

# Влияние космического полета на экспрессию генов в головном мозге экспериментальных животных

А.С. Цыбко , Т.В. Ильчибаева, Н.К. Попова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Космический полет вызывает ряд серьезных побочных физиологических изменений в первую очередь из-за состояния микрогравитации. В поисках механизмов, лежащих в основе этих изменений, были разработаны многие подходы: от моделирования микрогравитации на Земле до исследований в космосе, неотъемлемой частью которых является исследование экспрессии генов и белков. В отличие от костной и мышечной тканей, молекулярные изменения, происходящие в нервных клетках во время космических полетов, практически не исследованы. Целью данного обзора является обобщение последних достижений в области исследования экспрессии генов и белков в нервной системе в условиях микрогравитации. В значительной степени обзор будет посвящен результатам полета биоспутника «Бион-М1». Впервые нами были выявлены чувствительные к микрогравитации гены дофаминовой (ДА) и серотониновой (5-НТ) систем: тирозин гидроксилаза (ТН), катехол-о-метилтрансфераза (COMT) и дофаминовый рецептор первого типа (D1) в нигростриатальной системе; серотониновые рецепторы 2A подтипа (5-НТ<sub>2A</sub>) и D1 рецепторы в гипоталамусе и моноаминоксидаза А (МАО А) во фронтальной коре. Снижение экспрессии ключевых генов дофаминовой системы может вносить вклад в развитие двигательных нарушений и дискинезии во время космического полета как у животных, так и человека. Также под действием микрогравитации активируется и система нейронального апоптоза, о чем свидетельствуют повышение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-XL в гиппокампе и ее снижение в гипоталамусе. Длительный космический полет привел к дисрегуляции экспрессии генов, кодирующих глимальный нейротрофический фактор (GDNF) и дофаминовый нейротрофический фактор (CDNF) мозга. Данные нейротрофические факторы играют важнейшую роль в поддержании и защите дофаминергических нейронов, поэтому снижение их экспрессии в нигростриатальной дофаминовой системе может быть одной из причин негативного воздействия космического полета на дофаминовую систему мозга. Уникальность данных, полученных в результате полета биоспутника «Бион-М1», заключается в том, что они впервые позволили подвести молекулярно-генетическую основу под известные на сегодня нейрофизиологические механизмы адаптации центральной нервной системы к состоянию микрогравитации.

Ключевые слова: космический полет; микрогравитация; нервная система; «Бион-М1»; экспрессия генов.

## КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Цыбко А.С., Ильчибаева Т.В., Попова Н.К. Влияние космического полета на экспрессию генов в головном мозге экспериментальных животных. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(2):172-179. DOI 10.18699/VJ16.134

## HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Tsybko A.S., Ilchibaeva T.V., Popova N.K. The effect of space flight on gene expression in brain. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(2):172-179. DOI 10.18699/VJ16.134

## REVIEW

Received 15.09.2015 г.

Accepted for publication 03.12.2015 г.

© AUTHORS, 2016

 e-mail: antoncybko@mail.ru

## The effect of space flight on gene expression in brain

A.S. Tsybko , T.V. Ilchibaeva, N.K. Popova

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Many serious adverse physiological changes occur during spaceflight, primarily due to microgravity. In search of underlying mechanisms, many experimental tools have been developed, ranging from microgravity modeling on Earth to spaceflight investigations, part of which is to study the expression of genes and proteins. Unlike bone and muscle tissue, molecular changes in nerve cells during spaceflight are practically unexplored. This review aims at summarizing the recent advances in identifying gene and protein expression changes of nervous system cells under microgravity conditions. To a large extent, this review will focus on the results of the Bion-M1 biosatellite. We have for the first time revealed dopamine and serotonin microgravity-responsive genes (tyrosine hydroxylase, catechol-O-methyltransferase, and D1 receptor in the nigrostriatal system; D1 and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the hypothalamus; and monoamine oxidase A in the frontal cortex). Decreased genetic control of the dopamine system may contribute to the spaceflight-induced locomotor impairment and dyskinesia described for both animals and humans. Also, the system of neuronal apoptosis is activated under the influence of microgravity as evidenced by changes in the expression of anti-apoptotic protein Bcl-XL in the hippocampus and hypothalamus. The long spaceflight produced dysregulation in the genetic control of genes encoding GDNF and CDNF neurotrophic factors. Because they play a crucial role in the protection and maintenance of dopaminergic neurons, reducing their expression may be one of the reasons for the negative impact of spaceflight on the brain dopamine system. Thus, the data obtained from the flight of the Bion-M1 biosatellite for the first time allowed for creating a molecular genetic basis for the currently known neurophysiological mechanisms of adaptation of the central nervous system to the state of weightlessness.

Key words: space flight; microgravity; nervous system; Bion-M1; gene expression.

В течение космического полета у космонавтов наблюдается множество серьезных побочных физиологических изменений, в число которых входят перераспределение жидкостей, усиление почечной фильтрации, ухудшение функционирования иммунной системы и физического состояния сердечно-сосудистой системы, изменение поступающей сенсорной информации, истощение костной ткани, потеря мышечной массы (Clément, Reschke, 2008; Blaber et al., 2010; Clément, Ngo-Anh, 2013; De la Torre, 2014). Многим из этих патофизиологических адаптаций невозможно противостоять в достаточной мере при помощи физических упражнений или пищевых добавок, что предполагает наличие дополнительных молекулярных механизмов, ответственных за эти изменения. Для разработки высокоэффективных контрмер и предотвращения специфических «космических» заболеваний крайне важно понять механизмы, посредством которых состояние микрогравитации вызывает столько нарушений.

До сих пор наиболее заметные молекулярные эффекты микрогравитации были исследованы в клетках костной (Hughes-Fulford, 2002; Klein-Nulend et al., 2003; Оганов, Богомолов, 2009), мышечной (Оганов, Потапов, 2006; Atomi, 2015) и иммунной (Felix et al., 2004; Degan et al., 2005; Nichols et al., 2006) систем. Животные и клеточные модели были изучены *in vivo* или *in vitro* во время космических полетов и в условиях симулированной микрогравитации (в тесте подвешивания за хвост или специальных биореакторах). Были идентифицированы многие метаболические и сигнальные пути, подверженные воздействию микрогравитации. Через эти пути микрогравитация влияет на различные клеточные функции, такие как пролиферация, дифференцировка, созревание и выживание. Однако стоит отметить, что по сравнению с костной и мышечной тканями молекулярные адаптации нервных клеток практически не исследованы. В течение полета и после него наблюдаются различные неврологические изменения, наиболее выраженными из которых являются: космическое двигательное расстройство (Space Motion Sickness, SMS), космический адаптационный синдром (Space Adaptation Syndrome, SAS), иллюзия положения тела, зрительные нарушения, нейромышечная усталость, слабость, нарушение равновесия и атаксия после возвращения на Землю (Fujii, Patten, 1992). Процесс адаптации центральной нервной системы (ЦНС) к состоянию микрогравитации (как и любой процесс адаптации ЦНС) сопровождается нейропластическими изменениями, которые являются краеугольным камнем функционирования мозга (Slenzka, 2003; De la Torre, 2014). Нейроморфологические исследования указывают на структурные изменения в различных областях мозга как взрослых, так и молодых животных, побывавших в невесомости (Krasnov, 1994; DeFelipe et al., 2002). Неполнота имеющихся данных оставляет открытым вопрос о том, как воздействие микрогравитации сказывается на процессах нейропластичности на молекулярном уровне. Исследования последних лет все больше концентрируются на экспрессии генов в клетках, культивируемых в условиях микрогравитации, однако большую важность имеют и данные, полученные *in vivo*. Важной вехой в космических исследованиях на живых

#### Принятые сокращения

5-НТ – серотонин;  
 ТПГ2 – триптофан гидроксилаза 2;  
 5-НТТ – транспортер серотонина;  
 рецептор 5-НТ<sub>1А</sub> – рецептор серотонина подтипа 1А;  
 рецептор 5-НТ<sub>2А</sub> – рецептор серотонина подтипа 2А;  
 рецептор 5-НТ<sub>3</sub> – рецептор серотонина подтипа 3;  
 MAO A – моноаминоксидаза;  
 MAO B – моноаминоксидаза B;  
 ДА – дофамин;  
 ТН – тирозингидроксилаза;  
 DAT – транспортер дофамина;  
 COMT – катехол-О-метилтрансфераза;  
 рецептор D1 – рецептор дофамина 1-го подтипа;  
 рецептор D2 – рецептор дофамина 2-го подтипа;  
 BDNF (brain-derived neurotrophic factor) – нейротрофический фактор мозга;  
 GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) – глиальный нейротрофический фактор;  
 CDNF (cerebral dopamine neurotrophic factor) – дофаминовый нейротрофический фактор мозга;  
 NGF (nerve growth factor) – фактор роста нервов;  
 CNTF (ciliary neurotrophic factor) – цилиарный нейротрофический фактор;  
 BAX (Bcl-2-associated X protein) – Bcl-2-ассоциированный белок X;  
 Bcl-xL (B-cell lymphoma-extra large) – очень крупный белок B-клеточной лимфомы;  
 TrkB (tropomyosin receptor kinase B) – тропомиозина рецепторная киназа B;  
 p75 (low-affin y nerve growth factor receptor) – низкоаффинный рецептор фактора роста нервов;  
 ОТ – обратная транскрипция;  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция.

организмах стал недавний полет биоспутника «Бион-М1», в задачи которого входила в том числе и оценка эффектов длительного пребывания в условиях микрогравитации на экспрессию различных нейрогенов в головном мозге. Цель обзора – обобщить последние достижения в области исследования экспрессии генов и белков в нервной системе в условиях микрогравитации. Особое внимание в обзоре уделено результатам проекта «Бион-М1».

#### Эффекты микрогравитации на экспрессию генов в нервной системе

Как и в случае с другими системами организма, адаптация нервной системы к состоянию невесомости изучается не только в ходе космических миссий на орбитальной станции и биоспутниках, но также и в наземных экспериментах, призванных смоделировать (хотя бы отчасти) состояние микрогравитации. Внутриклеточные эффекты исследуются в специальных системах ротационных клеточных культур (Rotary Cell Culture System, RCCS), содержащих сосуды с вращающимися стенками (Rotating-Wall Vessel, RWV), работа которых основана на процессе трехмерного клиностаивания (Blaber et al., 2010). Особенность RWV состоит в том, что в процессе

вращения гравитационные векторы рандомизированы. Таким образом, из-за динамического равновесия, существующего между гравитационной ( $F_g$ ) и центробежной ( $F_c$ ) силами и сопротивлением среды ( $F_d$ ), клеточная масса постоянно остается в состоянии свободного падения, что и дает симуляцию микрогравитации (Unsworth, Lelkes, 1998; Freed et al., 1999). Для моделирования микрогравитации на целых организмах используются два типа тестов: у крыс и мышей – подвешивание за хвост с высвобождением задних конечностей (hind-limb unloading, HU), у человека – постельный режим в положении вниз головой (head-down bed rest) (Aubert et al., 2005; Delp, 2008). Как следует из названий обоих тестов, в первом случае животное (обычно крыса или мышь) подвешивают за хвост или задние конечности, и таким образом достигается состояние гравитационной разгрузки для задней части тела и перераспределение жидкости в организме (Morey-Holton, Globus, 1998; Basso et al., 2005), а во втором случае голова пациента расположена на шесть градусов ниже тела, что позволяет смоделировать приток жидкости к ней (Baisch et al., 2002; Trappe et al., 2006). Разумеется, оба теста имеют ограничения, так как на Земле и в околоземном пространстве на ткани тела действуют разные гравитационные силы: в то время как на поверхности Земли гравитация сжимает тело, на орбите под воздействием реальной микрогравитации давление вокруг тела является отрицательным (Convertino et al., 1997; Regnard et al., 2001).

Использование трехмерного клиностагирования показало, что глиальные клетки, пребывающие в такой среде в течение всего 30 мин, получают повреждения цитоскелета, выраженные в дезорганизации микрофиламентов (F-актин), промежуточных филаментов (виментин, GFAP) и микротрубочек (альфа-тубулин) (Uva et al., 2002b). Эти данные хорошо согласуются с показанным ранее снижением уровня мРНК GFAP в гиппокампальных астроцитах крыс, побывавших в реальном космическом полете (Day et al., 1998), а также с выявленной позднее дисрегуляцией тубулина и миозина в гиппокампальных нейронах крыс, подвергнутых искусственной микрогравитации в HU модели (Sarkar et al., 2006). Отметим, что через 20 ч нахождения в условиях искусственной микрогравитации изменения в клетках были менее выраженными, и это, вероятно, связано с завершившейся реорганизацией цитоскелета (Uva et al., 2002b). Также было показано, что через 30 мин вращения культуры клеток глиомы C6 в клиностаге происходит конденсация хроматина, а в цитоплазме появляется каспаза-7, что свидетельствует о клеточном апоптозе в состоянии искусственной микрогравитации (Uva et al., 2002a). Однако через 32 ч вращения апоптотические процессы выражены относительно слабо. В то же время в культуре астроцитов наблюдаются не только схожие молекулярные изменения, но и гибель значительной части клеток (Uva et al., 2002c). Помимо апоптоза, в состоянии искусственной микрогравитации наблюдаются усиление оксидативного стресса и ускоренное старение клеток (Wang et al., 2009). Моделирование микрогравитации с помощью HU в течение 7 дней также показывает увеличение числа активных форм кислорода в стволе мозга и фронтальной

коре мышей (Wise et al., 2005). В гипоталамусе мышей, подвергнутых HU, наблюдается уменьшение количества супероксиддисмутазы-2 и увеличение малатдегидрогеназы и пероксиредоксина-6, что отражает ослабление антиоксидантной системы и оксидативный дисбаланс в данной структуре мозга (Sarkar et al., 2008). Вместе с этим во всех структурах мозга происходят активация транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B и фосфорилирование митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) (Wise et al., 2005). Моделирование микрогравитации подвешиванием мышей за хвост выявило в гиппокампе существенное уменьшение количества  $\beta$ -синуклеина, который, действуя как молекулярный шаперон, препятствует ненормальной агрегации белков. Вероятно, поэтому в условиях микрогравитации может наблюдаться ненормальная белковая агрегация, приводящая к более сложному ответу в нервных клетках (Sarkar et al., 2006).

Культивирование клеток в RWV биореакторе, по видимому, создает специфичные условия для ускоренной дифференцировки РС-12 клеток в нейрэндокринные, что выражается в формировании специфических органоидов и усилении экспрессии фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы и белка быстрого реагирования c-fos (Lelkes et al., 1998). Chen с коллегами (2011) сообщают, что культивирование мезенхимальных клеток в состоянии искусственной микрогравитации усиливает их дифференцирование в нейроны. В полученных таким образом нейрональных клетках высоко экспрессированы ассоциированный с микротрубочками белок 2 (МАР-2), тирозингидроксилаза, холин ацетилтрансфераза, а также нейротрофические факторы NGF, BDNF и CNTF (Chen et al., 2011). Отметим, что следов апоптоза в культивируемых клетках вышеуказанные исследователи не обнаружили и даже предложили свой метод дифференцировки в качестве хорошего источника получения нейронов для регенеративной медицины. В то же время Константинова с коллегами (2010) в своей работе показали, что с увеличением времени клиностагирования снижается темп дифференцировки эмбриональных стволовых клеток в нейрональные. Это было видно по уменьшению количества МАР2 (маркера поздней дифференцировки), в то время как уровень  $\beta$ -III тубулина (маркера ранней дифференцировки) оставался достаточно высоким в группе клеток, подвергнутых клиностагированию (Константинова и др., 2010). Исходя из этого можно сделать вывод, что длительное нахождение эмбриональных стволовых клеток в неприкрепленном положении в состоянии искусственной микрогравитации, оказывающее на них неспецифические механические воздействия, задерживает процессы дифференцировки. В эксперименте «Строма-2» (в рамках миссии ISS 12S, 30.03–08.04 2006 г.) при культивировании мезенхимальных стволовых клеток в условиях реальной микрогравитации было отмечено угнетение пролиферативной активности клеток, а применение ДНК-микрочипов показало снижение экспрессии большого числа генов, ответственных за регуляцию клеточного цикла (Monticone et al., 2010). Но вместе с этим применение ДНК-микрочипов выявило активацию большого числа генов-маркеров нейрональной дифференцировки, а также генов, отвечающих за синаптогенез и передачу нервного импульса.

Таким образом, на основе данных, полученных в условиях реальной (Monticone et al., 2010) и искусственной (Chen et al., 2011) микрогравитации, можно заключить, что это специфическое состояние определенным образом усиливает процесс нейрональной дифференцировки при общем ослаблении пролиферативной и дифференциальной активности клеток.

Современные исследования, направленные на изучение экспрессии генов в мозге животных, побывавших в состоянии настоящей микрогравитации, единичны. В работе Santucci с коллегами (2012) исследовано воздействие 91-дневного космического полета на экспрессию самых разнообразных генов и белков в мозге мышей C57BL/10J дикого типа и трансгенных животных со сверхэкспрессией плеотрофина (гепарин-связанного митогена мозга). Выявлены тенденция к снижению экспрессии NGF в гиппокампе и коре мышей дикого типа из «полетной» группы, а также подавление экспрессии ряда генов, имеющих отношение к метаболическим и каталитическим процессам и оксидоредуктазной активности. Также выявлено, что в ходе космического полета экспрессия 28 белков была повышена. Эти белки участвуют в метаболических процессах, протекающих в митохондриях, синтезе и гидролизе АТФ, метаболизме кальция/кальмодулина и транспорте белков и/или аминокислот (Santucci et al., 2012). К сожалению, все данные получены на крайне ограниченной выборке животных. В ходе полета в живых остались только одна мышь дикого типа и два трансгенных животных, что делает практически невозможными правильные интерпретацию и экстраполяцию полученных результатов.

Как уже отмечено выше, подвешивание животных за хвост является распространенной моделью микрогравитации, доказавшей свою релевантность в отношении костной, мышечной, кровеносной и прочих систем организма. Однако попытка по возможности более целостно рассмотреть экспрессию различных генов в мозге НУ животных была предпринята только в работе Frigeri с коллегами (2008). При помощи ДНК микрочипов им удалось оценить уровень экспрессии примерно 4800 генов в мозге животных, подвешенных за хвост в течение 2 нед. Из 4749 генов значительно изменилась экспрессия у 592. Из них у 258 генов (43,5 %) экспрессия снизилась, а у 334 (56,5 %) – повысилась. Среди генов, экспрессия которых повысилась, выделяется *Grin1*, кодирующий первую (и наиболее важную) субъединицу NMDA-рецептора (ионотропного рецептора глутамата). Поскольку NMDA-рецепторы вовлечены в процессы памяти, авторы исследования считают, что их сенситизация может усилить способность к обучению. Среди генов с пониженной экспрессией интересен *Itga3*, кодирующий альфа3 субъединицу трансмембранного гетеродимерного ( $\alpha, \beta$ ) комплекса. Являясь представителями семейства интегринов, молекул клеточной адгезии, они действуют и как усилители передачи возбуждающего сигнала в гиппокампальных синапсах, модулируя активность обоих AMPA-типов MDAR глутаматных рецепторов (Kramer et al., 2003). Также отмечено усиление экспрессии генов *vdac1* и *vdac3*, кодирующих потенциал-зависимые анионные каналы (VDAC), которые локализованы на внешней мембране митохондрий и при-

нимают участие в процессе апоптоза (Elinder et al., 2005). Кроме того, выявлено изменение экспрессии генов *Scnn1b*, *Cacnb3*, *Kcnc4*, *Kcnc2*, кодирующих субъединицы натриевого, кальциевого и калиевого каналов соответственно. Авторы статьи, однако, не исключают, что выявленные ими изменения являются не эффектами искусственной микрогравитации, а следствием отсутствия движений или стресса, влияющих на функционирование ЦНС (Frigeri et al., 2008).

### Эффект космического полета на экспрессию нейрогенов в мозге мышей

С 19 апреля по 19 мая 2013 г. состоялся полет биоспутника «Бион-М1». Впервые в практике отечественной биологии и физиологии для длительного полетного эксперимента были выбраны самцы мышей линии C57Bl/6N, что позволило сделать акцент на молекулярно-биологических исследованиях. Важной частью проекта было исследование реакции нервной системы на длительное пребывание в условиях микрогравитации. С подробным описанием схемы эксперимента можно ознакомиться в работах: Сычев с коллегами (2014), Андреев-Андреевский с коллегами (2014), Andreev-Andrievskiy с коллегами (2015). Полетная группа мышей (всего 45 особей) пребывала в состоянии микрогравитации в течение 30 сут, в то время как на Земле в виварии для контроля содержали интактных животных. По возвращении мышей на Землю у 6 особей были извлечены фронтальная и зрительная кора, гиппокамп, гипоталамус, стриатум, черная субстанция и область ядер шва среднего мозга для дальнейшего исследования экспрессии нейрогенов в лаборатории нейрогеномики поведения ИЦиГ СО РАН. Экспрессия генов исследована нами с помощью метода количественного ОТ-ПЦР в реальном времени. Для того чтобы отделить эффект микрогравитации от эффекта стресса на экспрессию исследуемых генов, была проведена специальная серия экспериментов на семи мышках, которых содержали в течение одного месяца в таких же капсулах, как и использованных в космическом полете, но в условиях гравитации (наземный кабинный контроль). Группа интактных мышей была использована в качестве дополнительного контроля для мышей кабинной контрольной группы (Andreev-Andrievskiy et al., 2015).

Серотониновая система ответила на длительный космический полет снижением экспрессии генов, кодирующих 5-НТ<sub>2A</sub> рецептор в гипоталамусе и фермент катаболизма серотонина MAO A во фронтальной коре (Popova et al., 2014). Однако можно признать, что космический полет оказал ограниченный эффект на генетический контроль 5-НТ системы. Не выявлены изменения в экспрессии генов, кодирующих основные регуляторы функциональной активности 5-НТ системы: ТПГ-2, 5-НТТ и 5-НТ<sub>1A</sub> рецепторы. ТПГ-2 является ключевым и единственным специфическим ферментом биосинтеза 5-НТ в мозге, а 5-НТ<sub>1A</sub> рецептор занимает центральное место в ауторегуляции 5-НТ системы (Popova, Naumenko, 2013). Космический полет также не привел к каким-либо существенным изменениям экспрессии 5-НТ<sub>3</sub> рецепторов.

MAO A катализирует оксидативное дезаминирование 5-НТ (и частично ДА) и является основным ферментом его деградации. Исследование экспрессии гена MAO A

у мышей наземного кабинного контроля позволило выявить, что снижение экспрессии MAO A во фронтальной коре является эффектом микрогравитации, а не условий содержания. Вероятно, ослабление процессов катаболизма 5-НТ во фронтальной коре могло привести к накоплению нейромедиатора в данной проекционной области с потенциальными эффектами на поведение животных.

До этого момента все исследования 5-НТ системы в условиях микрогравитации были ограничены гипоталамической областью. Уровень 5-НТ и активность фермента моноаминоксидазы были определены в гипоталамусе крыс после 19,5 сут космического полета на борту биоспутников «Космос 782» и «Космос 936» (Kvetnansky et al., 1983). Никаких существенных изменений в уровне серотонина или активности моноаминоксидазы выявлено не было. В космическом эксперименте биоспутника «Космос 1129» была исследована концентрация 5-НТ в изолированных ядрах из гипоталамуса крысы после 18,5 сут космического полета. В большинстве гипоталамических ядер концентрация 5-НТ была неизменной, но в супраоптических ядрах было выявлено повышение, а в паравентрикулярных – снижение концентрации (Culman et al., 1985). Было высказано предположение, что длительный космический полет и микрогравитация не являются стрессогенными факторами по отношению к 5-НТ системе в гипоталамусе. Однако новые данные заставляют пересмотреть эту точку зрения.

Нами выявлено снижение экспрессии 5-НТ<sub>2A</sub> рецепторов в гипоталамусе (Pорова et al., 2014). Функциональное значение этого эффекта космического полета не вполне ясно, но, принимая во внимание участие 5-НТ<sub>2A</sub> рецепторов в регуляции большого числа физиологических функций, включая сон, мышление и память, любое изменение в генетической регуляции данных рецепторов может иметь существенные последствия. Известно, что 5-НТ<sub>2A</sub> рецепторы способны модулировать секрецию окситоцина и кортиколиберина, так как расположены на телах клеток, синтезирующих эти гормоны, в паравентрикулярном ядре гипоталамуса (Van de Kar et al., 2001). Активация 5-НТ<sub>2A</sub> рецепторов усиливает секрецию всех гормонов, классифицируемых как «стрессовые» (Zhang et al., 2002; Demjanoska et al., 2004). А так как паравентрикулярное ядро гипоталамуса играет ключевую роль в адаптивном ответе на стрессорные факторы, снижение экспрессии 5-НТ<sub>2A</sub> рецепторов можно рассматривать как дезадаптивную реакцию, понижающую эффективность стрессового ответа. Подтверждением этого служат выраженные морфологические и функциональные изменения гипоталамических ядер после космического полета (Krasnov, 1994). Участие 5-НТ<sub>2A</sub> рецепторов в нейроэндокринном ответе на стресс предполагает, что снижение экспрессии данных рецепторов в условиях микрогравитации создает уязвимость гипоталамуса, что также согласуется с концепцией развития гипонорадренергического синдрома в условиях микрогравитации (Krasnov, 1991).

Говоря о гипоталамусе, нельзя не упомянуть выявленное у мышей полетной группы понижение уровня мРНК гена, кодирующего антиапоптотический белок Bcl-XL (один из основных членов Bcl-2 семейства). Одновременно с этим повышение уровня мРНК Bcl-XL было

обнаружено в гиппокампе (Naumenko et al., 2015). В нем была повышена и экспрессия мРНК гена, кодирующего основной проапоптотический белок BAX, но в то же время в группе кабинного контроля наблюдалось незначительное (но статистически значимое) снижение экспрессии мРНК данного гена (Naumenko et al., 2015). Вероятно, экспрессия BAX более подвержена воздействию среднего стресса, чем эффектам, вызванным непосредственно состоянием микрогравитации. Литературные данные о влиянии микрогравитации на систему апоптотических белков противоречивы. Во всех работах по этой тематике исследовано воздействие искусственной микрогравитации, не рассматривались нейрональные клетки, а вместо Bcl-XL исследован белок Bcl-2. В одной работе никаких эффектов микрогравитации на систему BAX/Bcl-2 выявлено не было (Rucci et al., 2002). В другом исследовании показано повышение уровня BAX и снижение уровня Bcl-2 в клетках карциномы (Kossmehl et al., 2003). В работе Nakamura с коллегами (2003) искусственная микрогравитация вызвала повышение соотношения BAX/Bcl-2 в остеобластах человека. Также показано, что воздействие искусственной микрогравитации повышает уровень как BAX, так и Bcl-2 в эндотелиальных клетках человека (Infanger et al., 2007). Но в то же время показано, что в пульмонарных микроваскулярных эндотелиальных клетках микрогравитация, напротив, повышает экспрессию BAX и снижает экспрессию Bcl-2 (Kang et al., 2011). В целом можно заключить, что микрогравитация (даже искусственная) активирует белки системы апоптоза. Ранее мы уже отметили некоторые свидетельства в пользу усиления апоптоза в культуре нейрональных клеток, поэтому предполагаем, что усиление экспрессии Bcl-XL, вероятно, является компенсаторным, направленным на ослабление апоптоза, который может иметь место в гиппокампе и гипоталамусе.

Интересные изменения были выявлены в экспрессии генов DA системы (Pорова et al., 2014). Эта система, помимо известной роли фактора внутреннего подкрепления, занимает одно из важнейших мест в регуляции моторной функции, тонуса мышц, осуществлении статокINETической функции, координации мелких и точечных движений (Grace, 2002). За двигательный контроль отвечает nigrostriальная DA система, состоящая из черной субстанции (в которой расположены тела DA нейронов) и стриатума, где находятся DA терминалы (Grace, 2002). Нами было обнаружено, что космический полет приводит к существенному снижению в черной субстанции экспрессии TH – основного фермента синтеза дофамина. Вместе с этим снижается и экспрессия в стриатуме одного из основных ферментов катаболизма дофамина – COMT. Также отмечено снижение в стриатуме и гипоталамусе экспрессии дофаминового D1 рецептора. Один из основных эффектов микрогравитации связан с механическими и проприоцептивными изменениями в процессе выполнения действий, приводящими к разрушению привычных взаимодействий между эфферентными и афферентными сигналами (Clément, Reschke, 2008). Другими словами, первичный двигательный дефицит в результате снижения уровня афферентных сигналов к соматосенсорной системе и двигательным путям является функцией адаптации, связанной с длительным пребыванием в условиях микрогра-

витации (Clément, Reschke, 2008; Clément, Ngo-Anh, 2013). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о снижении генетического контроля nigростриатальной дофаминовой системы, вероятно, вызванном уменьшением афферентного входа при состоянии микрогравитации.

Были исследованы эффекты длительного космического полета на экспрессию нейротрофических факторов GDNF и CDNF. Нами выявлено, что у мышей полетной группы снижен уровень мРНК гена GDNF в стриатуме и гипоталамусе, но в то же время существенно повышен во фронтальной коре и области ядер шва среднего мозга (Tsybko et al., 2015). Экспрессия мРНК гена CDNF также изменилась: существенно снизилась в черной субстанции и повысилась в ядрах шва (Tsybko et al., 2015). Оба указанных нейротрофических фактора играют важную роль в функционировании ДА системы мозга. GDNF синтезируется в стриатальных нейронах и необходим для роста, защиты и поддержания nigростриатальных ДА нейронов (Andressoo, Saarma, 2008; Saavedra et al., 2008). GDNF необходим для зрелых ДА нейронов, поскольку подавление активности этого трофического фактора приводит к их массовой гибели (Pascual et al., 2008). Нейротрофический фактор CDNF был открыт сравнительно недавно (Lindholm et al., 2007), но уже доказана его важная роль в созревании, росте и защите ДА нейронов (Lindholm, Saarma, 2010; Airavaara et al., 2012; Cordero-Llana et al., 2015). У мышей полетной группы снижение экспрессии GDNF и CDNF в nigростриатальной системе хорошо согласуется с данными о снижении экспрессии генов ДА системы. В свою очередь, ДА является одним из регуляторов GDNF и, вероятно, CDNF (Saavedra et al., 2008; Lindholm, Saarma, 2010), поэтому снижение функции ДА системы может быть причиной снижения экспрессии GDNF и CDNF. Также свой вклад вносит снижение афферентной активности ДА нейронов в условиях недостаточной активации черной субстанции. Афферентная активность регулирует экспрессию нейротрофических факторов (Hughes et al., 1999). Существует ряд свидетельств того, что отсутствие афферентной активности в разрушенных ДА нейронах подавляет экспрессию GDNF (Saavedra et al., 2008). Хорошо известно, что дефицит GDNF провоцирует у животных состояние, сходное с болезнью Паркинсона (Pascual et al., 2011). Поэтому тот факт, что в ходе космического полета снижается экспрессия не только основных генов ДА системы, но и генов нейротрофических факторов, участвующих в ее поддержании, может иметь весьма серьезные последствия при длительном пребывании в состоянии микрогравитации. Наблюдавшееся нами повышение экспрессии GDNF и CDNF во фронтальной коре и области ядер шва можно рассматривать как компенсаторное, направленные на облегчение негативных эффектов нахождения в состоянии микрогравитации.

Иначе обстоит дело с другим известным нейротрофическим фактором, BDNF. Длительное пребывание в условиях реальной микрогравитации не оказало эффекта на экспрессию BDNF и его рецепторов TrkB и p75 (Naumenko et al., 2015), что совпадает с данными Santucci с коллегами (2012). Тот факт, что во время космического полета экспрессия BDNF не подавляется и не активизируется, может

быть как-то связан с нарушением синаптогенеза и морфологии синапсов, выявленным у животных, побывавших в космическом полете (Krasnov, 1994; DeFelipe et al., 2002).

Результаты, полученные в рамках проекта «Бион-М1», в очередной раз показали важность проведения исследований на животных для понимания влияния условий микрогравитации на организм человека. Однако сложность выполнения программ экспериментальных исследований на животных в космическом полете ограничивает частоту их проведения. Данные, полученные при моделировании микрогравитации в наземных исследованиях, будь то RWV биореактор или HU модель, зачастую расходятся с теми результатами, которые получают при исследовании животных в космическом полете. Так, целенаправленное сравнение подвешенных за хвост крыс с крысами, побывавшими в космическом полете в проекте «Космос 2044», выявило схожесть эффектов в мышечной, скелетной, кардиоваскулярной и иммунной системах, однако специфические изменения в мотонейронах наблюдались только у крыс полетной группы (Morey-Holton et al., 2005). К сожалению, сравнение эффектов в ЦНС в проекте «Космос 2044» не проводили, но сейчас мы имеем возможность сравнить данные проекта «Бион-М1» с исследованием Frigeri с коллегами (2008). Обращает на себя внимание то, что изменение экспрессии нейрогенов 5-НТ и ДА систем, системы апоптоза и нейротрофических факторов наблюдается только у мышей, побывавших в условиях реальной, но не искусственной микрогравитации. Стоит признать, что релевантность HU модели в отношении центральной нервной системы недостаточна, поскольку данная модель не только не учитывает, но и в принципе не способна воспроизвести особые адаптивные изменения в головном мозге, происходящие в состоянии микрогравитации. Сенсомоторная адаптация к отсутствию такой фундаментальной силы, как гравитация, должна включать мультимодальную реорганизацию, перегруппировку или перекалибровку нейронов и нейронных сетей (Clément, Ngo-Anh, 2013). Ответ на вопрос, как мозг адаптируется к состоянию микрогравитации, находится в ведении интегративной физиологии, но ответить на него невозможно без данных генетики, биохимии и молекулярной биологии, полученных на животных, находившихся в реальном космическом полете. Равно как и понимание некоторых молекулярных изменений в мозге при микрогравитации невозможно без применения базовых нейрофизиологических принципов.

## Acknowledgments

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 14-04-00173, and State Project 0324-2015-0004.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Airavaara M., Harvey B.K., Voutilainen M.H., Shen H., Chou J., Lindholm P., Lindahl M., Tuominen R.K., Saarma M., Hoffer B., Wang Y. CDNF protects the nigrostriatal dopamine system and promotes recovery after MPTP treatment in mice. *Cell Transplant.* 2012;21:1213-1223.

- Andreev-Andrievskiy A., Popova A., Boyle R., Alberts J., Shenkman B., Vinogradova O., Dolgov O., Anokhin K., Tsvirkun D., Soldatov P., Nemirovskaya T., Ilyin E., Sychev V. Mice in Bion-M 1 space mission: training and selection. *PLoS One*. 2015;9. Available at: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0104830/> (Accessed 18 August 2014).
- Andreev-Andrievskiy A.A., Shenkman B.S., Popova A.S., Dolgov O.N., Anokhin K.B., Soldatov P.E., Vinogradova O.L., Ilyin E.A., Sychev V.N. Experimental studies with mice on the program of the biosatellite BION-M1 mission. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and environmental medicine*. 2014;48(1):14-27.
- Andressoo J.O., Saarna M. Signalling mechanisms underlying development and maintenance of dopamine neurons. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2008;18:297-306.
- Atomi Y. Gravitational effects on human physiology. *Subcell. Biochem.* 2015;72:627-59.
- Aubert A.E., Beckers F., Verheyden B. Cardiovascular function and basics of physiology in microgravity. *Acta. Cardiol.* 2005;60:129-151.
- Baisch F.J. Head down tilt combined with breathing assistance by the "IRON LUNG." A new simulation model for cardiovascular deconditioning, skin, and kidney function in weightlessness? *J. Gravit. Physiol.* 2002;9:67-68.
- Basso N., Bellows C.G., Heersche J.N. Effect of simulated weightlessness on osteoprogenitor cell number and proliferation in young and adult rats. *Bone* 2005;36:173-183.
- Blaber E., Marçal H., Burns B.P. Bioastronautics: the influence of microgravity on astronaut health. *Astrobiology*. 2010;10:463-473.
- Chen J., Liu R., Yang Y., Li J., Zhang X., Li J., Wang Z., Ma J. The simulated microgravity enhances the differentiation of mesenchymal stem cells into neurons. *Neurosci. Lett.* 2011;505(2):171-175.
- Clément G., Ngo-Anh J.T. Space physiology II: adaptation of the central nervous system to space flight – past, current, and future studies. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2013;113:1655-1672.
- Clément G., Reschke M.F. *Neuroscience in Space*. N.Y., Springer, 2008.
- Convertino V.A., Bloomfield S.A., Greenleaf J.E. An overview of the issues: physiological effects of bed rest and restricted physical activity. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1997;29:187-190.
- Cordero-Llana O., Houghton B.C., Rinaldi F., Taylor H., Yáñez-Muñoz R.J., Uney J.B., Wong L.F., Caldwell M.A. Enhanced efficacy of the CDNF/MANF family by combined intranigral overexpression in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Mol. Ther.* 2015;23:244-254.
- Culman J., Kvetnansky T., Serova L.V., Tigranjan R.A., Macho L. Serotonin in individual hypothalamic nuclei of rats after space flight on biosatellite Cosmos 1129. *Acta Astronaut.* 1985;12:373-376.
- Damjanoska K.J., Heidenreich B.A., Kindel G.H., D'Souza D.N., Zhang Y., Garcia F., Battaglia G., Wolf W.A., Van de Kar L.D., Muma N.A. Agonist-induced serotonin 2A receptor desensitization in the rat frontal cortex and hypothalamus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004;309(3):1043-1050.
- Day J.R., Frank A.T., O'Callaghan J.P., DeHart B.W. Effects of microgravity and bone morphogenetic protein II on GFAP in rat brain. *J. Appl. Physiol.* 1998;85:716-722.
- DeFelipe J., Arellano J.I., Merchán-Pérez A., González-Albo M.C., Walton K., Llinás R. Spaceflight induces changes in the synaptic circuitry of the postnatal developing neocortex. *Cereb. Cortex.* 2002;12(8):883-891.
- Degan P., Sancandi M., Zunino A., Ottaggio L., Viaggi S., Cesarone F., Pippia P., Galleri G., Abbondandolo A. Exposure of human lymphocytes and lymphoblastoid cells to simulated microgravity strongly affects energy metabolism and DNA repair. *J. Cell Biochem.* 2005;94:460-469.
- De la Torre G.G. Cognitive neuroscience in space. *Life (Basel)*. 2014;4:281-294.
- Delp M.D. Unraveling the complex web of impaired wound healing with mechanical unloading and physical deconditioning. *J. Appl. Physiol.* 2008;104:1262-1263.
- Elinder F., Akanda N., Tofighi R., Shimizu S., Tsujimoto Y., Orrenius S., Ceccatelli S. Opening of plasma membrane voltage dependent anion channels (VDAC) precedes caspase activation in neuronal apoptosis induced by toxic stimuli. *Cell Death Differ.* 2005;12:1134-1140.
- Felix K., Wise K., Manna S., Yamauchi K., Wilson B.L., Thomas R.L., Kulkarni A., Pellis N.R., Ramesh G.T. Altered cytokine expression in tissues of mice subjected to simulated microgravity. *Mol. Cell Biochem.* 2004;266:79-85.
- Freed L.E., Pellis N., Searby N., de Luis J., Preda C., Bordonaro J., Vunjak-Novakovic G. Microgravity cultivation of cells and tissues. *Gravit. Space Biol. Bull.* 1999;12:57-66.
- Frigeri A., Iacobas D.A., Iacobas S., Nicchia G.P., Desaphy J.F., Camerino D.C., Svelto M., Spray D.C. Effect of microgravity on gene expression in mouse brain. *Exp. Brain Res.* 2008;191(3):289-300.
- Fujii M.D., Patten B.M. Neurology of microgravity and space travel. *Neurol. Clin.* 1992;10(4):999-1013.
- Grace A.A. Dopamine. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. Eds. K.L. Davis, D. Charney, J.T. Coyle, C. Nemeroff. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania, 2002:119-132.
- Hughes P.E., Alexi T., Walton M., Williams C.E., Dragunow M., Clark R.G., Gluckman P.D. Activity and injury-dependent expression of inducible transcription factors, growth factors and apoptosis-related genes within the central nervous system. *Prog. Neurobiol.* 1999;57:421-450.
- Hughes-Fulford M. Physiological effects of microgravity on osteoblast morphology and cell biology. *Adv. Space Biol. Med.* 2002;8:129-157.
- Infanger M., Ulbrich C., Baatout S., Wehland M., Kreutz R., Bauer J., Grosse J., Vadrucchi S., Cogoli A., Derradji H., Neefs M., Kusters S., Spain M., Paul M., Grimm D. Modeled gravitational unloading induced downregulation of endothelin-1 in human endothelial cells. *J. Cell Biochem.* 2007;101:1439-1455.
- Kang C.Y., Li T., Zou L., Yuan M., Li T.Z., Guo Y.H., Wang Y., Liu C.T. Salidroside inhibits clinorotation-induced apoptosis in pulmonary microvascular endothelial cells. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2011;31:649-652.
- Klein-Nulend J., Bacabac R.G., Veldhuijzen J.P., Van Loon J.J. Microgravity and bone cell mechanosensitivity. *Adv. Space Res.* 2003;32:1551-1559.
- Konstantinova N.A., Buravkova L.B., Manuilova E.S., Arsen'eva E.L., Grivennikov I.A. Effects of clinostating on the neuronal differentiation of embryonic stem cells from mouse strain R1. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and environmental medicine*. 2010;44(3):65-67.
- Kossmehl P., Shakibaei M., Cogoli A., Infanger M., Curcio F., Schonberger J., Eilles C., Bauer J., Pickenhahn H., Schulze-Tanzil G., Paul M., Grimm D. Weightlessness induced apoptosis in normal thyroid cells and papillary thyroid carcinoma cells via extrinsic and intrinsic pathways. *Endocrinology*. 2003;144:4172-4179.
- Kramar E.A., Bernard J.A., Gall C.M., Lynch G. Integrins modulate fast excitatory transmission at hippocampal synapses. *J. Biol. Chem.* 2003;270:10722-10730.
- Krasnov I.B. Hyponoradrenergic syndrome of weightlessness: its manifestations in mammals and possible mechanism. *Physiologist*. 1991;34(Suppl. 1):23-26.
- Krasnov I.B. Gravitational neuromorphology. *Adv. Space Biol. Med.* 1994;4:85-110.
- Kvetnansky R., Culman J., Serova L.V., Tigranjan R.A., Torda T., Macho L. Catecholamines and their enzymes in discrete brain areas of rats after space flight on biosatellites Cosmos. *Acta Astronaut.* 1983;10:295-300.
- Lelkes P.I., Galvan D.L., Hayman G.T., Goodwin T.J., Chatman D.Y., Cherian S., Garcia R.M., Unsworth B.R. Simulated microgravity conditions enhance differentiation of cultured PC12 cells towards the neuroendocrine phenotype. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* 1998;34:316-325.

- Lindholm P, Saarma M. Novel CDNF/MANF family of neurotrophic factors. *Dev. Neurobiol.* 2010;70:360-371.
- Lindholm P, Voutilainen M.H., Laurén J., Peränen J., Leppänen V.M., Andressoo J.O., Lindahl M., Janhunen S., Kalkkinen N., Timusk T., Tuominen R.K., Saarma M. Novel neurotrophic factor CDNF protects and rescues midbrain dopamine neurons in vivo. *Nature.* 2007;448:773-77.
- Monticone M., Liu Y., Pujic N., Cancedda R. Activation of nervous system development genes in bone marrow derived mesenchymal stem cells following spaceflight exposure. *J. Cell Biochem.* 2010; 111(2):442-452.
- Morey-Holton E.R., Globus R.K. Hindlimb unloading of growing rats: a model for predicting skeletal changes during space flight. *Bone.* 1998;22:83-88.
- Morey-Holton E.R., Globus R.K., Kaplansky A., Durnova G. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data. *Adv. Space Biol. Med.* 2005; 10:7-40.
- Nakamura H., Kumei Y., Morita S., Shimokawa H., Ohya K., Shinomiya K. Antagonism between apoptotic (Bax/Bcl-2) and antiapoptotic (IAP) signals in human osteoblastic cells under vectoraveraged gravity condition. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003;1010:143-147.
- Naumenko V.S., Kulikov A.V., Kondaurova E.M., Tsybko A.S., Kulikova E.A., Krasnov I.B., Shenkman B.S., Sychev V.N., Bazhenova E.Y., Sinyakova N.A., Popova N.K. Effect of actual long-term spaceflight on BDNF, TrkB, p75, BAX and BCL-XL genes expression in mouse brain regions. *Neuroscience.* 2015;284:730-736.
- Nichols H.L., Zhang N., Wen X. Proteomics and genomics of microgravity. *Physiol. Genomics.* 2006;26:163-171.
- Oganov V.S., Bogomolov V.V. Костная система человека в условиях невесомости. Human bone system in microgravity: review of research data, hypotheses and predictability of state in extended (exploration) missions. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina=Aerospace and environmental medicine.* 2009;1:3-12.
- Oganov V.S., Potapov A.N. Functional plasticity of mammalian skeletal muscles under microgravity. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina=Aerospace and environmental medicine.* 2006;1:27-36.
- Pascual A., Hidalgo-Figueroa M., Gómez-Díaz R., López-Barneo J. GDNF and protection of adult central catecholaminergic neurons. *J. Mol. Endocrinol.* 2011;46:83-92.
- Pascual A., Hidalgo-Figueroa M., Piruat J.T., Pintado C.O., Gómez-Díaz R., López-Barneo J. Absolute requirement of GDNF for adult catecholaminergic neuron survival. *Nat. Neurosci.* 2008;11:755-761.
- Popova N.K., Kulikov A.V., Kondaurova E.M., Tsybko A.S., Kulikova E.A., Krasnov I.B., Shenkman B.S., Bazhenova E.Y., Sinyakova N.A., Naumenko V.S. Risk neurogenes for long-term spaceflight: dopamine and serotonin brain system. *Mol. Neurobiol.* 2014;51(3): 1443-1451.
- Popova N.K., Naumenko V.S. 5-HT1A receptor as a key player in the brain 5-HT system. *Rev. Neurosci.* 2013;24(2):191-204.
- Regnard J., Heer M., Drummer C., Norsk P. Validity of microgravity simulation models on earth. *Am. J. Kidney Dis.* 2001;38:668-674.
- Rucci N., Migliaccio S., Zani B.M., Taranta A., Teti A. Characterization of the osteoblast-like cell phenotype under microgravity conditions in the NASA-approved Rotating Wall Vessel bioreactor (RWV). *J. Cell Biochem.* 2002;85:167-179.
- Saavedra A., Baltazar G., Duarte E.P. Driving GDNF expression: the green and the red traffic lights. *Prog. Neurobiol.* 2008;86:186-215.
- Santucci D., Kawano F., Ohira T., Terada M., Nakai N., Francia N., Alleva E., Aloe L., Ochiai T., Cancedda R., Goto K., Ohira Y. Evaluation of gene, protein and neurotrophin expression in the brain of mice exposed to space environment for 91 days. *PLoS One* 2012;7. Available at: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0040112/> (Accessed 09 July 2012).
- Sarkar P., Sarkar S., Ramesh V., Hayes B.E., Thomas R.L., Wilson B.L., Kim H., Barnes S., Kulkarni A., Pellis N., Ramesh G.T. Proteomic analysis of mice hippocampus in simulated microgravity environment. *J. Proteome Res.* 2006;5(3):548-553.
- Sarkar P., Sarkar S., Ramesh V., Kim H., Barnes S., Kulkarni A., Hall J.C., Wilson B.L., Thomas R.L., Pellis N.R., Ramesh G.T. Proteomic analysis of mouse hypothalamus under simulated microgravity. *Neurochem. Res.* 2008;33(11):2335-2341.
- Slenzka K. Neuroplasticity changes during space flight. *Adv. Space Res.* 2003;31:1595-1604.
- Sychev V.N., Ilyin E.A., Yarmanova E.N., Rakov D.V., Ushakov I.B., Kirilin A.N., Orlov O.I., Grigoriev A.I. The BION-M1 project: overview and first results. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina=Aerospace and environmental medicine.* 2014;48(1):7-14.
- Trappe T., Trappe S., Lee G., Widrick J., Fitts R., Costill D. Cardiorespiratory responses to physical work during and following 17 days of bed rest and spaceflight. *J. Appl. Physiol.* 2006;100:951-957.
- Tsybko A.S., Ilchibaeva T.V., Kulikov A.V., Kulikova E.A., Krasnov I.B., Sychev V.N., Shenkman B.S., Popova N.K., Naumenko V.S. Effect of microgravity on glial cell line-derived neurotrophic factor and cerebral dopamine neurotrophic factor gene expression in the mouse brain. *J. Neurosci. Res.* 2015;93(9):1399-1404.
- Unsworth B.R., Lelkes P.I. Growing tissues in microgravity. *Nat. Med.* 1998;4:901-907.
- Uva B.M., Masini M.A., Sturla M., Bruzzone F., Giuliani M., Tagliafierro G., Strollo F. Microgravity-induced apoptosis in cultured glial cells. *Eur. J. Histochem.* 2002a;46(3):209-214.
- Uva B.M., Masini M.A., Sturla M., Prato P., Passalacqua M., Giuliani M., Tagliafierro G., Strollo F. Clinorotation-induced weightlessness influences the cytoskeleton of glial cells in culture. *Brain Res.* 2002b;934(2):132-139.
- Uva B.M., Masini M.A., Sturla M., Tagliafierro G., Strollo F. Microgravity-induced programmed cell death in astrocytes. *J. Gravit. Physiol.* 2002c;9(1):275-276.
- Van de Kar L.D., Javed A., Zhang Y., Serres F., Raap D.K., Gray T.S. 5-HT2A receptors stimulate ACTH, corticosterone, oxytocin, renin, and prolactin release and activate hypothalamic CRF and oxytocin-expressing cells. *J. Neurosci.* 2001;21(10):3572-3579.
- Wang J., Zhang J., Bai S., Wang G., Mu L., Sun B., Wang D., Kong Q., Liu Y., Yao X., Xu Y., Li H. Simulated microgravity promotes cellular senescence via oxidant stress in rat PC12 cells. *Neurochem. Int.* 2009;55(7):710-716.
- Wise K.C., Manna S.K., Yamauchi K., Ramesh V., Wilson B.L., Thomas R.L., Sarkar S., Kulkarni A.D., Pellis N.R., Ramesh G.T. Activation of nuclear transcription factor-kappaB in mouse brain induced by a simulated microgravity environment. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* 2005;41(3-4):118-123.
- Zhang Y., Damjanoska K.J., Carrasco G.A., Dudas B., D'Souza D.N., Tetzlaff J., Garcia F., Hanley N.R., Scripathirathan K., Petersen B.R., Gray T.S., Battaglia G., Muma N.A., Van de Kar L.D. Evidence that 5-HT2A receptors in the hypothalamic paraventricular nucleus mediate neuroendocrine responses to (-)DOI. *J. Neurosci.* 2002;22(21):9635-9642.