

**ВЗАИМОСВЯЗЬ *E.COLI*, *ENTEROBACTER SPP* И *S.AUREUS*,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ, С БЕЛКАМИ
КРОВИ, СВЯЗАННЫМИ С ИММУННОЙ СИСТЕМОЙ И
ИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ВО ВРЕМЯ 3-СУТОЧНОЙ
«СУХОЙ» ИММЕРСИИ**

Комиссарова Д. В. ¹,

Ларина И. М. ¹,

Пастушкова Л. Х. ¹,

Каширина Д. Н. ¹,

Усанова Н. А. ¹,

Ильин В. К. ¹

¹ Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук.

**RELATIONSHIP BETWEEN *E.COLI*, *ENTEROBACTER SPP* AND
S.AUREUS ISOLATED FROM INTESTINAL MICROFLORA AND BLOOD
PROTEINS ASSOCIATED WITH THE IMMUNE SYSTEM AND
INFECTIOUS DISEASES DURING 3-DAY DRY IMMERSION**

Komissarova D. V. ^a,

Larina I. M. ^a,

Pastushkova L. H. ^a,

Kashirina D. N. ^a,

Usanova N. A. ^a,

Ilyin V. K. ^a

^a State Scientific Center of the Russian Federation - Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences.

Резюме

«Сухая» иммерсия является одним из методов имитации ряда факторов космического полёта. В проводимых ранее исследованиях микробиоты кишечника у испытуемых в «сухой» иммерсии было выявлено существенное ухудшение состояния микрофлоры. В то же время показано, что регуляторные и метаболические изменения, происходящие во время «сухой» иммерсии, отражаются и на белковом составе крови. Целью настоящего исследования являлось изучение механизмов положительной корреляции количества *E. coli* и отрицательной корреляции *S. aureus* и *Enterobacter spp*, находящихся в кишечнике, с количеством белков в крови человека, изученных с помощью методов протеомики на основе масс-спектрометрии, в эксперименте с 3-суточной «сухой» женской иммерсией. В эксперименте с «сухой» иммерсией продолжительностью 3 суток приняли участие 6 женщин-добровольцев в возрасте от 25 до 40 лет. Во время эксперимента испытуемые не принимали антибактериальные препараты и иные средства, способные оказать влияние на микрофлору. Однократно за 1-2 суток до начала эксперимента и однократно на 1-3 сутки после окончания «сухой» иммерсии отбирались пробы фекалий, в которых оценивалось количество микроорганизмов. Образцы капиллярной крови были получены методом прокола концевой фаланги безымянного пальца у добровольцев за 2 дня до начала эксперимента, в 1, 2 и 3 сутки во время сухой иммерсии и через 2 дня после ее окончания. Биоматериал анализировался хромато-масс-спектрометрическим методом на масс-спектрометре TimsTOF Pro (Bruker Daltonics, США). Связь между уровнем белков в образцах и численностью микроорганизмов кишечника была описана с помощью регрессионной модели, где в качестве зависимой переменной выступал определённый белок в крови, а в качестве независимой – количество микроорганизмов. Для обработки результатов использовалась программа STATISTICA 12.0. При анализе полученных данных было выявлено 30 белков, положительно коррелирующих с количеством *E. coli* и отрицательно – с

количеством *S. aureus* и *Enterobacter spp.* При рассмотрении процессов, в которые вовлечены белки в организме человека, они были разделены на несколько групп в зависимости от характера процессов и локуса экспрессии. В данной работе рассмотрены 6 белков, связанных с инфекционными заболеваниями (PSMA2, PSMC3, PSME2, NCKAP1, LTF, ENO1), и 10 белков, связанных с функциями иммунной системы (упомянутые выше PSMA2, PSMC3, PSME2, NCKAP1, LTF, а также белки CCT2, APOB, FGB, CA1, STOM). Таким образом, необходимо продолжение изучения механизмов, лежащих в основе этой взаимосвязи, и влияния на нее условий, моделирующих эффекты космического полета в интересах обеспечения медицинской безопасности космических полетов.

Ключевые слова: Кишечная микрофлора, протеомика, кишечная палочка, золотистый стафилококк, энтеробактерии, «сухая» иммерсия

Abstract

“Dry” immersion is one of the methods for simulating some factors of a space flight. Volunteer-derived intestinal microbiota previously studied by “dry” immersion showed profoundly deteriorated state of microflora and blood protein composition. The study was aimed to analyze mechanisms underlying a positive correlation with amount of intestinal *E. coli*, and negative correlation between *S. aureus* and *Enterobacter spp* with the number of human blood proteins assessed by proteomics methods based on mass spectrometry, in a 3-day experiment “dry” female immersion. 6 female volunteers aged from 25 to 40 years took part in the 3-days “dry” immersion experiment. During the experiment, the subjects did not take any drugs that could affect the microflora. Fecal samples were collected once per 1-2 days before the onset of the experiment and once on days 1-3 after the end of the “dry” immersion, number of microorganisms in the above-mentioned samples was assessed. Capillary blood samples were obtained by puncture of the terminal phalanx of the ring finger 2 days before the onset of the experiment, on day 1, 2 and 3 during dry immersion and 2 days afterwards. The relationship between the level of proteins in the samples and the number of intestinal microorganisms was described using a regression model in which the blood specific protein was a dependent variable, and the number of microorganisms was an independent variable. The STATISTICA 12.0 program was used for data processing. When analyzing the data obtained, 30 proteins were identified, which positively correlated with the amount of *E. coli* and negatively correlated with the amount of *S. aureus* and *Enterobacter spp*. While considering the events in which these proteins are involved in the human body, they were divided into several groups. In the current study, there were examined 6 proteins associated with infectious diseases (PSMA2, PSMC3, PSME2, NCKAP1, LTF, ENO1) and 10 immune-related proteins (the above-mentioned proteins, as well as CCT2, APOB, FGB, CA1, STOM). Thus, it is necessary to continue close examination of the mechanisms underlying this relationship in the interest of ensuring spaceflight medical safety.

Keywords: Intestinal microflora, *S. aureus*, Proteomics, *E.coli*, Enterobacter, “dry” immersion

1 Введение

Кишечная микробиота представлена огромным количеством различных микроорганизмов: бактерий, вирусов, некоторых эукариот. Соотношение различных микроорганизмов в кишечнике у каждого человека индивидуально, существуют виды, которые присутствуют практически у всех людей. В норме всех представителей кишечной микробиоты можно условно разделить на две группы: условно-патогенные (УПМ) и протективные (ПМ). К последним принято относить *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*, неэнтеровирулентные штаммы *E. coli*, *Enterococcus spp*. Условно-патогенные микроорганизмы в небольших титрах (как правило, до 10^4 КОЕ/мл) не вызывают проблем, но при уменьшении количества протективных микроорганизмов и, соответственно, снижении интенсивности конкуренции, могут активно размножаться, вызывая спектр дисбиотических состояний. [12] Исследования свидетельствуют, что ряд гастроэнтерологических заболеваний (например, воспалительные заболевания кишечника, неалкогольный стеатогепатит и новообразования желудочно-кишечного тракта) могут быть связаны с нарушением колонизационной резистентности кишечной микрофлоры. [14] Микробиота кишечника связана и с другими процессами. Она играет важную роль в формировании иммунных функций, поскольку принимает активное участие в развитии лимфоидных тканей, вносит непосредственный вклад в обмен многих веществ, в частности, витаминов и липидов. [3,11] Имеются также данные о взаимосвязи кишечной микробиоты и нервной системы за счёт производимых ею нейроактивных метаболитов. [4] Таким образом, изучение взаимосвязи микробиота-организм хозяина может служить пониманию как фундаментальных закономерностей функционирования организма человека, так и иметь практическое значение в терапии и коррекции определённых состояний.

Исследование протеома крови хозяина, в этой связи, имеет двойное значение. С одной стороны, количественный и качественный состав белков

30 внеклеточной жидкости свидетельствует о состоянии разнообразных
31 функций. С другой стороны, посредством влияния микробиоты на клетки
32 эпителия кишечника и его секреторные элементы ее компоненты способны
33 оказывать влияние на протеом хозяина. В отличие от привычной в протеомике
34 структуры молекулярных цепей (белок-белковые взаимодействия) влияние
35 такого рода может осуществиться через клетку: белок (или другой агент от
36 микробиоты)-клетка хозяина-протеом хозяина.

37 «Сухая» иммерсия является одним из методов имитации факторов (и
38 эффектов, вызываемых ими) космического полёта как гипогравитация,
39 опорная разгрузка, перераспределение жидких сред организма. [15] В
40 проводимых ранее исследованиях микробиоты кишечника у испытуемых в
41 «сухой» иммерсии было выявлено существенное ухудшение состояния
42 микрофлоры: увеличивалась доля УПМ, снижалось количество ПМ [6].

43 Считается, что определенный вклад в генез проблем с ЖКТ вносят
44 застойные явления в спланхническом бассейне, которые приводят к активации
45 желчеотделения с увеличением секрецией желчи с меньшей концентрацией в
46 ней желчных кислот [5], увеличению секреторной активности инсулярного
47 аппарата и пониженной секреции гастринина [1], а также замедлению скорости
48 детоксикационной активности печени [2]. Таким образом, изучение состояния
49 кишечного микробиома важно для поддержания здоровья участников
50 космических полётов, особенно длительных, когда воздействие стрессорных
51 факторов, таких как повышенная психоэмоциональная напряжённость,
52 гиподинамия, пребывание в течение длительного времени в замкнутом
53 пространстве космического корабля или станции, могут дестабилизировать
54 микрофлору ЖКТ.

55 В то же время показано, что регуляторные и метаболические изменения,
56 происходящие во время экспериментов с «сухой» иммерсией, отражаются на
57 белковом составе крови. Были показаны изменения уровня плазминогена,
58 фибронектина, других факторов свертывания и фибринолиза, повышение

59 содержания продуктов фибринолиза, активация системы комплемента [13].
60 Протеомные методы позволяют определить белки, реагирующие на сложный
61 комплекс факторов «сухой» иммерсии, и уточнить молекулярные механизмы
62 изменений в различных физиологических системах.

63 Целью настоящего исследования являлось изучение механизмов
64 положительной корреляции количества *E. coli* и отрицательной корреляции *S.*
65 *aureus* и *Enterobacter spp*, находящихся в кишечнике, с количеством белков в
66 крови человека, изученных с помощью методов протеомики на основе масс-
67 спектрометрии, в эксперименте с 3-сут «сухой» женской иммерсией.

68 2 Материалы и методы

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

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

87 Образцы капиллярной крови были получены методом прокола концевой
88 фаланги безымянного пальца у добровольцев за 2 дня до начала эксперимента,
89 в 1, 2 и 3 сутки во время «сухой» иммерсии и через 2 дня после ее окончания.
90 В настоящем исследовании использованы данные за 2 дня до начала иммерсии
91 и на 2 день после окончания эксперимента. Пробы были высушены при
92 комнатной температуре в течение 2 часов, а затем хранились при -20 °С.

93 Пробоподготовка биоматериала сухих пятен к хромато-масс-
94 спектрометрическому анализу заключалась в следующем: белки
95 экстрагировали в буфере, содержащем 25 мМ бикарбоната аммония, 1%
96 дезоксихолата натрия и 5 мМ ТСЕР (трис-(2-карбоксиэтил) фосфин
97 гидрохлорид) (Thermo Scientific), при температуре 60° С при 1 000 rpm
98 (термомиксер, Eppendorf) в течение 1 часа, затем восстанавливали,
99 алкилировали, осаждали и расщепляли трипсином, как описано в статье [25].

100 Смеси триптических пептидов разделяли с помощью жидкостной
101 хроматографии на основе нано-ВЭЖХ Dionex Ultimate3000 (Thermo Fisher
102 Scientific, США), затем анализировали на масс-спектрометре TimsTOF Pro
103 (Bruker Daltonics, США) с использованием метода параллельного накопления
104 при последовательной фрагментации (PASEF) [29].

105 Связь между уровнем белков в образцах и численностью
106 микроорганизмов кишечника была адекватно описана с помощью
107 регрессионной модели, в которой в качестве зависимой переменной выступал
108 определённый белок в крови, а качестве независимой – количество
109 микроорганизмов. [10] Для обработки результатов использовалась программа
110 STATISTICA 12.0. Для распределения белков в зависимости от характера
111 процессов, в которые они вовлечены, и локуса экспрессии использована
112 платформа String.db.

113 3 Результаты и обсуждение

114 При анализе полученных данных было выявлено 30 белков,
115 положительно коррелирующих с количеством *E. coli* и отрицательно – с

116 количеством *S. aureus* и *Enterobacter spp.* При рассмотрении процессов, в
117 которые вовлечены данные белки в организме человека, они были разделены
118 на несколько групп в зависимости от характера процессов, и локуса
119 экспрессии. В данной работе рассмотрены 6 белков, связанных с
120 инфекционными заболеваниями и 10 белков, связанных с функциями
121 иммунной системы.

122 Обозначенные выше категории, по которым были распределены белки,
123 используя возможности платформы String.db, были отобраны по
124 определённому принципу. Во-первых, поскольку исследовалась микрофлора
125 испытуемых в эксперименте «сухая» иммерсия, в котором, как известно,
126 функции системы иммунитета серьезно модифицируется [37], была выбрана
127 категория «иммунная система». Далее, поскольку *Enterobacter spp* и *S. aureus*
128 относятся к условно-патогенным микроорганизмам, была выбрана категория
129 «инфекционные заболевания». В зависимости от целей и задач анализа
130 взаимосвязи «бактерия-белок» могут быть выбраны и другие принципы
131 разделения белков на группы. Изучение глубинных механизмов взаимосвязей
132 «бактерия-белок», в котором, очевидно, необходимо рассматривать многие
133 функции конкретного белка и биохимические процессы бактерий в период
134 эксперимента, влекущие за собой изменения в количестве белка в крови
135 хозяина, ещё предстоит в будущих исследованиях.

136 **1. Белки, связанные с иммунными процессами**

137 Обращает на себя внимание тесная взаимосвязь трёх белков PSMA2,
138 PSMC3, PSME2, вовлечённых практически во все обозначенные процессы
139 (регуляция иммунного ответа, развитие инфекционных заболеваний).

140 PSMA2 является субъединицей протеасомы альфа-типа 2, компонентом
141 протеасомного комплекса 20S, участвующего в протеолитической деградации
142 большинства внутриклеточных белков. Этот белок имеет множество функций,
143 например, связываясь в клетке с двумя регуляторными частицами 19S, он

144 образует протеасому 26S и, таким образом, участвует в АТФ-зависимой
145 деградации убиквинтинированных белков.

146 PSMC3 является компонентом 26S протеасомы, мультибелкового
147 комплекса в АТФ-зависимой деградации убиквитинированных белков. Он
148 играет ключевую роль в механизме клеточного протеостаза, удаляя
149 неправильно свёрнутые или повреждённые белки, которые могут нарушить
150 работу клетки, а также белки, которые больше клетке не нужны. Изменения в
151 структуре PSMC3 могут стать причиной протеотоксического стресса, что, как
152 отмечают, ведет к повышению уровня интерферона I типа. [23]

153 PSME2 является субъединицей активатора 26S протеасомы. Участвует в
154 сборке иммупротеасом и необходим для эффективной обработки антигена.
155 [31]

156 Таким образом, все три белка связаны с работой протеасомы 26S, которая
157 играет важную роль в ряде внутриклеточных процессов, в том числе,
158 затрагивающих функции иммунитета, в том числе - в распознавании
159 полиубиквитинированных цепочек. Убиквитинирование белков является
160 важным внутриклеточным регуляторным механизмом, влияющим на передачу
161 сигналов иммунного ответа в пути активации NF-κB и включении
162 провоспалительных реакций. [38]

163 Известно, что некоторые патогенные бактерии кодируют
164 деубиквитинирующие ферменты, воздействуя на убиквитин-зависимые
165 процессы хозяина и нарушая, тем самым, соответствующий убиквитин-
166 зависимый антибактериальный ответ. [38] Такие свойства присущи
167 высокопатогенным бактериям, проникающим и живущим внутри клетки-
168 хозяина, *Salmonella enterica* (возбудитель сальмонеллёза), *Legionella*
169 *pneumophila* (возбудитель легионеллёза). Однако, имеются также сведения о
170 том, что и ряд условно-патогенных бактерий, например, *S. aureus*, *Enterobacter*
171 *spp.* также способны внедряться в клетки кишечника и активно размножаться.
172 [30,26]

173 Выявленная отрицательная корреляция условно-патогенных бактерий с
174 количеством белков, входящих в протеасомный комплекс, может
175 свидетельствовать о наличии синтеза деубиквинтинирующих ферментов у *S.*
176 *aureus* и *Enterobacter spp*, что проявлялось в уменьшении количества белков
177 PSMA2, PSMC3, PSME2 с ростом количества бактерий. Активное
178 размножение *E. coli*, проявляющей антагонизм по отношению к *S. aureus* и
179 конкурирующей с *Enterobacter spp*, по-видимому, может сыграть важную роль
180 в снижении количества условно-патогенных бактерий и, таким образом,
181 повышении уровня белков PSMA2, PSMC3, PSME2, что, возможно, скажется
182 в усилении иммунного ответа.

183 Интересно отметить, что данные белки также отрицательно
184 коррелировали с количеством других условно-патогенных микроорганизмов:
185 *Candida spp.*, *S. epidermidis*, и положительно – с некоторыми протективными
186 микроорганизмами (*Enterococcus spp*, *Bifidobacterium spp*). Таким образом,
187 дальнейшее изучение взаимосвязи белков протеасомного комплекса может
188 раскрыть некоторые механизмы бактериальной инвазии условно-патогенных
189 микроорганизмов в клетки кишечника, а также ее последствий и в дальнейшем
190 быть использован как диагностический критерий дисбактериозов различной
191 этиологии.

192 Отдельного внимания заслуживает взаимосвязь белков PSMA2, PSMC3
193 с белком CCT2, который способен экспрессироваться энтероцитах и связан с
194 иммунной системой. Белок CCT2 способствует сворачиванию белков при
195 гидролизе АТФ и в составе комплекса TRiC участвует в сворачивании актина
196 и тубулина. Показано, что подмембранный спектрин-актиновый *цитоскелет*,
197 роль которого в регуляции ионных каналов доказана в ряде исследований
198 [17,22,36,37], является мишенью для кишечных бактериальных патогенов
199 (например, патогенных штаммов *E.coli*, а также *S. Typhimurium*, *L.*
200 *Monocytogene*) за счёт усиления адгезии клеток, играя решающую роль в
201 прогрессировании дисбиотических состояний. [33] В проводимом ранее

202 анализе данных по влиянию количества белков в крови на количество
203 бактерий была выявлена положительная корреляция уровня ССТ2 с
204 количеством бифидобактерий, т.е. увеличение уровня данного белка в крови
205 влекло за собой рост количества протективных *Bifidobacterium spp.* Вероятно,
206 механизм взаимодействия ССТ2 с бактериальными клетками является более
207 сложным, чем представлялось ранее, и имеет место взаимное влияние белка и
208 бактерий друг на друга, поскольку при изучении влияния количества бактерий
209 на белки была также выявлена взаимосвязь концентрации данного белка с
210 количеством кишечной палочки (положительная корреляция) и с количеством
211 УПМ (отрицательная корреляция). Исследование механизмов взаимодействия
212 данного белка с бактериями может представлять научный и практический
213 интерес с целью определения белковых биомаркёров крови, определяющие
214 наличие и выраженность дисбиотических состояний кишечной микрофлоры.

215 Ещё один комплекс тесно взаимосвязанных белков, участвующих в
216 иммунной регуляции, это белки LTF (лактотрансферрин), АРОВ
217 (аполипопротеин) и FGB (фибриноген).

218 В проведённых ранее исследованиях было выявлено, что мыши с
219 дефицитом аполипопротеина в плазме, кодируемого геном АРОВ, были
220 восприимчивы к инвазии *S. aureus*. [32] Хотя в имеющихся литературных
221 данных нет информации о связи данного белка с *Enterobacter spp.*, возможно,
222 механизм, лежащий в основе адгезии данных бактерий, схож с механизмом
223 адгезии золотистого стафилококка, чем и объясняется отрицательная
224 корреляция количества данных условно-патогенных бактерий с белком АРОВ.
225 Связь с кишечной палочкой, с которой в нашем исследовании была обнаружена
226 положительная корреляция, не отмечалась другими исследователями, однако
227 возможно, она более сложная, чем прямое взаимодействие «бактерия-белок»,
228 и основана на конкурентном взаимодействии кишечной палочки и золотистого
229 стафилококка.

230 Механизм взаимодействия FGB с бактериями, по-видимому, не является
231 прямым. Известно, что фибриноген связывает фибронектин [28], который, в
232 свою очередь, имеет положительную корреляцию с *S. aureus* и гораздо более
233 низкую корреляцию с *E. coli* [34].

234 Белок LTF (лактотрансферрин) представляет собой железосвязывающий
235 белок, который взаимодействует с поверхностью бактерий и имеет
236 бактерицидное действие. Белок LTF проявляет сильную антибактериальную и
237 антифунгальную активность в отношении многих бактерий и грибов,
238 например, *S. epidermidis*, *Helicobacter pylori*, *C. albicans*. [39,40]
239 Лактотрансферрин также впоследствии применялся для коррекции
240 дисбиотических состояний участниц 5-суточной «сухой» иммерсии и при
241 длительном употреблении зарекомендовал себя как средство, нормализующее
242 кишечный и вагинальный биотоп. [8] Возможно, активация экспрессии
243 лактотрансферрина связана с увеличением количества протективной
244 кишечной палочки и неизбежно, учитывая его антимикробные свойства, ведёт
245 к снижению количества условно-патогенных форм микроорганизмов.

246 Таким образом, положительная корреляция с протективной кишечной
247 палочкой и отрицательная – с условно-патогенными золотистым
248 стафилококком и энтеробактер, подтверждает важность белков LTF, APOB и
249 FGB в иммунной регуляции, и дальнейшее изучение механизмов
250 взаимодействия «микроорганизм-белок» может послужить теоретической
251 базой для обоснования использования протеомного анализа внеклеточной
252 жидкости организма хозяина для оценки рисков развития дисбактериозов.

253 Ещё три белка, не имеющие связей с другими белками,
254 осуществляющими иммунную регуляцию, и не связанные между собой, это
255 белки CA1 (карбоангидраза 1), STOM (стоматин) и NCKAP1 (Nck-
256 ассоциированный белок 1).

257 Белок CA1 осуществляет обратимую гидратацию углекислого газа и
258 способен гидратировать цианамид до мочевины. Интересно отметить, что,

259 хотя данный белок не экспрессируется в иммунных клетках, имеются
260 исследования, в которых показана роль данного белка, преимущественно
261 обнаруживаемого в эритроцитах и энтероцитах, как отрицательного
262 биомаркёра для диагностики *S. mansoni*, т.е. шистосомоза. [24] Хотя
263 шистосомоз, очевидно, не относится к бактериальным инфекциям, возможно,
264 роль данного белка в патогенезе инвазивных заболеваний гораздо шире, чем
265 было принято считать, таким образом, требуется дальнейшее более детальное
266 исследование взаимосвязи белка CA1 с условно-патогенными и
267 протективными бактериями кишечной микрофлоры.

268 Белок STOM является интегральным белком и локализуется на
269 клеточной мембране эритроцитов и других типов клеток, где осуществляет
270 регуляцию ионных каналов. Функции данного белка остаются во многом
271 невыясненными, однако его массовое присутствие в складках и расширениях
272 мембраны указывает на его возможную структурную роль в формировании
273 этих структур или их заякоривании к актиновому цитоскелету. Участие в
274 формировании цитоскелета, который, как было указано ранее, является одной
275 из мишеней бактериальных патогенов, что, возможно, свидетельствует о
276 важном значении данного белка в возникновении и прогрессировании
277 дисбиотических состояний за счёт улучшения адгезии бактериальных клеток
278 на мембране. Тем не менее, в нашем исследовании данный белок
279 положительно коррелировал только с кишечной палочкой и отрицательно – с
280 условно-патогенными золотистым стафилококком и энтеробактер. Возможно,
281 механизм адгезии данных бактерий происходит иначе, чем у кишечной
282 палочки и не включает в себя взаимодействие с белком STOM.

283 Изученные функции белка NCKAP1 в основном касаются его участия в
284 развитии опухолей. Так, было выявлено, что экспрессия NCKAP1 высоко
285 тканеспецифична и обнаружена при раке толстого кишечника, легких и
286 печени. [20] Также данный белок участвует в регуляции актинового
287 цитоскелета. У мышей, с неполноценным геном NCKAP1, наблюдались

288 аномалии развития лимфоцитов, фагоцитоза и миграции нейтрофилов. У
289 людей же наблюдались случаи иммунодефицита при наличии двух
290 рецессивных мутантных аллелей NCKAP1. [19]. Очевидно, что кодируемый
291 данным геном белок играет важнейшую роль в иммунной системе. Механизм
292 воздействия кишечной палочки и условно-патогенных микроорганизмов на
293 ткани организма, вызывающий усиление экспрессии гена NCKAP1, остаются
294 неясными и требуют дальнейшего исследования.

295 **2. Белки, связанные с инфекционными заболеваниями**

296 С инфекционными заболеваниями также связаны уже упомянутые выше
297 PSMA2, PSMC3, PSME2, NCKAP1 и LTF. Эта связь, очевидно, обусловлена
298 взаимоотношениями «иммунитет-бактерия». Кроме этих белков с
299 инфекционными заболеваниями связан белок ENO1 (енолаза 1). Известно, что
300 ENO1 является белком, обеспечивающим толерантность клеток к гипоксии, он
301 также катализирует превращение 2-фосфоглицерата в фосфоенолпируват в
302 процессе гликолиза. [21] В проводимых ранее исследованиях было показано,
303 что высокий уровень ENO1 наблюдался у пациентов, инфицированных *H.*
304 *pylori* (бактерией, обитающей в складках желудка и ассоциирующей с
305 развитием язвенной болезни желудка). [41] Сведения о функциях белка ENO1,
306 тем не менее, остаются не до конца выяснены. Так, например, имеются
307 сведения о том, что ENO1 в клетках-мишенях предотвращает интеграцию
308 ВИЧ-1, а сверхэкспрессия белка в клетках-продуцентах вируса, а также в
309 клетках-мишенях заметно подавляла репликацию вируса. [27] Однако, в то же
310 время в литературе имеются данные о том, что высокий уровень экспрессии
311 ENO1 также наблюдался и у больных с некоторыми раковыми опухолями. [18]
312 Обобщая вышесказанное, можно сделать вывод о том, что повышение ENO1
313 ассоциировано с патогенными микроорганизмами и онкогенезом, но при этом
314 играет важную роль в ответе организма на вирусную инвазию. Учитывая
315 положительную корреляцию кишечной палочки и отрицательную – условно-
316 патогенных микроорганизмов с данным белком, необходимо дальнейшее

317 исследование функций данного белка и его роли в регуляции численности
318 кишечной микробиоты.

319 4 Обсуждение

320 Связь компонентов микробиоты кишечника и белкового состава крови
321 молодых женщин исследовалась на фоне модельного воздействия на их
322 организм, имитирующего ранний этап адаптации к невесомости. При этом,
323 несмотря на неидентичный механизм развития эффектов в «сухой» иммерсии
324 и космическом полете по низкой околоземной орбите, достигалось
325 определенное приближение к выраженности физиологических эффектов на
326 системном уровне. На ранних этапах «сухой» иммерсии, безусловно, могли
327 наблюдаться застойные явления в сосудистой сети брюшной полости [1].
328 Рассмотрение полученных данных с включением третьего агента влияния –
329 воздействия модельных условий на организм хозяина и на микробиоту – на
330 наш взгляд, показывает, что сам характер связи микробиоты кишечника и
331 белкового состава крови хозяина может модифицироваться этими условиями.

332 Один из типов стимуляции, который воспринимает живая клетка, и
333 который изменяется модельными условиями эксперимента в «сухой»
334 иммерсии — *механическое напряжение*. Изменение внешнего воздействия
335 (его вектора, силы) на клетку закономерно приводит к изменению
336 механического напряжения внутри клетки, запуская каскады изменений не
337 только во внутриклеточном «домашнем хозяйстве», но и в межклеточных
338 контактах. В нашем исследовании выявлено взаимодействие компонентов
339 микробиоты с белками, входящими в состав основных типов механосенсоров.
340 Считается, что ими, в теории, являются *внеклеточный матрикс и связанные с*
341 *ним интегрины и фокально-адгезивный комплекс, механочувствительные*
342 *ионные каналы (в т.ч. - эпителиальные натриевые*
343 *каналы [ENaCs](#)), подмембранный цитоскелет и комплексы компонентов*
344 *внутреннего цитоскелета, метаболизм которых активно влияет на*
345 *клеточный протеостаз. Механозависимая регуляция процессов*

346 жизнедеятельности клетки по праву считается новым механизмом
347 негуморальной регуляции. [16]

348 Еще одно важное обстоятельство повышает значимость представленных
349 данных и обоснованность выводов, сделанных на их основе. В описанном
350 эксперименте у участниц, в «сухой» иммерсии, собирались образцы
351 капиллярной крови. В процессе подготовки высушенных образцов цельной
352 крови в пробы, анализируемые на МС, попадали как белки плазмы крови, так
353 и внутриклеточные белки из разрушенных клеток, присутствующих в
354 кровотоке. То есть пул анализируемых белков состоял, в данном случае, из
355 белков плазмы плюс цитозольные белки эритроцитов, лейкоцитов и т.д.
356 Анализ показал, что численно белки сухих пятен на 75 % состоят из
357 внутриклеточных белков. [7] Это дало возможность «подсмотреть»
358 особенности внутреннего хозяйства клеток, а именно значение процессов
359 протеостаза, в т.ч. - иммунных клеток.

360 Имеются неоспоримые доказательства влияния бактерий на экспрессию
361 белков контактирующих с ними клеток. Так, при воздействии липидов
362 клеточной стенки микобактерий 166 белков макрофагов показали
363 дифференциальную экспрессию. К ним относятся белки, участвующие в
364 иммунном ответе, окислении и восстановлении, транспорте везикул, а также в
365 других клеточных процессах. Реакция клеток макроорганизма отражает
366 врожденные защитные механизмы клетки, а также патоген-индуцированные
367 процессы, которые могут принести пользу бактерии. [35]

368 Исследования последних лет существенно изменили стандартные
369 представления о патогенезе многих заболеваний. На данный момент получены
370 многочисленные доказательства роли кишечной микробиоты в развитии
371 различных заболеваний, таких как атеросклероз, ожирение, заболевания
372 печени, сахарный диабет, артериальная гипертензия и др. При этом известно
373 несколько механизмов, посредством которых кишечная микрофлора
374 участвует в развитии заболеваний, через продукцию метаболитов (эндогенный

375 этанол и др.), активацию системной воспалительной реакции, изменение
376 метаболизма холина и др. [9] Однако, еще многое предстоит выяснить во
377 взаимоотношениях «хозяин – кишечная микрофлора», так как многие
378 подтвержденные корреляции бактерий кишечника с перечисленными
379 заболеваниями пока не могут быть объяснены. Поэтому исследование влияния
380 микрофлоры кишечника на белки человека в неблагоприятных условиях
381 особенно актуально. Кроме фундаментального значения, может
382 способствовать выявлению важных диагностических признаков для
383 выявления дисбиотических состояний кишечного биотопа.

384 **5 Выводы**

385 1. В результате проведенных исследований была выявлена
386 положительная корреляция между количеством *E. coli* и отрицательная -
387 между количеством *S. aureus* и *Enterobacter spp* в кишечной микрофлоре и
388 рядом белков в образцах сухих пятен капиллярной крови.

389 2. Выявленные белки можно разделить на несколько групп в
390 зависимости от их функций и локуса экспрессии: рассмотрены 6 белков,
391 связанные с инфекционными заболеваниями, 10 – с иммунной системой.

392 3. По механизму действия белки можно разделить на структурные и
393 метаболические.

394 4. Положительная корреляция с протективной кишечной палочкой и
395 отрицательная – с условно-патогенными золотистым стафилококком и
396 энтеробактер, подтверждает важность ряда выявленных белков в регуляции
397 иммунных функций.

398 5. Необходимо продолжение пристального изучения механизмов,
399 лежащих в основе этой взаимосвязи, и влияния на нее условий, моделирующих
400 эффекты космического полета в интересах обеспечения медицинской
401 безопасности космических полетов.

402 **Благодарности**

403 Работа выполнена в рамках тем фундаментальных научных
404 исследований FMFR-2024-0035 и FMFR-2024-0032.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Комиссарова Дарья Валерьевна, к.б.н., в.н.с. – зав. лаб.; Название учреждения, где работает ответственный автор ГИЦ РФ – ИМБП РАН; адрес: г. Москва, Хорошевское шоссе, 76А, 123007; телефон: 8(916)077-10-58; e-mail: d.komisarova@yandex.ru

Komissarova Daria Valerievna, PhD, Leading Researcher – Head of Laboratory (IBMP RAS); address: Moscow, Khoroshevskoeu shosse, 76A; telephone: 8(916)077-10-58; e-mail: d.komisarova@yandex.ru

Блок 2. Информация об авторах

Каширина Д. Н. – к.б.н., с.н.с.;
ORCID: 0000-0002-9646-7275;
e-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

Kashirina D. N. – PhD, Senior Researcher;
ORCID: 0000-0002-9646-7275;
e-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

Ларина И. М. – д.м.н., профессор, в.н.с. – зав.лаб.;
ORCID: 0000-0001-6783-4200;
e-mail: irina.larina@gmail.com

Larina I. M. – PhD, MD, Professor, Leading Researcher, Head of Laboratory;
ORCID: 0000-0001-6783-4200;
e-mail: irina.larina@gmail.com

Пастушкова Л. Х. – д.б.н., в.н.с.;

ORCID: 0000-0002-2071-0443;

e-mail: lpastushkova@mail.ru

Pastushkova L. H. – PhD, Leading Researcher;

ORCID: 0000-0002-2071-0443;

e-mail: lpastushkova@mail.ru

Усанова Н. А. – с.н.с.;

ORCID: 0000-0002-8485-4470;

e-mail: usanova@imbp.ru

Usanova N.A. – Senior Researcher;

ORCID: 0000-0002-8485-4470;

e-mail: usanova@imbp.ru

Ильин В. К. – д.м.н., профессор, член-корр РАН, зав.отделом, в.н.с.-зав. лаб.;

ORCID: 0000-0003-3896-5003;

e-mail: piton2004@bk.ru

Plyin V.K. – PhD, MD, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of Department, Head of Laboratory;

ORCID: 0000-0003-3896-5003;

e-mail: piton2004@bk.ru

Блок 3. Метаданные статьи

ВЗАИМОСВЯЗЬ *E.COLI*, *ENTEROBACTER SPP* И *S.AUREUS*,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ, С БЕЛКАМИ КРОВИ,
СВЯЗАННЫМИ С ИММУННОЙ СИСТЕМОЙ И ИНФЕКЦИОННЫМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ВО ВРЕМЯ 3-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ
RELATIONSHIP BETWEEN *E.COLI*, *ENTEROBACTER SPP* AND *S.AUREUS*
ISOLATED FROM INTESTINAL MICROFLORA AND BLOOD PROTEINS
ASSOCIATED WITH THE IMMUNE SYSTEM AND INFECTIOUS DISEASES
DURING 3-DAY DRY IMMERSION

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА И БЕЛКИ КРОВИ
INTESTINAL MICROFLORA AND PROTEINS

Ключевые слова: Кишечная микрофлора, протеомика, кишечная палочка, золотистый стафилококк, энтеробактерии, «сухая» иммерсия.

Keywords: Intestinal microflora, S. aureus, Proteomics, E.coli, Enterobacter, “dry” immersion.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 15, количество таблиц – 0, количество рисунков – 0.

03.03.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1.	Афонин Б.В., Седова Е.А. Состояние пищеварительной системы человека при моделировании эффектов невесомости в условиях иммерсии // Авиак.и экол мед. 2009. Т. 43. № 1. С. 48	Afonin B.V., Sedova E.A. The state of the human digestive system when modeling the effects of weightlessness under immersion conditions // Aviak.i ekol med. 2009. T. 43. No. 1. P. 48	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=20231027
2.	Афонин Б.В., Седова Е.А., Тихонова Г.А., Соловьева А.А., Валуев В.А. Оценка функциональных изменений печени при моделировании гемодинамических эффектов невесомости в антиортостатическом положении // Авиак.и экол мед. 2014. Т. 48. № 4. С. 17–22	Afonin B.V., Sedova E.A., Tikhonova G.A., Solovyova A.A., Valuev V.A. Assessment of functional changes in the liver when modeling the hemodynamic effects of weightlessness in an anti-orthostatic position // Aviak.i ekol med. 2014. T. 48. No. 4. P. 17–22	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21829977
3.	Балмасова И.П., Сепиашвили Р.И. Кишечные инфекции, воспаление и аутоиммунитет. Лимфоидный аппарат кишечника во взаимодействии с кишечной	Balmasova I.P., Sepiashvili R.I. Intestinal infections, inflammation and autoimmunity. Intestinal lymphoid apparatus in interaction with intestinal microflora // Journal of Microbiology,	https://cyberleninka.ru/article/n/kishechnye-infektsii-vospalenie-i-autoimmunitet-limfoidnyy-apparat-kishechnika-vo

	микрофлорой // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2013. №2. С. 113-123	<i>Epidemiology and Immunobiology.</i> 2013. No. 2. pp. 113-123	vzaimodeystvii-s-kishechnoy-mikrofloroy/viewer
4.	Гаус О.В., Беляков Д.Г. Современные взгляды на роль кишечной микробиоты в формировании патологии кишечника. // РМЖ. 2021; 4. С. 10-16	<i>Gaus O.V., Belyakov D.G. Modern views on the role of intestinal microbiota in the formation of intestinal pathology. // RMJ. 2021; 4. pp. 10-16</i>	https://www.rmj.ru/articles/gastroenterologiya/Sovremennye_vzglyady_na_rol_y_kishechnoy_mikrobioty_v_formirovanii_patologii_kishechnika/
5.	Гончарова Н.П., Афонин Б.В. Состояние печени при моделировании эффектов невесомости в организме человека // VII Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 160-летию со дня рождения И.П. Павлова. СПб. 2009. С. 120-121	<i>Goncharova N.P., Afonin B.V. State of the liver when modeling the effects of weightlessness in the human body // VII All-Russian conference with international participation, dedicated to the 160th anniversary of the birth of I.P. Pavlov. St. Petersburg 2009. P. 120-121</i>	https://www.infran.ru/meetings/2009-VisceralSystem/Abstracts.pdf
6.	Ильин В.К., Комиссарова Д.В., Морозова Ю.А., Жиганшина А.А. Изменения микрофлоры кишечника, верхних дыхательных путей и вагинальных слизистых у добровольцев в эксперименте с «3-суточной «сухой» иммерсией» // 56-е научные чтения, посвящённые	<i>Ilyin V.K., Komissarova D.V., Morozova Yu.A., Zhiganshina A.A. Changes in the intestinal microflora, upper respiratory tract and vaginal mucous membranes in volunteers in a “3-day “dry” immersion” experiment // 56th scientific readings dedicated to the development of scientific heritage and</i>	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47266726

	разработке научного наследия и развитию идей К.Э. Циолковского. Т.1. Калуга. 2021. С. 297-301	ideas of K.E. Tsiolkovsky. T.1. Kaluga. 2021. P. 297-301	
7.	Каширина Д.Н., Пастушкова Л.Х., Бржозовский А.Г., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Ларина И.М. Эффекты 3-суточного иммерсионного воздействия на протеом крови женщин // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2023. Т.57. №2. С.47-56.	Kashirina D.N., Pastushkova L.Kh., Brzhozovsky A.G., Kononikhin A.S., Nikolaev E.N., Larina I.M. Effects of 3-day immersion on the blood proteome of women // Aviak. i ekol med. 2023. Vol. 57. No. 2. P.47-56.	DOI: 10.21687/0233-528X-2023-57-2-47-56
8.	Комиссарова Д.В., Ильин В.К., Кротова М.М., Муравьева В.В. Способы профилактики и коррекции дисбиотических состояний вагинального биотопа у участниц экспериментов, моделирующих отдельные факторы космического полёта. // Материалы Конгресса РКММИ. 2023. С. 74-76	Komissarova D.V., Ilyin V.K., Krotova M.M., Muravyova V.V. Methods for the prevention and correction of dysbiotic conditions of the vaginal biotope in participants in experiments simulating certain factors of space flight. // Materials of the RCMMI Congress. 2023. pp. 74-76	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50475573
9.	Костюкевич О.И., Былова Н.А., Симбирцев А.С. Роль кишечной микробиоты в развитии заболеваний печени и желчевыводящих путей. // Русский медицинский журнал. 2016. № 11. с. 713-720	Kostyukevich O.I., Bylova N.A., Simbirtsev A.S. The role of intestinal microbiota in the development of liver and biliary tract diseases. // Russian Medical Journal. 2016. No. 11. p. 713-720	https://www.rmj.ru/articles/gastroenterologiya/Roly_kishechnoy_mikrobioty_v_razvitii_zabolevaniy_pecheni_i_ghelchevyvodyaschih_putey/

10.	Кулаичев А. П. Методы и средства комплексного статистического анализа данных: учеб. Пособие. 5-е изд., перераб. и доп. Москва: ИНФРА-М, 2017. 484 с	Kulaichev A.P. Methods and means of complex statistical data analysis: textbook. Benefit. 5th ed., revised. and additional Moscow: INFRA-M, 2017. 484 p.	-
11.	Морозов А. М., Минакова Ю. Е., Протченко И. Г.. Влияние микрофлоры на синтез витаминов (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2019. №6. С.167-171	Morozov A. M., Minakova Yu. E., Protchenko I. G. The influence of microflora on the synthesis of vitamins (review) // Bulletin of new medical technologies. Electronic edition. 2019. No. 6. P.167-171	https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-mikroflory-na-sintez-vitaminov-obzor-literatury/viewer
12.	Оришак Е.А., Нилова Л.Ю., Авалуева Е.Б., Бойцов А.Г. Условно-патогенные микроорганизмы при дисбактериозе кишечника // Ученые записки СПбГМУ им. И. П. Павлова. 2010. №2. С. 24-27	Orishak E.A., Nilova L.Yu., Avalueva E.B., Boytsov A.G. Opportunistic pathogenic microorganisms in intestinal dysbiosis // Scientific notes of St. Petersburg State Medical University named after. I. P. Pavlova. 2010. No. 2. P. 24-27	https://cyberleninka.ru/article/n/uslovno-patogennye-mikroorganizmy-pri-disbakterioze-kishechnika/viewer
13.	Пастушкова Л.Х., Пахарукова Н.А., Новосёлова Н.М., Доброхотов И.В., валеева О.А., Кусто М.А., Ларина И.М. Прямое протеомное профилирование мочи и сыворотки крови человека в эксперименте с 5-	Pastushkova L.Kh., Pakharukova N.A., Novoselova N.M., Dobrokhotov I.V., Valeeva O.A., Cousteau M.A., Larina I.M. Direct proteomic profiling of human urine and serum in an experiment	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18844645

	суточной «сухой» иммерсией. // Авиак.и эколог. мед. 2012. Т. 46. № 4. С. 31-37	with a 5-day “dry” immersion. // Aviak.i ekol med. 2012. Т. 46. No. 4. P. 31-37	
14.	Ткаченко Е. И. Парадигма дисбиоза в современной гастроэнтерологии. Роль микробиоты в лечении и профилактике заболеваний в XXI веке // ЭиКГ. 2014. №5 (105). С. 4-8	Tkachenko E.I. The paradigm of dysbiosis in modern gastroenterology. The role of microbiota in the treatment and prevention of diseases in the 21st century // EiKG. 2014. No. 5 (105). p. 4-8	https://cyberleninka.ru/article/n/paradigma-disbioza-v-sovremennoy-gastroenterologii-rol-mikrobioty-v-lechenii-i-profilaktike-zabolevaniy-v-xxi-veke/viewer
15.	Томиловская Е.С., Рукавишников И.В., Амирова Л.Е., Шигуева Т.А., Савеко А.А., Китов В.В., Васильева Г.Ю., Пономарев С.А., Смирнова Т.А., Козловская И.Б., Орлов О.И. 21-суточная «сухая» иммерсия: особенности проведения и основные итоги. // Авиак.и эколог. мед. 2020. Т. 54. № 4. С. 5-14	Tomilovskaya E.S., Rukavishnikov I.V., Amirova L.E., Shigueva T.A., Saveko A.A., Kitov V.V., Vasilyeva G.Yu., Ponomarev S.A., Smirnova T. .A., Kozlovskaya I.B., Orlov O.I. 21-day “dry” immersion: features and main results. // Aviak.i ekol med. 2020. Т. 54. No. 4. P. 5-14	DOI: 10.21687/0233-528X-2020-54-4-5-14
16.	Усик М. Клетки под давлением. Сайт Biomolecula.ru (8 декабря 2015)	Usik M. Cells under pressure. Website Biomolecule.ru	https://biomolecula.ru/articles/kl-etki-pod-davleniem
17.	Benos D.J., Awayda M.S., Ismailov I.I., Johnson J.P. Structure and function of amiloride-sensitive Na⁺ channels. J. Membr. Biol.,1995, no. 143, pp. 1–18	-	doi: 10.1007/BF00232519

18.	Capello M., Ferri-Borgogno S., Riganti C., Chattaragada M. Samuel, Principe M., Roux C., Zhou W., Petricoin E. F., Cappello P., Novelli F. Targeting the Warburg effect in cancer cells through ENO1 knockdown rescues oxidative phosphorylation and induces growth arrest. <i>Oncotarget</i> , 2016, vol. 7, pp. 5598-5612	-	doi: 10.18632/oncotarget.6798
19.	Castro CN, Rosenzweig M, Carapito R, Shahrooei M, Konantz M, Khan A, Miao Z, Groß M, Tranchant T, Radosavljevic M, Paul N, Stemmelen T, Pitoiset F, Hirschler A, Nespola B, Molitor A, Rolli V, Pichot A, Faletti LE, Rinaldi B, Friant S, Mednikov M, Karauzum H, Aman MJ, Carapito C, Lengerke C, Ziaee V, Eyaid W, Ehl S, Alroqi F, Parvaneh N, Bahram S. NCKAP1L defects lead to a novel syndrome combining immunodeficiency, lymphoproliferation, and hyperinflammation. <i>J Exp Med</i> . 2020 Dec 7;217(12):e20192275. PMID: 32766723; PMCID: PMC7526481.	-	https://doi.org/10.1084/jem.20192275

20.	Chen J., Ge J., Zhang W., Xie X., Zhong X., Tang S. NCKAP1 is a Prognostic Biomarker for Inhibition of Cell Growth in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. <i>Front. Genet</i> , 2022, vol.13.	-	https://doi.org/10.3389/fgene.2022.764957
21.	Chung I.-C., Huang W.-Ch., Huang Y.-Ts., Chen M.-L., Tsai A.-W., Wu P.-Y., Yuan T.-T. Unrevealed roles of extracellular enolase-1 (ENO1) in promoting glycolysis and pro-cancer activities in multiple myeloma via hypoxia-inducible factor 1 α . <i>Oncology Reports</i> , 2023, vol. 50, no. 5.	-	https://doi.org/10.3892/or.2023.8642
22.	Devarajan P., Scaramuzzino D.A., Morrow J.S. Ankyrin binds to two distinct cytoplasmic domains of Na,K-ATPase alpha subunit . <i>PNAS</i> , 1995, no. 91, pp. 2965–2969	-	doi: 10.1073/pnas.91.8.2965
23.	Ebstein F, Küry S, Most V, Rosenfelt C, Scott-Boyer MP, van Woerden GM, Besnard T, Papendorf JJ, Studencka-Turski M, Wang T, Hsieh TC, Golnik R, Baldrige D, Forster C, de Konink C, Teurlings SMW, Vignard V, van Jaarsveld RH, Ades L, Cogné B, Mignot C, Deb W, Jongmans MCJ, Cole FS,	-	doi: 10.1126/scitranslmed.abo3189

	<p>van den Boogaard MH, Wambach JA, Wegner DJ, Yang S, Hannig V, Brault JA, Zadeh N, Bennetts B, Keren B, Gélinau AC, Powis Z, Towne M, Bachman K, Seeley A, Beck AE, Morrison J, Westman R, Averill K, Brunet T, Haasters J, Carter MT, Osmond M, Wheeler PG, Forzano F, Mohammed S, Trakadis Y, Accogli A, Harrison R, Guo Y, Hakonarson H, Rondeau S, Baujat G, Barcia G, Feichtinger RG, Mayr JA, Preisel M, Laumonnier F, Kallinich T, Knaus A, Isidor B, Krawitz P, Völker U, Hammer E, Droit A, Eichler EE, Elgersma Y, Hildebrand PW, Bolduc F, Krüger E, Bézieau S. PSMC3 proteasome subunit variants are associated with neurodevelopmental delay and type I interferon production. <i>Sci Transl Med.</i> 2023 May 31;15(698):eabo3189. Epub 2023 May 31. PMID: 37256937; PMCID: PMC10506367.</p>		
24.	<p>Kardoush MI, Ward BJ, Ndao M. Serum Carbonic Anhydrase 1 is a Biomarker for Diagnosis of Human Schistosoma</p>	-	doi: 10.4269/ajtmh.16-0021

	mansoni Infection. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2017, vol. 96, no. 4, pp. 842-849		
25.	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, no 12, article no 75329.	-	doi:10.3389/fphys.2021.753291
26.	Kim K., Loessner M.J. Enterobacter sakazakii Invasion in Human Intestinal Caco-2 Cells Requires the Host Cell Cytoskeleton and Is Enhanced by Disruption of Tight Junction. Infect Immun., 2008, vol.76, no. 2.	-	https://doi.org/10.1128/iai.00937-07
27.	Kishimoto N., Yamamoto K., Iga N., Kirihara C., Abe T., Takamune N., Misumi S. Alpha-enolase in viral target cells suppresses the human immunodeficiency virus type 1 integration, Retrovirology, 2020, vol. 17, article number: 31.	-	https://doi.org/10.1186/s12977-020-00539-9

28.	Makogonenko E., Tsurupa G., Ingham K., Medved L. Interaction of Fibrin(ogen) with Fibronectin: Further Characterization and Localization of the Fibronectin-Binding Site. <i>Biochemistry</i> , 2002 , vol. 41, no. 25, pp. 7907-7913	-	doi: 10.1021/bi025770x
29.	Meier F., Brunner A.D., Koch S., Koch H., Lubeck M., Krause M., Goedecke N., Decker J., Kosinski T., Park M., Bache N., Hoerning O., Cox J., Räther O., Mann M. Online Parallel Accumulation–Serial Fragmentation (PASEF) with a novel trapped ion mobility mass spectrometer. <i>Mol. Cell. Proteomics</i> , 2018, vol. 17, no. 12, pp. 2534–2545.	-	doi: 10.1074/mcp.TIR118.000900
30.	Mergani A., Wanes D., Schecker N., Branitzki-Heinemann K., Naim H.Y., von Köckritz-Blickwede M. Staphylococcus aureus Infection Influences the Function of Intestinal Cells by Altering the Lipid Raft-Dependent Sorting of Sucrase–Isomaltase. <i>Front. Cell Dev. Biol.</i> , 2021, no. 9.	-	doi: 10.3389/fcell.2021.699970

31.	Nandi D., Tahiliani P., Kumar A., Chandu D. The ubiquitin-proteasome system. <i>Journal of Biosciences</i> , 2006, vol.31, pp.137-155	-	doi: 10.1007/BF02705243
32.	Peterson M.M., Mack J.L., Hall P.R., Alsup A.A., Alexander S.M., Sully E.K., Sawires Y.S., Cheung A.L., Otto M., Gresham H.D. Apolipoprotein B Is an innate barrier against invasive <i>Staphylococcus aureus</i> infection. <i>Cell Host Microbe</i> , 2008, vol. 4, no. 6, pp. 555-566	-	doi: 10.1016/j.chom.2008.10.001
33.	Ruetz T., Cornick S., Guttman J.A. The Spectrin Cytoskeleton Is Crucial for Adherent and Invasive Bacterial Pathogenesis. <i>PLoS ONE</i> , 2011, vol.6, no. 5, article number: e19940.	-	https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019940
34.	Scheld W.M., Strunk R.W., Balian G., Calderone R.A. Microbial adhesion to fibronectin in vitro correlates with production of endocarditis in rabbits. <i>Proc Soc Exp Biol Med.</i> , 1988, vol. 180, no. 3, pp. 474-82	-	doi: 10.3181/00379727-180-42205
35.	Shui W., Gilmore S.A., Sheu L., Liu J., Keasling J.D., Bertozzi C.R. Quantitative proteomic profiling of	-	doi: 10.1021/pr800422e

	host-pathogen interactions: the macrophage response to Mycobacterium tuberculosis lipids. J. Proteome Res., 2009, vol. 8, no.1, pp. 282-289		
36.	Srinivasan Y., Elmer L., Davis J., Bennett V., Angelides K. Ankyrin and spectrin associate with voltage-dependent sodium channels in brain. Nature, 1988, no. 333, pp.177–180	-	https://www.nature.com/articles/333177a0
37.	Suzuki M., Miyazaki K., Ikeda M., Kawaguchi Y., Sakai O. F-actin network may regulate a Cl⁻ channel in renal proximal tubule cells. J. Membr. Biol., 1993, no 134. pp.31–39	-	doi: 10.1007/BF00233473
38.	Vozandychova, V.; Stojkova, P.; Hercik, K.; Rehulka, P.; Stulik, J. The Ubiquitination System within Bacterial Host–Pathogen Interactions. Microorganisms, 2021, no. 9. pp.638.	-	https://doi.org/10.3390/microorganisms9030638
39.	Wada T., Aiba Y., Shimizu K., Takagi, T. Miwa A., Koga Y.. The Therapeutic Effect of Bovine Lactoferrin in the Host Infected with Helicobacter pylori. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 1999, vol. 34, no 3, pp. 238-243	-	doi: 10.1080/00365529950173627

40.	Xu Y.Y., Samaranayake Y.H., Samaranayake L.P., Nikawa H. In vitro susceptibility of <i>Candida</i> species to lactoferrin. <i>Med Mycol.</i> , 1999, vol. 37, no. 1, pp.35-41	-	doi: 10.1046/j.1365-280x.1999.00198.x
41.	Yu F., He M, Li J., Wang H., Chen S., Zhang X., Zhang H., Duan G., Zhang R. Differential Expression of α -Enolase in Clinical Gastric Tissues and Cultured Normal/Cancer Cells in Response to <i>Helicobacter pylori</i> Infection and <i>cagA</i> Transfection. <i>Medicina</i> , 2022, vol. 58. no.10	-	https://doi.org/10.3390/medicina58101453