

## ЭФФЕКТЫ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ФИЗИОЛОГИЯ СТАРЕНИЯ: СХОДНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ИЛИ ОБЩИЕ МЕХАНИЗМЫ?

### Обзор

© 2023 А.Ю. Ратушный, Л.Б. Буравкова\*

*Институт медико-биологических проблем РАН,  
123007 Москва, Россия; электронная почта: buravkova@imbp.ru*

Поступила в редакцию 18.07.2023

После доработки 13.10.2023

Принята к публикации 14.10.2023

Несмотря на использование средств профилактики (в том числе интенсивных физических нагрузок), у космонавтов и астронавтов в длительных космических полетах развиваются атония и атрофия мышц, недостаточность сердечно-сосудистой системы, остеопения и др. Все эти изменения, напоминающие возрастные физиологические сдвиги, наступают у здорового человека в условиях микрогравитации довольно быстро – в течение нескольких месяцев. То есть адаптация к отсутствию гравитации приводит к симптоматике старения, которая компенсируется после возвращения на Землю. Перспектива межпланетных полетов ставит вопрос о пороговых значениях гравитации, ниже которых основные физиологические системы будут терять свой функциональный потенциал по аналогии со старением и влиять на продолжительность жизни. Важная роль в процессах старения принадлежит клеточному резерву организма – прогениторным клеткам, которые участвуют в физиологическом ремоделировании и регенеративных/репаративных процессах всех физиологических систем. С возрастом их число уменьшается, и снижается регенеративный потенциал. Более того, их паракринный спектр при клеточном старении становится провоспалительным, нарушая тканевой гомеостаз. Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки являются механочувствительными, и поэтому отсутствие гравитационного стимула вызывает серьезные изменения их функционального статуса. В обзоре проведено сравнение клеточных эффектов микрогравитации и изменений, развивающихся в сенесцентных клетках, в том числе стромальных предшественниках.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** микрогравитация, старение организма, клеточное старение, мезенхимальные стромальные клетки (МСК).

DOI: 10.31857/S032097252311009X, EDN: MLINNI

### ВВЕДЕНИЕ

Факторы космического полета, в частности, невесомость/микрогравитация, повышают риски ухудшения здоровья космонавтов, несмотря на тщательный предполетный отбор [1–3]. В связи с этим одной из наиболее существенных научных проблем космической медицины является поиск фундаментальных механизмов адаптации к воздействию микрогравитации на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях. Особый интерес представляет

сходство физиологических изменений, происходящих в условиях космического полета и при старении организма человека, что поднимает фундаментальный вопрос об общности молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в их основе. В то же время после возвращения на Землю наблюдается восстановление и нормализация физиологических процессов в органах и тканях. Старение же ведет к односторонним, прогрессирующим патологическим изменениям [1, 4].

Известно, что длительные космические полеты могут приводить к появлению признаков, характерных для старения, во многих системах организма [4–7]. Исследования, проведенные на орбитальной станции «Мир» и Международной космической станции, показали, что длительное пребывание в космосе приводит к снижению плотности костей [8–11],

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ВКМ – внеклеточный матрикс; ММГ – моделированная микрогравитация; МСК – мезенхимальные стволовые/стромальные клетки; Rb – белок ретинобластомы; RPM – устройство рандомизации положения объекта относительно вектора гравитации.

\* Адресат для корреспонденции.

дисфункции иммунной системы [12], проблемам функционирования сердечно-сосудистой системы [13, 14], а также снижению массы и силы скелетной мускулатуры [15]. В опорно-двигательном аппарате отмечаются проблемы и с хрящевой тканью. Снижается размер хондроцитов гранул, синтез протеогликанов и динамическая жесткость трехмерных хрящевых конструкций [7]. Можно отметить также умеренный гипотиреоз, повышенное содержание гормонов стресса (в основном катехоламинов), снижение уровня половых стероидов, инсулинорезистентность и системный воспалительный ответ [6, 16]. Сходные изменения происходят при старении человека в условиях земной гравитации, но в космосе они развиваются намного быстрее.

В контексте воздействия микрогравитации одним из наиболее важных рисков являются дистрофические изменения опорно-двигательного аппарата. В недавнем мета-обзоре на эту тему просуммированы данные 25 экспериментальных статей. Исследователи проанализировали значения плотности костной ткани после полета для 148 человек, а также биохимические маркеры костной ткани в полете и после полета для 124 человек. У космонавтов, которые провели в полете более 28 дней, обнаружено снижение плотности костей в нижних конечностях на 5,4% ( $n = 96$ ) относительно предполетного уровня. После приземления маркеры резорбции снижались, и баланс смещался в сторону костеобразования [11].

Некоторые механизмы, лежащие в основе снижения плотности костей в условиях космического полета, могут быть очень похожи на механизмы остеопороза, ассоциированного со старением и/или гиподинамией. Уменьшение костной массы и остеопороз проявляются как у пожилых людей, так и у пациентов любого возраста, ведущих малоподвижный образ жизни [6]. В первую очередь, можно выделить снижение механической нагрузки на опорно-двигательный аппарат. Во-вторых, отметить снижение уровня половых гормонов, таких как тестостерон и эстроген. Интересно, что у мужчин-астронавтов наблюдается как снижение нагрузки, так и снижение тестостерона (сравнимое с пожилыми мужчинами) [6, 17]. Необходимо отметить, что выполнение ежедневных физических тренировок и нагрузочных тестов не позволяет полностью остановить развитие остеопении.

Сходные результаты демонстрируются и в работе с животными, где 16-недельных самок мышей C57BL/6J ( $n = 8$ ) подвергли воздействию микрогравитации в течение 15 дней во

время миссии космического корабля STS-131. Последующий анализ показал снижение объемной доли кости на 6,2% и толщины кости на 11,9%. Более детальный анализ выявил увеличение количества остеокластов. Экспрессия матриксных металлопротеиназ (ММП-1, -3 и -10) в костях также повышалась. В то же время экспрессия гена *CDKN1a*, кодирующего p21 (один из ингибиторов клеточного цикла и важных маркеров клеточного старения), в остеобластах увеличивалась в 3,3 раза. Это может доказывать, что в основе изменения костного гомеостаза в условиях микрогравитации лежат остеолитические остеокласты и p21-опосредованная остановка клеточного цикла остеобластов [18]. Таким образом, феноменология длительного воздействия факторов космического полета на физиологию костной ткани позволяет провести некоторые параллели с возрастными изменениями. Это дает основания предполагать существование сходных клеточных механизмов.

Последние исследования с участием астронавтов обнаруживают еще больше связей между изменениями во время космических полетов и при старении. Современные молекулярно-биологические методы позволяют оценить состояние генетического аппарата при различных воздействиях. Так, американские исследователи провели оценку динамики изменения длины теломер (концевых участков хромосом) и ответа на повреждение ДНК (DDR – DNA damage response) в мононуклеарных клетках периферической крови до, во время и после длительных полетов (до года) на борту МКС у 11 астронавтов. Сокращение теломерных участков считается одним из классических признаков старения, что будет подробнее рассмотрено ниже. Несмотря на то что все обследуемые прошли строгий медицинский отбор и не имели замечаний к состоянию здоровья, у них отмечены более низкие значения длины теломер и меньший уровень теломеразной активности по сравнению с контрольной группой здоровых обследуемых того же возраста. Интересно, что длина теломер несколько увеличивалась во время космических полетов, но затем этот показатель быстро снижался после возвращения на Землю [19]. В результате почти у всех астронавтов длина теломер после полета была ниже дополетных значений, несмотря на индивидуальные различия. Авторы установили положительную корреляцию окислительного стресса и динамики изменения длины теломер. Кроме этого, во время и после космических полетов наблюдалось возрастание частоты появления хромосомных инверсий. Выдвинуто предположение,

что хронический окислительный стресс во время космических полетов транзиторно активирует в соматических клетках альтернативный путь регуляции длины теломер, не зависящий от активности теломеразы [19].

Обсуждая данные об увеличении длины теломер во время космических полетов, необходимо отметить, что космонавты и астронавты используют физические нагрузки (около часа ежедневно) в качестве средства профилактики неблагоприятного действия невесомости. Анализ эффектов бега на длину теломер [20] выявил его положительное влияние на этот показатель в мононуклеарных клетках крови, при этом длина теломер положительно коррелировала с уровнем тренированности спортсменов [21].

Если рассматривать длину теломер (или любой другой признак старения) как один из «интегративных маркеров» кумулятивного действия генетических и внешних факторов (окружающая среда и образ жизни) на старение организма, то, анализируя влияние космических полетов на физиологические процессы, необходимо помнить, что, помимо микрогравитации, на организм здорового человека будет влиять повышенный уровень радиации, транзиторные изменения нормоксической атмосферы станции (повышение уровня CO<sub>2</sub>, органические примеси в атмосфере), изменение микробиома, а также стрессовые ситуации (например, внекорабельная деятельность, отказы элементов систем жизнеобеспечения и др.).

Интересно, что концентрация провоспалительных интерлейкинов и хемокинов в плазме крови астронавтов достоверно коррелировала с длиной теломер и повышалась в условиях длительных космических полетов. В плазме космонавтов было обнаружено повышение содержания таких факторов, как TNF $\alpha$ , IL-8, IL-1 $\alpha$ , TPO, VEGF, MCP-1, CCL4, CXCL5, включая провоспалительные цитокины [12], что может рассматриваться как хроническое (стерильное) воспаление, являющееся одним из признаков старения.

Во время космического полета микрогравитация является основным фактором, влияющим на здоровье астронавтов [22]. Поскольку физиологические изменения на уровне организма являются следствием модификации функционирования клеток, мы сравнили клеточные изменения при старении и в условиях микрогравитации.

Безусловно, необходимо помнить, что в физиологических эффектах влияния гравитации большую роль играют и центральные регуляторные процессы, такие как изменение

биоритмов, гормонального статуса и другие, влияющие на состояние (и старение) клеток в контексте целостной единой системы. Эти эффекты являются предметом отдельных исследований. В частности, они рассматриваются в нейроэндокринной теории старения Дильмана и в гипотезе А.М. Оловникова о возможных молекулярных механизмах развития и старения многоклеточных организмов, в том числе с участием нейроэндокринных клеток и гравитационных влияний. Там же упоминается и восприятие животными гравитационных инфраничных ритмов, которые могут нарушаться в космическом полете и, вероятно, приводить к ускоренному старению [23–27].

### СТАРЕНИЕ КЛЕТОК

В современном представлении старением часто называют прогрессирующую с течением времени потерю физиологической целостности организма, ведущую к нарушениям его функций и увеличению риска смерти. Гипотезы, теории, определения старения на различных уровнях организации жизни активно обсуждаются на страницах журнала «Биохимия», в том числе в № 12 за 2022 г. В данном обзоре мы отметим лишь основные моменты. Также стоит отметить и существование эпигенетических «часов» старения, предложенных в 2013 г. Horvath [28] и в 2017 г. группой исследователей под руководством Gladyshev [29]. Однако достаточно широкое применение этих «часов» в приложении к космической биологии остается вопросом будущих исследований.

На сегодняшний день на клеточном уровне к признакам старения относят изменение межклеточного взаимодействия, истощение пула стволовых клеток, клеточное старение, митохондриальную дисфункцию, нарушение метаболизма, нарушение протеостаза, нестабильность генома, укорочение теломер, эпигенетические изменения [30]. Непосредственно клеточное старение (сенесценцию) ученые считают одним из центральных звеньев в старении организма [31]. Данный феномен характеризуется необратимым арестом клеточного цикла и может сопровождаться выраженными фенотипическими изменениями, включая усиление аутофагических процессов, модуляцию метаболизма, ремоделирование хроматина, продукцию провоспалительных цитокинов и др. [32–36]. Среди наиболее известных маркеров сенесцентного состояния клетки следует отдельно выделить морфологические изменения, включая увеличение размера и уплощение [37].

Также повышается активность старение-ассоциированной  $\beta$ -галактозидазы (SA- $\beta$ -gal) [38] и увеличивается частота возникновения гетерохроматиновых фокусов –  $\gamma$ -H2AX [39]. В некоторой степени сенесцентная клетка является и следствием, и причиной старения. С одной стороны, она представляет собой следствие изменений на молекулярном уровне, которые воплощаются в реализацию программы сенесценции на уровне элементарной единицы организации жизни – на уровне клетки. С другой стороны, физиология сенесцентной клетки в значительной степени изменяется, что в долгосрочной перспективе приводит к нарушениям в работе тканей и органов.

Клеточное старение принято относить к антагонистическим признакам, которые имеют как отрицательные, так и положительные стороны. Хорошо известно, что активация сенесцентного состояния является важнейшим барьером на пути опухолеобразования. Неконтролируемое деление опухолевых клеток и неспособность к делению сенесцентных клеток представляются противоположными следствиями одних и тех же причин, а именно накопления повреждений в генетическом материале [40, 41]. Также клеточное старение играет важную роль в процессе заживления ран. При заживлении кожных ран матрицеллюлярный белок CCN1 может индуцировать старение фибробластов или миофибробластов и тем самым уменьшать фиброз [42]. Еще одной стороной положительных эффектов старения может быть и изменение межклеточного взаимодействия. Ряд паракринных медиаторов, характерных для сенесцентного секрета, даже используют при праймировании стромальных предшественников с целью использования в регенеративной медицине. В последние годы были исследованы разные подходы к праймированию для расширения возможностей стромальных прогениторов, что привело к созданию новых клеточных продуктов с улучшенным потенциалом для различных клинических применений [43]. Подобные исследования ярко иллюстрируют неоднозначность негативных и позитивных эффектов в биологии, что касается и сенесцентных клеток.

На сегодняшний день различают репликативное и стресс-индуцированное клеточное старение. Репликативным старением считают состояние клеток, при котором пролиферативная активность необратимо утрачена после ряда митозов. Основной причиной ареста клеточного цикла (в этом случае) является укорочение теломерных участков, которое можно рассматривать как частный случай нестабиль-

ности генома. В 1961 г. клеточное старение впервые было описано как прогрессивная и необратимая потеря пролиферативного потенциала соматических клеток человека. Показано, что даже в идеальных условиях культивирования фибробласты эмбриона человека способны делиться только ограниченное число раз ( $50 \pm 10$ ) [44]. Феномен назвали по имени автора работы – «лимит Хейфлика». Объяснение этого явления предложил А.М. Оловников в 1971 г. [45], используя данные о принципах синтеза ДНК в клетках. Согласно его гипотезе, которая позже получила экспериментальные подтверждения, при каждом клеточном делении хромосомы немного укорачиваются из-за недорепликации теломерного участка ДНК. Теломеры человека представляют собой концевые участки хромосом, которые содержат от 4 до 15 тысяч пар оснований и состоят из повторяющихся последовательностей TTAGGG. Дело в том, что ДНК-полимераза не способна синтезировать дочернюю копию ДНК с самого конца цепи – она может лишь добавлять нуклеотиды к уже имеющейся 3'-гидроксильной группе, т.е. нуждается в РНК-праймере. После удаления последнего праймера на 3'-конце дочерняя цепь неизбежно окажется короче, что приведет к постепенной потере участка теломеры в процессе последовательных циклов синтеза ДНК [46].

Стресс-индуцированное клеточное старение также характеризуется необратимым арестом клеточного цикла. В отличие от репликативного оно не связано с количеством делений. Стресс-индуцированное старение запускается в ответ на сублетальные воздействия или активацию онкогенов [36, 47]. Наиболее часто это состояние связывают с окислительным стрессом, т.е. с нарушением баланса между оксидантами (обычно активными формами кислорода (АФК)) и антиоксидантными системами. Воздействие АФК на ДНК, в том числе на мтДНК, способствует формированию продуктов окислительного повреждения оснований ДНК, таких как 8-гидрокси-2'-дигидроксиантоин (8OHdG), а также может приводить к разрыву цепей [48]. Помимо этого, митохондриальные АФК могут активировать N-концевую киназу JUN (JNK), которая, в свою очередь, способствует высвобождению фрагментов хроматина в цитоплазму и активации провоспалительных компонентов секрета [49]. Интересно, что окислительный стресс также может ускорить укорочение теломер [50], вероятно, из-за большого содержания гуанина (G), который является наиболее уязвимым для АФК [51].

Программы репликативного и стресс-индуцированного клеточного старения реализуются через сходные механизмы в клетке. Сравнительно небольшие повреждения ДНК приводят к временному аресту клеточного цикла. После успешной репарации клетка снова может начать делиться. Такое состояние по определению нельзя назвать клеточным старением. Более значительные повреждения, длительно не поддающиеся репарации, приводят к хронической активации сигнального каскада DDR, реакции клетки на повреждение генетического материала. Хроническая активация DDR обычно возникает при множественных повреждениях ДНК и приводит к стабильному аресту клеточного цикла, главному признаку сенесцентного состояния. Стабильный арест цикла достигается путем активации сигнальных каскадов супрессоров опухолей p16INK4a/Rb и p53/p21CIP1 [47, 51]. Снова начать делиться клетка уже никогда не сможет. Оба ингибитора – p21 и p16 (кодируются генами *CDKN1A* и *CDKN2A* соответственно), подавляя активность соответствующих циклинзависимых киназ, приводят к гипофосфорилированию белка ретинобластомы (Rb). Гипофосфорилированный Rb способен связывать транскрипционные факторы семейства E2F, регулирующие клеточный цикл [52, 53]. Путем обратимого связывания и, как следствие, функциональной инактивации белков E2F, Rb контролирует экспрессию генов, продукты которых являются важными участниками регуляции клеточного цикла, и блокирует переход клеток из G1 в S-фазу. При этом путь p53/p21 преимущественно активируется первым, предотвращая пролиферацию клеток с серьезными повреждениями ДНК, тогда как путь p16/Rb вовлекается несколько позднее [32]. Однако в зависимости от клеточного контекста предпочтение может быть отдано тому или другому пути.

На клеточное старение могут влиять различные механические силы, включая напряжение сдвига, растяжение и давление [54, 55]. Можно ли рассматривать микрогравитацию как фактор, вызывающий клеточное старение или иные сходные изменения в физиологии клетки?

#### СЕНЕСЦЕНТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Как уже было отмечено выше, в космическом полете на организм действует целый ряд

неблагоприятных стрессовых факторов, которые могут усугублять развитие признаков, ассоциированных со старением. На клеточном уровне это может быть измененный радиационный фон, который способен нарушать целостность ДНК и усиливать окислительный стресс. В данном обзоре основное внимание сосредоточено на эффектах микрогравитации.

Рассмотрим ассоциированные со старением изменения в разных типах клеток при моделировании микрогравитации (ММГ). В силу технических ограничений по проведению экспериментов в космических полетах исследователи используют различные наземные модели. Как правило, такие модели направлены на гравитационную «разгрузку» с целью моделирования некоторых эффектов микрогравитации. Наземные эксперименты также позволяют избежать влияния повышенного радиационного фона и других факторов космического полета. Для моделирования эффектов микрогравитации на клеточных культурах чаще всего используются сосуды с вращающейся стенкой (Rotating Wall Vessel, RWV) и 2D/3D-клино-статы, такие как устройство рандомизации положения объекта относительно вектора гравитации (Random Positioning Machine, RPM). Считается, что для моделирования эффектов микрогравитации на адгезивных культурах клеток наиболее подходящим является RPM, которое представляет собой прибор, состоящий из двух рамок, осуществляющих вращение в двух перпендикулярных плоскостях с помощью специального программного обеспечения. Это приводит к рандомизации положения объекта относительно вектора гравитации. В стандартных режимах работы прибор моделирует ускорение свободного падения, эквивалентное  $10^{-2} g$  [56–58].

В качестве объекта исследований используют различные клеточные культуры, включая иммортализованные линии, эндотелий, стромальные предшественники и др. [59–63]. Исследования морфофункционального состояния клеток *in vitro* позволили выявить широкий спектр изменений, свидетельствующих о прямом влиянии гравитации на клеточные структуры. Изменение положения тяжелых органелл, таких как ядро, приводит к перераспределению нагрузки на цитоскелет и вызывает его реорганизацию, также происходят модификации физического взаимодействия клетки с внеклеточным матриксом через молекулы адгезии. Все это приводит к изменению экспрессии генов, функционирования ряда белков и общей модификации функционального состояния клеток [64–68].

В отдельных работах предприняты попытки выявить в условиях ММГ активацию сенесценции в клетках феохромоцитомы (PC12), эритроцитах, миоблестах скелетных мышц и кардиомиоцитах [59, 69–71]. Wang et al. [59] исследовали влияние ММГ на клеточной линии PC12 крысы нейронального происхождения на ранних сроках (6–96 ч). Обнаружен арест клеточного цикла в фазе G1, повышение активности SA-b-gal и активация сигнальных каскадов p53 и p16, связанных с сенесценцией. Более детальный анализ выявил увеличение количества АФК, которые могут быть индуктором сенесценции. Активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (SOD), глутатионпероксидаза (GSH-Px) и каталаза (CAT), была значительно повышена через 12 ч после начала эксперимента, но снижена через 96 ч. Более того, блокировка АФК антиоксидантом N-ацетилцистеином значительно подавляла вызванное микрогравитацией повышение активности SA-b-gal. Эти результаты позволили авторам предположить, что воздействие ММГ вызывает клеточное старение в клетках PC12 через усиление окислительного стресса [59].

С использованием 3D-клиностага проведена оценка модификаций структуры и функций эритроцитов человека. Сравнивали структурные параметры эритроцитов и выбирали метаболические показатели, характерные для клеточного старения. Полученные результаты, по мнению авторов, свидетельствуют о том, что длительные экспозиции приводят к характерным морфологическим паттернам старения [69].

Показано, что ММГ с использованием 3D-клиностага «Zeroto» ускоряет старение миобластов скелетных мышц человека в культуре. Продемонстрированы значительное снижение пролиферации, характерная реорганизация цитоскелета и гипертрофия ядер клеток, повышение экспрессии SA-b-gal. Подобные изменения наблюдаются в сенесцентных миоблестах после нескольких пассажей. Авторы отмечают, что эти эффекты оставались даже после возвращения к нормальным гравитационным условиям. Кроме этого, миобласты, подвергнутые воздействию ММГ, продемонстрировали сниженную способность к дифференцировке в миотубы [70].

Совсем недавно проведены исследования на кардиомиоцитах, полученных из iPSC (Induced pluripotent stem cell) человека. Продемонстрировано, что ММГ приводит к хромосомным реорганизациям, снижению митохондриальной функции, повышению уровня АФК

и другим признакам клеточного старения. Стоит отметить, что авторы указывают и на ограничения своего исследования, с которыми сложно не согласиться. Во-первых, короткое время экспозиции в условиях ММГ (48 ч). Во-вторых, необходимость дополнительных экспериментов для демонстрации обратимости или необратимости обнаруженных изменений [71].

Некоторые другие авторы также склоняются к мысли об участии АФК в повреждении ДНК при ММГ. Отмечается, что в клетках промиелоцитарного лейкоза человека ММГ индуцирует повреждение ДНК и митохондриально-опосредованный апоптоз через повышение продукции АФК [72]. В более ранних исследованиях уже отмечалось, что клиностагирование влияет на митохондрии, один из главных продуцентов свободных радикалов в клетке, и тем самым может вызывать апоптоз в клетках щитовидной железы. Через 24 ч эксперимента 10% клеток карциномы щитовидной железы (клеточная линия ONCO-DG1) вступили на Fas-зависимый апоптотический путь. Были обнаружены разрушение и перераспределение митохондрий, разрушение микротрубочек и активация эффекторной каспазы-3. Апоптоз был также выявлен при клиностагировании в нормальных клетках щитовидной железы (HTU-5), о чем свидетельствует активация каспазы-3, повышение содержания белков Fas и Вах [73].

Исследования на эмбриональных стволовых клетках мыши показали усиление действия АФК в условиях ММГ. Авторы добавляли перекись водорода к клеткам и анализировали количество двунитевых разрывов ДНК через 24 ч. Воздействие микрогравитации на обработанные клетки значительно повышало степень повреждения ДНК [74]. О сходных результатах в 2003 г. сообщили Greco et al. [75]. Они показали увеличение частоты хромосомных aberrаций примерно в 1,2–2,8 раза при воздействии рентгеновского излучения на образцы крови после полета по сравнению с данными перед полетом. В то же время результаты другой работы показывают, что для фибробластов человека, находящихся в фазе G1 клеточного цикла, ранний ответ на блеомицин-индуцированное повреждение ДНК (количество фокусов  $\gamma$ -H2AX) было одинаковым как для клеток, экспонированных в условиях микрогравитации, так и для клеток статического наземного контроля [76].

Таким образом, целый ряд работ указывает на то, что ММГ может приводить к некоторым признакам клеточного старения. Более того,

в некоторой степени предполагается даже механизм, а именно окислительный стресс, ассоциированный с нарушением в работе митохондрий. Тем не менее ни в одной работе нет подтверждений перманентности ареста клеточного цикла. То есть четких доказательств, что после воздействия клетки уже не могут пролиферировать, по-прежнему не существует. Следовательно, однозначно говорить о клеточном старении в условиях ММГ пока рано. По нашему мнению, ММГ вряд ли может быть настолько сильным воздействием, чтобы привести к столь серьезным нарушениям на клеточном уровне.

### ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СТРОМАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В УСЛОВИЯХ ММГ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ СЕНЕСЦЕНЦИИ

Мезенхимальные стромальные/стволовые клетки (МСК) или стромальные предшественники уже обнаружены почти во всех тканях организма и играют одну из главных ролей при обновлении и регенерации. Они участвуют в поддержании гомеостаза костной ткани, гемопоэза, регуляции иммуномодуляции и ангиогенеза, и др. МСК представляют немалый интерес как для фундаментальной науки, так и для прикладного применения в регенеративной медицине, включая случаи возрастных патологий. На сегодняшний день исследователи пришли к консенсусу и связывают положительные эффекты МСК с их способностью продуцировать целый ряд секретируемых факторов, в том числе компоненты внеклеточного матрикса и цитокины [77–80].

Некоторые авторы предполагают, что патологические изменения у астронавтов могут быть связаны со старением стромальных предшественников. Дальнейшее изучение влияния микрогравитации на старение МСК способствует пониманию роли сенесцентных клеток в развитии физиологических и патологических изменений в условиях космического полета [81]. Старение в организме коррелирует со снижением функциональной активности МСК. Это снижает скорость восстановления тканей, что характерно для старения. Например, переломы остеопоротической кости в пожилом возрасте медленнее заживают из-за снижения функции и количества МСК [82].

Основной причиной повреждения клеток, как уже было отмечено выше, может являться окислительный стресс. Микрогравитация

представляет собой стрессовое воздействие, потенциально способное индуцировать выработку АФК, что в конечном итоге приводит к различным повреждениям субклеточных компартментов [83]. В недавней работе отмечено увеличение уровня свободных радикалов и митохондриальная дисфункция в МСК. Антиоксидант восстанавливал функцию митохондрий и обращал вспять старение клеток. Кроме того, ММГ способствовала экспрессии YAP (Yes-associated protein) и его транслокации в ядро. YAP является важным эффектором сигнального пути Hippo, регулирующего развитие, гомеостаз и регенерацию [81, 84, 85]. Известно, что YAP может регулировать старение клеток, влияя на сигнальные пути ATM (мутация атаксии-телеангиэктазии), p53/p21, p16/CDK/Rb, аутофагию, AMPK, mTOR и SIRT1 [86–88]. Вертепорфин (VP), ингибитор YAP, восстанавливал ММГ-индуцированную митохондриальную дисфункцию и старение МСК [81].

В некоторых других исследованиях авторы также предполагают, что ММГ вызывает старение стромальных предшественников. Были изучены молекулярные изменения, ассоциированные со стволовостью (OCT-4, SOX2, NANOG) и клеточным старением (p19, p21, p53) в МСК, выделенных из Вартонова студня. По мнению авторов, результаты указывают на клеточную адаптацию, происходящую в течение первых часов воздействия, после чего следует потеря стволовости и появление признаков молекулярной программы старения [89]. Рассмотрим подробнее основные физиологические показатели МСК в условиях микрогравитации.

**Пролиферация.** Пролиферация представляет собой одну из главных характеристик клеток, особенно в контексте старения. В первую очередь, старение МСК классически характеризуется перманентным арестом клеточного цикла в фазе G1. То есть сенесцентные МСК не могут пролиферировать и образовывать колонии [36, 90, 91]. Ряд работ свидетельствует, как минимум, о некотором снижении пролиферативного потенциала МСК в условиях ММГ. Так, клиностатирование в течение времени (от 1 ч до 10 суток) приводило к снижению скорости пролиферации и изменению морфологии клеток, которые становились более плоскими и достигали конfluence при более низкой плотности. При увеличении срока воздействия до 20 суток пролиферация также снижалась, при этом увеличивалось количество крупных плоских клеток в культуре [92, 93]. Подобные изменения могут быть

и признаками старения. Работа с МСК костного мозга крысы подтверждает выводы предыдущих авторов [94]. Отмечается, что клиностамирование ингибирует рост популяции МСК в G0/G1-фазе клеточного цикла.

Другие авторы не только не сумели получить схожие результаты, но и обнаружили противоположный эффект. Yuge et al. [95] показали, что скорость пролиферации МСК человека на 3D-клиностае была повышена почти в 3 раза по сравнению с контрольной группой. Авторы отметили, что ММГ можно использовать для увеличения прироста популяций стволовых клеток *in vitro*. В нашем собственном исследовании было изучено функциональное состояние МСК, выделенных из жировой ткани человека, в условиях ММГ (96 ч) при помощи RPM. Обнаружено повышение прироста клеток в 1,5–2 раза, снижение активности лизосомального компартмента, уменьшение размера и гранулярности клеток. Не выявлено изменений в уровне АФК и трансмембранном потенциале митохондрий. Проведенное исследование указывает на отсутствие признаков клеточного стресса при культивировании МСК в условиях ММГ [96].

Работа с более коммитированными потомками МСК – остеобластами – показала, что ММГ не влияла на прирост клеток или их жизнеспособность. Клетки инкубировали на 3D-клиностае в течение 12–96 ч. Через 24 ч после начала эксперимента соотношение уровней мРНК *Bax/Vcl-2* (индикатор апоптоза) было увеличено до 136% от статического контроля. Однако уровни мРНК *XIAP* (антиапоптотическая молекула) одновременно увеличились до 138% от статического контроля. Фрагментация ДНК не наблюдалась. Уровень мРНК эффекторной каспазы-3 не изменялся [97].

Таким образом, делать однозначные выводы о снижении пролиферации МСК или увеличении апоптоза в условиях ММГ, как минимум, преждевременно. Данный вопрос требует дальнейших и более детальных исследований.

**Дифференцировка.** Важной особенностью сенесцентных МСК считается снижение мультипотентности [90, 91], что может ослаблять их репаративные свойства в тканях всех типов. Обнаруживается смещение баланса между адипоцитарным и остеоцитарным направлениями, хотя конкретный вектор сдвига по-прежнему остается дискуссионным. Некоторые работы отметили снижение остеогенных свойств МСК с увеличением длительности культивирования или при старении [98–100]. Другие исследования не показывают сходных

изменений или даже сообщают об увеличении остеогенного потенциала [101, 102]. Столь неоднозначные результаты, получаемые разными научными группами, обычно объясняют различными методологическими подходами и экспериментальными моделями, гетерогенностью популяции МСК, а также отсутствием однозначных тестов на остеогенную дифференцировку [98, 103]. Наиболее информативным маркером остеогенного потенциала *in vitro* является индукция дифференцировки в соответствующем направлении с последующим выявлением минерализации матрикса. В то же время повышенный уровень клеточной гибели может привести к ложноположительным результатам вследствие выхода большого количества кальция из погибающих клеток и его связывания с матриксом [36, 90, 91]. Касательно адипоцитарного потенциала ученые оказались ближе к консенсусу. Спектр получаемых результатов несколько широк, тем не менее большинство исследователей приходят к выводу о снижении адипогенного потенциала при клеточном старении [91].

Наши собственные результаты однозначно свидетельствуют о снижении адипогенного потенциала МСК, выделенных из жировой ткани, при репликативном старении. На это указывает отсутствие выраженного образования липидных включений при дифференцировке. Обнаружено значительное снижение экспрессии гена ключевого транскрипционного регулятора *PPAR $\gamma$* , что, вероятно, лежит в основе данного феномена. С другой стороны, в той же работе отмечены признаки, указывающие на реципрокное повышение остеогенного потенциала, несмотря на снижение экспрессии генов некоторых позитивных регуляторов остеобластного пути (*BMP2*, *BMP6*, *IGF1*, *IL1B*). При этом увеличивалась выраженность кальцификации матрикса при дифференцировке и концентрация остеопротегерина, что может быть важно в контексте кальцификации атеросклеротических бляшек у пожилых людей. Транскрипционная активность ключевого регулятора остеогенеза (*RUNX2*) и ряда исследуемых генов-маркеров (*SPARC*, *SPP1*, *COL1A1*, *BGLAP*) при репликативном старении МСК оставалась стабильной [104]. Несмотря на усиление кальцификации матрикса, его морфология отличалась в «молодых» и сенесцентных культурах, что может указывать на ложноположительный результат вследствие выхода кальция [36, 90, 91]. В то же время обнаруженное повышение продукции остеопротегерина может указывать на проостеогенную паракринную активность сенесцентных МСК [104].

Вопрос об остеогенной дифференцировке в условиях ММГ приводит исследователей к большому согласию. Подавляющее большинство авторов сходятся во мнении, что микрогравитация способствует снижению остеогенного потенциала МСК [105]. В частности, эти эффекты продемонстрированы на МСК костного мозга крыс [94, 106] и человека [107, 108]. Эти результаты были подтверждены Saxena et al. [109], которые продемонстрировали, что ММГ ингибирует остеобластогенез и увеличивает адипоцитогенез МСК, инкубированных в остеогенных условиях. Они считают, что в этот процесс вовлечены сниженная активность RhoA и фосфорилирование кофилина, нарушение стрессовых волокон F-актина и снижение передачи сигналов интегрина через киназу фокальной адгезии. Другие авторы показали, что снижение остеобластогенеза в ММГ, по крайней мере частично, вызвано снижением передачи сигналов интегрин/MAPK [110].

Анализ транскриптома с использованием полногеномного микрочипа показал, что 882 гена были подавлены, а 505 генов активизированы после 24-часового ММГ. Отмечено значительное снижение экспрессии остеоцитарных и хондроцитарных генов и увеличение экспрессии адипоцитарных генов [111].

В более поздних исследованиях ученые заинтересовались и неканоничными направлениями дифференцировки. Так, ММГ может усиливать дифференцировку МСК в нейроны. Было обнаружено, что увеличивается экспрессия ряда соответствующих маркеров. Кроме того, повышалась секреция нейротрофинов, таких как фактор роста нервов (NGF), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) или цилиарный нейротрофический фактор (CNTF) [112]. В другом исследовании МСК крыс культивировали в течение 72 ч или 10 дней на клиностае с последующей экспансией в различных дифференциальных средах. Короткий период воздействия (72 ч) способствовал эндотелиальной, нейрональной и адипогенной дифференцировке. Длительное воздействие (10 дней) способствовало дифференцировке МСК в остеобласты, что неожиданно. Короткий период воздействия ММГ значительно снижал активность RhoA. Однако при увеличении длительности экспозиции этот показатель повышался. Эти результаты показали, что продолжительность ММГ регулирует дифференцировку МСК через RhoA-ассоциированный путь [113] и подтвердили результаты Saxena et al. [109], рассмотренные выше.

Таким образом, моделирование микрогравитации может в значительной степени повлиять на дифференцировочный потенциал МСК. По крайней мере в части остеогенной дифференцировки это влияние носит ингибирующий характер, что может объяснять и сходные физиологические последствия, касающиеся нарушения костного метаболизма.

**Секреторная активность.** Предполагается, что сенесцентные клетки могут способствовать поддержанию хронического воспаления и развитию заболеваний, ассоциированных со старением, поэтому изучение вопроса паракринной регуляции имеет большое значение. При старении клетки продолжают взаимодействовать со своим окружением и оказывать локальные и системные эффекты в первую очередь через паракринную регуляцию. Секреторный фенотип при клеточном старении значительно изменяется и даже получил отдельное название — SASP (senescence-associated secretory phenotype). Прежде всего, SASP характеризуется повышением провоспалительной части секретома, хотя отдельные факторы могут значительно варьировать в зависимости от типа клеток и способа индукции сенесценции [36, 90, 91, 114].

Показано, что 20-дневная экспозиция на 2D-клиностае повышала содержание IL-8, одного из основных провоспалительных цитокинов МСК, в культуральной среде в 1,4–3,2 раза, а среднее увеличение продукции на RPM составило 1,5–6 раз (10 суток) и 1,6–2,1 раза (20 суток) соответственно. В работе использовали МСК, полученные из костного мозга человека [115]. Позже, исследования на МСК, полученных из жировой ткани человека, дополнили эти результаты. Оценка изменений паракринной активности при экспозиции на RPM в течение 96 ч показала увеличение продукции IL-8 и уменьшение IL-6. При этом отмечено повышение продукции VEGF, ключевого позитивного регулятора ангиогенеза [96].

В нашей работе продемонстрировано, что кондиционированная среда от МСК, подвергшихся воздействию RPM, стимулировала образование сети сосудов *in ovo*, капиллярно-подобной сети эндотелиальных клеток (ЭК) в матригеле и ненаправленную миграцию ЭК *in vitro*. Эти эффекты были обусловлены изменением экспрессии генов и белков, связанных с ангиогенезом. В том числе было обнаружено повышение уровня регуляторов ангиогенеза Serpin E1, Serpin F1, IGFBP, VEGF и IL-8, а также повышалась транскрипция генов, кодирующих факторы роста с проангиогенной

активностью, включая *VEGF-c* и *VEGF-a*. Эти данные свидетельствовали о том, что микрогравитация может оказывать МСК-опосредованное влияние на функциональное состояние ЭК [63].

В той же работе мы обнаружили повышенную транскрипционную активность нейротрофического фактора головного мозга, BDNF [63], подтвердив выводы Chen et al. [112] об усилении дифференцировки МСК в нейрон-подобные клетки при ММГ. Дополнительно была изучена терапевтическая эффективность культивируемых в условиях микрогравитации МСК после ишемически-реперфузионного повреждения спинного мозга. Отмечено большее количество BDNF-положительных астроцитов, уменьшенное количество каспаза-3-положительных апоптотических клеток и восстановление моторики, что свидетельствует о положительном регенеративном влиянии МСК после ММГ [116].

Важным с точки зрения оценки сенесцентного состояния прогениторных клеток является исследование провоспалительной составляющей. При оценке влияния ММГ на TNF $\alpha$ -опосредованное праймирование МСК из жировой ткани показано, что ММГ сама по себе не вызывает изменений экспрессии ICAM-1 и HLA-ABC на мембране, которые можно рассматривать как маркеры провоспалительной активации клеток. При этом был зарегистрирован ослабленный ответ МСК на праймирование TNF $\alpha$  при действии ММГ, что проявлялось в снижении продукции TNF $\alpha$ -зависимых плейотропных цитокинов (IL-8 и MCP-1), протеаз, ремоделирующих матрикс, и подавлении некоторых генов, кодирующих факторы роста и цитокины [117].

Помимо провоспалительных цитокинов, изучено влияние моделирования микрогравитации в течение 10 дней на паракринную активность остеокмитированных и интактных МСК. Реакция клеток на ММГ зависела от степени коммитированности. Ответ остеокмитированных МСК был менее выражен и проявлялся в увеличении продукции склеростина, негативного регулятора остеобластогенеза. В интактных МСК выявлено снижение уровня остеопротегерина. Эти изменения могут лежать в основе смещения костного гомеостаза в сторону резорбции кости [118]. Напомним, что при клеточном старении уровень остеопротегерина увеличивался [104].

Таким образом, можно отметить, что ММГ приводит к увеличению секреции провоспалительного IL-8, который, в свою очередь, может усиливать продукцию зависимых от него фак-

торов, таких как VEGF. Как показывают эксперименты, подобные изменения в секретоме могут быть рассмотрены на предмет использования в регенеративной медицине для повышения нейро- и ангиогенеза. Известно, что провоспалительный SASP сенесцентных клеток также может оказывать позитивное влияние на регенерацию ткани, а потенциальные негативные последствия могут быть реализованы лишь при его хроническом воздействии. Тем не менее говорить о большем сходстве ММГ и старения в контексте секретомы пока преждевременно.

**Внеклеточный матрикс.** Помимо непосредственно клеток и их паракринных медиаторов, важную роль в функционировании ткани играет внеклеточный матрикс (ВКМ). Он в значительной степени различается в зависимости от локализации и является посредником в межклеточных взаимодействиях. Взаимодействие клетки с ВКМ необходимо для ее нормального функционирования, включая пролиферацию и дифференцировку [119, 120]. Различные компоненты ВКМ выполняют специфические функции. Протеогликаны за счет молекулярного строения и наличия большого количества заряженных групп задерживают воду, депонируют метаболиты и ростовые факторы [121]. Белковые компоненты, такие как коллаген и фибронектин, обеспечивают механические свойства ткани, необходимые клеткам для поддержания формы, а также для миграции. Вместе с другими белками ВКМ, такими как эластин и ламинин, они обеспечивают эластичность матрикса.

Литературные данные указывают на изменения ВКМ сенесцентных клеток, связанные с их катаболическим фенотипом. Показано повышение экспрессии протеолитических ферментов (матриксных металлопротеиназ, адамаллизинов, урокиназ и катепсинов) и снижение продукции структурных компонентов ВКМ (коллагенов, гликопротеинов и протеогликанов). Это приводит к снижению эластичности тканей, повреждению базальной мембраны и увеличению жесткости ВКМ [122].

Основные направления исследований на данный момент заключаются в изучении эффектов ВКМ, продуцируемого молодыми и сенесцентными клетками, на функциональную активность клеточных элементов тканевой ниши. В работе Choi et al. [123] было показано, что сенесцентные фибробласты, которые высеивались на ВКМ от фибробластов на ранних пассажах, обладали сниженной экспрессией SA- $\beta$ -gal, также отмечалось снижение уровня свободных радикалов, восстановление потен-

циала митохондрий и удлинение теломер. И, наоборот, показано снижение пролиферации «молодых» фибробластов, культивируемых на ВКМ от сенесцентных клеток [123].

В исследовании на МСК из мышинового костного мозга молодых (3 недели) и старых (18 недель) особей было установлено изменение в свойствах ВКМ. МСК от молодых и старых мышей высевались на децеллюляризованный матрикс от соответствующих групп клеток. При этом на ВКМ от молодых МСК уровень АФК снижался на 30–50% и у молодых, и у сенесцентных МСК по сравнению со «старым» ВКМ или пластиком [124]. Также показано, что культивирование сенесцентных МСК из синовиальной жидкости на децеллюляризованном фетальном матриксе усиливает способность МСК к хондро- и адиподифференцировке [125].

С точки зрения гравирецепции комплекс ВКМ–интегрин–цитоскелет является механо-чувствительной структурой, координирующей функциональное состояние клеток и тканей в гравитационном поле [68]. Группа Муои исследовала дифференцировку при клино-статировании [106]. МСК костного мозга крыс культивировали в порах пористого гидроксипатита кальция в течение 2 недель на 3D-клиностате. Активность щелочной фосфатазы (маркера остеобластной дифференцировки) была снижена на 40% по сравнению с контрольной группой. Имплантация композитов с МСК сингенным крысам показала, что костеобразование было значительно ниже при ММГ по сравнению с контрольной группой. Важно отметить, что при клино-статировании наблюдалось меньше внеклеточного матрикса. Вероятно, эти два факта могут быть связаны [106]. В более поздней работе отмечено, что ММГ увеличивала экспрессию молекул адгезии (ITGB1, CD44), протеазы MMP1 и одного из коллагенов (ColIII) в МСК. Известно, что MMP1 расщепляет интерстициальные коллагены, включая ColIII. Вероятно, авторы наблюдали реакцию компенсации. Экспрессия генов *FBN1* и *VIM* при этом была снижена. *FBN1* представляет собой гликопротеин внеклеточного матрикса и необходим для образования эластических волокон. *VIM* является основным промежуточным филаментом цитоскелета стромальных предшественников [126].

Недавние исследования в нашей лаборатории дополнили полученные ранее результаты. Показано, что 10-дневная экспозиция на RPM приводит к снижению содержания коллагеновых компонентов ВКМ, вероятно, за счет снижения синтеза коллагена и активации

протеаз. Представленные данные показывают, что ассоциированные с ВКМ молекулы как нативных, так и остеоккомитированных МСК могут участвовать в реорганизации костного матрикса во время космического полета [127].

Полетные эксперименты на Foton 10 продемонстрировали подавление основного структурного белка COL1A в остеобластной линии MG-63. В эксперименте на SJ-10 после 2 дней полета наблюдалось подавление нескольких генов, кодирующих структурные белки матрикса, и повышение экспрессии MMP1 в МСК костного мозга. Ингибирующее действие на COL1A2 было обнаружено в той же миссии через 5 дней. На основании бортовых экспериментов можно сделать вывод, что микрогравитация негативно влияет на структурные белки матрикса на транскрипционном уровне [128, 129].

Несложно проследить некоторую схожесть изменений при активации сенесценции и при ММГ. В обоих случаях продуцируется меньшее количество ВКМ и усиливается протеазная активность. Вероятно, существует связь между деградацией матрикса и остеогенной дифференцировкой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие физиологических/патофизиологических изменений у человека во время длительных космических полетов может являться проявлением «атрофического синдрома», описанного неоднократно G. Libertini [130]. Этот синдром характеризуется снижением способности клеток к удвоению, уменьшением числа клеток, заменой специфических клеток неспецифическими, гипертрофией оставшихся специфических клеток, изменением функционирования клеток с укороченными теломерами, изменением клеточного микроокружения в зависимости от состояния сенесцентных клеток [130]. Этот атрофический синдром, вызванный отсутствием опорной нагрузки, в настоящий момент является обратимым для условий полета не более года и при выполнении довольно широкого спектра профилактических мероприятий на борту орбитальных космических станций. Существуют ли пороговые значения снижения гравитации или предельно допустимое время пребывания в безопорной среде без средств профилактики, ниже которых основные физиологические системы будут терять свой функциональный потенциал по аналогии со старением, утверждать, на наш взгляд, невозможно.

Кроме этого, практически ничего не известно о влиянии микрогравитации на продолжительность жизни организмов различного уровня организации, включая млекопитающих.

Подводя некоторые итоги анализа влияния микрогравитации на клетки и сравнения выявленных эффектов с изменениями, ассоциированными со старением, необходимо отметить, что микрогравитация, вероятно, может инициировать начальные стадии стресс-индуцированных реакций. Некоторые рассмотренные работы прямо указывают на сходство механизмов, лежащих в основе ответа на микрогравитацию и сенесценцию. Даже при коротких экспозициях эти сдвиги могут вызвать снижения пролиферации, смещение направления дифференцировки, изменения секреторного профиля, включая паракринные медиаторы и ВКМ-ассоциированные молекулы. При этом, во-первых, остается открытым вопрос об обратимости сдвигов, обнаруженных при моделировании микрогравитации, поскольку обратимость этих сдвигов не позволит прямо говорить

о сенесценции. А, во-вторых, необходимо отметить, что подавляющее большинство экспериментальных исследований, доказывающих возможность активации сенесцентного состояния клеток *in vitro*, используют короткие экспозиции (24–72 ч), что явно недостаточно для реализации программы клеточного старения.

**Вклад авторов.** Л.Б. – исходная концепция, Л.Б. и А.Ю. – написание рукописи, сравнительный анализ обсуждаемых эффектов микрогравитации и старения.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН (тема 65.3) и Российского научного фонда (грант № 21-75-10117) в равных долях.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Demontis, G. C., Germani, M. M., Caiani, E. G., Barravecchia, I., Passino, C., and Angeloni, D. (2017) Human pathophysiological adaptations to the space environment, *Front. Physiol.*, **8**, 547, doi: 10.3389/fphys.2017.00547.
- Tran, K. N., and Choi, J. I. (2022) Mimic microgravity effect on muscle transcriptome under ionizing radiation, *Life Sci. Space Res.*, **32**, 96-104, doi: 10.1016/j.lssr.2021.12.002.
- Patel, S. (2020) The effects of microgravity and space radiation on cardiovascular health: from low-Earth orbit and beyond, *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.*, **30**, 100595, doi: 10.1016/j.ijcha.2020.100595.
- Vernikos, J., and Schneider, V. S. (2010) Space, gravity and the physiology of aging: parallel or convergent disciplines? A mini-review, *Gerontology*, **56**, 157-166, doi: 10.1159/000252852.
- Wang, E. (1999) Age-dependent atrophy and microgravity travel: what do they have in common? *FASEB J.*, **13**, S167-S174, doi: 10.1096/fasebj.13.9001.s167.
- Biolo, G., Heer, M., Narici, M., and Stollo, F. (2003) Microgravity as a model of ageing, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **6**, 31-40, doi: 10.1097/00075197-200301000-00006.
- Stollo, F., Gentile, S., Stollo, G., Mambro, A., and Vernikos, J. (2018) Recent progress in space physiology and aging, *Front. Physiol.*, **9**, 1551, doi: 10.3389/fphys.2018.01551.
- Burger, E. H., and Klein-Nulend, J. (1998) Microgravity and bone cell mechanosensitivity, *Bone*, **22**, 127S-130S, doi: 10.1016/s8756-3282(98)00010-6.
- Keune, J. A., Branscum, A. J., Iwaniec, U. T., and Turner, R. T. (2015) Effects of spaceflight on bone microarchitecture in the axial and appendicular skeleton in growing ovariectomized rats, *Sci. Rep.*, **5**, 18671, doi: 10.1038/srep18671.
- Gerbaix, M., Gnyubkin, V., Farlay, D., Olivier, C., Ammann, P., Courbon, G., Laroche, N., Genthial, R., Follet, H., Peyrin, F., Shenkman, B., Gauquelin-Koch, G., and Vico, L. (2017) One-month spaceflight compromises the bone microstructure, tissue-level mechanical properties, osteocyte survival and lacunae volume in mature mice skeletons, *Sci. Rep.*, **7**, 2659, doi: 10.1038/s41598-017-03014-2.
- Stavnichuk, M., Mikolajewicz, N., Corlett, T., Morris, M., and Komarova, S. V. (2020) A systematic review and meta-analysis of bone loss in space travelers, *NPJ Microgravity*, **6**, 13, doi: 10.1038/s41526-020-0103-2.
- Crucian, B., Simpson, R. J., Mehta, S., Stowe, R., Chouker, A., Hwang, S. A., Actor, J. K., Salam, A. P., Pierson, D., and Sams, C. (2014) Terrestrial stress analogs for spaceflight associated immune system dysregulation, *Brain Behav. Immun.*, **39**, 23-32, doi: 10.1016/j.bbi.2014.01.011.
- Sofronova, S. I., Tarasova, O. S., Gaynullina, D., Borzykh, A. A., Behnke, B. J., Stabley, J. N.,

- McCullough, D. J., Maraj, J. J., Hanna, M., Muller-Delp, J. M., Vinogradova, O. L., and Delp, M. D. (2015) Spaceflight on the Bion-M1 biosatellite alters cerebral artery vasomotor and mechanical properties in mice, *J. Appl. Physiol.*, **118**, 830-838, doi: 10.1152/jappphysiol.00976.2014.
14. Hughson, R. L., Yee, N. J., and Greaves, D. K. (2016) Elevated end-tidal Pco<sub>2</sub> during long-duration spaceflight, *Aerospace Med. Hum. Perform.*, **87**, 894-897, doi: 10.3357/AMHP.4598.2016.
15. Shen, H., Lim, C., Schwartz, A. G., Andreev-Andrievskiy, A., Deymier, A. C., and Thomopoulos, S. (2017) Effects of spaceflight on the muscles of the murine shoulder, *FASEB J.*, **31**, 5466-5477, doi: 10.1096/fj.201700320R.
16. Novikov, V. E., and Ilyin, E. A. (1981) Age-related reactions of rat bones to their unloading, *Aviat. Space Environ. Med.*, **52**, 551-553.
17. Strollo, F., Riondino, G., Harris, B., Strollo, G., Casarosa, E., Mangrossa, N., Ferretti, C., and Luisi, M. (1998) The effect of microgravity on testicular androgen secretion, *Aviat. Space Environ. Med.*, **69**, 133-136.
18. Blaber, E. A., Dvorochkin, N., Lee, C., Alwood, J. S., Yousuf, R., Pianetta, P., Globus, R. K., Burns, B. P., and Almeida, E. A. (2013) Microgravity induces pelvic bone loss through osteoclastic activity, osteocytic osteolysis, and osteoblastic cell cycle inhibition by CDKN1a/p21, *PLoS One*, **8**, e61372, doi: 10.1371/journal.pone.0061372.
19. Luxton, J. J., McKenna, M. J., Lewis, A., Taylor, L. E., George, K. A., Dixit, S. M., Moniz, M., Benegas, W., Mackay, M. J., Mozsary, C., Butler, D., Bezdan, D., Meydan, C., Crucian, B. E., Zwart, S. R., Smith, S. M., Mason, C. E., and Bailey, S. M. (2020) Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight, *Cell Rep.*, **33**, 108457, doi: 10.1016/j.celrep.2020.108457.
20. Zhuikova, S. E., and Nagovitsyn, R. S. (2021) Influence of running on some physiological and molecular biological markers of human aging, *Hum. Physiol.*, **47**, 587-594, doi: 10.1134/S0362119721050133.
21. Simoes, H. G., Sousa, C. V., Dos Santos Rosa, T., da Silva Aguiar, S., Deus, L. A., Rosa, E. C. C. C., Amato, A. A., and Andrade, R. V. (2017) Longer telomere length in elite master sprinters: relationship to performance and body composition, *Int. J. Sports Med.*, **38**, 1111-1116, doi: 10.1055/s-0043-120345.
22. Prasad, B., Grimm, D., Strauch, S. M., Erzinger, G. S., Corydon, T. J., Lebert, M., Magnusson, N. E., Infanger, M., Richter, P., and Krüger, M. (2020) Influence of microgravity on apoptosis in cells, tissues, and other systems *in vivo* and *in vitro*, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 9373, doi: 10.3390/ijms21249373.
23. Fernando, H. J., and Bowers, D. (2021) Neuroendocrine Theory of Aging, in *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging* (Gu, D., and Dupre, M. E., eds) Springer, Cham, doi: 10.1007/978-3-030-22009-9\_673.
24. Dilman, V. M., Revskoy, S. Y., and Golubev, A. G. (1986) Neuroendocrine-ontogenetic mechanism of aging: toward an integrated theory of aging, *Int. Rev. Neurobiol.*, **28**, 89-156, doi: 10.1016/s0074-7742(08)60107-5.
25. Olovnikov, A. (2005) Lunasensor, infradian rhythms, telomeres, and the chromomere program of aging, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1057**, 112-132, doi: 10.1196/annals.1356.006.
26. Olovnikov, A. M. (2015) Chronographic theory of development, aging, and origin of cancer: role of chromomeres and printomeres, *Curr. Aging Sci.*, **8**, 76-88, doi: 10.2174/1874609808666150422114916.
27. Olovnikov, A. M. (2022) Planetary metronome as a regulator of lifespan and aging rate: the metronomic hypothesis, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1640-1650, doi: 10.1134/S0006297922120197.
28. Horvath, S. (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types, *Genome Biol.*, **14**, R115, doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115.
29. Petkovich, D. A., Podolskiy, D. I., Lobanov, A. V., Lee, S. G., Miller, R. A., and Gladyshev, V. N. (2017) Using DNA methylation profiling to evaluate biological age and longevity interventions, *Cell Metab.*, **25**, 954-960.e6, doi: 10.1016/j.cmet.2017.03.016.
30. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., and Kroemer, G. (2013) The hallmarks of aging, *Cell*, **153**, 1194-1217, doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
31. McHugh, D., and Gil, J. (2018) Senescence and aging: causes, consequences, and therapeutic avenues, *J. Cell Biol.*, **217**, 65-77, doi: 10.1083/jcb.201708092.
32. Campisi, J., and d'Adda di Fagagna, F. (2007) Cellular senescence: when bad things happen to good cells, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 729-740, doi: 10.1038/nrm2233.
33. Ratushnyy, A. Y., Rudimova, Y. V., and Buravkova, L. B. (2020) Replicative senescence and expression of autophagy genes in mesenchymal stromal cells, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 1169-1177, doi: 10.1134/S0006297920100053.
34. Kuilman, T., Michaloglou, C., Mooi, W. J., and Peeper, D. S. (2010) The essence of senescence, *Genes Dev.*, **24**, 2463-2479, doi: 10.1101/gad.1971610.
35. Salama, R., Sadaie, M., Hoare, M., and Narita, M. (2014) Cellular senescence and its effector programs, *Genes Dev.*, **28**, 99-114, doi: 10.1101/gad.235184.113.
36. Ratushnyy, A. Y., and Buravkova, L. B. (2020) Cell senescence and mesenchymal stromal cells, *Hum. Physiol.*, **46**, 85-93, doi: 10.1134/S0362119720010132.
37. Imai, S., and Guarente, L. (2014) NAD<sup>+</sup> and sirtuins in aging and disease, *Trends Cell Biol.*, **24**, 464-471, doi: 10.1016/j.tcb.2014.04.002.
38. Dimri, G. P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Medrano, E. E., Linskens, M., Rubelj, I.,

- and Pereira-Smith, O. (1995) A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 9363-9367, doi: 10.1073/pnas.92.20.9363.
39. Narita, M., Nunez, S., Heard, E., Narita, M., Lin, A. W., Hearn, S. A., Spector, D. L., Hannon, G. J., and Lowe, S. W. (2003) Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence, *Cell*, **113**, 703-716, doi: 10.1016/s0092-8674(03)00401-x.
  40. Collado, M., Blasco, M. A., and Serrano, M. (2007) Cellular senescence in cancer and aging, *Cell*, **130**, 223-233, doi: 10.1016/j.cell.2007.07.003.
  41. Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, **144**, 646-674, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
  42. Jun, J. I., and Lau, L. F. (2010) The matricellular protein Ccn1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing, *Nat. Cell Biol.*, **12**, 676-685, doi: 10.1038/ncb2070.
  43. Noronha, N. C., Mizukami, A., Caliári-Oliveira, C., Cominal, J. G., Rocha, J. L. M., Covas, D. T., Swiech, K., and Malmegrim, K. C. R. (2019) Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies, *Stem Cell Res. Ther.*, **10**, 131, doi: 10.1186/s13287-019-1224-y.
  44. Hayflick, L., and Moorhead, P. S. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, **25**, 585-621, doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.
  45. Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **201**, 1496-1499.
  46. Victorelli, S., and Passos, J. F. (2017) Telomeres and cell senescence – size matters not, *EBioMedicine*, **21**, 14-20, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.03.027.
  47. De Magalhães, J. P., and Passos, J. F. (2018) Stress, cell senescence and organismal ageing, *Mech. Ageing Dev.*, **170**, 2-9, doi: 10.1016/j.mad.2017.07.001.
  48. Gruber, J., Schaffer, S., and Halliwell, B. (2008) The mitochondrial free radical theory of ageing – where do we stand? *Front. Biosci.*, **13**, 6554-6579, doi: 10.2741/3174.
  49. Vizioli, M. G., Liu, T., Miller, K. N., Robertson, N. A., Gilroy, K., Lagnado, A. B., Perez-Garcia, A., Kiourtis, C., Dasgupta, N., Lei, X., Kruger, P. J., Nixon, C., Clark, W., Jurk, D., Bird, T. G., Passos, J. F., Berger, S. L., Dou, Z., and Adams, P. D. (2020) Mitochondria-to-nucleus retrograde signaling drives formation of cytoplasmic chromatin and inflammation in senescence, *Genes Dev.*, **34**, 428-445, doi: 10.1101/gad.331272.119.
  50. Von Zglinicki, T. (2002) Oxidative stress shortens telomeres, *Trends Biochem. Sci.*, **27**, 339-344, doi: 10.1016/s0968-0004(02)02110-2.
  51. Campisi, J. (2013) Aging, cellular senescence, and cancer, *Annu. Rev. Physiol.*, **75**, 685-705, doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183653.
  52. Sherr, C. J., and Roberts, J. M. (1999) CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression, *Genes Dev.*, **13**, 1501-1512, doi: 10.1101/gad.13.12.1501.
  53. Sherr, C. J., and McCormick, F. (2002) The RB and p53 pathways in cancer, *Cancer Cell*, **2**, 103-112, doi: 10.1016/s1535-6108(02)00102-2.
  54. Tharp, K. M., Higuchi-Sanabria, R., Timblin, G. A., Ford, B., Garzon-Coral, C., Schneider, C., Muncie, J. M., Stashko, C., Daniele, J. R., Moore, A. S., Frankino, P. A., Homentcovschi, S., Manoli, S. S., Shao, H., Richards, A. L., Chen, K. H., Hoeve, J. T., Ku, G. M., Hellerstein, M., Nomura, D. K., et al. (2021) Adhesion-mediated mechanosignaling forces mitohormesis, *Cell Metab.*, **33**, 1322-1341.e13, doi: 10.1016/j.cmet.2021.04.017.
  55. Duan, J. L., Ruan, B., Song, P., Fang, Z. Q., Yue, Z. S., Liu, J. J., Dou, G. R., Han, H., and Wang, L. (2022) Shear stress-induced cellular senescence blunts liver regeneration through Notch-sirtuin 1-P21/P16 axis, *Hepatology*, **75**, 584-599, doi: 10.1002/hep.32209.
  56. Van Loon, J. W. A. (2007) Some history and use of the random positioning machine, RPM, in gravity related research, *Adv. Space Res.*, **39**, 1161-1165, doi: 10.1016/j.asr.2007.02.016.
  57. Kopp, S., Warnke, E., Wehland, M., Aleshcheva, G., Magnusson, N. E., Hemmersbach, R., Corydon, T. J., Bauer, J., Infanger, M., and Grimm, D. (2015) Mechanisms of three-dimensional growth of thyroid cells during long-term simulated microgravity, *Sci. Rep.*, **5**, 16691, doi: 10.1038/srep16691.
  58. Wuest, S. L., Richard, S., Kopp, S., Grimm, D., and Egli, M. (2015) Simulated microgravity: critical review on the use of random positioning machines for mammalian cell culture, *BioMed Res. Int.*, **2015**, 971474, doi: 10.1155/2015/971474.
  59. Wang, J., Zhang, J., Bai, S., Wang, G., Mu, L., Sun, B., Wang, D., Kong, Q., Liu, Y., Yao, X., Xu, Y., and Li, H. (2009) Simulated microgravity promotes cellular senescence via oxidant stress in rat PC12 cells, *Neurochem. Int.*, **55**, 710-716, doi: 10.1016/j.neuint.2009.07.002.
  60. Kapitonova, M. Y., Muid, S., Froemming, G. R., Yusoff, W. N., Othman, S., Ali, A. M., and Nawawi, H. M. (2012) Real space flight travel is associated with ultrastructural changes, cytoskeletal disruption and premature senescence of HUVEC, *Malays. J. Pathol.*, **34**, 103-113.
  61. Ulbrich, C., Wehland, M., Pietsch, J., Aleshcheva, G., Wise, P., van Loon, J., Magnusson, N., Infanger, M., Grosse, J., Eilles, C., Sundaresan, A., and Grimm, D. (2014) The impact of simulated and real microgravity on bone cells and mesenchymal stem cells, *BioMed Res. Int.*, **2014**, 928507, doi: 10.1155/2014/928507.
  62. Winkelmaier, G., Jabbari, K., Chien, L. C., Grabham, P., Parvin, B., and Pluth, J. (2023) Influence of simulated microgravity on mammary epithelial cells grown

- as 2D and 3D cultures, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 7615, doi: 10.3390/ijms24087615.
63. Ratushnyy, A., Ezdakova, M., Yakubets, D., and Buravkova, L. (2018) Angiogenic activity of human adipose-derived mesenchymal stem cells under simulated microgravity, *Stem Cells Dev.*, **27**, 831-837, doi: 10.1089/scd.2017.0262.
  64. Ingber, D. E. (2003) Mechanobiology and diseases of mechanotransduction, *Ann. Med.*, **35**, 564-577, doi: 10.1080/07853890310016333.
  65. Louis, F., Deroanne, C., Nusgens, B., Vico, L., and Guignandon, A. (2015) RhoGTPases as key players in mammalian cell adaptation to microgravity, *BioMed Res. Int.*, **2015**, 747693, doi: 10.1155/2015/747693.
  66. Mao, X., Chen, Z., Luo, Q., Zhang, B., and Song, G. (2016) Simulated microgravity inhibits the migration of mesenchymal stem cells by remodeling actin cytoskeleton and increasing cell stiffness, *Cytotechnology*, **68**, 2235-2243, doi: 10.1007/s10616-016-0007-x.
  67. Ratushnyy, A. Y., and Buravkova, L. B. (2017) Expression of focal adhesion genes in mesenchymal stem cells under simulated microgravity, *Dokl. Biochem. Biophys.*, **477**, 354-356, doi: 10.1134/S1607672917060035.
  68. Buravkova, L., Larina, I., Andreeva, E., and Grigoriev, A. (2021) Microgravity effects on the matrixome, *Cells*, **10**, 2226, doi: 10.3390/cells10092226.
  69. Dinarelli, S., Longo, G., Dietler, G., Francioso, A., Mosca, L., Pannitteri, G., Boumis, G., Bellelli, A., and Girasole, M. (2018) Erythrocyte's aging in microgravity highlights how environmental stimuli shape metabolism and morphology, *Sci. Rep.*, **8**, 5277, doi: 10.1038/s41598-018-22870-0.
  70. Takahashi, H., Nakamura, A., and Shimizu, T. (2021) Simulated microgravity accelerates aging of human skeletal muscle myoblasts at the single cell level, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **578**, 115-121, doi: 10.1016/j.bbrc.2021.09.037.
  71. Acharya, A., Nemade, H., Papadopoulos, S., Hescheler, J., Neumaier, F., Schneider, T., Rajendra Prasad, K., Khan, K., Hemmersbach, R., Gusmao, E. G., Mizi, A., Papantonis, A., and Sachinidis, A. (2022) Microgravity-induced stress mechanisms in human stem cell-derived cardiomyocytes, *iScience*, **25**, 104577, doi: 10.1016/j.isci.2022.104577.
  72. Singh, R., Rajput, M., and Singh, R. P. (2021) Simulated microgravity triggers DNA damage and mitochondria-mediated apoptosis through ROS generation in human promyelocytic leukemic cells, *Mitochondrion*, **61**, 114-124, doi: 10.1016/j.mito.2021.09.006.
  73. Kossmehl, P., Shakibaei, M., Cogoli, A., Infanger, M., Curcio, F., Schönberger, J., Eilles, C., Bauer, J., Pickenhahn, H., Schulze-Tanzil, G., Paul, M., and Grimm, D. (2003) Weightlessness induced apoptosis in normal thyroid cells and papillary thyroid carcinoma cells via extrinsic and intrinsic pathways, *Endocrinology*, **144**, 4172-4179, doi: 10.1210/en.2002-0171.
  74. Ran, F., An, L., Fan, Y., Hang, H., and Wang, S. (2016) Simulated microgravity potentiates generation of reactive oxygen species in cells, *Biophys. Rep.*, **2**, 100-105, doi: 10.1007/s41048-016-0029-0.
  75. Greco, O., Durante, M., Gialanella, G., Grossi, G., Pugliese, M., Scampoli, P., Snigiryova, G., and Obe, G. (2003) Biological dosimetry in Russian and Italian astronauts, *Adv. Space Res.*, **31**, 1495-1503, doi: 10.1016/s0273-1177(03)00087-5.
  76. Lu, T., Zhang, Y., Kidane, Y., Feiveson, A., Stodieck, L., Karouia, F., Ramesh, G., Rohde, L., and Wu, H. (2017) Cellular responses and gene expression profile changes due to bleomycin-induced DNA damage in human fibroblasts in space, *PLoS One*, **12**, e0170358, doi: 10.1371/journal.pone.0170358.
  77. Murphy, M. B., Moncivais, K., and Caplan, A. I. (2013) Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine, *Exp. Mol. Med.*, **45**, e54, doi: 10.1038/emm.2013.94.
  78. Spees, J. L., Lee, R. H., and Gregory, C. A. (2016) Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function, *Stem Cell Res. Ther.*, **7**, 125, doi: 10.1186/s13287-016-0363-7.
  79. Andreeva, E., Bobyleva, P., Gornostaeva, A., and Buravkova, L. (2017) Interaction of multipotent mesenchymal stromal and immune cells: bidirectional effects, *Cytotherapy*, **19**, 1152-1166, doi: 10.1016/j.jcyt.2017.07.001.
  80. Fujii, S., and Miura, Y. (2022) Immunomodulatory and regenerative effects of MSC-derived extracellular vesicles to treat acute GVHD, *Stem Cells*, **40**, 977-990, doi: 10.1093/stmcls/sxac057.
  81. Lv, W., Peng, X., Tu, Y., Shi, Y., Song, G., and Luo, Q. (2023) YAP inhibition alleviates simulated microgravity-induced mesenchymal stem cell senescence via targeting mitochondrial dysfunction, *Antioxidants*, **12**, 990, doi: 10.3390/antiox12050990.
  82. Moretta, L., Uccelli, A., and Pistoia, V. (2015) Mesenchymal stromal cells and immunity: Introductory overview, *Immunol. Lett.*, **168**, 127-128, doi: 10.1016/j.imllet.2015.08.010.
  83. Yatagai, F., Honma, M., Dohmae, N., and Ishioka, N. (2019) Biological effects of space environmental factors: A possible interaction between space radiation and microgravity, *Life Sci. Space Res.*, **20**, 113-123, doi: 10.1016/j.lssr.2018.10.004.
  84. Moya, I. M., and Halder, G. (2019) Hippo-YAP/TAZ signalling in organ regeneration and regenerative medicine, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **20**, 211-226, doi: 10.1038/s41580-018-0086-y.
  85. Pobbati, A. V., and Hong, W. (2020) A combat with the YAP/TAZ-TEAD oncoproteins for cancer therapy, *Theranostics*, **10**, 3622-3635, doi: 10.7150/thno.40889.
  86. Childs, B. G., Gluscevic, M., Baker, D. J., Laberge, R. M., Marquess, D., Dananberg, J., and van Deursen, J. M.

- (2017) Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **16**, 718-735, doi: 10.1038/nrd.2017.116.
87. Xie, Q., Chen, J., Feng, H., Peng, S., Adams, U., Bai, Y., Huang, L., Li, J., Huang, J., Meng, S., and Yuan, Z. (2013) YAP/TEAD-mediated transcription controls cellular senescence, *Cancer Res.*, **73**, 3615-3624, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3793.
  88. Yeung, Y. T., Guerrero-Castilla, A., Cano, M., Muñoz, M. F., Ayala, A., and Argüelles, S. (2019) Dysregulation of the hippo pathway signaling in aging and cancer, *Pharmacol. Res.*, **143**, 151-165, doi: 10.1016/j.phrs.2019.03.018.
  89. Pala, R., Cruciani, S., Manca, A., Garroni, G., El Faqir, M. A., Lentini, V., Capobianco, G., Pantaleo, A., and Maioli, M. (2023) Mesenchymal stem cell behavior under microgravity: from stress response to a premature senescence, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 7753, doi: 10.3390/ijms24097753.
  90. Turinetti, V., Vitale, E., and Giachino, C. (2016) Senescence in human mesenchymal stem cells: functional changes and implications in stem cell-based therapy, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 1164, doi: 10.3390/ijms17071164.
  91. Li, Y., Wu, Q., Wang, Y., Li, L., Bu, H., and Bao, J. (2017) Senescence of mesenchymal stem cells (Review), *Int. J. Mol. Sci.*, **39**, 775-782, doi: 10.3892/ijmm.2017.2912.
  92. Merzlikina, N. V., Buravkova, L. B., and Romanov, Y. A. (2004) The primary effects of clinorotation on cultured human mesenchymal stem cells, *J. Gravitat. Physiol.*, **11**, P193-P194.
  93. Gershovich, J. G., and Buravkova, L. B. (2007) Morphofunctional status and osteogenic differentiation potential of human mesenchymal stromal precursor cells during in vitro modeling of microgravity effects, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **144**, 608-613, doi: 10.1007/s10517-007-0387-1.
  94. Dai, Z. Q., Wang, R., Ling, S. K., Wan, Y. M., and Li, Y. H. (2007) Simulated microgravity inhibits the proliferation and osteogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cells, *Cell Prolif.*, **40**, 671-684, doi: 10.1111/j.1365-2184.2007.00461.x.
  95. Yuge, L., Kajiume, T., Tahara, H., Kawahara, Y., Umeda, C., Yoshimoto, R., Wu, S. L., Yamaoka, K., Asashima, M., Kataoka, K., and Ide, T. (2006) Microgravity potentiates stem cell proliferation while sustaining the capability of differentiation, *Stem Cells Dev.*, **15**, 921-929, doi: 10.1089/scd.2006.15.921.
  96. Ratushnyy, A. Yu., and Buravkova, L. B. (2016) Functional state of multipotent mesenchymal stromal cells during modeling the effects of microgravity [in Russian], *Aviakosm. Ekol. Med.*, **50**, 24-29.
  97. Nakamura, H., Kumei, Y., Morita, S., Shimokawa, H., Ohya, K., and Shinomiya, K. (2003) Antagonism between apoptotic (Bax/Bcl-2) and anti-apoptotic (IAP) signals in human osteoblastic cells under vector-averaged gravity condition, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1010**, 143-147, doi: 10.1196/annals.1299.023.
  98. Kim, M., Kim, C., Choi, Y. S., Kim, M., Park, C., and Suh, Y. (2012) Age-related alterations in mesenchymal stem cells related to shift in differentiation from osteogenic to adipogenic potential: implication to age-associated bone diseases and defects, *Mech. Ageing Dev.*, **133**, 215-225, doi: 10.1016/j.mad.2012.03.014.
  99. Despars, G., Carbonneau, C. L., Bardeau, P., Coutu, D. L., and Beauséjour, C. M. (2013) Loss of the osteogenic differentiation potential during senescence is limited to bone progenitor cells and is dependent on p53, *PLoS One*, **8**, e73206, doi: 10.1371/journal.pone.0073206.
  100. Yang, Y. K., Ogando, C. R., Wang See, C., Chang, T. Y., and Barabino, G. A. (2018) Changes in phenotype and differentiation potential of human mesenchymal stem cells aging *in vitro*, *Stem Cell Res. Ther.*, **9**, 131, doi: 10.1186/s13287-018-0876-3.
  101. Wagner, W., Horn, P., Castoldi, M., Diehlmann, A., Bork, S., Saffrich, R., Benes, V., Blake, J., Pfister, S., Eckstein, V., and Ho, A. D. (2008) Replicative senescence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process, *PLoS One*, **3**, e2213, doi: 10.1371/journal.pone.0002213.
  102. Digirolamo, C. M., Stokes, D., Colter, D., Phinney, D. G., Class, R., and Prockop, D. J. (1999) Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate, *Br. J. Haematol.*, **107**, 275-281, doi: 10.1046/j.1365-2141.1999.01715.x.
  103. Cheng, H., Qiu, L., Ma, J., Zhang, H., Cheng, M., Li, W., Zhao, X., and Liu, K. (2011) Replicative senescence of human bone marrow and umbilical cord derived mesenchymal stem cells and their differentiation to adipocytes and osteoblasts, *Mol. Biol. Rep.*, **38**, 5161-5168, doi: 10.1007/s11033-010-0665-2.
  104. Ratushnyy, A. Yu., and Buravkova, L. B. (2022) Differentiation potential of the mesenchymal stromal cells during replicative senescence [in Russian], *Aviakosm. Ekol. Med.*, **56**, 64-69.
  105. Buravkova, L. B., Gershovich, P. M., Gershovich, J. G., and Grigor'ev, A. I. (2010) Mechanisms of gravitational sensitivity of osteogenic precursor cells, *Acta Naturae*, **2**, 28-36, doi: 10.32607/actanaturae.10734.
  106. Nishikawa, M., Ohgushi, H., Tamai, N., Osuga, K., Uemura, M., Yoshikawa, H., and Myoui, A. (2005) The effect of simulated microgravity by three-dimensional clinostat on bone tissue engineering, *Cell Transplant.*, **14**, 829-835, doi: 10.3727/000000005783982477.
  107. Zayzafoon, M., Gathings, W. E., and McDonald, J. M. (2004) Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis, *Endocrinology*, **145**, 2421-2432, doi: 10.1210/en.2003-1156.

108. Buravkova, L. B., Gershovich, P. M., Gershovich, J. G., and Grigoriev, A. I. (2013) Microgravity and mesenchymal stem cell response, *Curr. Biotechnol.*, **2**, 217-225, doi: 10.2174/22115501113029990016.
109. Saxena, R., Pan, G., and McDonald, J. M. (2007) Osteoblast and osteoclast differentiation in modeled microgravity, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1116**, 494-498, doi: 10.1196/annals.1402.033.
110. Meyers, V. E., Zayzafoon, M., Gonda, S. R., Gathings, W. E., and McDonald, J. M. (2004) Modeled microgravity disrupts collagen I/integrin signaling during osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells, *J. Cell. Biochem.*, **93**, 697-707, doi: 10.1002/jcb.20229.
111. Sheyn, D., Pelled, G., Netanel, D., Domany, E., and Gazit, D. (2010) The effect of simulated microgravity on human mesenchymal stem cells cultured in an osteogenic differentiation system: a bioinformatics study, *Tissue Eng. Part A*, **16**, 3403-3412, doi: 10.1089/ten.tea.2009.0834.
112. Chen, J., Liu, R., Yang, Y., Li, J., Zhang, X., Li, J., Wang, Z., and Ma, J. (2011) The simulated microgravity enhances the differentiation of mesenchymal stem cells into neurons, *Neurosci. Lett.*, **505**, 171-175, doi: 10.1016/j.neulet.2011.10.014.
113. Xue, L., Li, Y., and Chen, J. (2017) Duration of simulated microgravity affects the differentiation of mesenchymal stem cells, *Mol. Med. Rep.*, **15**, 3011-3018, doi: 10.3892/mmr.2017.6357.
114. Coppé, J. P., Desprez, P. Y., Krtolica, A., and Campisi, J. (2010) The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression, *Annu. Rev. Pathol.*, **5**, 99-118, doi: 10.1146/annurev-pathol-121808-102144.
115. Gershovich, Iu. G., and Buravkova, L. B. (2009) Interleukine production in culture of mesenchymal stromal cells of humans during simulation of the microgravity effects [in Russian], *Aviakosm. Ecol. Med.*, **43**, 44-50.
116. Kurose, T., Takahashi, S., Otsuka, T., Nakagawa, K., Imura, T., Sueda, T., and Yuge, L. (2019) Simulated microgravity-cultured mesenchymal stem cells improve recovery following spinal cord ischemia in rats, *Stem Cell Res.*, **41**, 101601, doi: 10.1016/j.scr.2019.101601.
117. Ratushnyy, A., Yakubets, D., Andreeva, E., and Buravkova, L. (2019) Simulated microgravity modulates the mesenchymal stromal cell response to inflammatory stimulation, *Sci. Rep.*, **9**, 9279, doi: 10.1038/s41598-019-45741-8.
118. Zhivodernikov, I. V., Ratushnyy, A. Y., and Buravkova, L. B. (2021) Secretory activity of mesenchymal stromal cells with different degree of commitment under conditions of simulated microgravity, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **170**, 560-564, doi: 10.1007/s10517-021-05106-6.
119. Aamodt, J. M., and Grainger, D. W. (2016) Extracellular matrix-based biomaterial scaffolds and the host response, *Biomaterials*, **86**, 68-82, doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.02.003.
120. Choudhury, D., Tun, H. W., Wang, T., and Naing, M. W. (2018) Organ-derived decellularized extracellular matrix: a game changer for bioink manufacturing? *Trends Biotechnol.*, **36**, 787-805, doi: 10.1016/j.tibtech.2018.03.003.
121. Hospodiuk, M., Dey, M., Sosnoski, D., and Ozbolat, I. T. (2017) The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials, *Biotechnol. Adv.*, **35**, 217-239, doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.12.006.
122. Mavrogenatou, E., Pratsinis, H., Papadopoulou, A., Karamanos, N. K., and Kletsas, D. (2019) Extracellular matrix alterations in senescent cells and their significance in tissue homeostasis, *Matrix Biol.*, **75-76**, 27-42, doi: 10.1016/j.matbio.2017.10.004.
123. Choi, H. R., Cho, K. A., Kang, H. T., Lee, J. B., Kaerberlein, M., Suh, Y., Chung, I. K., and Park, S. C. (2011) Restoration of senescent human diploid fibroblasts by modulation of the extracellular matrix, *Aging Cell*, **10**, 148-157, doi: 10.1111/j.1474-9726.2010.00654.x.
124. Sun, Y., Li, W., Lu, Z., Chen, R., Ling, J., Ran, Q., Jilka, R. L., and Chen, X. D. (2011) Rescuing replication and osteogenesis of aged mesenchymal stem cells by exposure to a young extracellular matrix, *FASEB J.*, **25**, 1474-1485, doi: 10.1096/fj.10-161497.
125. Lynch, K., and Pei, M. (2014) Age associated communication between cells and matrix: a potential impact on stem cell-based tissue regeneration strategies, *Organogenesis*, **10**, 289-298, doi: 10.4161/15476278.2014.970089.
126. Ebnerasuly, F., Hajebrahimi, Z., Tabaie, S. M., and Darbouy, M. (2018) Simulated microgravity condition alters the gene expression of some ECM and adhesion molecules in adipose derived stem cells, *Int. J. Mol. Cell. Med.*, **7**, 146-157, doi: 10.22088/IJMCM.BUMS.7.3.146.
127. Zhivodernikov, I., Ratushnyy, A., and Buravkova, L. (2021) Simulated microgravity remodels extracellular matrix of osteocommitted mesenchymal stromal cells, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 5428, doi: 10.3390/ijms22115428.
128. Carmeliet, G., Nys, G., and Bouillon, R. (1997) Microgravity reduces the differentiation of human osteoblastic MG-63 cells, *J. Bone Min. Res.*, **12**, 786-794, doi: 10.1359/jbmr.1997.12.5.786.
129. Zhang, C., Li, L., Jiang, Y., Wang, C., Geng, B., Wang, Y., Chen, J., Liu, F., Qiu, P., Zhai, G., Chen, P., Quan, R., and Wang, J. (2018) Space microgravity drives transdifferentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells from osteogenesis to adipogenesis, *FASEB J.*, **32**, 4444-4458, doi: 10.1096/fj.201700208RR.
130. Libertini, G. (2014) The programmed aging paradigm: how we get old, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1004-1016, doi: 10.1134/S0006297914100034.

**MICROGRAVITY EFFECTS AND AGING PHYSIOLOGY:  
SIMILAR CHANGES OR COMMON MECHANISMS?****Review****A. Yu. Ratushnyy and L. B. Buravkova\****Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences,  
123007 Moscow, Russia; e-mail: buravkova@imbp.ru*

Despite the use of preventive measures (including intense physical activity), cosmonauts and astronauts develop muscle atony and atrophy, insufficiency of the cardiovascular system, osteopenia, etc. All these changes, reminiscent of age-related physiological changes, occur in a healthy person in microgravity quite quickly – within a few months. Adaptation to the absence of gravity leads to the symptoms of aging, which are compensated after returning to Earth. The prospect of interplanetary flights raises the question of gravity thresholds, below which the main physiological systems will lose their functional potential, similar to aging, and affect life expectancy. An important role in the aging process belongs to the body's cellular reserve – progenitor cells, which are involved in physiological remodeling and regenerative/repairative processes of all physiological systems. With age, progenitor cell count and the regenerative potential decreases. Moreover, their paracrine spectrum becomes pro-inflammatory during replicative senescence, disrupting tissue homeostasis. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) are mechanosensitive, and therefore the absence of a gravitational stimulus causes serious changes in their functional status. The review compares the cellular effects of microgravity and changes developing in senescent cells, including stromal precursors.

*Keywords:* microgravity, aging, cell senescence, mesenchymal stromal cells (MSCs)