cardiomyocytes. *Cardiovasc Toxicol.* 19(1):48-55.
- [35] Mitrokhin V, Gorbacheva L, Mladenov M, Kamkin A. (2018) IL-2-induced NF- κ B phosphorylation upregulates cation nonselective conductance in human cardiac fibroblasts. *Int Immunopharmacol.* 64:170-174.
- [36] Mitrokhin V, Filatova T, Shim A, Bilichenko A, Abramochkin D, Kamkin A, Mladenov M. (2019) L-type Ca^{2+} channels' involvement in IFN- γ -induced signaling in rat ventricular cardiomyocytes. *J Physiol Biochem.* 75(1):109-115.
- [37] Камкин А.Г., Киселева И.С., Ярыгин В.Н. (2003) Механоэлектрическая обратная связь в сердце. Москва, Млесна. 351 стр.
- [38] Kamkin A., Kiseleva I. (2005) *Mechanosensitivity in cells and tissues.* Academia Publishing House, 498 pp.
- [39] Kamkin A., Kiseleva I. (2008) *Mechanosensitive ion channels.* Springer 381 pp.
- [40] Martinac B. (2008) *Sensing with ion channels.* Springer 304 pp.
- [41] Kamkin A., Kiseleva I. (2009) *Mechanosensitivity of the nervous system.* Springer 347 pp.
- [42] Kamkin A., Kiseleva I. (2010) *Mechanosensitivity of the heart.* Springer 485 pp.
- [43] Kamkin A., Kiseleva I. (2011) *Mechanosensitivity and mechanotransduction.* Springer 371 pp.
- [44] Kamkin A., Kiseleva I. (2012) *Mechanical stretch and cytokines.* Springer 236 pp.
- [45] Kamkin A., Lozinsky I. (2012) *Mechanically gated channels and their regulation.* Springer 429 pp.
- [46] Mitrokhin V, Filatova T, Shim A, Bilichenko A, Abramochkin D, Kamkin A, Mladenov M. L-type Ca^{2+} channels' involvement in IFN- γ -induced signaling in rat ventricular cardiomyocytes. *J Physiol Biochem.* 2019;75(1):109-115.
- [47] Filatova T, Mitrokhin V, Kamkina O, Lovchikova I, Mladenov M, Kamkin A. Long-Term IL-2 Incubation-Induced L-type Calcium Channels Activation in Rat Ventricle Cardiomyocytes. *Cardiovasc Toxicol.* 2019;19(1):48-55.
- [48] Mitrokhin V, Gorbacheva L, Mladenov M, Kamkin A. IL-2-induced NF- κ B phosphorylation upregulates cation nonselective conductance in human cardiac fibroblasts. *Int Immunopharmacol.* 2018;64:170-174.
- [49] Mitrokhin V, Nikitin A, Brovkina O, Khodyrev D, Zotov A, Vachrushev N, Dragunov D, Shim A, Mladenov M, Kamkin A. Association between IL-18/18R gene polymorphisms and coronary artery disease: influence of IL-18/18R genetic variants on cytokine expression. *J Inflamm Res.* 2018;11:1-9.
- [50] Arutyunov GP, Dragunov DO, Sokolova AV, Mitrokhin VM, Kamkin AG, Latyshev TV. Kardiologiya. [Factors associated with levels of interleukins -18, -8, and -6 in hypertensive patients at high and very high cardiovascular risk]. 2017;57(S3):69-75. Russian.

- [51] Arutyunov GP, Dragunov DO, Sokolova AV, Mitrokhin VM, Kamkin AG, Latyshev TV. [Correlations of IL-18 and IL-6 with sodium consumption in patients with arterial hypertension and diabetes mellitus]. *Kardiologiia*. 2017;57(S1):355-359. Russian.
- [52] Mitrokhin V, Nikitin A, Brovkina O, Khodyrev D, Zotov A, Vachrushev N, Dragunov D, Shim A, Mladenov M, Kamkin A. Association between interleukin-6/6R gene polymorphisms and coronary artery disease in Russian population: influence of interleukin-6/6R gene polymorphisms on inflammatory markers. *J Inflamm Res*. 2017;10:151-160.
- [53] Mitrokhin V, Kazanski V, Kalsin V, Mladenov M, Kamkin A. Interleukin-6 induced activation of a non-selective outward cation conductance in human cardiac fibroblasts. *Cytokine*. 2017;97:117-122.
- [54] Kazanski V, Mitrokhin VM, Mladenov MI, Kamkin AG. Cytokine Effects on Mechano-Induced Electrical Activity in Atrial Myocardium. *Immunol Invest*. 2017;46(1):22-37. Review.
- [55] Shim AL, Aksyonov AA, Mitrokhin VM, Lovchikova IB, Konoplyannikov MA, Konev AV, Zotov AS, Ovchinnikov RS, Antova E, Mladenov MI, Kamkin A. Serum interleukin-6: Association with circulating cytokine serum levels in patients with sinus arrhythmia and patients with coronary artery disease. *Cell Immunol*. 2016;310:178-183.
- [56] Mitrokhin VM, Al S, Aa A, As Z, Av K, Rs O, Im M, Ga K. Circulating interleukin-18: Association with IL-8, IL-10 and VEGF serum levels in patients with and without heart rhythm disorders. *Int J Cardiol*. 2016;215:105-109.
- [57] Mitrokhin VM, Mladenov MI, Kamkin AG. IL-1 provokes electrical abnormalities in rat atrial myocardium. *Int Immunopharmacol*. 2015;28(1):780-784.
- [58] Mitrokhin VM, Mladenov MI, Kamkin AG. Effects of interleukin-6 on the bio-electric activity of rat atrial tissue under normal conditions and during gradual stretching. *Immunobiology*. 2015;220(9):1107-1112.
- [59] Патент на изобретение «Способ прогнозирования развития жизнеопасных предсердных аритмий у пациентов с гипертонической болезнью» Митрохин В.М., Камкин А.Г., Казанский В.Е. и др. №2634246. Приоритет от 21 декабря 2016 г.
- [60] Pustovit KB, Potekhina VM, Ivanova AD, Petrov AM, Abramochkin DV, Kuzmin VS. Extracellular ATP and β -NAD alter electrical properties and cholinergic effects in the rat heart in age-specific manner. *Purinergic Signal*. 2019 Feb 12. doi: 10.1007/s11302-019-09645-6
- [61] Abramochkin D, Kuzmin V. Electrophysiological differences in cholinergic signaling between the hearts of summer and winter frogs (*Rana temporaria*) // *Journal of Comparative Physiology B* 2018;188(4):649-656. doi: 10.1007/s00360-018-1147-4.
- [62] Pakhomov N., Pustovit K., Potekhina V., Filatova T., Kuzmin V., Abramochkin D. Negative inotropic effects of diadenosine tetraphosphate are mediated by protein kinase C and phosphodiesterases stimulation in the rat heart // *European Journal of Pharmacology* 2018;820:97-105. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.12.024.
- [63] Abramochkin D.V., Kuzmin V.S., Rosenshtaukh L.V. A New Class III Antiarrhythmic Drug Niferidil Prolongs Action Potentials in Guinea Pig Atrial Myocardium via Inhibition of Rapid Delayed Rectifier // *Cardiovascular drugs and therapy* 2017;31(5-6):525-533. doi: 10.1007/s10557-017-6762-x.

- [64] Abramochkin D.V., Karimova V.M., Filatova T.S., Kamkin A. Diadenosine pentaphosphate affects electrical activity in guinea pig atrium via activation of potassium acetylcholine-dependent inward rectifier // *Journal of physiological sciences* 2017;67(4):523-529
- [65] Abramochkin DV, Hassinen M, Vornanen M. Transcripts of Kv7.1 and MinK channels and slow delayed rectifier K⁺ current (IKs) are expressed in zebrafish (*Danio rerio*) heart. *Pflugers Arch.* 2018 Dec;470(12):1753-1764. doi: 10.1007/s00424-018-2193-1.
- [66] Karlova MG, Voskoboynikova N, Gluhov GS, Abramochkin D, Malak OA, Mulkidzhanyan A, Loussouarn G, Steinhoff HJ, Shaitan KV, Sokolova OS. Detergent-free solubilization of human Kv channels expressed in mammalian cells. *Chem Phys Lipids.* 2019 Mar;219:50-57. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2019.01.013.
- [67] Baulina N., Osmak G., Kiselev I., Matveeva N., Kukava N., Shakhnovich R., Kulakova O., Favorova O. NGS-identified circulating miR-375 as a potential regulating component of myocardial infarction associated network. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 2018; 121:173-179.
- [68] Baulina N., Osmak G., Kiselev I., Popova E., Boyko A., Kulakova O., Favorova O. MiRNAs from DLK1-DIO3 imprinted locus at 14q32 are associated with multiple sclerosis: gender-specific expression and regulation of receptor tyrosine kinases signaling. *Cells.* 2019; 8;8(2). pii: E133.
- [69] Жиров И.В., Баулина Н.М., Насонова С.Н., Г.Ж. Осьмак, Н.А. Матвеева, Д.Р. Миндзаев, О.О. Фаворова, С.Н. Терещенко. Полнотранскриптомный анализ экспрессии микроРНК в мононуклеарных клетках у пациентов с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности различной этиологии. *Терапевтический архив.* 2019; 91(9): 62–67.
- [70] Кукава Н.Г., Шахнович Р.М., Осьмак Г.Ж., Баулина Н.М., Матвеева Н.А., Фаворова О.О. Участие микроРНК в развитии ишемической болезни сердца. *Кардиология.* 2019; 59(10):78-87.
- [71] Баулина Н.М., Кулакова О.Г., Фаворова О.О. МикроРНК: роль в развитии аутоиммунного воспаления. *Acta Naturae.* 2016; 8(1):21-33.
- [72] Baulina N., Kulakova O., Kiselev I., Osmak G., Popova E., Boyko A., Favorova O. Immune-related miRNA expression patterns in peripheral blood mononuclear cells differ in multiple sclerosis relapse and remission. *Journal of Neuroimmunology.* 2018; 317:67-76.
- [73] Осьмак Г.Ж., Матвеева Н.А., Титов Б.В., Фаворова О.О. Связь полиморфизма гена MIR196A2 с инфарктом миокарда и возможное вовлечение микроРНК miR-196a2 в сигнальные пути, участвующие в формировании патологического фенотипа. *Молекулярная биология.* 2018;52(6):1-7. IF=0.93.
- [74] Bolshakov AP, Kolleker A, Volkova EP, Valiullina-Rakhmatullina F, Kolosov PM, Rozov A. Overexpression of Calretinin Enhances Short-Term Synaptic Depression. *Front Cell Neurosci.* 2019 Mar 13;13:91. doi: 10.3389/fncel.2019.00091. eCollection 2019.
- [75] Kvichansky AA, Volobueva MN, Spivak YS, Tret'yakova LV, Gulyaeva NV, Bolshakov AP. Expression of mRNAs for IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , CX3CL1, and TGF β 1 Cytokines in the

Brain Tissues: Assessment of Contribution of Blood Cells with and without Perfusion. *Biochemistry (Mosc)*. 2019 Aug;84(8):905-910. doi: 10.1134/S0006297919080066.

[76] Dobryakova YV, Volobueva MN, Manolova AO, Medvedeva TM, Kvichansky AA, Gulyaeva NV, Markevich VA, Stepanichev MY, Bolshakov AP. Cholinergic Deficit Induced by Central Administration of 192IgG-Saporin Is Associated With Activation of Microglia and Cell Loss in the Dorsal Hippocampus of Rats. *Front Neurosci*. 2019 Mar 12;13:146. doi: 10.3389/fnins.2019.00146. eCollection 2019.

[77] Rozov A, Bolshakov AP, Valiullina-Rakhmatullina F. The Ever-Growing Puzzle of Asynchronous Release. *Front Cell Neurosci*. 2019 Feb 12;13:28. doi: 10.3389/fncel.2019.00028. eCollection 2019. Review.

[78] Mikhailova MM, Bolshakov AP, Chaban EA, Paltsev MA, Panteleyev AA. Primary culture of mouse embryonic spinal cord neurons: cell composition and suitability for axonal regeneration studies. *Int J Neurosci*. 2019 Aug;129(8):762-769. doi: 10.1080/00207454.2019.1567508.

Приложение № 2

В результате выполнения Программы на территории Российской Федерации будет создано конкурентоспособное в мировом масштабе тематическое технологическое направление по изучению механизма действия, техногенных и военных факторов физической природы, связанных с быстрым изменением давления, опосредованных через механо-управляемые ионные каналы клеток и внутриклеточные системы биологических объектов, и сформирована платформа по изучению соединений, на базе которой можно будет создать линейку препаратов, применение которых может привести к снижению степени действия этих факторов, что будет способствовать эффективной разработке, быстрому внедрению технологий и выпуску продукции нового поколения, создающих основу технологического лидерства и суверенитета страны, российского оборонно-промышленного комплекса, медицины, росту эффективности сектора науки и образования, а так же повышению уровня боеготовности Вооруженных Сил Российской Федерации, обеспечению безопасности государственных служб и гражданского населения, повышению эффективности работы МЧС.

I год

Блок 1. Исследование механизмов изменения работы механоуправляемых ионных каналов клеток биологических объектов при действии техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления.

1.1. Подготовить лабораторные помещения для создания герметичной «чистой комнаты» не ниже 5-ого класса защиты для последующей установки в ней закупаемого в рамках Программы оборудования, с буферной зоной (входным тамбуром), с установкой приточно-вытяжной вентиляции с фильтрами не ниже 12-ого класса защиты и с ламинарами внутри которых соблюден 8-ой класс защиты.

1.2. Создание необходимой инфраструктуры для обеспечения исследований мирового уровня по различным аспектам и степени защищенности человека при техногенных опасностях и катастрофических ситуациях:

- Разработать и изготовить 2 камеры для быстрого изменения давления в условиях исследования клеток методом patch-clamp.
- Разработать и изготовить 2 камеры для направленного действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на клетки в условиях исследования клеток методом patch-clamp.
- Разработать и изготовить 2 камеры с быстрым изменением давления для находящихся там мелких лабораторных животных.
- Разработать и изготовить 2 камеры с направленным действием техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления для находящихся там мелких лабораторных животных.
- Провести пуско-наладочные работы камер и тестирование прототипов камер.
- Изготовление рабочих образцов.

1.3. Выявить основные параметры техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, при которых на биологических клетках организма реализуется их действие.

1.4. Исследовать влияние техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на суммарный ток, протекающий через катион-неселективные механоправляемые ионные каналы (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия с целью прямого доказательства, что именно механоправляемые ионные каналы являются мишенью для этих физических факторов и определения наиболее эффективных параметров техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления.

1.5. Исследовать влияние техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на изменение работы трех основных типов потенциал-управляемых ионных каналов Ca^{2+} -тока, Na^{+} -тока и K^{+} -тока у клеток от (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия.

1.6. Провести транскриптомное профилирование в образцах (а) свежеизолированных тканей интактных животных, и (б) тканей, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию давления, сразу после него, через 12 часов, через 1 сутки, и через «n» суток после воздействия.

II год

2.1. Из числа известных типов катион-неселективных механоправляемых ионных каналов, например, TRPA1, TRPC1, TRPC6, TRPM4, TRPM7, TRPP2, TRPV2, TRPV4 и механоправляемых калиевых каналов, например, TREK-1, K_{ATP} , KCNQ, BK_{Ca} и др. определить все экспрессируемые типы и дать количественную оценку всех

экспрессируемых механоправляемых каналов у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия.

2.2. Исследовать изменение работы всех экспрессируемых типов катион-неселективных механоправляемых ионных каналов у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия.

2.3. Определить все экспрессируемые типы и дать количественную оценку основных потенциал-управляемых ионных каналов из числа каналов и, в том числе, проявляющих механочувствительность, у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия.

2.4. Исследовать изменение работы этих экспрессируемых типов потенциал-управляемых ионных каналов у клеток от (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия.

2.5. На фоне резкого изменения техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, определить активность процессов пролиферации и апоптоза клеток у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия.

2.6. Определить ткани с наибольшей степенью активации процессов пролиферации и апоптоза после резкого изменения давления.

2.7. Провести транскриптомное профилирование в образцах (а) свежеизолированных тканей интактных животных, и (б) тканей, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, сразу после него, через 12 часов, через 1 сутки, и через «n» суток после воздействия.

2.8. Сравнить профили транскрипции в образцах тканей после резкого изменения давления через различные интервалы времени с целью выявления сходства и различий в молекулярных механизмах, вовлеченных в ответ на эти неблагоприятные воздействия.

2.9. По совокупности полученных данных оценить вклад молекулярных механизмов, приводящих к изменениям в работе механоправляемых и потенциал-управляемых

ионных каналов, а также альтернативных молекулярных механизмов, в том числе регуляторных, в ответ на резкое изменение давления на геномном уровне по данным транскриптомного профилирования.

2.10. Выявить белки с измененным в результате физических воздействий уровнем экспрессии, участвующие в цепях NO-гуанилатциклазной системы, регулирующие активность механоуправляемых каналов у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия.

III год

Блок 2. Разработка технологии снижения степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на человека за счет выявления соединений, ингибирующих работу механоуправляемых ионных каналов и других типов основных каналов, обладающих механосенситивностью.

3.1. Исследовать изменение работы всех экспрессируемых типов катион-неселективных механоуправляемых ионных каналов под действием линейки химических соединений – доноров NO – в разных концентрациях у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, подвергнутых действию физических факторов и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия с целью выявления препаратов и концентраций препаратов, активирующих или ингибирующих работу ионных каналов, что, в конечном счете, должно приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия.

3.2. Исследовать изменение работы всех экспрессируемых типов катион-неселективных механоуправляемых ионных каналов под действием линейки химических соединений – активаторов и ингибиторов NOS1, NOS2 и NOS3 – в разных концентрациях у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, подвергнутых действию физических факторов и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия с целью выявления препаратов и концентраций препаратов, активирующих или ингибирующих работу NOS, что приводит к активации или ингибированию ионных каналов, что, в конечном счете, должно приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия.

3.3. Исследовать изменение работы всех экспрессируемых типов катион-неселективных механоуправляемых ионных каналов под действием линейки химических соединений – активаторов и ингибиторов фосфодиэстераз – в разных концентрациях у (а) свежеизолированных клеток интактных животных, подвергнутых действию физических факторов и (б) клеток, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию физических факторов сразу после этого воздействия, через 12 часов, сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после воздействия с целью выявления препаратов и концентраций препаратов действие которых на фосфодиэстеразы приведет к активации или ингибированию работы

ионных каналов, что, в конечном счете, должно приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия.

3.4. Провести транскриптомное профилирование в образцах (а) свежеизолированных тканей интактных животных и (б) тканей, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию давления, при введении животным обеих групп химических соединений, которые изменяют работу экспрессируемых механоправляемых ионных каналов различных типов. Анализ будет проведен для соединений, выбранных на основании результатов, полученных при выполнении п.п. 3.1. – 3.3., а также при подобранных для них концентрациях. Время выделения РНК для последующего транскриптомного анализа будет выбрано для каждого препарата, исходя из времени, при котором эффект препарата реализуется на биологических объектах, и с учетом времени, необходимого для изменений в транскриптомном профиле в ответ на физическое воздействие.

IV год

4.1. Продолжение проведения изучения регуляторного действия химических соединений – доноров NO – по п. 3.1., которые должны приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия с исследованием влияния этих соединений на мелких лабораторных животных до и после физических воздействий.

4.2. Продолжение проведения изучения регуляторного действия химических соединений – активаторов и ингибиторов NOS1, NOS2 и NOS3 – по п. 3.1., которые должны приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия с исследованием влияния этих соединений на мелких лабораторных животных до и после физических воздействий.

4.3. Продолжение проведения изучения регуляторного действия химических соединений – активаторов и ингибиторов фосфодиэстераз – по п. 3.1., которые должны приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия с исследованием влияния этих соединений на мелких лабораторных животных до и после физических воздействий.

4.4. Провести транскриптомное профилирование в образцах (а) свежеизолированных тканей интактных животных и (б) тканей, выделенных от животных, которые были подвергнуты воздействию техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, при введении животным обеих групп химических соединений, которые изменяют работу экспрессируемых механоправляемых ионных различных типов. Анализ будет проведен для соединений, выбранных на основании результатов, полученных при выполнении п.п. 3.1. – 3.3., а также при подобранных для них концентрациях. Время выделения РНК для последующего транскриптомного анализа будет выбрано для каждого препарата, исходя из времени, при котором эффект препарата реализуется на биологических объектах, и с учетом времени, необходимого для изменений в транскриптомном профиле в ответ на воздействие техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления.

4.5. По данным транскриптомного профилирования, полученным в III и IV годы выполнения Программы, оценить эффект изучаемых химических соединений, приводящих к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия.

Блок 3. Апробация технологии и подготовка к внедрению продукции нового поколения совместно с профильными испытательными центрами и промышленными партнерами и оформление результатов интеллектуальной деятельности (РИД).

4.6. Провести исследования отобранных соединений для различных аспектов и степени защищенности человека при техногенных опасностях и катастрофических ситуациях на устойчивость; токсикологические исследования и полный цикл доклинических исследований.

4.7. Разработать алгоритм ранней диагностики возникновения механо-индуцированных аритмий.

V год

Блок 2. Продолжение. Разработка технологии снижения степени действия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления на человека за счет выявления соединений, ингибирующих работу механоуправляемых ионных каналов и других типов основных каналов, обладающих механосенситивностью.

5.1. Проведение ключевых доклинических исследований отобранных кандидатов в препараты, которые должны приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия.

5.2. Для выявленных за все годы выполнения Программы дифференциально экспрессирующихся генов определить изменения в уровнях их белковых продуктов в тканях при неблагоприятных воздействиях до и после использования отобранных кандидатов в препараты, которые должны приводить к ослаблению действия физических факторов и к уменьшению последствий их действия.

5.3. На основании данных о молекулярных механизмах действия изученных препаратов, полученных при электрофизиологических и геномных исследованиях, будет сформирована платформа для тестирования линейки прототипных препаратов, применение которых может привести к снижению степени воздействия техногенных факторов, связанных с быстрым изменением давления, что будет способствовать эффективной разработке, быстрому внедрению технологий и выпуску продукции нового поколения.

Блок 3. Продолжение. Апробация технологии и подготовка к внедрению продукции нового поколения совместно с профильными испытательными центрами и промышленными партнерами и оформление результатов интеллектуальной деятельности (РИД) для передачи в хозяйственный оборот.

5.4. Оформить результаты интеллектуальной деятельности совместно с профильными испытательными центрами и индустриальными партнерами для дальнейшего прикладного использования.

5.5. Подготовить соответствующий учебный курс фармакологической коррекции нарушений функций организма по исследуемой тематике для обеспечения подготовки специалистов и формирование гибких образовательных программ по электрофизиологии для повышения квалификации специалистов и уровня боеготовности Вооруженных Сил, безопасности государственных служб и гражданского населения, повышения эффективности работы МЧС, РЖД и гражданской авиации.

В целом, в этом, заключительном блоке, цикл доклинических исследований будет отражать результаты проведенных исследований отобранных соединений для различных аспектов и степень защищенности человека при техногенных опасностях и катастрофических ситуациях на устойчивость. Документация по защите результатов интеллектуальной собственности будет отражать данные разработанного алгоритма ранней диагностики возникновения механо-индуцированных аритмий и данные проведенных исследований совместно с профильными испытательными центрами и индустриальными партнерами для дальнейшего прикладного использования. Материалы подготовленного учебного курса по фармакологической коррекции нарушений функций организма по исследуемой тематике будут отражать результаты внедрения полученных данных в учебный процесс и формирование гибких образовательных программ по электрофизиологии для повышения уровня боеготовности Вооруженных Сил, безопасности государственных служб и гражданского населения, повышения эффективности работы МЧС, РЖД и гражданской авиации;

Затраты на выполнение организационно-производственных задач и закупки оборудования

Специальные камеры в разных вариантах – 8 шт.
Генератор УЗ – 2 шт.
Генератор ИЗ – 2 шт.
Абгрейт имеющегося конфокального микроскопа
ПЦР – 1 шт.
Хемидок – 1 шт.
Секвенатор – 1 шт.
Масс-спектрометр для исследования метаболома – 1 шт.
Масс-спектрометр для исследования протеома – 1 шт.
Сопроводительная аппаратура
Установка для печа с программным обеспечением – 1 шт.
Манипуляторы с держателями Саттер – 8 шт.
Манипуляторы с держателями Нарисиги – 8 шт.
Основания для манипуляторов – 16 шт.
Усилитель для микроэлектродных исследований – 2 шт.
Комплект для иммуноферментного анализа – шт. 1.
Моторизированный вибрационный микротом Leica VT1200 S
Двухфотонный конфокальный микроскоп Microtime 200 STED – 1 шт.
Проточный сортер клеток – 1 шт.
Роботизированная станция переноса образцов и пипетирования – 3 шт.