



RESEÑA DE INVESTIGACIÓN

La microgravedad y la Astrobiología: un enfoque multidisciplinario**The microgravity and Astrobiology: a multidisciplinary approach**Julio E. Valdivia-Silva MD., PhD^{1,2}

1) Instituto de Investigación y Capacitación en Telecomunicaciones – Universidad Nacional de Ingeniería (INICTEL-UNI), Lima, Perú

2) NASA Ames Research Center, Life Sciences & Astrobiology Division, Moffett Field, CA94035, EEUU

* Correspondencia: INICTEL-UNI, Av. San Luis 1771, San Borja, Lima Perú

E-mail: jvaldivia@inictel-uni.edu.pe

Recibido 24 enero 2016, Aceptado 21 marzo 2016.

DOI: <https://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.3118894.v2>

© 2016 Todos los derechos reservados

Resumen

La Astrobiología es un campo multidisciplinario que pretende unir esfuerzos de diferentes campos del conocimiento científico con el fin de entender el origen de la vida, la presencia de los seres vivos en el Universo y el futuro de la vida. En este contexto, uno de los objetivos es buscar y estudiar los cambios biológicos a todo nivel de complejidad de los organismos vivos, incluidos los humanos, en condiciones extremas en el Espacio profundo donde la microgravedad y la radiación son condiciones constantes. En esta breve reseña, se muestra algunos avances en la comprensión de los efectos de la microgravedad a nivel genético y celular con efectos inhibitorios interesantes observados en células de cáncer sometidas a esta condición experimental. Nosotros discutimos resultados preliminares obtenidos en el laboratorio, llevando a nuestro país a la vanguardia de la comunidad de astrobiólogos en el mundo.

Palabras clave: astrobiología, microgravedad, células cancerígenas.**Abstract**

Astrobiology is a multidisciplinary field that pretends joining forces of different scientific knowledges in order to understand the origin of life, the presence of living beings in the Universe, and the future of life. In this context, one of the goals is to seek and study biological changes at all level of complexity in living organisms, including humans, under extreme conditions in the deep Space where the microgravity and radiation are the constant conditions. In this brief review, it is shown some advances in the understanding of effects of microgravity at genetic and cellular level with interesting inhibitory signals in cancer cells subjected to this experimental condition. Importantly, we discussed the preliminary results which were made in my laboratory, taking our country to the cutting edge of the international community of astrobiologists.

Key words: astrobiology, microgravity, cancer cells**La Astrobiología y sus metas**

La Astrobiología es una estrategia multidisciplinaria que pretende entender tres preguntas básicas en la ciencia: ¿de dónde somos y cuál es nuestro origen?, ¿existen organismos vivos fuera del planeta Tierra? y ¿hacia dónde nos dirigimos como organismos vivos?. Debido a que no podemos responder estas preguntas enfocando disciplinas únicas como la Física, la Matemática, la Química, la Geología, la Astronomía, etc., es que todas éstas se juntan para poder entender e investigar estas interrogantes de manera más integral (1). En este contexto, un *astrobiólogo* será aquel que, sin dejar de ser experto en su especialidad, se dedique a integrar diversos campos del conocimiento buscando el apoyo de otros colegas. A su vez esto generará nuevas teorías e hipótesis que en un principio no se hubieran podido originar.

Así, la nueva génesis de conocimiento desde diversos campos y experiencias soportan la moción que esta *multidisciplina* pueda ser considerada como una nueva ciencia multi, trans e interdisciplinaria.

Desde el punto de vista académico, para una mayor comprensión de los objetivos de la Astrobiología y para que los investigadores puedan ubicar su investigación en un contexto mayor, se ha construido un mapa de ruta donde se contemplan siete grandes metas que, como veremos brevemente a continuación, abarcan desde el entendimiento de nuestro origen hasta la posible adaptación de la vida fuera de nuestro querido planeta Tierra (**Figura 1**).

Estas siete metas inician con la cacería de planetas similares a la Tierra fuera de nuestro Sistema Solar (2). Para ello, numerosas estrategias de astrofísicos y el uso de radiotelescopios en Tierra o en órbita como *Kepler* buscan constantemente planetas más allá de nuestro Sistema que puedan estar localizados a una distancia “adecuada” a su estrella o sol que le permita ser un candidato potencial para la vida. A dicho intervalo de distancia que depende del tamaño de la estrella, su tipo y también la masa del planeta se le denomina *zona habitable estelar*. La zona habitable estelar es una franja estrecha donde un planeta puede presentar agua en estado líquido, buscando que no esté demasiado cerca para evaporar el agua, ni muy lejos de su calor para que ésta se encuentre congelada. Aquí remarcamos que el agua líquida es considerada un requisito para la presencia de vida como la conocemos y es esencial que todo planeta candidato la tenga presente para sugerir la existencia de una biósfera (3). En este punto podemos agregar que el agua es importante en estado líquido porque permite la cinética de todas las reacciones químicas y bioquímicas necesarias para la vida, cosa que no se puede lograr si se encuentra en estado gaseoso o congelado.

La segunda meta de la Astrobiología consiste en determinar si hubo vida pasada o presente en nuestro Sistema Solar. Para ello, cuatro importantes blancos de interés con características interesantes son evaluados: el planeta *Marte*, las lunas de Saturno *Titán* y *Encelado*, y la luna de Júpiter llamada *Europa*. Con respecto a Marte, es un planeta que ha compartido un origen común con la Tierra y aunque actualmente sea un desierto frío y seco, hubo tiempos en que pudo haber tenido grandes océanos, lagos y ríos como lo demuestra su geomorfología y minerales encontrados que solo pueden ser formados en presencia de agua líquida (4 - 6). Adicionalmente, Marte tiene escenarios que pueden ser posible hábitats actuales de microorganismos incluyendo diversas rocas de sales y el subsuelo que brindarían un excelente nicho de mayor protección a condiciones extremas (7). La luna Titán, por su parte, presenta increíbles escenarios de riachuelos y depósitos de hidrocarburos alrededor del planeta que podrían simular un planeta Tierra de miles de millones de años en el pasado, o un planeta con la posibilidad de albergar microorganismos extremófilos consumidores de esta gran fuente de carbono (8). La luna Encelado de Saturno, es otro posible candidato debido a que presenta pequeños bolsillos de agua que salen a la superficie como géiseres que han sido evidenciados en numerosas fotografías tomadas por la sonda Cassini (9). Esto indicaría la presencia de agua líquida que permanece en ese estado gracias a actividad geotérmica en el interior. De manera similar, la luna Europa de Júpiter ha mostrado poseer un océano interno cubierto por casi 10 km de hielo. Este hielo ha mostrado renovarse constantemente debido a que el agua del interior logra salir a la superficie por momentos gracias a la fuerza de fricción que ejerce el planeta sobre dicha luna (10).

La tercera meta de la astrobiología, comprende la búsqueda del origen de nuestra molécula de la vida: el ADN (o ácido desoxirribonucleico), que es el código de información presente en todos los seres vivos de nuestro planeta. Además, pretende encontrar las condiciones químicas y físicas que permitieron su ensamblaje y posteriormente el origen de sus contenedores: las primeras células (11, 12). La cuarta meta busca entender la co-evolución de la biósfera (biología, geología y atmósfera) con la aparición o exterminio de los organismos a lo largo de la historia de nuestra Tierra. En este punto, los grandes impactos de asteroides, cometas o meteoritos, además de factores externos que pudieron favorecer o no la aparición y progresión de la vida son agentes importantes de análisis (13).

La quinta meta es el estudio de la adaptabilidad de los organismos a diversos ambientes, buscando los límites de la vida. Aquí se estudian particularmente las bacterias *extremófilas* que han dado gran expectativa tanto para la biotecnología como para extrapolar su posible existencia en planetas o cuerpos celestes del espacio que tienen características “extremas” para la vida. Obviamente es importante recalcar que hablar de *extremo* es un término antropocéntrico, dado que nuestras condiciones como ser humano son extremas para un extremófilo y viceversa (14).

La meta seis está relacionada al estudio de la supervivencia de los organismos vivos fuera de nuestro planeta, involucrando desde la Medicina Espacial en los humanos, a todo lo relacionado con los cambios biológicos y bioquímicos que ocurren en células u otros organismos bajo esta condición extrema. Justamente, estudios evaluando los mecanismos fenotípicos (visibles) y genotípicos (a nivel del gen) son los objetivos secundarios de esta gran meta. Las condiciones de microgravedad y radiación están presentes y constantes en cualquier lugar fuera de la Tierra y es por ello que su comprensión requiere de gran interés si se desea algún día colonizar o permanecer largos periodos de tiempo en el Espacio o en algún otro planeta (15).

Finalmente, la meta siete está relacionada a investigar aquellas firmas físicas o químicas que puedan ser indiscutibles huellas de la vida presente o pasada: “*los biomarcadores*”. Para ello, esta meta está relacionada con el desarrollo de tecnología e ingeniería de instrumentos que permitan detectar dichas huellas. Como es lógico, las misiones espaciales son consideradas parte de este gran objetivo (16).

Este breve repaso a la Astrobiología en esta sección permite enmarcar y ubicar la investigación en temas de microgravedad dentro del contexto de interés de la investigación espacial.

La microgravedad y la radiación

Los efectos de la microgravedad y la radiación son grandes desafíos que hay que vencer, en caso se desee permanecer por largos periodos de tiempo en el Espacio como el de crear un hábitat sostenible (**Figura 2**). En el caso de la radiación, al salir de nuestra atmósfera, esta se torna muchísimo más peligrosa debido a la falta de escudos protectores, como la capa de ozono y la magnetosfera terrestre, que evitan un ingreso masivo de iones y protones altamente cargados con capacidad de romper las cadenas de nuestro ADN. Dos tipos de radiación son las más peligrosas: los *rayos cósmicos* que son iones pesados altamente energéticos y las *partículas solares* que son protones también muy energéticos. Se estima que en un año de permanencia en el Espacio, un tercio de nuestro ADN sería atacado directamente por iones pesados y entre 6%-12% de la población total de núcleos de neuronas en el cerebro, dependiendo del tamaño y localización, serían golpeados por iones con $Z \geq 15$ aumentando el riesgo de cáncer. Este hecho demuestra el gran peligro de permanencia que se ve empeorado con la ausencia de un escudo artificial lo suficientemente bueno para evitar este bombardeo iónico. De manera importante, los escudos metálicos están prohibidos al respecto debido a que iones pesados como el de Hierro puede fragmentar los átomos del metal ocasionando más iones que a su vez podrían multiplicarse exponencialmente. Este proceso es conocido como radiación secundaria (17, 18).

Por otro lado, la microgravedad parece ejercer otros efectos sobre los seres vivos. Aunque fueron descritos efectos generales y no importantes en astronautas desde los primeros vuelos espaciales (15, 19), estudios a nivel genético desarrollados en diferentes modelos animales como la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y células humanas, han llevado a demostrar cambios en la expresión genética que no pueden ser explicados únicamente por la ausencia simple de función. A este respecto, inicialmente los cambios de atrofia muscular o la baja actividad de los osteoblastos en la resorción ósea fueron atribuidos a procesos mecánicos funcionales, donde la ausencia de “uso” y estimulación mecánica permitía que los sistemas entraran también en ausencia de señales celulares (20). Estudios posteriores a nivel genético, demostraron que estos procesos de atrofia y otros fisiopatológicos en estas condiciones no podían ser explicados simplemente por señales de basopresores o ausencia de función, sino que se debían también a cambios más profundos en la expresión de genes (21, 22, 23).

En este punto es importante remarcar que no se debe confundir la definición de gravedad con conceptos de presión atmosférica, del peso o incluso con el valor de su aceleración. La gravedad es una de las cuatro interacciones fundamentales de la materia y aunque hay teorías que intentan describirla y se acercan a una definición, es una de las interrogantes más interesantes de la Física (24). De la misma manera, los efectos que la variación de la gravedad ejerce sobre los sistemas biológicos son también una gran interrogante importante, dado que dichos sistemas siempre estuvieron bajo los efectos de ella (25).

Aunque no es motivo de esta reseña describir todos los experimentos que se realizan en diferentes laboratorios acerca de la microgravedad, en la siguiente sección se describe el trabajo que realiza mi laboratorio en temas de microgravedad.

Estudios en el laboratorio de microgravedad

Con el avance de la exploración humana fuera de nuestra atmósfera, diferentes adaptaciones sistémicas a diferentes niveles biológicos en el cuerpo humano son necesarias para poder sobrevivir frente a estas nuevas condiciones (15). Por tanto, es necesaria una comprensión de la respuesta del cuerpo humano al ambiente espacial a nivel sistémico, molecular y celular integrativo (26). A pesar de esta necesidad, la mayoría de investigación biológica en el espacio es limitada a experimentos y observaciones dentro de la Estación Espacial Internacional (ISS), o a experimentos que simulan los procesos físicos de la microgravedad en la Tierra como son el biorreactor de recipiente rotatorio hueco (Rotary Well Vessel Bioreactor) y el Clinostato de 3D (27). Desafortunadamente, los datos de microgravedad simulada deben ser extrapolados adecuadamente a experimentos en gravedad cero reales, por lo que sistemas más eficaces deben ser diseñados (28).

Una de las razones principales para el escaso conocimiento en este campo, el alto costo de fabricación, diseño y lanzamiento de plataformas experimentales al Espacio. Los requerimientos técnicos de sistemas de soporte de vida

(cultivos celulares o animales) representan un gran desafío debido a que el equipo usado para estos propósitos es de gran volumen y por ende de mayor costo. Adicionalmente, el manejo del equipo requiere frecuentemente que los astronautas tengan que estar involucrados por la falta de sistemas automatizados.

Por tanto la primera tarea realizada en mi laboratorio fue implementar y validar un sistema automatizado de cultivo celular dentro de una máquina simuladora de microgravedad construida totalmente en ambientes del Instituto Nacional de Investigaciones y Capacitación en Telecomunicaciones (INICTEL-UNI) cuyo módulo puede fácilmente ser un prototipo para futuros cultivos dentro de la ISS o en pequeños satélites. La máquina simuladora de microgravedad que se encuentra actualmente en el INICTEL-UNI es una máquina de plataformas giratorias de movimiento aleatorio con tres grados de libertad que se mueven a una velocidad máxima de 2.55 revoluciones por minuto (RPM) y que generan a 10 cm del centro de la plataforma una microgravedad calculada en de 1.1×10^{-7} veces la gravedad teórica (29). La validación de la máquina se realizan con experimentos que utilizan como modelo de estudio a la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, que fue reportada anteriormente por el grupo del Dr. David Lavan en la Universidad Autónoma de Madrid (30, 19, 21). Este sistema evaluó los niveles de expresión genética de un homogenizado de pupas previamente expuestas al sistema simulado y fue comparado a resultados obtenidos en la Estación Espacial Internacional (30, 31). Los estudios en el nuevo equipo de INICTEL-UNI deben por tanto tener similitud estadística con los hallazgos previos para ratificar su validación.

De esta manera, en el laboratorio de microgravedad se realizan diversos estudios en el prototipo de la máquina a la que se le está por añadir un nuevo sistema de incubación celular. Las pupas de la mosca de la fruta bajo condiciones de microgravedad durante diferentes tiempos de experimento (entre 24 y 72 horas) son sometidas a una extracción de su material genético (ARN) para un posterior análisis por microarreglos (transcriptoma). Este tipo de análisis evalúa al mismo tiempo todos los genes que están siendo expresados, o no, bajo cierta condición en comparación a un estado control, que serían las pupas en gravedad normal.

Por otro lado, desde los inicios de la exploración espacial hasta el día de hoy, se viene desarrollando un gran número de experimentos biológicos con el objetivo futuro de evaluar nuestras capacidades y debilidades durante una estadía fuera de nuestro planeta. Importantes hallazgos mostraron que las células eucariotas son capaces de detectar y responder a la ausencia de la gravedad mediante la modificación de todo el sistema biológico (31). Las células de organismos más complejos, como las de la mosca *Drosophila melanogaster* que ha servido como un buen modelo experimental (23), han demostrado cambios genotípicos durante todo el proceso de desarrollo pero no han mostrado cambios fenotípicos (32). Por tanto, una hipótesis de que todos los organismos están evolutivamente adaptados a la gravedad de nuestro planeta no parecería tan alejada de la realidad (31).

Antecedentes más directos acerca de cambios en la expresión genética de células humanas expuestas a microgravedad son expuestas claramente por el trabajo de Hammond y col. (1999). En este trabajo se comparan los efectos de la microgravedad simulada y la casi ausencia de gravedad en la Estación Espacial Internacional (ISS-STS90) sobre células renales corticales. Se observaron 1632 genes con diferente expresión en la Estación y 914 genes en el sistema simulado por Clinostato 3D (33). Curiosamente casi el 90% de genes que alteraron su expresión en el sistema simulado están incluidos en el grupo de genes que cambiaron en la Estación Espacial, corroborando la utilidad del sistema a pesar de tener solamente dos ejes de libertad. El efecto de un eje de libertad adicional en nuestro equipo parece haber mejorado la simulación, sin embargo la adición de más ejes ya no muestra un efecto aditivo.

Por otro lado, diversos trabajos con células tumorales sometidas a microgravedad real y/o simulada, principalmente de carcinoma tiroideo, han demostrado resultados interesantes con respecto a diversos cambios funcionales profundos en comparación a las células sanas de similar origen, lo que indica directamente cambios en la expresión del ARN que se traduce a proteínas (transcriptoma a proteoma) (34 - 37). Un efecto muy frecuente es la disminución en la tasa de crecimiento y proliferación de las células tumorales. Los mecanismos para estos resultados son desconocidos aunque algunos autores sugieren cambios en la actividad mitocondrial (38), activación de programas de muerte celular (34), e inhibición de la expresión atribuidos a proteínas de membrana (datos no publicados). Así, la inhibición de blancos específicos encontrados con un análisis genético global en células cancerosas utilizando nuevas tecnologías, como la del ARN de interferencia, podrían dar grandes beneficios en el futuro (22, 39) y son uno de los objetivos centrales de nuestro trabajo.

De esta manera, el trabajo en el laboratorio pretende evaluar diferente líneas celulares de cáncer de mama que podrán ser cultivadas y monitoreadas en el sistema simulador de microgravedad y en una incubadora convencional como control. Además de ello se pretende comparar con una línea celular no cancerígena de mama para tener un mejor panorama de los cambios genéticos producidos. Todos los datos en bruto entraran a análisis matemáticos para encontrar cuales son los genes más relevantes dentro del transcriptoma. El transcriptoma analizado por microarreglos

podrá evidenciar las diferencias de expresión entre las células sometidas a microgravedad y aquellas de control en Tierra.

Pero ¿cómo es que llegamos a descubrir que las células de cáncer sufren cambios en microgravedad?. Aunque hay algunos artículos recientes que han iniciado el estudio a nivel genético buscando las causas de este efecto inhibitorio en las células cancerosas sometidas a microgravedad, los experimentos iniciales se realizaron buscando crear un modelo tridimensional de progresión tumoral. Sin embargo, a pesar de que las células tumorales creaban agregados en microgravedad su comportamiento no era el esperado: su índice de proliferación disminuía significativamente. Experimentos realizados en moscas de la fruta con microtumores abdominales y enviadas a la ISS para estudios del efecto de la radiación en la progresión del cáncer fueron los que dieron una señal más clara del proceso. Estas moscas contienen una mutación puntual que ocasiona el crecimiento tumoral espontaneo en todas las generaciones que las lleva a una muerte prematura. Sorprendentemente, el crecimiento tumoral en estas condiciones disminuyó significativamente y las nuevas generaciones a pesar de presentar la mutación, no generaron tumores. De alguna manera, el sistema reguló genéticamente la progresión del tumor e incluso las moscas de segunda y tercera generación que regresaron a la gravedad terrestre no mostraron crecimiento tumoral. Dado que estos experimentos no estaban diseñados para estos hallazgos en la ISS, es que se ha buscado luego de casi 6 años programar una nueva misión para repetir estos experimentos. Para tratar de entender más este proceso, se han utilizado líneas celulares de cáncer en simuladores de microgravedad donde se han obtenido datos coincidentes. A pesar de ello, un objetivo futuro de nuestro trabajo es poder construir satélites pequeños que tengan un instrumental capaz de darnos resultados en microgravedad “real” dado lo difícil del acceso a la ISS.

Resultados interesantes de nuestro laboratorio también vienen de los estudios del Dr. Lavan y *col.* (2015) que está demostrando la presencia de genes que podrían ser “sensores de gravedad”. Estos resultados, que sabemos son altamente controversiales, parecen haber encontrado los genes que son capaces de regular los efectos observados en las células tumorales. De ser comprobado este hecho y dado que los seres vivos siempre hemos estado bajo la influencia de la gravedad terrestre (o eso pensamos), nuevas evidencias de la teoría de la Panspermia podrían ser planteadas.

El laboratorio hasta el momento ha logrado en poco tiempo constituirse en un lugar modelo de trabajo multidisciplinario. Esto gracias a que se ha constituido un grupo diverso de ingenieros, biólogos, físicos, y médicos sin los cuales no se hubiera construido el simulador de microgravedad y ni se pensaría en construir el microscopio de fluorescencia que estará prontamente en dicha máquina con el objetivo de evaluar células marcadas con fluoróforos.

Finalmente, es importante remarcar que aunque la Astrobiología es relativamente joven en nuestro país, las colaboraciones y las oportunidades de proyectos en esta área pueden abrir la iniciativa de reunir múltiples disciplinas para solucionar retos específicos.

Agradecimientos

Los mayores agradecimientos a INNOVATE Perú que financia el proyecto de microgravedad y cáncer, también a la Unidad de Investigación del INICTEL-UNI que permitió la construcción de la máquina de microgravedad. Finalmente al equipo del laboratorio Microgravity and Space Biology Research Group por llevar estas investigaciones adelante.



Figura 1. Las metas de la Astrobiología. Las siete metas de la Astrobiología enmarcan el estudio multidisciplinario en el afán de entender la vida fuera de la Tierra, nuestro origen y las posibilidades que tenemos en el futuro como seres vivos. En la figura enmarcamos la meta 5 y 6 debido a que nuestras investigaciones se encuentran sustentadas en estas dos buscando procesos de adaptación de los seres vivos en el Espacio y el efecto de éste sobre ellos.

El desafío de la Investigación Biológica en el Espacio

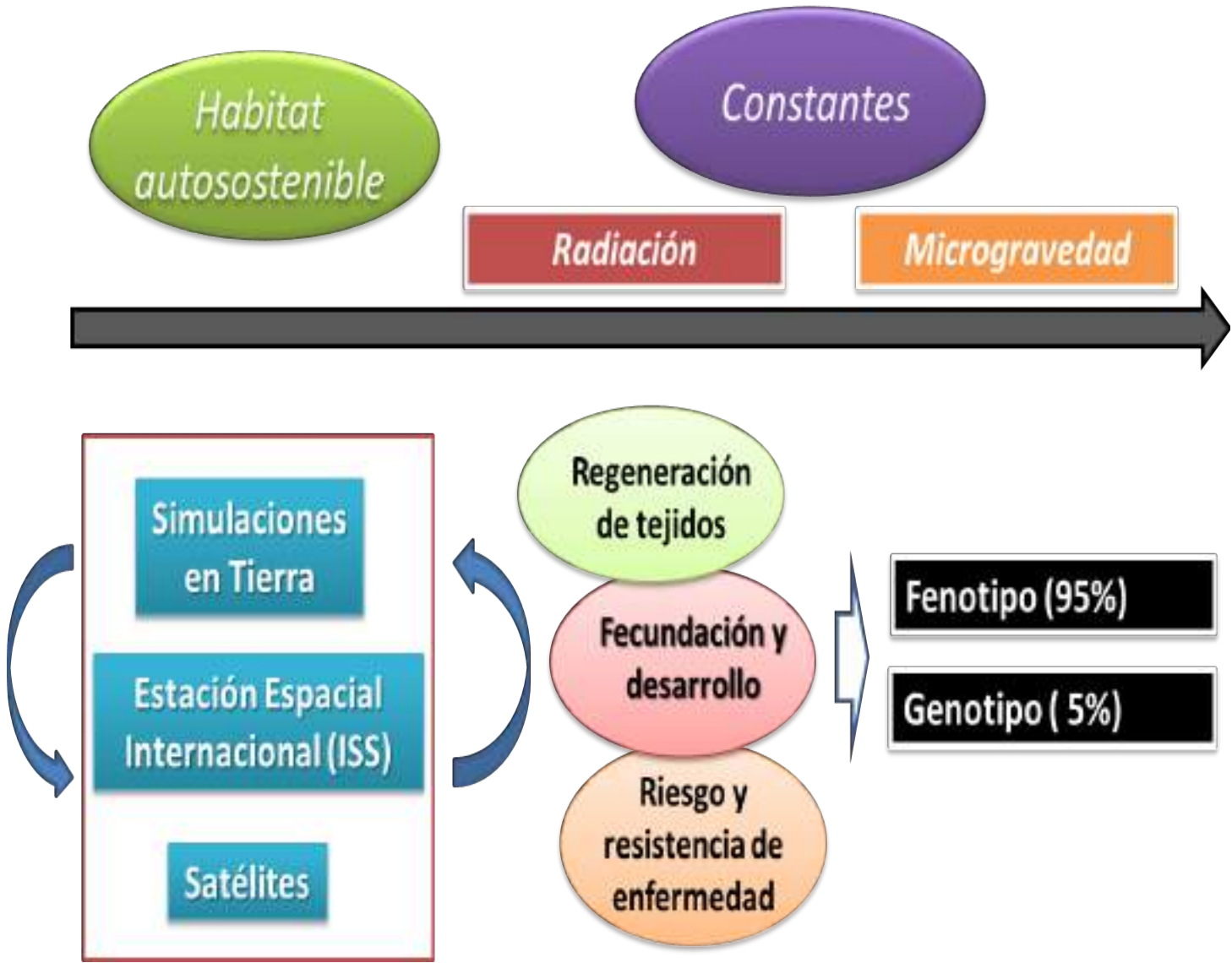


Figura 2. El desafío de la exploración biológica en el Espacio. Las dos grandes tareas en la investigación espacial son la búsqueda de un hábitat artificial sostenible que permita nuestra permanencia y la forma de sobrevivir en presencia de dos constantes: la radiación y la microgravedad. Para ello tenemos herramientas de apoyo que tratan de resolver preguntas de nuestra biología en el Espacio. Lastimosamente la mayoría de estudios hasta ahora han evaluado el fenotipo mucho más que el genotipo. En los siguientes años ya se observa una carrera por tratar de entender mejor la expresión genética en esas condiciones.

Referencias

1. Des Marais, D.J., Allamandola, L.J., Benner, S.A., Boss, A.P., Deamer, D., Falkowski, P.G., Farmer, J.D., Hedges, S.B., Jakosky, B.M., Knoll, A.H., Liskowsky, D.R., Meadows, V.S., Meyer, M.A., Pilcher, C.B., Nealson, K.H., Spormann, A.M., Trent, J.D., Turner, W.W., Woolf, N.J., Yorke, H.W., 2003. The NASA Astrobiology Roadmap. *Astrobiology* 3, 219-235.
2. Jontof-Hutter, D., Rowe, J.F., Lissauer, J.J., Fabrycky, D.C., Ford, E.B., 2015. The mass of the Mars-sized exoplanet Kepler-138 b from transit timing. *Nature* 522, 321-323.
3. Borucki, W.J., Agol, E., Fressin, F., Kaltenegger, L., Rowe, J., Isaacson, H., Fischer, D., Batalha, N., Lissauer, J.J., Marcy, G.W., Fabrycky, D., Désert, J.-M., Bryson, S.T., Barclay, T., Bastien, F., Boss, A., Brugnauer, E., Buchhave, L.A., Burke, C., Caldwell, D.A., Carter, J., Charbonneau, D., Crepp, J.R., Christensen-Dalsgaard, J., Christiansen, J.L., Ciardi, D., Cochran, W.D., DeVore, E., Doyle, L., Dupree, A.K., Endl, M., Everett, M.E., Ford, E.B., Fortney, J., Gautier, T.N., Geary, J.C., Gould, A., Haas, M., Henze, C., Howard, A.W., Howell, S.B., Huber, D., Jenkins, J.M., Kjeldsen, H., Kolbl, R., Kolodziejczak, J., Latham, D.W., Lee, B.L., Lopez, E., Mullally, F., Orosz, J.A., Prsa, A., Quintana, E.V., Sanchis-Ojeda, R., Sasselov, D., Seader, S., Shporer, A., Steffen, J.H., Still, M., Tenenbaum, P., Thompson, S.E., Torres, G., Twicken, J.D., Welsh, W.F., Winn, J.N., 2013. Kepler-62: A Five-Planet System with Planets of 1.4 and 1.6 Earth Radii in the Habitable Zone. *Science* 340, 587-590.
4. Andrews-Hanna, J.C., Lewis, K.W., 2011. Early Mars hydrology: 2. Hydrological evolution in the Noachian and Hesperian epochs. *Journal of Geophysical Research: Planets* 116, n/a-n/a.
5. Baucom, M., 2006. Life on Mars? Geological and biological processes observed on Earth provide hunky-dory explanations for methane on Mars. *American Scientist* 94, 119-120.
6. Carr, M.H., Head, J.W., 2003. Oceans on Mars: An assessment of the observational evidence and possible fate. *Journal of Geophysical Research-Planets* 108.
7. Ivo Alves, E., Teresa Barata, M., 2012. Mars habitability. *Planetary and Space Science* 72, 1-2.
8. Sagan, C., Thompson, W.R., Khare, B.N., 1992. Titan - A laboratory for prebiological organic-chemistry. *Accounts of Chemical Research* 25, 286-292
9. Carolyn, P., Daiana, D., Francis, N., 2014. How the Geysers, Tidal Stresses, and Thermal Emission across the South Polar Terrain of Enceladus are Related. *The Astronomical Journal* 148, 45.
10. Kivelson, M.G., Khurana, K.K., Russell, C.T., Volwerk, M., Walker, R.J., Zimmer, C., 2000. Galileo Magnetometer Measurements: A Stronger Case for a Subsurface Ocean at Europa. *Science* 289, 1340-1343.
11. Heinrich, M.N., Khare, B.N., McKay, C.P., 2007. Prebiotic organic synthesis in early Earth and Mars atmospheres: Laboratory experiments with quantitative determination of products formed in a cold plasma flow reactor. *Icarus* 191, 765-778.
12. Orgel, L.E., 2004. Prebiotic chemistry and the origin of the RNA world. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 39, 99-123.
13. Abramov, O., Mojzsis, S.J., 2009. Microbial habitability of the Hadean Earth during the late heavy bombardment. *Nature* 459, 419-422
14. Morozkina, E.V., Slutskaia, E.S., Fedorova, T.V., Tugay, T.I., Golubeva, L.I., Koroleva, O.V., 2010. Extremophilic microorganisms: Biochemical adaptation and biotechnological application (review). *Applied Biochemistry and Microbiology* 46, 1-14.
15. Blaber, E., Marçal, H., Burns, B.P., 2010. Bioastronautics: The Influence of Microgravity on Astronaut Health *Astrobiology* 10, 463-473.
16. Hegde, S., Paulino-Lima, I.G., Kent, R., Kaltenegger, L., Rothschild, L., 2015. Surface biosignatures of exo-Earths: Remote detection of extraterrestrial life. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, 3886-3891.
17. Morgan, W.F., Sowa, M.B., 2015. Non-targeted effects induced by ionizing radiation: Mechanisms and potential impact on radiation induced health effects. *Cancer Letters* 356, 17-21.
18. Stein, T.P., 2012. Weight, muscle and bone loss during space flight: another perspective. *European Journal of Applied Physiology* 113, 2171-2181.
19. Herranz, R., Laván, D.A., Benguría, A., Duque, P., Leandro, L.J., Gasset, G., Medina, F.J., van Loon, J., Marco, R., 2007. The "gene" experiment in the spanish soyuz mission to the ISS. effects of the cold transportation step. *Microgravity Sci. Technol* 19, 196-200.
20. Fitts, R.H., Riley, D.R., Widrick, J.J., 2001. Functional and structural adaptations of skeletal muscle to microgravity. *Journal of Experimental Biology* 204, 3201-3208.
21. Leandro, L.J., Szewczyk, N.J., Benguría, A., Herranz, R., Laván, D., Medina, F.J., Gasset, G., van Loon, J., Conley, C.A., Marco, R., 2007. Comparative analysis of *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans* gene expression experiments in the European Soyuz flights to the International Space Station. *Advances in Space Research* 40, 506-512.

22. Ma, X., Pietsch, J., Wehland, M., Schulz, H., Saar, K., Hübner, N., Bauer, J., Braun, M., Schwarzwälder, A., Segerer, J., Birlem, M., Horn, A., Hemmersbach, R., Waßer, K., Grosse, J., Infanger, M., Grimm, D., 2014. Differential gene expression profile and altered cytokine secretion of thyroid cancer cells in space. *The FASEB Journal* 28, 813-835.
23. Unsworth, B.R., Lelkes, P.I., 1998. Growing tissues in microgravity. *Nat Med* 4, 901-907.
24. Penrose, R., 1976. The nonlinear graviton. *General Relativity and Gravitation* 7, 171-176.
25. Lineweaver, C.H., Egan, C.A., 2008. Life, gravity and the second law of thermodynamics. *Physics of Life Reviews* 5, 225-242.
26. Kalb, R., Solomon, D., 2007. SPace exploration, mars, and the nervous system. *Archives of Neurology* 64, 485-490.
27. Grimm, D., Wehland, M., Pietsch, J., Aleshcheva, G., Wise, P., van Loon, J., Ulbrich, C., Magnusson, N., Infanger, M., Bauer, J., 2014. Growing Tissues in Real and Simulated Microgravity: New Methods for Tissue Engineering Tissue Engineering Part B: Reviews ahead of print. doi:10.1089/ten.teb.2013.0704.
28. Herranz, R., Anken, R., Boonstra, J., Braun, M., Christianen, P.C.M., de Geest, M., Hauslage, J., Hilbig, R., Hill, R.J.A., Lebert, M., Medina, F.J., Vagt, N., Ullrich, O., van Loon, J.J.W.A., Hemmersbach, R., 2013. Ground-Based Facilities for Simulation of Microgravity: Organism-Specific Recommendations for Their Use, and Recommended Terminology *Astrobiology* 13, 1-17.
29. Van Loon, J.J.W.A., 2007. Some history and use of the random positioning machine, RPM, in gravity related research. *Advances in Space Research* 39, 1161-1165.
30. Herranz, R., Benguría, A., LavÁN, D.A., LÓPez-Vidriero, I., Gasset, G., Javier Medina, F., Van Loon, J.J.W.A., Marco, R., 2010a. Spaceflight-related suboptimal conditions can accentuate the altered gravity response of *Drosophila* transcriptome. *Molecular Ecology* 19, 4255-4264.
31. Marco, R., Díaz, C., Benguría, A., Mateos, J., Mas, J., de Juan, E., 1999. The role of gravity in the evolutionary emergence of multicellular complexity: Microgravity effects on arthropod development and aging. *Advances in Space Research* 23, 2075-2082.
32. Herranz, R., Manzano, A.I., Medina, F.J., Serrano, P., van Loon, J.J.W.A., 2010b. Selection of *Drosophila* altered behaviour and aging strains for Microgravity Research.
33. Hammond, T., Lewis, E., Goodwin, T., Linnehan, R.M., Wolf, D., KP, H., Campbell, W., Benes, E., Kaysen, J., 1999. Gene expression in space. *Nature Medicine* 5, 359.
34. Grimm, D., Bauer, J., Kosmehl, P., Shakibaei, M., SCHÖNBERGER, J., PICKENHAHN, H., SCHULZE-TANZIL, G., VETTER, R., EILLES, C., PAUL, M., COGOLI, A., 2002. Simulated microgravity alters differentiation and increases apoptosis in human follicular thyroid carcinoma cells. *The FASEB Journal* 16, 604-606.
35. Pietsch, J., Ma, X., Wehland, M., Aleshcheva, G., Schwarzwälder, A., Segerer, J., Birlem, M., Horn, A., Bauer, J., Infanger, M., Grimm, D., 2013. Spheroid formation of human thyroid cancer cells in an automated culturing system during the Shenzhou-8 Space mission. *Biomaterials* 34, 7694-7705.
36. Ulbrich, C., Pietsch, J., Grosse, J., Wehland, M., Schulz, H., Saar, K., Hübner, N., Hauslage, J., Hemmersbach, R., Braun, M., van Loon, J., Vagt, N., Egli, M., Richter, P., Einspanier, R., Sharbati, S., Baltz, T., Infanger, M., Ma, X., 2011. Differential Gene Regulation under Altered Gravity Conditions in Follicular Thyroid Cancer Cells: Relationship between the Extracellular Matrix and the Cytoskeleton. *Cellular Physiology and Biochemistry* 28, 185-198.
37. Zhau, H., Goodwin, T., Chang, S.-M., Baker, T., Chung, L.K., 1997. Establishment of a three-dimensional human prostate organoid coculture under microgravity-simulated conditions: Evaluation of androgen-induced growth and psa expression. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Animal* 33, 375-380.
38. Takeda, M., Magaki, T., Okazaki, T., Kawahara, Y., Manabe, T., Yuge, L., Kurisu, K., 2009. Effects of simulated microgravity on proliferation and chemosensitivity in malignant glioma cells. *Neuroscience Letters* 463, 54-59.
39. Warnke, E., Pietsch, J., Wehland, M., Bauer, J., Infanger, M., Gorog, M., Hemmersbach, R., Braun, M., Ma, X., Sahana, J., Grimm, D., 2014. Spheroid formation of human thyroid cancer cells under simulated microgravity: a possible role of CTGF and CAV1. *Cell Communication and Signaling* 12, 32.