

ГОНЧАРОВ ИГОРЬ НИКОЛАЕВИЧ

**МОДИФИКАЦИИ ПРОТЕОМА КРОВИ ПРИ МИКРОАНГИОПАТИЯХ
ПОСЛЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ
И НАЗЕМНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ИХ ЭФФЕКТОВ**

3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Москва, 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор **Ларина Ирина Михайловна**

Официальные оппоненты: **Стародубцева Наталия Леонидовна**, кандидат биологических наук, доцент, ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова" Минздрава России, заведующая лабораторией протеомики репродукции человека

Чеботарева Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, профессор кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

Защита состоится «___» _____ 2025 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.023.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук по адресу: 123007 г. Москва, Хорошевское шоссе, 76 А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем Российской академии наук и на сайте

<http://www.imbp.ru/WebPages/win1251/ScienceN/DisserSov/Goncharov2025/Goncharov.html>

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,

кандидат биологических наук

Светлана Викторовна Поддубко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

На начальном и завершающем этапе космических полетов на организм космонавтов воздействуют перегрузки, потенциально способные снизить его работоспособность в эти важные периоды. Проблема переносимости перегрузок, сохранения высокой работоспособности и психологической надежности многократно освещалась в работах отечественных и зарубежных исследователей (Суворов, 1969; Котовская, 1976; Григорьев, Егоров, 1997; Mohier et al., 1990). Влияние перегрузок этапа приземления на организм, адаптированный к длительному воздействию комплекса факторов космического полёта, у космонавтов проявляется дисфункциональными нарушениями в различных физиологических системах (Котовская, Виль-Вильямс, 2001; Котовская, Колотева, 2011). Кроме того, в некоторых случаях у космонавтов регистрируются петехиальные кровоизлияния в мягкие ткани, даже при использовании противоперегрузочного костюма (Котовская, Виль-Вильямс, 2001). Генез этих геморрагий неясен. К настоящему времени установлено относительное увеличение прокоагулянтного потенциала организма после кратковременных космических полетов (КП), увеличение прокоагулянтного и снижение фибринолитического потенциала после длительных КП, а также увеличение активности основного ингибитора фибринолиза антиплазмина в ходе 7-суточной «сухой иммерсии» (СИ), снижение антикоагулянтного и фибринолитического потенциала в период восстановления после завершения длительных КП и некоторых наземных модельных исследований (Маркин и др., 2013; Кузичкин и др., 2020), что указывает на определенный вклад модификации системы гемостаза. Следовательно, необходим поиск высокоточных методов, характеризующих одновременно панораму изменений процессов на уровне микро- и макрососудистого звена организма здорового человека. Отмечают, что белковые компоненты плазмы крови человека играют ведущую роль в ранней адаптации микроциркуляторного звена сосудистой системы к комплексу экстремальных факторов на каждом этапе КП (Пастушкова и др., 2020). Морфологические особенности микрососудистого русла играют важную роль в физиологических процессах «защиты от повреждения» и «заживлении после травмы».

В работах ряда авторов у космонавтов установлено изменение уровня белка Т-кадгерина, связывание которого с липопротеидами может нарушать ангиогенез и влиять на ремоделирование тканей сердца и сосудов (Балацкая и др., 2016; Ткачук и др., 2019; Ларина и др., 2021). Актуальность исследования вклада белковых регуляторов в генез микроангиопатий у космонавтов после продолжительных космических полётов и у добровольцев в модельных исследованиях подчеркивалась ранее (Котовская, Колотева, 2011; Pastushkova et al., 2021).

Применение методов протеомики на основе масс-спектрометрии для изучения спектра белков крови человека, его изменений под действием факторов КП, а также в связи с возникновением приобретенных сосудистых пурпур востребовано в авиакосмической медицине. Модификации протеома крови являются отражением молекулярных механизмов реакции организма на комплекс экстремальных факторов (как во время КП, так и при воздействии гравитационных перегрузок этапа приземления). В этом качестве характеристика изменений протеома жидкостей тела в перспективе может служить основой таргетных диагностических и лечебно-профилактических мероприятий.

Однако в доступной литературе нет данных об особенностях протеомной композиции крови на фоне микро- и макрососудистых изменений после завершения длительных КП, что оставляет открытым вопрос об их молекулярной этиологии. Поэтому актуально исследование белковых модификаций плазмы крови применительно к регуляции процессов, доминирующих в генезе микроангиопатий у космонавтов при приземлении после длительных КП и добровольцев в некоторых наземных модельных исследованиях (таких, как сухая иммерсия и ортопроба в ее условиях).

Цель работы:

Исследование модификаций протеома крови космонавтов при микроангиопатиях, возникающих в ответ на гравитационные перегрузки, воздействующие вслед за периодом адаптации сосудистой системы к микрогравитации, а также в условиях наземного моделирования эффектов космического полёта (21-суточная «сухая» иммерсия).

Задачи:

1. Исследовать модификацию протеома крови, сопровождающую микро - сосудистую травму после заключительного этапа длительных космических полётов.
2. Оценить особенности протеома крови, связанные с регуляцией ангиогенеза у космонавтов с микрососудистой травмой, выявляемой после приземления.
3. Изучить протеомную композицию крови у лиц с микроангиопатиями после завершения наземного модельного исследования в 21-суточной «сухой» иммерсии.
4. Выявить вклад белков, регулирующих процессы ангиогенеза, как адаптационный ответ на условия 21-суточной «сухой» иммерсии.

Научная новизна

Впервые биоинформационными методами проанализированы результаты протеомного ответа, сопровождающего развитие микроангиопатий у космонавтов после завершения длительного КП.

Впервые описан протеомный профиль крови практически здоровых испытуемых-добровольцев с наружными проявлениями микроангиопатий после завершения модельных

наземных исследований в 21-суточной иммерсии как модели модификаций протеома крови космонавтов в условиях КП. На основании сравнительного анализа регуляторов состояния микрососудистого звена после длительных КП и модельного исследования 21-суточной иммерсии выделены общие биологические процессы, отмечены белки-протекторы и белки – кандидаты в биомаркеры рисков развития сосудистых изменений.

Впервые исследован вклад белков, участвующих в биологических процессах ангиогенеза в условиях КП и 21-суточной СИ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты диссертационной работы расширяют современные представления о модификациях протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов в 21-суточной СИ. Особенности белковой композиции после КП и 21-суточной СИ свидетельствует об участии компонентов протеома крови в биологических процессах «повреждение» и «защита от повреждения» сосудистой системы. Полученные данные могут быть использованы для повышения эффективности клинично-функционального обследования в раннем послеполетном периоде у лиц с локальными петехиальными кровоизлияниями мягких тканей с целью минимизации рисков сосудистых нарушений. Результаты диссертационного исследования позволят предоставить основу для формирования предложений по диагностике и мониторингу здоровья человека с приобретенными сосудистыми пурпурами при перегрузках заключительного этапа длительного КП и модельных исследований.

Уточнение выраженности и направленности биологических процессов при выявлении сосудистых пурпур имеют важное значение для прогноза состояния здоровья. Особенности физиологических механизмов формирования адаптивных реакций системы гемостаза и оценка её функциональных резервов при воздействии комплекса факторов длительного космического полёта и приземления имеют большое научное и практическое значение для авиакосмической и экстремальной медицины, перспективных программ освоения дальнего космоса, а также способствуют развитию направлений медицинского сопровождения космического туризма.

Положения, выносимые на защиту

1. У космонавтов с микроангиопатиями (локальными петехиальными кровоизлияниями в мягкие ткани) в образцах крови выявляется группа из 19 белков с достоверно отличающейся концентрацией в крови в первые сутки периода восстановления по сравнению с индивидуальными предполетными данными. Среди них биоинформатическими методами охарактеризованы протеины, включенные в процессы «травмы сосудов», «активации коагуляционного и воспалительного каскадов», обуславливающих связь между «повреждением сосудов» и «защитой от повреждения».

2. Белки – участники процессов ангиогенеза в ходе длительных КП – способствуют реализации гравитационно-зависимых стимулов роста сосудов и плотности расположения новообразованных сосудов, а после приземления повышают антиангиогенную активность.

3. Адаптивные изменения протеома крови на 21-е сутки СИ характеризуют процессы изменения проницаемости сосудов и микрососудистой травмы с наблюдаемыми симптомами отека мягких тканей, вено- и лимфостаза, проявляющиеся вторичным геморрагическим синдромом при выполнении ортопробы.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Диссертационная работа выполнена с использованием комплекса современных протеомных масс-спектрометрических методов исследования. Проведена адекватная статистическая и биоинформационная обработка данных. Выносимые на защиту положения и выводы основаны на достоверных результатах исследований, проиллюстрированных графиками и таблицами.

Апробация работы

Основные результаты и положения диссертационной работы были представлены и обсуждены на научных мероприятиях: IX Международном Авиакосмическом Конгрессе IAC'18, 2018; XVIII Всероссийском симпозиуме с международным участием, 2019; Международных конференциях «Спорные и нерешенные вопросы кардиологии», 2019, 2022; Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Агаджаньяновские чтения», 2020, 2022, 2023; XIV и XV Международных научно-практических конференциях «Пилотируемые полеты в космос», 2021; 2022, Академических чтениях по космонавтике, посвященных памяти академика С.П. Королёва, 2021, 2023, 2024; Научно-практической конференции «Кардиология на марше», 2022; XI Международном авиакосмическом конгрессе, Москва, 2023; X Национальном конгрессе «Медицина здорового долголетия и качества жизни», Санкт-Петербург, 2023, Всероссийской научно-практической конференции «Авиационная медицина: Прошлое, настоящее и будущее», 2024.

По теме диссертации: опубликовано 10 печатных работ, 4 статьи в журналах из перечня ВАК РФ.

Связь работы с научными программами

Работа выполнена в лаборатории протеомики ГНЦ РФ – ИМБП РАН в рамках программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН, тема 65.3.

Объем и структура диссертации

Текст диссертации изложен на 151 странице машинописного текста, содержит «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации»,

«Список литературы». Диссертационная работа проиллюстрирована 11 таблицами, 9 рисунками, 3 схемами. Библиографический указатель включает цитирование 207 научных работ (из них 44 отечественных и 163 зарубежных источников).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы методы исследования

1.1. Организация исследований

Исследования проводились на базе ФГБУ «НИИ ЦПК им. Ю. А. Гагарина», стендовой иммерсионной базе ГНЦ РФ – ИМБП РАН и лаборатории протеомики ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Эксперимент «Протеом» был одобрен Комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН и международной многосторонней комиссией по экспертизе научных исследований с участием человека (Human Research Multilateral Review Board). Все космонавты и испыталы добровольно подписали форму информированного согласия и были допущены врачебно-экспертной комиссией к проведению испытаний. Процедуры и методика исследований «Сухой иммерсии» были одобрены Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ – ИМБП РАН.

Участники исследования и особенности методов исследования

Обследована группа из 31 космонавтов (все – нормостеники, мужчины с ИМТ 25 ± 2 , в возрасте 35–65 лет), у 24 из которых были выявлены петехиальные кровоизлияния в мягкие ткани (вторичная геморрагическая пурпура) в первые сутки после приземления на завершающем этапе полугодовых космических полетов. Объекты исследования (образцы плазмы крови) были сгруппированы нижеследующим образом.

Полуколичественный протеомный анализ образцов плазмы крови 13 российских космонавтов с вторичной геморрагической пурпурой осуществлялся методом высокоэффективной жидкостной хроматографии Agilent 1100 (Agilent Technologies Inc., Санта-Клара, США) с тандемной масс-спектрометрией LTQ-FT Ultra (Thermo, Бремен, Германия). Для полуколичественного анализа использовался метод «без метки» с дополнительной опцией «match between the runs».

Количественный анализ образцов плазмы крови 12 космонавтов с вторичной геморрагической пурпурой и 6 – без проявлений пурпуры проведен с помощью хромато-масс-спектрометрии с мониторингом множественных реакций (ЖХ/МРМ-МС) с применением целевой пептидной панели стандартов, включающей белки, функционирующие во внеклеточной жидкости и отобранные для диагностики основных метаболических заболеваний человека (Kuzuk et al., 2013). Для анализа данных мониторинга множественных реакций использовалось программное обеспечение MassHunter для количественного анализа (версия V.07.00, Agilent) (Larina et al., 2017).

Исследовали образцы плазмы крови 10 испытуемых-добровольцев в возрасте 23–34 лет, рост не более 184 см, вес не более 87 кг, находившиеся в условиях 21-суточной иммерсии, и имевших петехиальные кровоизлияния после проведения ортопробы по завершении эксперимента. Эксперимент проводился в ГНЦ РФ – ИМБП РАН на стендовой базе «Сухая иммерсия», входящей в состав УНУ «Медико-технический комплекс для отработки инновационных технологий космической биомедицины в интересах обеспечения орбитальных и межпланетных полётов, а также развития практического здравоохранения». Согласно Программе эксперимента, на 7-е, 9-е, 14-е и 19-е сутки воздействия проводили исследование с применением пассивной ортостатической пробы (тилт-тест).

Результаты исследования проб космонавтов перед полетом (фон) и образцов испытуемых до СИ рассматривались как контрольная группа.

Для группы 11 космонавтов с проявлениями вторичной геморрагической пурпуры группу сравнения составили 7 космонавтов, не имевших наружных петехиальных кровоизлияний после завершения полета сходной продолжительности.

У космонавтов венозную кровь отбирали за 30 дней до старта (обозначение - L-30), через сутки после приземления (R+1) в коммерческие пробирки SARSTEDT-Monovette®, содержащие K-EDTA, отделяли плазму и замораживали при -80°C до проведения анализа. Ингибиторы протеаз или антимикробные агенты не добавляли. У здоровых добровольцев – участников наземного модельного эксперимента взятие образцов венозной крови осуществлялось за 7 суток до начала и на 21-е сутки СИ.



Рис. 1. Циклограмма сбора образцов крови

Представлена аналитическая платформа для сбора образцов плазмы и последующей подготовки полученных белковых смесей, завершающейся хроматомас-спектрометрическим анализом, анализом в MaxQuant с использованием базы данных «SwissProt database» (рис. 2).

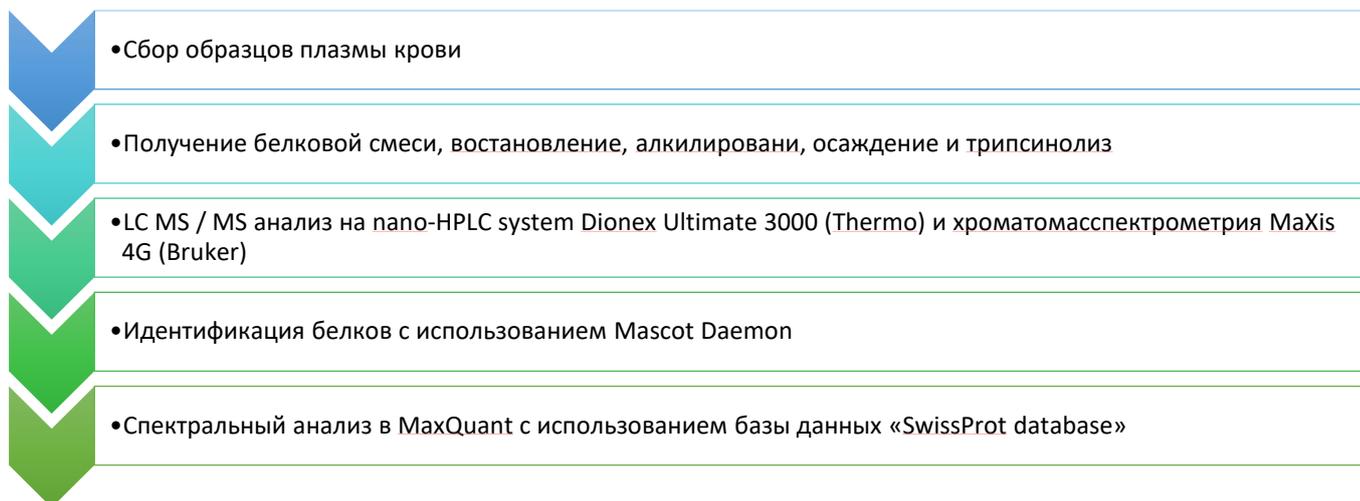


Рис. 2. Аналитическая платформа

Статистический и биоинформационный анализ данных

Анализ экспериментальных данных выполнялся с помощью статистического модуля Factorial ANOVA математического пакета Statistica v.12. Для проверки значимости различий между средними в разных группах с помощью сравнения внутригрупповой и межгрупповой дисперсий этих групп применялся дисперсионный анализ (ANOVA – Analysis of Variation). Также использовался программный пакет Perseus (version: 1.5.5.3). Сравнение связанных выборок в тестах выполнили с помощью непараметрического парного теста Вилкоксона при $p < 0,05$. Поисковая система PubMed применялась для определения функций, биологических процессов и регуляторных путей. Дополнительную информацию о свойствах и молекулярной массе белков получали с помощью базы данных Uniprot. Аналитическая платформа и программа ANDSystem применялись для конструирования ассоциативных сетей молекулярных взаимодействий групп белков, непосредственно связанных с травмой сосуда. В ассоциативные генные сети были включены все достоверно различающиеся белки. Программа ANDSystem автоматически экстрадировала заданную биомедицинскую информацию из текстов научных публикаций и баз данных (Ivanisenko et al., 2015). Связь функционального состояния, определенных белков при эпизодах развития петехий устанавливалась через идентификатор *vascular injury* *vessel*, *vaso*, *damage*, *wound*, которому соответствовали основные биологические процессы, согласно генным онтологиям, указанным в базе данных GO и содержащимся в базе знаний системы ANDSystem. Поиск биологических процессов, связанных с достоверно изменяющимися белками, выполнили с помощью ресурса DAVID 6.8 (NIAID, США) и анализа Gene Ontology (GOTERM_BP_Direct) при $p_{adj} < 0,05$ (точный критерий Фишера с поправкой на множественные сравнения Бенджамини). Программа STRING использовалась для получения информации о путях и посредниках биологических процессов, в которых участвуют достоверно изменяющиеся белки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Модификации протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных КП

При анализе результатов исследования образцов крови 13 космонавтов, с наружными микроангиопатиями в виде вторичной геморрагической пурпуры после завершения продолжительных КП получен список белков, достоверно различающихся между точками исследования: фон и первые сутки после приземления. Использование программы ANDSystem позволило выделить из 19 достоверно ($p\text{-value} < 0,05$) различающихся белков группу из 9 белков, ассоциированных с биологическим процессом «травма сосудов» (Рис. 3, табл. 1).

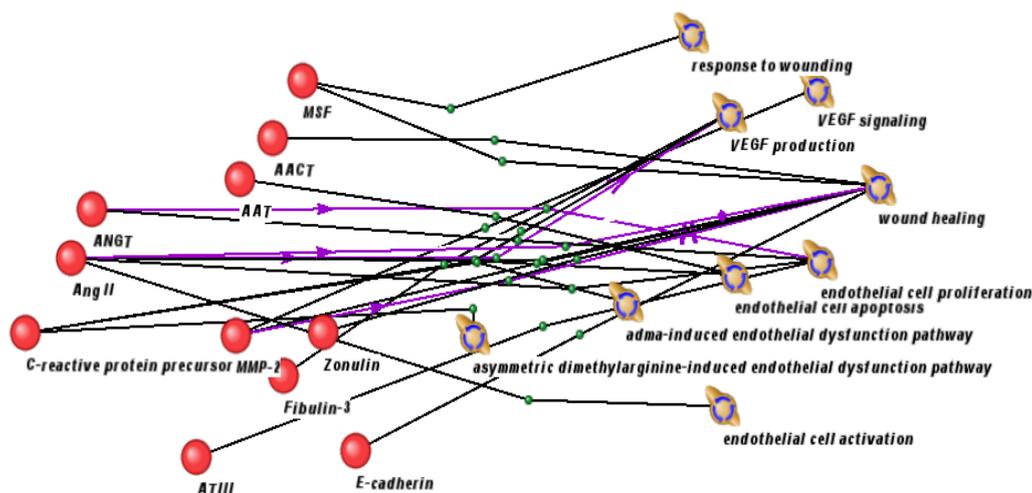


Рис. 3. Связь достоверно изменяющихся белков и биологических процессов (программа ANDVisio).

В таблице 1 представлены концентрации достоверно изменившихся белков в фоне и на 1-е сутки после завершения длительных КП.

Табл. 1. Достоверно изменяющиеся белки, связанные с травмой сосудов, на 1-е сутки после приземления у космонавтов с выявленными петехиями ($n=13$)

Белок	Ген	фон	1-ый день после КП	ANOVA p-value
Alpha-1-antichymotrypsin	SERPINA3	19,1±1,1	20,7±1,1	0,0001
Alpha-1-antitrypsin	SERPINA1	21,2±0,9	22,4±1,1	0,0003
Angiotensinogen	AGT	18,6±0,6	19,4±0,9	0,0097
Antithrombin-III	SERPINC1	19,1±0,9	20,9±1,2	0,0001
C-reactive protein	CRP	19,6±0,8	20,5±0,9	0,0173
Cadherin-1	CDH1	18,8±0,6	18±0,4	0,0011
EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1	EFEMP1	19,4±0,5	18,1±0,7	0,0006
72 kDa type IV collagenase	MMP2	18,7±0,5	18±0,7	0,0063
1 Haptoglobin	HP	21,1±0,7	22,2±1,4	0,0080

Ручная аннотация белков показала, что альфа-антитрипсин и антихимотрипсин могут играть важную роль в ограничении неконтролируемой активации эндотелиальных клеток и повреждения сосудов, в том числе паренхиматозных органов — легких, поджелудочной железы и почек после приземления по окончании длительных КП.

Антитромбин III синергично с супероксиддисмутазой, ингибитором C1, факторами роста и цитокинами является антикоагулянтным и противовоспалительным фактором поверхности эндотелия. Антитромбин III – важный индикатор тромбоземболического риска. Ангиотензин II участвует в процессах «сосудистого повреждения», «изменение проницаемости» и определяет особенности ремоделирования сосудов (воспаление, кальцификация и атеросклероз), то есть повышает жесткость ремоделированных сосудов, и формирует эндотелиальную дисфункцию. Участие С-реактивного белка (СРБ) в процессах «ответ на сосудистое повреждение», «воспалительный каскад» изменяет профиль цитокинов. При взаимодействии с нейтрофилами СРБ оказывает как ингибирующее, так и активирующее воздействие на хемотаксис клеток, дегрануляцию. Кадгерин – как навигационная молекула, вносит основной вклад в сигнальные пути сборки цитоскелета, регуляции процессов клеточной полярности, миграции, пролиферации, дифференцировки. Нарушения в этих процессах лежат в основе изменений ангиогенеза и их молекулярные компоненты могут являться терапевтической мишенью. Фибулин способствует неоваскуляризации путем повышения уровня экспрессии фактора роста эндотелия сосудов. Это - медиатор клеточных процессов и ремоделирования тканей, который регулирует сборку эластичных волокон. Экспрессия ММР-2 увеличивается при объемной перегрузке миокарда и перегрузке давлением, что повышает тонус и реактивность сосудов и приводит к вазоконстрикции и эндотелиальной дисфункции. Высокий уровень ММР-2 в плазме может быть индикатором пассивного застоя в легких и повреждения легочных сосудов после перегрузок. Гаптоглобин предотвращает окислительное повреждение тканей, опосредованное железом. Определение уровня гаптоглобина может быть использовано для стратификации риска реперфузионного повреждения миокарда и паренхиматозных органов.

Таким образом, у космонавтов с локальными петехиальными кровоизлияниями в мягкие ткани в образцах крови выявляется группа белков, достоверно отличающихся в первые сутки периода восстановления по сравнению с индивидуальными предполетными данными. Уровень этих белков отражает процессы травмы сосудов, активацию коагуляционного и кининового каскадов, обуславливающих связь между процессами воспаления и коагуляции.

Проведен статистический анализ индивидуальных данных группы белков на первые сутки после полета и сравнение между группами с наличием и без наружных проявлений геморрагической пурпуры. В данном исследовании были таргетно определены концентрации

121 белка в крови. Принимая во внимание однородность групп космонавтов, находившихся длительное время под влиянием комплекса факторов космического полета, с одной стороны, и необходимость поиска межгрупповых различий у лиц с и без проявления геморрагической пурпуры, с другой стороны, проведен анализ достоверности межгрупповых различий в фоновом периоде и после приземления. Группу 1 составили космонавты, у которых на 1-е сутки после КП не наблюдалось кожных геморрагий, группу 2 – с выявленными геморрагиями после полета. В Табл. 2 представлены показатели различий между группами.

Таблица 2. Различия уровня белков плазмы между группами в фоне и на первые сутки после полета (* – $p < 0,05$).

белок	p-Value фон гр. 1 / фон гр. 2	p-Value+1 сут. гр. 1/+1 сут. гр. 2
Beta-2-glycoprotein	0,48	0,59
Carboxypeptidase	0,77	0,66
Coagulation factor 12	0,47	0,63
Fibrinogen alpha	0,74	0,049*
Fibrinogen beta	0,39	0,048*
Fibrinogen gamma	0,9	0,20
Histidine-rich glycoprotein	0,78	0,66
Plasminogen	0,046*	0,43
Coagulation factor 11	0,027*	0,092
Kininogen-1	0,045*	0,20
Vitamin K-dependent protein S	0,032*	0,29
Vitronectin	0,035*	0,238

Конституциональные различия в уровне белков - участников механизмов потенциального повреждения сосудов с развитием геморрагий, в фоне, выявлялись: по уровню плазминогена, фактору свертываемости крови XI (F XI), кининогену-1, витамин-К зависимому протеину S, витронектину. В первые сутки после приземления проявлению геморрагий сопутствовали изменения фибриногена альфа и -бета. В таблице 3 приведены средние концентрации уровня белков на первые сутки после КП в сравниваемых группах.

Таблица 3. Среднегрупповые уровни белков в плазме на первые сутки после полета в группах с наружными проявлениями геморрагий и без них

Белки	Без геморрагий, гр. 1	С геморрагиями, гр. 2
Beta-2-glycoprotein	3224,98±526,72	3468,39±1001,87
Carboxypeptidase	12,39±2,45	11,75±3,54
Coagulation factor 12	417,23±68,92	447,18±141,16
Fibrinogen alpha	7042,21±27,71	7956,06±20,93
Histidine-rich glycoprotein	12130,70±977,10	12563,10±65,43
Plasminogen	49,29±10,94	53,54±10,14
Coagulation factor 11	41,44±8,83	53,23±14,70
Fibrinogen beta	384,77±53,96	442,93±35,18
Fibrinogen gamma	416,39±182,37	512,21±121,99
Kininogen	4958,56±1243,92	5560,64±709,48
Vitamin K-dependent protein S	318,95±68,26	356,03±67,62
Vitronectin	291,05±91,33	344,09±84,24

Тенденция к увеличению бета-2-гликопротеина в группе с геморрагиями в ранние сроки после их возникновения (на 1-е сутки после КП), возможно, направлена на

предотвращение тромбообразования. Установлена корреляция повышенного уровня ингибитора фибринолиза, активируемого тромбином (ТАFI) с риском тромбоза, а также связь с уровнем белков острой фазы воспаления. Повышение уровня ТАFI коррелирует с вероятностью венозной тромбоэмболии (Relja et al., 2013). По-видимому, тенденция к повышению среднегруппового уровня карбоксипептидазы В2 после КП в группе с гемorragиями, а также участие данного белка в процессах «повреждения» и «заживления после травмы» могут послужить основой для предположения о его вовлеченности в молекулярный генез гемorragий. Тенденция к увеличению фактору свертываемости крови XII (F XII), после КП в группе с гемorragиями свидетельствует об активации двух важных биологических процессов – коагуляции и образования кининов – активных медиаторов воспаления, обуславливающих связь между процессами воспаления и коагуляции, а также активации процессов дестабилизации атеросклеротических бляшек.

Впервые установлено, что после КП уровни цепей фибриногена альфа и цепи-8 фибриногена бета в крови увеличиваются в группе космонавтов с развившимися гемorragиями. Связь этих изменений может свидетельствовать об активации, в первые сутки после приземления, сосудистого воспаления и модификации комплекса реакций гемостаза в сторону гиперфибринолитического типа реакции. В качестве опасных последствий этого явления следует рассматривать возможную окклюзию мелких кровеносных сосудов.

Достоверное снижение концентрации плазминогена в группе с гемorragиями после приземления может свидетельствовать о гипоперфузии, активации сигнального пути протеина С и высвобождении эндотелиального тканевого активатора плазминогена, которые вызывают переход от прокоагулянтного к гипокоагулируемому и гиперфибринолитическому состоянию с высоким риском кровотечения (Liu J. et al., 2018), что совпадает с участием в процессах гипокоагуляции ранее описанных белков. Это подчеркивает важность оценки совокупности процессов гемостаза, протекающих с участием плазминогена у космонавтов в конкретные сроки после приземления. Достоверное увеличение концентрации коагуляционного фактора 11 в группе с гемorragиями свидетельствует о процессах повреждения, сопровождающихся образованием тромбина и формированием сгустка. Вероятно, группа с исходно высоким уровнем кининогена более подвержена риску образования гемorragий за счет склонности к повышению проницаемости сосудов и подавлению агрегации тромбоцитов (Wang Y. et al., 2019). В группе с более высоким начальным уровнем витамин К-зависимого гликопротеина повышен риск развития гемorragий, так как данный белок потенцирует гипокоагуляцию. Повышенный уровень витронектина наблюдается при повреждении неоинтимы.

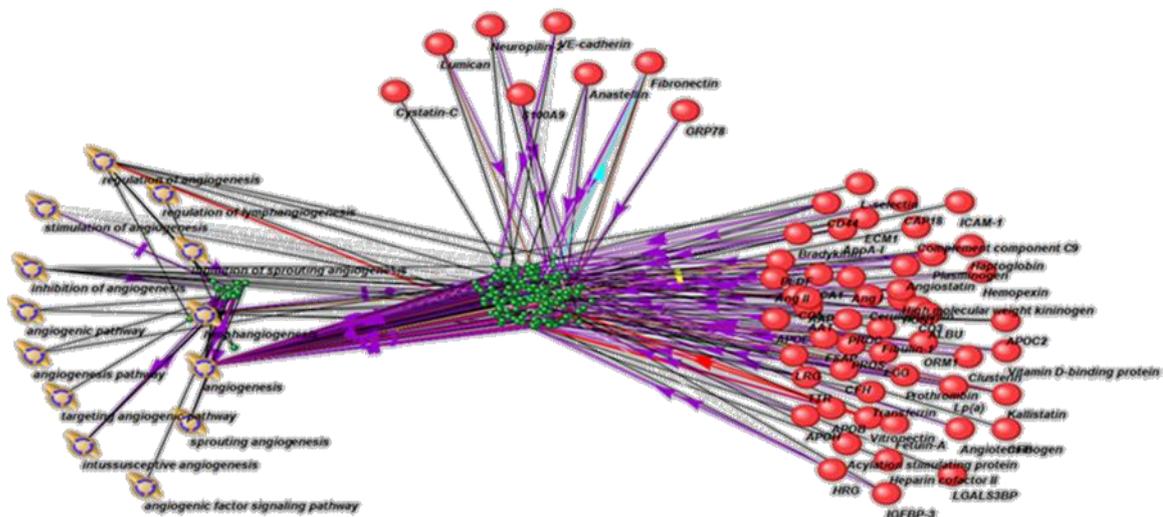
Анализ полученных данных показал, что проявления вторичной гемorragической пурпуры не зависят от числа выполненных полетов. Очевидно, что развитие гемorragий –

многофакторный процесс, зависящий как от особенностей спуска с орбиты (траектория, величина и длительность перегрузок), так и от актуальной молекулярной композиции в крови космонавта, составляющей баланс прокоагулянтных и антикоагулянтных белков.

Связь некоторых белков крови с процессами ангиогенеза в космических полетах

В образцах крови группы из 18 космонавтов, среди которых часть – совершила свой первый полет, а остальные – повторный, было выявлено и количественно охарактеризовано 125 различных белков (с использованием той же SIS-панели). Среди таргетно исследованных белков обнаруживался 61 протеин, связанный с 13 биологическими процессами ангиогенеза. Среди целевым образом выявленных белков у 19 протеинов концентрации достоверно изменились в образцах, собранных после посадки, по отношению к предполетным пробам. На Рис.4 представлена связь с ангиогенезом основных, как достоверно изменяющихся регуляторных белков, так и белков со стабильной концентрацией.

Рисунок 4. Основные процессы ангиогенеза у космонавтов и регуляторные белки – участники этих процессов (программа ANDVisio)



Из 19 белков со значимо изменившимся уровнем только нижеуказанные белки были связаны напрямую с процессами ангиогенеза (см. рис.5.)

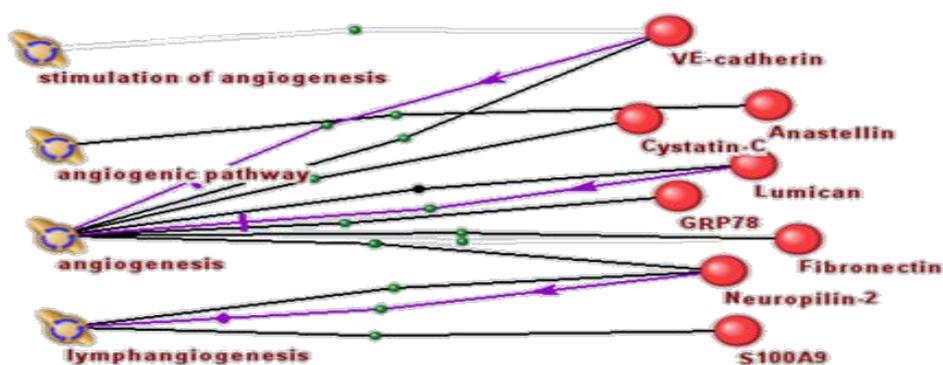


Рис. 5. Основные процессы ангиогенеза у космонавтов и основные регуляторные белки (использована программа ANDVisio)

Методом ручной аннотации были выявлены и проанализированы их основные характеристики и динамика послеполетных изменений применительно к ангиогенезу.

Снижение уровня Е-кадгерина на +1 сут. после КП свидетельствует о дестабилизации микрососудов и потере барьерной функции, вызывая образование сосудистых дефектов. Анастеллин как эндогенный ингибитор ангиогенеза, модулирует отдельные этапы ангиогенного пути на уровне внеклеточного матрикса. Цистатин С эффективен в предотвращении прогрессирования патологического ангиогенеза, стимулируемого сигнальной системой TGF- β , что является важным защитным механизмом в условиях длительного пребывания в условиях повышенного радиационного фона и снижения напряжения магнитного поля на околоземной орбите. Люмикан проявляет ангиостатические свойства, ингибируя инвазию эндотелиальных клеток, ангиогенное разрастание и образование сосудов. GRP78 участвует в клеточной передаче сигналов, регуляции пролиферации, миграции, инвазии, апоптоза. Фибронектин и Е-кадгерин вносят вклад в пространственную организацию внеклеточного матрикса и реализацию гравитационно-зависимых стимулов направления роста и плотности расположения новообразованных сосудов. Neuropillin - участвует в регуляции эндотелиально-мезенхимального перехода, лимфангиогенеза и неоваскуляризации. Повышение уровня миелоидного белка S100A9 в плазме крови космонавтов на первые сутки после приземления связано с повреждением эндотелия и активацией провоспалительных реакций. Все эти процессы повышают риск развития окклюзионных поражений сосудов.

Таким образом белки – участники процессов ангиогенеза - участвуют в реализации гравитационно-зависимых стимулов направления роста и плотности расположения новообразованных сосудов в ходе длительных КП, а после приземления повышают антиангиогенную активность. Исследование этих белков может использоваться для мониторинга риска окклюзий сосудов и развития патологического ангиогенеза.

Особенности протеома крови при микроангиопатиях после 21-суточной «сухой» иммерсии

Модификации протеома к 21-м суткам «сухой» иммерсии (СИ) рассматриваются как модели влияния некоторых факторов КП. Отметим, что, начиная с 9-х суток, при проведении ортопроб, в СИ отмечались петехиальные кровоизлияния, склонные к слиянию на фоне пастозности/отека нижней трети голеней и стоп, сопровождавшихся жалобами на жжение, распирание со 2–3-й минуты проведения каждой ортопробы. Вышеописанные явления наблюдались при всех последующих ортопробах с максимумом к 19-м суткам СИ (Tomilovskaya et al., 2019). Выявленные изменения классифицированы как застойная и ортостатическая пурпура (Shul'zhenko, Will-Williams, 1976).

С помощью программы ANDSystem из 31 белка с достоверно различающимся уровнем была выделена группа из 7 протеинов, связанных с процессами «восстановления после повреждения сосудов» (Рис 6).

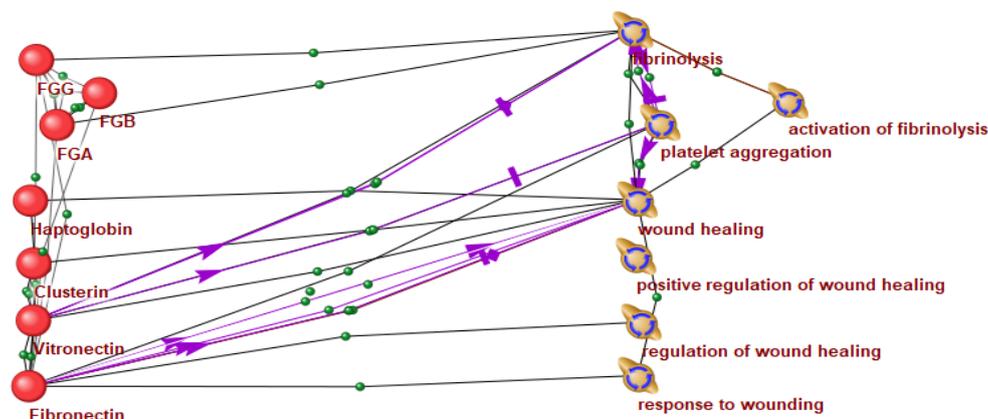


Рис 6. Связь группы белков с процессами «восстановления после повреждения сосудов» на 21-е сутки СИ

В таб. 4 приведен список белков, связанных с процессами повреждения сосудов на 21-е сут СИ.

Таблица 4. Список белков, достоверно связанных с процессами повреждения сосудов на 21-е сутки СИ

Наименование белков	p-value	T-test Difference	
Haptoglobin	1,8E-05	1,9	↑
Fibrinogen alpha chain	1,2E-06	2,9	↑
Fibrinogen beta chain	1,8E-07	3,3	↑
Fibrinogen gamma chain	2,4E-07	3,1	↑
Fibronectin	1,3E-07	3,8	↑
Vitronectin	6,5E-06	2,1	↑
Clusterin	9,1E-07	3,1	↑

В данном исследовании было выявлено увеличение уровня фибриногена, антитромбина III, пламиногена, антиплазмина на 7-е и 21-е сутки, что способствовало повышению как прокоагулянтного, так и антикоагулянтного потенциала (Kashirina et al., 2020). Очевидно, в условиях СИ важен контроль процессов, ведущих к блокировке активности фибриногена и образованию продуктов паракоагуляции РФМК, как маркеров риска внутрисосудистого свертывания крови. Кластерин - способствует апоптозу эпителиальных клеток, модулирует экспрессию белков репарации ДНК, играет важную роль в пролиферации клеток, апоптозе и ангиогенезе (Екмекçi О. В., Екмекçi Н., 2006, Li R. et al., 2012). Также повышение уровня кластерина (CLU) в крови может рассматриваться как потенциальный индикатор тяжести повреждения почечных канальцев, возникающего при ортопробе. Возможно, изменение содержания витронектина характеризует процессы, протекающие во ВКМ (Маркин и др., 2020; Кузичкин и др., 2020), дающие вклад в развитие микрососудистых изменений в условиях 21-суточной СИ. Гаптоглобин – белок, который универсально нейтрализует продукты гемолиза,

защищая паренхиматозные органы от токсического влияния гема, действует как антиоксидант, модулирует реакции острой фазы и входит в перечень белков, участвующих в регенерации тканей. Мониторинг уровня гаптоглобина может быть использован для стратификации риска вторичного гемосидероза и оценки новых методов лечения, направленных на уменьшение реперфузионного повреждения мягких тканей (Mckenzie et al., 1963).

Анализ приведенных данных позволяет предположить, что в условиях 21-суточной СИ модификации протеома приводит к изменению проницаемости сосудов, отеку мягких тканей, ангиоспазму, вено- и лимфостазу, усугубляющему нарушения реологии, и проявляется клиникой ортостатического геморрагического синдрома.

Связи некоторых белков крови с процессами ангиогенеза в 21-суточной «сухой» иммерсии

После завершения 21-суточной иммерсии на 1-е сутки из 31 достоверно различающегося белка с процессами ангиогенеза оказались связаны 9 белков (по ANDSystem) (см. Рис 7).

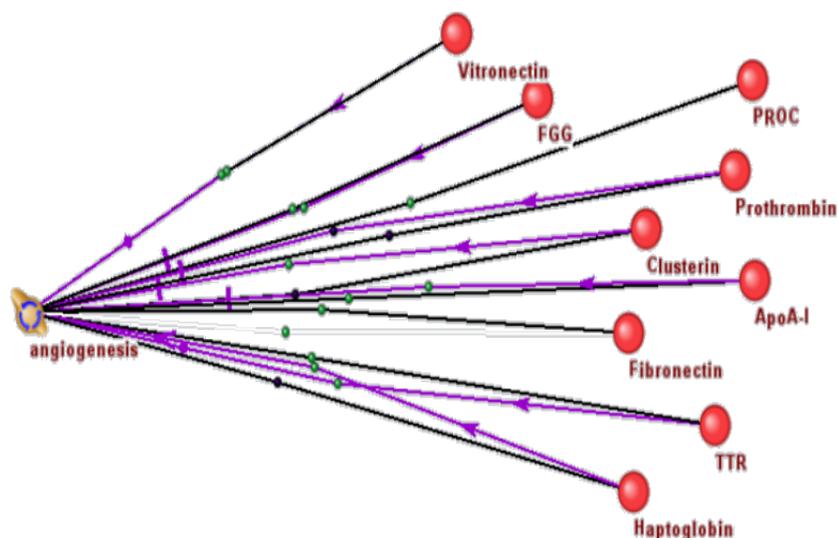


Рисунок 7. Функциональные связи между достоверно изменяющимися белками протеома крови и процессами ангиогенеза после 21-суточной СИ

Многофункциональный адгезивный гликопротеин витронектин регулирует клеточную адгезию и подвижность, стимулирует развитие кровеносных сосудов, активируя фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) путем прямого связывания. Гликирование витронектина вызывает уменьшение миграции эндотелиальных клеток и разрастание сосудов (Tomilovskaya et al., 2019, Borovik et al., 2020). Увеличение его уровня повышает микрососудистые риски в условиях 21-суточной иммерсионного воздействия. Гамма-цепь фибриногена –участвует в активации различных путей повреждения клеток эндотелия, структуры и изменения функции артериальной стенки. Одним из таких путей является повышенное связывание тромбина и фактора XIII и уменьшенное связывание тромбоцитов по сравнению с обычным в фибриновой

матрице (Маркин и др., 2020, Кузичкин и др., 2020). Повышение уровня фибриногена, отмеченное в условиях СИ, предполагает участие этого белка в регуляции процессов ангиогенеза и гиперкоагуляции. Белок S – витамин K-зависимый природный антикоагулянтный белок, участвующий в регуляции коагуляции, апоптоза, атеросклероза, ангиогенеза и др., ингибитор эндогенного ангиогенеза (DeClerck et al., 2004). Протромбин обеспечивает взаимную регуляцию ферментативных реакций, запуск которых происходит при контакте крови с тканью, находящейся под эндотелием при повреждении стенки сосуда (Davis, Senger, 2005). Витамин K может оказывать синергетический эффект, подавляя выработку дез- γ -карбоксии протромбина (Sevik et al., 2016). Аполипопротеин AI участвует в регуляции движения эндотелиальных клеток во внеклеточный матрикс при формировании новых кровеносных сосудов и обеспечивает протективные, противовоспалительные, антиокислительные и регенеративные процессы (Dongdong et al., 2018). Фибронектин занимает центральное место в «ангиоме», глобальной сети взаимодействия белков, осуществляющих функции ангиогенеза (Ноас et al., 2017). Фибронектин – лиганд для сигнальных рецепторов на эндотелиальных клетках и хранилище для проангиогенных факторов в периваскулярных матрицах. Транстиретин (TTR) способствует осаждению амилоидо-подобных фибрилл, депонируя их на легких цепях иммуноглобулинов (Алексеев и др., 2014). Таким образом, формируется определенный тип нарушения структуры внеклеточного матрикса (Mckenzie et al., 1963), что создает предпосылки для патологического TTR-регулируемого ангиогенеза. Полученные данные свидетельствуют о том, что участие в ангиогенезе может быть основной функцией TTR в условиях СИ. Гаптоглобин (Hp) увеличивает экспрессию VEGF-A и VEGFR2 в эндотелиальных клетках, способствует образованию трубок, миграции клеток и прорастанию эндотелия (Ushiyama et al., 2016). В условиях СИ гаптоглобин изменяет ангиогенные и миграционные свойства клеток и играет важную роль в реструктуризации сосудов и формировании новых кровеносных сосудов.

Было проведено сравнение показателей протеома между фонами космонавтов и испытуемых. Отсутствие достоверных изменений между этими группами дало основание провести метаанализ сравнения основных белков в группах с гемorragиями после КП и СИ. Сравнение достоверно изменяющихся белков (увеличивающихся) к 21-м суткам СИ или 1-м суткам после окончания КП показало, что эти списки белков практически совпадают (не было выявлено только кининогена, который был повышен у космонавтов с гемorragиями).

Полученные данные свидетельствуют об общности процессов регуляции, лежащей в основе генеза вторичной гемorragической пурпуры. Чтобы подтвердить это положение, также было проведено сравнение уровня достоверно отличающихся белков после КП и после выполнения ортопробы в СИ (Табл.5).

Таблица 5. Результаты метаанализа достоверно отличающихся белков после КП и после ортопробы в условиях СИ.

Название белков	Ген	Уровень после КП	Уровень после ортопробы СИ	p-value
Alpha-1-antichymotrypsin	SERPINA3	19,1±1,1	20,7±1,1	0,0001
Alpha-1-antitrypsin	SERPINA1	21,2±0,9	22,4±1,1	0,0003
Angiotensinogen	AGT	18,6±0,6	19,4±0,9	0,0097
Antithrombin-III	SERPINC1	19,1±0,9	20,9±1,2	0,0001
C-reactive protein	CRP	19,6±0,8	20,5±0,9	0,0173
Cadherin-1	CDH1	18,8±0,6	18±0,4	0,0011
EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1	EFEMP1	19,4±0,5	18,1±0,7	0,0006
72 kDa type IV collagenase	MMP2	18,7±0,5	18±0,7	0,0063
Haptoglobin	HP	21,1±0,7	22,2±1,4	0,0080

Метаанализ достоверно отличающихся белков после КП и после ортопробы в условиях СИ показывает однотипную протеомную композицию, функционально соотносящуюся с состоянием микро- и макроциркуляторного русла под влиянием экстремальных условий возвращения на Землю и ортостатической пробы в ходе СИ.

Построение сети белок-белковых взаимодействий, объединяющих биологические процессы при возникновении вторичной геморрагической пурпуры после длительной КП и продолжительной СИ (см. Рис. 8), свидетельствует, что воздействие перегрузок на этапе спуска после продолжительного КП для всех космонавтов – по-видимому, является триггером возникновения наружных проявлений (кровоизлияний в кожные покровы), реализующим свое действие на фоне изменений в физиологических системах организма, адаптированных к условиям микрогравитации. Ортопроба на заключительном этапе 21-х суток СИ также провоцирует развитие вторичной ортостатической пурпуры.

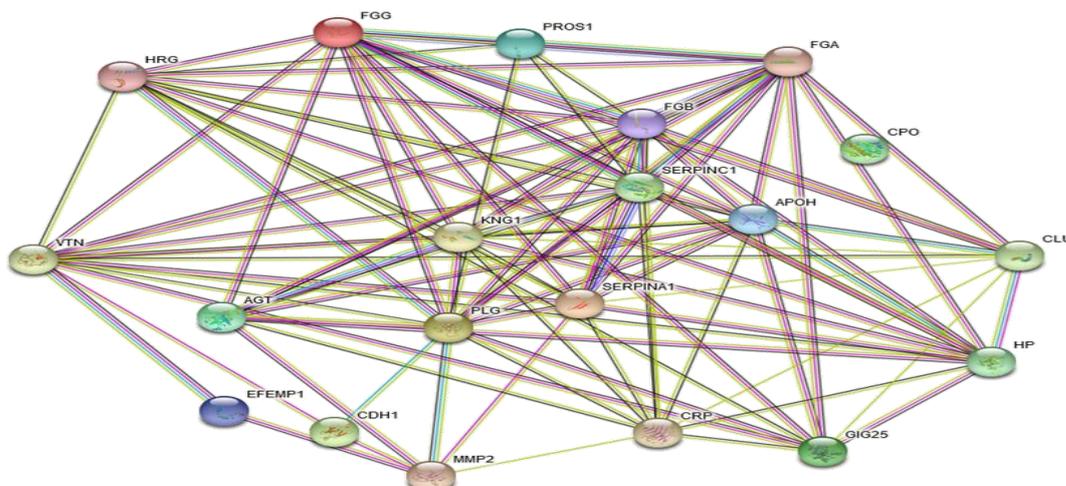


Рисунок 8. Ассоциативные сети белок-белковых взаимодействий, объединяющих биологические процессы при возникновении вторичной геморрагической пурпуры после длительной КП и после ортопробы в условиях СИ

Заключение

В процессе многолетних наблюдений у ряда космонавтов при осмотре кожных покровов в ранние сроки при приземлении после КП различной продолжительности выявлялись изменения в виде петехиальных и иных наружных геморрагий (Котовская, Колотева, 2011; Pastushkova et al., 2022). Очевидно, что возвращение в гравитационную среду и воздействие перегрузок на спуске после продолжительного воздействия на организм микрогравитации для всех космонавтов является важным фактором возникновения наружных проявлений (геморрагий на кожных покровах) изменений в сосудистой системе организма космонавтов, уже адаптированных к условиям микрогравитации.

В проведенном исследовании обсуждается роль достоверно изменяющихся белков крови в сосудистом повреждении, развивающемся после длительных КП, клиническими проявлениями которых наружно являются петехиальные кровоизлияния и отечность мягких тканей. Особенность выбранного аналитического подхода в том, что он позволил в одном масс-спектрометрическом эксперименте анализировать пробы с идентичной чувствительностью для всех выявленных компонентов, получить одновременно параметры, характеризующие изменение уровней белков, функционирующих в разных системах и сигнальных путях. Это позволило выделить определенные важные аспекты функционирования сосудистой системы под влиянием комплекса экстремальных факторов длительных КП и 21-суточной сухой иммерсии, в том числе процессы ангиогенеза, что приводит к изменению эластичности и жесткости сосудов. Следует отметить, что в результате исследования белкового профиля крови космонавтов с вторичными геморрагиями после возвращения экипажа на Землю выявлены белки, достоверно изменившиеся на день посадки по сравнению с предполетными данными, связанные с процессами «травма» и «защита от перфузионного повреждения». Выполнен сравнительный анализ групп космонавтов, совершивших длительные КП, с и без наружных проявлений геморрагической пурпуры после приземления. Мы полагаем, что во время полета формируется адаптивное состояние микро- и макроциркуляторного русла, отраженное в протеомной композиции крови. При этом разные по величине факторы этапов возвращения экипажа на Землю могут провоцировать развитие геморрагической пурпуры.

Достоверное снижение концентрации Plasminogen в группе с геморрагиями может свидетельствовать о гипоперфузии, активации пути Протеина С и высвобождения эндотелиального tPA, которые вызывают переход от прокоагулянтного к гипокоагулируемому и гиперфибринолитическому состоянию с высоким риском кровотечения (Котовская, Колотева, 2011). Histidine-rich glycoprotein Fibrinogen alpha chain и Fibrinogen beta chain-8 – потенциальные маркеры процессов, сопряженных с появлением геморрагий при перегрузках посадки. Эти процессы потенцируются Vitamin K-dependent protein S и Kininogen-1.

Полученные результаты характеризуют участие белков S100A9, haptoglobin, Alpha-1-antichymotrypsin, Alpha-1-antitrypsin, Antithrombin-III, Ang II, E-cadherin, Fibulin-3, PON3 в процессах развития морфофункциональных изменений сосудов и системы гемостаза, обуславливающих готовность к развитию специфической микрососудистой травмы под влиянием перегрузок заключительного этапа КП. Тем не менее, связи между числом выполненных космонавтом полетов и возникновением вторичной геморрагической пурпуры не установлено. Очевидно, комплекс белков с достоверно изменившейся концентрацией в крови у космонавтов с выраженными петехиальными симптомами дает представление о механизмах и процессах, произошедших в организме в различное время. Одни биологические процессы формировались в течение самого КП, что послужило подготовительным этапом. Сосудистая система стала уязвимой для травматического повреждения под воздействием перегрузок заключительного этапа. Другие процессы непосредственно участвуют в «разрешении» этой подготовки, во время приземления. Следовательно, адресное воздействие для купирования (ослабления) этих негативных влияний на сосудистую систему должно учитывать время приложения этого воздействия.

Полученные данные являются началом нового направления исследований, позволяющего определить направление новых методов профилактики и, возможно, лечения повреждений, а также обосновать новые подходы и методы к отбору космонавтов.

ВЫВОДЫ

1. В крови космонавтов с проявлениями вторичной геморрагической пурпуры, возникшей на заключительном этапе после продолжительного КП, методами полуколичественной протеомики на основе хроматомасс-спектрометрии определена группа из 19 белков с достоверно различающейся концентрацией на первые сутки после космического полета по сравнению с индивидуальными предполетными данными. Биоинформатическим анализом среди них выделены 9 белков (Alpha-1-antichymotrypsin, Alpha-1-antitrypsin, Angiotensinogen, Antithrombin-III, C-reactive protein, Cadherin-1, Fibulin-3, 72 kDa type IV collagenase, Haptoglobin), участвующих в биологическом процессе «травма сосудов». Они оказывают протективный эффект на эндотелиальные клетки, связанный с защитой от апоптоза, реперфузионного повреждения, повышения проницаемости сосудов, и участвуют в поддержании реологических свойств крови.
2. Количественный метод протеомики с применением целевой пептидной панели, использованный для хромато-масс-спектрометрии с мониторингом множественных реакций (ЖХ/МРМ-МС) показал, что фоновые показатели протеома крови у групп космонавтов с выявленными постполетными геморрагиями и без таковых достоверно отличались по

параметрам показателей: Plasminogen, Coagulation factor 11, Kininogen-1, Vitamin K-dependent protein S, Vitronectin, predisposing to the development of secondary hemorrhagic purpura after completion of CP. In the first post-flight days of the group, they differed by Fibrinogen alpha chain, Fibrinogen beta chain.

3. К 21-м суткам СИ в крови добровольцев выявлен 31 белок с достоверно различающимся уровнем относительно фонового периода перед экспериментом. С помощью программы ANDSystem выделено 7 белков, непосредственно связанных с биологическим процессом «травма сосудов»: Haptoglobin, Fibrinogen alpha chain, Fibrinogen beta chain, Fibrinogen gamma chain, Fibronectin, Vitronectin, Clusterin.
4. Биоинформатические программы позволили показать, что адапционный ответ на условия 21-суточной «сухой» иммерсии включает группу белков, регулирующих процессы ангиогенеза: Haptoglobin, Fibrinogen gamma chain, Fibronectin, Vitronectin, S100 A9, Prothrombin, Apolipoprotein A-I, Transthyretin. Повышенные уровни факторов свертывания и фибринолиза, активация системы комплемента, формирование новых белок-белковых взаимодействий увеличивают проницаемость сосудов и риск микрососудистой травмы после 21-суточной СИ.
5. Установлены связи между белками крови с достоверно изменяющейся концентрацией и процессами ангиогенеза после окончания КП. Выделены белки – потенциальные маркеры рисков сосудистых повреждений и потенциальные мишени для профилактики нарушений ангиогенеза: VE cadgedrin, Anastellin, Cystatin-C, Lumican, GRP 78, Fibronectin, Neuropilin-2, S100 A9.
6. Сравнение списков белков с достоверно увеличенным уровнем к 21-м суткам СИ и на 1-е сутки после КП показало практически полное их совпадение. Это свидетельствует об общности процессов белковой регуляции, лежащей в основе генеза изменений состояния микрососудистого русла и развития вторичной геморрагической пурпуры.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации

Статьи:

1. Ларина И.М., Пастушкова Л.Х., Гончарова А.Г., Каширина Д.Н., Васильева Г.Ю., Кононихин А.С., Бржозовский А.Г., **Гончаров И.Н.** Поиск доступных биомаркеров дисфункции организма человека при гиподинамии // Технологии живых систем. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 39-49.
2. Пастушкова Л.Х., Колотева М.И., Гончарова А.Г., Глебова Т.М., **Гончаров И.Н.**, Каширина Д.Н., Бржозовский А.Г., Киреев К.С., Ларина И.М. Изменения протеома крови космонавтов с микро- и макрососудистыми травмами при перегрузках на заключительном

- этапе длительных космических полетов // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. – 2020. – Т. 54, № 5. – С. 5-14.
3. Пастушкова Л.Х., **Гончаров И.Н.**, Каширина Д.Н., Гончарова А.Г., Ларина И.М. Связь ряда достоверно изменяющихся белков крови с ангиогенезом после 21-суточной сухой иммерсии // *Технологии живых систем*. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 51-57.
4. Pastushkova L.Ch., Goncharova A.G., Kashirina D.N., **Goncharov I.N.**, Rukavishnikov I.V., Brzhozovskiy A.G., Kononikhin A.S., Koloteva M.I., Tomilovskaya E.S., Nikolaev E.N., Larina I.M. Characteristics of blood proteome changes in hemorrhagic syndrome after head-up tilt test during 21-day dry immersion // *Acta Astronautica*. – 2021. – Vol. 189. – P. 158-165.
5. Pastushkova L.Kh., **Goncharov I.N.**, Koloteva M.I., Goncharova A.G., Kashirina D.N., Nosovsky A.M., Glebova T.M., Kononikhin A.S., Borchers C.H., Nikolaev E.N., Larina I.M. Characteristics of blood plasma proteome changes associated with the hemorrhagic purpura of cosmonauts on the first day after long-term space missions // *Life Sci Space Res (Amst)*. – 2022. – Vol. 33. – P. 7-12. DOI: 10.1016/j.lssr.2022.01.001
6. Пастушкова Л.Х., Ларина И.М., Фомина Е.В., Русанов В.Б., Гончарова А.Г., Носовский А.М., Каширина Д.Н., Лысова Н.Ю., Дидковская Н.С., Бржзовский А.Г., **Гончаров И.Н.**, Орлов О.И. Изменение профиля белков, ассоциированных с сердечно-сосудистой системой у здоровых юношей в ответ на локомоторный тест со ступенчато-возрастающей нагрузкой // *Физиология человека*. – 2021. - Т.47 №1 – С. 94-103.
7. **Гончаров И.Н.**, Пастушкова Л.Х., Колотева М.И., Гончарова А.Г., Каширина Д.Н., Глебова Т.М., Киреев К.С., Ларина И.М. Протеомные исследования состояния организма при вторичной геморрагической пурпуре после длительных космических полетов // *Биомедицинская радиоэлектроника*. – 2022. – Т. 25, № 2-3. – С. 5-14.
8. Гончарова А.Г., Пастушкова Л.Х., Киреев К.С., Каширина Д.Н., **Гончаров И.Н.**, Колотева М.И., Ларина И.М. Влияние факторов длительных космических полетов и приземления на уровни биомаркера сердечной недостаточности и риска развития фиброза sST2 // *Пилотируемые полеты в космос*. – 2023. - №1 (46). – С.96-103.
9. Каширина Д.Н., Пастушкова Л.Х., Гончарова А.Г., **Гончаров И.Н.**, Ларина И.М. Маркеры отдаленных рисков развития изменений миокарда под влиянием космического полета и его моделируемых эффектов на Земле: поиск маркеров протеомными методами // *Технологии живых систем*. – 2024. – Т. 21, № 2. – С. 5-17.
10. **Гончаров И.Н.**, Пастушкова Л.Х., Гончарова А.Г., Каширина Д.Н., Ларина И.М. Исследования протеома крови для оценки регуляции ангиогенеза у космонавтов после завершения полёта // *Физиология человека*. – 2024. – Т. 50, №5. – С.65-75.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

SIS – меченые пептидные аналоги	ЛЖ – левый желудочек
АНОГ – антиортостатическая гипокинезия	МКС – Международная космическая станция
АТФ – аденозинтрифосфат	МКЧ – микрочастицы
ВКМ – внеклеточный матрикс	РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота	
ЖХ/МРМ-МС – жидкостная СИ – «сухая» иммерсия	
хроматография/масс-спектрометрия	с ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
мониторингом множественных реакций	ССС – сердечно-сосудистая система
КП – космический полет	ЭК – эндотелиальные клетки

БЛАГОДАРНОСТЬ АВТОРА

Хочу выразить искреннюю благодарность Ирине Михайловне Лариной за руководство и поддержку на протяжении всей совместной работы; Людмиле Ханифовне Пастушковой, Мелене Ильиничне Колотевой, Елене Сергеевне Томиловской за помощь в организации исследований; Дарье Николаевне Кашириной за помощь в освоении методик, Алексею Сергеевичу Кононихину и Александру Бржовскому за помощь в получении экспериментальных данных, Андрею Максимовичу Носовскому за помощь в статистической обработке данных, за внимание и значимые рекомендации: Стародубцевой Наталии Леонидовне, Чеботаревой Наталье Викторовне, Крапивницкой Татьяне Александровне, Полякову Алексею Васильевичу.

Благодарю космонавтов и испытателей - участников исследований.

Также хочу поблагодарить всех коллег, которые помогали в течение всей моей работы советами, и непосредственным участием в решении возникающих проблем.