

© Коллектив авторов, 2016
УДК 611.82.018:629.78:599.323.4

В.В.Порсева¹, В.В.Шилкин¹, А.А.Стрелков¹, И.Б.Краснов², П.М.Маслюков¹

ИЗМЕНЕНИЯ МОТОНЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА У МЫШЕЙ ПОСЛЕ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

¹ Кафедра нормальной физиологии с биофизикой (зав. — проф. П.М.Маслюков), Ярославский государственный медицинский университет; ² лаборатория гравитационной биологии (зав. — канд. мед. наук Д.В.Раков), Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Иммуногистохимическими методами исследовали экспрессию холинацетилтрансферазы (ХАТ), белка нейрофиламентов (НФ) 200 килодальтон, кальбиндина (КАБ) 28 килодальтон, нейрональной NO-синтазы (nNOS), каспазы-3, Ki-67 в мотонейронах T_{III}-T_V сегментов спинного мозга у самцов мышей C57/BL6 через 12 ч после завершения 30-суточного космического полета на биоспутнике «Бион-М1». Контролем служили мыши, находившиеся в стандартных условиях вивария. В мотонейронах экспериментальных животных обнаружены реактивные изменения, которые проявляются увеличением их размеров, уменьшением количества субпопуляций клеток, экспрессирующих ХАТ и НФ, увеличением количества субпопуляций, содержащих КАБ, появлением мотонейронов, экспрессирующих nNOS, каспазу-3, и отсутствием Ki-67. Отсутствие пролиферирующих глиоцитов, сохранность ядрышкового компонента свидетельствуют об отсутствии некробиотических изменений, характерных для некроза. Вакуолизация цитоплазмы отмечена в мотонейронах, окрашенных тионином и иммунореактивных к КАБ. Распад мотонейрона на фрагменты, напоминающие апоптотные тельца, наблюдался в единичных клетках, содержащих каспазу-3.

Ключевые слова: мотонейрон, спинной мозг, иммуногистохимия, микрогравитация

Возникающее в условиях микрогравитации снижение экстеро- и проприоцептивной афферентации, прямые морфологические и цитохимические доказательства которой обнаруживаются у животных после космических полетов [6], приводит к частичной или полной сенсорной депривации двигательной функции и нарушению трофики скелетной мускулатуры. Разные в функциональном и топографическом отношении мотонейроны и, соответственно, иннервируемые ими мышцы, неодинаково отвечают на воздействие факторов космического полета [13]. При этом микрогравитация вызывает в нейронах спинного мозга (СМ) комплекс морфологических и цитохимических изменений [8, 10, 13, 14], связанных с процессами адаптации. Тем не менее, направленность изменений мотонейронов после космического полета до настоящего времени не изучена.

Цель настоящей работы — исследование мотонейронов грудного отдела СМ у мышей, находившихся в 30-суточном космическом полете на биоспутнике «Бион-М1».

Материал и методы. Исследование проведено на самцах мышей C57/BL6. Животные полетной группы (n=3) нахо-

дились в условиях микрогравитации в 30-суточном космическом полете биоспутника «БИОН-М1», а контрольная группа мышей (n=3) в то же время — в наземных условиях вивария. По завершении эксперимента [2] животные были подвергнуты этаназии методом цервикальной дислокации. Материал брали через 12 ч с момента посадки спутника на Землю. Эксперименты были выполнены в соответствии с решением Комиссии по биомедицинской этике ГНЦ РФ-ИМБП РАН (протокол № 319 от 04.04.2013 г.), одобряющем проведение исследования по проекту «БИОН-М» № 1.

Для исследования использованы T_{III}-T_V сегменты СМ, которые фиксировали в 4% растворе параформальдегида на фосфатно-солевом буфере (PBS, 0,01 М, рН 7,4), криопротекцию проводили в 30% растворе сахарозы. Из образцов СМ в криостате Shandon E (Thermo Scientific, Великобритания) готовили поперечные серийные срезы толщиной 14 мкм. Для выявления нейронов использовали каждый 5-й из серийных срезов — всего 15 срезов с каждого объекта.

Иммунореактивные (ИР) нейроны определяли, используя антитела к белкам: холинацетилтрансфераза (ХАТ), белок нейрофиламентов 200 килодальтон (НФ), кальбиндин 28 килодальтон (КАБ), нейрональная NO-синтаза (nNOS), каспаза-3, Ki-67. Эти белки выявляли иммуногистохимическим (ИГХ) методом мечения антителами [7]: первичные антитела (Abcam, Великобритания); вторичные ослиные антитела к иммуноглобулинам первичных антител (Jackson ImmunoResearch Laboratories, США) конъюгированы с флюоресцеин-изотиоцианатом (FITC), разведение 1:100. При

Сведения об авторах:

Порсева Валентина Вячеславовна (e-mail: vvporseva@mail.ru), *Шилкин Валентин Викторович* (e-mail: shilkin39@mail.ru),

Стрелков Андрей Анатольевич (e-mail: strelkov-yar@mail.ru), *Маслюков Петр Михайлович* (e-mail: mpm@ytna.ac.ru), кафедра нормальной физиологии с биофизикой, Ярославский государственный медицинский университет, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5

Краснов Игорь Борисович (e-mail: krasib@yandex.ru), лаборатория гравитационной биологии, Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76а

выявлении белка НФ для предотвращения неспецифического окрашивания перед применением первичных антител (клон № 52, ab82259 Abscam, Великобритания) использовали преинкубацию в течение 1 ч с Fab-фрагментом неконъюгированных ослиных антител к белкам мыши (Jackson ImmunoResearch, США, разведение 10 мг/мл). Контроль без вторичных антител использовали для исключения неспецифической флюоресценции.

Выявление всей популяции нейронов по Нисслию проводили с красителями, флюоресцирующими в красной области спектра (NeuroTrace Red Fluorescent Nissl Stains, Molecular Probes, США), разведение 1:200. Флюоресцентный метод определения нейронов служил для идентификации ИР-клеток в популяции мотонейронов. После этого срезы отмывали в PBS и заключали в среду для иммунофлюоресценции VectaShield (Vector Laboratories, США). Для исключения неспецифической реакции часть срезов инкубировали без первичных или вторичных антител. Колокализацию белков в нейронах выявляли методом двойной метки, при котором вторичные антитела конъюгировали первично с FITC, вторично — с индокарбоцианином — Cy3 в разведениях 1:100 в следующих комбинациях антигенов: ХАТ-НФ, КАБ-ХАТ, КАБ-НФ, nNOS-ХАТ, nNOS-КАБ, nNOS-каспаза-3. Препараты анализировали под микроскопом Олимпус ВХ43 (Olympus Corporation, Япония), оснащенном набором флюоресцентных фильтров-блоков. Изображения получали посредством охлаждаемой цифровой видеокамеры ТСС-5.0ICE (Tucsen, Китай). На срезах под объективом 10x/0.30 изучали топографию нейронов серого вещества вентрального рога СМ, устанавливали положение мотонейронов в пластинке IX СМ, конфигурация которой соответствовала верхним грудным сегментам [15]. Измерение площади сечения тел мотонейронов проводили, используя программу Image J (НИН, США) на изображениях срезов, полученных под объективом 20x/0.50. На этих же срезах подсчитывали число ИР-мотонейронов в пластинке IX серого вещества СМ на каждом срезе (абсолютное содержание). Долно ИР-мотонейронов определяли как их отношение к общему числу ИР-мотонейронов, выявленных NeuroTrace Red по Нисслию, которое принимали за 100%. Анализу подлежали мотонейроны, срез которых прошел через ядро с хорошо видимым ядрышком и флюоресценцией, превышающей фоновое свечение. Изучение структурных изменений мотонейронов СМ проводили на срезах, окрашенных тионином.

Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica 10 (StatSoft, Inc., 2011). Для поиска различий средних показателей применяли анализ вариаций ANOVA и считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования. У мышей, находившихся в стандартных условиях вивария (группа контроля, масса тела $26,9 \pm 1,2$ г), в сером веществе СМ были выявлены ХАТ-, НФ-, КАБ-, ИР-мотонейроны. Субпопуляции мотонейронов, содержащих нейрональные белки, имели яркую флюоресценцию нейроплазмы, проксимальных частей волокон. Форма тел ИР-мотонейронов была полигональной.

Количество мотонейронов, содержащих ХАТ и НФ, было сопоставимо с таковым при окраске NeuroTrace Red по Нисслию, выявляемых

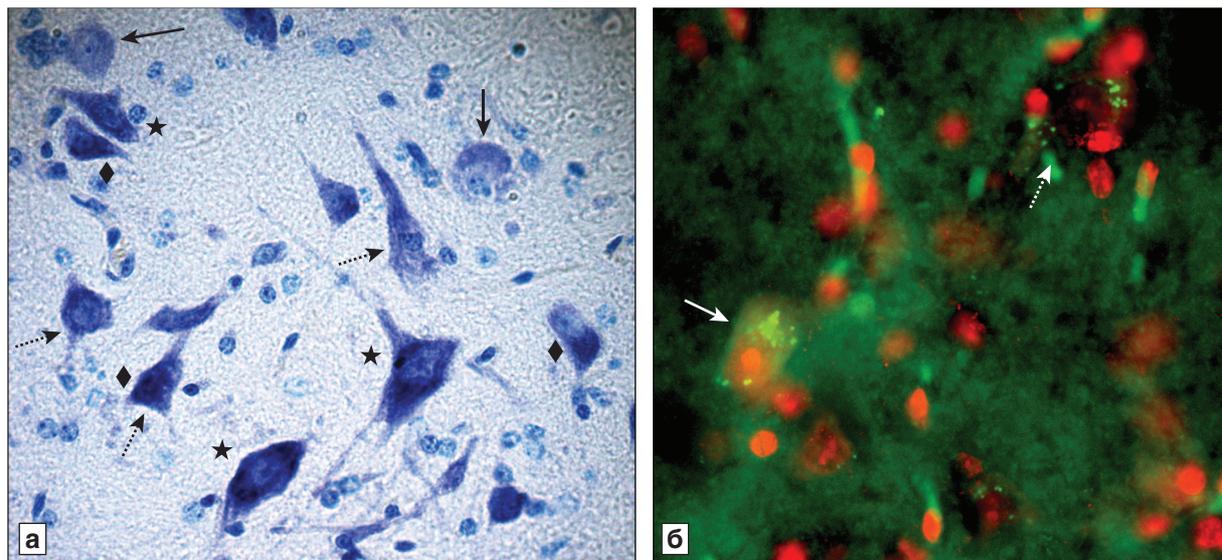
на каждом срезе в пределах пластинки IX СМ. Мотонейроны, содержащие КАБ, были единичны и выявлялись только на каждом 3-м срезе СМ. В пластинке IX nNOS-, каспаза-3-, Ki-67-ИР-мотонейроны обнаружены не были.

Средняя площадь сечения тел мотонейронов различалась в зависимости от их нейрхимической принадлежности. Так, наибольшие средние размеры имели НФ-ИР-, наименьшие — КАБ-ИР-мотонейроны; ХАТ-мотонейроны занимали промежуточное положение. Все мотонейроны изученных сегментов СМ являются субпопуляцией холинергических нейронов, маркером которых выступает в данном исследовании ХАТ. При использовании двойной ИГХ-метки было установлено, что большинство холинергических мотонейронов одновременно содержали также НФ или КАБ: НФ содержались в 90,4% мотонейронов с ХАТ, а КАБ — в 1,4% мотонейронов с ХАТ. При этом в популяции мотонейронов присутствовали и клетки, которые одновременно содержали все 3 нейрональных маркера — ХАТ, НФ, КАБ, что составило 1,4% от всей популяции мотонейронов.

У мышей полетной группы (масса тела $28,9 \pm 1,7$ г) в пластинке IX серого вещества СМ также были выявлены ХАТ-, НФ- и КАБ-ИР-мотонейроны, но в отличие от группы контроля в полетной группе мотонейроны являлись nNOS- и каспаза-3-ИР. Ki-67-ИР-мотонейроны не выявлены.

При окраске тионином выявляются множество мотонейронов с неокрашенными отростками, вакуолизацией цитоплазмы, наличием краевого просветления цитоплазмы. Вместе с тем, при отсутствии глиальной реакции, характерной для некроза, в большинстве мотонейронов у мышей полетной группы были обнаружены дистрофические изменения, включая перинуклеарный хроматолиз, сходный с реакцией на повреждение аксона, пикноморфность, краевое расположения ядра (рисунк, а). Распад мотонейрона на фрагменты, напоминающие апоптозные (остаточные) тельца, наблюдался в единичных мотонейронах, содержащих каспазу-3 (см. рисунок, б).

Подсчет мотонейронов показал значимое уменьшение количества ИР-клеток в субпопуляциях, содержащих ХАТ и НФ. Было отмечено снижение их численности на 31,5 и 31,8%, соответственно по сравнению с показателями в группе контроля. Существенно, что при окраске NeuroTrace Red по Нисслию или тионином число мотонейронов в СМ оставалось неизменным по сравнению с таковым в контроле. В отличие от группы контроля в полетной группе КАБ-ИР-мотонейроны выявлялись в пластинке IX посто-



Мотонейроны грудного сегмента спинного мозга мыши после 30-суточного космического полета.

а — мотонейроны с перинуклеарным хроматолизом и отсутствием окрашенных отростков (стрелки), пикноморфные мотонейроны (звездочки), мотонейроны с краевым смещением ядра (ромбы), нейроны с вакуолизированной цитоплазмой (пунктирные стрелки); б — мотонейрон с белком в нейроплазме (стрелка); распадающийся иммунореактивный мотонейрон (пунктирная стрелка). а — окраска тионином; б — иммуногистохимический метод определения каспазы-3. Об. 40, ок. 10

янно — на каждом срезе СМ. Их доля составила 28,2% от всей популяции мотонейронов. Мотонейроны, содержащие nNOS, составляли от числа мотонейронов, выявляемых при окраске NeuroTrace Red по Ниссля, 91,5%, а доля мотонейронов с каспазой-3 — 52%.

Средняя площадь сечения тел ИР-мотонейронов у мышей полетной группы превышала показатель в группе контроля: нейронов, содержащих ХАТ, было больше в 1,8 раза, НФ — в 1,6 раза, КАБ — в 1,3 раза. Площадь сечения тел мотонейронов СМ у мышей полетной группы при окраске флуоресцентным методом Ниссля в 2 раза превышала определяемую в контрольных исследованиях.

Наибольшие размеры имели мотонейроны, окрашенные по Ниссля, меньшие — субпопуляции мотонейронов с КАБ, nNOS и каспазой-3. Промежуточные значения площади сечения тел имели субпопуляции мотонейронов с НФ и ХАТ.

При использовании двойной ИГХ-метки было установлено, что в СМ у мышей полетной группы в 63,4% мотонейронов с ХАТ одновременно выявляются НФ, в 28,2% — КАБ. Все холинергические мотонейроны содержали nNOS. В мотонейронах, ИР к НФ, КАБ и каспазе-3 одновременно выявлялась и nNOS. При этом были выявлены клетки, которые содержали все 4 нейрональных маркера — ХАТ, НФ, КАБ, nNOS, которые составили 28,2% от всей популяции мотонейронов. Колокализация nNOS–КАБ выявлена в 30% мотонейронов, nNOS–каспаза-3 — в 57%,

КАБ–НФ — в 44% мотонейронов. Как видно, мотонейроны СМ после пребывания мышей в космическом полете имеют функциональную характеристику, отличающуюся от таковой в контроле.

Обсуждение полученных данных. Учитывая морфометрические характеристики ИР-мотонейронов в группе контрольных мышей, субпопуляции нейронов с НФ и ХАТ имели большую среднюю площадь сечения тел, что дает основание отнесения их к крупным α -мотонейронам [9]. Напротив, нейроны, содержащие КАБ, имели малую среднюю площадь сечения тел, но все проявляли ИР к ХАТ, что позволяет отнести их также к мотонейронам, возможно — γ -мотонейронам.

В полетной группе отмечались разнонаправленные изменения ИР-мотонейронов, что проявилось уменьшением числа мотонейронов с ХАТ и НФ, увеличением числа мотонейронов с КАБ и появлением в мотонейронах активности nNOS и каспазы-3.

Известно, что в условиях длительной микрогравитации ферментативная активность в мотонейронах СМ снижается [8, 12–14], показано также уменьшение экспрессии ХАТ на 54% в мотонейронах сегментов L_{IV} – L_V СМ у крыс, находящихся в условиях опорной разгрузки задних конечностей в течение 35 сут [4].

Имеются данные о связи изменений мотонейронов у крысы после космического полета с локализацией в сером веществе СМ и их мишенями иннервации. Так, в мотонейронах медиальной

группы пояснично-крестцового утолщения СМ у крыс, находившихся в условиях 14-суточного космического полета, не обнаружено изменений, тогда как в мотонейронах дорсолатеральной группы того же уровня, иннервирующих мускулатуру задних конечностей, отмечено уменьшение активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) [11]. При этом в условиях невесомости в мотонейронах шейного и пояснично-крестцового утолщений СМ у мыши отмечены однотипные изменения мотонейронов одинакового размера, проявляющиеся снижением активности СДГ [10].

Мотонейроны $T_{III}-T_V$ сегментов СМ связаны с гипаксиальной мускулатурой туловища. В условиях микрогравитации изменение уровня афферентации, вызванной снижением легочного объема и скорости инспираторного потока, ведет к депривации двигательной функции дыхательных мышц, что сопоставимо с изменениями в постуральных мышцах [1]. Вероятно, с этим связано снижение количества мотонейронов СМ, содержащих ХАТ и НФ. Существенно, что количество мотонейронов, выявленных NeuroTrace Red по Нисслию, соответствует таковому в контроле, т.е. гибели мотонейронов не происходит. Структурные изменения мотонейронов, выявленные при окраске тионином, следует отнести к реактивным, которые могут перейти как в восстановительные, так и в патологические.

Проведенное исследование свидетельствует о функциональной дестабилизации мотонейронов грудных сегментов СМ у мыши после пребывания в условиях микрогравитации. При этом часть мотонейронов переходят в инертные — «спящие» клетки, в которых в данный временной промежуток ИР к ХАТ и НФ отсутствует, другие — в динамичные клетки, в которых экспрессируются нейрональные белки, что проявляется повышением количества мотонейронов с КАБ и появлением отсутствующих в контроле субпопуляций мотонейронов ИР к nNOS и каспазе-3.

Представляется важным, что указанные изменения популяции мотонейронов СМ у мышей после пребывания в условиях космического полета напрямую или опосредованно связаны с кальциевым обменом [17].

Универсальность кальция состоит в регуляции разнообразных процессов в нейроне: синаптической пластичности, активации различных цитоплазматических ферментов и ионных каналов; секреции нейромедиаторов в синаптическую щель [18]. Нейропротективное действие как NO, маркером которого является nNOS, так и КАБ заключается в уменьшении внутриклеточной концентрации кальция. Вероятно, увеличение числен-

ности мотонейронов, содержащих КАБ и nNOS, свидетельствует о повышении концентрации кальция. Деструктивное действие NO реализуется через энергетическую дестабилизацию клетки и дезаминирование молекул ДНК, необратимую же активацию этого процесса опосредуют проапоптотические ферменты — каспазы [16]. При этом описывают выпячивания клеточной поверхности в виде пузырьков («закипание») цитоплазмы, которая приобретает пузырчатый вид [3, 5]. Вакуолизация цитоплазмы в настоящем исследовании отмечена в мотонейронах, окрашенных тионином, а также в мотонейронах ИР к КАБ. Однако гибель нейронов, несмотря на многочисленность мотонейронов, содержащих каспазу-3, не выражена. Активация в мотонейронах СМ у мышей полетной группы эффекторной каспазы-3 может иллюстрировать другую, неапоптотическую функцию — участие в структурной и функциональной адаптации мотонейронов СМ к меняющимся условиям внешней среды. Это наблюдение не единично: показано, что индукторная каспаза-9 в мотонейронах поясничного утолщения СМ у крыс, находящихся в условиях длительной опорной разгрузки конечностей, не активна [12]; несмотря на присутствие эффекторной каспазы-3 в нейронах, признаков апоптотической гибели не было выявлено в условиях ишемического прекодиционирования [19].

Вместе с тем, после длительного космического полета на фоне сохранения популяции мотонейронов, выявляемой окраской тионином, и существенного уменьшения количества мотонейронов с ХАТ и НФ, отмечается увеличение площади сечения тел иммунонегативных и ИР-мотонейронов, что связано с клеточным набуханием, вследствие избыточного поступления в клетку ионов кальция, о чём также свидетельствует повышение содержания КАБ.

Таким образом, в условиях длительного космического полета в мотонейронах изученных грудных сегментов СМ у мышей развиваются реактивные изменения, которые проявляются возрастанием размеров тел мотонейронов всей клеточной популяции, уменьшением количества субпопуляций с ХАТ и НФ, увеличением — с КАБ и появлением мотонейронов, экспрессирующих nNOS и каспазу-3. Морфологические и ИГХ-изменения мотонейронов отражают механизмы адаптации к условиям космического полета, идентификация влияния отдельных факторов которого пока не представляется возможной.

Работа выполнена по договору о НТ-сотрудничестве с ГНЦ РФ — ИМБП РАН и поддержана РФФИ (проект 12-04-00621-а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Н.П., Доница Ж.А., Данилова Г.А. и др. Роль афферентной системы легких в механизмах компенсаторных реакций дыхательной системы в антиортостатическом положении // *Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова*. 2007. Т. 93, № 6. С. 670–677.
2. Андреев-Андривский А.А., Шенкман Б.С., Попова А.С. и др. Экспериментальные исследования на мышах по программе полета биоспутника «Бион-М1» // *Авиакосм. и экол. мед.* 2014. Т. 48, № 1. С. 14–27.
3. Едранов С.С. Апоптоз как фактор организации посттравматического воспаления // *Тихоокеанск. мед. журн.* 2012. № 2. С. 100–104.
4. Исламов Р.Р., Тяпкина О.В. Бухараева Э.А. и др. Экспрессия холинацетилтрансферазы в мотонейронах спинного мозга крыс после антиортостатического вывешивания // *Докл. Акад. наук*. 2007. Т. 414, № 6. С. 1–3.
5. Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Морфологическая характеристика апоптоза и его значение в нейрогенезе // *Морфология*. 2007. Т. 131, вып. 2. С. 16–28.
6. Краснов И.Б. Деафферентация и изменение коммутации структур мозга в невесомости // *Авиакосм. и экол. мед.* 2013. Т. 47, № 4. С. 83–84.
7. Маслюков П.М., Коробкин А.А., Коновалов В.В. и др. Возрастное развитие кальбиндин-иммунопозитивных нейронов симпатических узлов крысы // *Морфология*. 2012. Т. 141, вып. 1. С. 77–80.
8. Поляков И.В., Лоури О., Эджертон В.Р., Краснов И.Б. Гистохимия и морфология передних рогов спинного мозга крыс после 9-суточного космического полета // *Авиакосм. и экол. мед.* 1995. Т. 29, № 1. С. 30–32.
9. Порсева В.В., Шилкин В.В., Стрелков А.А., Маслюков П.М. Кальбиндин-содержащие нейроны вентрального рога спинного мозга мышей // *Морфология*. 2014. Т. 146, вып. 4. С. 21–25.
10. Ishihara A., Nagamoto F., Fujino H. et al. Decreased succinate dehydrogenase activity of gamma and alpha motoneurons in mouse spinal cords following 13 weeks of exposure to microgravity // *Neurochem. Res.* 2013. Vol. 38, № 10. P. 2160–2167.
11. Ishihara A., Ohira Y., Roy R.R. et al. Comparison of the response of motoneurons innervating perineal and hind limb muscles to spaceflight and recovery // *Muscle nerv.* 2000. Vol. 23, № 5. P. 753–762.
12. Islamov R.R., Tyapkina O.V., Shaimardanova G.F. et al. Apoptosis resistance of rat spinal motoneurons under simulated microgravity // *Dokl. Biolog. Sciences.* 2008. Vol. 420, № 3. P. 1–3.
13. Krasnov I.B. Gravitational neuromorphology // *Adv. Space Biol. Med.* 1994. Vol. 4. P. 85–110.
14. Krasnov I.B., Polyakov I.V., Drobyshev V.I. Neuron-glia-capillary system in spinal cord of rats after 14-day space flight // *The Physiologist*. 1992. Vol. 35, № 1. Suppl. S-218–S-219.
15. Molander C., Xu Q., Rivero-Melian C., Grant G. Cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat: II. The cervical and upper thoracic cord // *Comp. Neurol.* 1989. Vol. 289. P. 375–385.
16. Perecko T., Drabikova K., Nosal R. et al. Involvement of caspase-3 in stilbene derivatives induced apoptosis of human neutrophils in vitro // *Interdiscip. Toxicol.* 2012. Vol. 5, № 2. P. 76–80.
17. Porseva V.V., Shilkin V.V., Krasnov I.B., Masliukov P.M. Calbindin-D28k immunoreactivity in the mice thoracic spinal cord after space flight // *Intern. J. Astrobiol.* 2015. Vol. 14, № 4. P. 555–562.
18. Schwaller B. The use of transgenic mouse models to reveal the functions of Ca²⁺ buffer proteins in excitable cells // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. Vol. 1820. P. 1294–1303.
19. Tanaka H., Yokota H., Jover T. et al. Ischemic preconditioning: neuronal survival in the face of caspase-3 activation // *Neuroscience*. 2004. Vol. 24. P. 2750–2759.

Поступила в редакцию 16.08.2015

V.V.Porseva¹, V.V.Shilkin¹, A.A.Strelkov¹, I.B.Krasnov², P.M.Masliukov¹

CHANGES OF SPINAL MOTOR NEURONS IN MICE AFTER A SPACE FLIGHT

The expression of choline acetyltransferase (ChAT), neurofilament (NF) protein 200 kDa, calbindin (CAB) 28 kDa, neuronal NO-synthase (nNOS), caspase 3, Ki-67 was studied in motor neurons from T_{III}–T_V segments of the spinal cord in C57/BL6 male mice by immunohistochemical methods 12 h after a 30 days-long space flight on the Bion-M1 biosatellite. Mice living under standard vivarium conditions served as a control. The motoneurons of experimental animals demonstrated the reactive changes that were manifested by the increase of their size, decrease in the number of subpopulations expressing ChAT and NF, increase of subpopulations containing CAB, appearance of motor neurons expressing nNOS, caspase-3, and the absence of Ki-67. The lack of proliferating gliocytes, the preservation of nucleolar component indicate the absence of necrobiotic changes characteristic of necrosis. The cytoplasmic vacuolization was observed in thionine-stained CAB-immunoreactive neurons. The disintegration of motor neurons into fragments resembling the apoptotic bodies was observed in single cells that contained caspase-3.

Key words: motor neuron, spinal cord, immunohistochemistry, microgravity

¹ Department of Physiology with Biophysics, Yaroslavl State Medical University; ² Laboratory of Gravitational Biology, RAS Institute of Biomedical Problems, Moscow