

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБОУ ВО «КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Повышева Татьяна Вячеславовна

РЕАКЦИЯ ГЛИИ СПИННОГО МОЗГА МЫШИ В УСЛОВИЯХ
КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЁТА И ОПОРНОЙ РАЗГРУЗКИ ЗАДНИХ
КОНЕЧНОСТЕЙ

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

профессор Челышев Ю.А.

ОГЛАВЛЕНИЕ	Стр.
1. ВВЕДЕНИЕ	3
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
2.1 Патологические реакции при гипогравитационном двигательном синдроме	9
2.2 Реакция глии при патологии спинного мозга	12
2.2.1 Астроциты	12
2.2.2 Миелинообразующие клетки	23
2.2.3 Микроглия	29
2.3 Нейральные клетки при стрессе	32
2.4 Модели для исследования гипогравитационного двигательного синдрома	34
2.5 Исследования нервной ткани в условиях реальной невесомости и её моделирования на Земле	37
3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
3.1 Экспериментальные группы	41
3.2 Приготовление гистологических препаратов	42
3.3 Иммуногистохимические методы	43
3.4 Морфометрия	43
3.5 Статистическая обработка результатов	45
4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	46
4.1 Поясничный отдел спинного мозга	46
4.2 Шейный отдел спинного мозга	65
5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	73
6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
7. ВЫВОДЫ	91
8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	92
9. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	125

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования и степень разработанности темы

Гипогравитация нарушает функцию практически всех систем организма, что проявляется на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях [Caiozzo et al., 1996; Григорьев и др., 2004; Kozlovskaya et al., 2007]. При этом уже в течение первых суток в скелетных мышцах, обеспечивающих поддержание позы, развиваются нарушения, которые составляют основу гипогравитационного двигательного синдрома [Ohira et al., 2002; Kozlovskaya et al., 2007; Fitts et al., 2010]. Исследования двигательной функции в невесомости и в условиях её моделирования на Земле выявили сдвиги во всех компонентах регуляции двигательной системы [Edgerton, 1996; Reschke et al., 1998; Nagy et al., 2000; Григорьев и др., 2004]. Гипогравитационный двигательный синдром характеризуется атрофией мышц, сопровождающейся уменьшением объёма мышечных волокон и деструкцией миофибриллярного аппарата [Шумилина и др., 2010]. При этом установлена важная роль сенсорного обеспечения двигательных функций [Козловская и др., 1984; Kozlovskaya et al., 1988]. При гипогравитационном двигательном синдроме также отмечается снижение афферентной стимуляции мотонейронов или их деафферентация, которая приводит к повышенной возбудимости нейронов [Kozlovskaya et al., 2007].

Патогенез гипогравитационного двигательного синдрома может включать не только изменения сократительного аппарата мышцы, но и нарушение механизма экзоцитоза медиатора и структур, контролирующих его регуляцию [Никольский и др., 2005]. В условиях моделирования гипогравитации на Земле в виде опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) увеличивается содержание возбуждающих и тормозных нейромедиаторов в спинном мозге [Treffort et al., 2006]. На модели ОРЗК показано снижение активности холинацетилтрансферазы, которое приводит к развитию характерных для гипогравитационного двигательного синдрома

изменений со стороны скелетной мышцы [Исламов и др., 2007; 2008]. Морфо-функциональные изменения в нейронах в условиях космического полёта могут быть первичными или опосредоваться через влияния со стороны глиальных клеток. При этом роль глиального компонента и информационных межклеточных взаимодействий в системе «нейрон – глия» в развитии гипогравитационного двигательного синдрома остаётся неясной. Есть основание полагать, что изменение характера взаимодействий между нейронами и глией в спинном мозге при гипогравитационном двигательном синдроме может приводить к сдвигам в морфофункциональном состоянии мотонейронов.

Астроцитам принадлежит ведущая роль в регуляции гомеостаза калия, удалении из внеклеточного пространства избыточного глутамата, антиоксидантной защите, метаболическом обеспечении и модуляции возбудимости нейронов [Hulsebosch et al., 2009; Clarke, Barres, 2013]. Активация астроцитов в спинном мозге негативно влияет на соседние нервные клетки [Jing et al., 2013], увеличивая экспрессию провоспалительных цитокинов, концентрацию АТФ и оксида азота [Hulsebosch et al., 2009; Karimi-Abdolrezaee, Billakanti, 2012]. Изменение характера взаимодействий в системе «нейрон – астроцит» не только влияет на функцию мотонейронов, но может также явиться причиной выраженных нарушений их структурной и цитохимической организации. Представляется весьма вероятным, что эти реакции могут завершиться дегенерацией и гибелью мотонейронов.

При гипогравитационном двигательном синдроме демиелинизация может сопровождать и усиливать двигательные нарушения. На модели ОРЗК молекулярно-генетический анализ выявил снижение в спинном мозге экспрессии генов *pmp2* и *pmp22*, кодирующих белки миелина, которое приводит к дефектам миелинизации [Тяпкина и др., 2013] и изменению скорости проведения импульсов по аксонам [Исламов и др., 2011]. Остается открытым вопрос об изменении фенотипа миелинообразующих клеток в патогенезе развития гипогравитационного двигательного синдрома.

Реакция микроглиальных клеток при гипогравитационном двигательном синдроме также практически не изучена. Микроглия, как резидент иммунной системы в ЦНС, является одним из важных компонентов в регуляции гомеостаза в мозге. Активация микроглии усиливает гибель нейронов, что показано при болезни Альцгеймера, боковом амиотрофическом склерозе и травме спинного мозга [Ribes et al., 2009; Tsuda, 2016].

Для исследования воздействия гипогравитации на организм используют различные экспериментальные модели, такие как «сухая» иммерсионная гипокинезия, иммобилизация и т.п. [Саенко и др., 2000]. При этом среди них модель ОРЗК представляется наиболее оптимальной для имитации патологических сдвигов в условиях космического полёта. Эта модель в наибольшей мере способствовала расшифровке известных на сегодняшний день механизмов развития гипогравитационного двигательного синдрома.

На модели ОРЗК было показано повышение уровня экспрессии белков HSP25 и HSP70, препятствующих развитию апоптоза в спинном мозге [Islamov et al., 2007; 2011]. При изучении мотонейронов поясничного утолщения спинного мозга мышей после 30-суточного космического полёта выявлено снижение экспрессии белков HSP25, HSP70, PSD95 и синаптофизина, которые играют важную роль в адаптационно-компенсаторных процессах [Тяпкина и др., 2014].

Возможность изменения в условиях космического полёта и ОРЗК фенотипа и поведения глиальных клеток как причины нарушения взаимодействий между нейронами и глией и последующих патологических сдвигов в морфофункциональном состоянии мотонейронов не изучена. Представляется актуальным оценить роль макро- и микроглиальных клеток спинного мозга в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома в условиях ОРЗК и космического полёта.

Цели и задачи исследования

Цель исследования – выявить реакции глии спинного мозга мыши в условиях космического полёта и имитирования гипогравитации на Земле.

Для достижения цели поставлены следующие **задачи**, решаемые в условиях космического полёта по международному проекту БИОН-М1 и на модели ОРЗК:

1. Проанализировать реакцию астроцитов, миелинообразующих и микроглиальных клеток в сером и белом веществе спинного мозга мыши в условиях космического полёта и ОРЗК на Земле.
2. В условиях реадaptации мышей на Земле после космического полёта проанализировать динамику фенотипических изменений макро- и микроглиальных клеток в сером и белом веществе поясничного и шейного отделов спинного мозга.
3. Сопоставить фенотипические характеристики глиальных клеток поясничного и шейного отдела при ОРЗК и космическом полёте по экспрессии маркеров астроцитов, миелинообразующих и микроглиальных клеток в сером и белом веществе спинного мозга мыши.

Научная новизна

Впервые получены новые данные о реакции астроцитов, а также миелинообразующих и микроглиальных клеток в зонах серого и белого вещества в области поясничного утолщения спинного мозга мыши в условиях 30-суточного космического полёта. Впервые установлено, что пребывание мышей в этих условиях и при ОРЗК приводит к фенотипическим сдвигам в популяциях астроцитов в поясничном и шейном утолщениях спинного мозга. Принципиально новыми являются данные о том, что в условиях космического полёта и ОРЗК в поясничном утолщении спинного мозга количество миелинообразующих клеток уменьшается, а микроглиальных клеток в поясничном и шейном утолщениях возрастает. Впервые показано, что увеличение экспрессии маркеров миелинообразующих

клеток на 7 сутки реадaptации на Земле после космического полёта свидетельствует о восстановлении отклоняющихся показателей и указывает на потенциальную возможность достаточно быстрого восстановления миелинизированных волокон при гипогравитационном двигательном синдроме. Получены приоритетные данные об отличительных особенностях фенотипических сдвигов глиальных клеток спинного мозга при космическом полёте и ОРЗК.

Теоретическое и практическое значение работы

Полученные в работе данные о реакции астроцитов, а также миелинообразующих и микроглиальных клеток в сером и белом веществе поясничного и шейного отделов спинного мозга мыши в условиях космического полёта и ОРЗК углубляют представления о механизмах развития гипогравитационного двигательного синдрома.

Данные проведённых исследований могут быть использованы при рассмотрении глии в качестве мишени при разработке средств профилактики моторных расстройств при гипогравитационном двигательном синдроме прив условиях длительных космических полётов.

Положения, выносимые на защиту

1. В условиях космического полёта и опорной разгрузки задних конечностей при развитии гипогравитационного двигательного синдрома изменяются фенотипы клеток макро- и микроглии в шейном и поясничном отделах спинного мозга.
2. Рееадаптация на Земле после космического полёта включает возможность нормализации фенотипических сдвигов глиальных клеток спинного мозга.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа представляет собой иммунофлуоресцентное исследование шейного и поясничного отделов спинного мозга мыши после 30-суточного космического полёта и ОРЗК с целью определения роли глии в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома. Дизайн

исследования отражен в протоколе, одобренном локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. В исследовании использовались иммунофлуоресцентные методы и морфометрия, а также статистические инструменты анализа данных.

Степень достоверности

Достоверность результатов исследования определяется достаточным объемом и корректным формированием изучаемых выборок, высокой информативностью современных методов исследования, адекватностью математических методов обработки данных поставленным задачам. Сформулированные выводы и практические рекомендации аргументированы и логически вытекают из результатов исследования.

Апробация материалов диссертации

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Основные положения и результаты работы доложены на Международных молодежных научных конференциях «Ломоносов» (Москва, 2013, 2014, 2015), Международной научной конференции «COSPAR» (Москва, 2014), VIII Всероссийском с международным участием конгрессе «Симбиоз-Россия 2015» (Новосибирск, 2015), XI Международной научно-практической конференции «Пилотируемые полёты в космос» (Звёздный городок, 2015), III межвузовской научно-практической конференции «Молодёжь и медицинская наука» (Тверь, 2015), Международной конференции «Пилотируемое освоение космоса» (Москва, 2016), XIII Конгрессе Международной ассоциации морфологов (Петрозаводск, 2016).

2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1 Патологические реакции при гипогравитационном двигательном синдроме

Живой организм находится под воздействием притяжения Земли. Сила притяжения формирует функции скелетной мускулатуры, гравитационные рефлексy, координированную мышечную работу. При микрогравитации в организме наблюдаются различные изменения, определяемые перераспределением жидких сред организма и элиминации гидростатического давления, механическим изменением структур тела и гравитационно-зависимой деструкцией, а также снижением динамических и статических нагрузок на опорно-двигательный аппарат и изменением биомеханики движений, с формированием гипогравитационного двигательного синдрома [Григорьев и др., 2004]. Показано, что двигательный синдром, обусловленный невесомостью и условиями, моделирующими её эффекты, характеризуется изменениями во всех звеньях опорно-двигательной системы [Григорьев и др., 2004; Kozlovskaya et al., 1988; Reschke et al., 1988; Edgerton et al., 1996; Kornilova et al., 2003]. Моторный контроль и мышцы претерпевают ряд изменений, таких как сенсорная и моторная атаксия, спинальная гиперрефлексия, изменение стратегии управления движениями, повышение тонуса мышц-сгибателей, снижение скоростно-силовых свойств, атония, атрофия, изменение количества быстрых и медленных мышечных волокон [Шенкман и др., 2004, 2016; Vinogradova et al., 2002; Kozlovskaya et al., 2007].

Морфофункциональные характеристики скелетной мышцы, такие как мышечная масса, экспрессия мышечно-специфических белков и др., находятся под нейротрофическим контролем, который реализуется с помощью нейрогенных молекул (нейрегулинов, NRG) [Meyer et al., 1997], которые представляют собой группу факторов роста из семейства EGF. NRG опосредуют множество биологических эффектов, включая синтез и

встраивание холинорецепторов в скелетной мышце [Falls et al.,1993], стимуляцию роста шванновских клеток [Marchionni et al.,1993] и поддержание структур периферической нервной системы [Nave, Salzer, 2006; Mei, Xiong, 2008]. Перенос этих молекул осуществляется антероградным аксонным транспортом от нейронов к мышцам. В постсинаптической мышце показано присутствие нейротрофинов BDNF, NT4 и других нейротрофических факторов, которые оказывают ретроградное влияние на пресинаптический мотонейрон [Garcia et al., 2010]. Перенос нейротрофических факторов от мышцы к перикариону нейронов осуществляется в составе ретроградного аксонного транспорта. Нарушение молекулярных взаимодействий в системе «нейрон-мышца» можно рассматривать как одну из вероятных причин возникновения гипогравитационного двигательного синдрома.

Другим важным компонентом патогенеза мышечных расстройств, развивающихся при гипогравитации, может быть увеличение базальной концентрации Ca^{2+} в возбудимых структурах [Григорьев и др., 2004], приводящее к изменению экспрессии сократительных и регуляторных белков и лавинообразному ускорению протеолитических процессов, инициируемых, главным образом, Ca^{2+} -зависимыми протеазами (кальпаинами).

Развивающаяся гиподинамия в невесомости и в условиях, моделирующих её на Земле, наряду с изменением скелетных мышечных волокон, приводит к снижению пластичности нервно-мышечных синапсов. У животных, содержащихся в условиях ОРЗК, выявлены сдвиги спонтанной квантовой секреции медиатора из двигательных нервных окончаний, иннервирующих волокна разного типа [Никольский и др., 2005]. Патогенез гипогравитационного двигательного синдрома может включать в себя не только изменения сократительного аппарата мышцы, но и нарушение механизмов регуляции и саморегуляции экзоцитоза медиатора. Снижение активности холинацетилтрансферазы уменьшает синтез медиатора и приводит к развитию характерных для гипогравитационного двигательного

синдрома изменений со стороны скелетной мышцы. При этом внутриаксонный синтез белка и антероградный аксонный транспорт также могут влиять на характер активности в нервной терминали [Исламов и др., 2007]. На модели ОРЗК показано, что изменения в скелетных мышцах не связаны с гибелью нейронов или дегенерацией их отростков [Исламов и др., 2008]. При этом в мотонейронах наблюдается увеличение экспрессии белка теплового шока HSP25 и в меньшей мере HSP70, что можно рассматривать в качестве компенсаторной реакции, сдерживающей вступление этих клеток в апоптоз. В поясничном отделе спинного мозга мышей при ОРЗК в течение 30 суток выявлены достоверные изменения экспрессии 38 генов, причем у 37 их них экспрессия подавлялась и лишь у одного усиливалась [Исламов и др., 2011]. Происходило снижение экспрессии генов белков миелина, молекул цитоскелета, клеточной адгезии и внеклеточного матрикса.

Несмотря на большое количество публикаций, посвященных патогенезу гипогравитационного двигательного синдрома, представления о двигательных нарушениях в основном связаны с изменением морфофункциональных характеристик скелетных мышц. Можно полагать, что эти патологические сдвиги обусловлены изменением состояния нервной ткани, в особенности в спинном мозге. При ОРЗК установлены такие функциональные изменения в поясничном отделе спинного мозга, как повышение рефлекторной возбудимости мотонейронов, снижение уровней мРНК [Исламов и др., 2013б; Тяпкина и др., 2013], общего белка и другие, что указывает на вовлеченность мотонейронов в развитие симптомов гипогравитационного двигательного синдрома [Исламов и др., 2011; 2013а]. Изменения морфофункционального состояния мотонейронов, наблюдаемые при ОРЗК, дают основание предполагать, что их причиной могут быть сдвиги в характере взаимодействий между нейронами и глией. Поведение глиии при гипогравитации и её возможная роль в развитии гипогравитационного двигательного синдрома остается неясной.

2.2 Реакция глии при патологии спинного мозга

Патологические изменения нейронов и синапсов при травме спинного мозга, ишемии, нейропатической боли, нейродегенеративных заболеваниях, а также при гипогравитационном двигательном синдроме достаточно хорошо изучены. Однако большинство клеток в мозге представлено нейроглияльными клетками. Нейроглия является гетерогенной популяцией невозбудимых клеток эктодермального (астроглия, олигодендроглия и NG2-глия) и мезодермального/миелоидного (микроглия) происхождения и составляет около 40 % объёма ЦНС [Zuchero, Barres, 2015]. Количество глияльных клеток в мозге в 50 раз больше количества нейронов [Zuchero, Barres, 2015]. Глияльные клетки находятся в тесном взаимодействии с нейронами, и их общей функцией является поддержание гомеостаза в мозге, что оптимально сочетается с выполнением конкретных функций широкого спектра по ведению «домашнего хозяйства» в ЦНС.

Важность взаимодействия между нейронами и глией в нейрогенезе и в зрелом мозге очевидна. Выявлена ключевая роль глии в патогенезе травмы спинного мозга, ишемии, нейропатической боли и нейродегенеративных заболеваний [Hossain et al., 2017]. При этом глия реагирует неоднозначно и может участвовать как в защитных, так и в патологических реакциях. Представлено достаточно доказательств роли глии в поддержании гомеостаза и в защите мозга от повреждающих факторов.

Определение роли глии в условиях ОРЗК и космического полёта в спинном мозге представляется весьма актуальным вектором развития научного знания для разработки стратегий сдерживания и лечения гипогравитационного двигательного синдрома. При этом глияльная реакция может быть первичной и вторичной причиной патологических сдвигов в ЦНС.

2.2.1 Астроциты

Астроциты являются наиболее распространенными клетками в ЦНС (65% всех клеток). Цитоплазматическая мембрана астроцитов содержит

потенциалозависимые натриевые (Na^+)- и кальциевые (Ca^{2+})-каналы, плотность которых недостаточна для генерации потенциалов действия. Функции астроцитов разнообразны. Они участвуют в нейрогенезе, поддерживают гомеостаз в мозге, выполняют трофическую функцию, модулируют кровоток и синаптическую активность.

Таблица 1. Типы и маркеры астроцитов [<http://biofile.ru/bio/9966.html>]

Маркеры	Прото- плазматические	Фиброзные (волокнистые)	Радиальные
GFAP	-/+	++	+
Виментин	-	-/+	+
Нестин	-	-	+
GLT-1 (транспортёр глутамата 1)	++	-/+	-
GLAST (транспортёр глутамата и аспартата)	++	-/+	+
Глутамин- синтетаза	++	-/+	-
S100B	+	++	+
Kir4.1 (АТФ- зависимый калиевый канал)	++	+	-/+
Аквапорин 4	-/+	+	?
CD44 (интегральный клеточный гликопротеин 44)	-	+	?
CNP (2',3'- циклический нуклеотид 3'- фосфодиэстеразы)	-	-	-

Астроциты также представляют собой опорный и разграничительный компонент мозга. Нарушение любой из перечисленных функций может

свидетельствовать о патологии спинного и/или головного мозга. Астроцитарная глия разнообразно представлена в ЦНС, при этом у грызунов клетки различных типов экспрессируют различные белки (Таблица 1).

Астроциты рассматриваются как полифункциональные элементы, участвующие практически по всем аспектам деятельности мозга при развитии, нормальном функционировании и патологии. Полагают, что они оказывают нейропротекторное действие при нейродегенеративных заболеваниях, защищая нейроны от окислительного стресса [Li et al., 2008]. Астроциты активируются в ответ на травму мозга, инфекции, воспаление и ишемию [Barres, 2008; Sofroniew, 2010]. При этом формируются реактивные астроциты, которые обладают как положительным, так и отрицательным воздействием на микроокружение [Anderson et al., 2016]. В качестве доказательства данной гипотезы в работе Liddel S. et al. [2017] при ишемии головного мозга были обнаружены два разных типа реактивных астроцитов (A1 и A2). При этом астроциты типа A1 экспрессируют ряд белков, негативно влияющих на структуры синапсов в спинном мозге. Напротив, астроциты типа A2 экспрессируют нейротрофические факторы, стимулирующие нейрорегенерацию. Не исключено, что при гипогравитационном двигательном синдроме в популяции реактивных астроцитов также присутствуют эти два типа клеток.

Реактивные астроциты претерпевают ряд морфологических изменений и начинают экспрессировать разнообразные молекулы. Основными признаками активации астроцитов, независимо от её причины, являются увеличение размера клетки, повышение числа и удлинение отростков и, самое главное, усиление экспрессии глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) [Sofroniew, 2009]. Повреждённые астроциты могут критически повлиять на состояние нейронов [Jing et al., 2013].

GFAP является представителем семейства белков промежуточных филаментов, наряду с виментином, нестином и др., которые участвуют в организации цитоскелета [Pekny, Pekna, 2004]. Однако GFAP присутствует не

во всей цитоплазме астроцитов. Данный белок полностью отсутствует в тонких периферических отростках астроцитов новой коры и гиппокампа, в том числе и тех, которые вступают в контакт с синапсами. Поэтому в иммуноцитохимических исследованиях, связанных с выявлением этого белка, степень разветвлённости астроцитов легко недооценить.

Другим маркером астроцитов, хотя и не строго специфичным, является белок S100B [Goncalves et al., 2008]. S100B экспрессируется с различной интенсивностью во многих нейральных клетках нервной ткани, таких как астроциты, дифференцированные олигодендроциты, предшественники нервных клеток, питуициты, эпендимоциты и др. [Donato et al., 2009]. В популяции нейронов ЦНС S100B обнаруживается исключительно в мотонейронах [Süssmuth et al., 2010].

В ЦНС белок S100 представлен димером (S100B), включающим две S100B-субъединицы. S100B экспрессируется и секретируется в основном астроцитами и клетками микроглии [Kabadı et al., 2014], он участвует в молекулярном каскаде трансдукции сигнала, в регуляции энергетического метаболизма клеток ЦНС, модулирует пролиферацию и дифференцировку нервных клеток, вовлечен в ряд иммунологических функций в ЦНС. S100B, взаимодействуя с другими белками, влияет на их активность, принимает участие в регуляции Ca^{2+} -гомеостаза, фосфорилирования белков, транскрипции, сборки микротрубочек и промежуточных филаментов., Выделяясь из астроцитов в межклеточное пространство, S100B способен влиять на свои клетки-продуценты аутокринным способом и оказывать паракринное влияние на соседние нейроны [Kligman, 1985; Van Eldik, 1987; Winningham-Major, 1989]. Эффекты S100B на клетки-мишени зависят от его концентрации. В наномолярных концентрациях он является нейротрофическим фактором, стимулируя рост аксонов [Kligman, 1985; Van Eldik, 1987; Winningham-Major, 1989] и оказывая нейропротекторное действие [Van Eldik, 1987; Barger, Van Eldik, 1995]. В микромолярных концентрациях S100B вызывает гибель астроцитов и нейронов путём

усиления экспрессии индуцибельной синтазы оксида азота (iNOs) и продукции оксида азота [Hu, 1996]. Эти эффекты позволяют рассматривать S100B как цитокин, действующий в ЦНС, в том числе в ходе коммуникационных взаимодействий между астроцитами и микроглией [Mariggio, 1996]. S100B усиливает в мозге воспалительный ответ, оказывая прямое влияние на макрофаги/микроглию. Исследования *in vitro* на линии клеток BV-2 микроглии мыши показали, что избыточная экспрессия белка S100B может привести к повышению уровня провоспалительных молекул TNF α , IL-1 β , циклооксигеназы 2 (COX-2) и оксида азота и последующему усилению воспалительного ответа [Bianchi et al., 2007, 2010]. На нокаутных по гену *S100B* мышах показано снижение экспрессии генов провоспалительных белков CCL22 и IL-1 [Niven et al., 2015].

Черепно-мозговая травма приводит к увеличению уровня S100B в крови и ликворе [Anderson et al., 2001]. Повышенный уровень этой молекулы наблюдаются также у пациентов с болезнью Альцгеймера [Cirillo et al., 2015; Ceschi et al., 2016], синдромом Дауна [Chen et al., 2014; Bajor et al., 2016] и рассеянным склерозом [Barateiro et al., 2016]. Белок S100B способен препятствовать развитию негативных проявлений окислительного стресса и последующих повреждений клеток, вызванных прооксидантными молекулами. Это действие S100B проявляется при боковом амиотрофическом склерозе и отмечено в отношении мотонейронов. Однако повышенный уровень экспрессии S100B может усиливать дегенерацию астроцитов [Migheli et al., 1999]. Высокая концентрация S100B приводит к мощной активации iNOs и, как следствие, к гибели нервных клеток [Hu, 1997].

Астроциты специфическим образом реагируют на действие повреждающих факторов [Pekny et al., 2014; Wagner et al., 2013]. На сегодняшний день выявлены два основных варианта изменений со стороны астроцитов. Первый представляет собой астроглиоз и проявляется рядом скоординированных биосинтетических процессов, включающих изменения в

экспрессии генов, которые приводят к появлению реактивного фенотипа астроцитов. Второй вариант, наоборот, связан с гибелью астроцитов или изменением их существенных функций. Увеличиваются размеры перикариона и длина отростков астроцитов [Wilhelmsson et al., 2006], активируется синтез ряда белков, таких как белки S100B [do Carmo Cunha et al., 2007], GFAP, виментин и нестин [Sakakibara et al., 2002; Sofroniew, 2005]. При этом как ингибирование, так и индуцирование астроглиоза снижает жизнеспособность нейронов, регенераторный потенциал нервной ткани и подавляет нейрогенез [Pekny et al., 2014; Ekdahl et al., 2009; Yu et al., 2012].

Наиболее подробно астроглиоз изучен при ишемии головного мозга [Ouyang et al., 2014; Gulyaeva, 2015] и на различных моделях травмы спинного мозга [Karimi-Abdolrezaee et al., 2012; Chen et al., 2015; Brennan et al., 2015]. Реактивные астроциты формируются в коре головного мозга после инсульта в течение 3-5 дней [Susarla et al., 2014]. Эти изменения дезорганизуют структуру ткани с образованием узких и компактных барьеров или с формированием густого сплетения глиальных волокон и гипертрофированных астроцитов, так называемого глиального рубца [Sofroniew, Vinters, 2010; Shimada et al., 2011]. Глиальный рубец является наиболее характерным показателем реактивного астроглиоза. Формирование глиального рубца сопровождается выраженной гипертрофией перикариона астроцитов, и их отростков, взаимодействующих с другими типами глиальных клеток, повышенной экспрессией генов GFAP и других белков промежуточных филаментов, а также многочисленных молекул ингибиторов роста и регенерации аксонов [Sofroniew, Vinters, 2010]. Кроме того, формирование глиального рубца усиливает нейротоксичность, воспаление или хроническую боль за счёт повышения продукции провоспалительных молекул, таких как интерлейкины (IL-1, IL-1 β , IL-6, IL-10), интерферон- γ (IFN- γ), трансформирующий фактор роста бета (TGF β) [Suzumura et al., 2006], а также реактивных форм кислорода, включая оксид азота и другие биоактивные молекулы [Sofroniew, 2014].

В условиях патологии, например, при инсульте в подостром периоде, астроциты синтезируют ряд нейротрофических факторов, таких как эритропоэтин, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и глиальный нейротрофический фактор (GDNF), которые сдерживают ишемическое повреждение нейронов и улучшают восстановление функции [Kitagawa et al., 1999; Zhang et al., 2000; Hermann et al., 2001; Harvey et al., 2003; Jelkmann, Wagner, 2004; Chavez et al., 2006].

Изменения функции астроцитов, состояние их цитоскелета, подвижность отростков, пролиферативную активность предшественников сопровождают сдвиги в активности внутриклеточных сигнальных путей, ключевым из которых представляется каскад Rho/ROCK [Le Clair, Carlier, 2008; Mattila, Lappalainen, 2008; Lau et al., 2011; Sheehan et al., 2013; O'Shea et al., 2015]. Он играет существенную роль в молекулярном механизме развития реактивного астроглиоза при двигательных расстройствах и может быть важен при гипогравитационном двигательном синдроме. Многочисленными исследованиями показано активирование сигнального пути Rho/ROCK при повреждении мозга. Так, при ишемическом инсульте в нейронах и астроцитах увеличивается экспрессия малой ГТФазы Rho и Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK) [Brabeck et al., 2003; Yano et al., 2008]. Реактивный астроглиоз и формирование глиального рубца сопровождаются активацией этого сигнального пути в астроцитах, что приводит к перестройке актинового цитоскелета и объясняет изменение формы астроцитов в этих условиях, которая обратима и восстанавливается при ингибировании ROCK [Murk et al., 2013]. Селективный ингибитор ROCK фасудил препятствует эффекту угнетения роста аксонов со стороны хондроитинсульфат протеогликанов (CSPG), выделяемых реактивными астроцитами, стимулирует продукцию астроцитами BDNF и колониестимулирующего фактора (G-CSF), а также экспрессию в них глутаматного транспортера 1 (GLT-1/EAAT) [Ding et al., 2009; O'Shea et al., 2015]. На модели гипоксии *in vitro* показано, что фасудил снижает

экспрессию GFAP и, следовательно, проявления астроглиоза за счёт ингибирования ядерного фактора каппа В (NF-κB) [Kesharwani et al., 2014].

Молекулярной мишенью ROCK служит онкосупрессор фосфатаза и гомолог тензина (PTEN), впервые идентифицированный в качестве негативного регулятора сигнального каскада фосфатидилинозитол-3 киназы (PI3K), контролирующего рост, метаболизм и выживание клеток. PTEN является фосфатазой липидов и белков, т.е. обладает двойной субстратной специфичностью. PTEN переводит фосфатидилинозитол 3,4,5-трифосфат в фосфатидилинозитол (4,5)-бифосфат. Угнетение функции PTEN приводит к активации Akt (протеинкиназы B) и её эффекторов, что коррелирует с онкогенезом и многочисленными мозговыми расстройствами, такими как макроцефалия, судороги, болезнь Лермитте-Дуклоса (диспластическая ганглиоцитома мозжечка) и аутизм [Pun et al., 2012; Marchese et al., 2014; Hobert et al., 2014]. На модели хронической травмы периферического нерва гиперэкспрессия гена PTEN в результате его доставки в спинной мозг при помощи аденовирусного вектора (Ad-PTEN) значительно ослабляет активацию микроглии и астроцитов и предотвращает нейропатическую боль [Huang et al., 2015].

Инактивация PTEN у мышей с использованием технологии Cre-lox сопровождается прогрессивным увеличением объема мозга и размера периакариона нейронов и астроцитов [Fraser et al., 2004]. При этом PTEN-дефицитные астроциты проявляют более высокую пролиферативную активность *in vitro* и aberrантную пролиферацию в мозге взрослых животных *in vivo*. Показано участие PTEN в разбалансировке механизмов синаптической пластичности и формирования памяти под действием бета-амилоида при болезни Альцгеймера [Knafo et al., 2016].

Несмотря на то, что роль реактивных астроцитов традиционно рассматривается как проявление патологического процесса, во многих современных работах показано, что реактивный астроглиоз способствует сохранности ткани при повреждении мозга [Pekny et al., 2014; Lukovic et al.,

2015]. При этом влияние реактивных астроцитов на течение патологического процесса зависит от его стадии. Например, при нейротравме у GFAP⁺/виментин⁺-мышей выявлено уменьшение количества синапсов во время острой фазы травмы, а в подострый период, наоборот, их количество увеличивается [Wilhelmsson et al., 2004]. При инсульте у GFAP⁺/виментин⁺-мышей объём патологического очага возрастает, что указывает на защитную роль астроцитов в этих условиях [Li et al., 2008]. Удаление пролиферирующих реактивных астроцитов ухудшает регенерацию при травме спинного [Faulkner et al., 2004] и головного мозга [Myer et al., 2006].

Второй вариант развития патологии при участии астроцитов связан с утратой или изменением их существенных функций [Burda et al., 2016]. Атрофия, или функциональная астения, астроцитов были описаны для многих неврологических заболеваний [Guillamon-Vivancos et al., 2015] и при токсическом повреждении ЦНС, например, при гипераммониемии или энцефалопатии Вернике [Hazell, 2009]. Дегенеративные изменения астроцитов лежат в основе развития нейродегенерации, включая боковой амиотрофический склероз [Sica, 2013], болезнь Альцгеймера [Birch, 2014], болезнь Паркинсона [Niranjan, 2014] и болезни белого вещества [Miyamoto et al., 2015]. При функциональной астении астроциты оказывают угнетающее влияние на синаптическую передачу и гомеостаз нейромедиатора. Атрофия астроцитов приводит к нарушению нервно-сосудистых связей и ослаблению метаболической поддержки нейронов.

Анализ механизмов повреждения мотонейронов, выполненный на различных моделях бокового амиотрофического склероза, показал ключевую роль астроглии в этом процессе [Philips et al., 2014]. При этом гибель астроцитов и их атрофия, связанная с потерей функции, предшествуют апоптозу нейронов, и эти изменения выявляются до проявления клинических признаков [Ferri et al., 2004; Sica, 2012]. При болезни Альцгеймера важной частью раннего патогенеза заболевания является нарушение астроцитами синтеза транспортера глутамата GLT-1/EAAT2 в различных отделах

головного мозга [Meeker et al., 2015]. На более поздних стадиях развития болезни выявляется реактивный астроглиоз и активация микроглии.

Роль астроцитов в патогенезе болезни Паркинсона остается неясной. У больных и на экспериментальных моделях болезни Паркинсона показано, что функция астроцитов связана как с нейротоксическим, так и с нейропротекторным действием. Так, активация циторотекторного транскрипционного фактора Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) в астроцитах защищает мышей от МРТР-вызванного паркинсонизма, активируя антиоксидантный ответ.

При мутации гена хантингтина htt (4p16-3) развивается нейродегенеративное заболевание хорей Хантингтона, характеризующееся прогрессирующей гибелью ГАМКергических нейронов в базальных ганглиях, особенно в хвостатом ядре и скорлупе. Однако экспрессия мутагенного гена (mhtt) в одних только нейронах не может объяснить ключевые проявления болезни. Предполагается, что экспрессия mhtt является причиной изменения функции также и астроцитов. На модели хорей Хантингтона R6/2 HD мыши с наличием 144 повторов кодона CAG выявлено дефектное снижение mRNA GLT-1/EAAT2 транспортера глутамата. Данное генетическое нарушение рассматривается в качестве причины увеличения уровня внеклеточного глутамата и эксайтотоксичности [Garbuzova-Davis et al., 2009; Douville et al., 2011].

При невесомости и в условиях, моделирующих её на Земле, структурно-функциональные изменения в скелетной мышце могут быть результатом нарушения функции и пластичности синапсов. для стабильного функционирования которых является важным присутствие астроцитов [Hulsebosch et al., 2009; Clarke, Barres, 2013]. В так называемых трёхкомпонентных синапсах (tripartite synapse) астроциты вырабатывают молекулы внеклеточного матрикса, такие как хондроитинсульфат протеогликан, гепарансульфат протеогликан и тенасцин-С. Эти молекулы формируют поверхностный компартмент, который ограничивает

латеральную диффузию в синаптических мембранах и встраивание в них глутаматных рецепторов [Frischknecht et al., 2009; Dityatev et al., 2010; Mironova, Giger, 2013]. Находясь в составе трёхкомпонентного синапса, астроциты модулируют функции синаптических входов в мотонейроны и их электрогенез. В рамках концепции о трёхкомпонентном синапсе хондроитинсульфат протеогликанов семейства лектиканов (аггрекан, бревикан, нейрокан и версикан), содержащие в своем составе уникальный лектиновый домен, являются облигатным компонентом микроокружения синапсов. Они образуют связи с гиалуроновой кислотой и тенасцином [Howell et al., 2012]. Бревикан был впервые описан как один из белков, связанных с синапсом [Seidenbecher et al., 1995]. Предполагается, что лектиканы обеспечивают стабильность синапсов, сдерживают их структурную и функциональную пластичность, ингибируют рост дендритных шипиков и реверсирование постсинаптических потенциалов. Нарушение связи между центральным белком и гликозаминогликаном (хондроитинсульфатом) в молекуле лектикана и удаление цепочек гликозаминогликанов при помощи хондроитиназы ABC поддерживают пластичность синапсов, наблюдаемую при зрительной доминантности [Pizzorusso et al., 2002; de Vivo et al., 2013], формировании памяти переживания страха [Gogolla et al., 2009] и обучении [Senkov et al., 2014]. На модели болезни Альцгеймера получены данные в пользу гипотезы о супрессивном действии лектиканов, и в первую очередь бревикана, на синаптическую пластичность в гиппокампе [Howell et al., 2012]. Однако остается неясным, какие именно молекулы внеклеточного матрикса, продуцируемые астроцитами, имеют наибольшее значение для репаративного синаптогенеза в ходе дегенеративных процессов в спинном мозге. Между тем, данные о молекулярной организации перинейрональной сети (perineuronal net) и внеклеточного матрикса (поверхностный компартмент) в синаптическом контакте могут служить основой для установления терапевтических мишеней для стимулирования восстановления синаптических связей и стабилизации структуры синапса в ходе

репаративного синаптогенеза при неврологических расстройствах, в том числе, и при гипогравитационном двигательном синдроме.

Таким образом, астроциты представляют собой важнейший клеточный компонент в ЦНС. Астроциты оказывают нейропротекторное влияние на нейроны (путем выделения аденозина, расщепления бета-амилоидных белков), обеспечивают нейроны энергетическими метаболитами, осуществляют антиоксидантную защиту, модулируют электрическую активность. Помимо этого, астроциты выделяют ряд молекул, и среди них фактор роста нервов (NGF), которые поддерживают дифференцировку нейронов, формирование синапсов и рост аксонов. Ключевыми белками в осуществлении функции этих клеток по поддержанию гомеостаза являются переносчик глутамата 1 (GLT1), переносчик глюкозы 1 (GLUT1), белок водного канала аквапорин 4 и другие. Связь астроцитов при взаимодействии с нейронами настолько велика, что нарушение хотя бы одной из указанных функций может стать причиной патологических сдвигов в системе «нейрон-астроцит». Вероятно, такие сдвиги могут проявляться и при гипогравитационном двигательном синдроме.

2.2.2 Миелинобразующие клетки

Олигодендроциты представляют собой мелкие клетки с немногочисленными отростками и присутствуют как в сером, так и белом веществе спинного мозга. В сером веществе олигодендроциты находятся в непосредственном контакте с перикарионами и отростками нейронов [Espinosa de los Monteros et al., 1993; Miller, 1996; Blakemore, Keirstead, 1999]. Олигодендроциты являются уникальными представителями миелинобразующих клеток в ЦНС. Клетки-предшественники олигодендроцитов образуются в нейроэпителии вентральной части нервной трубки в раннем эмбриональном периоде [Pringle, 1998], а в заднем и спинном мозге в конце эмбрионального развития [Fu et al., 2002; Cai et al., 2005]. Эти клетки мигрируют в формируемое белое вещество [Noble et al.,

1990], дифференцируются в зрелые олигодендроциты и экспрессируют многочисленные белки миелина. При этом один олигодендроглиоцит может участвовать в миелинизации нескольких аксонов.

Можно констатировать одновременное присутствие трёх различных популяций предшественников олигодендроцитов [Jakovcevski, Zecovic, 2005; Rakic, Zecovic, 2003]. Первая популяция состоит из кортикальных предшественников, которые экспрессируют *Dlx2* и *Nkx2.1* [Rakic, Zecovic, 2003], типичные транскрипционные факторы в вентральной части нервной трубки у грызунов [Jakovcevski et al., 2009]. Вторая популяция представлена клетками, которые не экспрессируют *Dlx2* и *Nkx2.1* и, скорее всего, являются предшественниками для олигодендроцитов в дорсальной части нервной трубки [Rakic, Zecovic, 2003]. Клетки третьей популяция экспрессируют типичные для миелинообразующих клеток маркеры, такие как *PDGFR α* , *NG2* и *Olig1*, и их предшественники мигрируют между ганглиозными бугорками и субвентрикулярной зоной [Rakic, Zecovic, 2003]. Остаётся неясным, выполняют ли олигодендроциты из этих разных источников разные потенциальные функции в процессе миелинизации в конкретных трактах аксонов, а также неясна степень их участия в патогенезе различных заболеваний ЦНС.

Миелинизация в ЦНС контролируется транскрипционными факторами, основными из которых являются белки *Olig1* и *Olig2* [Mei et al, 2013]. Basic helix-loop-helix (bHLH) транскрипционный фактор *Olig2* играет ключевую роль в каскадах регуляции транскрипции в ходе генеза мотонейронов и олигодендроцитов в пределах вентральной части спинного мозга. У взрослых мышей *Olig2* может поддерживать состояние миелиновой оболочки в спинном мозге. В пользу этого предположения свидетельствуют данные, полученные на модели ремиелинизации у мышей, согласно которым *Olig2* в неделящихся предшественниках олигодендроцитов образует комплекс с транскрипционным фактором *Wnt10b* [Fu et al., 2002]. *Olig2*, как и другие helix-loop-helix транскрипционные факторы, такие как *MyoD* и

NeuroD2, не имея домена трансдукции белка (protein transduction domain, PTD), тем не менее, обладает способностью проникать через клеточные мембраны [Mie et al., 2012].

Белок OSP экспрессируется, главным образом, в олигодендроцитах и является одним из наиболее распространенных белков миелина (7%) в ЦНС. OSP принадлежит семейству клаудинов, которые представляют из себя интегральными мембранными белками, которые образуют плотные контакты. В ЦНС OSP принимает участие в образовании миелина и контролирует пролиферацию и миграцию олигодендроцитов. Также установлено, что OSP участвует в обеспечении проведения возбуждения по нервному волокну преимущественно в миелинизированных аксонах малого диаметра [Devaux, Gow, 2008].

Другой транскрипционный фактор, Krox24, относится к белкам раннего ответа, регулирует клеточный цикл и дифференцировку миелинообразующих клеток и индуцируется влияниями со стороны нейронов [Bisler et al., 2002]. Присутствие Krox24, типичного маркера ПНС, показано в головном и спинном мозге грызунов.

Белок P0 (myelin protein zero, MPZ) специфически экспрессируется в шванновских клетках и принимает участие в формировании и поддержании компактной структуры миелина благодаря уплотнению прилегающих компонентов на внеклеточной поверхности плазматической мембраны. Мутации гена этого белка у человека приводят к различным периферическим нейропатиям. Нокаутные по этому белку, мыши являются экспериментальными моделями болезней Дежерина-Сотта (MPZ -/-) и Шарко-Мари-Тута (MPZ +/-) [Sidoli et al., 2016]. Присутствие белка P0 в ЦНС ранее показано не было. Впоследствии было установлено, что белок P0 взаимодействует с белком периферического миелина PMP22, обнаруженным методом гибридизации *in situ* в олигодендроцитах, и подтверждено его участие в ряде патологических реакций в ЦНС человека [Ohsawa et al., 2006]. При этом морфологическим проявлением дефекта белка P0 на ранних

стадиях является деструкция миелина, что впоследствии приводит к дегенерации аксонов и инвалидизации пациентов [Li et al., 2006].

Многие факторы, вызывающие нейродегенерацию, могут инициировать апоптоз миелинообразующих клеток. Демиелинизация, как следствие гибели этих клеток, приводит к нарушению проведения импульсов по нервным волокнам. Нарушение двигательной функции, в том числе и при гипогравитационном двигательном синдроме, может быть следствием развивающейся демиелинизации. Уязвимость миелинообразующих клеток при патологии ЦНС связывают с чрезвычайно высокой интенсивностью метаболизма в процессе синтеза белков миелина, что сопровождается образованием перекиси водорода и других реактивных форм кислорода [McTigue et al., 2008]. Кроме того, миелинообразующие клетки содержат антиоксидант глутатион в низких концентрациях [Thorburne, Juurlink, 1996]. Вместе с тем, в процессе миелинизации в клетках избыточно накапливается железо, необходимое в качестве кофактора в реакциях синтеза белков миелина [Cheepsunthorn et al., 1998]. В неблагоприятных условиях эти особенности метаболизма олигодендроцитов могут вызывать образование свободных радикалов и перекисное окисление липидов [Braugher et al., 1986; Stevens et al., 2002]. Следовательно, окислительный стресс является определяющим фактором вступления в апоптоз миелинообразующих клеток при многих патологических состояниях, таких как травма спинного мозга, ишемия и нейродегенеративные заболевания.

Другая причина гибели миелинообразующих клеток связана с действием провоспалительных цитокинов. Так, фактор некроза опухоли α (TNF α) может индуцировать апоптоз олигодендроцитов путём связывания с рецептором TNFp55 [Jurewicz et al., 2005]. Интерферон-гамма (IFN γ) является негативным фактором для пролиферирующих предшественников и недифференцированных олигодендроцитов [Horiuchi et al., 2006]. Распространено представление о том, что воспалительный ответ оказывает неспецифическое повреждающее влияние на олигодендроциты, действуя

опосредованно через нейроны и астроциты. Олигодендроциты и их миелиновые оболочки в целом более восприимчивы к повреждению, чем другие типы клеток в нервной системе. Демиелинизация и гибель олигодендроцитов являются общим признаком воспалительных поражений белого вещества как у человека, так и в экспериментальных моделях. Особенно наглядным примером является оптикомиелит (болезнь Девика), который первоначально было классифицирован как воспалительное демиелинизирующее заболевание из-за наличия широко распространенной первичной демиелинизации в спинном мозге и зрительных нервах [Lucchinetti et al., 2002]. Однако результаты исследований указывают на то, что первичными мишенями патогенной иммунной реакции при болезни Девика являются не олигодендроциты, а астроциты [Lennon et al., 2004, 2005], которые первыми вступают в апоптоз, и только за этим следует демиелинизация и гибель олигодендроцитов и нейронов [Misu et al., 2007; 2008; Roemer et al., 2007]. Наступает ли повреждение олигодендроцитов в результате воспаления или является следствием нарушения гомеостатического взаимодействия между астроцитами и олигодендроцитами, остаётся неясным.

Для поддержания структуры и функции макроглии отмечена важная роль межклеточных контактов между астроцитами и олигодендроцитами. Так, увеличение количества этих контактов повышает пролиферативную активность предшественников олигодендроцитов, особенно при участии белков щелевых контактов коннексинов Cx47 и Cx43 [Liu et al., 2017]. Астроциты стимулируют пролиферацию олигодендроцитов за счёт экспрессии рецепторов пролиферации (SlpR3) и последующего переноса молекулы в клетки-предшественники олигодендроцитов через щелевой контакт, образованный Cx47 [Xu et al., 2017]. Астроциты также экспрессируют промиелинизирующие факторы, которые способствуют образованию миелина [Ishibashi et al., 2006; Schulz et al., 2012].

Ответ со стороны NG2-глии при патологии спинного мозга можно рассматривать также как реакцию миелинобразующих клеток. В ЦНС млекопитающих глиальные клетки, экспрессирующие NG2-протеогликан, появляются на ранних стадиях эмбриогенеза и позднее накапливаются во всех отделах мозга [Челышев, Шаймарданова, 2012]. Они отличаются по фенотипическим признакам от зрелых олигодендроцитов, астроцитов или микроглии и даже рассматриваются как четвёртый тип глиальных клеток [Nishiyama et al., 2002; 2009]. Проследить судьбу NG2-клеток достаточно трудно. В ходе дифференцировки NG2-клеток изменяются их иммуноцитохимические и электрофизиологические характеристики в ответ на действие ГАМК и глутамата [Lytle et al., 2009; Trotter et al., 2010]. Ряд исследований *in vitro* показал, что в популяции NG2-клеток присутствуют клетки, которые дают начало и олигодендроцитам, и астроцитам [Rao, 1997]. NG2-клетки в зрелом мозге представляют собой гетерогенную популяцию [Nishiyama et al., 2002; Stallcup et al., 2008]. Наряду с NG2-позитивными малодифференцированными предшественниками олигодендроцитов, в мозге присутствуют NG2-позитивные более дифференцированные синантоциты. При этом 90% этих клеток экспрессирует маркер зрелых олигодендроцитов Olig2.

В сером веществе NG2-клетки формируют многочисленные контакты с нейронами, отростки которых образуют функционирующие синапсы с NG2-клетками. Аксоны формируют соединения в дискретных точках по ходу NG2-клеток, что свидетельствует о том, что они служат мишенями для проекции аксонов [Trapp, 1997]. NG2-клетки формируют множественные связи не только с нейронами, но и с астроцитами, олигодендроцитами и их миелином, а также быстро отвечают на повреждение в ЦНС формированием отростков и пролиферацией [Yoo, 2007]. На различных моделях повреждения мозга показано, что NG2-клетки в прилегающих зонах к области повреждения не только пролиферируют, но и гипертрофируются. Активированные NG2-клетки участвуют в образовании глиального рубца

вместе с астроцитами. Многократное увеличение экспрессии NG2 наблюдается в области повреждения головного мозга [Asher et al., 2005], при болезни Альцгеймера [Nielsen et al., 2013] и в спинном мозге мышей при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите [Moransard et al., 2011]. Эти исследования указывают на роль NG2-клеток в реакции на повреждение и воспалительные процессы в ЦНС. При рассеянном склерозе наблюдается увеличение количества NG2-клеток и изменение их структуры, что прямо коррелирует со степенью тяжести заболевания [Reynolds et al., 2002; Wilson et al., 2006].

Таким образом, в спинном и головном мозге существуют несколько различных популяций клеток, имеющих отношение к процессу миелинизации в ЦНС. Миелообразующие клетки обеспечивают метаболическую поддержку аксонов и влияют на проведение импульсов. Дефекты миелинизации и снижение количества миелообразующих клеток наблюдаются при физиологическом старении и играют роль в патогенезе многих неврологических и психических расстройств. В то же время вопрос о роли миелообразующих клеток при гипогравитационном двигательном синдроме остается практически неизученным.

2.2.3 Микроглия

Клетки микроглии являются резидентными клетками иммунной системы ЦНС [Ransohoff, Perry, 2009; Ginhoux et al., 2010; Aguzzi et al., 2013], где они составляет около 10% всех клеток и равномерно распределены [Ransohoff, Perry, 2009]. Клетки микроглии происходят из эритромиелоидных предшественников желточного мешка, которые заселяют мозг на очень ранних этапах эмбриогенеза и после формирования гемато-энцефалического барьера поддерживают свою популяцию за счёт пролиферации [Ginhoux et al., 2010; Kierdorf et al., 2013]. Есть основание предполагать, что часть клеток микроглии происходит из примитивных макрофагов, которые присутствуют в желточном мешке ещё до появления эритромиелоидных предшественников

[Schulz et al., 2012]. Микроглиальные клетки, будучи самой ранней разновидностью глии в нейроонтогенезе, вовлечены в эмбриональный синаптогенез. В эмбриогенезе микроглия участвует в элиминировании переизбытка нейронов, гибнущих в результате активации в них апоптоза [Magnus, et al., 2001].

Клетки микроглии являются иммунными клетками ЦНС и, следовательно, играют важную роль при патологии спинного и головного мозга. Недавние исследования *in vivo* показали, что в покое здоровом мозге микроглия является наиболее динамичной разновидностью глии, мгновенно реагируя на действия патологических факторов. Активация микроглии, подобная астроглиальной реакции, является многоступенчатым прогрессирующим процессом, который приводит к многократному увеличению популяции микроглиоцитов [Raivich et al., 1999]. В ходе активации в микроглиальных клетках изменяется экспрессия ряда ферментов и рецепторов, возрастает пролиферативный потенциал и миграционная активность. Превращаясь в типичные фагоциты, микроглия выделяет специфические протеазы и цитокины, например, провоспалительный цитокин интерлейкин-1 (IL-1), который может вызывать демиелинизацию аксонов и повреждать нейроны, опосредуя эксайтотоксичность глутамата в результате его избыточного накопления в межклеточном пространстве. Таким образом, гиперактивация микроглии приводит к патологическим последствиям и, в частности, к гибели нейронов, что является фатальным звеном патогенеза нейродегенеративных заболеваний [Ribes et al., 2009].

Реактивная микроглия может быть разделена на две популяции: «классическая» (M1) и «альтернативная» (M2) [Saijo, Glass, 2011; Mantovani et al., 2013]. Микроглия M1, относящаяся к провоспалительному типу, дифференцируется *ex vivo* при стимуляции предшественников интерфероном- γ при участии транскрипционного фактора STAT1 [Peter et al., 2015]. Этот тип микроглии участвует в воспалительном ответе ЦНС и характеризуется экспрессией интерлейкинов IL-1, IL-6, IL-12, IL-23 и

индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS). Микроглия типа M2 (антивоспалительный тип) дифференцируются *ex vivo* при стимуляции интерлейкином IL-4 при участии транскрипционного фактора STAT6. Основная функция данного типа клеток связана с повышенной экспрессией IL-10 и аргиназы [Qin et al., 2013], стимулирующих регенерацию ткани после повреждения [Mantovani et al., 2013]. Однако микроглия типа M1 также может выполнять защитную функцию при патологии ЦНС. Повышенная экспрессия IL-4, IL-10 и IL-13 микроглией типа M1 индуцирует её переход в сторону типа M2 [Goldmann, Prinz, 2013]. Соотношение между этими двумя типами реактивной микроглии отражает выраженность проявлений патологических изменений при травме спинного мозга, ишемии, нейродегенеративных и других заболеваниях ЦНС.

Одним из надёжных маркеров микроглиальных клеток является кальций-связывающий белок Iba1. Его присутствие обнаруживается только в микроглиях, макрофагах мозговых оболочек, супраэпендимных макрофагах, поверхностных и стромальных клетках сосудистого сплетения, т.е., в клетках, обладающих фагоцитарной функцией [Кирик и др., 2010]. Исследования показывают, что Iba1 взаимодействует с F-актином, как сигнальная молекула в процессе формирования актиновых компонентов цитоскелета. Сверхэкспрессия Iba1 в реактивной микроглии наблюдается при аксотомии нерва, ишемии, а также при ряде заболеваний головного мозга [Ito et al., 2001].

Другой маркер микроглии — белок HoxB8. 40% от общей численности клеток микроглии экспрессируют ген гомеобокса HoxB8 и происходят из костного мозга [Schlegelmilch, Henke et al., 2011]. HoxB8-зависимая секреция цитокинов способна модулировать активность нейронов и/или синаптическую передачу [Chen et al., 2010]. Помимо названных маркеров микроглии (Iba1 и HoxB8) существует ряд других белков, таких как CD11b, CD68 и HLA-DR, экспрессирующихся в нормальных и патологических условиях.

Поведение микроглии в ЦНС — сложная и малоизученная проблема. С появлением новых методов визуализации и создания новых модельных систем, которые позволяют исследовать микроглию *in vivo*, становится ясно, что микроглия обладает выраженной динамикой и в интактном мозге. Реакции микроглиальных клеток в условиях невесомости не изучены совсем.

Таким образом, установление феномена и механизмов участия глии в патологических реакциях ЦНС является актуальным для разработки терапевтических стратегий. Однако до сих пор доминирует представление о том, что действие патогенов являются вторичными и лишь усиливают выраженность неврологических расстройств. Данное упрощённое представление далеко от понимания истинного участия глии в патологических ответах, которые являются сложными и многоуровневыми. Это в полной мере приложимо к вопросу об участии глии в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома, который остается неизученным.

2.3 Нейральные клетки при стрессе

Причиной сдвигов в фенотипических характеристиках и численности популяции глиальных клеток при ОРЗК, осуществляемой в течение 30-суточного эксперимента, может быть не моделируемая невесомость, а стресс, вызываемый экспериментальным воздействием, что ставит под сомнение адекватность модели ОРЗК для выявления роли глии в развитии гипогравитационного двигательного синдрома. Исследованиями последнего времени показано, что хронический стресс может активировать астроциты [Araya-Callis et al., 2012] и микроглию [Hinwood et al., 2012; Walker et al., 2013; Beardsley, Hauser, 2014]. Стресс сопровождается значительной структурной перестройкой микроглии и усилением высвобождения из её клеток провоспалительных цитокинов [Walker et al., 2013; Salter, Beggs, 2014; Puga et al., 2015].

Повреждающее влияние стресса наиболее детально охарактеризовано для нейронов головного мозга. На модели контролируемой локальной эксайтотоксичности мотонейронов спинного мозга крысы установлено, что стресс усугубляет патологические проявления, включая чрезмерную активацию нейронов с последующим апоптозом этих клеток [Puga et al., 2015]. При этом под влиянием стресса гипертрофия и гиперплазия астроцитов и NG2-клеток не изменялись совсем или умеренно снижались. Хронический стресс у самцов древесной землеройки вызывает уменьшение в гиппокампе количества иммуноцитохимически выявляемых астроцитов [Czeh et al., 2006]. Иммобилизационный стресс у крысы сопровождается увеличением экспрессии GLT-1 [Reagan et al., 2004].

В соответствии с существующей парадигмой, для антистрессорной терапии применяют селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, селективные блокаторы NMDA-рецепторов, содержащих глутамат-связывающую субъединицу 2 (GluN2B), и агонисты ГАМК-А-рецепторов. Возможные эффекты агонистов указанных рецепторов на глиальные клетки практически только начинают изучаться. Астроциты экспрессируют рецепторы серотонина 5-HT_{5B} [Hertz et al., 2012; Peng et al., 2014]. Селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин поддерживает способность астроцитов продуцировать мозговой нейротрофический фактор (BDNF) [Castren, Rantamaki, 2008], потребление глюкозы и выделение лактата [Allaman et al., 2011]. Астроциты экспрессируют ГАМК-А- и ГАМК-В-рецепторы [Lee et al., 2011] и взаимодействие между астроцитами и ГАМКергическими нейронами может быть реципрокным. Предполагается, что через NMDA-рецепторы осуществляется влияние глутамата на дифференцировку предшественников олигодендроцитов в субвентрикулярной зоне [Cavaliere et al., 2013].

При иммобилизационном стрессе в зубчатой извилине гиппокампа показано увеличение количества олигодендроцитов [Chetty et al., 2014]. При стрессе установлено значительное увеличение плотности NG2-клеток в ядре

голубого пятна (locus coeruleus) крысы [Seifi et al., 2014]. Однако при хроническом стрессе выявлено угнетение глиогенеза в префронтальной коре [Banasret et al., 2007].

На моделях стресса показано, что развивающаяся депрессия является следствием активации цитокинов. В ранний период стресса увеличивается уровень экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 и TNF α , что приводит к когнитивным и двигательным нарушениям. При этом иммунный ответ при стрессе схож по всем критериям с инфекцией в ЦНС. На моделях стресса показана активация микроглии [de Pablos et al., 2014]. Это явление составляет основу воспалительной теории депрессии.

Таким образом, по вопросу о влиянии стресса на состояние и генез глиальных клеток нет согласованных взглядов. В целом эта проблема изучена слабо, а исследования проведены практически только на головном мозге. Роль стресса в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома в условиях микрогравитации и симуляции её на Земле не изучена совсем.

2.4 Модели для исследования гипогравитационного двигательного синдрома

Модель ОРЗК является наиболее оптимальной для воспроизведения последствий невесомости [Morey-Holton, Globus, 2002]. Одно из преимуществ данной модели – возможность изменять временной параметр. Забор и исследование животных можно произвести с несколькими точками времени, измеряемыми в рамках одного эксперимента, опыты могут быть повторены и расширены на регулярной основе. Кроме того, модель позволяет исключить ряд осложнений космического полёта, таких как гипергравитация и вибрация во время старта и посадки, перевозки от места посадки и разрыв во времени между посадкой и забором тканей.

Результаты по таким показателям, как атрофические изменения опорно-двигательной системы, изменения сердечной, дыхательной,

иммунной, эндокринной и репродуктивной систем, у мышей при ОРЗК и в условиях реального космического полёта оказались одинаковыми [Booth, Grindeland, 1999]. Однако имелись некоторые расхождения по ряду других параметров, таких как гистология печени, нервной системы, состояние крови [Booth, Grindeland, 1999]. Возможным объяснением такого различия между наземной и полётной группами является разрыв во времени между посадкой и забором тканей.

Изучение механизмов развития гипогравитационного двигательного синдрома в условиях реального орбитального полёта имеет ряд ограничивающих таких факторов, как недостаточное количество наблюдений на живых объектах (человек, животные), огромные финансовые издержки, затраты энергии и иных ресурсов на пилотируемой орбитальной станции, трудности, связанные с организацией и проведением экспериментальных исследований в условиях микрогравитации. В связи с этим были разработаны и в настоящее время широко применяются ряд моделей, эффективно воспроизводящих неблагоприятные последствия пребывания в условиях микрогравитации на Земле. Разработаны современные методы исследования микро-/гипогравитации на человеке, которые используются в России и международной практике. К данным моделям относятся, во-первых, сухая иммерсия и, во-вторых, антиортостатическая постельная гипокинезия [Adams et al., 2003; Григорьев и др., 2004]. Для животных разработана модель ОРЗК (грызуны) [Morey-Holton, Globus, 2002].

Метод сухой иммерсии представляет собой модифицированную модель погружения человека в среду, которая равна в совокупности по плотности тканям человеческого тела [Шульженко, Виль-Вильямс, 1976]. В результате человек находится практически в условиях безопорности. Эта модель гипогравитации воспроизводит характерное для невесомости состояние гипокинезии, опорной и механической разгрузки. Ключевым отличием данной модели является использование ткани, обладающей высокоэластичными и гидроизоляционными свойствами, которая полностью

облегает тело испытуемого и ограничивает его от воды, предупреждая тем самым побочное действие жидкой среды на ткани (мацерация кожи, неудобства для испытуемого). В данной модели, так же как и в модели «мокрой» иммерсии, воссоздаются опорно-двигательные, сердечно-сосудистые и ряд других эффектов пребывания человека в условиях реального космического полёта [Григорьев и др., 2004].

Широко используется модель антиортостатической постельной гипокинезии с пониженным головным концом тела ($6-8^\circ$) для исследования эффектов гипогравитационного двигательного синдрома. Основной вклад в разработку этой модели гипогравитации принадлежит группе исследователей под руководством Л.И. Какурина [Какурин и др., 1970]. Модель воссоздает следующие эффекты пребывания человека в условиях невесомости: уменьшение динамических и статических нагрузок на мышцы, перераспределение весовой нагрузки жидкостей (в т.ч. и крови) в организме человека, а также ограничение афферентного входа с рецепторной поверхности стоп [Григорьев и др., 2004].

Наземная модель ОРЗК на сегодняшний день представляет собой одну из наиболее используемую и эффективно воспроизводящую условия невесомости методику исследования таких негативных реакций со стороны организма живых объектов как снижение/устранение опорных и осевых нагрузок. Это осуществляется благодаря тому, что у животных (грызунов) есть возможность опираться о пол клетки только передними конечностями, при этом задние лапы находятся в состоянии опорной и механической разгрузки. Крысу или мышь «подвешивают» в специальных клетках таким образом, что передний отдел тела располагается немного ниже каудального ($30-45^\circ$). Таким образом, исчезают эффекты опорной и механических нагрузок на мышцы задних конечностей, типичные в условиях невесомости. Принято считать, что собственно опорная разгрузка мышц конечностей служит одним из запускающих механизмов, которые ведут развитию гипогравитационного двигательного синдрома [Григорьев и др., 2004]. В

этой модели такое положение тела становится причиной накопления жидкости, в т.ч. и крови, к верхней части тела и голове, что также имитирует эффект нахождения живых объектов в условиях гипогравитации. К тому же животное с помощью передних конечностей имеет свободный доступ передвигаться по полу решётчатой клетки в любом направлении и подходить к воде и корму. В работах Ильина и Новикова [1980] на крысах показана достоверная схожесть изменений опорно-двигательного аппарата в условиях реального космического полёта на борту биоспутника «Космос» и при ОРЗК. Также в сравнительном анализе результатов исследования влияния гипогравитации выявлены аналогичные изменения со стороны мышечной массы и атрофии скелетных мышц конечностей в условиях космического полёта и ОРЗК [Riley et al., 1990; Jiang et al., 1992; Sandona et al., 2012; Pierno et al., 2002]. Положительным аспектом модели ОРЗК является сохранение подвижности животного, что благоприятно сказывается на самочувствии экспериментальных объектов, а также в большей мере снимает стрессогенные факторы, характерные для экспериментов с иммерсией. Кроме того, модель позволяет проследить за восстановлением параметров после разгрузки конечностей. Можно заключить, что модель ОРЗК у грызунов является наиболее оптимальной на сегодняшний день для проведения исследований по имитации эффектов микро-/гипогравитации на Земле.

2.5 Исследование нервной ткани в условиях реальной невесомости и моделирующих её на Земле

Одним из ключевых направлений в исследованиях влияния космических полётов являются работы, посвященные развитию различных патологических состояний у космонавтов, в частности воздействие космического полёта на ЦНС. В особенности, наиболее интересны изменения, связанные с развитием нервно-дегенеративных расстройств, поведенческих девиаций и нарушения психических процессов, участвующих в нормальном обучении и памяти [Rea et al., 2016]. За последние два

десятилетия за счет развития молекулярно-генетических технологий увеличилось количество исследований в этом направлении, посвященных изучению механизмов развития нервно-мышечных патологий, а также возможной генной терапии при этих заболеваниях [Phan et al., 2005].

В работах Feuilloley et al. [1993] показано изменения мРНК и белка натрийуретического фактора в различных областях головного мозга амфибий в условиях 9-дневного космического полёта. При изучении воздействия ОРЗК у крыс было установлено выраженное (на 61%) уменьшение активности нейронов в области первичной моторной коры (M1), иннервирующих задние конечности, с одновременным снижением кортикоспинальной возбудимости [Langlet et al., 2012]. Полученные результаты свидетельствуют о возникновении значимых морфологических и биохимических сдвигов, проявляющихся в нервной ткани и развивающихся в ответ на снижение опорной и механической нагрузки у животных в условиях реальной и моделируемой гипогравитации. Становится очевидным, что такие трансформации обусловлены сдвигами в процессах биосинтеза белка и, соответственно, в реализации правильной генетической программы нейральных клеток. На 14 сутки космического полёта в астроцитах гиппокампа крыс было обнаружено значительное снижение экспрессии мРНК GFAP [Day et al., 1998]. Позже в работе Sarkar et al. [2006] было выявлено достоверное снижение экспрессии генов, кодирующих структурные белки (такие, как тубулин, фодрин и прочие), а также белки, участвующие в метаболизме, в гиппокампе мышей подвергнутых воздействию искусственной микрогравитации. Позже данные авторы с помощью 2-мерного гель-электрофореза обнаружили снижение содержания глутатиона и супероксиддисмутаза-2 с одновременным повышением уровня малатдегидрогеназы и пероксиредоксина-6 в гипоталамусе мышей, находящихся в условиях моделируемой микрогравитации. Данные изменения связаны со снижением активности антиоксидантной защиты и развитии окислительного стресса в клетках гипоталамуса [Sarkar et al., 2008]. Ранее в

исследовании Wise et al. [2005] было также показано в гиппокампе мышей в условиях искусственной модели гипогравитации развитие окислительного стресса, усиление перекисного окисления липидов при активации транскрипционного фактора NF-kB.

Различными методами в условиях, имитирующих микрогравитацию, был выявлен процесс активации запрограммированной гибели клеток. С помощью метода медленного клиноостатирования в клеточной культуре астроцитов было обнаружено ядро с фрагментированной ДНК и активация каспазы 7; методом электронной микроскопии были выявлены морфологические признаки апоптоза, как кариопикноз, конденсация хроматина, образование ядерных пузырьков, фрагментация ДНК в нейрональных клетках [Uva et al., 2002]. Изменения количества и активности вышеупомянутых белков, в том числе сопряженных с окислительным стрессом, описаны при нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона, а также заболеваниях, связанных с нейротрансмиссией и метаболизмом глюкозы. Роль этих белков выявлена в нарушении организации цитоскелета и каскадах апоптоза клеток. Выявленные сдвиги в экспрессии генов у грузынов, подвергнувшиеся воздействию микрогравитации, свидетельствуют об изменении в мозге экспрессии специфических белков, участвующих в поддержании жизнеспособности клеток в условиях микрогравитации [Rea et al., 2016].

Ввиду того, что глиальные клетки выполняют нейротрофическую и нейропротекторную функции, то можно предположить, что сдвиги в глии будут отрицательно сказываться на функциональное состояние нервных клеток, в том числе и мотонейронов. К сегодняшнему дню накопилось значительное количество данных, демонстрирующих развитие изменений в ЦНС, в т.ч. и спинном мозге, в ответ на воздействие реальной и моделируемой гипогравитации. При ОРЗК были выявлены изменения в фундаментальных нейрональных механизмах, которые контролируют активность моторных пулов мышц задних конечностей грузынов [Edgerton et

al., 2000]. В условиях гипогравитации зарегистрировано снижение активности антиоксидантных белков в сенсорных нейронах спинномозговых ганглиев и в мотонейронах спинного мозга, участвующие в иннервации мышечных волокон медленного типа [Ishihara et al., 2004]. К тому же, имеются сведения о сдвигах в биосинтезе белка в мионевральных синапсах в условиях ОРЗК [Тяпкина др., 2013].

Таким образом, есть причины предполагать, что опорная и механическая разгрузка в ответ на реальную и моделируемую невесомость приводит к изменениям на тканевом, клеточном и молекулярно-генетическом уровнях в нервной ткани и является одним из ключевых факторов развития гипогравитационного двигательного синдрома. Участие глии в его патогенезе практически не изучено, углубленное исследование этого вопроса крайне актуально для дальнейшей разработки мер профилактики негативных реакций в условиях дальних космических полётов.

3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Экспериментальные группы

Эксперименты проведены на 28 половозрелых мышах инбредной линии C57/bl6, самцах весом 25 ± 3 г, возраст которых к началу исследования составлял 19–20 нед. (табл. 1). Животные были свободны от патогенной микрофлоры. Во всех экспериментах мышей содержали группами по 3 особи в клетке.

Таблица 2. Экспериментальные группы животных

Группа	Характер эксперимента	Количество мышей
Интактная	Стандартные условия вивария	8
Опорная разгрузка задних конечностей (ОРЗК)	Круглосуточное антиортостатическое положение животных в течение 30 суток	8
Полётная	30-суточный космический полёт на биоспутнике БИОН-М1	3
Контрольная полётной группы	30 суток содержания на Земле в условиях, максимально моделирующих среду обитания на биоспутнике	3
Восстановленная	30-суточный космический полёт на биоспутнике БИОН-М1 с 7-суточным периодом реадaptации на Земле	3
Контрольная восстановленной группы	30 суток содержания на Земле в условиях, максимально моделирующих среду обитания на биоспутнике +7 суток реадaptации на Земле в стандартных условиях вивария	3

Модель ОРЗК воспроизводили стандартным методом [Morey-Holton, Globus, 2002], при этом животное, максимально вытянувшись, не доставало задними конечностями настил и могло свободно перемещаться по клетке на

передних конечностях. Животных интактной группы и ОРЗК содержали со стандартным суточным режимом и свободным доступом к воде и корму. Спинной мозг мышей полётной и восстановленной групп, а также их контроли были предоставлены ГНЦ РФ – ИМБП РАН из полётного эксперимента на борту биоспутника БИОН-М1 [Андреев-Андреевский и др., 2014]. Эксперименты на животных проводили на основании решения Комиссии по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 319 от 4.04.2013 г.), одобряющей исследования по проекту БИОН-М1. Все процедуры с животными проводили в соответствии с правилами, рекомендованными Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике [Генин и др., 2001].

3.2 Приготовление гистологических препаратов

На 30 сутки эксперимента мышей групп ОРЗК и интактных мышей наркотизировали путём внутрибрюшинной инъекции хлоралгидрата (Sigma) (80 мг/мл, 0,4 мл на 100 г), после чего их транскардиально перфузировали 4% раствором параформальдегида (4°C). Забор проводили тотчас, не допуская их касания задними конечностями пола клетки или иных поверхностей. Животных полётной, контрольной полётной, восстановленной и контрольной восстановленной групп забивали методом цервикальной дислокации. Выделяли шейный и поясничный отдел спинного мозга, который процессировали для иммунофлуоресцентного исследования. Для гистологического исследования спинной мозг мышей фиксировали в растворе параформальдегида в течение 24-х часов. В целях криопротекции фиксированную ткань насыщали 30% раствором сахарозы и перед замораживанием помещали в заливочную среду TBS (Triangle Biomedical Science, Durham, NC). Поперечные срезы (20µm) готовили на криостате HM 560 (Thermo Scientific) при температуре -25°C с последующим хранением в 30% растворе сахарозы при температуре 4°C.

3.3 Иммуногистохимические методы

Иммунофлуоресцентные реакции проводили на поперечных свободно плавающих срезах шейного и поясничного отделов спинного мозга. Срезы промывали в PBS с 1% Triton X-100 в течение 5 минут 3 раза, неспецифические места связывания блокировали в PBS, содержащем 1% Тритон X-100 и 5% сыворотку лошади, в течение 1 часа при комнатной температуре. Астроциты выявляли с помощью иммуногистохимических реакций с антителами против глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) (Santa Cruz, 1:250), белка S100B (Santa Cruz; 1:1200), нейроны – бета-тубулина 3 (β TubIII), миелинообразующие клетки – белка миелина олигодендроцитов (OSP) (Santa Cruz, 1:100), транскрипционного фактора олигодендроцитов 2 (Olig2) (Santa Cruz, 1:200), белка миелина P0 (Abcam, 1:100), белка Krox24 (R&D Systems, 1:30), Krox20 (Covance, 1:50) и Cx47 (Santa Cruz, 1:150). Клетки микроглии выявляли при помощи антител против Iba1 (Biocare, 1:200) и Hoxb8 (Abcam, 1:100). Первый этап иммунофлуоресцентной реакции проводили при температуре 4°C в течении 12 ч. После промывки в PBS срезы инкубировали с вторичными антителами, в качестве которых применяли ослиные Ig, конъюгированные с флуорохромом Alexa 488 (Invitrogen, 1:200), Alexa 555 (Invitrogen, 1:200) и Alexa 647 (Invitrogen, 1:200). Для визуализации ядер клеток срезы дополнительно окрашивали в течение 10 минут при комнатной температуре раствором пропидиума йодида (краситель DAPI, 10 мкг/мл в PBS, Sigma). Анализ поперечных срезов шейного и поясничного утолщений спинного мозга проводили с помощью конфокального сканирующего микроскопа LSM 510 META (Carl Zeiss, Germany).

3.4 Морфометрия

Для иммуногистохимического анализа глии были выбраны следующие зоны (рис. 1): вентральные рога (ventral horn, VH), кортикоспинальный тракт в дорсальных канатиках (corticospinal tract, CST),

вентральные канатики (ventral funiculus, VF), зона центрального канала (central channel, CC), зона вхождения дорсальных корешков (dorsal root entry zone, DREZ). Во всех этих зонах иммунопозитивные клетки подсчитывали в квадрате площадью $0,05 \text{ мм}^2$ в каждом из 6 срезов с интервалом $0,5 \text{ мкм}$. В симметричных зонах спинного мозга, таких как VH, VF, DREZ, подсчёт клеток производили на обеих сторонах среза спинного мозга.

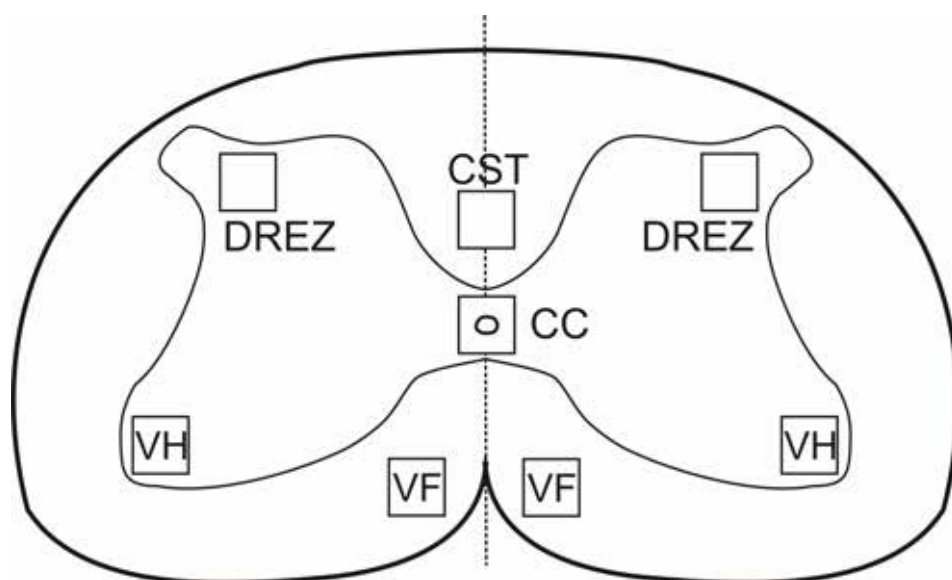


Рис. 1. Области подсчёта клеток глии выделены квадратами: VF – вентральный канатик, VH – вентральный рог, CST – кортикоспинальный тракт, DREZ – зона вхождения дорсальных корешков, CC – центральный канал.

Цифровые изображения срезов спинного мозга анализировали с помощью программы ImageJ 1.46. При подсчёте количества клеток принадлежность иммунопозитивных структур конкретной клетке определяли по локализации её ядра, выявляемого при помощи DAPI.

В качестве показателя уровня экспрессии белков GFAP, S100B и OSP в клетках использовали величину плотности флуоресценции соответствующих маркеров на цифровом изображении среза. Плотность флуоресценции в процентах вычисляли как отношение суммы ненулевых пикселей в снимке данного канала флуоресценции к площади изображения в пикселях. Изображения получали при стандартизированных значениях пинхола, мощности лазеров и скорости сканирования.

3.5 Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Origin8.0 Pro. Достоверность различий определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни-Вилкоксона. Для всех статистических данных уровень достоверности был принят меньше 0,05 ($p \leq 0,05$).

4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Поясничный отдел спинного мозга

Астроциты

GFAP-иммунопозитивные клетки. Для анализа астроцитов использовали маркеры GFAP и S100B (рис. 2, 3). На 30 сутки эксперимента у мышей полётной группы количество GFAP⁺-астроцитов в VH уменьшается. В других зонах серого и белого вещества достоверные сдвиги по этому показателю не зарегистрированы. На модели ОРЗК показано, что сдвиги в количестве GFAP⁺-астроцитов разнонаправлены в различных зонах спинного мозга (рис. 4).

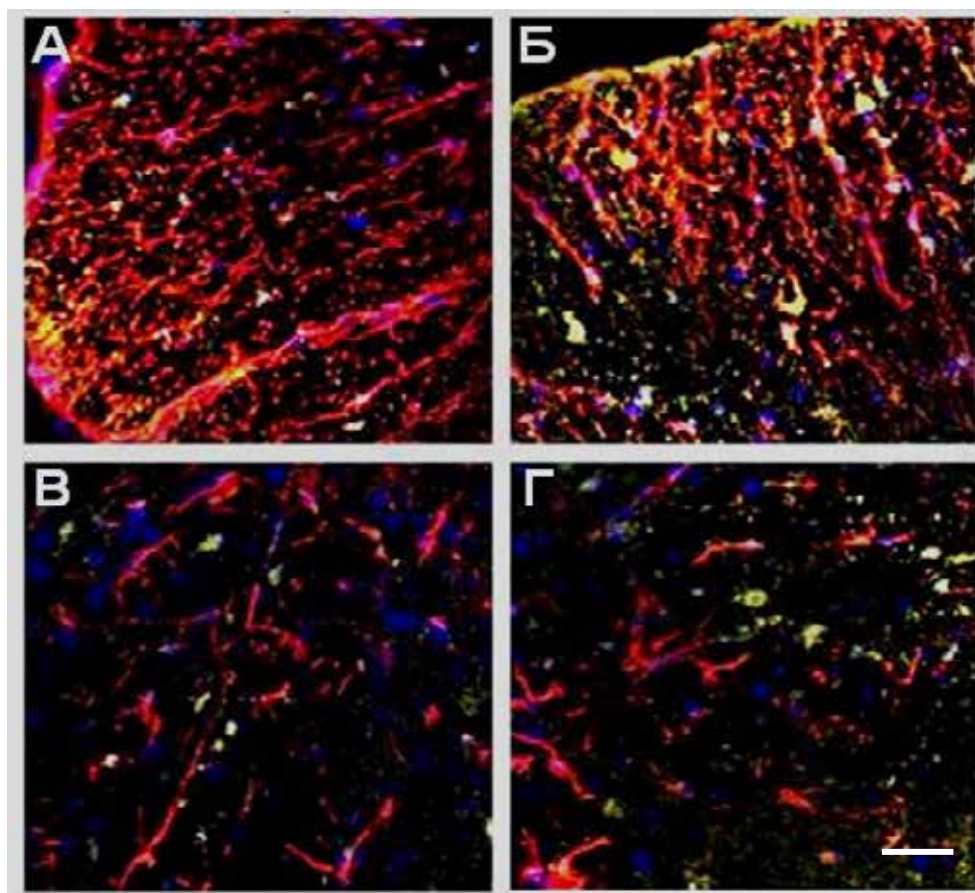


Рис. 2. Экспрессия белков GFAP (красный) и S100B (желтый) в интактном спинном мозге (А, В) и на 30 сутки от начала опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) (Б, Г) в зонах: вентральных канатиков (А, Б) и кортикоспинального тракта в дорсальных канатиках (В, Г). Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

В сером веществе (VN) количество GFAP⁺-клеток достоверно снижается с одинаковой выраженностью как в условиях космического полёта, так и при ОРЗК. Это свидетельствует об однонаправленных сдвигах в популяции GFAP⁺-астроцитов, происходящих в спинном мозге мышей при реальной гипогравитации и симуляции её на Земле.

S100B-иммунопозитивные клетки. Количество S100B⁺-клеток в полётной группе устойчиво возрастает как в сером (CC), так и в белом (CST) веществе. Следует отметить, что в этих зонах различия в количестве S100B⁺-клеток проявляются в большей мере, чем в случае GFAP⁺-клеток. Это может быть связано с тем, что внутриклеточные сигнальные пути с участием белка S100B наиболее чувствительны к действию факторов космического полёта (стресс, перегрузки, невесомость). Можно также предполагать, что более существенные сдвиги в количестве S100B⁺-клеток у мышей полётной группы связаны с более выраженной гетерогенностью популяции S100B⁺-клеток, которая включает не только астроциты, но также нейроны, олигодендроциты и NG2-клетки [Nachem et al., 2005]. Нами показана коэкспрессия белка β TubIII, характерного для нейронов, и белка S100B в VN (рис. 6).

В условиях ОРЗК количество S100B⁺-клеток снижается во всех зонах подсчёта (рис. 5). На 30 суток космического полёта, наоборот, наблюдается тенденция увеличения количества клеток, экспрессирующих данный белок в белом и сером веществе поясничного утолщения.

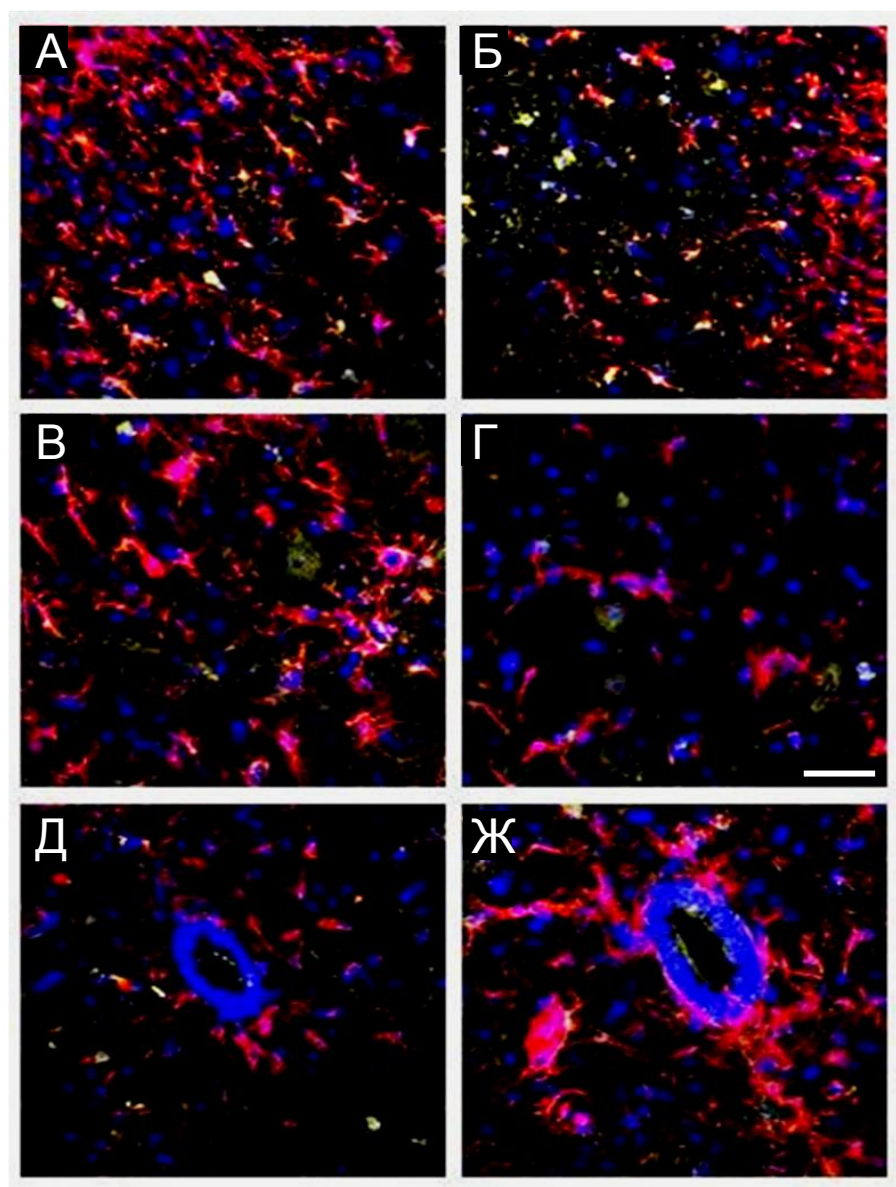


Рис. 3. Экспрессия белков GFAP (красный) и S100B (желтый) в спинном мозге intactных животных (А, В, Д) и на 30 сутки от начала опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) (Б, Г, Ж) в зонах: вхождения дорсальных корешков (А и Б), вентральных рогов (В, Г) и центрального канала (Д, Ж). Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

GFAP/S100B-иммунопозитивные клетки. На 30 сутки эксперимента между полётной группой и её контролем по количеству GFAP⁺/S100B⁺-клеток достоверное различие обнаружено только в DREZ (рис. 7). Количество GFAP⁺/S100B⁺-клеток преобладает у животных полётной группы. Сдвиги в количестве GFAP/S100B-иммунопозитивных клеток при ОРЗК и в полётной

группы ОРЗК количество GFAP⁺/S100B⁺-клеток увеличено в каждой из исследуемых зон.

По параметру флуоресцентной плотности белков GFAP (рис. 8) и S100B (рис. 9) в поясничном утолщении спинного мозга выявлена достоверная разница в экспрессии этих белков в DREZ. При этом увеличение флуоресцентной плотности белка GFAP более выражено в паре сравнения групп ОРЗК и интактной. В полётной группе достоверных различий по этому критерию не зарегистрировано. В полётной группе флуоресцентная плотность белка S100B увеличивается в 4,1 раза по сравнению с контрольной полётной группой. При ОРЗК увеличение флуоресцентной плотности белка S100B более выражено, этот показатель возрастает в 7,3 раза по сравнению с интактной группой.

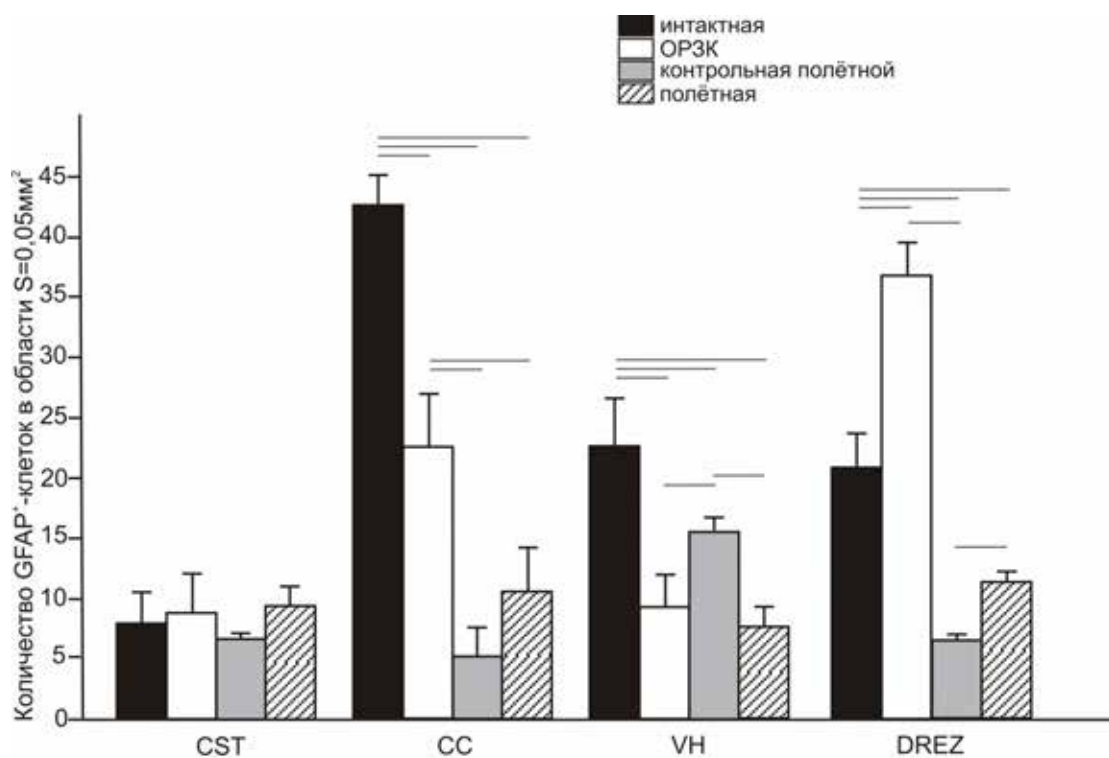


Рис. 4. Количество GFAP⁺-клеток (ось ординат) в поясничном утолщении спинного мозга на 30 сутки у мышей при опорной разгрузке задних конечностей (ОРЗК) и в условиях космического полёта. Здесь и далее в гистограммах на рис. 5, 7, 8, 9, 11, 13, 15, 16 горизонтальные отрезки объединяют столбцы с достоверно различающимися показателями ($P \leq 0,05$; U-критерий Манна-Уитни-Вилкоксона).

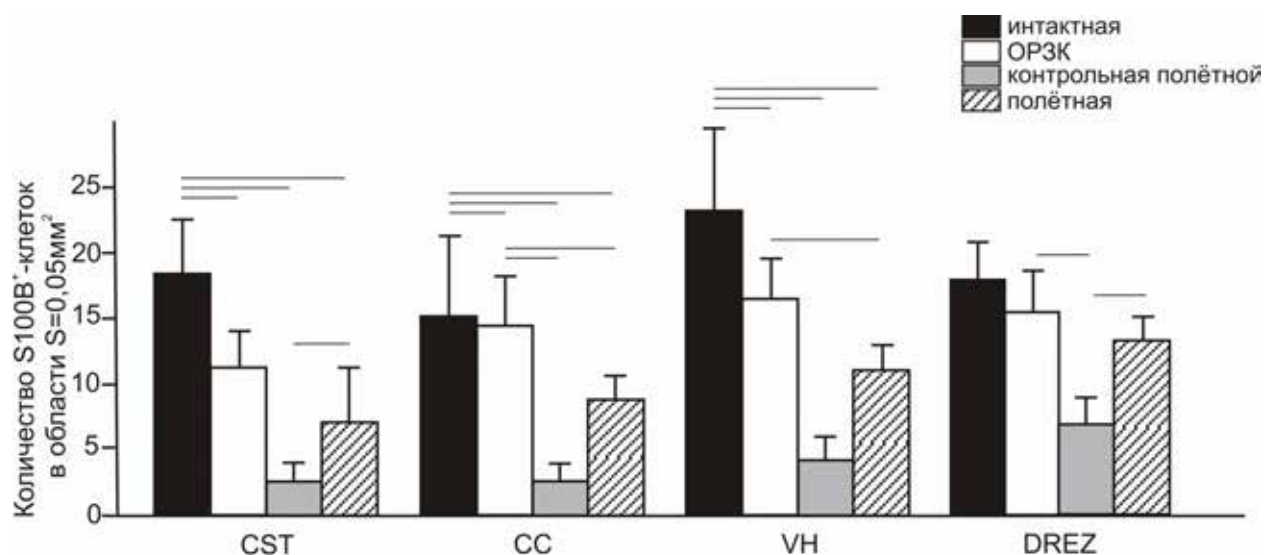


Рис. 5. Количество S100B⁺-клеток (ось ординат) в поясничном утолщении спинного мозга на 30 сутки у мышей при опорной разгрузке задних конечностей (ОРЗК) и в условиях космического полёта.

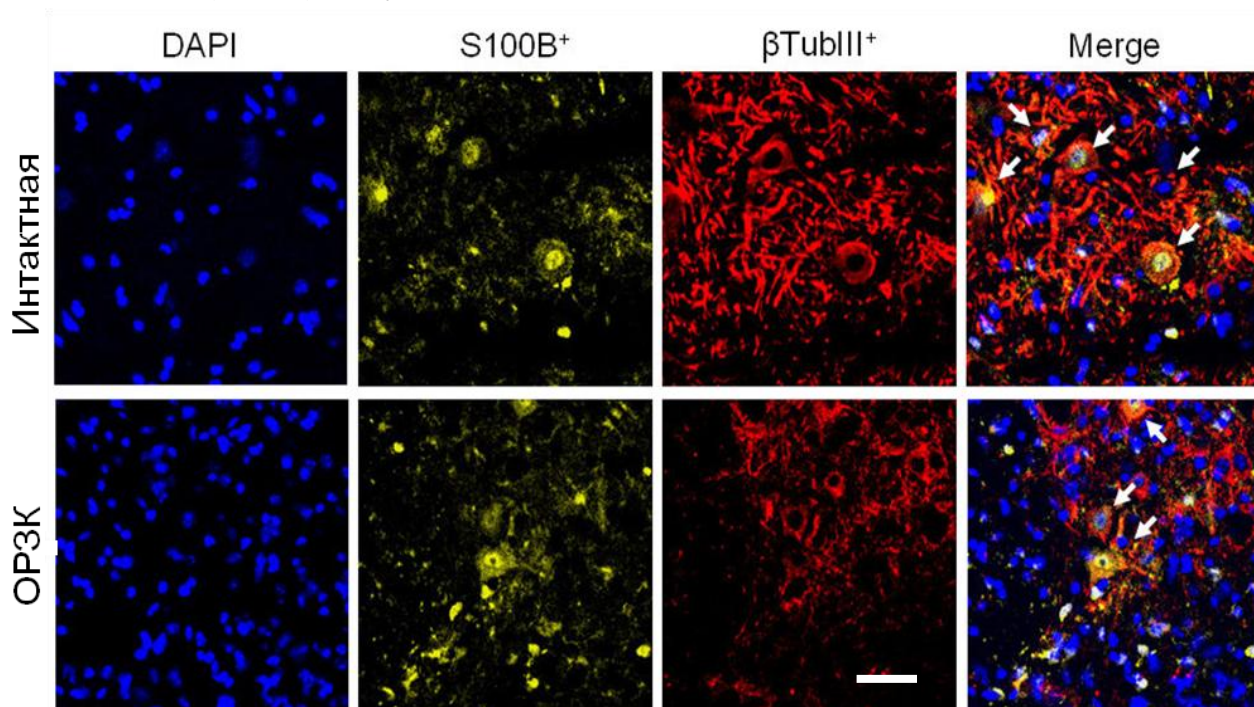


Рис. 6. Экспрессия белков S100B (желтый) и β TubIII (красный) нейронами на 30 сутки от начала опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) в спинном мозге у животных интактной группы в зоне вентральных рогов (VH). Выявлена колокализация белков S100B и β TubIII в мотонейронах; S100B⁺/ β TubIII⁺-клетки отмечены стрелкой. Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

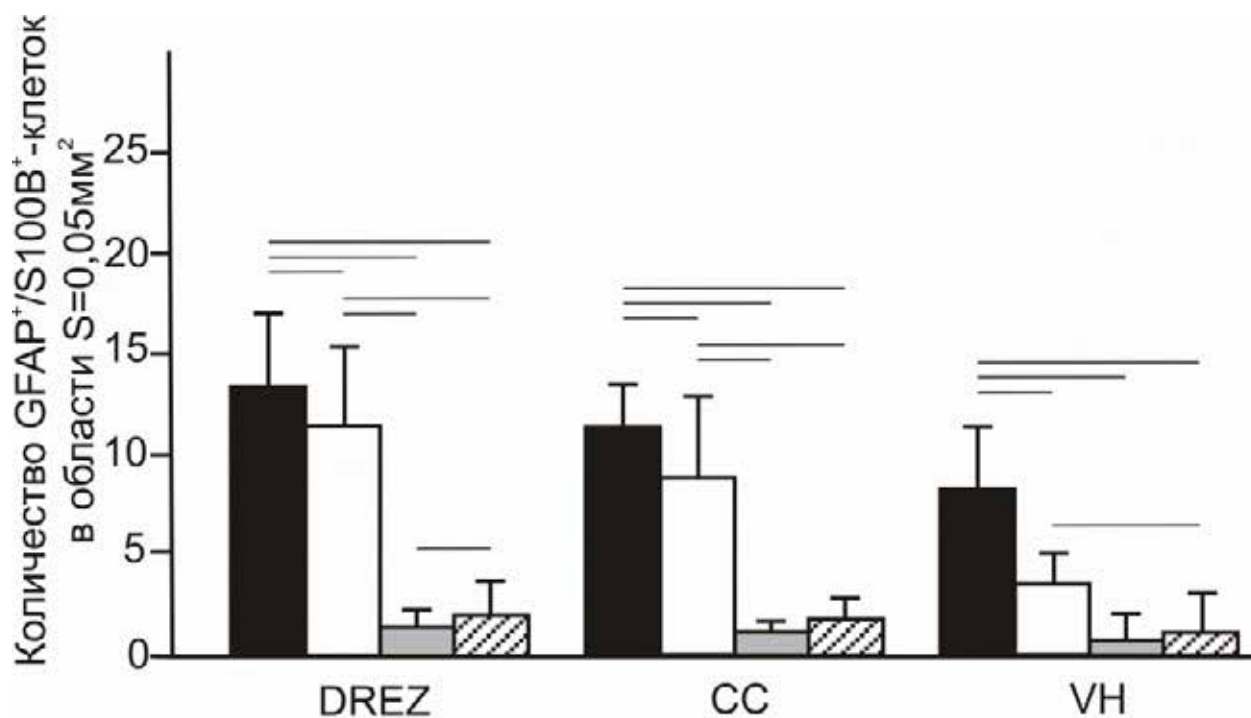
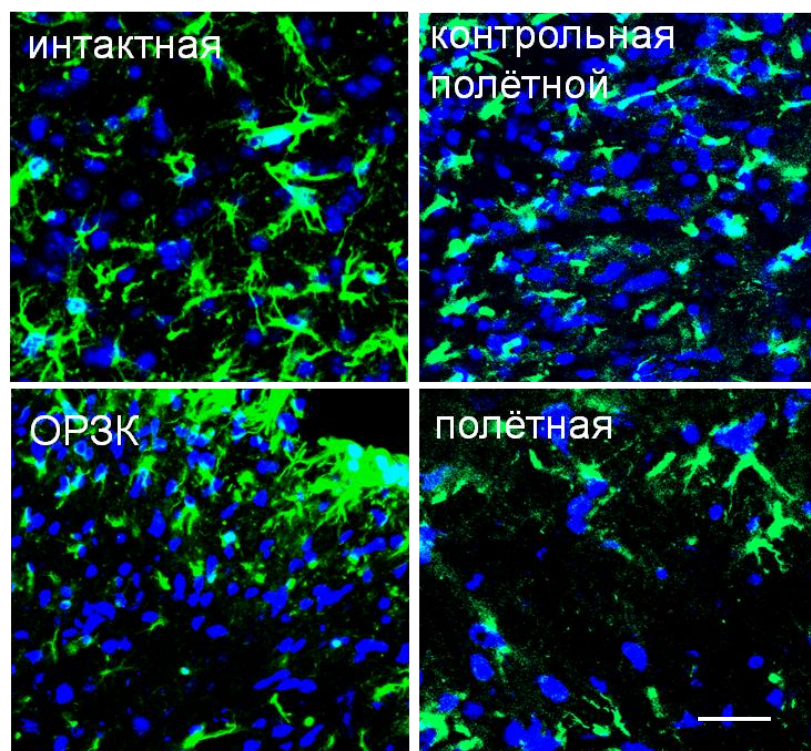


Рис. 7. Количество GFAP⁺/S100B⁺-клеток (ось ординат) в поясничном утолщении спинного мозга на 30 сутки у мышей при опорной разгрузке задних конечностей (ОРЗК) и в условиях космического полёта.

Причины уменьшения численности астроцитов, экспрессирующих GFAP, остаются неясными. Оно может быть результатом кумулятивного эффекта многих негативных факторов и осуществляться как вследствие прямого их воздействия на астроциты, так и опосредованно через нейроны и глиальные клетки других типов. Негативное воздействие гипогравитации на цитоскелет астроцитов, в том числе на промежуточные филаменты, было показано ранее в опытах *in vitro* и *in vivo* [Uva et al., 2002; Nguon et al., 2004].

А)



Б)

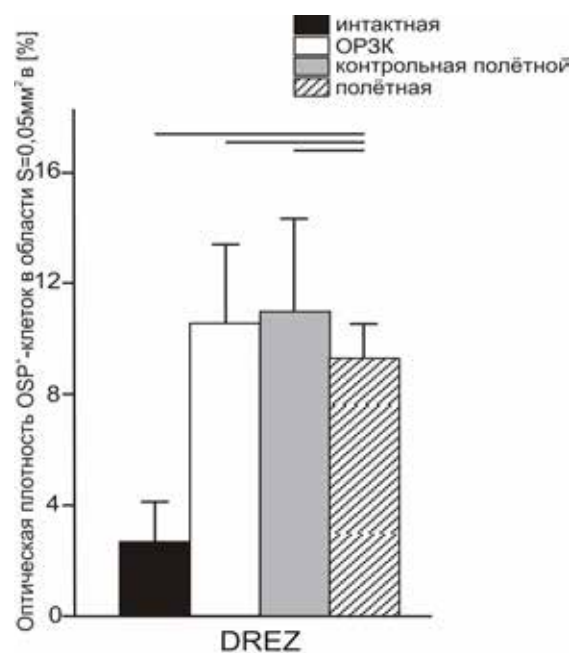
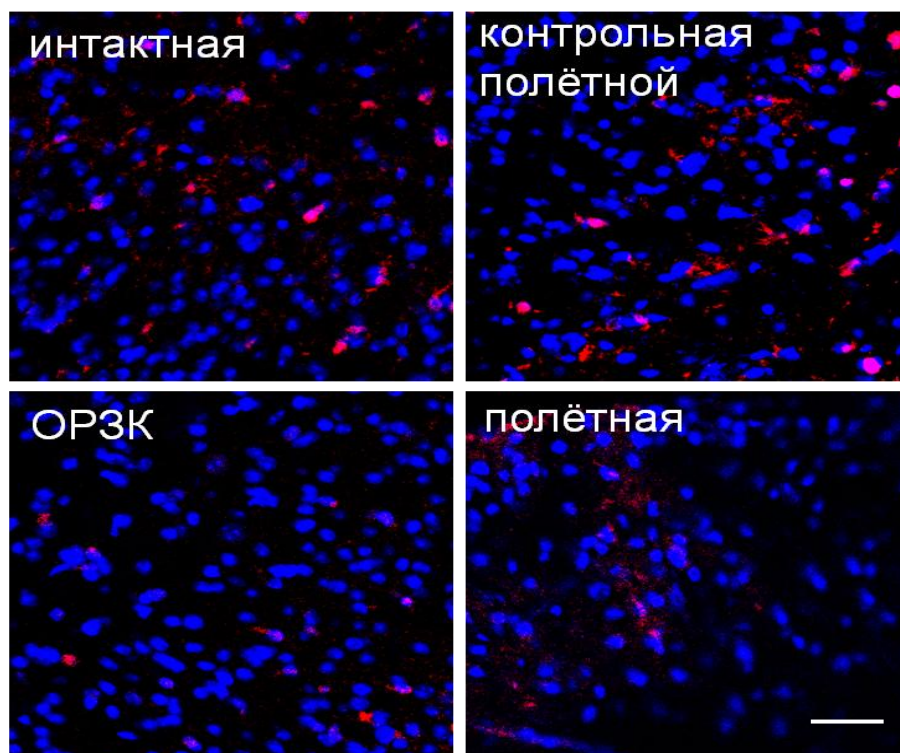


Рис. 8. Флуоресцентная плотность GFAP⁺-клеток (зелёный) в поясничном утолщении спинного мозга в зоне вхождения дорсальных корешков (DREZ) на 30 сутки у мышей при опорной разгрузке задних конечностей (ОРЗК) и в условиях космического полёта. Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм (А). Флуоресцентная плотность белка GFAP значительно ниже в интактной группе (Б).

А)



Б)

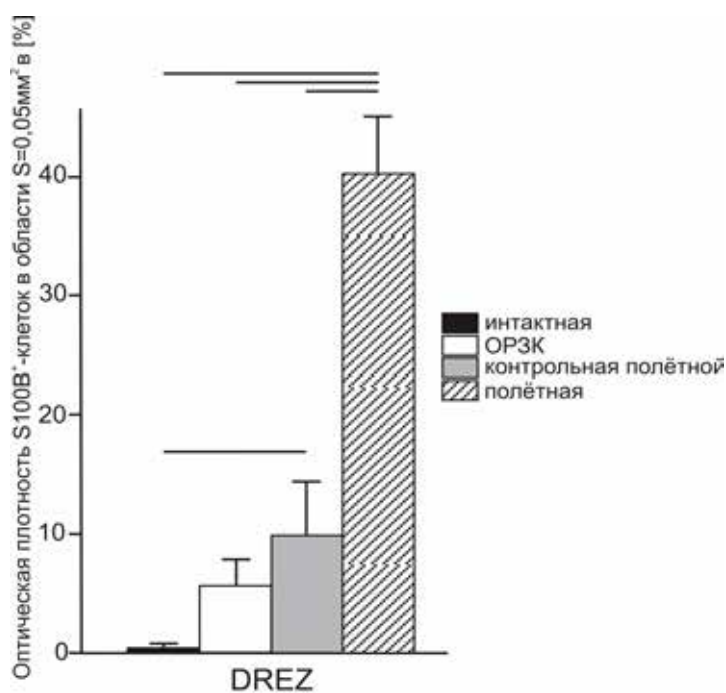


Рис. 9. Флуоресцентная плотность S100B⁺-клеток (красный) в зоне вхождения дорсальных корешков (DREZ) в поясничном утолщении спинного мозга на 30 сутки у мышей при ОРЗК и в условиях космического полёта. Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм (А). Флуоресцентная плотность белка S100B значительно возрастает в полётной группе (Б).

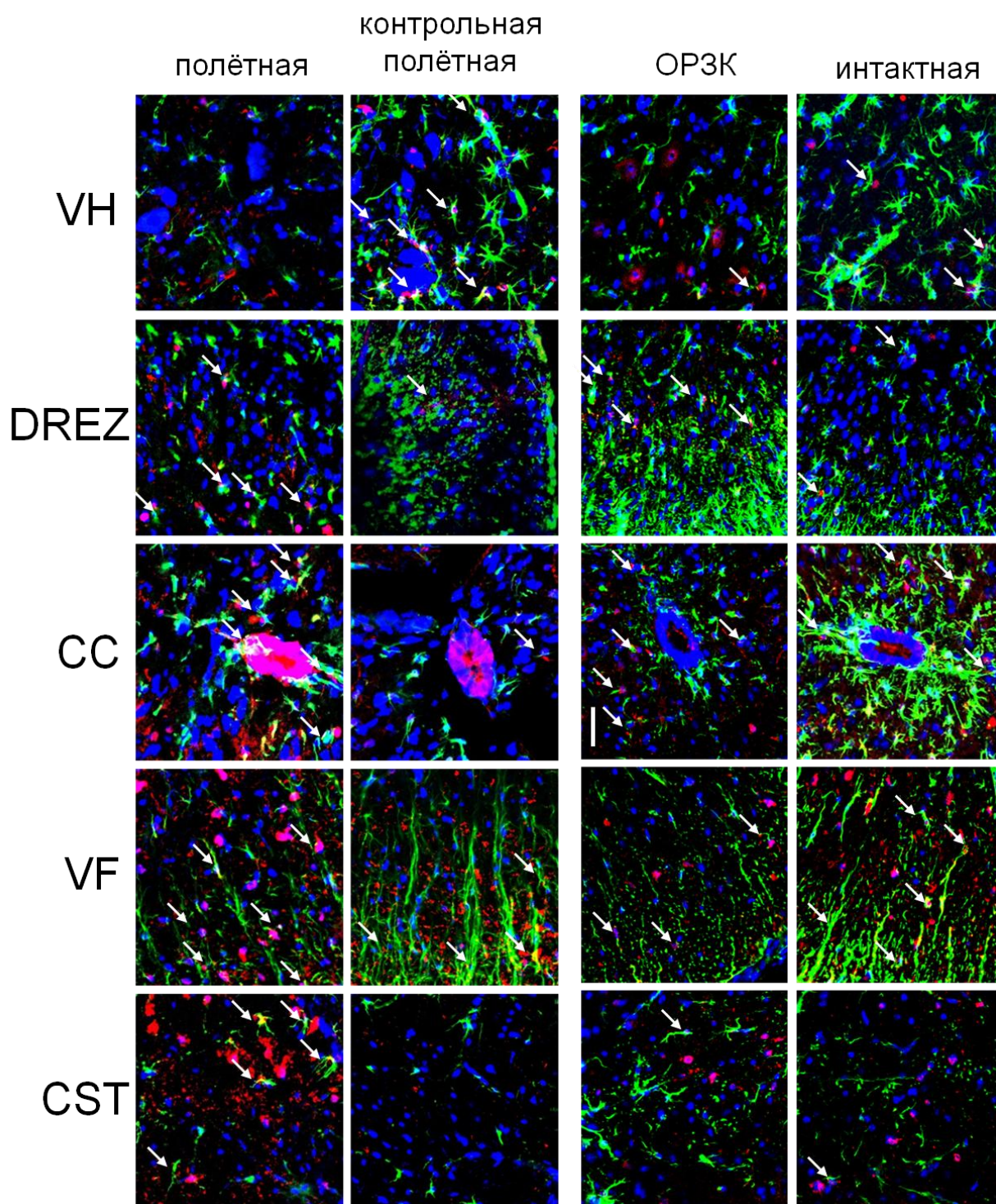


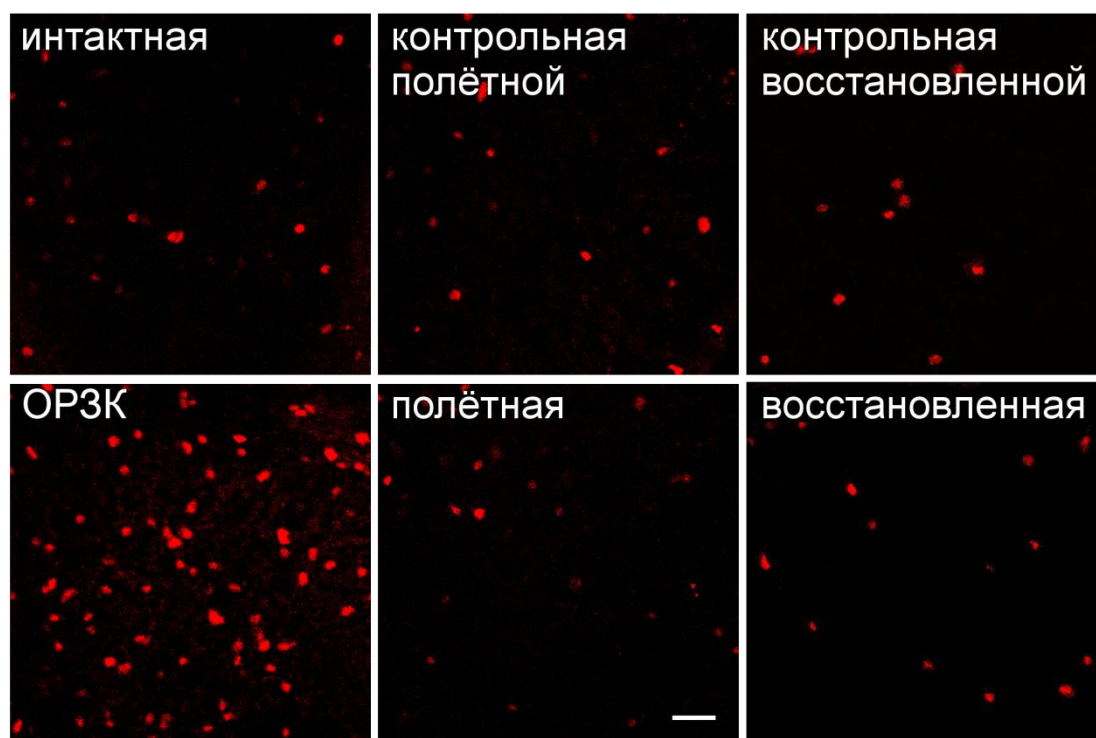
Рис. 10. Экспрессия GFAP (зеленый) и S100B (красный) в поясничном отделе спинного мозга на 30 сутки у мышей при опорной разгрузке задних конечностей (ОРЗК) и в условиях космического полёта. При ОРЗК снижается экспрессия белка GFAP, что прослеживается также в полётной группе; экспрессия белка S100B увеличивается в полётной группе, при ОРЗК данный показатель уменьшается. Выявлена колокализация белков GFAP и S100B; GFAP⁺/S100B⁺-клетки отмечены стрелкой. Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

Миелообразующие клетки

Olig2-иммунопозитивные клетки. У животных полётной и восстановленной групп количество иммунопозитивных клеток во всех зонах незначительно уменьшается по сравнению с соответствующими контрольными группами (рис. 11). Достоверный сдвиг зарегистрирован только в CST в паре сравнения полётной и контрольной полётной групп, с преобладанием данного показателя в контроле. При сравнении полётной и восстановленной групп в CST экспрессия белка Olig2 увеличивается в группе реадaptации после полёта. Между восстановленной группой и её контролем по данному маркеру достоверных сдвигов не обнаружено. Это может свидетельствовать о восстановлении показателя на 7 сутки реадaptации на Земле после полёта.

По количеству Olig2⁺-клеток зарегистрированы разнонаправленные сдвиги. Если в полётной группе количество этих клеток незначительно уменьшается, то в группе ОРЗК, наоборот, существенно возрастает.

А)



Б)

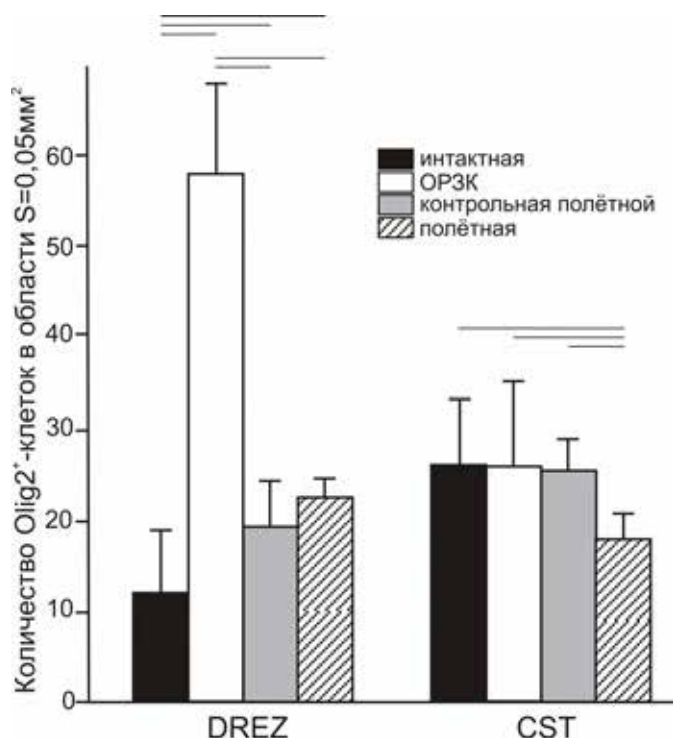


Рис. 11. Экспрессия Olig2⁺-клеток в поясничном отделе спинного мозга у мышей в условиях опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК), космического полёта и 7-суточной реадаптации на Земле. А. Иммуногистохимические реакции в зоне вхождения дорсальных корешков (DREZ) указывают на значительное увеличение количества Olig2⁺-клеток при ОРЗК, изменения этого показателя в полётной и восстановленной группе не обнаружены. Масштаб 100 мкм. Б. Результаты подсчёта количества Olig2⁺-клеток в DREZ и кортикоспинальном тракте (CST).

OSP-иммунопозитивные клетки. При сравнении животных полётной группы с соответствующим контролем установлено, что показатель плотности флуоресценции белка OSP увеличивается в зоне VF, в то время как в других зонах экспрессия данного белка остается стабильной (рис. 12, 13). Наибольшая плотность флуоресценции белка OSP во всех исследуемых группах наблюдается в CST, а наименьшая в зоне CC. Различие между восстановленной и контрольной восстановленной группами по данному показателю не зарегистрировано.

В условиях космического полёта снижается экспрессия белка OSP (уменьшается флуоресцентная плотность) как в сером, так и в белом

веществе. Как и у полётных мышей, при ОРЗК снижение экспрессии этого белка наблюдается во всех исследуемых зонах, что может свидетельствовать о нарушении миелинизации в спинном мозге [Furuse, Tsukita, 2002]

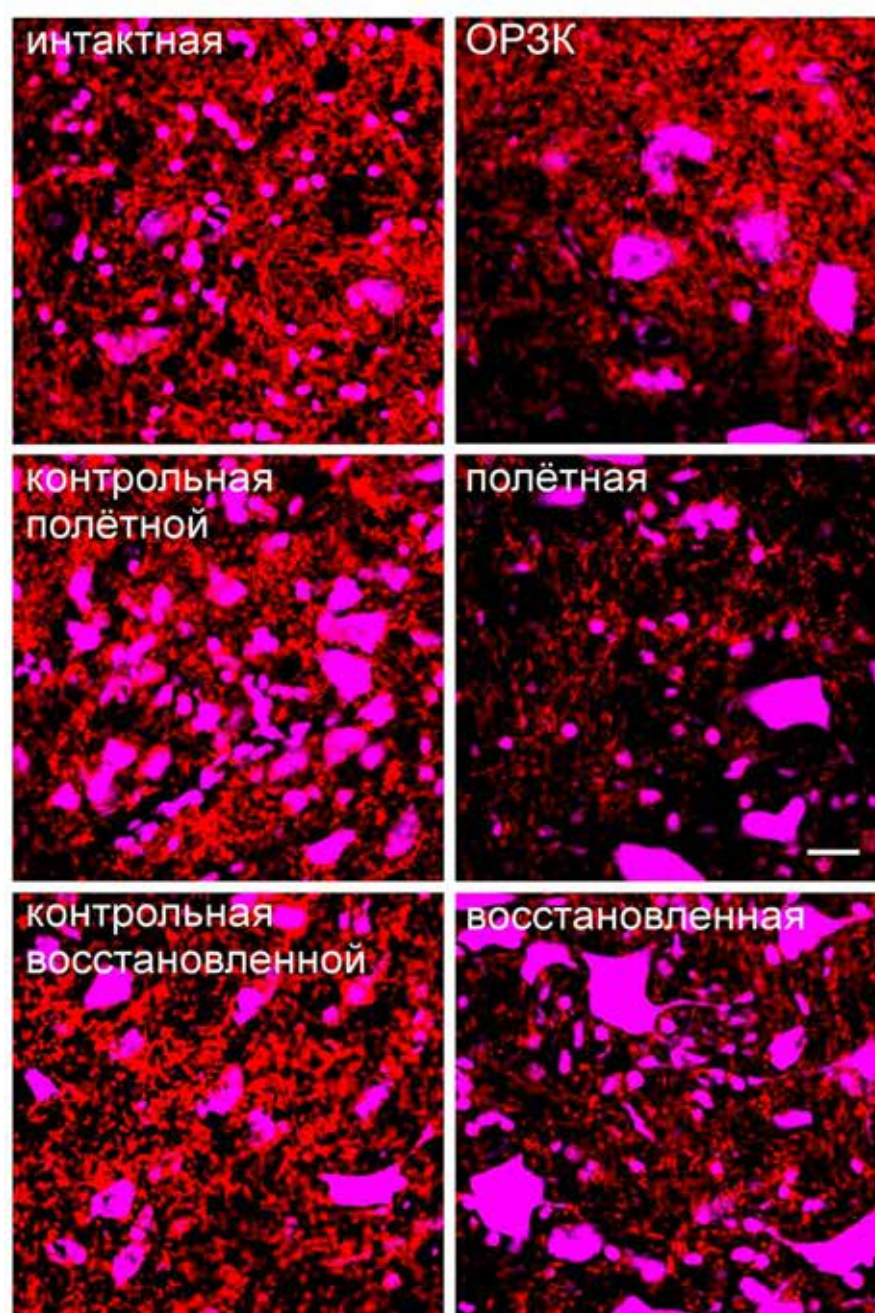


Рис. 12. Экспрессия белков OSP (красный) на 30 сутки эксперимента в зоне вентральных рогов (VH) поясничного отдела спинного мозга у мышей в условиях опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК), космического полёта и 7-суточной реадаптации на Земле. При ОРЗК снижается экспрессия белка OSP, что прослеживается также в полётной группе. Данный показатель не восстанавливается на 7 суток реадаптации на Земле. Ядра визуализированы с PI (розовый). Масштаб 100 мкм.

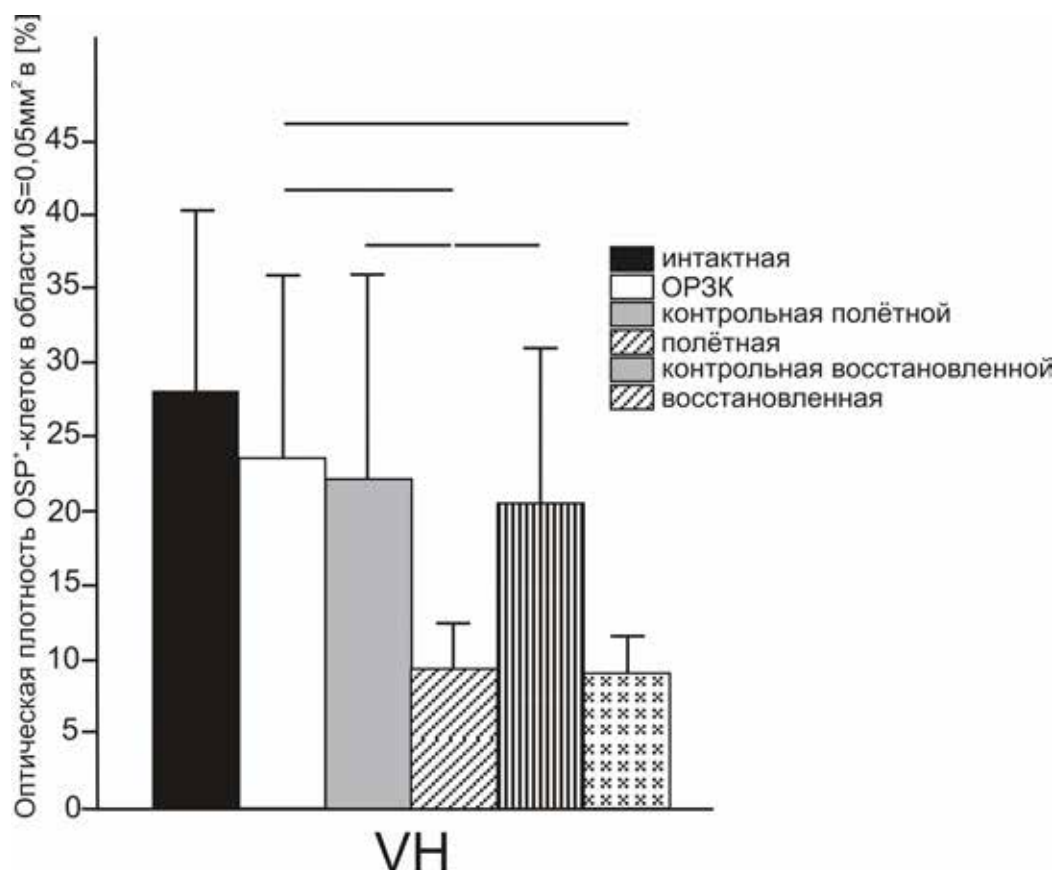


Рис. 13. Изменение флуоресцентной плотности белка олигодендроцитов OSP в поясничном отделе спинного мозга на 30 суток у мышей при опорной разгрузке задних конечностей (ОРЗК) и в условиях космического полёта.

Krox20-иммунопозитивные клетки. Иммуноцитохимическая реакция на транскрипционный фактор Krox20 в спинном мозге мыши не выявила клеток, экспрессирующих данный маркер. Полученные результаты согласуются с данными Herdegen et al. (1993) о том, что Krox20⁺-клетки в спинном мозге половозрелых грызунов отсутствуют.

В ходе исследования обнаружены маркеры миелиновой оболочки периферических нервов – белки P0 (MPZ) и Krox24. В глиальных клетках выявлена мембранная локализация белка P0 и ядерная локализация транскрипционного фактора Krox24.

P0-иммунопозитивные клетки. Присутствие P0⁺-клеток в спинном мозге мыши практически не изучено и требует дополнительного исследования. У

животных контрольной полётной группы $P0^+$ -клетки были распределены неравномерно с преобладанием в DREZ (рис.14). У мышей полётной группы количество $P0^+$ -клеток значительно снижено в VH и DREZ. Аналогичная картина наблюдается при сравнении восстановленной и контрольной восстановленной групп.

В полётной и восстановленной полётной группах сдвиги в большинстве исследуемых зон однонаправленны и одинаково выражены, причем количество $P0^+$ -клеток в полётной и восстановленной группах снижается. Исключением являются зоны CC и VF в паре сравнения восстановленной и контрольной восстановленной групп (рис. 15A). Изменения количества иммунопозитивных клеток в группах сравнения ОРЗК и интактных животных соответствуют выраженности и направленности сдвигов, зафиксированных в полётной и контрольной полётной группах.

Белок P0 является важнейшим компонентом миелина, регулирующим укладку слоев миелиновой оболочки. Нарушение экспрессии белка P0 при космическом полёте и симуляции невесомости на Земле может приводить к дефектам миелинизации. При ОРЗК показано снижение экспрессии миелинспецифичных генов *mpm2* и *mpm22*, кодирующих белки, которые принимают участие в образовании и стабилизации миелиновой оболочки [Исламов и др., 2013]. Полученные данные по экспрессии маркеров миелинообразующих клеток в спинном мозге согласуются с доказательствами присутствия белков Krox24, P0, p75 не только в структурах периферической нервной системы, но и в ЦНС [Jasmin et al., 2000; Nagoshi et al., 2011].

Krox24-иммунопозитивные клетки. Подсчёт количества $Krox24^+$ -клеток показал достоверное различие при сравнении животных полётной и контрольной полётной групп в сером веществе (рис 14, 15Б). Количество $Krox24^+$ -клеток увеличивается в группе с полётными животными в VH, DREZ и CC в 2,3; 4,2 и 4,3 раза, соответственно. В паре сравнения восстановленной и контрольной восстановленной групп изменений ни в

одной из исследуемых зон не зарегистрировано. Отмечены однонаправленные сдвиги в восстановленной и полётной группах, в восстановленной группе наблюдается значительное снижение количества Krox24⁺-клеток в белом веществе (VF и CST). Сдвиги при ОРЗК и в полётной группах разнонаправленны и наиболее выражены в группе ОРЗК. У мышей группы ОРЗК количество Krox24⁺-клеток увеличено в каждой из исследуемых зон.

Транскрипционный фактор Krox24 относится к белкам раннего ответа, участвует в регуляции клеточного цикла, дифференцировке миелообразующих клеток и индуцируется влияниями со стороны нейронов. Снижение экспрессии этого белка может быть следствием нарушения взаимоотношений между нейронами и глией.

P0/Krox24-иммунопозитивные клетки. Между полётной и контрольной полётной группами по данному показателю достоверное различие обнаружено только в белом веществе (VF и CST) с преобладанием количества P0⁺/Krox24⁺-клеток у животных контрольной полётной группы. В паре сравнении восстановленной и контрольной восстановленной групп не отмечено достоверной разницы ни в одной из зон подсчёта. В восстановленной группе не зарегистрировано восстановления количества P0⁺/Krox24⁺-клеток, что может быть связано с недостаточно длительным периодом наблюдений для восстановления этого параметра.

Изменения количества P0⁺/Krox24⁺-клеток в паре сравнения групп ОРЗК и интактных мышей аналогичны сдвигам в полётной группе. В сером веществе у животных группы ОРЗК эти сдвиги выражены в большей мере. В белом веществе наиболее заметные различия по этому показателю зафиксированы в паре сравнения полётной и контрольной полётной групп.

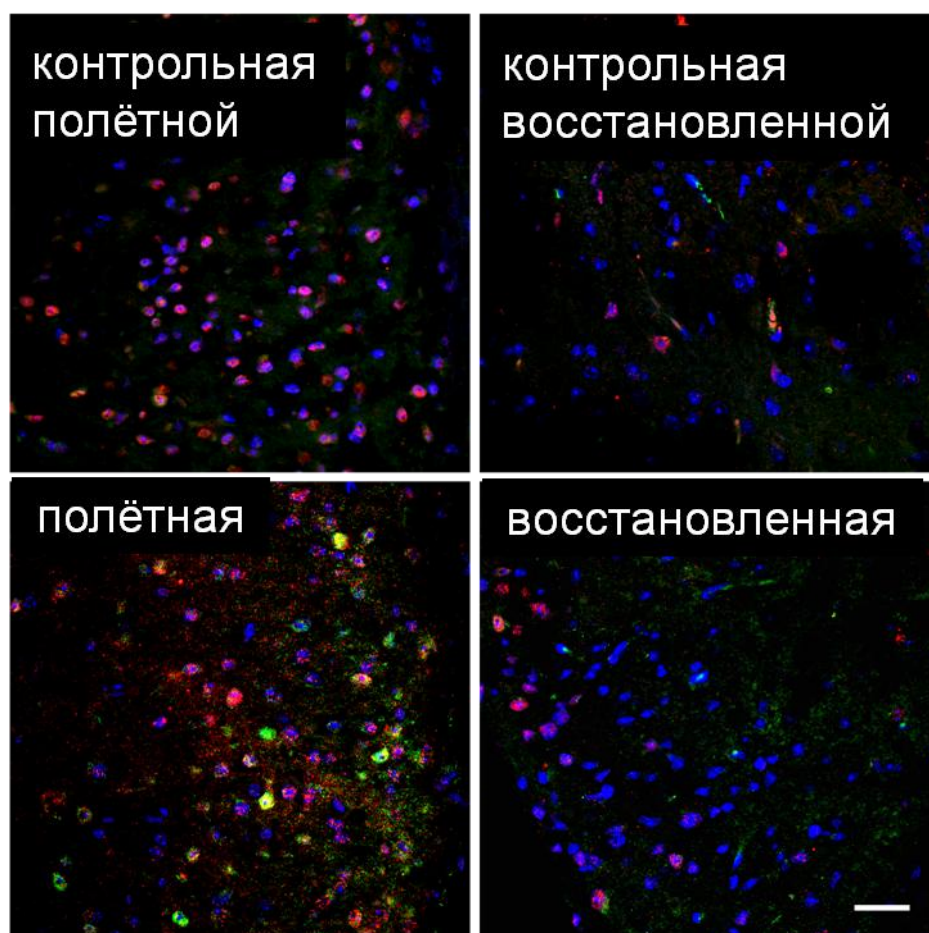
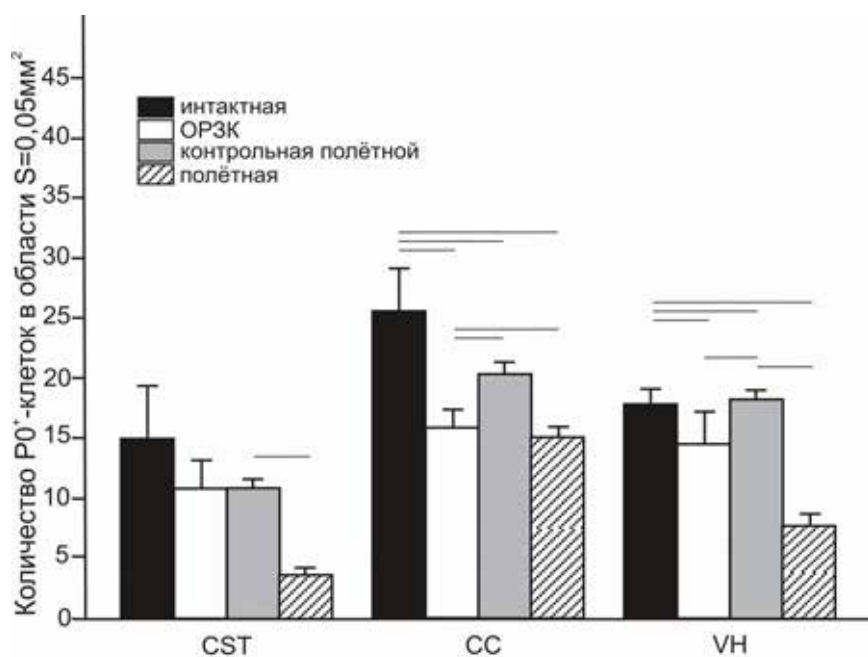


Рис. 14. Зона вхождения дорсальных корешков (DREZ) в поясничном отделе спинного мозга у мышей в условиях космического полёта и 7-суточной реадaptации на Земле. Количество $P0^{+}$ - (красный) и $Krox24^{+}$ - (зелёный) клеток увеличивается в восстановленной группе при сравнении с полётной группой. Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

Таким образом, в условиях моделирования гипогравитации на Земле и космического полёта в поясничном утолщении спинного мозга мышей обнаружены изменения иммуногистохимических характеристик миелинообразующих клеток. Наиболее выраженные изменения зафиксированы в белом веществе. Отсутствие значительных сдвигов в количестве $P0^{+}/Krox24^{+}$ -клеток в паре сравнения восстановленной и контрольной восстановленной групп даёт основание полагать, что выявленные сдвиги не являются необратимыми и имеют тенденцию к восстановлению в период 7-суточной реадaptации на Земле после космического полёта.

А)



Б)

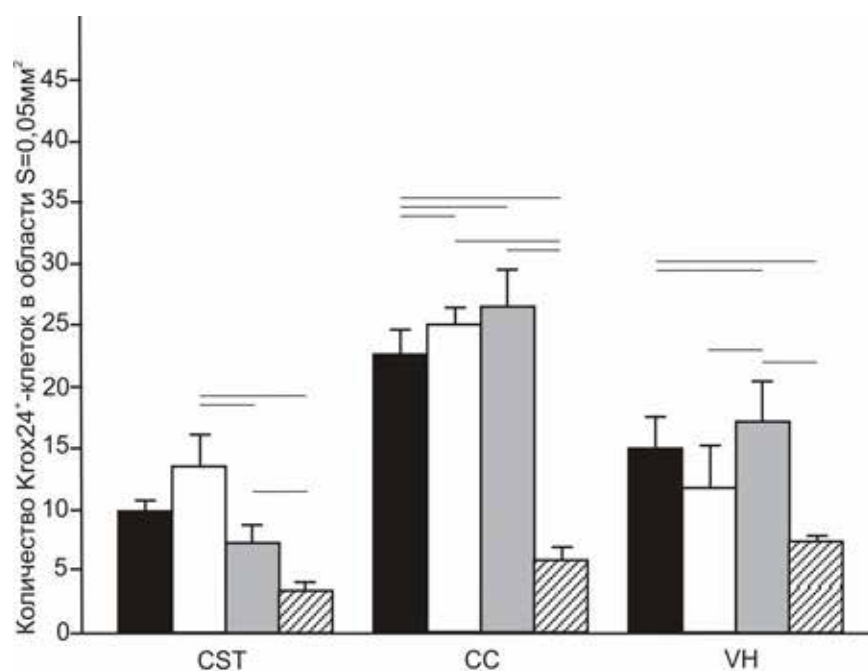


Рис. 15. Количество $P0^+$ - (А) и $Krox24^+$ - (Б) клеток в поясничном отделе спинного мозга у мышей в условиях опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) и космического полёта на 30 сутки и 7-суточной реадaptации на Земле в зонах подсчёта.

Микроглия

Iba1-иммунопозитивные клетки. Маркер Iba1 обнаруживает покоящиеся и реактивные клетки микроглии. В паре сравнения полётной и контрольной полётной групп зафиксирована достоверная разница во всех зонах подсчёта. Количество Iba1⁺-клеток у животных полётной группы увеличивается в среднем в 2,5 раза как в сером, так и в белом веществе. В восстановленной группе достоверное увеличение количества Iba1⁺-клеток зарегистрировано только в DREZ. В этой группе во всех зонах сохраняется тенденция увеличения количества клеток, экспрессирующих белок Iba1, но она выражена в меньшей мере, чем у полётных мышей, что может свидетельствовать о восстановлении этого показателя.

У интактных мышей Iba1⁺-микроглия однородно распределена в каждой исследуемой зоне спинного мозга (рис. 16А). У мышей с ОРЗК количество Iba1⁺-клеток достоверно увеличивается в зоне СС и DREZ (рис. 16В). Изменения количества иммунопозитивных клеток в группе сравнения ОРЗК и интактные мыши соответствуют выраженности и направленности сдвигов, зарегистрированных в группе полётных животных. Микроглия выделяет протеазы и цитокины, которые могут повреждать нейральные клетки и вызывать демиелинизацию аксонов. Активация микроглии является одним из ведущих механизмов в патогенезе нейродегенеративных заболеваний [Roser et al., 2017] и нейротравмы [Anwar et al., 2016]. Представляется достаточно вероятным, что подобные реакции со стороны микроглии могут быть причиной негативных изменений морфо-функционального состояния мотонейронов при гипогравитационном двигательного синдрома.

НохВ8-иммунопозитивные клетки. На 30-е сутки после ОРЗК у мышей НохВ8⁺-клетки, кроме зоны СС, обнаружены также в зонах CST, DREZ и VH. Наибольшее количество НохВ8⁺-клеток при ОРЗК выявлено в DREZ (рис. 16Б). У мышей оданной группы в зоне СС количество НохВ8⁺-клеток существенно превышает этот показатель у интактных мышей (рис. 16Г). Эти

данные подтверждают представление о гетерогенности микроглии в спинном мозге и указывают на высокую реактивность клеток субпопуляции НохВ8.

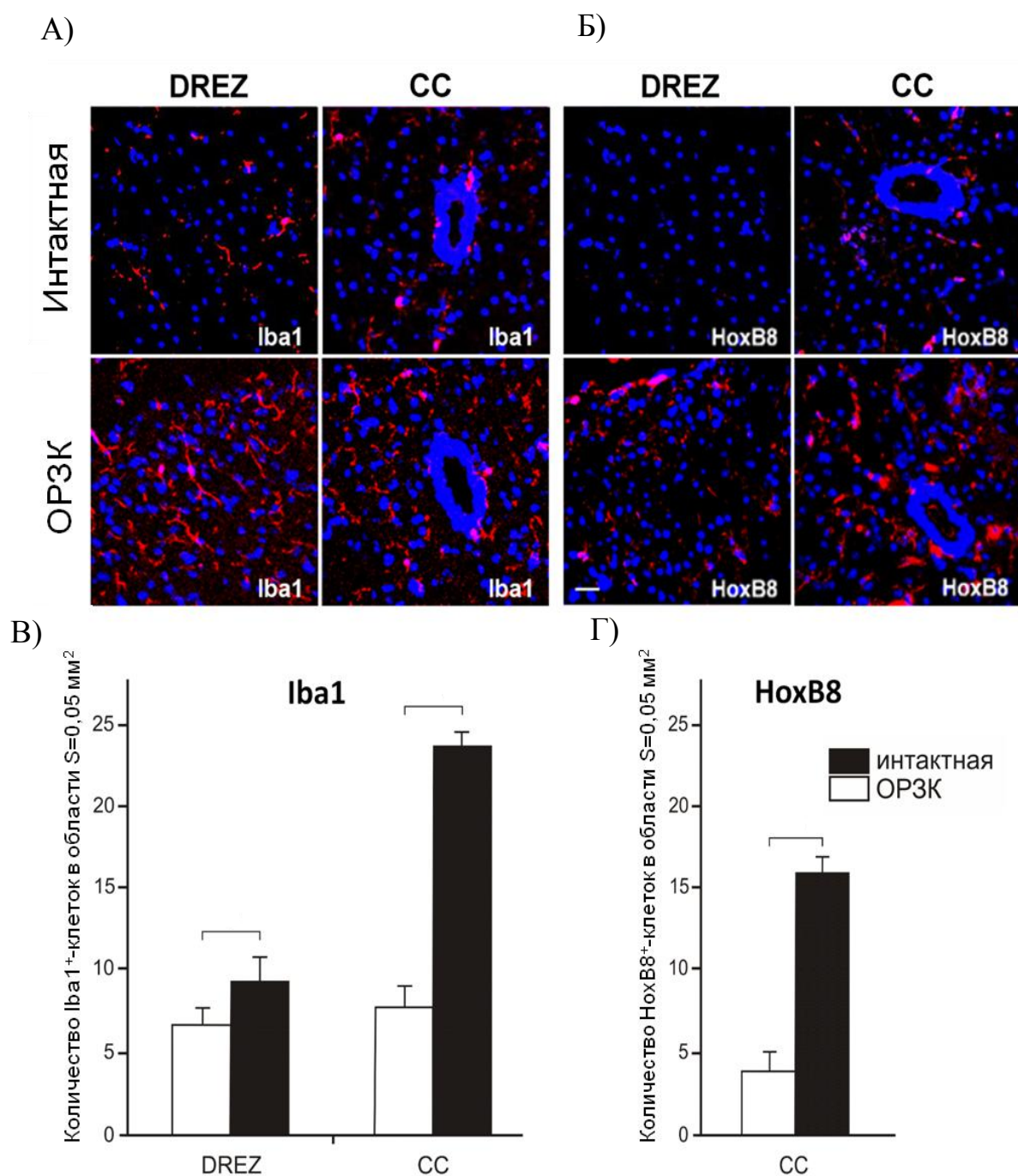


Рис. 16. Экспрессия белков Iba1 и НохВ8 (красный) на 30 сутки эксперимента в зоне вхождения дорсальных корешков (DREZ) и центрального канала (CC). Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм (А, Б). Количество Iba1⁺- и НохВ8⁺-клеток значительно возрастает в группе опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) (В, Г).

4.2. Шейный отдел спинного мозга

Астроциты

На 30 сутки в полётной группе количество GFAP⁺-клеток увеличивается только в DREZ в 1,8 раза при сравнении с контрольной полётной группой. Достоверные различия между восстановленной и контрольной восстановленной группами по экспрессии GFAP не выявлены. В этой же зоне в группе животных с ОРЗК показано увеличение количества GFAP⁺-клеток.

При ОРЗК снижение количества S100B⁺-клеток обнаружено в VH и VF, в полётной группе – только в VH. В группе с 7-дневным периодом реадaptации на Земле S100B⁺-клетки распределены равномерно по всем исследуемым зонам, достоверные различия по этому показателю в восстановленной группе при сравнении с контрольной восстановленной группой не выявлены.

Численность GFAP⁺/S100B⁺-астроцитов не изменяется ни при космическом полёте, ни под воздействием ОРЗК. Таким образом, оценка экспрессии GFAP и S100B показала, что влияние космического полёта на популяцию астроцитов в шейном утолщении спинного мозга мыши минимально. Выявленные сдвиги в количестве GFAP⁺- и S100B⁺-клеток в шейном утолщении спинного мозга мыши при ОРЗК могут быть связаны с изменением характера сократительной функции мышц. Представляется достаточно вероятным, что в условиях, моделирующих гипогравитацию на Земле, т.е. при разгрузке задних конечностей, происходит повышение тонуса мышц передней части тела животного, которое может быть причиной изменений в системе «нейрон – глия» в шейном утолщении спинного мозга.

Миелообразующие клетки

В шейном утолщении спинного мозга в полётной группе P0⁺-клетки равномерно распределены по зонам подсчёта, количество P0⁺-клеток снижается в DREZ при сравнении с контрольной полётной группой. При ОРЗК количество P0⁺-клеток снижается в DREZ и CC в 1,2 и 1,6 раза,

соответственно, в других зонах достоверных сдвигов не обнаружено (рис. 17). Достоверные различия между восстановленной и контрольной восстановленной группами не зарегистрированы.

Количество $Krox24^+$ -клеток снижается в DREZ при ОРЗК и в полётной группе при сравнении данного показателя с соответствующими контрольными группами. В группе с 7-дневным периодом реадaptации на Земле $Krox24^+$ -клетки распределены неравномерно по зонам подсчёта. В белом веществе мышей восстановленной и контрольной восстановленной групп $Krox24^+$ -клетки не выявлены, достоверные различия между данными группами не установлены. По количеству $P0^+/Krox24^+$ -клеток в зонах серого и белого вещества не зарегистрированы достоверные сдвиги ни в одной из экспериментальных групп.

В шейном утолщении спинного мозга мышей в полётной группе в DREZ экспрессия $Olig2$ достоверно снижается. При ОРЗК $Olig2^+$ -клетки распределены неравномерно, их наибольшее количество обнаружено в DREZ, также как и в полётной группе. Это свидетельствует об однонаправленных сдвигах в количестве $Olig2^+$ -клеток, происходящих в спинном мозге мышей при реальной гипогравитации и её симуляции на Земле. При сравнении восстановленной и полётной групп в большинстве исследуемых зон сдвиги в количестве $Olig2^+$ -клеток однонаправлены. В восстановленной группе, так же как и в других экспериментальных группах, выявлено увеличение количества $Olig2^+$ -клеток в DREZ.

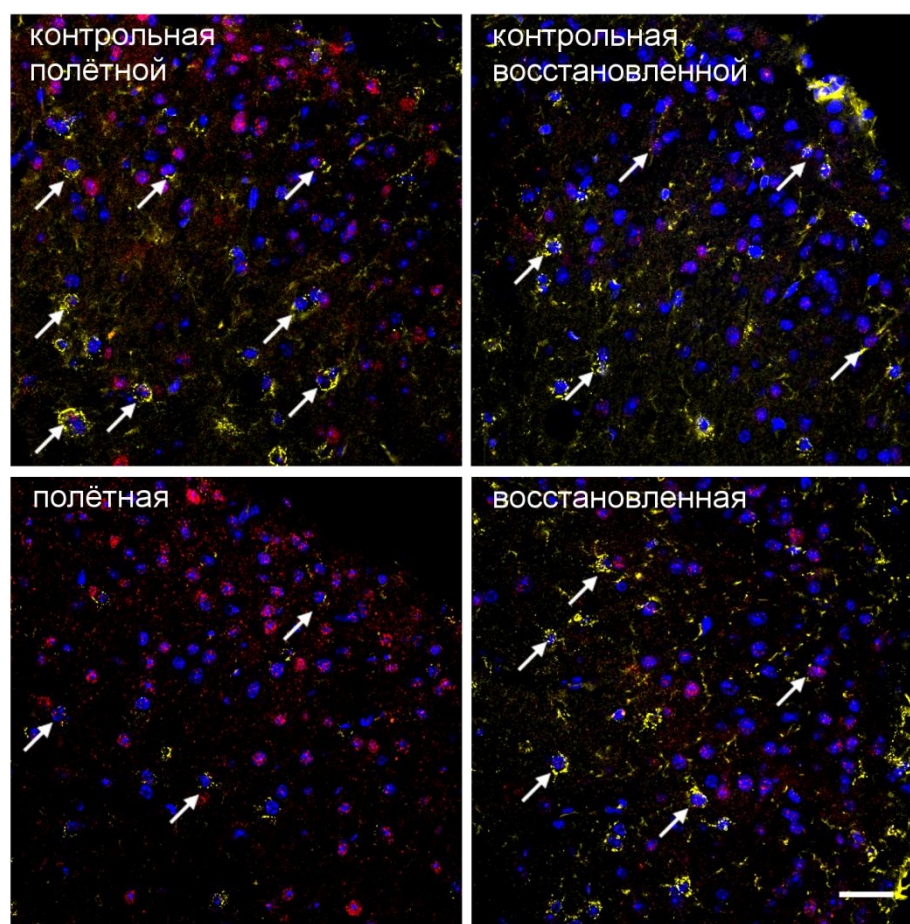


Рис. 17. Зона вхождения дорсальных корешков (DREZ) в шейном отделе спинного мозга у мышей в условиях космического полёта и 7-суточной реадaptации на Земле. Количество $P0^{+}$ - (красный) и $Krox24^{+}$ - (зелёный) клеток увеличивается в восстановленной группе при сравнении с полётной группой. Выявлена колокализация белков P0 и Krox24; $P0^{+}/Krox24^{+}$ -клетки отмечены стрелкой. Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

На 30 сутки в полётной группе показатель флуоресцентной плотности OSP меньше по сравнению с контрольной полётной группой. При ОРЗК выявлено снижение флуоресцентной плотности OSP в DREZ и СС. При этом в полётной группе данный показатель ниже, чем в группе ОРЗК. Достоверное различие между полётной и ОРЗК группами по экспрессии OSP выявлено в VH. Между восстановленной и контрольной восстановленной группами по этому показателю достоверных различий не обнаружено.

Сдвиги в экспрессии белков миелина в шейном утолщении при ОРЗК свидетельствуют об изменении характера двигательной активности мыши,

которое является вероятной причиной морфофункциональных изменений в миелинообразующих клетках.

Белок щелевого контакта Cx47 экспрессируется преимущественно в олигодендроцитах в сером веществе и в S100B⁺-астроцитах в белом веществе [Odermatt et al., 2003]. В исследовании Menichella et al. [2003] на трансгенных мышцах, мутантных по гену *cx47* (Cx47-null), показано, что продукт данного гена не влияет на миелинизацию в спинном мозге, но участвует в межклеточном взаимодействии между олигодендроцитами и астроцитами.

В полётной и контрольной полётной группах Cx47⁺-клетки равномерно распределены по всем изученным зонам, наибольшее их количество обнаружено в условиях космического полёта. В группе ОРЗК количество Cx47⁺-клеток увеличивается в DREZ и СС в 1,5–2 раза. На 7 сутки реадаптации на Земле после космического полёта изменения в численности Cx47⁺-клеток зарегистрированы только в DREZ.

Пребывание мышей в течение 30 суток в условиях ОРЗК и космического полёта приводит к снижению экспрессии маркеров миелинообразующих клеток в шейном утолщении спинного мозга, что дополняет картину патогенеза гипогравитационного двигательного синдрома. Увеличение количества Cx47⁺-клеток соответствует сдвигам, происходящим в популяции астроцитов и олигодендроцитов. Представляется весьма вероятным, что возрастание экспрессии Cx47 отражает процесс усиления межклеточной коммуникации в глии. Увеличение экспрессии маркеров миелинообразующих клеток на 7 сутки реадаптации на Земле после космического полёта свидетельствует о восстановлении отклоняющихся показателей, подтверждает достоверность изменений иммуноцитохимических параметров миелинообразующих клеток в ходе собственно космического полёта и указывает на потенциальную возможность достаточно быстрой нормализации патологических отклонений в миелиновых волокнах при гипогравитационном двигательном синдроме.

Микроглия

В группе ОРЗК, полётной и восстановленной полётной группах Iba1⁺-клетки в шейном утолщении спинного мозга мыши имеют как округлую форму без отростков, так и неправильную отростчатую (рис. 18). В соответствующих контрольных группах выявлены в основном клетки округлой формы. Различие в морфологии клеток микроглии спинного мозга свидетельствует об их реакции на гипогравитацию.

В полётной группе количество Iba1⁺-клеток увеличивается во всех зонах подсчёта. В белом веществе их количество возрастает в 2–3 раза по сравнению с контрольной полётной группой. В сером веществе наибольший прирост наблюдается в зоне СС, где количество Iba1⁺-клеток увеличивается в 9,2 раза.

В группе ОРЗК наблюдается достоверное увеличение числа Iba1⁺-клеток как в зонах серого (DREZ и СС), так и белого (VF и CST) вещества. Клетки по зонам подсчёта распределены неравномерно с преобладанием в VF, наименьшее количество Iba1⁺-клеток обнаружено в DREZ. При сравнении групп ОРЗК и космического полёта выявлено достоверное увеличение числа Iba1⁺-клеток в полётной группе во всех зонах подсчёта, кроме VF. В среднем в полётной группе количество Iba1⁺-клеток в 2,5 раза больше, чем в группе ОРЗК. При этом количество клеток с неправильной отростчатой формой преобладает в полётной группе.

Достоверные различия между восстановленной и контрольной восстановленной группами зарегистрированы только в зоне СС. Здесь в восстановленной полётной группе количество Iba1⁺-клеток в 2 раза превышает их количество в контрольной восстановленной группе. В остальных зонах подсчёта достоверных изменений в количестве Iba1⁺-клеток не выявлено.

Особый интерес представляет одна из субпопуляций клеток микроглии, происходящих из костного мозга и экспрессирующих гомеобоксный ген *hoxb8* [Chen et al., 2010]. У мутантных по этому гену

мышей имеются дефекты чувствительности, в первую очередь ноцицепции, и нарушение поведенческих реакций, которые связывают с клетками микроглии именно этой субпопуляции [Holstege et al., 2008; Schlegelmilch et al., 2011]. Не исключено, что подобные нарушения функции могут наблюдаться в условиях невесомости.

В спинном мозге животных контрольных и экспериментальных групп HoxB8^+ -клетки были выявлены только в дорсальной части серого вещества в области CC и DREZ (рис. 19). В полётной группе количество HoxB8^+ -клеток увеличивается в 3,4 и 1,6 раз в DREZ и CC, соответственно. Сдвиги в ОРЗК и полётной группах однонаправлены и наиболее выражены в полётной группе. Достоверные различия по этому показателю между восстановленной и контрольной восстановленной группами не выявлены, количество HoxB8^+ -клеток соответствует значениям в аналогичных зонах спинного мозга у интактных мышей и животных контрольной полётной группы. У мышей группы ОРЗК количество HoxB8^+ -клеток возрастает в 3–4 раза по сравнению с интактными животными. Изменение характера подвижности животного в сочетании с воздействием стресса при ОРЗК являются причиной значительного увеличения количества клеток микроглии в шейном утолщении спинного мозга.

Микроглия может активироваться при стрессе, воздействии перегрузки, радиации, невесомости и т.п. У полётных мышей значительное увеличение количества Iba1^+ -клеток может быть связано с синергическим действием этих факторов в условиях космического полёта. Результаты подсчёта клеток микроглии в восстановленной группе свидетельствуют о восстановлении данного показателя в условиях реадaptации животных на Земле.

Таким образом, активация микроглии при ОРЗК и при космическом полёте является одним из факторов патогенеза гипогравитационного двигательного синдрома.

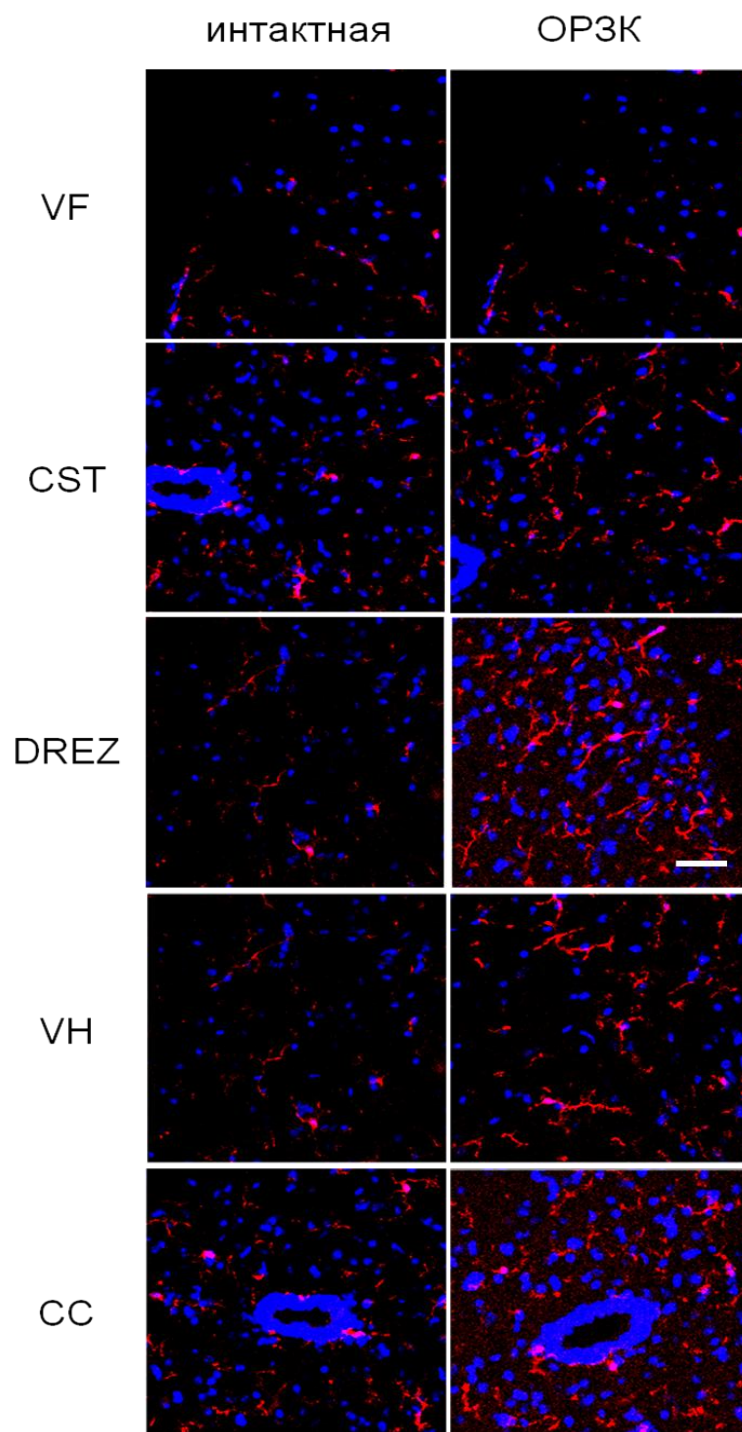


Рис. 18. Экспрессия белка Iba1 (красный) в шейном утолщении спинного мозга на 30 сутки от начала опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) в исследуемых зонах: вентральные канатики (VF), кортикоспинальный тракт в дорсальных канатиках (CST), зона вхождения дорсальных корешков (DREZ), вентральные рога (VH), центральный канал (CC). Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

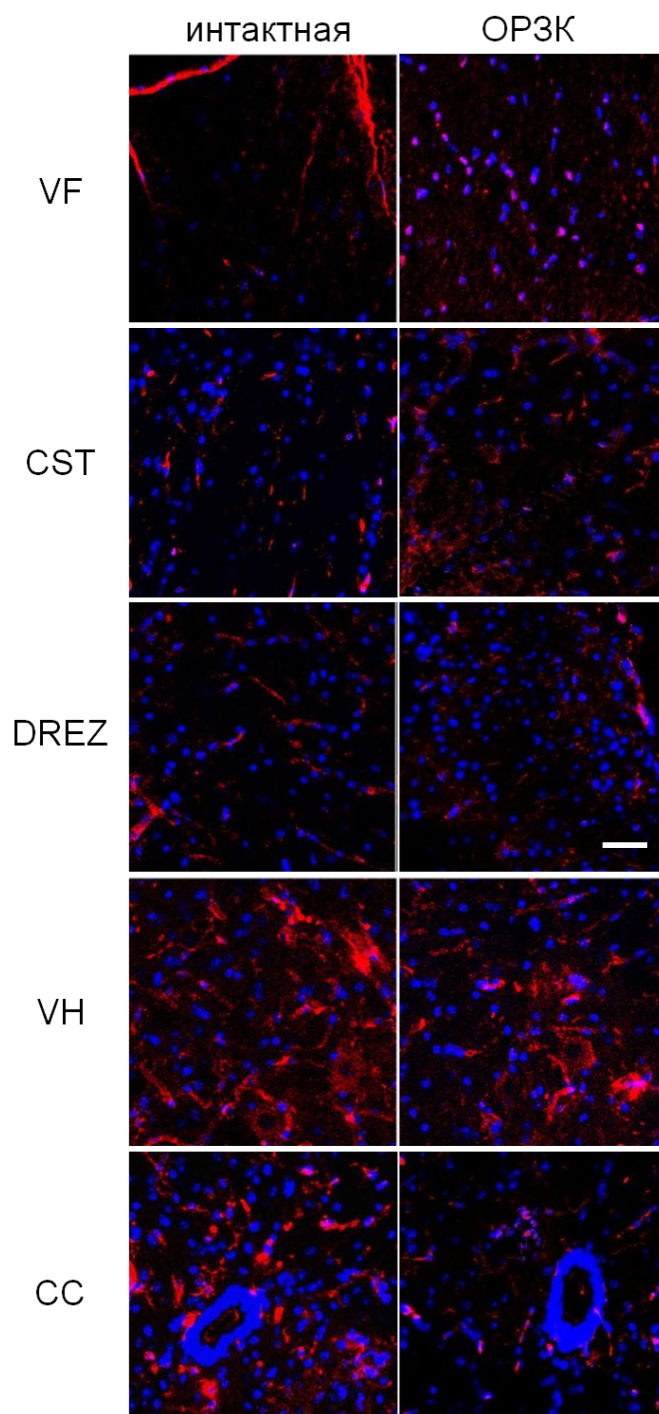


Рис. 19. Экспрессия белка НохВ8 (красный) на 30 сутки от начала опорной разгрузки задних конечностей (ОРЗК) в исследуемых зонах: вентральные канатики (VF), кортикоспинальный тракт в дорсальных канатиках (CST), зона вхождения дорсальных корешков (DREZ), вентральные рога (VH), центральный канал (CC). Ядра визуализированы с DAPI (синий). Масштаб 100 мкм.

5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное нами исследование было направлено на изучение глии в сером и белом веществе спинного мозга мыши на 30 сутки космического полёта на биоспутнике БИОН-М1 и при ОРЗК. В условиях невесомости и симуляции её на Земле в различных зонах спинного мозга выявлена высокая изменчивость глиальных клеток.

Астроциты специфическим образом реагируют на действие повреждающего фактора. При этом увеличиваются размеры их перикариона и отростков [Wilhelmsson et al., 2006], активируется синтез ряда белков, таких как белок S100B [do Carmo Cunha et al., 2007], белков цитоскелета GFAP, а также виментина и нестина, характерных для предшественников астроцитов [Sakakibara et al., 2002; Sofroniew, 2005]. Нами показано, что распределение астроцитов неоднородно в различных областях спинного мозга, с высокой плотностью этих клеток в сером веществе. Полученные нами данные полностью согласуются с представлением о различии в экспрессии белка S100B в сером и белом веществе интактного мозга и о гетерогенности астроцитов по экспрессии GFAP и S100B и по их форме в различных отделах мозга [Emsley, Macklis, 2006].

В нашем исследовании было определено уменьшение количества GFAP⁺-клеток в VH и CC на 30 сутки космического полёта. Данная картина выявлена также при анализе аналогичного показателя в группе ОРЗК. Это может свидетельствовать, во-первых, об однонаправленных реакциях астроцитов в сером веществе в зоне локализации мотонейронов (VH) и в нейрогенной зоне спинного мозга (CC), во-вторых, об одинаковых изменениях при космическом полёте и ОРЗК.

Причины уменьшения экспрессии GFAP в поясничном утолщении спинного мозга в условиях ОРЗК и космического полёта остаются неясными. Из них основной, по-видимому, является апоптоз астроцитов в результате кумулятивного эффекта многих негативных факторов. К таким факторам можно отнести стресс-реакцию, активацию микроглии и изменение

пенетрабельности клеток в мозг, о чем в нашем исследовании свидетельствует увеличение количества Hoxb8^+ -макрофагов. Негативное влияние гравитации на цитоскелет астроцитов, в том числе и на GFAP, было показано в опытах *in vitro* и *in vivo* [Nguon et al., 2004; Uva et al., 2002]. При нейродегенеративных заболеваниях изменения в поведении астроцитов сопровождают гибель нейронов в ЦНС. Так, при боковом амиотрофическом склерозе показана умеренная гибель нейронов в связи с активацией астроцитов [Tripathi et al., 2017]. Реактивные астроциты вызывают апоптоз нейронов в условиях совместного культивирования *in vitro* [Phatnani et al., 2013]. Однако при ОРЗК нейроны не гибнут [Islamov et al., 2011], поэтому предположение о том, что снижение экспрессии белков астроцитов по причине уменьшения количества астроцитов, кажется маловероятным. Также, вероятно, снижение белка GFAP может быть связано с уменьшением экспрессии этого белка в клетках.

Значительное уменьшение объёма ткани в пояснично-крестцовом утолщении спинного мозга [Тяпкина и др., 2013], особенно в VN, может также быть следствием уменьшения количества в этой области астроцитов. Кроме того, в условиях микрогравитации уменьшение объёма ткани может быть результатом угнетения синтеза компонентов внеклеточного матрикса и последующего уменьшения количества присутствующей в нем связанной воды.

В патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома следует учитывать и эффект активации астроцитов. На фоне уменьшения количества GFAP⁺-клеток в поясничном утолщении спинного мозга мыши после космического полёта и ОРЗК представляется интересным факт их значительной активации в DREZ. GFAP⁺-клетки в этой зоне имеют изменённую форму, увеличенный объём с выраженными отростками, по сравнению с аналогичными показателями у интактных животных и мышей контрольной полётной группы. Нами проведён анализ флуоресцентной плотности белка GFAP в DREZ, данные которого коррелируют с результатом

подсчёта количества GFAP⁺-клеток. Увеличение флуоресцентной плотности белка GFAP и количества GFAP⁺-клеток свидетельствует о реактивном астроглиозе в этой зоне. Такое изменение со стороны GFAP⁺-астроцитов в DREZ можно было бы объяснить специфичностью этой зоны, которая является границей между центральной и периферической нервными системами и представляет собой путь, через который афференты входят в ЦНС. Угрызунов в постанатальном периоде в DREZ обнаружен особенный фенотип астроцитов, экспрессирующих тенасцин-С и хондроитин 6-сульфат-содержащие протеоглики [Yang et al., 2016]. Можно предположить, что в разных морфологических зонах спинного мозга астроциты по-разному реагируют на воздействие микрогравитации. Это представление согласуется с общей концепцией о выраженной гетерогенности астроцитов в ЦНС, а также с данными о гетерогенности популяции реактивных астроцитов. Так, в работе Liddelow S. et al. [2017] при ишемии головного мозга были обнаружены два разных типа реактивных астроцитов (A1 и A2). При этом астроциты типа A1 экспрессируют ряд белков, негативно влияющих на структуры синапсов в спинном мозге. Напротив, астроциты типа A2 экспрессируют нейротрофические факторы, стимулирующие нейрорегенерацию.

На 30 сутки космического полёта нами выявлено достоверное увеличение количества S100B⁺-клеток в белом (VF и CST) и сером (CC) веществе спинного мозга. При этом в белом веществе увеличение данного показателя менее выражено. В DREZ показано увеличение флуоресцентной плотности белка S100B, что коррелирует с увеличением этого показателя для GFAP в этой же зоне. При этом стоит отметить, что белок S100B экспрессируется не только в астроглие, но также в различной степени в дифференцированных олигодендроцитах, предшественниках нервных клеток, питуицитах, эпендимоцитах и др. [Sofroniew et al., 2014]. С помощью двойной иммунофлуоресцентной реакции нами выделено как минимум две популяции астроцитов в спинном мозге мыши, такие как GFAP⁺/S100B⁻ и

GFAP⁺/S100B⁺-клетки. При этом количество GFAP⁺/S100B⁺-астроцитов значительно меньше, чем GFAP⁺/S100B⁺-клеток (не астроцитов) и составляет примерно половину количества S100B⁺-клеток. Количество GFAP⁺/S100B⁺-астроцитов снизилось в большей мере, чем количество GFAP⁺/S100B⁺-астроцитов. Это свидетельствует о том, что значительный прирост S100B⁺-клеток в условиях космического полёта приходится на неастроцитарную глию. при ОРЗК количество S100B⁺-клеток снижается, а в условиях космического полёта в тех же зонах, наоборот, повышается.

Белок S100B, как Ca²⁺-связывающий белок группы EF-hand, может выполнять разнообразные функции во внутриклеточных связях [Donato et al., 2013]. Он вызывает быструю перестройку цитоскелета, изменение формы клеток и их способность к миграции, что опосредуется через Src киназу и стимулирование PI3K/Akt и PI3K/RhoA сигнальные пути [Brozzi et al., 2009]. С другой стороны, снижение при ОРЗК экспрессии белка S100B в астроцитах может отражать изменения их морфофункционального состояния, в том числе и характер взаимодействия с нейронами. Белок S100B поддерживает выживание аксотомированных мотонейронов и рассматривается в качестве нейротрофического фактора в спинном мозге [Iwasaki et al., 1997]. Этот взгляд согласуется с устоявшимся представлением о том, что члены семейства S100 участвуют в регуляции фосфорилирования белков, активности ферментов, экспрессии белков цитоскелета, транскрипционных факторов, пролиферации и дифференцировки клеток [Donato et al., 2013]. В этом отношении наиболее значимым представляется участие белка S100B в регуляции Ca²⁺-гомеостаза в нейронах и глии. Модулирующее действие белка S100B на кальциевый гомеостаз реализуется путём влияния на активность Ca²⁺-зависимых молекул, таких как кальмодулин, протеинкиназа C, кальпаин и др. [Donato et al., 2009; 2013], и через повышение Ca²⁺-проницаемости мембраны и высвобождение Ca²⁺ из внутриклеточных депо [Barger, Van Eldik, 1995].

Конкретные представители семейства S100 способны секретироваться в межклеточное пространство и влиять на жизнеспособность нейронов, пролиферацию и дифференцировку астроцитов. Белок S100B при низких концентрациях в межклеточном пространстве, действуя через рецепторы RAGE (receptor for advanced glycation end-products), оказывает поддерживающее влияние на нейроны и снижает реактивность микроглии [Sorci et al., 2013].

Таким образом, в ходе исследования обнаружено снижение количества GFAP⁺-астроцитов в большинстве зон серого и белого вещества. Однако значительное увеличение этих клеток в DREZ свидетельствует об гетерогенности популяции астроцитов в спинном мозге мыши, и, соответственно, различному ответу на воздействие микрогравитации в условиях космического полёта и ОРЗК.

Изменения фенотипа миелинообразующих клеток в ЦНС являются одними из ведущих составляющих в патогенезе хронической травмы спинного мозга, нейропатии, нейродегенеративных и других заболеваний нервной системы. Выполненное нами исследование показало снижение экспрессии ряда маркеров миелинообразующих клеток в поясничном отделе спинного мозга при ОРЗК и космическом полёте. Миелинизация в ЦНС контролируется транскрипционными факторами, основные из которых – это белки Olig1, Olig2 [Mei et al, 2013]. Маркером состояния миелина в ЦНС является белок OSP, основная функция которого заключается во влиянии на проницаемость между слоями миелиновых оболочек [Morita et al., 1999]. Снижение экспрессии OSP в спинном мозге свидетельствует о нарушении процесса миелинизации [Furuse, Tsukita, 2002]. Согласно нашим данным, Olig2⁺-клетки неравномерно распределены в спинном мозге, с высокой плотностью в зонах VH и CST как в норме, так и в условиях микрогравитации. При этом в условиях космического полёта наблюдается снижение численности данной популяции клеток. Только в DREZ было зарегистрировано одновременное увеличение количества Olig2⁺-клеток и

микроглии, наряду с упомянутыми для этой локализации астроцитами. При ОРЗК во всех зонах морфометрии выявлено увеличение количества Olig2⁺-клеток, что свидетельствует об их активации.

Транскрипционный фактор Olig2, принадлежащий семейству basic helix-loop-helix (bHLH), играет ключевую роль в каскадах регуляции транскрипции в ходе генеза мотонейронов и олигодендроцитов в пределах вентральной части спинного мозга. В спинном мозге взрослых мышей Olig2 может поддерживать состояние миелиновой оболочки. В пользу этого предположения свидетельствуют данные, полученные на модели демиелинизации у мышей, согласно которым Olig2 в неделящихся предшественниках олигодендроцитов образует комплекс с другим транскрипционным фактором из Wnt сигнального пути [Fu et al., 2002]. Olig2, как и другие helix-loop-helix транскрипционные факторы, такие как MyoD и NeuroD2, не имея трансдукционного домена белка (protein transduction domain, PTD), тем не менее, обладает способностью проникать через клеточные мембраны [Mie et al., 2012]. Это означает, что выделенный в межклеточное пространство транскрипционный фактор может интернализироваться во многих клетках в микроокружении и стимулировать их дифференцировку. Такое действие Olig2 на олигодендроциты и их предшественники в условиях нарушения структуры миелина при ОРЗК может иметь позитивное приспособительное значение.

Увеличение количества Olig2⁺-клеток может осуществляться за счёт их пополнения из пула предшественников, к которым в частности, относят NG2-клетки [Trotter et al., 2010]. Повышение пролиферативной активности NG2 глии может представлять собой реакцию на повреждения олигодендроцитов.

Уменьшение количества Olig2⁺-клеток в CST и снижение интенсивности флуоресценции белка OSP в VF также свидетельствует в пользу того, что при космическом полёте в олигодендроцитах белого вещества развиваются деструктивные изменения. Снижение количества

миелинообразующих клеток в спинном мозге свидетельствует о роли изменений этих клеток в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома.

Нами обнаружено также уменьшение количества миелинообразующих клеток, экспрессирующих Krox24 и P0 при ОРЗК и в условиях космического полёта. Транскрипционный фактор Krox24 относится к белкам раннего ответа, участвует в регуляции клеточного цикла и дифференцировки миелинообразующих клеток и индуцируется влияниями со стороны нейронов [Bisler et al., 2002]. Можно полагать, что снижение экспрессии этого белка является следствием нарушения взаимоотношений между нейронами и глией, о чем свидетельствуют фенотипические изменения в состоянии всех типов клеток макроглии, выявленные на модели ОРЗК.

Белок P0 (myelin protein zero, MPZ) экспрессируется шванновскими клетками принимает участие в формировании и поддержании компактной структуры миелина благодаря уплотнению прилегающих компонентов на внеклеточной поверхности плазматической мембраны в ходе миелиногенеза. Мутации гена этого белка у человека приводят к различным периферическим нейропатиям. Нокаутные по этому белку, мыши являются экспериментальными моделями болезней Дежерина-Сотта (MPZ $-/-$) и Шарко-Мари-Тута (MPZ $+/-$) [Sidoli et al., 2016]. В нашем исследовании в спинном мозге мышей, как у интактных, так и в группах микрогравитации и симуляции её на Земле, были выявлены клетки, экспрессирующие белок P0. Эти наблюдения свидетельствуют об облигатном присутствии P0⁺-клеток в ЦНС мыши. Экспериментально установлено, что белок P0 взаимодействует с белком периферического миелина PMP22, обнаруженным методом гибридизации *in situ* в олигодендроцитах, что имеет отношение к патогенезу ряда заболеваний ЦНС [Ohsawa et al., 2006]. В подобных расстройствах морфологическим проявлением на более ранних стадиях представляет собой нарушение формирования миелина, которое в итоге приводит к деструкции и дезинтеграции аксонов [Li et al., 2006].

Полученные данные полностью согласуются с данными исследований Тяпкиной и др. [2013]. В этих работах на модели ОРЗК методом электронной микроскопии показано нарушение баланса между процессами поддержания нормальной структуры и деградации миелина в спинном мозге. Этими исследователями также установлено, что при ОРЗК уменьшается экспрессия белка OSP и мРНК, кодирующих белки миелиновых оболочек (P0, Pmp2, Pmp22, Cldn19, Cd9, Prx (транскрипционный вариант 1 и 2)) и участвующих в образовании структуры миелина. Результаты этих наблюдений проясняют патологическое снижение скорости проведения возбуждения по аксонам. Изменение экспрессии белков миелина вполне может сказаться не только на структуре миелина, но и на структуре аксонов нервных клеток. Это связано с вероятным нарушением аксон-глиальных взаимодействий [Möbius et al., 2008].

Объектом нашего внимания были белки не только миелина, но и межклеточной коммуникации. Нами была обнаружена экспрессия белка Cx47 в клетках серого и белого вещества спинного мозга мыши. В условиях космического полёта и ОРЗК выявлено увеличение количества Cx47⁺-клеток. Белок Cx47 экспрессируется преимущественно в олигодендроцитах в сером веществе и в популяции S100B⁺-астроцитов в белом веществе [Odermatt et al., 2003]. В исследовании Menichella et al. [2003] на трансгенных мышях, мутантных по гену cx47 (Cx47-null), показано, что продукт данного гена не влияет на миелинизацию в спинном мозге, но участвует во взаимодействии между олигодендроцитами и астроцитами. Увеличение коммуникационных контактов с участием коннексинов Cx47 и Cx43 между олигодендроцитами и астроцитами стимулирует пролиферативную активность предшественников олигодендроцитов [Liu et al., 2017]. Получены доказательства тому, что астроциты стимулируют пролиферацию олигодендроцитов за счёт экспрессии рецепторов пролиферации (SlprR3) и последующего переноса молекулы в клетки-предшественники олигодендроцитов через межклеточный контакт Cx47 [Xu et al., 2017].

Наше исследование миелообразующих клеток показало, что в спинном мозге мыши существует несколько популяций клеток, функциями которых является синтез молекул миелиновой оболочки. Пребывание мышей в течение 30 суток в условиях ОРЗК и космического полёта приводит к снижению экспрессии маркеров миелообразующих клеток, что может дополнять патогенетическую картину развития гипогравитационного двигательного синдрома. Увеличение количества Sx47⁺-клеток соответствует сдвигам, происходящим в популяции астроцитов и олигодендроцитов. Роль белков миелина, отреагировавших на воздействие космического полёта и ОРЗК, очень велика в развитии патологий, связанных с дефектом миелиновых оболочек [Gould et al., 2008]. Становится очевидным, что изменения в популяциях астроцитов и олигодендроцитов приводят к увеличению количества межклеточных контактов между этими типами клеток. Причиной нарушения структуры миелина может быть опосредованное многими рецепторными входами повышение экспрессии малой ГТФазы RhoA с последующей активацией эффекторной молекулы Rho-ассоциированной киназы (ROCK), участвующей в фосфорилировании многочисленных внутриклеточных молекулярных мишеней. Активация путём фосфорилирования одной из таких молекул, а именно фосфатазы и гомолога тензина (PTEN), вызывает гибель клеток. Весьма возможно, что именно через этот сигнальный путь опосредуется упомянутое выше уменьшение численности популяции клеток макроглии разных типов при гипогравитационном двигательном синдроме.

В нашем исследовании показано, что изменения со стороны глии под действием микрогравитации являются обратимыми. Анализ экспрессии белков миелообразующих и микроглиальных клеток на 7 сутки реадaptации на Земле после космического полёта показал значительное увеличение количества этих клеток в поясничном утолщении спинного мозга, по сравнению с аналогичными показателями в группе космического полёта. Это свидетельствует о восстановлении отклоняющихся показателей в ходе

собственно космического полёта и указывает на потенциальную возможность достаточно быстрой нормализации патологических отклонений в миелиновых волокнах при гипогравитационном двигательном синдроме.

Нами получены результаты исследования влияние ОРЗК и космического полёта на клетки макро- и микроглии в шейном утолщении спинного мозга. Выявлено снижение количества GFAP⁺-клеток, увеличение количества S100B⁺-клеток, снижение экспрессии белков миелина OSP, Krox24 и P0, увеличение количества Olig2⁺- и микроглиальных клеток при ОРЗК и в условиях космического полёта. Полученные результаты цитологического анализа шейного утолщения спинного мозга свидетельствуют об изменениях фенотипов макро- и микроглиальных клеток, при этом указанные сдвиги однонаправленны, но менее выражены, чем в поясничном отделе спинного мозга. Выявленные нами сдвиги в популяциях глиальных клеток в шейном утолщении спинного мозга мыши при ОРЗК и космическом полёте могут быть связаны с изменением характера сократительной функции мышц. Представляется достаточно вероятным, что в условиях, моделирующих гипогравитацию на Земле, т.е. при разгрузке задних конечностей, происходит повышение тонуса мышц передней части тела животного, которое может быть причиной изменений в системе «нейрон – глия» в шейном утолщении спинного мозга. Эти данные подтверждаются исследованием Тяпкиной и др. [2013], в котором выявлено отсутствие сдвигов в шейном отделе в объёме и количестве общего белка, что связано с проявлением нормальной и/или повышенной функциональной нагрузки мышечной ткани передних конечностей мышей, подвергшихся ОРЗК. в котором сравнительный анализ шейного и поясничного отделов спинного мозга крыс при ОРЗК Однонаправленные изменения в популяциях макро- и микроглиальных клеток в шейном и поясничном отделах спинного мозга мыши в условиях невесомости и симуляции её на Земле также свидетельствуют о возможном кумулятивном эффекте многих негативных факторов, таких как радиация, перегрузка и стресс.

Исследованиями последнего времени показано, что хронический стресс может активировать астроциты [Araya-Callís et al., 2012] и микроглию [Hinwood et al., 2012; Walker et al., 2013; Beardsley, Hauser, 2014]. Обнаружено, что стресс сопровождается значительной структурной перестройкой микроглии и усилением высвобождения из её клеток провоспалительных цитокинов [Walker et al., 2013; Salter, Beggs, 2014; Puga et al., 2015]. Поэтому причиной сдвигов в фенотипических характеристиках глиальных клеток при ОРЗК, осуществляемой в течение 30-суточного эксперимента, может быть не моделируемая невесомость, а стресс, вызываемый экспериментальным воздействием, что ставит под сомнение адекватность модели ОРЗК для выявления роли глии в развитии гипогравитационного двигательного синдрома. Показано, что под влиянием стресса гипертрофия и гиперплазия астроцитов и NG2-клеток не изменялись совсем или умеренно снижались [Yang et al., 2016]. Однако хронический стресс у самцов древесной землеройки вызывает уменьшение в гиппокампе количества иммуноцитохимически выявляемых астроцитов [Czeh et al., 2006]. Иммобилизационный стресс у крысы сопровождается увеличением экспрессии транспортера глутамата GLT-1 [Reagan et al., 2004]. При иммобилизационном стрессе в зубчатой извилине гиппокампа выявлено увеличение количества олигодендроцитов и уменьшение количества нейронов [Chetty et al., 2014]. При стрессе установлено значительное увеличение численности NG2-клеток [Seifi et al., 2014].

На моделях стресса показана активация микроглии. Это явление составляет основу воспалительной теории депрессии [Singhal, Baune, 2017]. Показано, что развивающаяся депрессия является следствием действия цитокинов. В ранний период стресса увеличивается уровень экспрессии провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1 (IL-1), IL-6 и фактора некроза опухоли α (TNF α), что приводит к когнитивным и двигательным нарушениям. При этом иммунный ответ при стрессе аналогичен по всем критериям с инфекцией в ЦНС. Среди глиальных клеток, наиболее

чувствительных к действию различных сигналов в ЦНС, можно выделить клетки микроглии, которые участвуют в коммуникациях с глиальными клетками практически всех типов, нейронами и иммунокомпетентными клетками. Популяция микроглии, как и глиальных клеток других типов, достаточно гетерогенна. Особый интерес представляет одна из субпопуляций клеток микроглии, происходящих из костного мозга и экспрессирующих гомеобоксный ген *hoxb8* [Holstege et al., 2008]. У мутантных по этому гену мышей имеются дефекты чувствительности, в первую очередь ноцицепции, и нарушение поведенческих реакций, которые связывают с клетками микроглии именно этой субпопуляции [Schlegelmilch et al., 2011]. Подобные нарушения функции могут наблюдаться в условиях невесомости.

Иммуноцитохимический маркер Iba1 позволяет осуществлять точную идентификацию микроглиоцитов в спинном мозге. Нами выявлено увеличение количества Iba1⁺-клеток в спинном мозге поясничного утолщения на 30 сутки ОРЗК и космического полёта. Это наблюдение свидетельствует об активации микроглии в ЦНС под действием реальной микрогравитации и симуляции её на Земле.

При ОРЗК и в условиях космического полёта исследуемые Iba1⁺-клетки спинного мозга мыши имеют как округлую, без отростков, так и неправильную, отростчатую форму. В соответствующих контрольных группах в спинном мозге в основном наблюдаются клетки округлой формы. Различие в морфологии клеток микроглии в спинном мозге в экспериментальных группах может свидетельствовать о том, что они пребывают на различных стадиях дифференцировки. Однако есть и другое возможное объяснение изменению формы клеток, количества и длины отростков, которое имеет в виду реактивные изменения структуры микроглии в ответ на действие патологических факторов, таких как стресс, травма, ишемия и нейродегенерация. Это предположение находит подтверждение в исследованиях микроглии на моделях ишемии и травмы спинного мозга. В группе космического полёта выявлено одновременное

наличие микроглиоцитов отростчатой формы с различной морфологией перикариона и отростков, что свидетельствует об активации микроглии, а также клеток амебиодной формы, которые по морфологическим признакам ближе к макрофагам [Wilson, Molliver, 1994]. При дегенеративных процессах клетки микроглии приобретают округлую форму и способны фагоцитировать материал дегенерирующих клеток. Следовательно, активация микроглии, которая отражается в изменении морфологии клетки, служит индикатором патологических нарушений в спинном мозге.

Популяция микроглии, как и глиальных клеток других типов, достаточно гетерогенна. Особый интерес представляет одна из субпопуляций клеток микроглии, происходящих из костного мозга и экспрессирующих гомеобоксный ген *hoxb8* [Caspari et al., 2003; Dasen et al., 2003; Holstege et al., 2008].

В спинном мозге животных контрольных и экспериментальных групп *HoxB8*⁺-клетки были выявлены преимущественно в дорсальной части серого вещества в области СС и DREZ. Это наблюдение позволяет высказать предположение о том, что присутствие этих клеток связано с их возможной миграцией из крови в серое вещество в DREZ и из ликвора в области СС. Данная локализация *HoxB8*⁺-клеток в спинном мозге свидетельствует в пользу представления о том, что эти клетки являются мигрантами. В работе Holstege et al. [2008] *HoxB8*⁺-клетки были обнаружены исключительно в тех же морфологических областях спинного мозга, что и в наших экспериментах. Однако нельзя не принимать во внимание и другое предположение, согласно которому присутствие этой популяции клеток связано с дифференцировкой из предшественников, постоянно присутствующих в спинном мозге.

Известны патологические нарушения спинного мозга, связанные с клетками микроглии именно этой субпопуляции. У мутантных по этому гену мышей имеются дефекты чувствительности, в первую очередь ноцицепции, и нарушение поведенческих реакций. Подобные нарушения функции могут наблюдаться в условиях невесомости. В пользу этого предположения

свидетельствуют известные данные о роли сенсорного входа и о дефиците афферентной импульсации в развитии гипогравитационного двигательного синдрома [Григорьев и др., 2004; Grigoriev et al., 2004]. В исследованиях на человеке и животных, посвященных изучению влияния гипогравитации в условиях реального космического полёта и на наземных моделях, имитирующих невесомость, выявлена ключевая роль опоры. Отсутствие опорной и механической нагрузок запускает каскад патологических изменений таких, как уменьшение активности опорного афферентного входа, снижение тонической активности мышц. [Григорьев и др., 2004; Fitts et al., 2010].

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема патогенеза гипогравитационного двигательного синдрома остается нерешенной несмотря на более чем полувековой опыт исследований эффектов гипогравитации на организм млекопитающих. Воздействие невесомости на скелетно-мышечную систему запускает ряд состояний, в результате которых у космонавтов по возвращению на Землю регистрируется различные нарушения в работе опорно-двигательного аппарата. Нарушения, выявленные в скелетной ткани после реальной и смоделированной гипогравитации (изменения фенотипа, атрофия, снижение работоспособности и тонуса, нарушения походки и координации движений), указывают о развитии сдвигов в механизме моторного контроля мышц. В условиях ОРЗК были зарегистрированы изменения со стороны как фенотипа мышц, так и мотонейронов. Морфофункциональные изменения в нейронах в условиях ОРЗК и космического полёта могут быть первичными или быть опосредованы влияниями со стороны глиальных клеток. При этом роль глиального компонента и информационных межклеточных взаимодействий в системе «нейрон – глия» в развитии гипогравитационного двигательного синдрома остаётся неясной. Есть основание полагать, что изменение характера взаимодействий между нейронами и глией в спинном мозге при гипогравитационном двигательном синдроме приводит к нарушению морфофункционального состояния мотонейронов, девиантного поведения, нарушению механизмов, обеспечивающих обучение или память, к развитию нейродегенеративных расстройств, что отрицательным образом отражается на состоянии человека, находящегося в условиях космического полета [Rea et al., 2016]. Данные факты послужили почвой для предположения, согласно которого глия поясничного отдела является немаловажным звеном в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома.

Для исследования механизмов патогенеза данного синдрома широко применяется метод ОРЗК на Земле, где в качестве модельного объекта используются грызуны (мыши и крысы). Благодаря этому методу, появляется

возможность изучать клеточные и молекулярно-генетические факторы развития гипогравитационного двигательного синдрома. Целью нашего исследования явилось изучение реакции глиальных клеток спинного мозга мыши при развитии гипогравитационного двигательного синдрома при ОРЗК и в условиях реального космического полёта.

Полученные результаты исследования показали, что глиальные клетки поясничного отдела спинного мозга являются одним из ключевых звеньев патогенеза гипогравитационного двигательного синдрома. Пребывание мышей в течение 30 суток в условиях космического полёта или при ОРЗК приводит к изменениям в популяции GFAP⁺-, S100B⁺-, GFAP⁺/S100B⁺-астроцитов в поясничном утолщении спинного мозга. Эти изменения с учётом тесных информационных и метаболических взаимодействий в системе «нейрон-глия».

Нами установлено, что в поясничном утолщении спинного мозга мышей длительное отсутствие гравитации приводит к изменениям со стороны миелинообразующих клеток, экспрессирующих специфические белки OSP, Olig2, P0, Krox24. Результаты уменьшения количества OSP⁺-, Olig2⁺-, P0⁺-, Krox24⁺-клеток позволяют заключить, что уменьшение опорной и механической нагрузок на скелетные мышцы задних конечностей при ОРЗК и космическом полёте у животных замедляет скорость проведения потенциала действия по аксонам нейронов, и как следствие, изменяет функциональное состояние мышечной ткани.

В условиях космического полёта и ОРЗК в спинном мозге увеличивается количество Iba1⁺- и НохВ8⁺-клеток микроглии, что свидетельствует об ее активации при воздействии реальной и симулируемой невесомости на Земле и может неблагоприятным образом отразиться на двигательной функции.

Результаты нашего исследования позволяют заключить, что изменения со стороны глии под действием микрогравитации являются обратимыми. Увеличение экспрессии маркеров миелинообразующих и

уменьшение количества микроглиальных клеток на 7 сутки реадaptации на Земле после космического полёта свидетельствует о восстановлении отклоняющихся показателей в ходе собственно космического полёта и указывает на потенциальную возможность достаточно быстрой нормализации патологических отклонений в миелиновых волокнах при гипогравитационном двигательном синдроме.

Неоднозначные изменения макро- и микроглиальных клеток в шейном и поясничном отделах спинного мозга мыши в условиях невесомости и симуляции её на Земле могут свидетельствовать о кумулятивном эффекте многих негативных факторов, таких как гипогравитация, радиация, перегрузка и стресс. При проверке гипотезы о вероятности влияния ОРЗК и космического полёта на спинной мозг в целом, были получены результаты цитологического анализа шейного утолщения спинного мозга, которые свидетельствуют об изменениях фенотипов макро- и микроглиальных клеток. При этом в шейном утолщении эти сдвиги однонаправленны, но менее выражены, чем в поясничном отделе спинного мозга. Выявленные сдвиги в количестве клеток в шейном утолщении при ОРЗК и космическом полёте могут быть связаны с изменением характера сократительной функции мышц. Представляется достаточно вероятным, что в условиях, моделирующих гипогравитацию на Земле, т.е. при разгрузке задних конечностей, происходит повышение тонуса мышц передней части тела животного, которое может быть причиной изменений в системе «нейрон – глия» в шейном утолщении спинного мозга.

Таким образом, в условиях 30-суточного космического полёта выявленные изменения численности астроцитов, олигодендроцитов, миелинообразующих и микроглиальных клеток в поясничном утолщении спинного мозга мыши свидетельствуют об участии глии в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома. Оценка вклада этих факторов в формирование нарушений локомоторной функции очень важна для понимания механизмов развития гипогравитационного двигательного

синдрома, поскольку имеющиеся на сегодняшний момент методы профилактики и коррекции патологических состояний космонавтов призывают к разработке высокоэффективных мероприятий. Данные проведённых исследований могут быть использованы для рассмотрения глии в качестве мишени при разработке средств профилактики моторных расстройств при гипогравитационном двигательном синдроме в условиях длительных космических полётов.

7. ВЫВОДЫ

1. Пребывание мышей в течение 30 суток в условиях космического полёта или при опорной разгрузке задних конечностей приводит к изменениям в популяции GFAP⁺-, S100B⁺-, GFAP⁺/S100B⁺-астроцитов в поясничном и шейном утолщениях спинного мозга.
2. В условиях космического полёта и при опорной разгрузке задних конечностей сдвиги в фенотипе глиальных клеток в шейном отделе спинного мозга аналогичны сдвигам в поясничном отделе, но выражены слабее.
3. В условиях космического полёта и при опорной разгрузке задних конечностей в поясничном утолщении спинного мозга обнаружено уменьшение количества миелинообразующих клеток, экспрессирующие OSP, Olig2, P0, Krox24.
4. Увеличение экспрессии маркеров и количества миелинообразующих клеток на 7 сутки реадaptации на Земле после космического полёта подтверждает достоверность уменьшения количества миелинообразующих клеток в ходе космического полёта, свидетельствует о восстановлении снижающихся показателей миелинизации и указывает на потенциальную возможность достаточно быстрого устранения патологических изменений в миелиновых волокнах при гипогравитационном двигательном синдроме.
5. В условиях космического полёта и при опорной разгрузке задних конечностей количество Iba1⁺- и NoxB8⁺-клеток в поясничном и шейном утолщениях спинного мозга увеличивается, что свидетельствует об активации микроглии при воздействии реальной и симулирующей на Земле невесомости, что может быть одним из ключевых факторов в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома.

8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев-Андриевский, А.А. Экспериментальные исследования на мышцах по программе полета биоспутника «Бион-М1» / А.А. Андреев-Андриевский, Б.С. Шенкман, А.С. Попова, О.Н. Долгих, К.В. Анохин, П.Э. Солдатов, Е.А. Ильин, В.Н. Сычев // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2014. – Т. 48, №1. – С. 14–26.
2. Генин, А.М. Биоэтические правила проведения исследований на человеке и животных в авиационной, космической и морской медицине / А.М. Генин, А.Е. Ильин, А.С. Капланский, Т.Б. Касаткина, и др. // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2001. – Т.4. – С.14–20.
3. Григорьев, А.И. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы / А.И. Григорьев, И.Б. Козловская, Б.С. Шенкман // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2004. – Т. 90, № 5. – С. 508–521.
4. Ильин, Е.А., Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами / Е.А. Ильин, В.Е. Новиков // Космическая биология. – 1980. – Т. 14, № 3. – С. 79–80.
5. Исламов, Р.Р. Экспрессия холинацетилтрансферазы в мотонейронах спинного мозга крыс после антиортостатического вывешивания / Р.Р. Исламов, О.В. Тяпкина, Л.О. Ягодина, Н.Н. Ибрагимова, В.В. Валиуллин, И.Б. Козловская, Е.Е. Никольский // Доклады академии наук. - 2007. – Т. 414, № 6. – С. 1–3.
6. Исламов, Р.Р. Устойчивость к апоптозу мотонейронов спинного мозга крыс в условиях моделирования гипогравитации / Р.Р. Исламов, О.В. Тяпкина, Г.Ф. Шаймарданова, И.Б. Козловская, Е.Е. Никольский // Доклады академии наук. - 2008. – Т. 420, № 3. – С. 1–3.
7. Исламов, Р.Р. Полногеномное исследование экспрессии генов в поясничном отделе спинного мозга мыши при моделировании эффектов невесомости / Р.Р. Исламов, А.А. Ризванов, О.В. Тяпкина,

- Б.С. Шенкман, И.Б. Козловская, Е.Е. Никольский, А.И. Григорьев // Доклады Академии Наук. - 2011. – Т.439, № 3. – С. 416–420.
8. Исламов, Р.Р. Роль мотонейронов спинного мозга в механизмах развития гипогравитационного двигательного синдрома / Р.Р. Исламов, О.В. Тяпкина, Е.Е. Никольский, И.Б. Козловская, А.И. Григорьев. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013а. – Т. 99, № 3. – С. 281–293.
9. Исламов, Р.Р. Влияние опорной разгрузки задних конечностей на состояние миелинизированных волокон в поясничном отделе спинного мозга мыши. / Р.Р. Исламов, Н.И. Ланник, Г.Ф. Шаймарданова, П.Н. Резвяков, О.В. Тяпкина, А.А. Ризванов, Ю.А. 25 Чельшев, И.Б. Козловская, Е.Е. Никольский. // Доклады Академии Наук. – 2013б. – Т. 452, № 3. – С. 339–341.
10. Какурин, Л. И. Функциональные расстройства при гипокинезии у человека /Л. И. Какурин, Б. С. Катковский, В. Георгиевский, В. М. Михайлов // Вопр. курор., физиотер. и леч. физ. культ. – 1970. – Т. 1, № 1. – С. 19–24.
11. Кирик, О.В. Кальцийсвязывающий белок *iba-1/aif-1* в клетках головного мозга крысы / О.В. Кирик, Е.Г. Сухорукова, Д.Э. Коржевский // Морфология. – 2010. – Т. 137, № 2. – С. 5–8.
12. Козловская, И.Б. Сравнительный анализ влияния реальной и стимулируемой микрогравитации на силовые свойства и тонус скелетных мышц человека / И.Б. Козловская, Л.С. Григорьева, Г.И. Гевлич // Космическая биология и авиакосмическая медицина – 1984. – Т.6. – С. 22–26.
13. Никольский, Е.Е. Изменения скелетных мышечных волокон и нервно–мышечных синапсов при гипокинезии и первичной миопатии. Поиск путей коррекции нарушений. /Е.Е. Никольский, Б.С. Шенкман, З.А. Подлубная, Т.Л. Немировская, Э.А. Бухараева, А.М. Мухин, И.М.

- Вихлянцев, О.В. Туртикова, О.В. Тяпкина, И.Н. Чистяков // Фундаментальные науки – медицине. – 2005. – С. 46–48.
14. Основные маркеры нейроглии. Таблица 1. [Электронный ресурс] // BioFile. – Режим доступа: <http://biofile.ru/bio/9966.html> (дата обращения: 17.03.2017).
15. Саенко, И. В. Влияние 120–суточной антиортостатической гипокинезии на характеристики сухожильных рефлексов / И.В. Саенко, Д.Г. Саенко, И.Б. Козловская // Авиакосм. и экол. Мед. – 2000. – Т. 34, № 4. – С. 13–18.
16. Тяпкина, О.В. Квантовая и неквантовая секреция ацетилхолина в мионевральных синапсах мышц разного функционального типа при моделировании гипогравитации / О.В. Тяпкина, А.И. Маломуж, Л.Ф. Нуруллин, Е.Е. Никольский. // Доклады Академии Наук. – 2013. – Т. 488, № 1. – С. 105–108.
17. Челышев, Ю. А. Глиальные NG2-клетки в нейроонтогенезе и регенерации / Ю. А. Челышев, Г. Ф. Шаймарданова // Неврологический вестник. – 2010. – Т. 42, № 4. – С. 84–90.
18. Шенкман, Б.С. От медленных к быстрым. Гипогравитационная перестройка миозинового фенотипа мышечных волокон. / Б.С. Шенкман // Acta Naturae. – 2016. – Т. 8, № 30 – С. 86–99.
19. Шенкман, Б.С. Сократительные характеристики волокон и белки саркомерного цитоскелета m. Soleus человека в условиях гравитационной разгрузки. Роль опорного стимула / Б.С. Шенкман, З.А. Подлубная, И.М. Вихлянцев, К.С. Литвинова, С.Н. Удальцов, Т.Л. Немировская, Ю.С. Лемешева, А.М. Мухина, И.Б. Козловская // Биофизика. – 2004. – Т. 49, №. 5. – С. 881–890.
20. Шульженко, Е.Б. Возможность проведения длительной водной иммерсии методом "сухого" погружения / Е.Б. Шульженко, И.Ф. Виль-Вильямс // Косм. биол. и авиакосм, мед. – 1976. – Т. 10. – С. 82–84.

- 21.Шумилина, Ю.В. Изоформный состав белков миозиновых нитей в миокарде монгольских песчанок (*meriones unguiculatus*) после космического полёта / Ю.В. Шумилина, И.М. Вихлянцев, З.А. Подлубная, И.Б. Козловская // Доклады Академии Наук. – 2010. – Т. 430, № 2 – С. 264–267.
- 22.Adams, G.R. Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models / G.R. Adams, V.J. Caiozzo, K.M. Baldwin // J Appl Physiol. – 2003. – V. 95. – P. 2185–2201.
- 23.Aguzzi, A. Microglia: scapegoat, saboteur, or something else? / A. Aguzzi, B.A. Barres, M.L. Bennett // Science. – 2013. – V. 339, № 6116. – P. 156–161.
- 24.Allaman, I. Astrocyte–neuron metabolic relationships: for better and for worse. / I. Allaman, M. Bélanger, P.J. Magistretti // J. Trends Neurosci. – 2011. – V.34. – P. 76–87.
- 25.Anderson M.A. Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration / M.A. Anderson, J.E. Burda, Y. Ren, Y. Ao, T.M. O’Shea, R. Kawaguchi, G. Coppola, B.S. Khakh, T.J. Deming, M.V.Sofroniew // Nature. – 2016. – V. 532. – P. 195–200.
- 26.Anderson, R.E. High serum S100B levels for trauma patients without head injuries / R.E. Anderson, L.O. Hansson, O. Nilsson, R. Djalil–Merzoug, G. Settergren // Neurosurgery. – 2001. – V. 48, № 6. – P. 1255–1258.
- 27.Anwar, M.A. Inflammogenesis of Secondary Spinal Cord Injury / M.A. Anwar, T.S. Al Shehabi, A.H. Eid // Front Cell Neurosci. – 2016. – V. 10, №98. doi: 10.3389/fncel.2016.00098. eCollection 2016.
- 28.Araya–Callís, C. Chronic psychosocial stress and citalopram modulate the expression of the glial proteins GFAP and NDRG2 in the hippocampus / C. Araya–Callís, C. Hiemke, N. Abumaria, G. Flugge // Psychopharmacology (Berl). – 2012. – V. 224, № 1. – P. 209–222.

29. Asher R.A. Two separate metalloproteinase activities are responsible for the shedding and processing of the NG2 proteoglycan in vitro / R.A. Asher, D.A. Morgenstern, F. Properzi, A. Nishiyama, J.M. Levine, J.W. Fawcett // *Mol Cell Neurosci.* – 2005. – V. 29, № 1. – P. 82–96.
30. Bajor M. An Interplay of S-Nitrosylation and Metal Ion Binding for Astrocytic S100B Protein / M. Bajor, M. Zaręba-Kozioł, L. Zhukova, K. Goryca, J. Poznański, A. Wyślouch-Cieszyńska // *PLoS One.* – 2016. – V. 11. – P. 128-136.
31. Banasret, M. and Duman, R. S. Regulation of neurogenesis and gliogenesis by stress and antidepressant treatment / M. Banasr, R.S. Duman // *CNS Neurol Disord Drug Targets.* – 2007. – V. 6, № 5. – P. 311–320.
32. Barateiro A. S100B as a Potential Biomarker and Therapeutic Target in Multiple Sclerosis / A. Barateiro, V. Afonso, G. Santos, J.J. Cerqueira, D. Brites, J. van Horssen, A. Fernandes // *Mol. Neurobiol.* – 2016. – V. 53. – P. 3976–3991.
33. Barger, S.W. and Van Eldik, L.J. S100 beta protects hippocampal neurons from damage induced by glucose deprivation / S.W. Barger, L.J. Van Eldik // *Brain Res.* – 1995. – V. 677. – P. 167–170.
34. Barres, B.A. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease / B.A. Barres // *Neuron.* – 2008. – V. 60. – P. 430–440.
35. Beardsley, P. M. and Hauser, K. F. Glial modulators as potential treatments of psychostimulant abuse / P. M. Beardsley, K. F. Hauser // *Adv Pharmacol.* – 2014. – V. 69. – P. 1–69.
36. Bianchi R. S100B binding to RAGE in microglia stimulates COX-2 expression / R. Bianchi, C. Adami, I. Giambanco, R. Donato // *J Leukoc Biol.* – 2007. – V. 81. – P. 108–118.
37. Bianchi R. S100B/RAGE-dependent activation of microglia via NF- κ B and AP-1 Co-regulation of COX-2 expression by S100B, IL-1 β and

- TNF- α / R. Bianchi, I. Giambanco, R. Donato // *Neurobiol Aging*. – 2010. – V. 31. – P. 665–677.
38. Birch A.M. The contribution of astrocytes to Alzheimer's disease / A.M. Birch // *Biochem Soc Trans*. – 2014. – V. 42. – P. 1316–1320.
 39. Bisler, S. Expression of c-Fos, ICER, Krox-24 and JunB in the whisker-to-barrel pathway of rats: time course of induction upon whisker stimulation by tactile exploration of an enriched environment / S. Bisler, A. Schleicher, P. Gass, J.H. Stehle, K. Zilles, J.F. Staiger // *J Chem Neuroanat*. – 2002. – V. 23, № 3. – P. 187–198.
 40. Blakemore, W. F. and Keirstead, H. S. The origin of remyelinating cells in the central nervous system / W. F. Blakemore, H. S. Keirstead // *J Neuroimmunol*. – 1999. – V. 98. – P. 69–76.
 41. Booth, F.W. and Grindeland, R.E. Comparison of the physiology of the spaceflight and hindlimb suspended rat. in *Final Reports of the U.S.* / F.W. Booth, R.E. Grindeland // *Experiments Flown on the Soviet Biosatellite Cosmos 2044*. – P. 275–281.
 42. Brabeck C. Effect of focal cerebral infarctions on lesional RhoA and RhoB expression / C. Brabeck, M. Mittelbronn, K. Bekure, R. Meyermann, H.J. Schluesener, J.M. Schwab // *Arch Neurol*. – 2003. – V. 60. – P. 1245–1249.
 43. Braughler, J.M. The involvement of iron in lipid peroxidation / J.M. Braughler, L.A. Duncan, R.L. Chase // *J Biol Chem*. – 1986. – V. 261. – P. 10282–10289.
 44. Brennan F.H. The Complement Receptor C5aR Controls Acute Inflammation and Astroglisis following Spinal Cord Injury / F.H. Brennan, R. Gordon, H.W. Lao, P.J. Biggins, S.M. Taylor, R.J. Franklin, T.M. Woodruff, M.J. Ruitenberg // *J Neurosci*. – 2015. – V. 35. – P. 6517–6531.
 45. Brozzi, F. S100B protein regulates astrocyte shape and migration via interaction with Src Kinase: implications for astrocyte development, activation, and tumor growth / F. Brozzi, C. Arcuri, I. Giambanco, R. Donato // *J Biol Chem*. – 2009. – V. 284, №13. – P. 8797–8811.

46. Burda J.E. Astrocyte roles in traumatic brain injury / J.E. Burda, A.M. Bernstein, M.V. Sofroniew // *Exp Neurol.* – 2016. – V. 275. – P. 305–315.
47. Cai, J. Generation of oligodendrocyte precursor cells from mouse dorsal spinal cord independent of Nkx6 regulation and Shh signaling / J. Cai, Y. Qi, X. Hu, M. Tan, Z. Liu, J. Zhang, Q. Li, M. Sander, M. Qiu // *Neuron.* – 2005. – V. 45 – P. 41–53.
48. Caiozzo, V.J. Microgravity–induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle / V.J. Caiozzo, F. Haddad, M.J. Baker // *J. Appl. Physiol.* – 1996. – V. 81, P. 123–132.
49. Caspary, T. and Anderson, K.V. Patterning cell types in the dorsal spinal cord: what the mouse mutants say / T. Caspary, K.V. Anderson // *Nat Rev Neurosci.* – 2003. – V. 4, №4. – P. 289-297.
50. Castrén, E. and Rantamäki, T. Neurotrophins in depression and antidepressant effects / E. Castrén, T. Rantamäki // *Novartis Found Symp.* – 2008. – V. 289.– P. 43–52.
51. Cavaliere, F. NMDA modulates oligodendrocyte differentiation of subventricular zone cells through PKC activation / F. Cavaliere, M. Benito–Muñoz, M. Panicker, C. Matute // *Front Cell Neurosci.* – 2013. – V. 7. – P. 261.
52. Ceschi M.A. Novel series of tacrine–tianeptine hybrids: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity, S100B secretion and a molecular modeling approach / M.A. Ceschi, J.S. da Costa, J.P. Lopes, V.S. Câmara, L.F. Campo, A.C. Borges, C.A. Gonçalves, D.F. de Souza, E.L. Konrath, A.L. Karl, I.A. Guedes, L.E. Dardenne // *Eur J Med Chem.* – 2016. – V. 121. – P. 758–772.
53. Cheepsunthorn, P. Cellular distribution of ferritin subunits in postnatal rat brain / P. Cheepsunthorn, C. Palmer, J.R. Connor // *J Comp Neurol.* – 1998. – V. 400. – P. 73–86.
54. Chen C. Role of astroglia in Down's syndrome revealed by patient–derived human–induced pluripotent stem cells / C. Chen, P. Jiang, H. Xue, S.E.

- Peterson, H.T. Tran, A.E. McCann, M.M. Parast, S. Li, D.E. Pleasure, L.C. Laurent, J.F. Loring, Y. Liu, W. Deng // *Nat Commun.* – 2014.
- 55.Chen M. Spatiotemporal Expression of EAPP Modulates Neuronal Apoptosis and Reactive Astrogliosis After Spinal Cord Injury / M. Chen, Y. Ni, Y. Liu, X. Xia, J. Cao, C. Wang, X. Mao, W. Zhang, C. Chen, X. Chen, Y. Wang // *J Cell Biochem.* – 2015. – V. 116. – P. 1381–1390.
- 56.Chen, S.K. Hematopoietic origin of pathological grooming in Hoxb8 mutant mice / S.K. Chen, P. Tvrdik, E. Peden, S. Cho, S. Wu, G. Spangrude, M.R. Capecchi // *Cell.* – 2010. – V.141. – P. 775–785.
- 57.Chetty, S. Stress and glucocorticoids promote oligodendrogenesis in the adult hippocampus / S. Chetty, A.R. Friedman, K. Taravosh-Lahn, E.D. Kirby, C. Mirescu, F. Guo, D. Krupik, A. Nicholas, A. Geraghty, A. Krishnamurthy, M.K. Tsai, D. Covarrubias, A. Wong, D. Francis, R.M. Sapolsky, T.D. Palmer, D. Pleasure, D. Kaufer // *Mol Psychiatry.* – 2014. – V. 19, № 12. – P. 1275–1283.
- 58.Cirillo C. S100B Inhibitor Pentamidine Attenuates Reactive Gliosis and Reduces Neuronal Loss in a Mouse Model of Alzheimer's Disease / C. Cirillo, E. Capoccia, T. Iuvone, R. Cuomo, G. Sarnelli, L. Steardo, G. Esposito // *Biomed Res Int.* – 2015. – V.2015, № 2015. – P. 11.
- 59.Clarke L.E. and Barres B.A. Emerging roles of astrocytes in neural circuit development / L. E. Clarke, B.A. Barres // *Nat Rev Neurosci.* – 2013. – V. 14. – P. 311–321.
- 60.Czéh, B. Astroglial plasticity in the hippocampus is affected by chronic psychosocial stress and concomitant fluoxetine treatment / B. Czéh, M. Simon, B. Schmelting, C. Hiemke, E. Fuchs // *Neuropsychopharmacology.* – 2006. – V. 31, № 8. – P. 1616–1626.
- 61.Dasen, J.S. Motor neuron columnar fate imposed by sequential phases of Hox-c activity / J.S. Dasen, J.P. Liu, T.M. Jessell // *Nature.* – 2003. – V. 425. – P. 926–933.

62. Day, J. R. Effects of microgravity and bone morphogenetic protein II on GFAP in rat brain / J.R. Day, A.T. Frank, J.P. O'Callaghan, B.W. DeHart // *J Appl Physiol.* – 1998. – V. 85. – P. 716–722.
63. de Pablos, R.M. Chronic stress enhances microglia activation and exacerbates death of nigral dopaminergic neurons under conditions of inflammation / R.M. de Pablos, A.J. Herrera, A.M. Espinosa–Oliva, M. Sarmiento, M.F. Muñoz, A. Machado, J.L. Venero // *J Neuroinflammation.* – 2014. – V. 11. – P. 34.
64. de Vivo, L. Extracellular matrix inhibits structural and functional plasticity of dendritic spines in the adult visual cortex / L. de Vivo, S. Landi, M. Panniello, L. Baroncelli, S. Chierzi, L. Mariotti, M. Spolidoro, T. Pizzorusso, L. Maffei, G.M. Ratto // *Nat Commun.* – 2013. – V. 4. – P. 1484.
65. Devaux, J. and Gow, A. Tight junctions potentiate the insulative properties of small CNS myelinated axons / J. Devaux, A. Gow // *J Cell Biol.* – 2008. – V. 183, № 5. – P. 909–921.
66. Ding J. Rho kinase inhibitor Fasudil induces neuroprotection and neurogenesis partially through astrocyte–derived G-CSF / J. Ding, J.Z. Yu, Q.Y. Li, X. Wang, C.Z. Lu, B.G. Xiao // *Brain Behav Immun.* – 2009. – V. 23, № 8. – P. 1083–1088.
67. Dityatev A. The dual role of the extracellular matrix in synaptic plasticity and homeostasis / A. Dityatev, M. Schachner, P. Sonderegger // *Nat Rev Neurosci.* – 2010. – V. 11. – P. 735–746.
68. do Carmo Cunha, J. Responses of reactive astrocytes containing S100beta protein and fibroblast growth factor–2 in the border and in the adjacent preserved tissue after a contusion injury of the spinal cord in rats: implications for wound repair and neuroregeneration / J. do Carmo Cunha, B. de Freitas Azevedo Levy, B.A. de Luca, M.S. de Andrade, V.C. Gomide, G. Chadi // *Wound Repair Regen.* – 2007. – V. 15, № 1. – P. 134–146.

69. Donato, R. Functions of S100 proteins / R. Donato, B.R. Cannon, G. Sorci, F. Ruzizi, K. Hsu, D.J. Weber, C.L. Gecsy // *Curr Mol Med.* – 2013. – V. 13, №1. – P. 24–57.
70. Donato, R. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal / R. Donato, G. Sorci, F. Ruzizi, C. Arcuri, R. Bianchi, F. Brozzi, C. Tubaro, I. Giambanco // *Biochim Biophys Acta.* – 2009. – V. 1793. – P. 1008–1022.
71. Douville, R. Identification of active loci of a human endogenous retrovirus in neurons of patients with amyotrophic lateral sclerosis / R. Douville, J. Liu, J. Rothstein, A. Nath // *Ann Neurol.* – 2011. – V. 69. – P. 141–151.
72. Edgerton, V.R. Neural and neuroendocrine adaptations to microgravity and ground-based models of microgravity / V.R. Edgerton, R.R. Roy, M.R. Recktenwald, J.A. Hodgson, R.E. Grindeland, I. Kozlovskaya // *J Gravit Physiol.* – 2000. – V. 7. – P. 45–52.
73. Edgerton, V.R. Theoretical basis for patterning EMG amplitudes to assess muscle dysfunction / V.R. Edgerton, S.L. Wolf, D.J. Levendowski, R.R. Roy // *Med Sci Sports Exerc.* – 1996. – V. 28, № 6. – P. 744–751.
74. Ekdahl, C.T. Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia / C.T. Ekdahl, Z. Kokaia, O. Lindvall // *Neuroscience.* – 2009. – V. 158. – P. 1021–1029.
75. Emsley, J.G. and Macklis, J.D. Astroglial heterogeneity closely reflects the neuronal-defined anatomy of the adult murine CNS / J.G. Emsley, J.D. Macklis // *Neuron Glia Biol.* – 2006. – V. 2, №3. – P. 175–186.
76. Espinosa de los Monteros, A. Grafting of fast blue labeled glial cells into neonatal rat brain: differential survival and migration among cell types / A. Espinosa de los Monteros, R. Bernard, B. Tiller, P. Rouget, J. de Vellis // *Int J Dev Neurosci.* – 1993. – V. 11, № 5. – P. 625–639.

77. Falls, D.L. ARIA, a protein that stimulates acetylcholine receptor synthesis, is a member of the neu ligand family / D.L. Falls, K.M. Rosen, G. Corfas, W.S. Lane, G.D. Fischbach // *Cell*. – 1993. – V. 72, №5. – P. 801–815.
78. Faulkner, J.R. Reactive astrocytes protect tissue and preserve function after spinal cord injury / J.R. Faulkner, J.E. Herrmann, M.J. Woo, K.E. Tansey, N.B. Doan, M.V. Sofroniew // *J Neurosci*. – 2004. – V. 24. – P. 2143–2155.
79. Ferri A. Cell death in amyotrophic lateral sclerosis: interplay between neuronal and glial cells / A. Ferri, M. Nencini, A. Casciati, M. Cozzolino, D.F. Angelini, P. Longone, A. Spalloni, G. Rotilio, M.T. Carri // *FASEB J*. – 2004. – V. 18. – P. 1261–1263.
80. Feuilloy, M. Immunocytochemical localization of atrial natriuretic factor (ANF)–like peptides in the brain and heart of the treefrog *Hyla japonica*: effect of weightlessness on the distribution of immunoreactive neurons and cardiocytes / M. Feuilloy, L. Yon, K. Kawamura, S. Kikuyama, J. Gutkowska, H. Vaudry // *J Comp Neurol*. – 1993. – V. 330. – P. 32–47.
81. Fitts, R.H. Prolonged space flight–induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres / R.H. Fitts, S.W. Trappe, D.L. Costill // *J. Physiol*. – 2010. – V. 88. – P. 3567–3592.
82. Fraser M.M. Pten loss causes hypertrophy and increased proliferation of astrocytes in vivo / M.M. Fraser, X. Zhu, C.H. Kwon, E.J. Uhlmann, D.H. Gutmann, S.J. Baker // *Cancer Res*. – 2004. – V. 64. – P. 7773–7779.
83. Frischknecht R. Brain extracellular matrix affects AMPA receptor lateral mobility and short–term synaptic plasticity / R. Frischknecht, M. Heine, D. Perrais, C.I. Seidenbecher, D. Choquet, E.D. Gundelfinger // *Nat Neurosci*. – 2009. – V. 12. – P. 897–904.
84. Fu, H. Dual origin of spinal oligodendrocyte progenitors and evidence for the cooperative role of Olig2 and Nkx2.2 in the control of oligodendrocyte differentiation / H. Fu, Y. Qi, M. Tan, J. Cai, H. Takebayashi, M. Nakafuku, W. Richardson, M. Qiu // *Development*. – 2002. – V. 129. – P. 681–693.

85. Furuse, M. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice / M. Furuse, M. Hata, K. Furuse, Y. Yoshida, A. Haratake, Y. Sugitani, T. Noda, A. Kubo, S. Tsukita // *J Cell Biol.* – 2002. – V. 156, №6. – P. 1099–1111.
86. Garbuzova–Davis, S. and Sanberg, P. R. Feasibility of cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis / S. Garbuzova–Davis, P.R. Sanberg // *Exp Neurol.* – 2009. – V. 216. – P. 3–6.
87. Ginhoux, F. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages / F. Ginhoux, M. Greter, M. Leboeuf, S. Nandi, P. See, S. Gokhan, M.F. Mehler, S.J. Conway, L.G. Ng, E.R. Stanley, I.M. Samokhvalov, M. Merad // *Science.* – 2010. – V. 330, № 6005. – P. 841–845.
88. Gogolla N. Perineuronal nets protect fear memories from erasure / N. Gogolla, P. Caroni, A. Lüthi, C. Herry // *Science.* – 2009. – V. 325. – P. 1258–1261.
89. Goldmann, T. and Prinz, M. Role of microglia in CNS autoimmunity / T. Goldmann, M. Prinz // *Clin Dev Immunol.* – 2013.
90. Goncalves, C.A. Biological and methodological features of the measurement of S100B, a putative marker of brain injury / C.A. Goncalves, C.A., M.C. Leite, M.C., P. Nardin // *Clin Biochem.* – 2008. – V. 41. – P. 755–763.
91. Gould, R.M. Myelin sheaths are formed with proteins that originated in vertebrate lineages / R.M. Gould, T. Oakley, J.V. Goldstone, J.C. Dugas, S.T. Brady, A. Gow // *Neuron Glia Biol.* – 2008. – V. 4, №2. – P. 137–152.
92. Grigoriev A.I. The role of support afferents in organisation of the tonic muscle system / A.I. Grigoriev, I.B. Kozlovskaya, B.S. Shenkman // *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I. M. Sechenova.* – 2004. – V. 9, № 5. – P. 508–521.
93. Guillamón–Vivancos T. Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): function and molecular description / T. Guillamón–Vivancos, U. Gómez–Pinedo, J. Matías–Guiu // *Neurologia.* – 2015. – V. 30. – P. 119–129.

94. Gulyaeva N.V. Brain ischemia, endoplasmic reticulum stress, and astroglial activation: new insights / N.V. Gulyaeva // *J Neurochem.* – 2015. – V. 132. – P. 263–265.
95. Hachem, S. Spatial and temporal expression of S100B in cells of oligodendrocyte lineage / S. Hachem, A. Aguirre, V. Vives, A. Marks, V. Gallo, C. Legraverend // *Glia.* – 2005. – V. 51, №2. – P. 81–97.
96. Hazell A.S. Astrocytes are a major target in thiamine deficiency and Wernicke's encephalopathy / A.S. Hazell // *Neurochem Int.* – 2009. – V. 55. – P. 129–135.
97. Hermann, D.M. Adenovirus-mediated glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression protects against subsequent cortical cold injury in rats / D.M. Hermann, E. Kilic, S. Kügler, S. Isenmann, M. Bähr // *Neurobiol Dis.* – 2001. – V. 8, № 6. – P. 964–973.
98. Hertz, L. Astrocytes as a 5-HT_{2B}-mediated SERT-independent SSRI target, slowly altering depression-associated genes and function / L. Hertz, B. Li, D. Song, J. Ren, L. Dong, Y. Chen // *Curr. Signal Transduct.* – 2012. – V. 7. – P. 65–80.
99. Hinwood, M. Chronic stress induced remodeling of the prefrontal cortex: structural re-organization of microglia and the inhibitory effect of minocycline / M. Hinwood, R.J. Tynan, J.L. Charnley, S.B. Beynon, T.A. Day, F.R. Walker // *Cereb Cortex.* – 2013. – V. 23, № 8. – P. 1784–1797.
100. Hobert J.A. Biochemical screening and PTEN mutation analysis in individuals with autism spectrum disorders and macrocephaly / J.A. Hobert, R. Embacher, J.L. Mester, T.W. Frazier, C. Eng // *Eur J Hum Genet.* – 2014. – V. 22. – P. 273–276.
101. Holstege, J.C. Loss of Hoxb8 alters spinal dorsal laminae and sensory responses in mice / J.C. Holstege, W. de Graaff, M. Hossaini, S. Cardona Cano, D. Jaarsma, E. van den Akker, J. Deschamps // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2008. – V. 105, № 17. – P. 6338–6343.

102. Horiuchi, M. MEK–ERK signaling is involved in interferon–gamma–induced death of oligodendroglial progenitor cells / M. Horiuchi, A. Itoh, D. Pleasure, T. Itoh // *J Biol Chem.* – 2006. – V. 281. – P. 20095–20106.
103. Hossain, M.Z. Neuron–Glia Crosstalk and Neuropathic Pain: Involvement in the Modulation of Motor Activity in the Orofacial Region / M.Z. Hossain, S. Unno, H. Ando, Y. Masuda, J. Kitagawa // *Int J Mol Sci.* – 2017. – V. 18, № 10. – P. 20–51.
104. Howell M.D. and Gottschall P.E. Altered synaptic marker abundance in the hippocampal stratum oriens of Ts65Dn mice is associated with exuberant expression of versican / M.D. Howell , P.E. Gottschall // *ASN Neuro.* – 2012. – V. 4.
105. Hu J. S100beta induces neuronal cell death through nitric oxide release from astrocytes / J. Hu, A. Ferreira, L.J. Van Eldik // *J Neurochem.* – 1997. – V. 69. – P. 2294–2301.
106. Hu, J. and Van Eldik, L.J. S100 beta induces apoptotic cell death in cultured astrocytes via a nitric oxide–dependent pathway / J. Hu, L.J. Van Eldik // *Biochim Biophys Acta.* –1996. – V. 1313. – P. 239–245.
107. Huang S.Y. Involvement of phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 in rodent model of neuropathic pain / S.Y. Huang, C.S. Sung, W.F. Chen, C.H. Chen, C.W. Feng, S.N. Yang, H.C. Hung, N.F. Chen, P.R. Lin, S.C. Chen, H.M. Wang, T.H. Chu, M.H. Tai, Z.H. Wen // *J Neuroinflammation.* – 2015. – V. 12. – P. 59.
108. Hulsebosch C.E. Mechanisms of chronic central neuropathic pain after spinal cord injury / C.E. Hulsebosch, B.C. Hains, E.D. Crown, S.M. Carlton // *Brain Res Rev.* – 2009. – V. 60. – P. 202–213.
109. Ishibashi, T. Astrocytes promote myelination in response to electrical impulses / T. Ishibashi, K.A. Dakin, B. Stevens, P.R. Lee, S.V. Kozlov, C.L. Stewart, R.D. Fields // *Neuron.* – 2006. – V. 49. – P. 823–832.

110. Ishihara, A. Responses of neuromuscular systems under gravity or microgravity environment / A. Ishihara, F. Kawano, X.D. Wang, Y. Ohira // *Biol Sci Space*. – 2004. – V. 18. – P. 128–129.
111. Islamov R.R. Genomic analysis of mouse lumbar spinal cord after 30-day space flight on biosatellite Bion–M1/ R.R. Islamov, O.A. Gusev, A. Tanabe, M. Terada, O.V. Tyapkina, K.A. Petrov, A.A. Rizvanov, I.B. Kozlovskaya, E.E. Nikolskiy, A.I. Grigorjev // *Dokl Biochem Biophys*. – 2014. – V.458. – P. 177–178.
112. Islamov, P.R. Choline acetyl transferase expression in spinal motoneurons of rats following tail-suspension / R.R. Islamov, O.V.Tyapkina, E.A. Bukharaeva, L.O. Yagodina, N.N. Ibragimova, V.V. Valiullin, I.B. Kozlovskaya, E.E. Nikolsky // *Dokl. Akad. Nauk*. – 2007. – V.414. – P. 1–3.
113. Islamov, R.R. Mechanisms of spinal motoneurons survival in rats under simulated hypogravity on the earth / R.R. Islamov, E.A. Mishagina, O.V. Tyapkina, G.F. Shajmardanova, A.A. Ereemeev, I.B. Kozlovskaya, E.E. Nikolski, A.I. Grigorjev // *Acta Astronautica*. – 2011. – V.68. – P. 1469–1477.
114. Ito, D. Enhanced expression of Iba1, ionized calcium-binding adapter molecule 1, after transient focal cerebral ischemia in rat brain / D. Ito, K. Tanaka, S. Suzuki, T. Dembo, Y. Fukuuchi // *Stroke*. – 2001. – V. 32. – P. 1208–1215.
115. Iwasaki, Y. S100 beta prevents the death of motor neurons in newborn rats after sciatic nerve section / Y. Iwasaki, T. Shiojima, M. Kinoshita // *J. Neurol. Sci*. – 1997. – V. 151. – P. 7–12.
116. Jakovcevski I. and Zecevic N. Sequence of oligodendrocyte development in the human fetal telencephalon / I. Jakovcevski, N. Zecevic // *Glia*. – 2005. – V. 49. – P. 480–491.

117. Jakovcevski, I. and Zecevic, N. Olig transcription factors are expressed in oligodendrocyte and neuronal cells in human fetal CNS / I. Jakovcevski, N. Zecevic // *J Neurosci.* – 2005. – V. 25. – P. 10064–10073.
118. Jakovcevski, I. Oligodendrocyte development and the onset of myelination in the human fetal brain / I. Jakovcevski, R. Filipovic, Z. Mo, S. Rakic, N. Zecevic // *Front Neuroanat.* – 2009. – V. 3. – P. 1–15.
119. Jasmin, L. Schwann cells are removed from the spinal cord after effecting recovery from paraplegia / L. Jasmin, G. Janni, T.M. Moallem, D.A. Lappi, P.T. Ohara // *J Neurosci.* – 2000. – V. 20, №24. – P. 9215–9223.
120. Jelkmann, W. and Wagner, K. Beneficial and ominous aspects of the pleiotropic action of erythropoietin / W. Jelkmann, K. Wagner // *Ann Hematol.* – 2004. – V. 83. – P 673–686.
121. Jiang, B. Adaptation of fibers in fast-twitch muscles of rats to spaceflight and hindlimb suspension / B. Jiang, Y. Ohira, R.R. Roy, Q. Nguyen, E.I. Ilyina–Kakueva, V. Oganov, V.R. Edgerton // *J Appl Physiol.* – 1992. – V. 73. – P. 58–65.
122. Jing, L. Temporal Profile of Astrocytes and Changes of Oligodendrocyte–Based Myelin Following Middle Cerebral Artery Occlusion in Diabetic and Non–diabetic Rats / L. Jing, Q. He, J.Z. Zhang, P.A. Li // *Int J Biol Sci.* – 2013. – V. 9, № 2, – P. 190–199.
123. Jurewicz, A. Tumour necrosis factor–induced death of adult human oligodendrocytes is mediated by apoptosis inducing factor / A. Jurewicz, M. Matysiak, K. Tybor, L. Kilianek, C.S. Raine, K. Selmaj // *Brain.* – 2005. – V. 128. – P. 2675–2688.
124. Kabadi, S.V. CR8, a novel inhibitor of CDK, limits microglial activation, astrocytosis, neuronal loss, and neurologic dysfunction after experimental traumatic brain injury / S.V. Kabadi, B.A. Stoica, D.J. Loane, T. Luo, A.I. Faden // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 2014. – V. 34, № 3. – P. 502–513.

125. Karimi–Abdolrezaee S. and Billakanti R. Reactive astrogliosis after spinal cord injury–beneficial and detrimental effects / S. Karimi–Abdolrezaee, R. Billakanti // *Mol Neurobiol.* – 2012. – V. 46. – P. 251–264.
126. Keshewani V. Fasudil reduces GFAP expression after hypoxic injury / V. Keshewani, S. Tarang, R. Barnes, S.K. Agrawal // *Neurosci Lett.* – 2014. – V. 576. – P. 45–50.
127. Kierdorf, K. and Prinz, M. Factors regulating microglia activation / K. Kierdorf, M. Prinz // *Front Cell Neurosci.* – 2013. – V. 7. – P. 44.
128. Kitagawa, K. Deficiency of intercellular adhesion molecule 1 fails to mitigate selective neuronal death after transient global ischemia / K. Kitagawa, M. Matsumoto, T. Ohtsuki, K. Kuwabara, T. Mabuchi, Y. Yagita, M. Hori, T. Yanagihara // *Brain Res.* – 1999. – V. 847 – P. 166–174.
129. Kligman D. and Marshak D.R. Purification and characterization of a neurite extension factor from bovine brain / D. Kligman, D.R. Marshak // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1985. – V. 82. – P. 7136–7139.
130. Knafo S. PTEN recruitment controls synaptic and cognitive function in Alzheimer's models / S. Knafo, C. Sánchez–Puelles, E. Palomer, I. Delgado, J.E. Draffin, J. Mingo, T. Wahle, K. Kaleka, L. Mou, I. Pereda–Perez, E. Klossi, E.B. Faber, H.M. Chapman, L. Lozano–Montes, A. Ortega–Molina, L. Ordóñez–Gutiérrez, F. Wandosell, J. Viña, C.G. Dotti, R.A. Hall, R. Pulido, N.Z. Gerges, A.M. Chan, M.R. Spaller, M. Serrano, C. Venero, J.A. Esteban J.A // *Nat Neurosci.* – 2016. – V. 19. – P. 443–453.
131. Kornilova L.N. and Kozlovskaya I.B. Neurosensory mechanisms of space adaptation syndrome / L.N. Kornilova, I.B. Kozlovskaya // *Fiziol Cheloveka.* – 2003. – V. 29, № 5. – P. 17–28.
132. Kozlovskaya, I. Gravitational mechanisms in the motor system. Studies in real and simulated weightlessness. In: *Stance and Motion* / I. Kozlovskaya, V.S. Gurfinkel, M. Y. Ioffe, J. Massion // *Plenum.* – 1988. – V.21. – P. 37–48.

133. Kozlovskaya, I.B. Role of support afferentation in control of the tonic muscle activity / I.B. Kozlovskaya, I.V. Sayenko, D.G. Sayenko, T.F. Miller, D.R. Khusnutdinova, K.A. Melnik // *Acta Astronautica*. – 2007. – V.60, № 4. – 7, P. 285–295.
134. Langlet, C. Hindlimb unloading affects cortical motor maps and decreases corticospinal excitability / C. Langlet, B. Bastide, M.H. Canu // *Exp Neurol*. – 2012. – V. 237. – P. 211–217.
135. Lau C.L. The Rho kinase inhibitor Fasudil up-regulates astrocytic glutamate transport subsequent to actin remodelling in murine cultured astrocytes / C.L. Lau, R.D. O'Shea, B.V. Broberg, L. Bischof, P.M. Beart // *Br J Pharmacol*. – 2011. – V. 163. – P. 533–545.
136. Le Clainche C. and Carlier M.F. Regulation of actin assembly associated with protrusion and adhesion in cell migration / C. Le Clainche, M.F. Carlier // *Physiol Rev*. – 2008. – V. 88. – P. 489–513.
137. Lee, M. Mechanisms of GABA release from human astrocytes M. Lee, E.G. McGeer, P.L. McGeer // *Glia*. – 2011. – V. 59. – P. 1600–1611.
138. Lennon, V.A. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis / V.A. Lennon, D.N. Wingerchuck, T.J. Kryzer, S.J. Pittock, C.F. Lucchinetti, K. Fujihara, I. Nakashima, B. Weinshenker // *Lancet*. – 2004. – V.264. – P. 2106–2112.
139. Lennon, V.A. IgG marker of optic–spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin–4 water channel / V.A. Lennon, T.J. Kryzer, S.J. Pittock, A.S. Verkman, S.R. Hinson // *J Exp Med*. – 2005. – V. 202. – P. 473–477.
140. Li, C. Induction of heat shock protein 70 (Hsp70) prevents neuregulin-induced demyelination by enhancing the proteasomal clearance of c-Jun / C. Li J., Ma, H. Zhao, B. S. Blagg, R. T. Dobrowsky // *ASN Neuro*. – 2012. – V. 4. – P.e00102.
141. Li, L. Protective role of reactive astrocytes in brain ischemia / L. Li, A. Lundkvist, D. Andersson, U. Wilhelmsson, N. Nagai, A.C. Pardo, C. Nodin, A. Ståhlberg, K. Aprico, K. Larsson, T. Yabe, L. Moons, A.

- Fotheringham, I. Davies, P. Carmeliet, J.P. Schwartz, M. Pekna, M. Kubista, F. Blomstrand, N. Maragakis, M. Nilsson, M. Pekny // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 2008. – V. 28. – P. 468–481.
142. Liddelow S.A. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia / S.A. Liddelow, K.A. Guttenplan, L.E. Clarke, F.C. Bennett, C.J. Bohlen, L. Schirmer, M.L. Bennett, A.E. Münch, W.S. Chung, T.C. Peterson, D.K. Wilton, A. Frouin, B.A. Napier, N. Panicker, M. Kumar, M.S. Buckwalter, D.H. Rowitch, V.L. Dawson, T.M. Dawson, B. Stevens, B.A. Barres // *Nature.* – 2017. – V. 541, № 7638. – P. 481–487.
 143. Liu, Z. Astrocytes induce proliferation of oligodendrocyte progenitor cells via connexin 47–mediated activation of the ERK/Id4 pathway / Z. Liu, D. Xu, S. Wang, Y. Chen, Z. Li, X. Gao, L. Jiang, Y. Tang, Y. Peng // *Cell Cycle.* – 2017. – V. 16, № 7. – P. 714–722.
 144. Lucchinetti, C.F. A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica / C.F. Lucchinetti, R.N. Mandler, D. McGavern, W. Bruck, G. Gleich, R.M. Ransohoff, C. Trebst, B. Weinshenker, D. Wingerchuck, J. Parisi, H. Lassmann // *Brain.* – 2002. – V. 125. – P. 1450–1461.
 145. Lukovic D. Concise review: reactive astrocytes and stem cells in spinal cord injury: good guys or bad guys? / D. Lukovic, M. Stojkovic, V. Moreno–Manzano, P. Jendelova, E. Sykova, S.S. Bhattacharya, S. Erceg // *Stem Cells.* – 2015. – V. 33. – P. 1036–1041.
 146. Lytle, J.M. NG2 cell response in the CNP–EGFP mouse after contusive spinal cord injury / J.M. Lytle, R. Chittajallu, J.R. Wrathall, V. Gallo // *Glia* – 2009. – V. 57, № 3. – P. 270–285.
 147. Magnus, T. Microglial phagocytosis of apoptotic inflammatory T cells leads to downregulation of microglial immune activation / T. Magnus, A. Chan, O. Grauer, K.V. Toyka, R. Gold // *J Immunol.* – 2001. – V. 167, № 9. – P. 5004–5010.

148. Mantovani, A. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling / A. Mantovani, S.K. Biswas, M.R. Galdiero, A. Sica, M. Locati // *J Pathol.* – 2013. – V. 229, № 2. – P. 176–185.
149. Marchese M. Autism–epilepsy phenotype with macrocephaly suggests PTEN, but not GLIALCAM, genetic screening / M. Marchese, V. Conti, G. Valvo, F. Moro, F. Muratori, R. Tancredi, F.M. Santorelli, R. Guerrini, F. Sicca // *BMC Med Genet.* – 2014. – V. 27. – P. 15–26.
150. Marchionni, M.A. Glial growth factors are alternatively spliced erbB2 ligands expressed in the nervous system / M.A. Marchionni, A.D. Goodearl, M.S. Chen, O. Bermingham–McDonogh, C. Kirk, M. Hendricks, F. Danehy, D. Misumi, J. Sudhalter, K. Kobayashi // *Nature.* – 1993. – V. 362, № 6418. – P. 312–318.
151. Mariggió, M.A. The brain protein S-100ab induces apoptosis in PC12 cells / M.A. Mariggió, S. Fulle, P. Calissano, I. Nicoletti, G. Fanó // *Neuroscience.* – 1994. – V. 60, №1. – P. 29–35.
152. Mattila, P.K. Filopodia: molecular architecture and cellular functions / P.K. Mattila, P. Lappalainen // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2008. – V. 9. – P. 446–454.
153. McTigue, D.M. The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS / D.M. McTigue, R.B. Tripathi // *J Neurochem.* – 2008. – V. 107. – P. 1–19.
154. Meeker, K.D. Partial Loss of the Glutamate Transporter GLT–1 Alters Brain Akt and Insulin Signaling in a Mouse Model of Alzheimer's Disease / K.D. Meeker, J.S. Meabon, D.G. Cook // *J Alzheimers Dis.* – 2015. – V. 45. – P. 509–520.
155. Mei, F. Stage–specific deletion of Olig2 conveys opposing functions on differentiation and maturation of oligodendrocytes / F. Mei, H. Wang, S. Liu, J. Niu, L. Wang, Y. He, A. Etxeberria, J.R. Chan, L. Xiao // *J Neurosci.* – 2013. – V. 33, № 19. – P. 8454–8462.

156. Mei, L. and Xiong, W.C. Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia / L. Mei, W.C. Xiong // *Nat Rev Neurosci.* – 2008. – V. 9, № 6. – P. 437–452.
157. Menichella, D.M. Connexins are critical for normal myelination in the CNS / D.M. Menichella, D.A. Goodenough, E. Sirkowski, S.S. Scherer, D.L. Paul // *J Neurosci.* – 2003. – V. 23, №13. – P. 5963–5973.
158. Meyer, D. Isoform-specific expression and function of neuregulin / D. Meyer, T. Yamaai, A. Garratt, E. Riethmacher-Sonnenberg, D. Kane, L.E. Theill, C. Birchmeier // *Development.* – 1997. – V. 124, № 18. – P. 3575–3586.
159. Mie, M. Induction of motor neuron differentiation by transduction of Olig2protein / M. Mie, M. Kaneko, F. Henmi, E. Kobatake // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2012. – V. 427, № 3. – P. 531–536.
160. Migheli, A. S-100beta protein is upregulated in astrocytes and motor neurons in the spinal cord of patients with amyotrophic lateral sclerosis / A. Migheli, S. Cordera, C. Bendotti, C. Atzori, R. Piva, D. Schiffer // *Neurosci Lett.* – 1999. – V. 261. – P. 25–28.
161. Miller, R.H. Oligodendrocyte origins / R.H. Miller // *Trends Neurosci.* – 1996. – V. 19, №3. – P. 92–96.
162. Mironova, Y.A. and Giger, R.J. Where no synapses go: gatekeepers of circuit remodeling and synaptic strength / Y.A. Mironova, R.J.Giger // *Trends Neurosci.* – 2013. – V. 36. – P. 363–373.
163. Misu, T. Loss of aquaporin-4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis / T. Misu, K. Fujihara, A. Kakita, H. Konno, M. Nakamura, S. Watanabe, T. Takahashi, I. Nakashima, H. Takahashi, Y. Itoyama // *Brain.* – 2007. – V. 130. – P. 1224–1234.
164. Misu, T. Neuromyelitis optica and anti-aquaporin 4 antibody – an overview / T. Misu, K. Fujihara, Y. Itoyama // *Brain Nerve.* – 2008. – V. 60. – P. 527–537.

165. Miyamoto, N. Astrocytes Promote Oligodendrogenesis after White Matter Damage via Brain-Derived Neurotrophic Factor / N. Miyamoto, T. Maki, A. Shindo, A.C. Liang, M. Maeda, N. Egawa, K. Itoh, E.K. Lo, J. Lok, M. Ihara, K. Arai // *J Neurosci.* – 2015. – V. 35. – P. 14002–14008.
166. Moransard, M. NG2 expressed by macrophages and oligodendrocyte precursor cells is dispensable in experimental autoimmune encephalomyelitis / M. Moransard, A. Dann, O. Staszewski, A. Fontana, M. Prinz, T. Suter // *Brain: J Neurology.* – 2011. – V. 134, Pt. 5. – P. 1315–1330.
167. Morey-Holton, E.R. and Globus, R.K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects / E.R. Morey-Holton, R.K. Globus// *J. Appl. Physiol.* – 2002. – V. 92. - 1367–1377.
168. Morita, K. Claudin-11/OSP-based tight junctions of myelin sheaths in brain and Sertoli cells in testis / K. Morita, H. Sasaki, K. Fujimoto, M. Furuse, S. Tsukita // *J Cell Biol.* –1999. – V. 145, №3. – P. 579–588.
169. Murk, K. The antagonistic modulation of Arp2/3 activity by N-WASP, WAVE2 and PICK1 defines dynamic changes in astrocyte morphology / K. Murk, E.M. Blanco Suarez, L.M. Cockbill, P. Banks, J.G. Hanley // *J Cell Sci.* – 2013. – V. 126. – P. 3873–3883.
170. Myer, D.J. Essential protective roles of reactive astrocytes in traumatic brain injury / D.J. Myer, G.G. Gurkoff, S.M. Lee, D.A. Hovda, M.V. Sofroniew // *Brain.* – 2006. – V. 129. – P. 2761–2772.
171. Nagy, E. Effect of microgravitation on the human equilibrium / E. Nagy, L. Bognar, A. Csengery, A. Almasi, G. Bencze // *Int Tinnitus J.* – 2000. – V. 6. – P. 120–123.
172. Nave, K.A. and Salzer, J.L. Axonal regulation of myelination by neuregulin 1 / K.A. Nave, J.L. Salzer // *Curr Opin Neurobiol.* – 2006. – V. 16, № 5. – P. 492–500.

173. Nguon, K. CNS development under altered gravity: cerebellar glial and neuronal protein expression in rat neonates exposed to hypergravity / K. Nguon, G.H. Li, E.M. Sajdel-Sulkowska // *Adv Space Res.* – 2004. – V. 33, №8. – P. 1375–1380.
174. Nielsen, H.M. NG2 cells, a new trail for Alzheimer's disease mechanisms? / H.M. Nielsen, D. Ek, U. Avdic, C. Orbjörn, O. Hansson, R. Veerhuis, A.J. Rozemuller, A. Brun, L. Minthon, M. Wennström // *Acta Neuropathol Commun.* – 2013. – V. 1. – P. 7.
175. Niranjana, R. The role of inflammatory and oxidative stress mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease: focus on astrocytes / R. Niranjana // *Mol Neurobiol.* – 2014. – V. 49. – P. 28–38.
176. Nishiyama, A. Identity, distribution, and development of polydendrocytes: NG2-expressing glial cells / A. Nishiyama, M. Watanabe, Z. Yang, J. Bu // *J Neurocytol.* – 2002. – V. 31, №. 6–7. – P. 437–455.
177. Nishiyama, A. Polydendrocytes (NG2 cells): multifunctional cells with lineage plasticity / A. Nishiyama, M. Komitova, R. Suzuki, X. Zhu // *Nat Rev Neurosci.* – 2009. – V. 10, № 1. – P. 9–22.
178. Niven, J. S100B Up-Regulates Macrophage Production of IL1 β and CCL22 and Influences Severity of Retinal Inflammation / J. Niven, J. Hoare, D. McGowan, G. Devarajan, S. Itohara, M. Gannage, P. Teismann, I. Crane // *PLoS One.* – 2015. – V. 10.
179. Noble, M. Development and regeneration in the central nervous system / M. Noble, J. Fok-Seang, G.D. Wolswijk // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* – 1990. – V. 327. – P. 127–143.
180. Odermatt, B. Connexin 47 (Cx47)-deficient mice with enhanced green fluorescent protein reporter gene reveal predominant oligodendrocytic expression of Cx47 and display vacuolized myelin in the CNS / B. Odermatt, K. Wellershaus, A. Wallraff, G. Seifert, J. Degen, C. Euwens, B. Fuss, H. Büssow, K. Schilling, C. Steinhäuser, K. Willecke // *J Neurosci.* – 2003. – V. 23, №11. – P. 4549–4559.

181. Ohira, Y. Effects of nine weeks of unloading on neuromuscular activities in adult rats / Y. Ohira, T. Nomura, F. Kawano, Y. Sato, A. Ishihara, I. Nonaka // *J. Gravit. Physiol.* – 2002. – V.9. - P. 49–59.
182. Ohsawa, Y. Peripheral myelin protein 22 is expressed in human central nervous system / Y. Ohsawa, T. Murakami, Y. Miyazaki, T. Shirabe, Y. Sunada // *J Neurol Sci.* – 2006. – V. 247, № 1. – P. 11–15.
183. O'Shea, R.D. Transcriptomic analysis and 3D bioengineering of astrocytes indicate ROCK inhibition produces cytotoxic astrogliosis / R.D. O'Shea, C.L. Lau, N. Zulaziz, F.L. Maclean, D.R. Nisbet, M.K. Horne, P.M. Beart // *Front Neurosci.* – 2015. – V. 20. – P. 9–50.
184. Ouyang, Y.B. Neuroprotection by astrocytes in brain ischemia: importance of microRNAs / Y.B. Ouyang, L. Xu, S. Yue, S. Liu, R.G. Giffard // *Neurosci Lett.* – 2014. – V. 565. – P. 53–58.
185. Pekny, M. and Pekna, M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits / M. Pekny, M. Pekna // *Physiol Rev.* – 2014. – V. 94. – P. 1077–1098.
186. Pekny, M. The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis / M. Pekny, U. Wilhelmsson, M. Pekna // *Neurosci Lett.* – 2014. – V. 565. – P. 30–38.
187. Peng, L. Fluoxetine and all other SSRIs are 5-HT_{2B} Agonists – Importance for their Therapeutic Effects / L. Peng, L. Gu, B. Li, L. Hertz // *Curr Neuropharmacol.* – 2014. – V. 12. – P. 365–379.
188. Peter, M.E. The role of CD95 and CD95 ligand in cancer / M.E. Peter, A. Hadji, A.E. Murmann, S. Brockway, W. Putzbach, A. Pattanayak, P. Ceppi // *Cell Death Differ.* – 2015. – V. 22. – P. 885–886.
189. Phan, K. Neural substrates for voluntary suppression of negative affect: a functional magnetic resonance imaging study / K. Phan, D.A. Fitzgerald, P.J. Nathan, G.J. Moore, T.W. Uhde, M.E. Tancer // *Soc Biol Psychiatry.* – 2005. – V. 57 – P. 210–219.

190. Phatnani, H.P. Intricate interplay between astrocytes and motor neurons in ALS / H.P. Phatnani, P. Guarnieri, B.A. Friedman, M.A. Carrasco, M. Muratet, S. O'Keefe, C. Nwakeze, F. Pauli-Behn, K.M. Newberry, S.K. Meadows // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – V. 110. – P. 756–765.
191. Philips, T. and Rothstein, J.D. Glial cells in amyotrophic lateral sclerosis / T. Philips, J.D. Rothstein // *Exp Neurol.* – 2014. – V. 262. – P. 111–120.
192. Pierno, S. Change of chloride ion channel conductance is an early event of slow-to-fast fibre type transition during unloading-induced muscle disuse / S. Pierno, J.F. Desaphy, A. Liantonio, M. De Bellis, G. Bianco, A. De Luca, A. Frigeri, G.P. Nicchia, M. Svelto, C. Leoty, A.L.Jr. George, D.C. Camerino // *Brain.* – 2002. – V. 125. – P. 1510–1521.
193. Pizzorusso, T. Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex / T. Pizzorusso, P. Medini, N. Berardi, S. Chierzi, J.W. Fawcett, L. Maffei // *Science.* – 2002. – V. 298. – P. 1248–51.
194. Pringle, N.P. Dorsal spinal cord neuroepithelium generates astrocytes but not oligodendrocytes / N.P. Pringle, S. Guthrie, A. Lumsden, W.D. Richardson // *Neuron.* – 1998. – V. 20. – P. 883–893.
195. Puga, D.A. Stress exacerbates neuron loss and microglia proliferation in a rat model of excitotoxic lower motor neuron injury / D.A. Puga, C.A. Tovar, Z. Guan, J.C. Gensel, M.S. Lyman, D.M. McTigue, P.G. Popovich // *Brain Behav Immun.* – 2015. – V. 49. – P. 246–254.
196. Pun, R.Y. Excessive activation of mTOR in postnatally generated granule cells is sufficient to cause epilepsy / R.Y. Pun, I.J. Rolle, C.L. Lasarge, B.E. Hosford, J.M. Rosen, J.D. Uhl, S.N. Schmeltzer, C. Faulkner, S.L. Bronson, B.L. Murphy, D.A. Richards, K.D. Holland, S.C. Danzer // *Neuron.* – 2012. – V. 75. – P. 1022–1034.
197. Qin, L. NADPH oxidase and aging drive microglial activation, oxidative stress and dopaminergic neurodegeneration following systemic

- LPS administration / L. Qin, Y. Liu, J.S. Hong, F.T. Crews // *Glia*. – 2013. – V. 61. – P. 855–868.
198. Raivich, G. Molecular signals for glial activation: pro- and anti-inflammatory cytokines in the injured brain / G. Raivich, L.L. Jones, A. Werner, H. Blüthmann, T. Doetschmann, G.W. Kreutzberg. // *Acta Neurochir Suppl.* – 1999. – V. 73. – P. 21–30.
199. Rakic, S. and Zecevic, N. Early oligodendrocyte progenitor cells in the human fetal telencephalon / S. Rakic, N. Zecevic // *Glia*. – 2003. – V. 41. – P. 117–127.
200. Ransohoff, R.M. and Perry, V.H. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses / R.M. Ransohoff, V.H. Perry // *Annu Rev Immunol.* – 2009. – V. 27. – P. 119–145.
201. Rao, M.S. and Mayer-Proschel, M. Glial-restricted precursors are derived from multipotent neuroepithelial stem cells / M.S. Rao, M. Mayer-Proschel // *Dev. Biol.* – 1997. – V. 188. – P. 48–63.
202. Rea, G. Microgravity-driven remodeling of the proteome reveals insights into molecular mechanisms and signal networks involved in response to the space flight environment / G. Rea, F. Cristofaro, G. Pani, B. Pascucci, S. A. Ghuge, P. A. Corsetto, M. Imbriani, L. Visai, A. M. Rizzo // *J Proteomics*. – 2016. – V. 137. – P. 3–18.
203. Rea, G. Microgravity-driven remodeling of the proteome reveals insights into molecular mechanisms and signal networks involved in response to the space flight environment / G. Rea, F. Cristofaro, G. Pani, B. Pascucci, S.A. Ghuge, P.A. Corsetto, M. Imbriani, L. Visai, A.M. Rizzo // *J Proteomics*. – 2016 – V. 137. – P. 3–18.
204. Reagan, L.P. Chronic restraint stress up-regulates GLT-1 mRNA and protein expression in the rat hippocampus: reversal by tianeptine / L.P. Reagan, D.R. Rosell, G.E. Wood, M. Spedding, C. Munoz, J. Rothstein, B.S. McEwen // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2004. – V. 101, №7. – P. 2179–2184.

205. Reschke, M.F. Ground-based training for the stimulus rearrangement encountered during spaceflight / M.F. Reschke, D.E. Parker, D.L. Harm, L. Michaud // *Acta Otolaryngol Suppl.* – 1988. – V.460. – P. 87–93.
206. Reschke, M.F. Posture, locomotion, spatial orientation, and motion sickness as a function of space flight / M.F. Reschke, J.J. Bloomberg, D.L. Harm, W.H. Paloski, C. Layne, V. McDonald // *Brain Res Brain Res Rev.* – 1998. – V. 28. – P. 102–117.
207. Reynolds, R. The response of NG2-expressing oligodendrocyte progenitors to demyelination in MOG-EAE and MS / R. Reynolds, M. Dawson, D. Papadopoulos, A. Polito, I.C. Di Bello, D. Pham-Dinh, J. Levine // *J Neurocytol.* – 2002. – V. 31, № 6–7. – P. 523–536.
208. Ribes, S. Toll-like receptor prestimulation increases phagocytosis of *Escherichia coli* DH5alpha and *Escherichia coli* K1 strains by murine microglial cells / S. Ribes, S. Ebert, D. Czesnik, T. Regen, A. Zeug, S. Bukowski // *Infect Immun.* – 2009 – V. 77, №1. – P. 557–564.
209. Riley, D.A. Skeletal muscle fiber, nerve, and blood vessel breakdown in space-flown rats / D.A. Riley, E.I. Ilyina-Kakueva, S. Ellis, J.L. Bain, G.R. Slocum, F.R. Sedlak // *FASEB J.* – 1990. – V. 4. – P. 84–91.
210. Roser, A.E. Modulation of Microglial Activity by Rho-Kinase (ROCK) Inhibition as Therapeutic Strategy in Parkinson's Disease and Amyotrophic Lateral Sclerosis / A.E. Roser, L. Tönges, P. Lingor // *Front Aging Neurosci.* – 2017. – V. 9, №94. doi: 10.3389/fnagi.2017.00094. eCollection 2017.
211. Saijo, K. and Glass, C.K. Microglial cell origin and phenotypes in health and disease / K. Saijo, C.K. Glass // *Nat Rev Immunol.* – 2011. – V. 11, № 11. – P. 775–787.
212. Sakakibara, S. RNA-binding protein Musashi family: Roles for CNS stem cells and a subpopulation of ependymal cells revealed by targeted disruption and antisense ablation / S. Sakakibara, Y. Nakamura, T.

- Yoshida, S. Shibata, M. Koike, H. Takano, S. Ueda, Y. Uchiyama, T. Noda, H. Okano // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2002. – V. 99. – P. 15194–15199.
213. Salter, M.W. and Beggs, S. Sublime microglia: expanding roles for the guardians of the CNS / M.W. Salter, S. Beggs// *Cell*. – 2014. – V. 158, № 1. – P. 15–24.
214. Sandona, D. Adaptation of mouse skeletal muscle to long-term microgravity in the MDS mission / D. Sandona, J.F. Desaphy, G.M. Camerino, E. Bianchini, S. Ciciliot, D. Danieli-Betto, G. Dobrowolny, S. Furlan, E. Germinario, K. Goto, M. Gutschmann, F. Kawano, N. Nakai, T. Ohira, Y. Ohno, A. Picard, M. Salanova, G. Schiffli, D. Blottner, A. Musaro, Y. Ohira, R. Betto, D. Conte, S. Schiaffino // *PLoS One*. – 2012. – V. 7. – e33232.
215. Sarkar, P. Proteomic analysis of mice hippocampus in simulated microgravity environment / P. Sarkar, S. Sarkar, V. Ramesh, B.E. Hayes, R.L. Thomas, B.L. Wilson, H. Kim, S. Barnes, A. Kulkarni, N. Pellis, G.T. Ramesh // *J Proteome Res*. – 2006. – V. 5. – P. 548–553.
216. Sarkar, P. Proteomic analysis of mouse hypothalamus under simulated microgravity / P. Sarkar, S. Sarkar, V. Ramesh, H. Kim, S. Barnes, A. Kulkarni, J.C. Hall, B.L. Wilson, R.L. Thomas, N.R. Pellis, G.T. Ramesh // *Neurochem Res*. – 2008. – V. 33. – P. 2335–2341.
217. Schlegelmilch, T. Microglia in the developing brain: from immunity to behavior / T. Schlegelmilch, K. Henke, F. Peri // *Curr Opin Neurobiol*. – 2011. – V. 21. – P. 5–10.
218. Schulz, K. Iron efflux from astrocytes plays a role in remyelination / K. Schulz, A. Kroner, S. David // *J Neurosci*. – 2012. – V. 32. – P. 4841–4847.
219. Seidenbecher, C.I. Brevican, a chondroitin sulfate proteoglycan of rat brain, occurs as secreted and cell surface glycosylphosphatidylinositol-anchored isoforms / C.I. Seidenbecher, K. Richter, U. Rauch, R. Fässler,

- C.C. Garner, E.D. Gundelfinger // J Biol Chem. – 1995. – V. 270. – P. 27206–27212.
220. Seifi, M. Localization of NG2 immunoreactive neuroglia cells in the rat locus coeruleus and their plasticity in response to stress / M. Seifi, N.L. Corteen, J.J. van der Want, F. Metzger, J.D. Swinny // Front Neuroanat. – 2014. – V. 8. – P. 31.
 221. Senkov, O. Neural ECM molecules in synaptic plasticity, learning, and memory / O. Senkov, P. Andjus, L. Radenovic, E. Soriano, A. Dityatev // Prog Brain Res. – 2014. – V. 214. – P. 53–80.
 222. Sheean, R.K. Links between L-glutamate transporters, Na⁺/K⁺–ATPase and cytoskeleton in astrocytes: evidence following inhibition with rottlerin / R.K. Sheean. C.L. Lau, Y.S. Shin, R.D. O'Shea, P.M. Beart // Neuroscience. – 2013. – V. 254. – P. 335–346.
 223. Shimada, I. S. Proliferating reactive astrocytes are regulated by notch–1 in the peri–infarct area after stroke. / I.S. Shimada, A. Borders, A. Aronshtam, J.L. Spees – Stroke. – 2011. – V. 42 – P. 3231–3237.
 224. Sica, R.E. Amyotrophic lateral sclerosis: is the astrocyte the cell primarily involved? /R.E. Sica // Medicina (B Aires). – 2013. – V. 73. – P. 573–578.
 225. Sica, R.E. Is amyotrophic lateral sclerosis a primary astrocytic disease? / R.E. Sica // Med Hypotheses. – 2012. – V. 79. – P. 819–822.
 226. Sidoli, M. Ablation of perk in schwann cells improves Myelination in the S63del Charcot-Marie-Tooth 1B Mouse / M. Sidoli, N.Musner, N. Silvestri, D. Ungaro, M. D'Antonio, D.R. Cavener, M.L. Feltri, L. Wrabetz // J Neurosci. – 2016. – V. 36, №44. – P. 11350–11361.
 227. Sofroniew, M.V. and Vinters, H.V. Astrocytes: biology and pathology / M.V. Sofroniew, H.V. Vinters // Acta Neuropathol. – 2010. – V. 119, №1. – P. 7–35.
 228. Sofroniew, M.V. Astrogliosis / M.V. Sofroniew // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2014. – V. 7, № 2, - P. 204-220.

229. Sofroniew, M.V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation / M.V. Sofroniew // *Trends Neurosci.* – 2009. – V. 32. – P. 638–647.
230. Sofroniew, M.V. Reactive astrocytes in neural repair and protection / M.V. Sofroniew // *Neuroscientist.* - 2005. – V. 11. – P. 400–407.
231. Sorci, G. S100B protein in tissue development, repair and regeneration / G. Sorci, F. Riuzzi, C. Arcuri, C. Tubaro, R. Bianchi, I. Giambanco, R. Donato // *World J Biol Chem.* – 2013. – V. 4, №1. – P. 1–12.
232. Stallcup, W.B. and Huang, F.J. A role for the NG2 proteoglycan in glioma progression / W.B. Stallcup, F.J. Hang // *Cell Adh Migr.* – 2008. – V. 2, №3. – P. 192–201.
233. Stevens, L. Changes in myosin heavy chain mRNA and protein isoforms in single fibers of unloaded rat soleus muscle / L. Stevens, B. Gohlsch, Y. Mounier, D. Pette // *FEBS Lett.* – 1999. – V. 463. – P. 15–18.
234. Susarla, B.T. Temporal patterns of cortical proliferation of glial cell populations after traumatic brain injury in mice / B.T. Susarla, S. Villapol, J.Y. Yi, H.M. Geller, A.J. Symes // *ASN Neuro.* – 2014. – V. 6, № 3. – P. 159–170.
235. Süssmuth, S.D. CSF glial markers correlate with survival in amyotrophic lateral sclerosis / S.D. Süssmuth, A.D Sperfeld, A. Hinz, J. Brettschneider, S. Endruhn, A.C. Ludolph, H. Tumani // *Neurology.* – 2010. – V. 74. – P. 982–987.
236. Suzumura, A. Roles of glia-derived cytokines on neuronal degeneration and regeneration. / A. Suzumura, H. Takeuchi, G. Zhang, R. Kuno, T. Mizuno // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006. – V. 1088. – P. 219–229.
237. Thorburne, S.K. and Juurlink, B.H. Low glutathione and high iron govern the susceptibility of oligodendroglial precursors to oxidative stress / S.K. Thorburne, B.H. Juurlink // *J Neurochem.* – 1996. – V. 67. – P. 1014–1022.

238. Trapp, B.D. Differentiation and death of premyelinating oligodendrocytes in developing rodent brain / B.D. Trapp, A. Nishiyama, D. Cheng, W. Macklin // *J Cell Biol.* – 1997. – V. 137, №2. – P. 459–468.
239. Treffort, N. Variations in amino acid neurotransmitters in the rat ventral spinal cord after hindlimb unloading / N. Treffort, G. Dubreucq, M.H. Canu, Y. Guérardel, M. Falempin, F. Picquet // *Neurosci Lett.* – 2006. – V. 403. – P. 147–150.
240. Tripathi, P. Reactive Astrocytes promote ALS-like degeneration and intracellular protein aggregation in human motor neurons by disrupting autophagy through TGF- β 1 / P. Tripathi, N. Rodriguez-Muela, J.R. Klim, A.S. de Boer, S. Agrawal, J. Sandoe, C.S. Lopes, K.S. Ogliari, L.A. Williams, M. Shear, L.L. Rubin, K. Eggan, Q. Zhou // *Stem Cell Reports.* – 2017. – V. 9, №2. – P. 667–680.
241. Trotter, J. NG2 cells: Properties, progeny and origin / J. Trotter, K. Karram, A. Nishiyama // *Brain Res Rev.* – 2010. – V. 63, № 1–2. – P. 72–82.
242. Tsuda M. and Inoue K. Neuron–microglia interaction by purinergic signaling in neuropathic pain following neurodegeneration / M. Tsuda, K. Inoue // *J.neuropharm.* – 2016. – V.104. – P. 76–81.
243. Uva, B.M. Clinorotation–induced weightlessness influences the cytoskeleton of glial cells in culture. / B.M. Uva, M.A. Masini, M. Sturla, P. Prato, M. Passalacqua, M. Giuliani, G. Tagliafierro, F. Strollo // *Brain Res.* – 2002. – V. 934. – P. 132–139.
244. Van Eldik, L.J. and Zimmer, D.B. Secretion of S–100 from rat C6 glioma cells / L.J. Van Eldik, D.B. Zimmer // *Brain Res.* – 1987. – V. 436. – P. 367–370.
245. Vinogradova, O.L. Effects of gravitational unloading on blood supply of working muscles / O.L. Vinogradova, IuM Stoida, T. Mano, S. Iwase // *Aviakosm Ekolog Med.* – 2002. – V. 36. – P. 39–46.

246. Wagner, D.C. Object-based analysis of astroglial reaction and astrocyte subtype morphology after ischemic brain injury / D.C. Wagner, J. Scheibe, I. Glocke, G. Weise, A. Deten, J. Boltze, A. Kranz // *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. – 2013. – V. 73. – P. 79–87.
247. Walker, F.R. Acute and chronic stress-induced disturbances of microglial plasticity, phenotype and function / F.R. Walker, M. Nilsson, K. Jones // *Curr Drug Targets*. – 2013. – V. 14(11). – P. 1262–1276.
248. Wilhelmsson, U. Absence of glial fibrillary acidic protein and vimentin prevents hypertrophy of astrocytic processes and improves post-traumatic regeneration / U. Wilhelmsson, L. Li, M. Pekna, C.H. Berthold, S. Blom, C. Eliasson, O. Renner, E. Bushong, M. Ellisman, T.E. Morgan, M. Pekny // *J Neurosci*. – 2004. – V. 24. – P. 5016–5021.
249. Wilhelmsson, U. Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury / U. Wilhelmsson, E.A. Bushong, D.L. Price, B.L. Smarr, V. Phung, M. Terada, M.H. Ellisman, M. Pekny // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2006. – V. 103. – P. 17513–17518.
250. Wilson, H.C. Co-expression of PDGF alpha receptor and NG2 by oligodendrocyte precursors in human CNS and multiple sclerosis lesions / H.C. Wilson, N.J. Scolding, C.S. Raine // *J Neuroimmunol*. – 2006. – V. 176, № 1–2. – P. 162–173.
251. Wilson, M.A. and Molliver, M.E. Microglial response to degeneration of serotonergic axon terminals / M.A. Wilson, M.E. Molliver // *Glia*. – 1994. – V. 11, №1. – P. 18–34.
252. Winningham-Major, F. Neurite extension and neuronal survival activities of recombinant S100 beta proteins that differ in the content and position of cysteine residues / F. Winningham-Major, J.L. Staecker, S.W. Barger, S. Coats, L.J. Van Eldik // *J Cell Biol*. – 1989. – V. 109. – P. 3063–3071.

253. Wise, K. C. Activation of nuclear transcription factor- κ B in mouse brain induced by a simulated microgravity environment / K.C. Wise, S.K. Manna, K.Yamauchi, V. Ramesh, B.L. Wilson, R.L. Thomas, S. Sarkar, A.D. Kulkarni, N.R. Pellis, G.T. Ramesh, // *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* – 2005. – V. 20. – P. 709–718.
254. Xu, D. Astrocytes regulate the expression of Sp1R3 on oligodendrocyte progenitor cells through Cx47 and promote their proliferation/ D. Xu, Z. Liu, S. Wang, Y. Peng, X Sun // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2017. – V. 490, №3. – P. 670–675.
255. Yang, Y. Chronic stress regulates NG2⁺ cell maturation and myelination in the prefrontal cortex through induction of death receptor 6 / Y. Yang, Y. Zhang, F. Luo, B. Li // *Exp Neurol.* – 2016. – V. 277. – P. 202–214.
256. Yano, K. Demonstration of elevation and localization of Rho-kinase activity in the brain of a rat model of cerebral infarction / K. Yano, K. Kawasaki, T. Hattori, S. Tawara, Y. Toshima, I. Ikegaki, Y. Sasaki, S. Satoh, T. Asano, M. Seto // *Eur J Pharmacol.* – 2008. – V. 594. – P. 77–83.
257. Yoo, S. and Wrathall, J.R. Mixed primary culture and clonal analysis provide evidence that NG2 proteoglycan-expressing cells after spinal cord injury are glial progenitors / S. Yoo, J.R. Wrathall // *Dev Neurobiol.* – 2007. – V. 67, № 7. – P. 860–874.
258. Yu, P. An in vitro model of reactive astrogliosis and its effect on neuronal growth / P. Yu, H. Wang, Y. Katagiri, H.M. Geller // *Methods Mol Biol.* – 2012. – V. 814. – P. 327–340.
259. Zhang, J. Chemical hypoxia-ischemia induces apoptosis in cerebromicrovascular endothelial cells / J. Zhang, Z. Tan, N.D. Tran // *Brain Res.* – 2000. – V. 877. – P. 134–140.
260. Zuchero, J.B. and Barres, B.A. Glia in mammalian development and disease / J.B. Zuchero, B.A. Barres // *Development.* – 2015. – V. 142, № 22. – P. 3805–3809.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ОРЗК	опорная разгрузка задних конечностей
СС	центральный канал
CST	кортикоспинальный тракт
Cx47	белок щелевых контактов коннексин 47
DREZ	зона вхождения дорсальных корешков
GFAP	глиальный фибриллярный кислый белок
HoxB8	белок гомеобокса B8
Iba1	кальций-связывающий белок микроглии
Krox20	транскрипционный фактор, белок раннего ответа 2
Krox24	транскрипционный фактор, белок раннего ответа 1
Olig2	транскрипционный фактор олигодендроцитов 2
OSP	олигодендроцит-специфический белок
P0	нулевой белок миелина
S100B	кальций-связывающий белок S100B
VF	вентральный канатик
VH	вентральный рог