

УДК 57.045+ 577.29

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕОМА КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕГУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА У КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ЗАВЕРШЕНИЯ ПОЛЕТА

© 2024 г. И. Н. Гончаров*, Л. Х. Пастушкова, А. Г. Гончарова, Д. Н. Каширина**, И. М. Ларина

ФГБУН ГНЦ РФ — Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*E-mail: igorgoncharov@gmail.com

**E-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

Поступила в редакцию 02.10.2023 г.

После доработки 25.03.2024 г.

Принята к публикации 06.06.2024 г.

Методом количественной протеомики на основе масс-спектрометрии выполнено исследование образцов крови 18 космонавтов, совершивших продолжительные полеты в составе российских экипажей Международной космической станции. Исследование было направлено на выяснение возможной связи изменений протеома, под действием факторов космического полета (КП), с процессами ангиогенеза. Анализ выполнен с использованием целевой панели из 125 меченых ¹³C/¹⁵N пептидов с помощью хромато-масс-спектрометрии с мониторингом множественных реакций (ЖХ/МРМ-МС). Было количественно охарактеризовано 125 различных белков. Среди них обнаружена группа из 61 протеинов, которые участвуют в процессах ангиогенеза и его регуляции. Биоинформатическими методами показано, что выделенные белки ангиогенеза являлись участниками 13 биологических процессов, в том числе лимфангиогенеза. Достоверные изменения уровня белка в крови, после посадки, по отношению к предполетным пробам отмечены в 7 случаях. Результаты показали, что устранение гравитации (микрогравитация), космическая радиация и перегрузки завершающего этапа полета сочетанно воздействуют на процессы ангиогенеза, что проявляется изменениями протеомной композиции на 1-е сут после завершения длительных КП.

Ключевые слова: ангиогенез, биологические процессы, белки, космический полет, приземление, особенности протеома плазмы крови.

DOI: 10.31857/S0131164624050076, EDN: AOHCSI

Ангиогенез — процесс новообразования сосудов, происходящий постоянно во всех тканях организма и имеющий сложные механизмы регуляции. Для гравитационной физиологии актуально изучение важнейших процессов, сопряженных с функциями сосудов, а именно: изменений проницаемости базальной мембраны в результате активации протеолиза; пролиферации, миграции, адгезии эндотелиальных клеток; формирования тубулярных структур; исследование роли «навигационных» молекул, обеспечивающих направление и плотность роста сосудов.

Вовлеченность процессов ангиогенеза в условиях устранения гравитации предопределяется структурно-функциональной связью внеклеточного матрикса (ВКМ) и цитоскелета клеток эндотелия сосудов, составляющих единую механосенсорную структуру, напрямую воспринимающую гравитационные силы [1]. Можно предполагать, что при устранении гравитации модификации

подвергнутся не только механизмы трансдукции механического стимула в биохимический сигнал эндотелиальным клеткам, но и сигнальные пути, зависящие от гипоксического стимула окружающих сосудов клеток.

Кроме адаптации этих процессов к условиям продолжительной микрогравитации необходимо учитывать также воздействие перегрузки, способной потенцировать сосудистое повреждение при действии ускорений на этапе приземления спускаемого аппарата [2].

Исследования процессов ангиогенеза непосредственно в космическом полете (КП) проводились на эмбрионах японского перепела, грызунах [3]. Большой объем исследований выполнен на культурах клеток, в том числе эндотелия сосудов как в реальной гравитации, так и в модельных исследованиях на Земле [4].

В настоящей работе анализируются особенности процессов ангиогенеза человека на

молекулярном уровне, не рассматривая модификацию механизмов ангиогенеза в наземных модельных экспериментах с участием человека, так как при этом отсутствуют три главных воздействующих на организм фактора, существенных для космонавта в полете: длительное отсутствие гравитации, радиационный фон, влияние ускорений при посадке [2].

МЕТОДИКА

Объектом исследования служили образцы крови, собранные у 18 российских космонавтов ($M \pm SD$ возраст: 44 ± 6 лет, все мужчины) в ходе эксперимента “Протеом крови и мочи”. Кровь отбирали из вены в локтевой ямке в пробирки *SARSTEDT-Monovette®*, содержащие *EDTA*, за 30 дней до старта (сокращенно L-30), через сутки после приземления (через 25.2 ± 0.1 ч после приземления) ($R + 1$) и через 7 дней после возвращения на Землю ($R + 7$). Продолжительность полета данной группы космонавтов на Российском сегменте Международной космической станции (РС МКС) составляла 169—199 суток. Плазму отделяли центрифугированием по стандартному протоколу и хранили при -80°C . Ингибиторы протеаз или антимикробные агенты не добавляли.

Целевая пептидная панель. Для количественного анализа с помощью хромато-масс-спектрометрии с мониторингом множественных реакций (ЖХ/МРМ-МС) использовали целевую панель, состоящую из белков, функционирующих во внеклеточной жидкости, чьи изменения являются клиническим проявлением метаболического синдрома на Земле. Поскольку космический метаболический синдром, возникающий в условиях КП, не охарактеризован, правомерно использовать для исследования панель белков, разработанную для земного метаболического синдрома.

В использованной панели диапазон концентраций исследованных целевых белков находился в пределах их нормальных концентраций в крови человека. В количественном методе МРМ с *SIS*-пептидами протеотипические пептиды служили молекулярными “внутренними стандартами” целевых белков. Для количественного определения белков плазмы, следовательно, в качестве внутренних стандартов использовали *13C/15N*-меченые пептиды. Они были синтезированы и очищены с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с обращенной фазой (*RP-HPLC*) с последующей оценкой на *MALDI-TOF-MS* в Университете Виктории (Канада) — *Genome BC Proteomics Centre*. Чистота *SIS*-пептидов составляла в среднем 94.2%. Детали метода пробоподготовки и анализа описаны в работе [5].

Анализ ЖХ/МРМ-МС. Все этапы приготовления растворов и образцов, а также параметры анализа

ЖХ/МРМ-МС описаны в статье [6]. Анализ ЖХ/МРМ-МС проводили с помощью колонки *Zorbax Eclipse Plus RP-UHPLC* в системе хроматографа *UPLC 1290 Infinity (Agilent Technologies, США)*, который сопряжен с тройным квадрупольным масс-спектрометром (*Agilent 6490*) через источник *Jet Stream™* от *Agilent* в режиме электроспрейной ионизации положительными ионами.

Данные мониторинга множественных реакций визуализировали и анализировали с помощью программного обеспечения *MassHunter* для количественного анализа (версия *V.07.00, Agilent*).

Биоинформатический анализ. Статистический анализ проводили в программном пакете *Statistica 7* с использованием однофакторного дисперсионного анализа для повторных изменений. С помощью онлайн-калькулятора осуществляли проверку статистической гипотезы о нормальности распределения выборки данных по критерию Шапиро—Уилка. В качестве апостериорного теста применяли тест Тьюки. Для определения молекулярных функций, биологических процессов и сигнальных путей использовали интернет-ресурс *DAVID (https://david.ncifcrf.gov)* и поисковую систему *PubMed (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)*. Дополнительную информацию о свойствах, молекулярной массе белков получали из базы данных *Uniprot (https://www.uniprot.org)*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В образцах крови группы из 18 космонавтов было количественно охарактеризовано 125 различных белков. Среди них обнаружился 61 протеин, чьи функции, согласно биоинформатическим ресурсам, были ассоциированы с процессами ангиогенеза и его регуляции. Программа *ANDVisio* позволила определить, что выделенные белки ангиогенеза являлись участниками 13 биологических процессов.

На рис. 1 представлена связь с ангиогенезом основных как достоверно изменяющихся, на первые послеполетные сутки, регуляторных белков, так и белков со стабильной концентрацией (по сравнению с таковой в предполетном периоде). На нем также отображены белок-белковые взаимодействия с процессами ангиогенеза как напрямую, так и через посредников; отмечен вклад белков в лимфангиогенез и его регуляцию.

Концентрации 19 протеинов крови изменились в образцах, собранных после посадки, по отношению к предполетным пробам. Белков, ассоциированных с процессами ангиогенеза, оказалось 8 (табл. 1). Таким образом, 54 белка — участника процессов регуляции ангиогенеза, формировали сети белок-белковых взаимодействий для

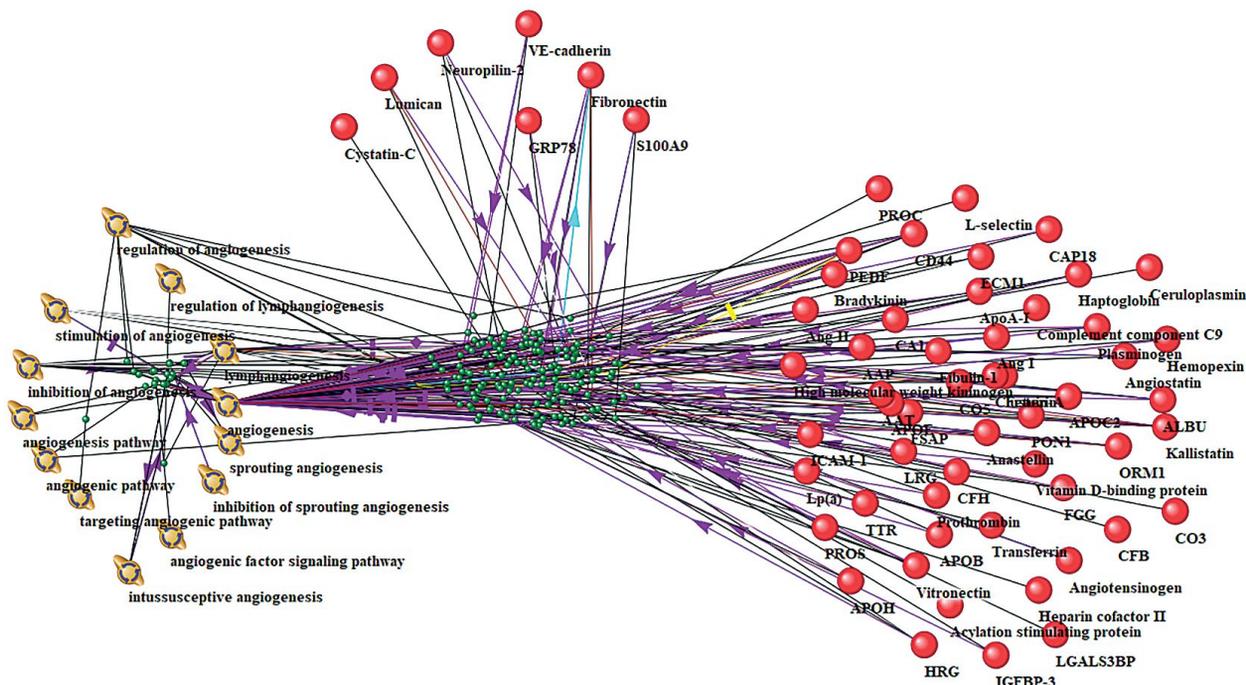


Рис. 1. Основные процессы ангиогенеза у космонавтов и регуляторные белки – участники этих процессов (программа *ANDVisio*).

осуществления этой функции в неизменной/стабильной концентрации.

Для придания выводам, формируемым на основе хода анализа, максимальной убедительности, на следующем этапе анализа мы ужесточили критерии выбора данных: 1) использовали динамику только белков с достоверно изменившимися концентрациями в крови (табл. 1); 2) анализировали молекулярные связи с процессами ангиогенеза – только напрямую, без белков-посредников (рис. 2).

Использование программы *ANDVisio* [7], осуществляющей построение ассоциативных сетей белок-белковых взаимодействий путем поиска взаимосвязей между молекулярно-генетическими объектами и процессами, позволило установить связь с процессами ангиогенеза всех белков, достоверно изменяющихся в процессе КП (рис. 2).

Таким образом, с процессом ангиогенеза в КП и после него напрямую оказалось связано 7 белков из целевой панели в 125 белков. Анализ основных

Таблица 1. Белки, ассоциированные с ангиогенезом, с достоверно различающимися концентрациями в крови между образцами фона, +1 и +7 сут после полета

Название белка	Средняя ± станд. отклонение, фмоль/мкл			<i>p-values</i>		
	<i>L</i> - 30	<i>R</i> + 1	<i>R</i> + 7	<i>L</i> - 30 vs <i>R</i> + 1	<i>R</i> + 1 vs <i>R</i> + 7	<i>L</i> - 30 vs <i>R</i> + 7
78кДа глюкозо-регулируемый белок	6.3±1.9	4.6±1.15	5.3±1.0	0.031	0.216	0.2
Кадгерин-5	16.2±3.0	14.2±2.82	15.7±3.8	0.044	0.193	0.635
Цистатин С	71.9±32.6	41.9±22.52	49±37.6	0.014	0.63	0.218
Фибронектин	121.8±36.5	100.9±21.7	110.9±18.5	0.044	0.145	0.267
Люмикан	510.3±90.3	446.9±74.3	528.2±66.5	0.028	0.001	0.503
Нейропилин-2	42.7±6.8	41.1±5.5	46.8±7.9	0.432	0.016	0.106
S100-A9	2.7±1.3	6.2±4.52	3.8±2.0	0.039	0.07	0.152

Примечание: жирным шрифтом отмечены достоверно различающиеся концентрации с *p-value* < 0.05.

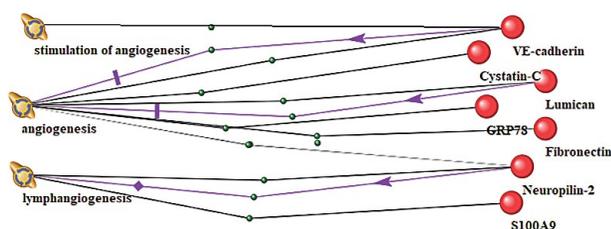


Рис. 2. Основные процессы ангиогенеза у космонавтов и основные регуляторные белки (использована программа *ANDVisio*).

характеристик, выполненный методом ручной аннотации с акцентом на тему исследования, показал следующее.

Растворимый E-кадгерин (*sE-cad*, *E-cadherin*). Известно, что парацеллюлярная проницаемость эндотелия сосудов зависит от открытия и закрытия межклеточных соединений, образованных эндотелиальными клетками. Один из типов доменов межклеточных соединений, так называемые адгезивные соединения (AJs), регулируют парацеллюлярную проницаемость через эндотелий и состоят из VE-кадгерина [VE-cadherin, кадгерин эндотелия сосудов (VE), CD144 (Cluster of Differentiation 144)], члена семейства кадгериновых рецепторов адгезии [8].

Растворимая форма E-кадгерина (МВ 80 кДа) является мощным индуктором ангиогенеза. Показано, что *sE-cad* в большом количестве выделяется в составе экзосом, гетеродимеризуется с VE-кадгеринном на эндотелиальных клетках и обеспечивает последовательную активацию передачи сигналов β -катенина и NF κ B [9]. Поскольку кадгерин эндотелия сосудов (VE) является ключевым компонентом адгезивных соединений эндотелия (AJs), он играет важную роль в поддержании целостности сосудов.

Наши результаты количественного определения этого белка в крови космонавтов показали, что концентрация E-кадгерина снижается на 1-е сут после КП и повышается к 7-м послеполетным суткам, однако не достигает фоновых значений (см. табл. 1). Уменьшение поверхностного VE-кадгерина снижает эффективность адгезивных соединений клеток эндотелия, уменьшает стабильность и целостность монослоя и в результате — повышает проницаемость сосудов. В то же время разрушение целостности монослоя эндотелиальных клеток является условием для начала прорастания сосудов в зоне клеточной гипоксии [10]. Отмечено, что дефицит VE-кадгерин вызывает образование сосудистых дефектов, включая нарушение прорастания сосудов, ограниченную организацию ECs в большие зрелые сосуды и регресс сосудов [10].

По-видимому, снижение уровня E-кадгерина на 1-е сут после КП свидетельствует о дестабилизации

монослоя эндотелия микрососудов и потере ими барьерной функции. Кроме того, дефицит данного белка способен вызывать образование сосудистых дефектов, что должно расцениваться как неблагоприятный признак в реадaptационном периоде после КП.

Аналогичную динамику в послеполетном периоде показал и цистатин С, уровень которого снижается на 1-е сут после завершения КП и повышается к 7-м сут, но не достигает при этом фоновых значений (табл. 1). В регуляции процессов ангиогенеза понижение уровня цистатина С (CystC) угнетает клеточную инвазию и ангиогенное разрастание, стимулированное TGF- β [11].

Цистатин С (CystC) является антагонистом передачи сигналов трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) в клетках. Показано, что CystC подавляет чувствительность эндотелиальных клеток к TGF- β , включая их способность регулировать экспрессию компонентов передачи сигналов как TGF- β , так и членов семейства ингибиторов дифференцировки, матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов (TIMP). Считают, что CystC выполняет двойные нейронно-сосудистые функции, способствуя выживанию клеток и ангиогенезу посредством регуляции уровня секретируемого VEGF [11, 12].

Обобщая вышеизложенное, можно предполагать, что CystC эффективен в предотвращении прогрессирования патологического ангиогенеза, стимулируемого сигнальной системой TGF- β , что является важным защитным механизмом при длительном пребывании в условиях повышенного радиационного фона и снижения напряжения магнитного поля на околоземной орбите. С другой стороны, CystC как эндогенный ингибитор цистеиновой протеазы играет нейропротекторную роль в ситуации риска развития нейродегенеративных заболеваний.

Фибронектин (FN) наряду с коллагеном, ламинином, протеогликанами является основным компонентом внеклеточного матрикса (ВКМ). По литературным данным, пространственная ориентация FN неизменна в условиях микрогравитации [13]. Известно, что ВКМ обеспечивает правильный капиллярный морфогенез и поддержание сосудистого гомеостаза. Отмечают, что ВКМ также является компонентом механизма сосудистой механочувствительности [14].

Роль фибронектина изучалась в экспериментальных условиях, моделирующих изменение вектора гравитации, на культуре эндотелиальных клеток. Были выявлены изменения в синтезе и секретиции белков, участвующих в трехмерном формировании ВКМ. Показано, что мРНК и содержание белка хемоаттрактанта белка-1 (MCP-1) фибронектина и моноцитов было повышено наряду

с активацией секреции сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), интерлейкинов (IL-6, IL-8, MCP-1, молекул межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), молекул 1 адгезии сосудистых клеток (VCAM-1), липокалина. Эти результаты показывают, что изменение экспрессии факторов VEGF, NGAL, IL-6, IL-8, MCP-1, VCAM-1, ICAM-1 и фибронектина подвержено влиянию гравитации. В микрогравитации была отмечена корреляция изменений цитоскелета с модификацией транскрипции. *A. Dittrich et al.* заключают, что взаимодействие ВКМ, процессов клеточной адгезии и связь с цитоскелетом являются основой гравичувствительности клеток эндотелия [15].

На 1-е сут после КП нами отмечено снижение уровня фибронектина с повышением к 7-м сут, не достигающим фоновых значений. Одна из гипотез, объясняющих эти результаты, связана с тем, что клетки могут получать информацию о векторе гравитации и его присутствии через опосредованную интегрином клеточно-матриксную адгезию, которая соединяет цитоскелет с ВКМ. Понижение уровня фибронектина угнетает эндотелиальные клетки, подавляет переход из состояния покоя в активное, уменьшает миграцию и пролиферацию [16].

Понимание свойств и функций ВКМ, клеточной адгезии и связи с цитоскелетом ЭК открывает новые перспективы для контроля физиологического и патологического ангиогенеза и сосудистого гомеостаза при длительном воздействии микрогравитации, радиационного фона, других факторов КП. Учитывая, что фибронектин и кадгерин оказывают вклад в пространственную организацию матрикса и поддерживают направления роста новообразованных сосудов, чрезвычайно важна их роль в реализации гравитационно-зависимых стимулов направления роста сосудов и плотности расположения новообразованных сосудов в ходе длительных КП и после приземления.

Кроме того, показано, что небольшой фрагмент белка, происходящий из С-концевой части первого модуля фибронектина III типа (FNIII1) – анастеллин (AN), который инициирует полимеризацию FN плазмы *in vitro*, что приводит к образованию “суперфибронектина”, который по структуре напоминает фибриллы FN, полученные из ВКМ. AN также ингибирует клеточную пролиферацию, обладает антиангиогенными свойствами [17, 18]. Также этот пептид модулирует структуру FN, включенного в ВКМ, и влияет на поведение клеток [19]. В фибробластах AN активирует передачу сигналов митоген-активируемой протеинкиназы p38 (МАРК) с последующим воздействием на организацию цитоскелета и активацию клеточного цикла [19]. Анастеллин также модулирует передачу сигналов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в эндотелиальных клетках и ингибирует передачу

сигналов лизофосфолипидов через Ras/ERK [20]. Кроме того, AN стимулирует высвобождение воспалительных цитокинов из фибробластов и мононуклеаров посредством активации NF- κ B-зависимых путей [21].

Отмечают, что снижение уровня фибронектина в крови, как эндогенного ингибитора ангиогенеза, проявляет свои эффекты, модулируя отдельные этапы ангиогенного пути наряду с другими ингибиторами, источником которых служит внеклеточный матрикс [20, 21].

Люмикан, член семейства SLRP, напрямую взаимодействует с каталитическим доменом ММП-14 и ингибирует его активность. Установлено, что небольшие, богатые лейцином протеоглики (SLRP) являются важными регуляторами сборки внеклеточного матрикса и передачи клеточных сигналов. Известно, что SLRP способны связываться с различными типами коллагена (по крайней мере, I, II, V и VI), тем самым регулируя кинетику, сборку и пространственную организацию фибрилл в коже, сухожилиях и роговице, клиническими проявлениями недостаточности которых являются дряблость кожи и помутнение роговицы [22, 23].

Однако биологические функции люмикана выходят далеко за рамки взаимодействия с коллагенами. Он связывается с различными цитокинами, включая трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), с сигнальными рецепторами, такими как Toll-подобные рецепторы, рецептор инсулиноподобного фактора роста, рецептор эпидермального фактора роста, белок, родственник рецептору липопротеинов низкой плотности, интегрин $\alpha 2\beta 1$, тем самым действуя как прямой триггер передачи сигнала. Эти взаимодействия приводят к модуляции клеточного роста, пролиферации, дифференцировке, контролю выживания, адгезии и миграции в физиологических и патологических условиях [24].

Показано снижение уровня люмикана на 1-е сут после КП с повышением выше фоновых значений к 7-м сут (табл. 1). Таким образом, на 1 сут люмикан стимулирует ангиогенез, инвазию эндотелиальных клеток, ангиогенное разрастание и образование сосудов, а на 7-е сут, напротив, проявляет ангиостатические свойства и ингибирует ранее перечисленные биологические процессы ангиогенеза. Способность к подобным эффектам подтверждают работы *L. Schaefer, R.V. Iozzo* [24] и *J. Niewiarowska et al.* [25].

Еще одним реактантом КП, чьи функции оказались связанными с процессами ангиогенеза, был S100A9 (кальций- и цинксвязывающий белок), экспрессирующийся в миелоидных клетках (нейтрофилах). По нашим данным, уровень S100A9 повышался на 1-е сут после КП со снижением к

7-м сут, однако не достигающим фонового уровня (табл. 1).

Внеклеточные его функции включают провоспалительную активацию, рекрутирование лейкоцитов, стимуляцию продукции цитокинов и хемокинов, а также регуляцию лейкоцитарной адгезии, миграцию, в том числе трансэндотелиальную миграцию. Он стимулирует клетки – участники врожденного иммунитета, посредством связывания с рецепторами, такими, как Toll-подобный рецептор 4 (TLR4) и AGER. Отмечено, что оба этих рецептора модулируют провоспалительные реакции в сосудах и играют важную роль в патогенезе атеросклероза [26]. Связывание с TLR4 и AGER активирует сигнальные пути MAP-киназы и NF-каппа-В, приводящие к амплификации провоспалительного каскада и секреции IL-6. Считается, что повышенный уровень гетеродимера S100A8/9 в плазме является предиктором риска развития впервые выявляемых сердечно-сосудистых заболеваний и их рецидивов [27]. Увеличение уровня S100A8/A9 в крови служит сигналом повреждения эндотелиальных клеток сосудистого монослоя [28] и индуцированной провоспалительных реакций в эндотелиальных клетках [29].

Значительное повышение уровня миелоидного белка S100A9 в плазме крови космонавтов на 1-е сут после приземления, вероятно, может являться проявлением повреждения эндотелиального слоя сосудов и активации провоспалительных реакций. Участие этого белка в процессах лимфангиогенеза указывает на значимый вклад лимфатической системы в состояние циркуляции на первые сутки после завершения КП.

Другим белком крови, чья концентрация достоверно изменялась после окончания КП, явился нейропептин-2. Нейропептины (NRP) – многофункциональное семейство корецепторов клеточной поверхности, эти белки экспрессируются эндотелиальными, иммунными и гладкомышечными клетками сосудов и являются регуляторами многочисленных сигнальных путей в сосудистой сети [30].

NRP2 является трансмембранным корецептором, лишенным киназной активности [31]. NRPs взаимодействуют с широким спектром трансмембранных рецепторов и, следовательно, модулируют многочисленные сигнальные пути [31], включая те, которые активируются эпидермальным фактором роста (EGF) [32], фактором роста фибробластов (FGF) [33], фактором роста гепатоцитов (HGF) [34], инсулиноподобным фактором роста (IGF) [35], тромбоцитарным фактором роста (PDGF) [36] и бета-трансформирующим фактором роста (TGFβ) [37]. В результате NRPs опосредуют множественные клеточные процессы, а нарушение регуляции их активности связано с развитием

нескольких патологических состояний [31, 38]. Отмечают, что преимущественно NRP2 взаимодействует с VEGF-C, чтобы регулировать лимфангиогенез [39]. NRP2 индуцируется фактором некроза опухоли альфа (TNFα) и интерлейкином-1 бета (IL-1β), которые вызывают провоспалительный ответ [40].

По нашим данным, на 1-е сут после КП выявлялось снижение среднегруппового уровня нейропептина-2 в крови космонавтов, с повышением к 7-м сут выше фоновых значений. Возможно, эти изменения связаны с повышением риска развития окклюзионных поражений сосудов, стимуляции неоваскуляризации и лимфангиогенеза.

Наконец, еще одним белком крови, чья концентрация достоверно изменялась после окончания КП в образцах группы космонавтов, был GRP78. Глюкозо-регулируемый белок 78 (GRP78) [или белок, связывающий тяжелую цепь иммуноглобулина (BiP)], является членом семейства белков теплового шока 70 (HSP70), присутствующий на мембране эндоплазматического ретикулума, где он участвует в корректной укладке (сворачивания) и сборки белков. GRP78 может перемещаться на поверхность клетки, где его функции обеспечиваются взаимодействием с большим числом лигандов или других белков, в качестве многофункционального рецептора. Отмечают, что CS-GRP78 (GRP78 на клеточной поверхности) играет важную роль в таких процессах, как передача сигналов, пролиферация, миграция, инвазия, апоптоз, провоспалительная стимуляция и иммунитет. Присутствие GRP78 на поверхности клетки стимулирует секрецию аутоантител. При этом антитела к N-концу белка вызывают пролиферацию клеток, в то время как антитела, связывающиеся с C-концом, вызывают индукцию клеточного апоптоза [41].

По нашим данным, на 1-е сут после КП отмечалось понижение уровня GRP78 в крови космонавтов, с повышением, не достигающим фоновых значений, к 7-м сут. Установленная динамика может свидетельствовать об изменении процессов клеточной передачи сигналов, пролиферации, миграции, инвазии, апоптоза, реализации процессов воспаления и иммунных реакций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные об особенностях изменения белкового состава крови, под действием условий КП и после его окончания, выявили важные связи между достоверно изменяющимися белками и процессами ангиогенеза. Имеющиеся особенности в списках достоверно изменяющихся белков объясняются влиянием комплекса экстремальных факторов КП продолжительностью до 169 сут, а также влиянием перегрузок этапа приземления. *C. De Cesari et al.* [42], исследуя

эндотелиальные клетки микрососудов кожных капилляров человека, показали, что регуляция генов, способствующих активации эндотелия и ангиогенеза, выработке оксида азота (NO), фиксируется уже после 15 мин воздействия перегрузок в 4 g. В этом исследовании повышающей регуляции подвергались гены: Fas-лиганда, FASLG (трансмембранного белка типа II, экспрессируемого на цитотоксических Т-лимфоцитах и естественных клетках-киллерах (NK). При предъявлении перегрузки в 20 g дополнительно активировалась транскрипция генов эндоглина, MMP-1 (матриксной металлопептидазы-1), PLAT (тканевого активатора плазминогена), PROCR (рецептора белка C), SERPINE1 (белка — члена семейства Serpin E1), TEK (тирозинкиназы рецептора TEK), TFPI — ингибитора сериновой протеазы типа Кунитца, который регулирует зависимый от тканевого фактора (TF) путь свертывания крови АСТВ — бета-актина, GAPDH — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, NOS3 — синтазы оксида азота 3. Влияние перегрузок на модификацию, осуществляемую на различном уровне, а также функций эндотелия показано и в работах [43–45].

Кроме того, отмечено, что не только микрогравитация *per se*, но также радиация оказывает значимое влияние на эндотелиальные клетки — основные клеточные участники ангиогенеза [46]. Транскриптомика выявила противоположные эффекты микрогравитации и космической радиации для определенных молекулярных путей: радиация, в отличие от микрогравитации, стимулировала механизмы эндотелиальной активации, такие как гипоксия-зависимые и провоспалительные, а также репарацию ДНК и апоптоз, ингибируя путь аутофагии, но способствуя формированию старческого фенотипа. Напротив, микрогравитация, в отличие от космической радиации, активировала пути метаболизма и пролиферативный фенотип.

Эти данные показывают, что устранение гравитации (микрогравитация), космическая радиация и перегрузки завершающего этапа полета могут влиять на ангиогенез и по отдельности, и сочетанно, что проявляется изменениями протеомной композиции крови на 1-е сут после завершения длительных КП.

Результаты формируют представление об особенностях протеомной регуляции ангиогенеза в экстремальных условиях КП, указывают на необходимость продолжения исследований применительно к оценкам риска патологического ангиогенеза и эффективности профилактических мероприятий. Исследование механизмов регуляции ангиогенеза в условиях КП методами протеомики способствует оценке адаптационных возможностей на протяжении продолжительного воздействия комплекса экстремальных факторов моделируемого или реального КП и прогнозированию возможных

изменений в раннем (на 1-е сут) и отдаленном периоде после окончания периода жизнедеятельности человека в экстремальных условиях.

Финансирование работы. Работа выполнена в рамках базовой тематики FMFR-2024-0032.

Соблюдение этических стандартов. Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Они также были одобрены Комитетом по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (Москва) (отдел физиологии Российского комитета по биоэтике НЕСКО) и международной многосторонней комиссией по экспертизе научных исследований с участием человека (*Human Research Multilateral Review Board*), протокол № 235 от 08.12.2008 г.

Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ларина И.М., Буравкова Л.Б., Григорьев А.И. Кислород-зависимые адаптационные процессы в организме человека в обычных условиях жизнедеятельности и космическом полете // *Авиакосм. экол. мед.* 2021. Т. 55. № 1. С. 5
2. Котовский Е.Ф., Шимкевич Л.Л. Функциональная морфология при экстремальных воздействиях. М.: Наука, 1971. С. 144.
3. Гурьева Т.С., Дадашева О.А., Труханов К.А. и др. Исследование влияния гипомагнитных условий на эмбриогенез японского перепела // *Авиакосм. экол. мед.* 2013. Т. 47. № 4. С. 45.
4. Buravkova L.B., Rudimov E.G., Andreeva E.R., Grigoriev A.I. The ICAM-1 expression level determines the susceptibility of human endothelial cells to simulated microgravity // *J. Cell. Biochem.* 2018. V. 119. № 3. P. 2875.
5. Kuzyk M.A., Parker C.E., Domanski D., Borchers C.H. Development of MRM-based assays for the absolute quantitation of plasma proteins // *Methods Mol. Biol.* 2013. V. 1023. P. 53.
6. Larina I.M., Percy A.J., Yang J. et al. Protein expression changes caused by spaceflight as measured for 18 Russian cosmonauts // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 8142.
7. Ivanisenko V.A., Saik O.V., Ivanisenko N.V. et al. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology // *BMC Syst. Biol.* 2015. V. 9. № 2. P. S2.

8. *Rho S.S., Ando K., Fukuhara S.* Dynamic regulation of vascular permeability by vascular endothelial cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions // *J. Nippon Med. Sch.* 2017. V. 84. № 4. P. 148.
9. *Tang M.K.S., Yue P.Y.K., Ip P.P. et al.* Soluble E-cadherin promotes tumor angiogenesis and localizes to exosome surface // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. № 1. P. 2270.
10. *Yamamoto K., Takagi Y., Ando K., Fukuhara S.* Rap1 small GTPase regulates vascular endothelial-cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions and vascular permeability // *Biol. Pharm. Bull.* 2021. V. 44. № 10. P. 1371.
11. *Zou J., Chen Z., Wei X. et al.* Cystatin C as a potential therapeutic mediator against Parkinson's disease via VEGF-induced angiogenesis and enhanced neuronal autophagy in neurovascular units // *Cell Death Dis.* 2017. V. 8. № 6. P. e2854.
12. *Li Z., Wang S., Huo X. et al.* Cystatin C expression is promoted by VEGFA blocking, with inhibitory effects on endothelial cell angiogenic functions including proliferation, migration, and chorioallantoic membrane angiogenesis // *J. Am. Heart Assoc.* 2018. V. 7. № 21. P. e009167.
13. *Grimm D., Grosse J., Wehland M. et al.* The impact of microgravity on bone in humans // *Bone.* 2016. V. 87. P. 44.
14. *Marchand M., Monnot C., Muller L., Germain S.* Extracellular matrix scaffolding in angiogenesis and capillary homeostasis // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2019. V. 89. P. 147.
15. *Dittrich A., Grimm D., Sahana J. et al.* Key proteins involved in spheroid formation and angiogenesis in endothelial cells after long-term exposure to simulated microgravity // *Cell. Physiol. Biochem.* 2018. V. 45. № 2. P. 429.
16. *Zou L., Cao S., Kang N. et al.* Fibronectin induces endothelial cell migration through $\beta 1$ integrin and Src-dependent phosphorylation of fibroblast growth factor receptor-1 at tyrosines 653/654 and 766 // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 10. P. 7190.
17. *Ambesi A., Klein R.M., Pumiglia K.M., McKeown-Longo P.J.* Anastellin, a fragment of the first type III repeat of fibronectin, inhibits extracellular signal-regulated kinase and causes G(1) arrest in human microvessel endothelial cells // *Cancer Res.* 2005. V. 65. № 1. P. 148.
18. *Yi M., Ruoslahti E.* A fibronectin fragment inhibits tumor growth, angiogenesis, and metastasis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. V. 98. № 2. P. 620.
19. *Klein R.M., Zheng M., Ambesi A. et al.* Stimulation of extracellular matrix remodeling by the first type III repeat in fibronectin // *J. Cell Sci.* 2003. V. 116. Pt. 22. P. 4663.
20. *Ambesi A., McKeown-Longo P.J.* Anastellin, the angiostatic fibronectin peptide, is a selective inhibitor of lysophospholipid signaling // *Mol. Cancer Res.* 2009. V. 7. № 2. P. 255.
21. *Valenty L.M., Longo C.M., Horzempa C. et al.* TLR4 ligands selectively synergize to induce expression of IL-8 // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2017. V. 6. № 10. P. 309.
22. *Chakravarti S., Magnuson T., Lass J.H. et al.* Lumican regulates collagen fibril assembly: skin fragility and corneal opacity in the absence of lumican // *J. Cell Biol.* 1998. V. 141. № 5. P. 1277.
23. *Kalamajski S., Oldberg A.* Homologous sequence in lumican and fibromodulin leucine-rich repeat 5–7 competes for collagen binding // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 1. P. 534.
24. *Schaefer L., Iozzo R.V.* Biological functions of the small leucine-rich proteoglycans: from genetics to signal transduction // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 31. P. 21305.
25. *Niewiarowska J., Brézillon S., Sacewicz-Hofman I. et al.* Lumican inhibits angiogenesis by interfering with $\alpha 2\beta 1$ receptor activity and downregulating MMP-14 expression // *Thromb. Res.* 2011. V. 128. № 5. P. 452.
26. *Srikrishna G., Nayak J., Weigle B. et al.* Carboxylated N-glycans on RAGE promote S100A12 binding and signaling // *J. Cell. Biochem.* 2010. V. 110. № 3. P. 645.
27. *Lukas A., Neidhart M., Hersberger M. et al.* Myeloid-related protein 8/14 complex is released by monocytes and granulocytes at the site of coronary occlusion: a novel, early, and sensitive marker of acute coronary syndromes // *Eur. Heart J.* 2007. V. 28. № 8. P. 941.
28. *Geczy C.L., Chung Y.M., Hiroshima Y.* Calgranulins may contribute vascular protection in atherosclerosis // *Circ. J.* 2014. V. 78. № 2. P. 271.
29. *Viemann D., Strey A., Janning A. et al.* Myeloid-related proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells // *Blood.* 2005. V. 105. № 7. P. 2955.
30. *Harman J.L., Sayers J., Chapman C., Pellet-Many C.* Emerging roles for neuropilin-2 in cardiovascular disease // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 14. P. 5154.
31. *Kofler N., Simons M.* The expanding role of neuropilin: regulation of transforming growth factor- β and platelet-derived growth factor signaling in the vasculature // *Curr. Opin. Hematol.* 2016. V. 23. № 3. P. 260.
32. *Rizzolio S., Rabinowicz N., Rainero E. et al.* Neuropilin-1-dependent regulation of EGF-receptor signaling // *Cancer Res.* 2012. V. 72. № 22. P. 5801.
33. *West D.C., Rees C.G., Duchesne L. et al.* Interactions of multiple heparin binding growth factors with neuropilin-1 and potentiation of the activity of fibroblast growth factor-2 // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 14. P. 13457.
34. *Hu B., Guo P., Bar-Joseph I. et al.* Neuropilin-1 promotes human glioma progression through

potentiating the activity of the HGF/SF autocrine pathway // *Oncogene*. 2007. V. 26. № 38. P. 5577.

35. Jia T., Choi J., Ciccione J. et al. Heteromultivalent targeting of integrin $\alpha_v\beta_3$ and neuropilin 1 promotes cell survival via the activation of the IGF-1/insulin receptors // *Biomaterials*. 2018. V. 155. P. 64.
36. Muhl L., Folestad E.B., Gladh H. et al. Neuropilin 1 binds PDGF-D and is a co-receptor in PDGF-D-PDGFR β signaling // *J. Cell Sci*. 2017. V. 130. № 8. P. 1365.
37. Grandclement C., Pallandre J.R., Valmary Degano S. et al. Neuropilin-2 expression promotes TGF- β_1 -mediated epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer cells. *PLoS One*. 2011. V. 6. № 7. P. e20444.
38. Xie X., Urabe G., Marcho L. et al. Smad3 regulates neuropilin 2 transcription by binding to its 5' untranslated region // *J. Am. Heart Assoc*. 2020. V. 9. № 8. P. e015487.
39. Peng K., Bai Y., Zhu Q. et al. Targeting VEGF-neuropilin interactions: a promising antitumor strategy // *Drug Discov. Today*. 2019. V. 24. № 2. P. 656.
40. Alexander M.R., Murgai M., Moehle C.W., Owens G.K. Interleukin-1 β modulates smooth muscle cell phenotype to a distinct inflammatory state relative to PDGF-DD via NF- κ B-dependent mechanisms // *Physiol. Genomics*. 2012. V. 44. № 7. P. 417.
41. Gopal U., Pizzo S.V. The endoplasmic reticulum chaperone GRP78 also functions as a cell surface signaling receptor / *Cell Surface GRP78, a New Paradigm in Signal Transduction Biology*. Elsevier, 2018. P. 9.
42. De Cesari C., Barravecchia I., Pyankova O.V. et al. Hypergravity activates a pro-angiogenic homeostatic response by human capillary endothelial cells // *Int. J. Mol. Sci*. 2020. V. 21. № 7. P. 2354.
43. Maier J.A., Cialdai F., Monici M., Morbidelli L. The impact of microgravity and hypergravity on endothelial cells // *Biomed. Res. Int*. 2015. V. 2015. P. 434803.
44. Costa-Almeida R., Carvalho D.T., Ferreira M.J. et al. Effects of hypergravity on the angiogenic potential of endothelial cells // *J. R. Soc. Interface*. 2016. V. 13. № 124. P. 20160688.
45. Villar C.C., Zhao X.R., Livi C.B., Cochran D.L. Effect of living cellular sheets on the angiogenic potential of human microvascular endothelial cells // *J. Periodontol*. 2015. V. 86. № 5. P. 703.
46. Barravecchia I., De Cesari C., Forcato M. et al. Microgravity and space radiation inhibit autophagy in human capillary endothelial cells, through either opposite or synergistic effects on specific molecular pathways // *Cell. Mol. Life Sci*. 2021. V. 79. № 1. P. 28.

REFERENCES

1. Larina I.M., Buravkova L.B., Grigoriev A.I. [Oxygen-dependent adaptation processes in the human organism in usual living conditions and during space flight] // *Aviakosm. Ecol. Med*. 2021. V. 55. № 1. P. 5.
2. Kotovsky E.F., Shimkevich L.L. [Functional morphology under extreme influences]. M.: Nauka, 1971. P. 144.
3. Guryeva T.S., Dadasheva O.A., Trukhanov K.A. et al. [Study of the influence of hypomagnetic conditions on the embryogenesis of Japanese quail] // *Aviakosm. Ecol. Med*. 2013. V. 47. № 4. P. 45.
4. Buravkova L.B., Rudimov E.G., Andreeva E.R., Grigoriev A.I. The ICAM-1 expression level determines the susceptibility of human endothelial cells to simulated microgravity // *J. Cell. Biochem*. 2018. V. 119. № 3. P. 2875.
5. Kuzyk M.A., Parker C.E., Domanski D., Borchers C.H. Development of MRM-based assays for the absolute quantitation of plasma proteins // *Methods Mol. Biol*. 2013. V. 1023. P. 53.
6. Larina I.M., Percy A.J., Yang J. et al. Protein expression changes caused by spaceflight as measured for 18 Russian cosmonauts // *Sci. Rep*. 2017. V. 7. № 1. P. 8142.
7. Ivanisenko V.A., Saik O.V., Ivanisenko N.V. et al. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology // *BMC Syst. Biol*. 2015. V. 9. № 2. P. S2.
8. Rho S.S., Ando K., Fukuhara S. Dynamic regulation of vascular permeability by vascular endothelial cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions // *J. Nippon Med. Sch*. 2017. V. 84. № 4. P. 148.
9. Tang M.K.S., Yue P.Y.K., Ip P.P. et al. Soluble E-cadherin promotes tumor angiogenesis and localizes to exosome surface // *Nat. Commun*. 2018. V. 9. № 1. P. 2270.
10. Yamamoto K., Takagi Y., Ando K., Fukuhara S. Rap1 small GTPase regulates vascular endothelial-cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions and vascular permeability // *Biol. Pharm. Bull*. 2021. V. 44. № 10. P. 1371.
11. Zou J., Chen Z., Wei X. et al. Cystatin C as a potential therapeutic mediator against Parkinson's disease via VEGF-induced angiogenesis and enhanced neuronal autophagy in neurovascular units // *Cell Death Dis*. 2017. V. 8. № 6. P. e2854.
12. Li Z., Wang S., Huo X. et al. Cystatin C expression is promoted by VEGFA blocking, with inhibitory effects on endothelial cell angiogenic functions including proliferation, migration, and chorioallantoic membrane angiogenesis // *J. Am. Heart Assoc*. 2018. V. 7. № 21. P. e009167.
13. Grimm D., Grosse J., Wehland M. et al. The impact of microgravity on bone in humans // *Bone*. 2016. V. 87. P. 44.

14. *Marchand M., Monnot C., Muller L., Germain S.* Extracellular matrix scaffolding in angiogenesis and capillary homeostasis // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2019. V. 89. P. 147.
15. *Dittrich A., Grimm D., Sahana J. et al.* Key proteins involved in spheroid formation and angiogenesis in endothelial cells after long-term exposure to simulated microgravity // *Cell. Physiol. Biochem.* 2018. V. 45. № 2. P. 429.
16. *Zou L., Cao S., Kang N. et al.* Fibronectin induces endothelial cell migration through $\beta 1$ integrin and Src-dependent phosphorylation of fibroblast growth factor receptor-1 at tyrosines 653/654 and 766 // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 10. P. 7190.
17. *Ambesi A., Klein R.M., Pumiglia K.M., McKeown-Longo P.J.* Anastellin, a fragment of the first type III repeat of fibronectin, inhibits extracellular signal-regulated kinase and causes G(1) arrest in human microvessel endothelial cells // *Cancer Res.* 2005. V. 65. № 1. P. 148.
18. *Yi M., Ruoslahti E.* A fibronectin fragment inhibits tumor growth, angiogenesis, and metastasis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. V. 98. № 2. P. 620.
19. *Klein R.M., Zheng M., Ambesi A. et al.* Stimulation of extracellular matrix remodeling by the first type III repeat in fibronectin // *J. Cell Sci.* 2003. V. 116. Pt. 22. P. 4663.
20. *Ambesi A., McKeown-Longo P.J.* Anastellin, the angiostatic fibronectin peptide, is a selective inhibitor of lysophospholipid signaling // *Mol. Cancer Res.* 2009. V. 7. № 2. P. 255.
21. *Valenty L.M., Longo C.M., Horzempa C. et al.* TLR4 ligands selectively synergize to induce expression of IL-8 // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2017. V. 6. № 10. P. 309.
22. *Chakravarti S., Magnuson T., Lass J.H. et al.* Lumican regulates collagen fibril assembly: skin fragility and corneal opacity in the absence of lumican // *J. Cell Biol.* 1998. V. 141. № 5. P. 1277.
23. *Kalamajski S., Oldberg A.* Homologous sequence in lumican and fibromodulin leucine-rich repeat 5–7 competes for collagen binding // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. №1. P. 534.
24. *Schaefer L., Iozzo R.V.* Biological functions of the small leucine-rich proteoglycans: from genetics to signal transduction // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 31. P. 21305.
25. *Niewiarowska J., Brézillon S., Sacewicz-Hofman I. et al.* Lumican inhibits angiogenesis by interfering with $\alpha 2\beta 1$ receptor activity and downregulating MMP-14 expression // *Thromb. Res.* 2011. V. 128. № 5. P. 452.
26. *Srikrishna G., Nayak J., Weigle B. et al.* Carboxylated N-glycans on RAGE promote S100A12 binding and signaling // *J. Cell. Biochem.* 2010. V. 110. № 3. P. 645.
27. *Lukas A., Neidhart M., Hersberger M. et al.* Myeloid-related protein 8/14 complex is released by monocytes and granulocytes at the site of coronary occlusion: a novel, early, and sensitive marker of acute coronary syndromes // *Eur. Heart J.* 2007. V. 28. № 8. P. 941.
28. *Geczy C.L., Chung Y.M., Hiroshima Y.* Calgranulins may contribute vascular protection in atherosclerosis // *Circ. J.* 2014. V. 78. № 2. P. 271.
29. *Viemann D., Strey A., Janning A. et al.* Myeloid-related proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells // *Blood.* 2005. V. 105. № 7. P. 2955.
30. *Harman J.L., Sayers J., Chapman C., Pellet-Many C.* Emerging roles for neuropilin-2 in cardiovascular disease // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 14. P. 5154.
31. *Kofler N., Simons M.* The expanding role of neuropilin: regulation of transforming growth factor- β and platelet-derived growth factor signaling in the vasculature // *Curr. Opin. Hematol.* 2016. V. 23. № 3. P. 260.
32. *Rizzolio S., Rabinowicz N., Rainero E. et al.* Neuropilin-1-dependent regulation of EGF-receptor signaling // *Cancer Res.* 2012. V. 72. № 22. P. 5801.
33. *West D.C., Rees C.G., Duchesne L. et al.* Interactions of multiple heparin binding growth factors with neuropilin-1 and potentiation of the activity of fibroblast growth factor-2 // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 14. P. 13457.
34. *Hu B., Guo P., Bar-Joseph I. et al.* Neuropilin-1 promotes human glioma progression through potentiating the activity of the HGF/SF autocrine pathway // *Oncogene.* 2007. V. 26. № 38. P. 5577.
35. *Jia T., Choi J., Ciccione J. et al.* Heteromultivalent targeting of integrin $\alpha_v\beta_3$ and neuropilin 1 promotes cell survival via the activation of the IGF-1/insulin receptors // *Biomaterials.* 2018. V. 155. P. 64.
36. *Muhl L., Folestad E.B., Gladh H. et al.* Neuropilin 1 binds PDGF-D and is a co-receptor in PDGF-D-PDGFR β signaling // *J. Cell Sci.* 2017. V. 130. № 8. P. 1365.
37. *Grandclement C., Pallandre J.R., Valmary Degano S. et al.* Neuropilin-2 expression promotes TGF- β_1 -mediated epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer cells. *PLoS One.* 2011. V. 6. № 7. P. e20444.
38. *Xie X., Urabe G., Marcho L. et al.* Smad3 regulates neuropilin 2 transcription by binding to its 5' untranslated region // *J. Am. Heart Assoc.* 2020. V. 9. № 8. P. e015487.
39. *Peng K., Bai Y., Zhu Q. et al.* Targeting VEGF-neuropilin interactions: a promising antitumor strategy // *Drug Discov. Today.* 2019. V. 24. № 2. P. 656.
40. *Alexander M.R., Murgai M., Moehle C.W., Owens G.K.* Interleukin-1 β modulates smooth muscle cell phenotype to a distinct inflammatory state relative

- to PDGF-DD via NF- κ B-dependent mechanisms // *Physiol. Genomics*. 2012. V. 44. № 7. P. 417.
41. Gopal U., Pizzo S.V. The endoplasmic reticulum chaperone GRP78 also functions as a cell surface signaling receptor / *Cell Surface GRP78, a New Paradigm in Signal Transduction Biology*. Elsevier, 2018. P. 9.
42. De Cesari C., Barravecchia I., Pyankova O.V. et al. Hypergravity activates a pro-angiogenic homeostatic response by human capillary endothelial cells // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 7. P. 2354.
43. Maier J.A., Cialdai F., Monici M., Morbidelli L. The impact of microgravity and hypergravity on endothelial cells // *Biomed. Res. Int.* 2015. V. 2015. P. 434803.
44. Costa-Almeida R., Carvalho D.T., Ferreira M.J. et al. Effects of hypergravity on the angiogenic potential of endothelial cells // *J. R. Soc. Interface*. 2016. V. 13. № 124. P. 20160688.
45. Villar C.C., Zhao X.R., Livi C.B., Cochran D.L. Effect of living cellular sheets on the angiogenic potential of human microvascular endothelial cells // *J. Periodontol.* 2015. V. 86. № 5. P. 703.
46. Barravecchia I., De Cesari C., Forcato M. et al. Microgravity and space radiation inhibit autophagy in human capillary endothelial cells, through either opposite or synergistic effects on specific molecular pathways // *Cell. Mol. Life Sci.* 2021. V. 79. № 1. P. 28.

Blood Proteome Study to Assess the Regulation of Angiogenesis in Cosmonauts After the End of the Flight

I. N. Goncharov*, L. H. Pastushkova, A. G. Goncharova, D. N. Kashirina**, I. M. Larina

Institute of Biomedical Problems, RAS, Moscow, Russia

*E-mail: igorgoncharov@gmail.com

**E-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

A study of blood samples of 18 cosmonauts who had long flights as members of Russian crews of the International Space Station was performed using the method of quantitative proteomics based on mass spectrometry. The study was focused on elucidation of possible connection of proteome changes under the influence of space flight (SF) factors with the processes of angiogenesis. The analysis was performed with a targeted panel of 125 labeled $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ peptides using chromatography-mass spectrometry with multiple reaction monitoring (LC/MRM-MS). A total of 125 different proteins were quantitatively characterized. Among them, a group of 61 proteins involved in the processes of angiogenesis and its regulation was found. Bioinformatic methods showed that the isolated angiogenesis proteins were participants of 13 biological processes, including lymphangiogenesis. Significant changes of protein level in blood after landing, in relation to preflight samples, were observed in 7 cases. The results have shown that the elimination of gravity (microgravity), space radiation and overloads of the final stage of flight have a combined effect on the processes of angiogenesis, which is manifested by changes in proteomic composition on 1 day after the completion of long-term CP.

Keywords: angiogenesis, biological processes, proteins, space flight, landing, peculiarities of blood plasma proteome.