

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕОМНЫХ МАРКЕРОВ В СУХИХ ПЯТНАХ КРОВИ, ВКЛЮЧЕННЫХ В АДАПТАЦИЮ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ В ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТАХ. ЧАСТЬ I

© 2025 г. Л. Х. Пастушкова, А. Г. Гончарова, Д. Н. Каширина*, И. М. Ларина

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

*E-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

Поступила в редакцию 17.09.2024 г.

После доработки 08.10.2024 г.

Принята к публикации 08.10.2024 г.

Комплекс экстремальных факторов космического полета (КП) индуцирует различные изменения сердечно-сосудистой системы (ССС) на структурном и функциональном уровне. Актуально исследование белковых маркеров методами протеомики, включенных в компенсацию дисфункциональных нарушений ССС в длительных КП. Цель работы – поиск основных протеомных маркеров в сухих пятнах крови, включенных в адаптацию ССС во время длительных КП. Для анализа содержания пептидов в экстрактах сухих пятен применяли таргетный количественный хромато-масс-спектрометрический анализ с мониторингом множественных реакций (*LC-MRM MS*), с использованием синтетических меченых стандартов (*SIS*). В результате статистического и биоинформационного анализа, с использованием программного обеспечения *ANDvisio*, установлено, что в КП достоверно изменилось содержание в экстрактах сухих пятен крови белков, включенных в адаптацию ССС: на 7 сут – 11 белков, через 3 мес. – 5 белков, через 6 мес. – 3 белка. Описаны основные биологические функции данных белков применительно к срокам КП и их участия в адаптации ССС к комплексу экстремальных факторов, в том числе регенерации эндотелия, ангиогенезу и процессам, направленным на восстановление эластичности и сократительной способности гладкомышечных клеток сосудов. Во всех точках исследования экспрессируются белки, участвующие в контроле клеточного окислительного стресса. Полученные данные имеют практическое значение применительно к оценке рисков сердечно-сосудистых событий во время длительных КП.

Ключевые слова: длительные космические полеты, сердечно-сосудистая система, протеом, биологические процессы, белки, сухие пятна крови.

DOI: 10.31857/S0131164625010068 **EDN:** VMSZVS

Среди распространенных проблем, связанных с длительными пилотируемыми космическими полетами (КП), наибольшую озабоченность вызывает поддержание устойчивости человеческого организма, включая сохранение гомеостаза в экстремальных условиях на всех этапах КП. Обеспечение возможности быстрой адаптации для выполнения работ при освоении Луны и планет Дальнего Космоса представляется актуальной задачей. Кроме того, большое практическое значение имеет прогнозирование возможности реадaptации на Земле после завершения длительных космических миссий.

Успех адаптации организма к условиям невесомости в значительной мере обусловлен адекватностью реакции сердечно-сосудистой системы (ССС) и ее регуляторных механизмов. Нарушение структуры и функции ССС может считаться основным

риском для здоровья космонавтов во время КП. Эти риски проявляются в виде системных реакций – ортостатической непереносимости, снижения толерантности к физической нагрузке и сердечных аритмий в течение КП [1]. Гидродинамические изменения, обусловленные перераспределением объема крови и устранением физиологических вертикальных градиентов артериального давления, вызванные условиями микрогравитации, приводят к изменениям функции и структуры сердца [2, 3].

Изучение белков – потенциальных маркеров, и связанных с ними путей передачи сигнала и их мишеней – позволяет по-новому понять фундаментальные механизмы, осуществляемые в регуляторных процессах ССС, особенно в условиях КП, а также в модельных экспериментах, воспроизводящих его индивидуальное воздействие на организм человека [4].

Существует четыре основных мишени осуществляемого белками влияния на ССС: местные сосудистые реакции, направленные на увеличение или снижение гидростатического давления; рефлекторные реакции системы быстрой адаптации, которые реализуются через синокаротидную и аортальную барорецептивные зоны; изменения гемодинамики и биоэлектрической активности сердца; отставленные реакции гуморальных и метаболических систем, связанные с вторичной дегидратацией и микроциркуляторными расстройствами [5].

В ряде работ авторами отмечено, что контролируемые механизмы регуляции ССС изменяются в условиях КП в результате гравитационной разгрузки, проявляясь на клеточном уровне, что может увеличивать риски прогрессирования эндотелиальной дисфункции, увеличения жесткости сосудов, изменения структуры кардиомиоцитов левого и правого желудочка, левого и правого предсердия (по-разному), риска развития нарушений ритма сердца [6].

Исследования сердечной функции выявили, что воздействие микрогравитации вызывает физиологическую атрофию желудочков, повышение жесткости артерий, изменение распределения кровотока [3].

Еще один экстремальный фактор – космическое излучение – по мнению исследователей способно ускорять развитие атеросклероза посредством радиационно-индуцированного повреждения эндотелия, в том числе – ДНК, окислительного стресса и провоспалительной реакции. Эффекты оказались временными и обратимыми после полета [1, 7, 8].

Таким образом, литературные данные исследований демонстрируют различные изменения ССС на структурном и функциональном уровне, которые были индуцированы комплексом экстремальных факторов КП. Однако в конечном итоге неизученными остаются белковые маркеры и молекулярные сети, исследованные методами протеомики, включенные в компенсацию дисфункциональных нарушений ССС в длительных КП.

Цель работы – поиск основных протеомных маркеров в экстрактах сухих пятен крови, включенных в адаптацию ССС во время длительных КП.

МЕТОДИКА

В исследованиях, проведенных на борту Российского сегмента Международной космической станции (РС МКС), принимали участие 7 российских космонавтов ($M \pm SD$, возраст: 44 ± 6 лет, все мужчины). Все космонавты прошли полное клиническое обследование, согласно международным критериям, подтвердившее состояние их здоровья.

Большинство из них имели предшествовавший опыт участия в полугодовых КП. Продолжительность полета на борту МКС участников исследования составила 170–181 сут.

Образцы сухих пятен крови были получены и проанализированы в рамках космического эксперимента “Оценка состояния здоровья и адаптивных резервов человека по сухим пятнам крови методами протеомики, метаболомики и липидомики” (шифр ОМИКи-СПК).

Капиллярная кровь у испытуемых была собрана в виде пятен на специальный ватман путем прокола концевой фаланги безымянного пальца автоматическим скарификатором. Образцы собирали за 30 дней до старта (обозначение, в дальнейшем фон), на 7 сут полета, через 3 и 6 мес. космической экспедиции. Пробы сушили при обычной температуре в течение 2 ч в защищенном от света месте и хранили до дальнейших исследований с применением методов протеомики на основе хромато-масс-спектрометрии. Пробоподготовку и анализ белкового состава экстрактов пятен осуществляли в лаборатории на Земле, после доставки образцов с борта РС МКС. Сухие пятна крови вырезали и помещали в 1.5 мл микроцентрифужные пробирки. Белки экстрагировали в 1 мл раствора 25 мМ бикарбоната аммония, 1% дезоксихолата натрия и 5 мМ ТСЕР (трис-(2-карбоксиил) фосфин гидрохлорид) (*Thermo Scientific*). Пробирки инкубировали при температуре 60 °С при 1000 об./мин (термомиксер, *Eppendorf*) в течение 1 ч. Подготовка образцов к масс-спектрометрическому анализу состояла из восстановления 0.1 М дитиотреитолом в 0.1 М Трис буфере (рН 8.5), содержащем 8 М мочевины, при 47 °С в течение 30 мин, алкилирования 0.05 М йодоацетатом и инкубации в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем белки осаждали в течение 15 ч при –20 °С пятью объемами ацетона в присутствии 0.1% трифторуксусной кислоты. Белковый осадок промывали сначала ацетоном, затем 96% спиртом, отделяя осадок с помощью центрифугирования при 16000 g при 4 °С в течение 10 мин. К образцу белкового субстрата добавляли 100 мкл 0.05 М аммоний-бикарбонатного буфера и 2 мкл раствора трипсина с концентрацией 1 мкг/мкл в 50 мМ уксусной кислоте. Смесь инкубировали в течение 15 ч в термостате при 37 °С при перемешивании со скоростью 750 об./мин. Затем добавляли 1 мкл 10% раствора муравьиной кислоты для инактивации трипсина и осаждения дезоксихолата. Образцы центрифугировали при 21000 g в течение 10 мин и аликвоту супернатанта переносили в новую пробирку для последующего хромато-масс-спектрометрического анализа. Предварительно пептидные смеси сухих пятен крови подвергали выравниванию по общей концентрации белка, определенной с помощью набора *BCA Protein Assay Kit* (*Pierce*, США) на планшетном

ридере *iMark™ Microplate Absorbance Reader* фирмы *Bio-Rad* (США).

Таргетный количественный хромато-масс-спектрометрический анализ с мониторингом множественных реакций (*LC-MRM MS*) проводили с использованием синтетических внутренних стандартов (*SIS*), меченных стабильными изотопами, для измерения соответствующих белков в экстрактах пятен капиллярной крови по стандартным кривым, как подробно описано ранее [9].

Все образцы были проанализированы дважды на системе *LC-MS*, состоящей из системы *ExionLC™ UHPLC* (*Thermo Fisher Scientific*, США), соединенной с тройным квадрупольным масс-спектрометром *SCIEX QTRAP 6500+* (*SCIEX*, Канада). Параметры *MRM* (массы *Q1 / Q3*) были адаптированы и оптимизированы на основе предыдущих исследований [9].

Хроматографическое разделение проводили на колонке *Acquity UPLC Peptide BEH* (С18, 300 Å, 1.7 мкм, 2.1 мм × 150 мм, 1/уп.) (*Waters*, США) с градиентным элюированием. Подвижная фаза А представляла собой 0.1% муравьиной кислоты в воде; подвижная фаза Б представляла собой 0.1% муравьиной кислоты в ацетонитриле. Разделение проводили при скорости потока 0.4 мл/мин с использованием 53-минутного градиента от 2 до 45% подвижной фазы В. Масс-спектрометрические измерения проводили с использованием метода.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При масс-спектрометрии образцов в экстрактах сухих пятен крови определено 230 различных белков. С помощью статистических методов анализа выделены 37 белков, концентрации которых достоверно менялись в различные сроки КП и/или периода реабилитации после его завершения, относительно фона. Из них уровни 21 белка достоверно изменялись в разные сроки КП – на 7 сут, 3 и 6 мес. полета (табл. 1).

Как видно из табл. 1, на 7 сут КП изменились концентрации¹ 15 белков: Apolipoprotein F↑, Complement C5↑, Insulin-like growth factor-binding protein 1↑, Resistin↑, Apolipoprotein E↑, Lumican↓, Fibulin-1↓, Glutathione peroxidase 3↑, Glutathione S-transferase P↑, Peroxiredoxin-1↑, Albumin↓, Protein_deglycase_DJ-1↑, Prothrombin↑, Insulin-like growth factor-binding protein 3↑, Apolipoprotein L1↑.

На 3 мес. КП достоверно изменились уровни 10 белков: Apolipoprotein F↑, Complement C5↑, Apolipoprotein E ↑, Glutathione S-transferase

P↑, Glutathione peroxidase 3↑, Peroxiredoxin-1↑, Osteopontin ↑.

При исследовании образцов, собранных через 6 мес. КП достоверно изменились концентрации 6 белков: Apolipoprotein F↑, Apolipoprotein E↑, Glutathione peroxidase 3↑, Peroxiredoxin-1↑, TBC1 domain family member 10A↓, von Willebrand factor↑.

Таким образом, на данном этапе анализа полученных данных показано, что на каждой последующей временной точке длительного КП количество достоверно изменяющихся белков уменьшается, что свидетельствует о стабилизации белковой композиции, иными словами о достижении устойчивого уровня адаптации к комплексу экстремальных факторов длительного КП.

Важно отметить повышенную экспрессию белков, связанных с антиоксидантной защитой и протекцией от атерогенеза на протяжении всех 6 мес. КП (Apolipoprotein F, Apolipoprotein E, Glutathione peroxidase 3, Peroxiredoxin-1).

Для облегчения понимания роли протеомных маркеров в молекулярных сетях, включенных в компенсацию дисфункциональных нарушений ССС в длительных КП, с помощью биоинформационных методов *ANDvisio*, условно выделили группы белков “связанных со структурными и функциональными изменениями сердца и сосудов”.

На следующем этапе анализа, с привлечением программного обеспечения *ANDvisio* был определен перечень белков, преимущественно связанных со структурными и функциональными изменениями сердца и сосудов, концентрации которых достоверно менялись в различные сроки КП (табл. 2).

Как следует из табл. 2, белки, преимущественно включающиеся в регуляцию структурных изменений сосудов имели большее представительство в списке.

Отражение структурных изменений сердца под действием комплекса экстремальных факторов моделируемого и реального КП привлекают внимание специалистов различного профиля. Так, описана тенденция сердца приобретать сферическую морфологию (на основании сравнения эхокардиограмм 12 астронавтов до и после КП на МКС) [11]. Также отмечено, что размер сердца уменьшается после воздействия микрогравитации, при этом авторами обсуждались причины, включая уменьшение массы ткани миокарда, объема камеры и/или изменения анатомической ориентации [12]. В модельных экспериментах показано, что у крыс, подвергнутых вывешиванию в антиортостатическом положении (*rat tail suspension*), наблюдалось снижение соотношения массы сердца к массе тела, массы правого желудочка и левого желудочка, массы межжелудочковой перегородки и толщины задней стенки левого желудочка. Таким образом, общая

¹Здесь и далее стрелками обозначена направленность достоверных изменений концентрации белка, относительно фона перед полетом.

Таблица 1. Белки, концентрации которых достоверно менялись в различные сроки космического полета

| № | Название белка | Название гена | 7 сут полета (динамика относительно фонового уровня) | 3 мес. (динамика относительно фонового уровня) | 6 мес. (динамика относительно фонового уровня) |
|----|--|-----------------|---|---|---|
| 1 | Apolipoprotein F | <i>APOF</i> | APOF ↑*** | ↑*** | ↑** |
| 2 | Apolipoprotein E | <i>APOE</i> | ↑** | ↑** | ↑** |
| 3 | Insulin-like growth factor-binding protein 1 | <i>IGFBP1</i> | ↑** | | |
| 4 | Insulin-like growth factor-binding protein 3 | <i>IGFBP3</i> | ↑* | | |
| 5 | Complement C5 | <i>CO5</i> | ↑** | ↑** | |
| 6 | Resistin | <i>RETN</i> | ↑** | | |
| 7 | Lumican | <i>LUM</i> | ↓** | | |
| 8 | Fibulin-1 | <i>FBLN-1</i> | ↓** | | |
| 9 | Glutathione peroxidase 3 | <i>GPX3</i> | ↑** | ↑** | ↑** |
| 10 | Glutathione S-transferase P | <i>GSTP1</i> | ↑** | ↑** | |
| 11 | Peroxiredoxin-1 | <i>PRDX1</i> | ↑** | ↑* | ↑*** |
| 12 | Serum albumin | <i>ALB</i> | ↓** | | |
| 13 | Protein_deglycase | <i>PARK7</i> | ↑* | | |
| 14 | Prothrombin | <i>THRB</i> | ↑* | | |
| 15 | Apolipoprotein L1 | <i>APOL1</i> | ↑* | | |
| 16 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | <i>AZGPI</i> | ↑* | ↑** | |
| 17 | Osteopontin | <i>OPN</i> | | ↑* | |
| 18 | Complement C1q subcomponent subunit A | <i>CIQA</i> | | ↑* | |
| 19 | Spermine oxidase | <i>SMOX</i> | | ↑* | |
| 20 | TBC1 domain family member 10A | <i>TBC1D10A</i> | | | ↓** |

Примечание: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$.

масса тела остается неизменной, тогда как масса сердца снижается [12].

Детально структурные и морфологические изменения сердца под влиянием микрогравитации отражены в обзоре *M.R. Sy et al.* [3].

Однако в доступной литературе нет работ, углубленно описывающих белковые маркеры, включенные в компенсацию структурных нарушений ССС во время длительных КП.

Нами отмечено изменение уровня в крови ряда белков: Lumican, Fibulin-1, Resistin, Apolipoprotein E von Willebrand factor, которые связаны со структурными изменениями сердца. Краткая аннотация этих белков показала следующее.

На 7 сут КП отмечено достоверное снижение уровня люмикана (LUM). Известно, что ремоделирование миокарда индуцируется во время перегрузки давлением. Ремоделирование обусловлено структурными и функциональными изменениями в кардиомиоцитах, фибробластах и внеклеточном матриксе (ВКМ). Сердечный фиброз, накопление молекул ВКМ, включая коллагены и перекрестные связи коллагена с протеогликанами, способствует нарушению как систолической, так и диастолической функции [13].

Люмикан представляет собой протеогликан, гликозилированный белок, который участвует в формировании ВКМ и является установленным биологическим медиатором, участвующим в клеточных процессах, связанных с

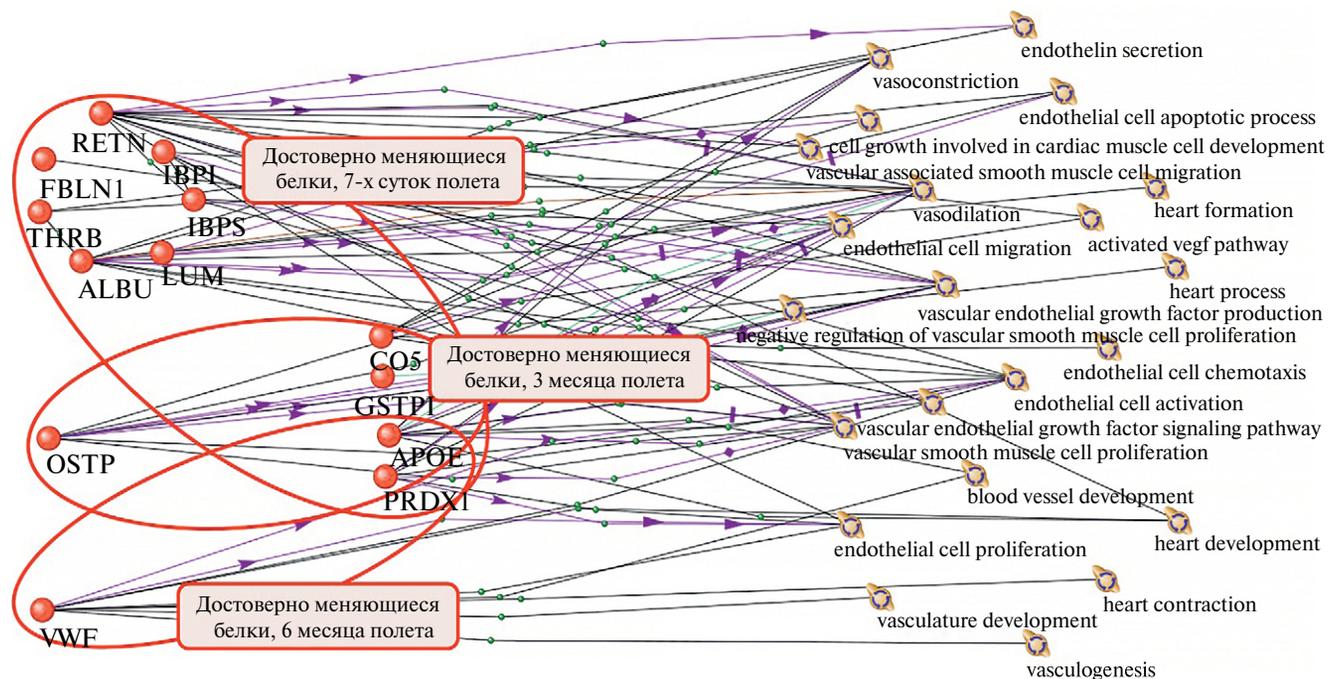


Рис. 1. Белки с достоверно изменяющимися уровнями на разных сроках КП, участвующие в биологических процессах сердца и сосудов, по программе *ANDvisio*.

опухолеобразованием, таких как эпителиально-мезенхимальный переход, клеточная пролиферация, миграция, инвазия и адгезия [14]. Кроме того, как известно, люмикан регулирует фибриллогенез коллагена. Люмикан обеспечивает жизнеспособность и ремоделирование сердца после перегрузки давлением. Установлено, что полное отсутствие люмикана снижает экспрессию коллагена, увеличивает дилатацию левого желудочка и смертность [15]. Умеренное снижение уровня люмикана противоположно – уменьшает кардиофиброз и улучшает диастолическую дисфункцию после перегрузки давлением. *N. Mohammadzadeh et al.* рассматривают люмикан как центральную профибротическую молекулу в сердце. Таким образом, люмикан может

служить потенциальной терапевтической мишенью профилактики риска дисфункциональных изменений сердца [16].

Уровень фибулина-1 также снижается на 7 сут КП. Фибулин-1 (*FBLN-1*) – белок внеклеточного матрикса, связанный с эластином. Он представляет собой ассоциацию с белками матрикса, базальными мембранами и эластическими волокнами. Фибулины участвуют в ремоделировании тканей, особенно кровеносных сосудов, эндокардиальной подушки, мезенхимальной и соединительной ткани различных органов, включая сердце, легкие, кишечник, почки и печень [17].

Таблица 2. Перечень белков, связанных со структурными и функциональными изменениями сердца и сосудов

| | |
|--|--|
| Белки, связанные со структурными изменениями сердца | Lumican↓, Fibulin-1↓, Resistin↑, Apolipoprotein E↑ von Willebrand factor↑ |
| Белки, связанные с функциональными изменениями сердца | Albumin↓ von Willebrand factor↑ |
| Белки, связанные со структурными изменениями сосудов | Glutathione S-transferase P↑, Resistin↑, Peroxiredoxin-1↑, Insulin-like growth factor-binding protein 3, Insulin-like growth factor-binding protein 1↑ Apolipoprotein E↑ Albumin↓ Osteopontin ↑ von Willebran↑d factor |
| Белки, связанные с функциональными изменениями сосудов | Resistin↑, Prothrombin↑, Insulin-like growth factor-binding protein 1↑ Apolipoprotein E↑ Albumin↓ |
| Белки, связанные с морфогенезом сосудов и сердца | von Willebrand factor↑ |

В проведенных нами ранее исследованиях анализировались изменения концентрации белков плазмы крови, связанных с вариабельностью сердечного ритма (BCP), у космонавтов, совершивших КП продолжительностью около 6 мес. С помощью биоинформатических ресурсов были идентифицированы подгруппы белков, связанных с физиологическими процессами вегетативной регуляции BCP, среди которых выявлялся фибулин-1 [18].

Таким образом, фибулин-1 также участвует в процессах ремоделирования сердца, сосудов и механизмах вегетативной регуляции сердечного ритма в периоде острой адаптации – 7 сут КП.

Уровень резистина (RETN) достоверно повышался на 7 сут КП. Резистин – циркулирующий воспалительный биомаркер, связанный с сердечно-сосудистыми рисками. Показано, что сердечные фибробласты, стимулированные резистином, демонстрируют повышенную конверсию фибробластов в миофибробласты с повышенными уровнями α Sma, colla1, Fn, Scn2 и Mmp9 (альфа тип белка спинальной мышечной атрофии, коллаген 1, фибронектин, клеточный фактор коммуникации 2, металлопротеиназа 9), с заметными различиями во внешнем виде актиновой сети [19]. Резистин способствует трансдифференцировке фибробластов в миофибробласты и фиброгенезу через сигнальные пути JAK2/STAT3 и JNK/c-Jun, независимо от TGF β 1. Таким образом, отмечая роль резистина в процессе дифференцировки сердечных фибробластов в миофибробласты через пути JAK/STAT3 и JNK/c-Jun, следует учесть, что потенциально это может привести к стимуляции сердечного фиброза [19]. Однако X. Cai *et al.* [20] не выявили значимой связи уровня резистина с фиброзом миокарда, уровнями NT-proBNP или hs-cTnT. Авторы полагают, что в обследованной полиэтнической когорте, на исходном уровне не имевшей сердечно-сосудистых заболеваний, повышенные уровни резистина были связаны с возникновением сердечной недостаточности (чаще при низкой фракции выброса, чем с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса), но не с субклиническим фиброзом миокарда или изменением NT-proBNP [20].

В работе L.S. Rallidis *et al.* [21] было показано, что пациенты со значениями резистина ≥ 7.6 нг/мл имели в 28 раз более высокий риск сердечной смерти по сравнению с пациентами с уровнями резистина < 7.6 нг/мл после корректировки на традиционные факторы риска и LVEF (HR 2.882; 95% CI 1.311–6.336; $p = 0.008$). Авторы работы полагают, что резистин связан с сердечной смертью у пациентов с ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом [21].

С другой стороны, резистин воздействует на структуру Toll-подобного рецептора 4 (TLR4) или белка, ассоциированного с аденилатциклазой 1

(CAP1). При этом, при связывании с TLR4 и CAP1 резистин запускает различные пути внутриклеточной передачи сигналов, вызывая воспаление сосудов, накопление липидов и нестабильность атеросклеротических бляшек. Эти проатеросклеротические эффекты резистина проявляются в различных типах клеток (включая эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов и макрофаги), которые вызывают разнообразные повреждения преимущественно на тканевом и органном уровнях ССС: дислипидемию, разрыв атеросклеротической бляшки и применительно к процессам, преимущественно затрагивающим сердце, ремоделирование желудочков [22].

Было отмечено, что повышение уровня резистина в сыворотке крови связано с увеличением уровня эндотелина-1 и фракталкина, а также снижением уровня адипонектина [23].

По-видимому, рост уровня резистина, воспалительного цитокина, является основным медиатором инициации и прогрессирования механизмов, приводящих к атеросклерозу, ремоделированию желудочков сердца, повышению риска развития атеросклероза, гипертонии в остром периоде адаптации на 7 сут КП.

В остром периоде адаптации к условиям полета на 7 сут отмечено достоверное снижение уровня **альбумина** (ALB) с восстановлением уровня к 3-му и 6-му месяцам КП. Альбумин – уникальный белок, участвующий во множестве биологических процессов. Применительно к задачам настоящего исследования можно отметить важнейшую роль низкого уровня сывороточного альбумина как отрицательного прогностического фактора у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [24, 25].

Фактор Виллебранда (VWF) увеличивается только на 6 мес. полета. Вероятно, увеличение уровня в крови этого белка, преимущественно синтезируемого эндотелиальными клетками, отражает изменяющиеся потребности в экспрессии белков, необходимых для гемостаза, контроля процессов воспаления и ангиогенеза [26], сформировавшихся под влиянием комплекса факторов к шестому месяцу КП. Изменение уровня фактора Виллебранда может иметь причинную связь более высоких показателей FVIII и VWF с повышенным риском тромботических исходов [27–28].

Анализ белков, протеомных маркеров, преимущественно включенных в компенсацию структурных изменений сосудов, по данным литературы и биоинформационных ресурсов, показал следующее. Учитывая, что один белок имеет представительство в нескольких различных процессах в ССС, регулируя биологические процессы структурной перестройки, некоторые биологические пути,

регулируемые белками, более подробно описывались ранее.

Следует отметить, что уровень **глутатион S-трансферазы (GSTP1)** повышался во всех образцах крови, собранных во время КП. *E. Simsek et al.* [29] показали, что экспрессия изоферментов GSTP1, CYP1A1 статистически значимо выше у пациентов с аневризмой аорты, чем в контрольных группах ($p < 0.05$). Авторы считают, что данные ферменты участвуют в защите гладкомышечных клеток сосудов от окислительного стресса, и, тем самым, препятствуют их повреждению [29]. Следовательно, повышенная экспрессия глутатион S-трансферазы и аполипопротеина E на протяжении всего КП, вероятно, отражает протективные биологические процессы защиты гладкомышечных клеток от окислительного стресса и апоптоза на протяжении воздействия длительного КП.

Вклад резистина в сосудистые изменения детально описан ранее: резистин участвует в биологических процессах индукции воспалительных реакций в сосудах, накопления липидов и нестабильности (“разрыва”) атеросклеротических бляшек.

Уровень **пероксиредоксина-1 (PRDX1)** повышается на 7 сут, 3-й и 6-й мес. КП. Важно выделить несколько основных направлений биологических процессов, связанных с ростом содержания пероксиредоксина в крови и направленных на адаптацию сосудов к комплексу экстремальных факторов (среди которых космическая радиация, искусственная газовая среда, температурный режим и др.) КП. Основная функция PRDX — снижение клеточного окислительного стресса за счет восстановления активных форм кислорода до H_2O . С помощью протеомного анализа было обнаружено, что на уровне функциональных способностей сердца пероксиредоксины, регулируя окислительный стресс, участвуют в процессах реперфузии миокарда, и вносят вклад в развитие кардиомиопатии и сердечной недостаточности [30].

Кроме того, и сохранение окислительно-восстановительного гомеостаза необходимо для роста кровеносных сосудов, т. е. нормального ангиогенеза. Нокдаун PRDX-1 ухудшает рост межсегментарных сосудов и снижает экспрессию сосудистых маркеров, предполагая роль в сосудистой системе и указывая на важность антиоксидантной функции данного белка [31]. Показано, что PRDX-1 и -2 могут участвовать в ангиогенных фенотипах эндотелиальных клеток грануляционной ткани, а также патологическом ангиогенезе злокачественных эндотелиальных опухолей [32].

Следует отметить, что пролиферация гладкомышечных клеток сосудов является ключевым процессом при атеросклерозе. Активация Peroxiredoxin-1 ингибирует пролиферацию. Пролiferация гладкомышечных клеток сосудов подавляется

главным образом за счет JNK/c-Jun-зависимого увеличения Prx3, что позволяет предположить, что Peroxiredoxin-1 является потенциальной мишенью для предотвращения патологической пролиферации сосудов [33].

Концентрация **белка 1, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP1)** также оказалась повышенной на 7 сут КП. IGFBP1 снижает резистентность к инсулину и увеличивает выработку оксида азота в эндотелии. Известно также, что инсулинорезистентность связана с нарушением регенерации эндотелия в ответ на механическое повреждение. IGFBP1 улучшает регенерацию эндотелия и восстанавливает репаративные функции эндотелия в условиях резистентности к инсулину [34]. На молекулярном уровне hIGFBP1 индуцирует фосфорилирование киназы фокальной адгезии, активирует RhoA и модулирует анизотропию актиновых волокон, индуцированную $TNF\alpha$. Влияние hIGFBP1 на реакцию эндотелиальных клеток и ускорение регенерации эндотелия позволяет предположить возможность использования IGFBP1 в стратегии улучшения восстановления эндотелия в условиях резистентности к инсулину.

Установлено, что уровень IGFBP1 коррелирует с тяжестью коронарного атеросклероза у стареющих пациентов, а увеличение циркулирующих уровней IGFBP1 с возрастом может быть адаптивным ответом на противодействие старению [35].

Повышение концентрации данного белка на 7 сут КП, вероятно направлено на восстановление структуры и функции эндотелия сосудов и оказывает протективное действие в ответ на гемодинамическое повреждение при перегрузках этапа “выхода на орбиту” и транзитной инсулинорезистентности, развивающихся под действием гормонов стресса (в раннем периоде адаптации).

Уровень **белка 3, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP3)** оказался повышен на 7 сут КП. Изменение белка 1, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), играет роль в сосудистых патологиях, а IGF-связывающие белки (IGFBP) являются важными регуляторами биодоступности и функции IGF. Белки 1 и 3, связывающие инсулиноподобный фактор роста, участвуют в биологических процессах дерегуляции коллагена при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях (расслоение грудной аорты характеризуется дегенерацией меди аорты и является высоколетальным заболеванием). *S. Chen et al.* показали [36], что дилатация аорты и дегградация эластина на крысиной модели сопровождается снижением экспрессии IGFBP3. Фенотипический переключатель гладкомышечных клеток аорты (AoSMC) считается ключевым патофизиологическим звеном при расслаивающей аневризме аорты. Также была продемонстрирована роль IGFBP3 в сохранении

сократительного состояния AoSMC и снижении активации MMP9 и, таким образом, стимулировании синтеза эластических волокон [36].

IGFBP-1 и другие белки этого семейства проявляют различные эффекты на передачу сигналов IGF-1 и демонстрируют уникальный паттерн активации IGF1R-независимой киназы в гладкомышечных клетках легочной артерии человека (hPASMC), которые вносят основной вклад в патобиологию легочной артериальной гипертензии. Семейство IGFBP, особенно IGFBP-1, IGFBP-2 и IGFBP-3, дерегулируется при легочной артериальной гипертензии, они влияют на передачу сигналов IGF и тем самым регулируют клеточный фенотип при легочной гипертензии [37]. Показано, что IGFBP-3 тесно связан с экспрессией VEGF, PIGF плотностью сосудов, разрушением паутинового слоя [38].

Важно отметить, что уровень аполипопротеина E (APOE) достоверно повышается во всех точках исследования на протяжении КП (на 7 сут, 3-й мес., 6-й мес.), что демонстрирует его мощную защитную роль против атеросклероза [39]. Этот белок является основным участником метаболизма липопротеинов. Его различные изоформы связаны с изменениями уровней липидов и липопротеинов и, следовательно, с сердечно-сосудистыми рисками. Так, изоформа apoE4 связана с повышением уровня фракции холестерина ЛПНП и, следовательно, с более высоким сердечно-сосудистым риском по сравнению с apoE3 [40]. Установлена взаимосвязь между аллелем APOE, метаболомом липопротеинов и тяжестью ишемической болезни сердца, обусловленной изменениями компонентов профиля липопротеинов, таких как концентрация малых ЛПНП и их размер [41].

Установлено, что аполипопротеин E экспрессируется в ткани аневризм артерий и может участвовать в защите фенотипа гладкомышечных клеток сосудов (VSMC) [42]. Таким образом, роль экспрессии аполипопротеина E на протяжении всего КП, вероятно, отражает активацию атерогенеза и развитие эндотелиальной дисфункции, повышение жесткости сосудов, но с другой стороны, участвуя в защите фенотипа гладкомышечных клеток сосудов, препятствует их повреждению. Также аполипопротеин E участвует в регуляции биологических процессов целостности гематоэнцефалического барьера [43].

Таким образом, повышение уровня аполипопротеина E играет решающую роль в регуляции нейрососудистой сети, протекции эндотелия и защите от атеросклероза на протяжении шести месяцев КП.

Содержание остеопонтинина в крови (OPN) повышается на 3 мес. КП. Повышение остеопонтинина отражает активацию биологических

провоспалительных процессов. Также сверхэкспрессия OPN потенцирует биоминерализацию кровеносных сосудов и других мягких тканей [44].

Уровень фактора Виллебранда (VWF) увеличивается только на 6 мес. полета. Относительно его потенциального влияния на биологические процессы, включенные в функционирование сосудов, рост концентрации фактора Виллебранда, преимущественно синтезируемого эндотелиальными клетками, отражает изменяющиеся потребности в экспрессии белков, необходимых для гемостаза, контроля процессов воспаления и ангиогенеза [26]. Изменение уровня этого белка на 6 мес. может быть связано с повышенным риском тромботических исходов [27, 28].

Протромбин (F2), как основной показатель активности протромбинового комплекса в плазме, важен для комплексной оценки реологии крови. Поддержание крови в жидком состоянии имеет решающее значение для гомеостаза. Уникальные свойства крови во многом определяются сложным активным балансом между факторами прокоагуляции, антикоагулянтами и фибринолизом [45]. Риск венозной тромбоэмболии в КП — актуальная тема исследований, учитывая описанный случай тромбоза левой внутренней яремной вены у астронавта на борту МКС, случайно обнаруженный во время исследования кровотока в шейных венах в условиях микрогравитации. Учитывая это событие и высокую частоту аномалий кровотока, Национальное управление по аэронавтике и исследованию космического пространства (НАСА) учредило программу профессионального надзора для оценки астронавтов на предмет венозного тромбоза. Одиннадцать астронавтов были обследованы с помощью соответствующих наземных и полетных ультразвуковых методов. По сравнению с наземными ультразвуковыми измерениями пиковая скорость в полете была снижена и самая низкая обнаруживалась в брахиоцефальных венах. У шести из 11 астронавтов во время КП наблюдалась легкая/умеренная эхогенность в левой внутренней яремной вене, но ни у одного не было более чем легкой эхогенности справа. Кроме того, у двух астронавтов выявлялся ретроградный кровоток в левой внутренней яремной вене. Аномальные характеристики потока в условиях микрогравитации, наиболее выраженные в левой внутренней яремной вене, могут указывать на повышенный риск образования тромбов [46]. В этих случаях системная гиперкоагуляция смещает гомеостатические механизмы организма в сторону протромботического состояния. Полученные нами данные расширяют представления о механизме протромботического состояния через белок-белковые взаимодействия: фактор Виллебранда — экспрессия протромбина — секреция эндотелина — вазоконстрикция.

Уровень в крови комплемента C5 (C5) повышался на 7 сут и 3 мес. КП. Основные биологические процессы, которые регулирует этот белок, связаны с развитием эндотелиальной дисфункции. Известно, что комплемент 5 участвует в активации эндотелиальных клеток, апоптозе эндотелия и хемотаксисе эндотелиальных клеток. Установлено, что уровень комплемента 5 в плазме был значительно повышен у лиц с генерализованным субклиническим атеросклерозом независимо от факторов риска. Также содержание C5 в плазме положительно коррелировало с общим объемом бляшек и коронарной кальцификацией в аортах пациентов с ранним атеросклерозом с помощью метода количественной мультиплексной протеомики [47]. Таким образом, активация системы комплемента на 7 сут и 3 мес. КП может характеризовать ранние изменения атерогенеза и отражается в повышенных уровнях C5 в плазме, которые следует рассматривать как циркулирующий биомаркер субклинического атеросклероза. С другой стороны, экспрессия комплемента C5 через белок-белковые взаимодействия с тромбином и эндотелином индуцирует вазоконстрикцию и тромбоз. Установлено, что тромбовоспаление возможно в значительной степени ослабить только ингибированием C5 [48].

ВЫВОДЫ

1. На 7 сут КП достоверно изменились 11 белков, участвующих в биологических процессах, включенных в компенсаторные изменения ССС под влиянием комплекса экстремальных факторов длительного КП. Экспрессия этих белков улучшает регенерацию эндотелия и восстанавливает репаративные функции эндотелия в условиях резистентности к инсулину и гемодинамической травмы эндотелия под воздействием перегрузок этапа “выхода на орбиту”, предотвращает патологический ангиогенез, а также направлена на восстановление эластичности и сократительной способности гладкомышечных клеток сосудов. С другой стороны, изменение уровня этих белков отражает объемную перегрузку сердца на 7 сут КП, при этом модификация их композиции направлена на уменьшение кардиофиброза и улучшение диастолической функции после перегрузки давлением.

2. На 3 мес. КП в крови достоверно изменялись 5 белков. В этот период КП они участвуют в активации провоспалительных процессов, накоплении липидов и повышении риска нестабильности атеросклеротических бляшек, потенцировании биоминерализации кровеносных сосудов.

3. На 6 мес. КП в крови достоверно изменялись 3 белка, экспрессия которых необходима для контроля гемостаза, ангиогенеза, воспалительного синдрома.

4. Во всех точках исследования экспрессируются белки, регулирующие контроль клеточного окислительного стресса за счет восстановления активных форм кислорода.

Финансирование работы. Отбор проб биологического материала и хромато-масс-спектрометрический анализ выполнены при финансировании Госкорпорации «Роскосмос». Комплексный анализ данных выполнен в рамках госзадания 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 Комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (Москва) и Международной многосторонней комиссией по экспертизе научных исследований с участием человека (*Human Research Multilateral Review Board*), протокол № 532 от 18.12.2019 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. *Krittanawong C., Isath A., Kaplin S. et al.* Cardiovascular disease in space: A systematic review // *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2023. V. 81. P. 33.
2. *Котовская А.П., Вартбаронов П.А.* Длительные линейные ускорения / *Космическая биология и медицина // Совместное российско-американское издание в 5 т.* Под ред. Газенко О.Г., Григорьева А.И., Никогосян А.Е., Молер С.Р. М.: Наука, 1997. Т. 3, кн. 2. С. 10.
3. *Sy M.R., Keefe J.A., Sutton J.P., Wehrens X.H.T.* Cardiac function, structural, and electrical remodeling by microgravity exposure // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2023. V. 324. № 1. P. H1.
4. *Rusanov V.B., Pastushkova L.K., Chernikova A.G. et al.* Relationship of collagen as the component of the extracellular matrix with the mechanisms of autonomic regulation of the cardiovascular system under simulated conditions of long-term isolation // *Life Sci. Space Res (Amst).* 2022. V. 32. P. 17.
5. *Русанов В.Б.* Механизмы регуляции сердечно-сосудистой системы в космических полетах и наземных экспериментах: автореф. ... докт. биол. наук. М.: ИМБП РАН, 2024. 54 с.
6. *Yu Z., Zhang L.* Effects of simulated weightlessness on ultrastructures and oxygen supply and consumption

- of myocardium in rats // *Space Med. Med. Eng.* (Beijing). 1996. V. 9. № 4. P. 261.
7. Patel S. The effects of microgravity and space radiation on cardiovascular health: From low-Earth orbit and beyond // *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2020. V. 30. P. 100595.
 8. Yan X., Sasi S.P., Gee H. et al. Correction: Cardiovascular risks associated with low dose ionizing particle radiation // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 11. P. e0142764.
 9. Kashirina D.N., Percy A.J., Pastushkova L.Kh. et al. The molecular mechanisms driving physiological changes after long duration space flights revealed by quantitative analysis of human blood proteins // *BMC Med. Genomics*. 2019. V. 12. (Suppl. 2). P. 45.
 10. Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. ANDVisio: a new tool for graphic visualization and analysis of literature mined associative gene networks in the ANDSystem // *In Silico Biol.* 2011. V. 11. № 3–4. P. 149.
 11. Perhonen M.A., Franco F., Lane L.D. et al. Cardiac atrophy after bed rest and spaceflight // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2001. V. 91. № 2. P. 645.
 12. Liu H., Xie Q., Xin B.M. et al. Inhibition of autophagy recovers cardiac dysfunction and atrophy in response to tail-suspension // *Life Sci.* 2015. V. 121. P. 1.
 13. Drysdale A., Blanco-Lopez M., White S.J. et al. Differential proteoglycan expression in atherosclerosis alters platelet adhesion and activation // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25. № 2. P. 950.
 14. Giatagana E.-M., Berdiaki A., Tsatsakis A. et al. Lumican in carcinogenesis—Revisited // *Biomolecules*. 2021. V. 11. № 9. P. 1319.
 15. Mohammadzadeh N., Lunde I.G., Andenæs K. et al. The extracellular matrix proteoglycan lumican improves survival and counteracts cardiac dilatation and failure in mice subjected to pressure overload // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 9206.
 16. Mohammadzadeh N., Melleby A.O., Palmero S. et al. Moderate loss of the extracellular matrix proteoglycan Lumican attenuates cardiac fibrosis in mice subjected to pressure overload // *Cardiology*. 2020. V. 145. № 3. P. 187.
 17. Ustunyurt E., Dundar B., Simsek D., Temur M. Act of fibulin-1 in preeclamptic patients: can it be a predictive marker? // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2021. V. 34. № 22. P. 3775.
 18. Pastushkova L.K., Rusanov V.B., Goncharova A.G. et al. Blood plasma proteins associated with heart rate variability in cosmonauts who have completed long-duration space missions // *Front. Physiol.* 2021. V. 12. P. 760875.
 19. Singh R., Kaundal R.K., Zhao B. et al. Resistin induces cardiac fibroblast-myofibroblast differentiation through JAK/STAT3 and JNK/c-Jun signaling // *Pharmacol. Res.* 2021. V. 167. P. 105414.
 20. Cai X., Allison M.A., Ambale-Venkatesh B. et al. Resistin and risks of incident heart failure subtypes and cardiac fibrosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis // *ESC Heart Fail.* 2022. V. 9. № 5. P. 3452.
 21. Rallidis L.S., Katsimardos A., Kosmas N. et al. Differential prognostic value of resistin for cardiac death in patients with coronary artery disease according to the presence of metabolic syndrome // *Heart Vessels*. 2022. V. 37. № 5. P. 713.
 22. Zhou L., Li J.Y., He P.P. et al. Resistin: Potential biomarker and therapeutic target in atherosclerosis // *Clin. Chim. Acta*. 2021. V. 512. P. 84.
 23. Stochmal A., Czuwara J., Zaremba M., Rudnicka L. Altered serum level of metabolic and endothelial factors in patients with systemic sclerosis // *Arch. Dermatol. Res.* 2020. V. 312. № 6. P. 453.
 24. Liu L., Gong B., Wang W. et al. Association between haemoglobin, albumin, lymphocytes, and platelets and mortality in patients with heart failure // *ESC Heart Fail.* 2024. V. 11. № 2. P. 1051.
 25. Huang T., An Z., Huang Z. et al. Serum albumin and cardiovascular disease: A Mendelian randomization study // *BMC Cardiovasc. Disord.* 2024. V. 24. № 1. P. 196.
 26. Mobayen G., Smith K., Ediriwickrema K. et al. von Willebrand factor binds to angiopoietin-2 within endothelial cells and after release from Weibel-Palade bodies // *J. Thromb. Haemost.* 2023. V. 21. № 7. P. 1802.
 27. De Vries P.S., Reventun P., Brown MR. et al. A genetic association study of circulating coagulation factor VIII and von Willebrand factor levels // *Blood*. 2024. V. 143. № 18. P. 1845.
 28. Кузичкин Д.С., Маркин А.А., Журавлева О.А. и др. Связь характера подкожных кровоизлияний с изменениями системы плазменного гемостаза у космонавтов // *Авиакосм. и эколог. мед.* 2019. Т. 53. № 6. С. 38.
 29. Simsek E., Kilic M., Simse G. et al. The effect of CYP1A1 and GSTP1 isozymes on the occurrence of aortic aneurysms // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015. V. 63. № 2. P. 152.
 30. Dubois-Deruy E., Peugnet V., Turkieh A., Pinet F. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases // *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9. № 9. P. 864.
 31. Huang P.C., Chiu C.C., Chang H.W. et al. Prdx1-encoded peroxiredoxin is important for vascular development in zebrafish // *FEBS Lett.* 2017. V. 591. № 6. P. 889.
 32. Otsuka N., Ishimaru K., Murakami M. et al. The immunohistochemical detection of peroxiredoxin 1 and 2 in canine spontaneous vascular endothelial tumors // *J. Vet. Med. Sci.* 2022. V. 84. № 7. P. 914.
 33. Chen J., Shi S., Cai X. et al. DR1 activation reduces the proliferation of vascular smooth muscle cells by

- JNK/c-Jun dependent increasing of Prx3 // *Mol. Cell. Biochem.* 2018. V. 440. № 1–2. P. 157.
34. *Rajwani A., Ezzat V., Smith J. et al.* Increasing circulating IGFBP1 levels improves insulin sensitivity, promotes nitric oxide production, lowers blood pressure, and protects against atherosclerosis // *Diabetes.* 2012. V. 61. № 4. P. 915.
35. *Wu X., Zheng W., Jin P. et al.* Role of IGFBP1 in the senescence of vascular endothelial cells and severity of aging related coronary atherosclerosis // *Int. J. Mol. Med.* 2019. V. 44. № 5. P. 1921.
36. *Chen S., Chen H., Zhong Y. et al.* Insulin-like growth factor-binding protein 3 inhibits angiotensin II-induced aortic smooth muscle cell phenotypic switch and matrix metalloproteinase expression // *Exp. Physiol.* 2020. V. 105. № 11. P. 1827.
37. *Schlueter B.C., Quanz K., Baldauf J. et al.* The diverging roles of insulin-like growth factor binding proteins in pulmonary arterial hypertension // *Vascul. Pharmacol.* 2024. V. 155. P. 107379.
38. *Hess K., Spille D.C., Adeli A. et al.* Occurrence of fibrotic tumor vessels in grade I meningiomas is strongly associated with vessel density, expression of VEGF, PlGF, IGFBP-3 and tumor recurrence // *Cancers (Basel).* 2020. V. 12. № 10. P. 3075.
39. *Mineo C.* Lipoprotein receptor signalling in atherosclerosis // *Cardiovasc. Res.* 2020. V. 116. № 7. P. 1254.
40. *Khalil Y.A., Rabès J.P., Boileau C., Varret M.* APOE gene variants in primary dyslipidemia // *Atherosclerosis.* 2021. V. 328. P. 11.
41. *Lin Y., Yang Q., Liu Z. et al.* Relationship between Apolipoprotein E genotype and lipoprotein profile in patients with coronary heart disease // *Molecules.* 2022. V. 27. № 4. P. 1377.
42. *Pauli J., Reisenauer T., Winski G. et al.* Apolipoprotein E (ApoE) rescues the contractile smooth muscle cell phenotype in popliteal artery aneurysm disease // *Biomolecules.* 2023. V. 13. № 7. P. 1074.
43. *Jackson R.J., Meltzer J.C., Nguyen H. et al.* APOE4 derived from astrocytes leads to blood-brain barrier impairment // *Brain.* 2022. V. 145. № 10. P. 3582.
44. *Aztatzi-Aguilar O.G., Sierra-Vargas M.P., Ortega-Romero M., Jiménez-Corona A.E.* Osteopontin's relationship with malnutrition and oxidative stress in adolescents. A pilot study // *PLoS One.* 2021. V. 16. № 3. P. e0249057.
45. *Shaydakov M.E., Sigmon D.F., Blebea J.* Thromboelastography. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. PMID: 30725746.
46. *Pavela J., Sargsyan A., Bedi D. et al.* Surveillance for jugular venous thrombosis in astronauts // *Vasc. Med.* 2022. V. 27. № 4. P. 365.
47. *Martínez-López D., Roldan-Montero R., García-Marqués F. et al.* Complement C5 Protein as a Marker of Subclinical Atherosclerosis // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020. V. 75. № 16. P. 1926.
48. *Thomas A.M., Gerogianni A., McAdam M.B. et al.* Complement component C5 and TLR molecule CD14 mediate heme-induced thromboinflammation in human blood // *J. Immunol.* 2019. V. 203. № 6. P. 1571.

REFERENCES

- Krittanawong C., Isath A., Kaplin S. et al.* Cardiovascular disease in space: A systematic review // *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2023. V. 81. P. 33.
- Kotovskaya A.R., Varbaronov R.A.* Long-term linear accelerations. Space biology and medicine / Joint Russian-American publication in five volumes. Eds. Gazenko O.G., Grigoriev A.I. (Russia), Nikogosyan A.E., Mohler S.R. (USA). M.: Nauka, 1997. V. 3, book 2. P. 10.
- Sy M.R., Keefe J.A., Sutton J.P., Wehrens X.H.T.* Cardiac function, structural, and electrical remodeling by microgravity exposure // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2023. V. 324. № 1. P. H1.
- Rusanov V.B., Pastushkova L.K., Chernikova A.G. et al.* Relationship of collagen as the component of the extracellular matrix with the mechanisms of autonomic regulation of the cardiovascular system under simulated conditions of long-term isolation // *Life Sci. Space Res (Amst).* 2022. V. 32. P. 17.
- Rusanov V.B.* [Mechanisms of regulation of the cardiovascular system in space flights and ground experiments]: abstract ... doctor biol. sci. M.: IBMP RAS, 2024. 54 p.
- Yu Z., Zhang L.* Effects of simulated weightlessness on ultrastructures and oxygen supply and consumption of myocardium in rats // *Space Med. Med. Eng. (Beijing).* 1996. V. 9. № 4. P. 261.
- Patel S.* The effects of microgravity and space radiation on cardiovascular health: From low-Earth orbit and beyond // *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2020. V. 30. P. 100595.
- Yan X., Sasi S.P., Gee H. et al.* Correction: Cardiovascular risks associated with low dose ionizing particle radiation // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 11. P. e0142764.
- Kashirina D.N., Percy A.J., Pastushkova L.Kh. et al.* The molecular mechanisms driving physiological changes after long duration space flights revealed by quantitative analysis of human blood proteins // *BMC Med. Genomics.* 2019. V. 12. (Suppl. 2). P. 45.
- Demenev P.S., Ivanisenko T.V., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A.* ANDVisio: a new tool for graphic visualization and analysis of literature mined associative gene networks in the ANDSystem // *In Silico Biol.* 2011. V. 11. № 3–4. P. 149.

11. *Perhonen M.A., Franco F., Lane L.D. et al.* Cardiac atrophy after bed rest and spaceflight // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2001. V. 91. № 2. P. 645.
12. *Liu H., Xie Q., Xin B.M. et al.* Inhibition of autophagy recovers cardiac dysfunction and atrophy in response to tail-suspension // *Life Sci.* 2015. V. 121. P. 1.
13. *Drysdale A., Blanco-Lopez M., White S.J. et al.* Differential proteoglycan expression in atherosclerosis alters platelet adhesion and activation // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25. № 2. P. 950.
14. *Giatagana E.-M., Berdiaki A., Tsatsakis A. et al.* Lumican in carcinogenesis—Revisited // *Biomolecules.* 2021. V. 11. № 9. P. 1319.
15. *Mohammadzadeh N., Lunde I.G., Andenæs K. et al.* The extracellular matrix proteoglycan lumican improves survival and counteracts cardiac dilatation and failure in mice subjected to pressure overload // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 9206.
16. *Mohammadzadeh N., Melleby A.O., Palmero S. et al.* Moderate loss of the extracellular matrix proteoglycan Lumican attenuates cardiac fibrosis in mice subjected to pressure overload // *Cardiology.* 2020. V. 145. № 3. P. 187.
17. *Ustunyurt E., Dundar B., Simsek D., Temur M.* Act of fibulin-1 in preeclamptic patients: can it be a predictive marker? // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2021. V. 34. № 22. P. 3775.
18. *Pastushkova L.K., Rusanov V.B., Goncharova A.G. et al.* Blood plasma proteins associated with heart rate variability in cosmonauts who have completed long-duration space missions // *Front. Physiol.* 2021. V. 12. P. 760875.
19. *Singh R., Kaundal R.K., Zhao B. et al.* Resistin induces cardiac fibroblast-myofibroblast differentiation through JAK/STAT3 and JNK/c-Jun signaling // *Pharmacol. Res.* 2021. V. 167. P. 105414.
20. *Cai X., Allison M.A., Ambale-Venkatesh B. et al.* Resistin and risks of incident heart failure subtypes and cardiac fibrosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis // *ESC Heart Fail.* 2022. V. 9. № 5. P. 3452.
21. *Rallidis L.S., Katsimardos A., Kosmas N. et al.* Differential prognostic value of resistin for cardiac death in patients with coronary artery disease according to the presence of metabolic syndrome // *Heart Vessels.* 2022. V. 37. № 5. P. 713.
22. *Zhou L., Li J.Y., He P.P. et al.* Resistin: Potential biomarker and therapeutic target in atherosclerosis // *Clin. Chim. Acta.* 2021. V. 512. P. 84.
23. *Stochmal A., Czuwara J., Zaremba M., Rudnicka L.* Altered serum level of metabolic and endothelial factors in patients with systemic sclerosis // *Arch. Dermatol. Res.* 2020. V. 312. № 6. P. 453.
24. *Liu L., Gong B., Wang W. et al.* Association between haemoglobin, albumin, lymphocytes, and platelets and mortality in patients with heart failure // *ESC Heart Fail.* 2024. V. 11. № 2. P. 1051.
25. *Huang T., An Z., Huang Z. et al.* Serum albumin and cardiovascular disease: A Mendelian randomization study // *BMC Cardiovasc. Disord.* 2024. V. 24. № 1. P. 196.
26. *Mobayen G., Smith K., Ediriwickrema K. et al.* von Willebrand factor binds to angiopoietin-2 within endothelial cells and after release from Weibel-Palade bodies // *J. Thromb. Haemost.* 2023. V. 21. № 7. P. 1802.
27. *De Vries P.S., Reventun P., Brown M.R. et al.* A genetic association study of circulating coagulation factor VIII and von Willebrand factor levels // *Blood.* 2024. V. 143. № 18. P. 1845.
28. *Kuzichkin D.S., Markin A.A., Zhuravleva O.A. et al.* [Relationship between the nature of subcutaneous hemorrhages and changes in the plasma hemostasis system in cosmonauts] // *Aviakosm. Ekolog. Med.* 2019. V. 53. № 6. P. 38.
29. *Simsek E., Kilic M., Simse G. et al.* The effect of CYP1A1 and GSTP1 isozymes on the occurrence of aortic aneurysms // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015. V. 63. № 2. P. 152.
30. *Dubois-Deruy E., Peugnet V., Turkieh A., Pinet F.* Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases // *Antioxidants (Basel).* 2020. V. 9. № 9. P. 864.
31. *Huang P.C., Chiu C.C., Chang H.W. et al.* Prdx1-encoded peroxiredoxin is important for vascular development in zebrafish // *FEBS Lett.* 2017. V. 591. № 6. P. 889.
32. *Otsuka N., Ishimaru K., Murakami M. et al.* The immunohistochemical detection of peroxiredoxin 1 and 2 in canine spontaneous vascular endothelial tumors // *J. Vet. Med. Sci.* 2022. V. 84. № 7. P. 914.
33. *Chen J., Shi S., Cai X. et al.* DR1 activation reduces the proliferation of vascular smooth muscle cells by JNK/c-Jun dependent increasing of Prx3 // *Mol. Cell. Biochem.* 2018. V. 440. № 1–2. P. 157.
34. *Rajwani A., Ezzat V., Smith J. et al.* Increasing circulating IGFBP1 levels improves insulin sensitivity, promotes nitric oxide production, lowers blood pressure, and protects against atherosclerosis // *Diabetes.* 2012. V. 61. № 4. P. 915.
35. *Wu X., Zheng W., Jin P. et al.* Role of IGFBP1 in the senescence of vascular endothelial cells and severity of aging related coronary atherosclerosis // *Int. J. Mol. Med.* 2019. V. 44. № 5. P. 1921.
36. *Chen S., Chen H., Zhong Y. et al.* Insulin-like growth factor-binding protein 3 inhibits angiotensin II-induced aortic smooth muscle cell phenotypic switch and matrix metalloproteinase expression // *Exp. Physiol.* 2020. V. 105. № 11. P. 1827.
37. *Schlueter B.C., Quanz K., Baldauf J. et al.* The diverging roles of insulin-like growth factor binding

- proteins in pulmonary arterial hypertension // *Vascul. Pharmacol.* 2024. V. 155. P. 107379.
38. Hess K., Spille D.C., Adeli A. et al. Occurrence of fibrotic tumor vessels in grade I meningiomas is strongly associated with vessel density, expression of VEGF, PlGF, IGFBP-3 and tumor recurrence // *Cancers (Basel)*. 2020. V. 12. № 10. P. 3075.
39. Mineo C. Lipoprotein receptor signalling in atherosclerosis // *Cardiovasc. Res.* 2020. V. 116. № 7. P. 1254.
40. Khalil Y.A., Rabès J.P., Boileau C., Varret M. APOE gene variants in primary dyslipidemia // *Atherosclerosis*. 2021. V. 328. P. 11.
41. Lin Y., Yang Q., Liu Z. et al. Relationship between Apolipoprotein E genotype and lipoprotein profile in patients with coronary heart disease // *Molecules*. 2022. V. 27. № 4. P. 1377.
42. Pauli J., Reisenauer T., Winski G. et al. Apolipoprotein E (ApoE) rescues the contractile smooth muscle cell phenotype in popliteal artery aneurysm disease // *Biomolecules*. 2023. V. 13. № 7. P. 1074.
43. Jackson R.J., Meltzer J.C., Nguyen H. et al. APOE4 derived from astrocytes leads to blood-brain barrier impairment // *Brain*. 2022. V. 145. № 10. P. 3582.
44. Aztatzí-Aguilar O.G., Sierra-Vargas M.P., Ortega-Romero M., Jiménez-Corona A.E. Osteopontin's relationship with malnutrition and oxidative stress in adolescents. A pilot study // *PLoS One*. 2021. V. 16. № 3. P. e0249057.
45. Shaydakov M.E., Sigmon D.F., Blebea J. Thromboelastography. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. PMID: 30725746.
46. Pavela J., Sargsyan A., Bedi D. et al. Surveillance for jugular venous thrombosis in astronauts // *Vasc. Med.* 2022. V. 27. № 4. P. 365.
47. Martínez-López D., Roldán-Montero R., García-Marqués F. et al. Complement C5 Protein as a Marker of Subclinical Atherosclerosis // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020. V. 75. № 16. P. 1926.
48. Thomas A.M., Gerogianni A., McAdam M.B. et al. Complement component C5 and TLR molecule CD14 mediate heme-induced thromboinflammation in human blood // *J. Immunol.* 2019. V. 203. № 6. P. 1571.

Determination of Proteomic Markers in Dry Spots of Blood Involved in the Adaptation of the Cardiovascular System in Long-Term Space Flights. Part I.

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

Institute of Biomedical Problems, RAS, Moscow, Russia

*E-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

The complex of extreme factors of space flight induces various changes in the cardiovascular system at the structural and functional level. The study of protein markers by proteomics methods, included in the compensation of dysfunctional disorders of the cardiovascular system in long-term space flights, is relevant. The aim of the work: search for the main proteomic markers in dry spots of blood, included in the adaptation of the cardiovascular system during long-term space flights. To analyze the content of peptides in dry spot extracts, targeted quantitative chromatography-mass spectrometry with multiple reaction monitoring (LC-MRM MS) was used, using synthetic labeled standards (SIS). As a result of statistical and bioinformatics analysis, using ANDvisio software, it was established that the content of proteins involved in the adaptation of the cardiovascular system in dried blood spot extracts changed significantly during space flight: on the 7th day – 11 proteins, after 3 months – 5, after 6 months – 3 proteins. The main biological functions of these proteins are described, as applied to the duration of space flight and their participation in the adaptation of the cardiovascular system to a complex of extreme factors, including endothelial regeneration, angiogenesis and processes aimed at restoring the elasticity and contractility of vascular smooth muscle cells. Proteins involved in the control of cellular oxidative stress are expressed at all points in the study. The data obtained are of practical importance in relation to the assessment of the risks of cardiovascular events during long-term space flights.

Keywords: long-term space flights, cardiovascular system, proteome, biological processes, proteins, dried blood spots.