

УДК 579.65

Взаимосвязь *E. coli*, *Enterobacter spp.* и *S. aureus*, выделенных из кишечной микрофлоры, с белками крови, связанными с пищеварительной системой, во время 3-суточной «сухой» иммерсии

Комиссарова Д.В., Ларина И.М., Каширина Д.Н., Усанова Н.А., Пастушкова Л.Х., Ильин В.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации «Институт медико-биологических проблем» Российской академии наук
123007 Москва, Хорошевское шоссе, д. 76А

Известно несколько механизмов, посредством которых кишечная микрофлора (КМ) участвует в развитии таких патологий, как атеросклероз, ожирение, заболевания печени, сахарный диабет и т.д., например, через продукцию метаболитов, индукцию системной воспалительной реакции, модификацию функций иммунной системы, изменение метаболизма холина.

Целью данного исследования является изучение взаимосвязи количества белков в крови хозяина и численности условно-патогенной микрофлоры (УПМ) в модельном эксперименте с «сухой» иммерсией, воспроизводящем физиологические эффекты невесомости.

Материалы и методы. В эксперименте продолжительностью 3 суток приняли участие 6 испытательниц в возрасте от 25 до 40 лет. Во время эксперимента испытуемые не принимали антибактериальные препараты и иные средства, способные оказать влияние на КМ. Образцы капиллярной крови были получены методом прокола концевой фаланги безымянного пальца за 2 дня до начала эксперимента и через 2 дня после окончания. Количество белков определялось методом масс-спектрометрии. Однократно за 1-2 суток до начала эксперимента и однократно на 1-3-и сутки после окончания отбирались фекальные пробы для оценки количества микроорганизмов в кишечном биотопе.

Результаты. В результате проведённых исследований была выявлена корреляция между количеством УПМ в КМ и уровнем ряда белков в крови: положительная для *E. coli*, и отрицательная – для *S. aureus* и *Enterobacter spp.* Связь между уровнем белков в крови человека и численностью УПМ кишечника была адекватно описана с помощью регрессионной модели, в которой в качестве зависимой переменной выступал определённый белок в крови, а качестве независимой – количество микроорганизмов. Выявленные белки – участники значимых корреляций – разделяются на несколько групп в зависимости от их функций и локуса экспрессии, причём зачастую белки входят в несколько групп одновременно: 11 экспрессируются в клетках желудочно-кишечного тракта, 22 – в клетках желез пищеварительной системы; по функции белки разделяются на структурные и метаболические.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о существовании тесной взаимосвязи изменений бактериальной флоры кишечника и протеомного профиля крови под действием факторов «сухой» иммерсии.

Ключевые слова: микрогравитация; «сухая» иммерсия; протеомика; микрофлора.

Для цитирования: Комиссарова Д.В., Ларина И.М., Каширина Д.Н., Усанова Н.А., Пастушкова Л.Х., Ильин В.К. Взаимосвязь *E. coli*, *Enterobacter spp.* и *S. aureus*, выделенных из кишечной микрофлоры, с белками крови, связанными с пищеварительной системой, во время 3-суточной «сухой» иммерсии. *Патогенез*. 2024; 22(3): 61-74.

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.03.61-74

Для корреспонденции: Комиссарова Дарья Валерьевна, e-mail: d.komisarova@yandex.ru.

Финансирование: Работа выполнена в рамках тем фундаментальных научных исследований FMFR-2024-0035 и FMFR-2024-0032.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: Коллектив авторов выражает благодарность в.н.с., зав. отделом сенсомоторной физиологии и профилактики, зав. лабораторией гравитационной физиологии сенсомоторной системы Томиловской Е.С. и её коллективу за организацию и проведение исследования 3-суточной «сухой» иммерсии.

Поступила: 28.05.2024.

Relationship of *E. coli*, *Enterobacter spp.* and *S. aureus* isolated from intestinal microflora with blood proteins associated with the digestive system during 3-day «dry» immersion

Komissarova D.V., Larina I.M., Kashirina D.N., Usanova N.A., Pastushkova L.Kh., Ilyin V.K.

The Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences
Khoroshevskoe shosse 76A, Moscow 123007, Russian Federation

There are several known mechanisms by which intestinal microflora (IM) is involved in the development of pathologies such as atherosclerosis, obesity, liver disease, diabetes mellitus, etc., for example, through the production of metabolites, induction of a systemic inflammatory response, modification of the functions of the immune system, changes in choline metabolism.

The purpose of this study is to study the relationship between the amount of proteins in the host's blood and the number of opportunistic microflora (OM) in a model experiment with «dry» immersion, reproducing the physiological effects of weightlessness.

Materials and methods. 6 female volunteers aged from 25 to 40 years took part in the “dry” immersion experiment lasting 3 days. During the experiment, the subjects did not take antibacterial drugs or other medications that could affect IM. Capillary

blood samples were obtained by puncture of the terminal phalanx of the ring finger 2 days before the start of the experiment and 2 days after the end. The amount of proteins was determined by mass spectrometry. Fecal samples were taken once 1-2 days before the start of the experiment and once on days 1-3 after the end to assess the number of microorganisms in the intestinal biotope.

Results. As a result of the studies, a correlation was revealed between the amount of OM in the IM and the amount of proteins in the blood: positive for *E. coli*, and negative for *S. aureus* and *Enterobacter spp.* The relationship between the level of proteins in the human blood and the number of intestinal OM was adequately described using a regression model in which a certain protein in the blood acted as a dependent variable, and the number of microorganisms acted as an independent variable. The identified proteins involved in significant correlations can be divided into several groups depending on their functions and locus of expression, and often proteins are included in several groups at the same time: 11 are expressed in the cells of the gastrointestinal tract, 22 in the cells of the glands of the digestive system. In general, proteins can be divided into two groups based on their function: structural and metabolic.

Conclusion. The obtained data indicate the existence of a close relationship between changes in the intestinal bacterial flora and the blood proteomic profile under the influence of "dry" immersion factors.

Key words: microgravity; "dry" immersion; proteomics; microflora.

For citation: Komissarova D.V., Larina I.M., Kashirina D.N., Usanova N.A., Pastushkova L.Kh., Ilyin V.K. [Relationship of *E. coli*, *Enterobacter spp.* and *S. aureus* isolated from intestinal microflora with blood proteins associated with the digestive system during 3-day «dry» immersion]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2024; 22(3): 61-74. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.03.61-74

For correspondence: Komissarova Daria Valerievna, e-mail: d.komissarova@yandex.ru

Funding. The work was carried out within the framework of the fundamental scientific research topics FMFR-2024-0035 and FMFR-2024-0032.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The team of authors expresses gratitude to the leading researcher, head of the department of sensorimotor physiology and prevention, head of the laboratory of gravitational physiology of the sensorimotor system Tomilovskaya E.S. and her team for organizing and conducting the study of 3-day "dry" immersion.

Received: 28.05.2024.

Введение

Микробиота относится к сообществу микроорганизмов, обитающих вместе в определенной экологической нише. Пищеварительный тракт человека содержит многочисленную, разнообразную и динамичную популяцию микроорганизмов, в основном бактерий, но также значительное количество простейших, грибов и вирусов. Эти микроорганизмы адаптированы для жизни на поверхности слизи и в просвете кишечника. Кишечная микробиота (КМ) необходима для правильного питания, обмена веществ и иммунной функции. КМ человека также играет значительную роль в различных процессах, происходящих в организме хозяина. Число бактерий, вирусов, отдельных видов эукариот, обитающих в кишечнике, превышает количество клеток нашего организма. Баланс штаммов в этой симбиотической популяции очень важен, так как не только патогенные микроорганизмы, но и условно-патогенная микрофлора (УПМ), при уменьшении количества протективных микроорганизмов (ПМ), может начать активно размножаться и вызывать спектр дисбиотических состояний [1]. Наши представления о роли КМ в развитии различных заболеваний, таких как атеросклероз, ожирение, заболевания печени, сахарный диабет, артериальная гипертензия и др., значительно пополнились в последнее время [2]. Известно несколько механизмов, посредством которых КМ участвует в развитии этих патологий — через продукцию метаболитов, индукцию системной воспалительной реакции, модификацию функций иммунной системы, изменение метаболизма холина.

Среди проблем, с которым сталкиваются космонавты, дисфункции желудочно-кишечного тракта

(ЖКТ) находятся на третьем месте [3]. Такие процессы, как застойные явления в спланхическом бассейне, которые приводят к активации желчеотделения, увеличение секреторной активности инсулярного аппарата, ослабление детоксикационной активности печени, вносят существенный вклад в генез проблем с ЖКТ и в клинике на Земле. **Целью** данного исследования служит попытка установления связи между уровнем белков в крови хозяина и численностью ряда УПМ в КМ, в модельном эксперименте с «сухой» иммерсией, воспроизводящем физиологические эффекты невесомости.

Материалы и методы исследования

В эксперименте с «сухой» иммерсией продолжительностью 3 суток приняли участие 6 испытуемых в возрасте от 25 до 40 лет. Во время эксперимента испытуемые не принимали антибактериальные препараты и иные средства, способные оказать влияние на КМ. При начале испытаний участницы были синхронизированы по фазе менструального цикла (для каждой из них иммерсия началась в фолликулярной фазе), чтобы избежать различия эффектов эстрадиола на микробиом и белки плазмы. Эксперимент был одобрен биоэтической комиссией ГНЦ РФ — ИМБП РАН (протокол № 544 от 16 июня 2020 года).

Испытуемые находились в иммерсионной ванне в течение 3 суток с ежедневной однократной выемкой на 10 мин для осуществления гигиенических процедур [4]. Пищевой рацион не отличался от повседневного.

Однократно за 1-2 суток до начала эксперимента, и однократно на 1-3-и сутки после окончания «сухой» иммерсии отбирались фекальные пробы. Из образцов фекалий готовили ряд десятикратных разведений в стерильном физиологическом растворе от 10^{-1} до 10^{-9} и, затем, 100 мкл инокулята высевали в чашки Петри с агаризованными питательными средами: кровяной агар, агар МакКонки, маннитол-солевой агар, среда Сабуру, среда МРС, среда Бактофок, цитратный агар, агар для энтерококков, бифидоагар (производитель всех сред – Himedia, Индия). Выросшие колонии подсчитывались и идентифицировались.

Образцы капиллярной крови были получены методом прокола концевой фаланги безымянного пальца у добровольцев за 2 дня до начала эксперимента, в 1-е, 2-е и 3-и сутки во время «сухой» иммерсии и через 2 дня после её окончания. Пробы были высушены при комнатной температуре в течение 2 часов, а затем хранили высушенные образцы пятен крови при -20°C .

Сухие пятна готовили к хромато-масс-спектрометрическому анализу следующим образом: белки экстрагировали в буфере, содержащем 25 мМ бикарбоната аммония, 1% дезоксихолата натрия и 5 мМ ТСЕР (трис-(2-карбокситетил) фосфин гидрохлорид) (Thermo Scientific), при температуре 60°C при 1 000 rpm (термомиксер, Eppendorf) в течение 1 часа, затем восстанавливали, алкилировали, осаждали и расщепляли трипсином, как описано в статье [5].

Смеси триптических пептидов разделяли с помощью жидкостной хроматографии на основе нано-ВЭЖХ Dionex Ultimate3000 (Thermo Fisher Scientific, США), затем анализировали на масс-спектрометре TimsTOF Pro (Bruker Daltonics, США) с использованием метода параллельного накопления при последовательной фрагментации (PASEF).

Связь между уровнем белков в крови человека и численностью УПМ кишечника была адекватно описана с помощью регрессионной модели, в которой в качестве зависимой переменной выступал определённый белок в крови, а качестве независимой – количество микроорганизмов. Для обработки результатов использовалась программа STATISTICA 12.0.

Результаты исследования

При регрессионном анализе полученных данных в экстрактах сухих пятен крови было выявлено 28 белков, чьи уровни статистически значимо ($p < 0,05$) положительно коррелировали с количеством *E. coli* (b-коэффициент регрессии положительный) и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.* (b-коэффициент регрессии отрицательный). Согласно вычисленному критерию Краскеля-Уоллиса статистически достоверно было выявлено снижение количества *E. coli* и увеличение количества *S. aureus* и *Enterobacter spp.* после окончания иммерсионного эксперимента, что говорит о снижении колонизационной резистентности ки-

шечного биотопа и согласуется с полученными ранее данными в аналогичных исследованиях [6].

Аннотация биологических процессов, в которые вовлечены данные белки в организме человека, позволила разделить их на несколько групп в зависимости от характера процессов, и локуса экспрессии. В данной работе рассмотрены (рис. 1):

– 11 белков, которые экспрессируются в клетках ЖКТ (белки протеасомного комплекса (PSMA2 (субъединица альфа-типа 2 протеасомы), PSMC3 (регуляторная субъединица 6A протеасомы 26S)), комплекс белков LFT (лактотрансферрин), АРОВ (аполipoproteин В-100), белки CCT2 (бета субъединица белка 1 Т-комплекса), PRDX2 (тиол-специфическая пероксидаза), FH (фумараза), ACTN1 (альфа актин 1), A2M (альфа-2-макроглобулин), ALB (сывороточный альбумин) и FLOT1 (флотилин));

– 22 белка, экспрессирующихся в клетках желез пищеварительной системы (упомянутые выше PSMA2, PSMC3, ACTN1, FH, PRDX2, CCT2, АРОВ, A2M, LTF, а также STOM (стоматин), CA1 (карбонангидраза 1), FGB (фиброден бетта-полипептид), PSME2 (субъединица 2 протеасомного активаторного комплекса), SLC2A1 (глюкозный транспортёр 1 типа), AGT (ангиотензин), SERPINA6 (транскортин), COPS5 (субъединица 5 конститутивного фотоморфогенного гомолога COP5), CCT4 (дельта субъединица Т-комплексного белка 1), TAGLN2 (трансгелин-2), SERPINF1 (серпин F1), AFM (афамин), IGFALS (белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста);

– 4 белка неклассифицированные в зависимости от функций и места экспрессии (ITIH4 (ингибитор интер-альфа-трипсина тяжелой цепи H4), USP5 (убиквитин-специфическая пептидаза 5), THRB (бета-рецептор гормона щитовидной железы), ADD2 (адудин)).

Обозначенные выше категории, по которым были распределены белки, используя возможности платформы String.db, были отобраны по определённому принципу. В первую очередь, поскольку речь идёт о КМ, были обозначены категории «экспрессия в клетках ЖКТ» и «связанные с пищеварительными железами». В зависимости от целей и задач анализа взаимосвязи «бактерия – белок» могут быть выбраны и другие принципы разделения белков на группы.

В табл. 1 представлены все выявленные белки, экспрессирующиеся в клетках пищеварительной системы и положительно коррелирующие с количеством *E. coli* и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.*

В табл. 2 представлены все выявленные белки, экспрессирующиеся в клетках желез пищеварительной системы и положительно коррелирующие с количеством *E. coli* и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.*

В табл. 3 представлены все выявленные белки, неклассифицированные в зависимости от места экс-

прессии и функций положительно коррелирующие с количеством *E. coli* и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.*

Обсуждение

Функциональная роль изученных белков крови, чьи уровни значимо коррелировали с динамикой количества КМ в условиях «сухой» иммерсии

Белки, экспрессирующиеся в клетках органов пищеварительной системы. Перечень белков, тесно связанных с функционированием пищеварительной системы, и исследованных в данной работе, включают в себя 11 бел-

ков: белки протеасомного комплекса (PSMA2, PSMC3), комплекс белков LFT, APOB, белки CCT2, PRDX2, FH, ACTN1, A2M, ALB и FLOT1.

Очевидно, что экспрессирующиеся в клетках кишечника белки протеасомного комплекса (PSMA2, PSMC3) играют важную роль в процессах протеостаза в клетках слизистой кишечника: нарушения протеасомного контроля в эпителиальных тканях кишечника чреваты развитием aberrантных воспалительных процессов, поскольку сопровождаются провоспалительной активацией и повреждением клеток [7].

Компартментализация ферментов убиквитинирования и различных типов протеасом (в том числе и иммунных) в разных типах клеток кишечника уча-

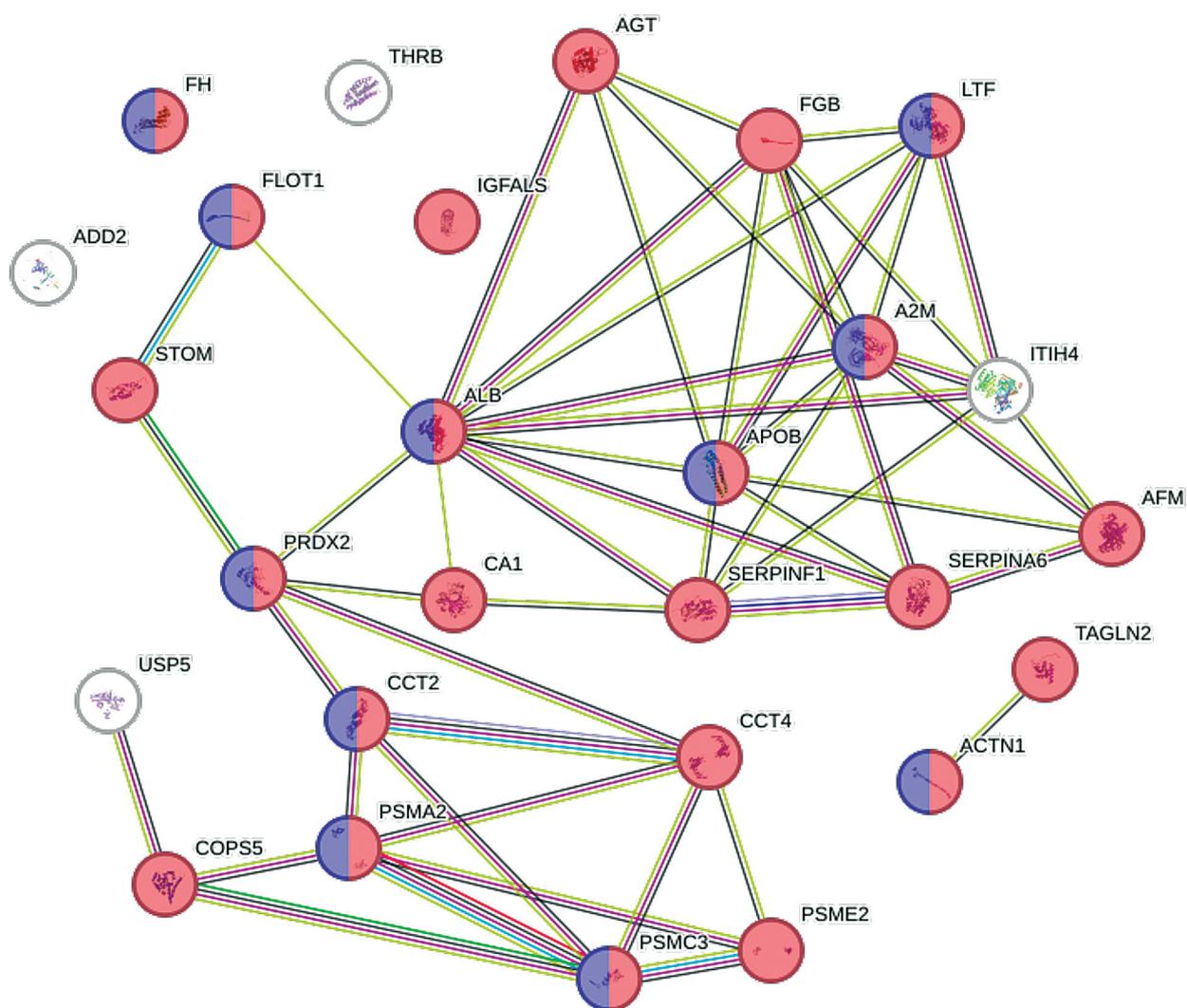


Рис. 1. Взаимосвязи белков крови, положительно коррелирующих с количеством *E. coli* и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.* (для всех белков корреляционные связи статистически значимы, $p < 0,05$; названия белков см. в тексте выше). Для визуализации данных использовалась база данных STRING.db (URL: <https://string-db.org/>). Красным обозначены белки, экспрессирующиеся в клетках пищеварительных желез, синим – в клетках желудочно-кишечного тракта. Взаимосвязи между белками обозначают: голубая линия – доказанное взаимодействие белков согласно базам данных, фиолетовая линия – экспериментально подтвержденное взаимодействие белков, зеленая линия – предполагаемое взаимодействие белков, красная линия – гибридный ген, кодирующий белки, синяя линия – совместная работа генов, салатная линия – совместное упоминание в публикациях, черная линия – коэкспрессия генов. Последние два типа взаимодействия являются наиболее слабыми с низким уровнем доказательной базы, поскольку взаимосвязь белков носит предположительный характер к настоящему времени.

ствуется в активации воспаления. Некоторые бактерии, как УПМ, так и патогенные, вмешиваются в экспрессию компонентов и/или сборку и функционирование протеасом. Сообщают, что нарушение убиквитинирования белков и активности протеасом может играть важную роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника [8]. Это в очередной раз подтверждает важность поддержания баланса КМ. При увеличении количества протективной кишечной палочки также наблюдалось и увеличение уровня белков протеасомного комплекса, в то время как с количеством золотистого стафилококка и энтеробактер корреляция была отрицательной. Соответственно, если поддерживать относительно низкое количество рассмотренных в работе УПМ (*Enterobacter spp.*, *S. aureus*) и высокое количество *E. coli*, протеасомный комплекс будет функционировать эффективнее и, таким образом, препятствовать развитию воспалительных заболеваний ЖКТ.

Вовлечённые в иммунный ответ и экспрессирующиеся, в том числе, и в эпителиальных тканях ЖКТ белки LTF, АРОВ также участвуют, по-видимому, в процессах, связанных с поддержанием колонизационной резистентности КМ. Известно, что дефектное распознавание микробиома рецепторами врождённого иммунитета TLR1 приводит к нарушению гомеостаза крипт, особенно внутри секреторного клеточного компартмента, а также к изменению свойств слизистого эпителия кишечника, что приводит к нарушению кишечного барьера, транслокации комменсальных бактерий и развитию хронического воспаления с увеличением количества врождённых лимфоидноподобных клеток с отрицательной линией Sca1+Thy1, которые усугубляют воспаление и снижают эффективность лечения [9].

Белок PRDX2 представляет из себя тиол-специфическую пероксидазу, катализирующую восстановление перекиси водорода и органических гидроперексидов до воды и спиртов соответственно. Он играет важ-

Таблица 1.

Локусы экспрессии белков, связанных с пищеварительной системой положительно коррелирующие с количеством *E. coli* и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.*, процентный вклад каждой бактерии в соответствующий белок, $p < 0,05$.

№	Белок	Клетки, в которых данный белок активно экспрессируется	Процентный вклад бактерии (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> и <i>Enterobacter spp.</i> , соответственно) в количество белка
1	PSMA2 (субъединица альфа-типа 2 протеасомы)	Двенадцатиперстная кишка, толстая кишка	39,83 23,18 36,99
2	PSMC3(регуляторная субъединица 6А протеасомы 26S)	Клетки кожи, печени, почек	39,90 23,65 36,45
3	LFT (лактоферрин)	Эпителиальные клетки ЖКТ	39,96 23,21 36,83
4	АРОВ (аполипопротеин В-100)	Эпителиальные клетки ЖКТ	39,92 23,73 36,35
5	ССТ2 (бета субъединица белка 1 Т-комплекса)	Клетки лимфатической системы, печени	40,07 23,18 36,75
6	PRDX2(тиол-специфическая пероксидаза)	Клетки печени, жировые клетки	40,11 23,21 36,68
7	FH (фумараза)	Клетки слизистых ЖКТ, кожа, паратиреоидные железы	40,08 23,14 36,78
8	ACTN1 (альфа актин 1)	Железистые клетки кишечника	39,86 23,39 36,75
9	A2M (альфа-2-макроглобулин)	Клетки печени, плазма крови	40,03 23,23 36,74
10	ALB (сывороточный альбумин)	Гепатоциты печени, клетки поджелудочной железы	40,02 23,31 36,67
11	FLOT1 (флотилин)	Клетки печени, крови	40,24 23,21 36,55

ную роль в защите клеток от окислительного стресса, путём детоксикации пероксидов. Имеются данные о том, что у пациентов с метаболическим синдромом состояние пристеночной КМ и параметры оксидативного стресса тесно связаны между собой, что отражается на уровне конечных продуктов окисления белковых молекул и липидов. УПМ и патогенные микроорганизмы могут стимулировать оксидативный стресс в эпителиальных клетках кишечника. При этом образование активных форм кислорода и азота при воспалительных процессах в кишечнике негативно сказывается на облигатных анаэробных микроорганизмах [10], чувствительных к кислородной интоксикации,

а также способствует избирательному росту групп бактерий, например, *E. coli*.

Белок FH, являющийся митохондриальным белком и экспрессирующийся в больших количествах в клетках кожи, паратиреоидных железах, а также в клетках кишечника, катализирует обратимое превращение фумарата в L-малат. Метаболизм фумарата в цитозоле играет важную роль в цикле мочевины и метаболизме аргинина, а также является побочным продуктом мочевины и катаболизма аминокислот. В ряде исследований, например, X. He и соавт. [11], была доказана способность энтерогеморрагических штаммов кишечной палочки импортировать L-малат, полученный

Таблица 2.

Локусы экспрессии белков, связанных с пищеварительными железами положительно коррелирующие с количеством *E. coli* и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.*, и процентный вклад каждой бактерии в соответствующий белок, $p < 0,05$.

№	Белок	Клетки, в которых данный белок активно экспрессируется	Процентный вклад бактерии (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> и <i>Enterobacter spp.</i> , соответственно) в количество белка
1	STOM (стоматин)	Гепатоциты, адипоциты, клетки крови	40,07 23,35 36,58
2	CA1 (карбонатгидраза 1)	Энтероциты, клетки крови	40,10 23,25 36,65
3	FGB (фибриноген бета-полипептид)	Гепатоциты, эндотелиальные клетки	40,30 23,05 36,65
4	PSME2 (субъединица 2 протеасомного активаторного комплекса)	Гепатоциты	39,11 23,85 39,04
5	SLC2A1 (глюкозный транспортёр 1 типа)	Эритроциты, клетки селезёнки	39,87 23,25 39,88
6	AGT (ангиотензин)	Гепатоциты	39,98 23,41 36,61
7	SERPINA6 (транскортин)	Гепатоциты	39,93 23,41 36,66
8	COPS5 (субъединица 5 конститутивного фотоморфогенного гомолога COP5)	Гепатоциты, клетки миокарда, мышечные клетки	40,11 23,06 36,83
9	CCT4 (дельта субъединица T-комплексного белка 1)	Клетки слизистой кишечника, костная ткань, нервная ткань	39,91 23,41 36,68
10	TAGLN2 (трангелин-2)	Клетки крови, эпителия желудка, селезёнки	40,25 23,14 36,61
11	SERPINF1 (серпин F1)	Гепатоциты	40,18 23,23 36,59
12	AFM (афамин)	Гепатоциты	40,23 23,02 36,75
13	IGFALS (белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста)	Гепатоциты	39,71 23,63 36,66

из клеток хозяина, с помощью транспортеров DcuABC и использовать его для подпитки анаэробного дыхания, способствуя, таким образом, колонизации кишечника. Тем не менее, причина изменения количества фумаразы вслед за изменением количества кишечной палочки остаются не до конца понятными, поскольку логично ожидать обратной взаимосвязи: изменения количества *E. coli* после изменения количества белка. Кроме того, соотношение количеств энтерогеморрагических и комменсальных штаммов кишечной палочки в данном исследовании не проводилось. Вероятно, полученные данные могут послужить отправной точкой для проведения более детальных исследований, в том числе, с выявлением генов патогенности у выделенных из кишечной микробиоты штаммов, чтобы более детально изучить механизм взаимодействия фумаразы и различных штаммов *E. coli*.

Белок ACTN1, экспрессирующийся в железистых клетках кишечника, участвует в цитокинезе, клеточной адгезии и миграции клеток. Также имеются сведения о том, что данный белок участвует в онкогенезе и развитии некоторых видов рака, например, рака желудка [12]. В ряде исследований выявлена взаимосвязь хронической идиопатической кишечной псевдообструкции (ХИКП) с дефицитом α -актина в гладких мышцах тощей кишки [13]. Также было выявлено, что у детей с ХИКП наблюдается меньшее биоразнообразие КМ и признаки дисбактериоза [14]. Однако, как и в случае с фумаразой, логично, что именно уровень белка α -актина-1 влияет на количество бактерий, а не наоборот, как выявлено в нашем исследовании. Таким образом, дальнейшее детальное изучение характера взаимосвязи белка ACTN1 и КМ представляет интерес для понимания процессов, лежащих в основе белково-микробной регуляции гомеостаза кишечника.

A2M представляет собой внеклеточную макромолекулу, которая является ингибитором протеаз

широкого спектра. Кроме того, альфа-2-макроглобулин выполняет такие важные функции, как связывание цитокинов, факторов роста и повреждённых внеклеточных белков. Это особенно важно в контексте функционирования иммунных клеток. В экспериментах *in vivo* альфа-2-макроглобулин способствует фагоцитозу и уничтожению бактерий нейтрофилами и макрофагами [15]. Он также усиливает презентацию антигена макрофагам. Однако с некоторыми бактериями этот белок может взаимодействовать иначе, например, с *S. pyogenes*, у которого A2M связывался с поверхностью бактерии и захватывал бактериальную протеазу SpeB, в таком виде бактерия оказывалась защищенной от антибактериальных пептидов, продуцируемых хозяином. Вероятно, механизм, применимый к *S. pyogenes*, существует и для кишечной палочки, поскольку корреляция белка и данной бактерии была положительной. Отрицательная же корреляция золотистого стафилококка и энтеробактерий с данным белком, возможно, происходит по механизму, выявленному при изучении его антисептических свойств. Таким образом, взаимодействие альфа-2-макроглобулина с бактериальными клетками, вероятно, представляет собой гораздо более сложную систему, чем представлялось ранее.

Уровень сывороточного альбумина (ALB) тесно связан с КМ. В некоторых исследованиях показана отрицательная корреляция белка ALB у больных на диализе и с нарушениями в пищеварении с условно-патогенными *Clostridium spp.* [16]. То есть, чем больше было клостридий, тем чаще уровень сывороточного альбумина регистрировался как сниженный. По-видимому, снижение осмоляльности крови, вследствие уменьшения уровня ALB, облегчает каким-то образом размножение клостридий. Это совпадает с полученными нами данными об отрицательной корреляции условно-патогенных *S. aureus* и *Enterobacter spp.*

В литературе пока не имеется чётко обозначенных функций белка FLOT1. Считается, что он может дей-

Таблица 3.

Локусы экспрессии белков в, неклассифицированных в зависимости от места экспрессии и функций положительно коррелирующие с количеством *E. coli* и отрицательно – с численностью *S. aureus* и *Enterobacter spp.*, и процентный вклад каждой бактерии в соответствующий белок, $p < 0,05$.

№	Белок	Клетки, в которых данный белок активно экспрессируется	Процентный вклад бактерии (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> и <i>Enterobacter spp.</i> , соответственно) в количество белка
1	ITIH4 (ингибитор интер-альфа-трипсина тяжелой цепи H4)	Клетки островков Лангерганса, гепатоциты	39,75 23,29 36,96
2	USP5 (убиквитин-специфическая пептидаза 5)	Клетки лимфатической системы	39,90 23,50 36,60
3	THRB (бета-рецептор гормона щитовидной железы)	Клетки щитовидной железы	40,20 23,17 36,63
4	ADD2 (аддуцин)	Эндотелиальные клетки гематоэнцефалического барьера, клетки костного мозга	40,18 23,13 36,69

ствовать как каркасный белок внутри кавеоларных мембран, функционально участвуя в формировании кавеол и кавеолоподобных везикул железистых клеток, может выполнять важную функцию в физиологии толстого кишечника. Несмотря на выдвинутые предположения, взаимосвязь флотилина с воспалительными заболеваниями кишечника найдена не была. Однако была найдена связь флотилина с колоректальным раком, заключающаяся в том, что FLOT1 способен усиливать прогрессирование опухоли, в связи с чем данный белок рассматривается как новая терапевтическая мишень для лечения данной опухоли [17]. Корреляция кишечной палочки с данным белком была положительной, в то время как количество золотистого стафилококка и энтеробактер коррелировало с ним отрицательно. Учитывая противоречивые сведения о функциях и значении данного белка для физиологии ЖКТ, возможно, выявленная корреляция случайна, либо существуют свойства флотилина-1, которые ещё не описаны в литературе и которые предстоит изучить.

Белки, экспрессирующиеся в клетках пищеварительных желез. Ряд выявленных в нашем исследовании белков, экспрессирующихся в клетках желез пищеварительной системы, был уже описан выше в контексте взаимосвязи с пищеварением через экспрессию в клетках ЖКТ (PSMA2, PSMC3, ACTN1, FH, PRDX2, CCT2, APOB, A2M, LTF).

Другие белки (STOM, CA1, FGB, PSME2) связаны, по-видимому, с иммунными функциями клеток тканей ЖКТ.

Взаимосвязь белка STOM с железами пищеварительной системы, возможно, обусловлена процессами, происходящими в селезёнке: разрушением эритроцитов (на поверхности которых этот белок находится) с выделением билирубина, который затем поступает в печень и секретируется в составе желчи. Однако точный механизм взаимодействия данного белка с бактериями остаётся неясным.

Белок CA1 был обнаружен в энтероцитах, которые являются частью либеркюновых желез тонкой и толстой кишки, что объясняет его взаимосвязь с железами пищеварительной системы и указывает на более точную взаимосвязь с процессами в организме. Это подтверждает предположение, что именно либеркюновые железы и их функционирование играют одну из важнейших ролей во взаимоотношениях «протеом — КМ».

Взаимосвязь белка FGB с исследуемыми микроорганизмами объясняется тем, что он синтезируется в печени, крупнейшей железе пищеварительного тракта, а также эпителиальными клетками кишечника и откладывается на базальной мембране в виде фибрина. Одной из его функций является предотвращение развития микробной инфекции после активации тромбина, которая влечёт за собой превращение фибриногена в плохо растворимый фибрин. Накопление фибрина сдерживает повреждение тканей, останавливает кровопотерю и снижает риски развития микробной инфекции. Веро-

ятно, именно этим и объясняется отрицательная корреляция данного белка с условно-патогенными *Enterobacter spp.* и *S. aureus*, т.е. чем больше экспрессировалось данного белка, тем меньше бактерий могли закрепиться на слизистой ЖКТ и тем меньшее количество их наблюдалось у испытуемых.

Некоторые белки, экспрессируемые железами пищеварительной системы, например, SLC2A1, AGT, SERPINA6, тесно связаны с процессами метаболизма (превращения и всасывания пищевых компонентов). Так, белок SLC2A1 (глюкозный транспортер 1-го типа) транспортирует широкий спектр альдоз и является важнейшим носителем энергетических субстратов. Он экспрессируется, главным образом, в эритроцитах, что, во-видимому, и является связующим с железами пищеварительного тракта (и с селезёнкой) звеном.

Было выявлено, что метаболиты КМ активируют экспрессию SLC2A1, ингибируя выделение HIF-1 α и снижая прогрессирование ферроптоза (программируемой окислительной некротической гибели клеток), индуцированного остеоартрозом [18]. Несмотря на то, что краткосрочная «сухая» иммерсия продолжительностью в несколько часов может оказывать позитивный эффект на суставы (в частности, на суставы позвоночника) за счёт опорной разгрузки, в более длительной «сухой» иммерсии начинаются дегенеративные изменения костно-мышечной системы, аналогичные тем, что наблюдаются в космическом полёте. Эти изменения могут оказывать негативное воздействие на суставы и хрящевую ткань. Так, это было показано в исследовании на крысах в гипокинезии (исследовании, также имитирующем эффекты невесомости аналогично «сухой» иммерсии) [18]. По-видимому, активация экспрессии белка SLC2A1 за счёт метаболитов КМ связана с особенностями внутриклеточного метаболизма в условиях «сухой» иммерсии.

Белок AGT наиболее активно экспрессируется в печени и расщепляется ренином в ответ на снижение артериального давления. Конечный продукт, ангиотензин II, участвует в поддержании артериального давления, гомеостаза жидкости и электролитов в организме. Известно, что дефекты гена, кодирующего данный белок, связаны с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), что свидетельствует о важном вкладе данного белка в облегчение симптомов ВЗК.

Белок транскортин (кодируется геном *SERPINA6*) также активно экспрессируется клетками печени и является основным транспортно-депонирующим белком крови для глюкокортикоидов и прогестинов. Известно также, что 90% всего кортизола в крови, примерно 78% альдостерона и 18% прогестерона связаны с транскортином, и при этом только свободные несвязанные формы данных гормонов являются биологически активными. Таким образом, повышение концентрации транскортина в крови, по-видимому, способствует снижению концентрации свободного кортизола, что, в свою очередь, смягчает симптоматику хронического

стресса. Механизмы воздействия КМ на транскортин, вероятно, связаны с воздействием метаболитов КМ на печень. Известно, что дисбактериоз может привести к нарушению функции кишечного барьера и транслокации микробных компонентов в печень, что способствует развитию или прогрессированию заболеваний органа. Таким образом, изучение взаимосвязей «КМ — печень — белки, вырабатываемые печенью» представляет интерес для будущих исследований и имеет выраженную клиническую направленность для профилактики и коррекции заболеваний печени.

Также корреляции были обнаружены для уровней белков COPS5 (субъединица 5 конститутивного фотоморфогенного гомолога COP5), CCT4 (дельта субъединица T-комплексного белка 1), TAGLN2 (трангелин-2), SERPINF1 (серпин F1), AFM (афамин), IGFALS (белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста).

Белки CCT4 и TAGLN2 экспрессируются в клетках практически всех тканей. В то же время белки SERPINF1, AFM и IGFALS преимущественно экспрессируются в печени.

Белок SERPINF1 обладает множеством функций, например, участвует в антиангиогенных и противоопухолевых процессах, имеет нейротрофические свойства. Несмотря на его активную экспрессию в клетках печени, влияние микрофлоры, населяющей ЖКТ, на количество данного белка неясно.

Белок AFM является гликопротеином, вырабатываемым печенью. Он рассматривается как потенциальный ранний маркер метаболического синдрома. В исследованиях было выявлено, что афамин положительно коррелирует с липидами печени, индексом жировой болезни печени и маркерами повреждения печени. Повышенный уровень афамин ассоциировался с накоплением липидов в печени и резистентностью к инсулину. В ряде исследований было показано, что увеличение количества представителей семейства *Enterobacteriaceae*, к которому относится как кишечная палочка, так и энтеробактер, способствует прогрессированию жировой болезни печени и развитию ожирения [19]. Аналогичная взаимосвязь ожирения и количества *S. aureus* была обнаружена и в других исследованиях [20]. Полученные данные свидетельствуют о необходимости поддержки баланса КМ.

Кишечная палочка, рассматриваемая как пробиотический микроорганизм, в норме должна иметь титр 10^7 - 10^8 КОЕ/мл. Существует огромное количество разновидностей кишечной палочки, при этом некоторые штаммы могут быть энтеровирулентными. При сдвиге спектра штаммов кишечной палочки в сторону энтеровирулентных штаммов может развиваться дисбактериоз. Соответственно, наиболее эффективным способом поддержания микробиологического «здоровья» кишечника является применение пробиотических препаратов, основанных на непатогенных коммерческих штаммах *E. coli* или на аутологичных неэнтеровирулентных штаммах. При таком подходе количество энтеровирулентных штаммов будет

низким и не будет провоцировать развитие дисбиозов. Что касается взаимосвязи афамин и кишечной палочки, то положительная корреляция может указывать на преобладание в КМ испытательниц энтеровирулентных штаммов. Этот вопрос требует тщательной проработки в целях выявления взаимосвязи данного белка с энтеровирулентными штаммами и в случае, если выдвинутое нами предположение верно, полученные данные могут быть использованы в качестве способа клинического выявления энтеровирулентных штаммов кишечной палочки по уровню афамин. При этом остаётся открытым вопрос об отрицательной корреляции другого представителя семейства *Enterobacteriaceae*, энтеробактерий, и *S. aureus* с афамином, поскольку, учитывая имеющиеся в литературе данные, логично было бы предположить также положительную корреляцию данных бактерий с AFM.

Аналогично, вероятно, обосновывается и положительная корреляция белка, кодируемого геном IGFALS, который связывается с инсулиноподобными факторами роста, увеличивая период их полураспада и сосудистую локализацию.

Белок COPS5 является частью сигнального комплекса COP9 (CSN), участвующего в различных процессах и, в частности, являющегося важным регулятором конъюгации убиквитина. Этот комплекс также способствует протеасомной деградации BRSK2. Корреляция данного белка с рассматриваемыми бактериями, вероятно, связана с тем, что он вовлечён в процессы убиквитинирования и протеасомной регуляции.

Белки, неклассифицированные в зависимости от места экспрессии и функций. С количеством *E. coli* положительно коррелировали 4 белка, которые не были отнесены ни в одну из категорий, рассматриваемых выше. С ними же отрицательно коррелировало количество *Enterobacter* и *S. aureus*.

Известно, белок ITIN4 вовлечён в развитие воспалений при стрессе. Так, например, было обнаружено его увеличение в слюне свиней при инфицировании *S. suis* [21]. Также его количество в крови положительно коррелировало и с количеством бактерий-патогенов животных, таких как *Actinomyces pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* и *Peptostreptococcus indolicus* [22]. Полученные нами результаты противоречат имеющимся в литературе данным, поскольку в нашем исследовании положительная корреляция была отмечена с протективным микроорганизмом, в то время как с УПМ она была отрицательной. Возможно, механизм влияния изученных нами бактерий на белок ITIN4 отличается от тех, что были выявлены в перечисленных выше исследованиях. Данный вопрос требует дальнейшего более тщательного рассмотрения.

Взаимосвязь белка USP5 с количеством рассматриваемых бактерий, вероятно, связана с его вовлечённостью в систему убиквитинирования.

Белок THRВ является бета-рецептором гормона щитовидной железы и обладает высоким родством к гормонам щитовидной железы, трийодтиронину и тироксину, способствуя повышению их биологической

активности. Известно, что приём пробиотиков оказывает благотворное действие на гормоны щитовидной железы и её функционирование в целом. Похоже, что одним из механизмов, стоящих за данным фактом, является влияние бактериального сообщества на отдельные белки, связанные с гормонами щитовидной железы, в частности, на белок THRβ.

ADD2 белок, ассоциированный с мембрано-цитоскелетом, который способствует сборке спектрин-актиновой цепи, связывается с рецепторами эритроцитов и с кальмодулином. Учитывая функции данного белка, корреляция с *E. coli*, скорее всего, является случайной.

Механизмы взаимосвязей динамики КМ и белков крови в условиях «сухой» иммерсии

Иммерсионное воздействие, используемое как модель физиологических эффектов невесомости, оказывает влияние на КМ. Можно полагать, что это воздействие опосредуется, как минимум, двумя изменениями в организме человека, характерными для иммерсионного эксперимента — гиперволемией и застойными явлениями в спланхническом бассейне и модификацией метаболизма, с уменьшением потребности наиболее метаболически активной ткани — мышечной — в липидных субстратах [23]. Через регуляторные механизмы, направленные на адаптацию функций ЖКТ к новым условиям, это может вовлекать и КМ.

«Сухая» иммерсия, без сомнения, оказывает влияние и на ряд белков. Так, например, ангиотензин, участвующий в поддержании артериального давления и гомеостаза жидкости, вероятно, влияет на механизмы, поддерживающие полнокровие спланхнического бассейна. Было показано, что в иммерсии снижается метаболическая ёмкость печени, а также появляются признаки полнокровия в венозной системе брюшной полости [24]. Учитывая то, что сывороточный альбумин синтезируется в печени и на 80% определяет коллоидно-осмотическое давление плазмы, изменения в уровне альбумина могут быть также связаны с влиянием иммерсионного воздействия. Так, согласно полученным нами данным, КМ и протеом крови хозяина оказываются тесно взаимосвязаны друг с другом, причем характер связи зависит как от функций конкретного белка, так и от особенностей метаболизма и функций бактерии.

Взаимодействие «белок — бактерия» через слизь кишечника. Одним из механизмов взаимодействия КМ и хозяина является изменение свойств кишечной слизи и эпителиальных клеток. Известно, что некоторые бактерии используют полисахариды слизи, а также влияют на дифференцировку бокаловидных клеток и ряд клеточных процессов, например, синтез муцина и гликозилирование в эпителиальных клетках толстой кишки [25]. Экспрессия, секреция и активность антимикробных пептидов эпителия хозяина жестко контролируются множеством регуляторных механизмов с положительной и отрицательной обратной связью в клетках Paneth, участвуя в регуляции защиты слизистой оболочки. Показано, что слизистая оболочка толстой кишки

животных-мутантов по PPAR γ (рецептор пролифератора пероксисом) демонстрирует дефектное уничтожение нескольких основных компонентов КМ, включая *E. coli* [26].

В нашем исследовании было выявлено, что экспрессирующиеся в клетках слизистой кишечника и играющие важную роль в процессах протеостаза белки протеасомного комплекса (PSMA2, PSMC3), также тесно взаимосвязаны с количеством исследуемых бактерий. Таким образом, некоторые условно-патогенные бактерии кишечника могут быть вовлечены в сборку и функционирование протеасом, что может повлечь за собой развитие воспалительных заболеваний кишечника.

Взаимодействие «белок — бактерия», опосредованное модификацией метаболизма во время «сухой» иммерсии. Кишечный тракт человека является одним из основных каналов обмена веществ между организмом и внешним миром. Он выполняет не только барьерную функцию, но и поддерживает тесный диалог с источниками питательных веществ и микробными симбионтами, которые помогают в усвоении пищевых продуктов. Так, белки, связывающие жирные кислоты (такие, как FABP4), являются членами семейства внутриклеточных липидных шаперонов. Они обильно экспрессируются в подмножестве эндотелиальных клеток, таких как клетки крипт эпителия кишечника. В этих типах клеток липидные шапероны выполняют ряд функций, включая регуляцию глюкозы, липидного обмена и воспаления, выживания клеток и их пролиферации. В циркулирующей крови эти белки также связаны с несколькими аспектами метаболического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний, являясь важнейшими медиаторами метаболизма и воспалительных процессов, как местных, так и системных. Модификация метаболизма липидных субстратов, вызываемая иммерсионным воздействием, необходимо затрагивает и кишечных симбионтов — снижение количества *E. coli* и увеличение количества *S. aureus* и *Enterobacter spp.*

Показано, что УПМ и патогенные микроорганизмы участвуют в стимуляции оксидативного стресса в клетках кишечника, что напрямую влияет на формирование микроокружения. Так, например, количество облигатно анаэробных микроорганизмов может снижаться в случае образования активных форм кислорода, при этом преимущество будут иметь факультативные анаэробы, например, *E. coli*.

Взаимодействие «белок — бактерия» через рецепторы и клетки иммунной системы. В ряде источников отмечена большая роль кишечных интраэпителиальных лимфоцитов, поддерживающих гомеостаз кишечника на фоне постоянного воздействия на эпителиальный барьер кишечника антигенов как пищевого, так и микробного происхождения [27]. Отдельного внимания в этой связи заслуживают взаимоотношения бактерий с эпителиальными клетками за счёт врождённых иммунных рецепторов TLR. При нарушении распознавания бактериальных клеток происходит нарушение сли-

зистой эпителии, что может привести к развитию хронических вялотекущих воспалительных заболеваний, трудно поддающихся лечению из-за увеличения количества врождённых лимфоидноподобных клеток с отрицательной линией Scd1+Thy1 [6]. Некоторые исследованные белки, такие как LTF (лактотрансферрин), АРОВ (аполипопротеин), тесно взаимосвязаны с иммунной функцией кишечного биотопа. Экспрессируясь в клетках эпителии, например, белок LTF проявляет сильную антибактериальную и антифунгальную активность в отношении многих бактерий и грибов, например, *S. epidermidis*, *Helicobacter pylori*, *C. Albicans* [28]. В проведённых ранее исследованиях было выявлено, что мыши с дефицитом аполипопротеина в плазме, кодируемого геном АРОВ, были восприимчивы к инвазии *S. aureus* [29].

Отдельного внимания заслуживают данные о влиянии некоторых белков на иммунные клетки, например, стимуляция фагоцитоза или усиление активности нейтрофилов и макрофагов. Кроме того, недавняя работа Y. Yan и соавт. [30] устанавливает существование трехкомпонентного перекрестного тесного взаимодействия между кишечной микробиотой, энтеральными нейронами и Тreg-клетками, взаимодействие, которое модулирует гомеостатические настройки. Регуляторные Т-клетки (Тreg), локализующиеся в собственной пластинке толстой кишки, являются подмножеством CD4+ Т-клеток, которые контролируют врожденные и адаптивные иммунные реакции.

Прямое взаимодействие белка и бактерии. Ещё одна группа белков, выявленная в нашем исследовании — белки, непосредственно взаимодействующие с определёнными бактериями. Например, фумараза, как было выявлено в ранее проводившемся исследовании, способна напрямую использоваться в качестве сигнальной молекулы для активации экспрессии гена вирулентности энтерогеморрагическими штаммами *E. coli* [8]. Это может послужить отправной точкой для более детального исследования с определением генов патогенности в образцах кишечной микробиоты у испытуемых и подтверждением или опровержением данного тезиса.

Опосредованное взаимодействие «белок — бактерия» через функции пищеварительных желез. Ряд белков, как было выявлено в нашем исследовании, взаимодействует с бактериями опосредовано через изменение цепи биохимических процессов, начиная с локуса экспрессии данных белков в клетках пищеварительных желез. Например, стоматин секретируется в составе желчи, карбонангидраза I — клетками либеркюновы желез тонкой и толстой кишки, фиброген бетта-полипептид, ангиотензин, транскортин, серпин F1 — печенью.

Тем не менее, точные механизмы белок-бактериального взаимодействия во многом остаются неясными. Некоторые взаимосвязи могут быть объяснены воздействием на эпителиальные клетки кишечника и, соответственно, локальным снижением рисков развития микробной инфекции (т.е. совмещением механизмов

взаимодействия «иммунная система» и «слизистая кишечника»). Некоторые связаны с вовлечением данных белков в процессы метаболизма и, соответственно, изменением микроокружения в кишечнике.

Таким образом, взаимодействие ряда белков с бактериями кишечной группы может быть обусловлено как влиянием на микроокружение, например, изменение свойств слизистой или непосредственным влиянием на эпителиальные клетки кишечника, так и может быть опосредованным через иммунные функции клеток кишечника или ряд биохимических процессов, происходящих в клетках пищеварительных желез.

Однако биохимические механизмы взаимосвязи некоторых белков и бактерий остаются не понятыми до конца. Как было отмечено в данной литературе, так и в нашем исследовании, некоторые условно-патогенные микроорганизмы тесно взаимосвязаны с уровнем сывороточного альбумина. Была найдена связь флотилина с колоректальным раком, что, очевидно, указывает на его особое вовлечение в процессы дифференциации и роста клеток эпителии кишечника, однако природа корреляции данного белка с изученными нами бактериями остаётся неясной.

В свете полученных данных необходимо дальнейшее пристальное изучение взаимосвязи «белок-бактерия» и углубление полученных знаний, например, исследованием бактерий на выявление у них островков патогенности или организацией экспериментов, в которых можно было бы более чётко отследить все этапы биохимического превращения отдельных белков и их влияние на КМ.

Полученные данные имеют практическую значимость для здравоохранения. Понимание характера и механизмов взаимосвязи белков крови и бактерий кишечного биотопа может помочь как с точки зрения диагностики, так и сформировать необходимую базу для тонкой фармакологической коррекции как дисбиотических состояний (путём влияния на КМ белкового компонента крови), так и патологических состояний, выявляемых по белковому профилю крови, с помощью применения бактериальных пробиотических средств.

Заключение

В результате проведённых исследований была выявлена положительная корреляция между количеством *E. coli* и отрицательная — между количеством *S. aureus* и *Enterobacter spp.* в КМ и уровнем ряда белков в крови. Выявленные белки, участники значимых корреляций, можно разделить на несколько групп в зависимости от их функций и локуса экспрессии, причём зачастую белки входят в несколько групп одновременно: 11 экспрессируются в клетках желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), 22 — в клетках желез пищеварительной системы. В целом по их функции белки можно разделить на две группы: структурные и метаболические. Полученные данные свидетельствуют о существовании тесной

взаимосвязи, под действием факторов «сухой» иммерсии, бактериальной флоры кишечника и протеомного профиля крови, осуществляемой как прямо, так и при посредничестве клеток ЖКТ и печени. Изучение механизмов, лежащих в основе этой взаимосвязи, в перспективе, кроме получения результатов фундаментального значения, будет способствовать выявлению важных диагностических признаков для выявления дисбиотических состояний кишечного биотопа.

Список литературы

- Оришак Е.А., Нилова Л.Ю., Авалуева Е.Б., Бойцов А.Г. Условно-патогенные микроорганизмы при дисбактериозе кишечника. *Учёные записки Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова*. 2010; 17(2): 24–27.
- Hou K., Wu Z.X., Chen X.Y., Wang J.Q., Zhang D., Xiao C., Zhu D., Koya J.B., Wei L., Li J., Chen Z.S. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct. Target Ther.* 2022; 7(1): 135. DOI: 10.1038/s41392-022-00974-4
- Hamm P.B., Nicogossian A.E., Pool SL, Wear ML, Billica RD. Design and current status of the longitudinal study of astronaut health. *Aviat. Space Environ. Med.* 2000; 71(6): 564–570.
- Tomilovskaya E., Amirova L., Nosikova I., Rukavishnikov I., Chernogorov R., Lebedeva S., Saveko A., Ermakov I., Ponomarev I., Zelenskaya I., Shigueva T., Shishkin N., Kitov V., Riabova A., Brykov V., Abu Sheli N., Vassilieva G., Orlov O. The First Female Dry Immersion (NAIAD-2020): Design and Specifics of a 3-Day Study. *Front Physiol.* 2021; 12: 661959. DOI: 10.3389/fphys.2021.661959
- Kashirina D., Brzhozovskiy A., Sun W., Pastushkova L., Popova O., Rusanov V., Nikolaev E., Larina I., Kononikhin A. Proteomic characterization of dry blood spots of healthy women during simulation the microgravity effects using dry immersion. *Front. Physiol.* 2022; 12: 75329. DOI: 10.3389/fphys.2021.753291.
- Ильин В.К., Крюков А.И., Воложин А.И., Истратов Л.П., Истратова Е.В., Кирюхина Н.В., Старкова Л.В., Морозова Ю.А., Усанова Н.А. Исследование дисбиоза, развивающегося в условиях «сухой» иммерсии, и методы его коррекции. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2008; 42(5): 70–74.
- Otterburn D.M., Arthur L.G., Timmapuri S.J., McCahan S.M., Schwartz M.Z. Proteasome gene upregulation: a possible mechanism for intestinal adaptation. *J. Pediatr. Surg.* 2005; 40(2): 377–80. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2004.10.024
- Mohapatra G., Eisenberg-Lerner A., Merbl Y. Gatekeepers of the Gut: The Roles of Proteasomes at the Gastrointestinal Barrier. *Biomolecules*. 2021; 11(7): 989. DOI: 10.3390/biom11070989
- Kamdar K., Johnson A.M.F., Chac D., Myers K., Kulur V., Truevillian K., DePaolo R.W. Innate Recognition of the Microbiota by TLR1 Promotes Epithelial Homeostasis and Prevents Chronic Inflammation. *J. Immunol.* 2018; 201(1): 230–242. DOI: 10.4049/jimmunol.1701216
- Kunst C., Schmid S., Michalski M., Tümen D., Buttenschön J., Müller M., Gülow K. The Influence of Gut Microbiota on Oxidative Stress and the Immune System. *Biomedicines*. 2023; 11(5): 1388. DOI: 10.3390/biomedicines11051388
- He X., Mishchuk D.O., Shah J., Weimer B.C., Slupsky C.M. Cross-talk between E. coli strains and a human colorectal adenocarcinoma-derived cell line. *Sci. Rep.* 2013; 3: 3416. DOI: 10.1038/srep03416
- Zhang S., Wang J., Chen T., Wang J., Wang Y., Yu Z., Zhao K., Zheng K., Chen Y., Wang Z., Li B., Wang C., Huang W., Fu Z., Chen J. α -Actinin1 promotes tumorigenesis and epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer via the AKT/GSK3 β / β -Catenin pathway. *Bioengineered*. 2021; 12(1): 5688–5704. DOI: 10.1080/21655979.2021.1967713
- Knowles C.H., Silk D.B., Darzi A., Veress B., Feakins R., Raimundo A.H., Crompton T., Browning E.C., Lindberg G., Martin J.E. De-ranged smooth muscle alpha-actin as a biomarker of intestinal pseudo-obstruction: a controlled multinational case series. *Gut*. 2004; 53(11): 1583–1589. DOI: 10.1136/gut.2003.037275
- Radocchia G., Marazzato M., Harbi K.B., Capuzzo E., Pantanello F., De Giorgio R., Guarino M., Costanzini A., Zenzeri L., Parisi P., Ferretti A., Felici E., Palamara A.T., Di Nardo G., Schippa S. Chronic intestinal pseudo-obstruction: associations with gut microbiota and genes expression of intestinal serotonergic pathway. *BMC Microbiol.* 2024; 24(1): 48. DOI: 10.1186/s12866-024-03200-z
- Tian N., Yan Y., Chen N., Xu S., Chu R., Wang M., Duan S., Ren H., Song S., Wang L., Ma X., Xu M., Na L., Chen M., Li P.K. Relationship between gut microbiota and nutritional status in patients on peritoneal dialysis. *Sci. Rep.* 2023; 13(1): 1572. DOI: 10.1038/s41598-023-27919-3
- Baig N., Li Z., Lu J., Chen H., Yu S., Li T., Niu Z., Niu J. Clinical significance and comparison of flotillin 1 expression in left and right colon cancer. *Oncol. Lett.* 2019; 18(2): 997–1004. DOI: 10.3892/ol.2019.10401
- Guan Z., Jin X., Guan Z., Liu S., Tao K., Luo L. The gut microbiota metabolite capsiate regulate SLC2A1 expression by targeting HIF-1 α to inhibit knee osteoarthritis-induced ferroptosis. *Aging Cell.* 2023; 22(6): e13807. DOI: 10.1111/acer.13807
- Дмитриев А.Л. Нарушение метаболизма в хрящевой и костной ткани при гипокинезии и дегенеративно-дистрофических заболеваниях опорно-двигательного аппарата. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2010; 3(31): 20–23.
- Arslan N. Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(44): 16452–16463. DOI: 10.3748/wjg.v20.i44.16452
- Befus M., Lowy F.D., Miko B.A., Mukherjee D.V., Herzog C.T., Larson E.L. Obesity as a Determinant of Staphylococcus aureus Colonization Among Inmates in Maximum-Security Prisons in New York State. *Am. J. Epidemiol.* 2015; 182(6): 494–502. DOI: 10.1093/aje/kwv062
- López-Martínez M.J., Ornelas M.A.S., Amarie R.E., Manzanilla E.G., Martínez-Subiela S., Tecles F., Tvarijonaviciute A., Escribano D., González-Bulnes A., Cerón J.J., López-Arjona M., Muñoz-Prieto A. Changes in salivary biomarkers of stress, inflammation, redox status, and muscle damage due to Streptococcus suis infection in pigs. *BMC Vet. Res.* 2023; 19(1): 100. DOI: 10.1186/s12917-023-03650-z
- Piñeiro M., Andrés M., Iturralde M., Carmona S., Hirvonen J., Pyörälä S., Heegaard P.M., Tjørnehoj K., Lampreaue F., Piñeiro A., Alava M.A. ITIH4 (inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4) is a new acute-phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infect. Immun.* 2004; 72(7): 3777–3782. DOI: 10.1128/IAI.72.7.3777-3782.2004
- Афонин Б.В., Ермоленко А.Е., Иноземцев С.Л. Функциональное состояние печени при моделировании гемодинамических эффектов невесомости в организме человека. *Физиология человека*. 2012; 38(4): 108–113.
- Соловьёва А.А., Седова Е.А., Томиловская Е.С., Шигуева Т.А., Афонин Б.В. Функциональная активность печени в условиях иммерсии и влияние на неё средств профилактики. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2014; 48(2): 15–23.
- Wrzosek L., Miquel S., Noordine M.L., Bouet S., Joncquel Chevalier-Curt M., Robert V., Philippe C., Bridonneau C., Cherbuy C., Robbe-Masselot C., Langella P., Thomas M. Bacteroides thetaiotaomicron and Faecalibacterium prausnitzii influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol.* 2013; 11: 61. DOI: 10.1186/1741-7007-11-61
- Peyrin-Biroulet L., Beisner J., Wang G., Nuding S., Oommen S.T., Kelly D., Parmentier-Decrucq E., Dessein R., Merour E., Chavatte P., Grandjean T., Bressenot A., Desreumaux P., Colombel J.F., Desvergne B., Stange E.F., Wehkamp J., Chamailard M. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation is required for maintenance of innate antimicrobial immunity in the colon. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010; 107(19): 8772–8777. DOI: 10.1073/pnas.0905745107
- Ono K., Sujino T., Miyamoto K., Harada Y., Kojo S., Yoshimatsu Y., Tanemoto S., Koda Y., Zheng J., Sayama K., Koide T., Teratani T., Mikami Y., Takabayashi K., Nakamoto N., Hosoe N., London M., Ogata H., Mucida D., Taniuchi I., Kanai T. Downregulation of chemokine receptor 9 facilitates CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ intraepithelial lymphocyte development. *Nat. Commun.* 2023; 14(1): 5152. DOI: 10.1038/s41467-023-40950-2
- Xu Y., Wang Y., He J., Zhu W. Antibacterial properties of lactoferin: A bibliometric analysis from 2000 to early 2022. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 947102. DOI: 10.3389/fmicb.2022.947102
- Schmitz-Linneweber C., Small I. Pentatricopeptide repeat proteins: a socket set for organelle gene expression. *Trends Plant. Sci.* 2008; 13(12): 663–670. DOI: 10.1016/j.tplants.2008.10.001
- Yan Y., Ramanan D., Rozenberg M., McGovern K., Rastelli D., Vijaykumar B., Yaghi O., Voisin T., Mosaheb M., Chiu I., Itzkovitz

S., Rao M., Mathis D., Benoist C. Interleukin-6 produced by enteric neurons regulates the number and phenotype of microbe-responsive regulatory T cells in the gut. *Immunity*. 2021; 54(3): 499–513.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2021.02.002

References

- Orishak E.A., Nilova L.Yu., Avalueva E.B., Boytsov A.G. [Opportunistic microorganisms in intestinal dysbiosis]. *Uchonyye zapiski Pervogo Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni akademika I.P. Pavlova [The Scientific Notes of the Pavlov University]*. 2010; 17(2): 24–27. (in Russian)
- Hou K., Wu Z.X., Chen X.Y., Wang J.Q., Zhang D., Xiao C., Zhu D., Koya J.B., Wei L., Li J., Chen Z.S. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct. Target Ther.* 2022; 7(1): 135. DOI: 10.1038/s41392-022-00974-4
- Hamm P.B., Nicogossian A.E., Pool SL, Wear ML, Billica RD. Design and current status of the longitudinal study of astronaut health. *Aviat. Space Environ. Med.* 2000; 71(6): 564–570.
- Tomilovskaya E., Amirova L., Nosikova I., Rukavishnikov I., Chernogorov R., Lebedev S., Saveko A., Ermakov I., Ponomarev I., Zelenskaya I., Shigueva T., Shishkin N., Kitov V., Riabova A., Brykov V., Abu Sheli N., Vassilieva G., Orlov O. The First Female Dry Immersion (NAIAD-2020): Design and Specifics of a 3-Day Study. *Front Physiol.* 2021; 12: 661959. DOI: 10.3389/fphys.2021.661959
- Kashirina D., Brzhozovskiy A., Sun W., Pastushkova L., Popova O., Rusanov V., Nikolaev E., Larina I., Kononikhin A. Proteomic characterization of dry blood spots of healthy women during simulation of the microgravity effects using dry immersion. *Front. Physiol.* 2022; 12: 75329. DOI: 10.3389/fphys.2021.753291.
- Ilyin V.K., Kryukov A.I., Volozhin A.I., Istranova E.V., Istranova E.V., Kiryukhina N.V., Starkova L.V., Morozova Yu.A., Usanova N.A. [Study of dysbiosis developing under “dry” immersion conditions and methods for its correction]. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine]*. 2008; 42(5): 70–74. (in Russian)
- Otterburn D.M., Arthur L.G., Timmapuri S.J., McCahan S.M., Schwartz M.Z. Proteasome gene upregulation: a possible mechanism for intestinal adaptation. *J. Pediatr. Surg.* 2005; 40(2): 377–80. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2004.10.024
- Mohapatra G., Eisenberg-Lerner A., Merbl Y. Gatekeepers of the Gut: The Roles of Proteasomes at the Gastrointestinal Barrier. *Bio-molecules*. 2021; 11(7): 989. DOI: 10.3390/biom11070989
- Kamdar K., Johnson A.M.F., Chac D., Myers K., Kulur V., Truevillian K., DePaolo R.W. Innate Recognition of the Microbiota by TLR1 Promotes Epithelial Homeostasis and Prevents Chronic Inflammation. *J. Immunol.* 2018; 201(1): 230–242. DOI: 10.4049/jimmunol.1701216
- Kunst C., Schmid S., Michalski M., Tümen D., Buttenschön J., Müller M., Gülow K. The Influence of Gut Microbiota on Oxidative Stress and the Immune System. *Biomedicines*. 2023; 11(5): 1388. DOI: 10.3390/biomedicines11051388
- He X., Mishchuk D.O., Shah J., Weimer B.C., Slupsky C.M. Cross-talk between E. coli strains and a human colorectal adenocarcinoma-derived cell line. *Sci. Rep.* 2013; 3: 3416. DOI: 10.1038/srep03416
- Zhang S., Wang J., Chen T., Wang J., Wang Y., Yu Z., Zhao K., Zheng K., Chen Y., Wang Z., Li B., Wang C., Huang W., Fu Z., Chen J. α -Actinin1 promotes tumorigenesis and epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer via the AKT/GSK3 β / β -Catenin pathway. *Bioengineered*. 2021; 12(1): 5688–5704. DOI: 10.1080/21655979.2021.1967713
- Knowles C.H., Silk D.B., Darzi A., Veress B., Feakins R., Raimundo A.H., Crompton T., Browning E.C., Lindberg G., Martin J.E. De-ranged smooth muscle alpha-actin as a biomarker of intestinal pseudo-obstruction: a controlled multinational case series. *Gut*. 2004; 53(11): 1583–1589. DOI: 10.1136/gut.2003.037275
- Radocchia G., Marazzato M., Harbi K.B., Capuzzo E., Pantanello F., De Giorgio R., Guarino M., Costanzini A., Zenzeri L., Parisi P., Ferretti A., Felici E., Palamara A.T., Di Nardo G., Schippa S. Chronic intestinal pseudo-obstruction: associations with gut microbiota and genes expression of intestinal serotonergic pathway. *BMC Microbiol.* 2024; 24(1): 48. DOI: 10.1186/s12866-024-03200-z
- Tian N., Yan Y., Chen N., Xu S., Chu R., Wang M., Duan S., Ren H., Song S., Wang L., Ma X., Xu M., Na L., Chen M., Li P.K. Relationship between gut microbiota and nutritional status in patients on peritoneal dialysis. *Sci. Rep.* 2023; 13(1): 1572. DOI: 10.1038/s41598-023-27919-3
- Baig N., Li Z., Lu J., Chen H., Yu S., Li T., Niu Z., Niu J. Clinical significance and comparison of flotillin 1 expression in left and right colon cancer. *Oncol. Lett.* 2019; 18(2): 997–1004. DOI: 10.3892/ol.2019.10401
- Guan Z., Jin X., Guan Z., Liu S., Tao K., Luo L. The gut microbiota metabolite capsiate regulate SLC2A1 expression by targeting HIF-1 α to inhibit knee osteoarthritis-induced ferroptosis. *Aging Cell.* 2023; 22(6): e13807. DOI: 10.1111/acel.13807
- Dmitriev A.L. [Metabolic disorders in cartilage and bone tissue during hypokinesia and degenerative diseases of the musculoskeletal system]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta [Journal of the Grodno State Medical University]*. 2010; 3(31): 20–23. (in Russian)
- Arslan N. Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(44): 16452–16463. DOI: 10.3748/wjg.v20.i44.16452
- Befus M., Lowy F.D., Miko B.A., Mukherjee D.V., Herzog C.T., Larson E.L. Obesity as a Determinant of Staphylococcus aureus Colonization Among Inmates in Maximum-Security Prisons in New York State. *Am. J. Epidemiol.* 2015; 182(6): 494–502. DOI: 10.1093/aje/kwv062
- López-Martínez M.J., Ornelas M.A.S., Amarie R.E., Manzanilla E.G., Martínez-Subiela S., Tecles F., Tvarijonaviciute A., Escribano D., González-Bulnes A., Cerón J.J., López-Arjona M., Muñoz-Prieto A. Changes in salivary biomarkers of stress, inflammation, redox status, and muscle damage due to Streptococcus suis infection in pigs. *BMC Vet. Res.* 2023; 19(1): 100. DOI: 10.1186/s12917-023-03650-z
- Piñero M., Andrés M., Iturralde M., Carmona S., Hirvonen J., Pyörälä S., Heegaard P.M., Tjørnehoj K., Lampreave F., Piñero A., Alava M.A. ITIH4 (inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4) is a new acute-phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infect. Immun.* 2004; 72(7): 3777–3782. DOI: 10.1128/IAI.72.7.3777-3782.2004
- Afonin B.V., Ermolenko A.E., Inozemtsev S.L. [Functional state of the liver when modeling the hemodynamic effects of weightlessness in the human body]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2012; 38(4): 108–113. (in Russian)
- Solovyova A.A., Sedova E.A., Tomilovskaya E.S., Shigueva T.A., Afonin B.V. [Functional activity of the liver under immersion conditions and the effect of preventive measures on it]. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine]*. 2014; 48(2): 15–23. (in Russian)
- Wrzosek L., Miquel S., Noordine M.L., Bouet S., Joncquel Chevalier-Curt M., Robert V., Philippe C., Bridonneau C., Cherbuy C., Robbe-Masselot C., Langella P., Thomas M. Bacteroides thetaiotaomicron and Faecalibacterium prausnitzii influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol.* 2013; 11: 61. DOI: 10.1186/1741-7007-11-61
- Peyrin-Biroulet L., Beisner J., Wang G., Nuding S., Oommen S.T., Kelly D., Parmentier-Decrucq E., Dessen R., Merour E., Chavatte P., Grandjean T., Bressnot A., Desreumaux P., Colombel J.F., Desvergne B., Stange E.F., Wehkamp J., Chamailard M. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation is required for maintenance of innate antimicrobial immunity in the colon. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010; 107(19): 8772–8777. DOI: 10.1073/pnas.0905745107
- Ono K., Sujino T., Miyamoto K., Harada Y., Kojo S., Yoshimatsu Y., Tanemoto S., Koda Y., Zheng J., Sayama K., Koide T., Teratani T., Mikami Y., Takabayashi K., Nakamoto N., Hosoe N., London M., Ogata H., Mucida D., Taniuchi I., Kanai T. Downregulation of chemokine receptor 9 facilitates CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ intraepithelial lymphocyte development. *Nat. Commun.* 2023; 14(1): 5152. DOI: 10.1038/s41467-023-40950-2
- Xu Y., Wang Y., He J., Zhu W. Antibacterial properties of lactoferrin: A biometric analysis from 2000 to early 2022. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 947102. DOI: 10.3389/fmicb.2022.947102
- Schmitz-Linneweber C., Small I. Pentatricopeptide repeat proteins: a socket set for organelle gene expression. *Trends Plant. Sci.* 2008; 13(12): 663–670. DOI: 10.1016/j.tplants.2008.10.001
- Yan Y., Ramanan D., Rozenberg M., McGovern K., Rastelli D., Vijaykumar B., Yaghi O., Voisin T., Mosaheb M., Chiu I., Itzkovitz S., Rao M., Mathis D., Benoist C. Interleukin-6 produced by enteric neurons regulates the number and phenotype of microbe-responsive regulatory T cells in the gut. *Immunity*. 2021; 54(3): 499–513.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2021.02.002

Сведения об авторах:

Комиссарова Дарья Валерьевна — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией эколого-гигиенических факторов обитаемости Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0001-6374-4515>

Ларина Ирина Михайловна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией протеомики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0001-6783-4200>

Каширина Дарья Николаевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории протеомики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0002-9646-7275>

Усанова Нонна Альбертовна — старший научный сотрудник лаборатории микробной экологии человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0002-8485-4470>

Пастушкова Людмила Ханифовна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории протеомики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0002-2071-0443>

Ильин Вячеслав Константинович — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделом санитарно-гигиенической безопасности человека в искусственной среде обитания, заведующий лабораторией микробной экологии человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0003-3896-5003>