

**ПОЛНОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ  
ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА СПИННОГО МОЗГА МЫШЕЙ  
ПОСЛЕ 30-СУТОЧНОГО КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА  
НА БИОСПУТНИКЕ БИОН-М1**

© 2014 г. Р. Р. Исламов, О. А. Гусев, А. Танабе, М. Терада, О. В. Тяпкина,  
К. А. Петров, А. А. Ризванов, член-корреспондент РАН И. Б. Козловская,  
академик Е. Е. Никольский, академик А. И. Григорьев

Поступило 27.06.2014 г.

DOI: 10.7868/S0869565214300227

Одним из неблагоприятных факторов, действующих на человека в космосе, является невесомость. Это и не удивительно, поскольку эволюция всех живых систем происходила в условиях земного притяжения. Негативное действие невесомости развивается в космическом полете, но клинически выражается после возвращения космонавтов на Землю, в условия привычной гравитации. Все системы организма, адаптировавшиеся во время полета, где вес практически отсутствует, долгое время оказываются неспособными нормально работать в условиях земного тяготения.

Особенно ярко влияние невесомости проявляется в нарушении функции опорно-двигательного аппарата: снижаются сила и выносливость мышц, изменяются строение и свойства костей, нарушается работа систем, ответственных за построение движений – развивается патологическое состояние, которое называется “гипогравитационный двигательный синдром” (ГДС). Опыт длительных космических полетов показал, что самым эффективным средством сохранения работоспособности космонавтов и подготовки их к возвращению на Землю является регулярное выполнение во время полета сложного комплекса физических упражнений в условиях, имитирующих земное притяжение [1].

Но даже усердное выполнение специально разработанных профилактических комплексов не устраняет полностью развитие ГДС. Очевидно, что успешность длительных межпланетных полетов в значительной степени будет определяться достижениями в изучении патогенеза ГДС на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях. Важную роль в этом играют исследования, выполняемые на животных, находившихся в космическом полете на биоспутнике, или содержавшихся в условиях, имитирующих невесомость [2–4]. Так, в ряде работ было показано, что важным пусковым моментом развития ГДС является нарушение афферентной импульсации от конечностей. Это происходит в результате того, что их наиболее чувствительные к механическим стимулам участки в условиях невесомости не испытывают действия опоры [5, 6]. Проведенное нами изучение состояния скелетных мышц, мионевральных синапсов, мотонейронов спинного мозга позволило сделать вывод, что важную роль в патогенезе ГДС при моделировании последствий гипогравитации на Земле играют процессы демиелинизации двигательных нервов [7], приводящие к снижению скорости проведения потенциалов действия по пораженным нервным волокнам. Молекулярно-биологические исследования показали, что нарушение миелинизации аксонов происходит за счет изменения экспрессии генов, кодирующих белки миелиновых оболочек [8, 9]. Однако очевидно, что механическая экстраполяция данных, полученных на Земле, на условия орбитального полета недопустима.

Сопоставление данных о механизме развития ГДС у животных с моделируемой на Земле патологией и животных, находившихся в космиче-

*Казанский государственный медицинский университет  
Казанский (Приволжский) федеральный университет  
Subio Inc., Япония  
Японское Агентство аэрокосмических исследований  
Казанский институт биохимии и биофизики  
Казанского научного центра Российской Академии наук  
Институт медико-биологических проблем  
Российской Академии наук, Москва*

ском полете, стало возможным благодаря реализации проекта “Бион-М1”. В рамках этого проекта, с целью изучения механизмов развития ГДС, в настоящей работе нами было выполнено полногеномное исследование поясничного отдела спинного мозга мышей, 30 суток находившихся в космическом полете.

Эксперименты были проведены на мышасамцах линии C57BL/6J (питомник лабораторных животных “Пушино”, г. Пушино, Московская обл.). Животные были разделены на две группы. “Полетную” – мыши, находившиеся в 30-суточном космическом полете ( $n = 2$ ), и “Контрольную” ( $n = 2$ ) – дублиеры, оставшиеся на Земле. Спинной мозг мышей “Полетной” группы выделяли через 14 ч после приземления биоспутника. Одновременно извлекали спинной мозг у мышей контрольной группы. Далее поясничный отдел спинного мозга замораживали в жидком азоте и до начала исследования хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Тотальную РНК из образцов выделяли при помощи RNeasy Kit согласно инструкциям производителя (“Qiagen”, Германия). Два микрограмма полученной РНК использовали для реакции обратной транскрипции и последующего анализа экспрессии генов в “Контрольной” и “Полетной” группах мышей с помощью платформы микрочипов Mouse Development Microarray Kit,  $4 \times 44000$  (“Agilent”, США). Результаты исследования были обработаны с помощью программного пакета SubioPlatform (Япония). Увеличение экспрессии генов у животных “Полетной” группы более чем в два раза принималось, как статистически значимое.

Из 39486 заявленных генов на платформе микрочипа 134 генов показали достоверное увеличение и 41 ген – достоверное снижение экспрессии в материале поясничного отдела спинного мозга мышей “Полетной” группы по сравнению с показателями животных “Контрольной” группы.

Анализ принадлежности отреагировавших на “полет” генов к функциональным группам с использованием базы данных “DAVID Bioinformatics Resource” выявил достоверное увеличение активности генов, кодирующих рецепторы, связанных с G-белками (36 генов), трансмембранные белки (38 генов), ферменты гидроксирования (3 гена), ингибиторы сериновых протеиназ (3 гена) и протеиназы (6 генов).

Среди генов с пониженной экспрессией представляет интерес генетический каскад, ответственный за синтез саркомерных белков (их недостаток ведет к гипертрофической кардиомиопатии). Кроме того, достоверно отреагировали снижением экспрессии гены, продукты которых содержат домены, специфичные для белков, кон-

тролирующих синтез иммуноглобулинов (5 генов). Также была снижена экспрессия генов ферментов синтеза и метаболизма нуклеотидов (6 генов), мышечных белков (2 гена), гликопротеинов (9 генов), киназ (3 гена), а также сигнальных белков (8 генов) и ферментов, связанных с синтезом и процессингом АТФ (5 генов).

Исследование фрагментов спинного мозга, включающих разные клетки, не позволяет говорить о принадлежности “отреагировавших” генов к определенному типу клеток, однако предварительный анализ транскриптома дает основания полагать, что в развитии ГДС участвуют разные функциональные группы генов. Исходя из представлений о механизмах обеспечения надежности функционирования нервно-мышечного аппарата особое внимание привлекают данные о резком снижении экспрессии генов, кодирующих белки кальциевых каналов (NM\_031169, NM\_007582 и др.).

Ранее нами были выполнено исследование транскриптома тканей поясничного отдела спинного мозга мышей после 30 сут антиортостатического вывешивания задних конечностей [9].

Сопоставление результатов полногеномного анализа тех отделов спинного мозга, где локализованы мотонейроны, иннервирующие мышцы нижних конечностей (в том числе и наиболее быстро реагирующие на гипогравитацию постуральные мышцы) животных, находившихся в орбитальном полете, и животных с моделируемым на Земле ГДС, выявило существенные различия. Например, мы не получили подтверждения ожидаемым изменениям экспрессии генов, кодирующих белки миелина. Полученные данные дают серьезные основания предполагать, что патогенез двигательных нарушений в невесомости и при ее моделировании на Земле может существенно различаться. Вместе с тем нельзя исключать фактор малого количества (вследствие его уникальности) “полетного” материала, что могло быть причиной различий результатов “модельных” и “полетных” исследований.

Исследование поддержано грантами: РФФИ № 13–04–00310–а, РФФИ № 14–04–92116 ЯФ, Президента РФ НШ–2669.2012.7, Программой № 7 Президиума РАН, Программой фундаментальных исследований Президиума РАН “Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий” субсидией, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Козловская И.Б., Пестов И.Д., Егоров А.Д. // Авиакосм. и экол. медицина. 2008. Т. 42. № 6. С. 66–73.
2. Григорьев А.И., Ильин Е.А. // Вестн. РАН. 2007. Т. 77. № 11. С. 963–986.
3. Morey-Holton E.R., Globus R.K. // J. Appl. Physiol. 2002. V. 92. P. 1367–1377.
4. Липец Е.Н., Пономарева Е.В., Огнева И.В., и др. // Авиакосм. и экол. медицина. 2009. Т. 43. № 3. С. 34–39.
5. Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90. № 5. С. 508–521.
6. Григорьев А.И., Шенкман Б.С. // Вестн. РАН. 2008. Т. 78. № 4. С. 337–345.
7. Тяпкина О.В., Нуруллин Л.Ф., Резвяков П.Н. и др. // Биофизика. 2012. Т. 57. № 5. С. 876–879.
8. Исламов Р.Р., Ризванов А.А., Тяпкина О.В. и др. // ДАН. 2011. Т. 439. № 3. С. 416–420.