

# 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



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

ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

**Резюме.** «Сухая» иммерсия является одним из методов имитации ряда факторов космического полета. 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

## Адрес для переписки:

Комиссарова Дарья Валерьевна  
123007, Россия, Москва, Хорошевское ш., 76А,  
ГНЦ РФ – ИМБП РАН.  
Тел.: 8 916 077-10-58. E-mail: d.komisarova@yandex.ru

## Contacts:

Daria V. Komissarova  
123007, Russian Federation, Moscow, Khoroshevskoye hwy, 76A,  
State Scientific Center of the Russian Federation —  
Institute of Medical and Biological Problems of the RAS.  
Phone: +7 916 077-10-58. E-mail: d.komisarova@yandex.ru

## Для цитирования:

Комиссарова Д.В., Ларина И.М., Пастушкова Л.Х., Каширина Д.Н., Усанова Н.А., Ильин В.К. 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 // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 5. С. 951–960. doi: 10.15789/2220-7619-RBE-17615

## Citation:

Komissarova D.V., Larina I.M., Pastushkova L.H., Kashirina D.N., Usanova N.A., Ilyin V.K. 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 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 5, pp. 951–960. doi: 10.15789/2220-7619-RBE-17615

Работа выполнена в рамках тем фундаментальных научных исследований FMFR-2024-0032 «Анализ молекулярно-клеточных изменений при моделировании факторов космического полета» (№ НИОКТР 124070300025-0) и FMFR-2024-0035 «Исследование способов коррекции микробного статуса человека и оптимизации физиологического состояния его пищеварительной системы в искусственной среде обитания. Исследование способов и средств сохранения фототрофного звена от микробных поражений. Исследование адаптации и внутрипопуляционной изменчивости микроорганизмов в условиях искусственной среды обитания и при экстремальных воздействиях» (№ НИОКТР 124070300022-9).

The study was carried out within the framework of the topics of fundamental scientific research FMFR-2024-0032 "Analysis of molecular and cellular changes in the simulation of space flight factors" (No. 124070300025-0) and FMFR-2024-0035 "Investigation of ways to correct the microbial status of humans and optimise the physiological state of their digestive system in an artificial habitat. Investigation of ways and means of preserving the phototrophic link from microbial lesions. Study of adaptation and intrapopulation variability of microorganisms in conditions of artificial habitat and under extreme influences" (No. 124070300022-9).

Daltonics, США). Связь между уровнем белков в образцах и численностью микроорганизмов кишечника была описана с помощью регрессионной модели, где в качестве зависимой переменной выступал определенный белок в крови, а 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.

## 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., Larina I.M., Pastushkova L.H., Kashirina D.N., Usanova N.A., Ilyin V.K.

State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**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.

**Key words:** intestinal microflora, *S. aureus*, proteomics, *E. coli*, *Enterobacter*, “dry” immersion

## 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<sup>4</sup> 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 счет 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 определенных состояний.

Исследование протеома крови хозяина, в этой связи, имеет двойное значение. С одной стороны, количественный и качественный состав белков внеклеточной жидкости свидетельствует о состоянии разнообразных функций. С другой стороны, посредством влияния микробиоты на клетки эпителия кишечника и его секреторные элементы ее компоненты способны оказывать влияние на протеом хозяина. В отличие от привычной в протеомике структуры молекулярных цепей (белок-белковые взаимодействия) влияние такого рода может осуществляться через клетку: белок (или другой агент от микробиоты)—клетка хозяина—протеом хозяина.

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

Считается, что определенный вклад в генез проблем с ЖКТ вносят застойные явления в спланхническом бассейне, которые приводят к активации желчеотделения с увеличением секрецией желчи с меньшей концентрацией в ней желчных кислот [5], увеличению секреторной активности инсулярного аппарата и пониженной секреции гастрина [1], а также замедлению скорости детоксикационной активности печени [2]. Таким образом, изучение состояния кишечного микробиома важно для поддержания здоровья участников космических полетов, особенно длительных, когда воздействие стрессорных факторов, таких как повышенная психоэмоциональная напряженность, гиподинамия, пребывание в течение длительного вре-

мени в замкнутом пространстве космического корабля или станции, могут дестабилизировать микрофлору ЖКТ.

В то же время показано, что регуляторные и метаболические изменения, происходящие во время экспериментов с «сухой» иммерсией, отражаются на белковом составе крови. Были показаны изменения уровня плазминогена, фибронектина, других факторов свертывания и фибринолиза, повышение содержания продуктов фибринолиза, активация системы комплемента [13]. Протеомные методы позволяют определить белки, реагирующие на сложный комплекс факторов «сухой» иммерсии, и уточнить молекулярные механизмы изменений в различных физиологических системах.

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.

## Материалы и методы

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. В 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 г.).

Однократно за 1–2 суток до начала эксперимента и однократно на 1–3 сутки после окончания «сухой» иммерсии отбирались пробы фекалий. Из этих образцов 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 Сабуро, 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 на-

чала эксперимента, в 1, 2 и 3 сутки во время «сухой» иммерсии и через 2 дня после ее окончания. В настоящем исследовании использованы данные за 2 дня до начала иммерсии и на 2 день после окончания эксперимента. Пробы были высушены при комнатной температуре в течение 2 часов, а затем хранились при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Пробоподготовка биоматериала сухих пятен к хромато-масс-спектрометрическому анализу заключалась в следующем: белки экстрагировали в буфере, содержащем 25 мМ бикарбоната аммония, 1% дезоксихолата натрия и 5 мМ ТСЕР (трис-(2-карбокsetил) фосфин гидрохлорид) (Thermo Scientific), при температуре  $60^{\circ}\text{C}$  при 1000 rpm (термомиксер, Eppendorf) в течение 1 ч, затем восстанавливали, алкилировали, осаждали и расщепляли трипсином, как описано в статье [25].

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) [29].

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

## Результаты

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 данные 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 и 10 белков, связанных с функциями иммунной системы.

Обозначенные выше категории, по которым были распределены белки, используя возможности платформы String.db, были отобраны по определенному принципу. Во-первых, поскольку исследовалась микрофлора испытуемых в эксперименте «сухая» иммерсия, в котором, как известно, функции системы имму-

нитета серьезно модифицируется [37], была выбрана категория «иммунная система». Далее, поскольку *Enterobacter* spp. и *S. aureus* относятся к условно-патогенным микроорганизмам, была выбрана категория «инфекционные заболевания». В зависимости от целей и задач анализа взаимосвязи «бактерия—белок» могут быть выбраны и другие принципы разделения белков на группы. Изучение глубинных механизмов взаимосвязей «бактерия—белок», в котором, очевидно, необходимо рассматривать многие функции конкретного белка и биохимические процессы бактерий в период эксперимента, влекущие за собой изменения в количестве белка в крови хозяина, еще предстоит в будущих исследованиях.

### Белки, связанные с иммунными процессами

Обращает на себя внимание тесная взаимосвязь трех белков PSMA2, PSMC3, PSME2, вовлеченных практически во все обозначенные процессы (регуляция иммунного ответа, развитие инфекционных заболеваний).

PSMA2 является субъединицей протеасомы альфа-типа 2, компонентом протеасомного комплекса 20S, участвующего в протеолитической деградации большинства внутриклеточных белков. Этот белок имеет множество функций, например, связываясь в клетке с двумя регуляторными частицами 19S, он образует протеасому 26S и, таким образом, участвует в АТФ-зависимой деградации убиквитинированных белков.

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

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

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

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

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

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

Отдельного внимания заслуживает взаимосвязь белков PSMA2, PSMC3 с белком CCT2, который способен экспрессироваться в энтероцитах и связан с иммунной системой. Белок CCT2 способствует сворачиванию белков при гидролизе АТФ и в составе комплекса TRiC участвует в сворачивании актина и тубулина. Показано, что подмембранный спектрин-актиновый цитоскелет, роль которого в регуляции ионных каналов доказана в ряде исследований [17, 22, 36, 37], является мишенью для кишечных бактериальных патогенов (например, патогенных штаммов *E. coli*, а также *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*) за счет

усиления адгезии клеток, играя решающую роль в прогрессировании дисбиотических состояний [33]. В проводимом ранее анализе данных по влиянию количества белков в крови на количество бактерий была выявлена положительная корреляция уровня CCT2 с количеством бифидобактерий, то есть увеличение уровня данного белка в крови влекло за собой рост количества протективных *Bifidobacterium* spp. Вероятно, механизм взаимодействия CCT2 с бактериальными клетками является более сложным, чем представлялось ранее, и имеет место взаимное влияние белка и бактерий друг на друга, поскольку при изучении влияния количества бактерий на белки была также выявлена взаимосвязь концентрации данного белка с количеством кишечной палочки (положительная корреляция) и с количеством УПМ (отрицательная корреляция). Исследование механизмов взаимодействия данного белка с бактериями может представлять научный и практический интерес с целью определения белковых биомаркеров крови, определяющие наличие и выраженность дисбиотических состояний кишечной микрофлоры.

Еще один комплекс тесно взаимосвязанных белков, участвующих в иммунной регуляции, это белки LTF (лактоферрин), АРОВ (аполипропротеин) и FGB (фибриноген).

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

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

Белок LTF (лактоферрин) представляет собой железосвязывающий белок, который взаимодействует с поверхностью бактерий и имеет бактерицидное действие. Белок LTF проявляет сильную антибактериальную и антифунгаль-

ную активность в отношении многих бактерий и грибов, например, *S. epidermidis*, *Helicobacter pylori*, *C. albicans* [39, 40]. Лактотрансферрин также впоследствии применялся для коррекции дисбиотических состояний участниц 5-суточной «сухой» иммерсии и при длительном употреблении зарекомендовал себя как средство, нормализующее кишечный и вагинальный биотоп [8]. Возможно, активация экспрессии лактотрансферрина связана с увеличением количества протективной кишечной палочки и неизбежно, учитывая его антимикробные свойства, ведет к снижению количества условно-патогенных форм микроорганизмов.

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

Еще 3 белка, не имеющие связей с другими белками, осуществляющими иммунную регуляцию, и не связанные между собой, это белки CA1 (карбоангидраза 1), STOM (стоматин) и NCKAP1 (Nck-ассоциированный белок 1).

Белок CA1 осуществляет обратимую гидратацию углекислого газа и способен гидратировать цианамид до мочевины. Интересно отметить, что хотя данный белок не экспрессируется в иммунных клетках, имеются исследования, в которых показана роль данного белка, преимущественно обнаруживаемого в эритроцитах и энтероцитах, как отрицательного биомаркера для диагностики *S. mansoni*, то есть шистосомоза [24]. Хотя шистосомоз, очевидно, не относится к бактериальным инфекциям, возможно роль данного белка в патогенезе инвазивных заболеваний гораздо шире, чем было принято считать. Таким образом, требуется дальнейшее более детальное исследование взаимосвязи белка CA1 с условно-патогенными и протективными бактериями кишечной микрофлоры.

Белок STOM является интегральным белком и локализуется на клеточной мембране эритроцитов и других типов клеток, где осуществляет регуляцию ионных каналов. Функции данного белка остаются во многом невыясненными, однако его массовое присутствие в складках и расширениях мембраны указывает на его возможную структурную роль в формировании этих структур или их закоривании к актиновому цитоскелету. Участие в формировании цитоскелета, который, как было указано ранее, является одной из мишеней бактериальных

патогенов, возможно, свидетельствует о важном значении данного белка в возникновении и прогрессировании дисбиотических состояний за счет улучшения адгезии бактериальных клеток на мембране. Тем не менее в нашем исследовании данный белок положительно коррелировал только с кишечной палочкой и отрицательно — с условно-патогенными золотистым стафилококком и энтеробактером. Возможно, механизм адгезии данных бактерий происходит иначе, чем у кишечной палочки и не включает в себя взаимодействие с белком STOM.

Изученные функции белка NCKAP1 в основном касаются его участия в развитии опухолей. Так, было выявлено, что экспрессия NCKAP1 высоко тканеспецифична и обнаружена при раке толстого кишечника, легких и печени [20]. Также данный белок участвует в регуляции актинового цитоскелета. У мышей, с неполноценным геном NCKAP1, наблюдались аномалии развития лимфоцитов, фагоцитоза и миграции нейтрофилов. У людей же наблюдались случаи иммунодефицита при наличии двух рецессивных мутантных аллелей NCKAP1 [19]. Очевидно, что кодируемый данным геном белок играет важнейшую роль в иммунной системе. Механизмы воздействия кишечной палочки и условно-патогенных микроорганизмов на ткани организма, вызывающий усиление экспрессии гена NCKAP1, остаются неясными и требуют дальнейшего исследования.

### **Белки, связанные с инфекционными заболеваниями**

С инфекционными заболеваниями также связаны уже упомянутые выше PSMA2, PSMC3, PSME2, NCKAP1 и LTF. Эта связь, очевидно, обусловлена взаимоотношениями «иммунитет–бактерия». Кроме этих белков с инфекционными заболеваниями связан белок ENO1 (енолаза 1). Известно, что ENO1 является белком, обеспечивающим толерантность клеток к гипоксии, он также катализирует превращение 2-фосфоглицерата в фосфоенолпируват в процессе гликолиза [21]. В проводимых ранее исследованиях было показано, что высокий уровень ENO1 наблюдался у пациентов, инфицированных *H. pylori* (бактерией, обитающей в складках желудка и ассоциирующейся с развитием язвенной болезни желудка) [41]. Сведения о функциях белка ENO1, тем не менее, остаются не до конца выясненными. Так, например, имеются сведения о том, что ENO1 в клетках-мишенях предотвращает интеграцию ВИЧ-1, а сверхэкспрессия белка в клетках-продуцентах вируса, а также в клетках-мишенях заметно подавляла репликацию вируса [27]. Однако в то же время в литературе имеются данные

о том, что высокий уровень экспрессии ENO1 также наблюдался и у больных с некоторыми раковыми опухолями [18]. Обобщая вышесказанное, можно сделать вывод о том, что повышение ENO1 ассоциировано с патогенными микроорганизмами и онкогенезом, но при этом играет важную роль в ответе организма на вирусную инвазию. Учитывая положительную корреляцию кишечной палочки и отрицательную — условно-патогенных микроорганизмов с данным белком, необходимо дальнейшее исследование функций данного белка и его роли в регуляции численности кишечной микробиоты.

## Обсуждение

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

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

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

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

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

Исследования последних лет существенно изменили стандартные представления о патогенезе многих заболеваний. На данный момент получены многочисленные доказательства роли кишечной микробиоты в развитии различных заболеваний, таких как атеросклероз, ожирение, заболевания печени, сахарный диабет, артериальная гипертензия и др. При этом известно несколько механизмов, посредством которых кишечная микрофлора участвует в развитии заболеваний: через продукцию метаболитов (эндогенный этанол и др.), активацию системной воспалительной реакции, изменение метаболизма холина и др. [9]. Однако еще многое предстоит выяснить во взаимоотношениях «хозяин—кишечная микрофлора», так как многие подтвержденные корреляции бактерий кишечника с перечисленными заболеваниями пока не могут быть объяснены. Поэтому исследование влияния микрофлоры кишечника на белки человека в неблагоприятных условиях особенно актуально, и кроме фундаментального значения может способствовать выявлению важных диагностических признаков для выявления дисбиотических состояний кишечного биотопа.

## Выводы

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

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

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

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

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

## Список литературы/References

- Афонин Б.В., Седова Е.А. Состояние пищеварительной системы человека при моделировании эффектов невесомости в условиях иммерсии // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2009. Т. 43, № 1. С. 48–52. [Afonin B.V., Sedova E.A. The state of the human digestive system when modeling the effects of weightlessness under immersion conditions. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*, 2009, vol. 43, no. 1, pp. 48–52. (In Russ.)]
- Афонин Б.В., Седова Е.А., Тихонова Г.А., Соловьёва А.А., Валуев В.А. Оценка функциональных изменений печени при моделировании гемодинамических эффектов невесомости в антиортостатическом положении // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2014. Т. 48, № 5. 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. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*, 2014, vol. 48, no. 4, pp. 17–22. (In Russ.)]
- Балмасова И.П., Сепиашвили Р.И. Кишечные инфекции, воспаление и аутоиммунитет. Лимфоидный аппарат кишечника во взаимодействии с кишечной микрофлорой // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013. № 2. С. 113–123. [Balmasova I.P., Sepiashvili R.I. Intestinal infections, inflammation and autoimmunity. Intestinal lymphoid apparatus in interaction with intestinal microflora. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2013, no. 2, pp. 113–123. (In Russ.)]
- Гаус О.В., Беляков Д.Г. Современные взгляды на роль кишечной микробиоты в формировании патологии кишечника. // *Русский медицинский журнал*. 2021. № 5. С. 10–16. [Gaus O.V., Belyakov D.G. Modern views on the role of intestinal microbiota in the formation of intestinal pathology. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2021, no. 4, pp. 10–16. (In Russ.)]
- Ильин В.К., Афонин Б.В., Комиссарова Д.В., Шеф К.А., Агуреев А.Н., Усанова Н.А., Валуев В.А., Дзех С.А. Исследование влияния изменений микрофлоры кишечника и профилактического приема пробиотиков на функциональное состояние желудка в изоляционном эксперименте SIRIUS-18/19 // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2021. Т. 55, № 1. С. 70–75. [Ilyin V.K., Afonin B.V., Komissarova D.V., Shef K.A., Agureev A.N., Usanova N.A., Valuev V.A., Dzekh S.A. Study of the influence of changes in intestinal microflora and prophylactic administration of probiotics on the functional state of the stomach in the SIRIUS-18/19 isolation experiment. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*, 2021, vol. 55, no. 1, pp. 70–75. (In Russ.)] doi: 10.21687/0233-528X-2021-55-1-70-75
- Ильин В.К., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Соловьёва З.О., Скедина М.А., Ковалева А.А. Исследование физиологических и микробиологических особенностей пародонта человека в эксперименте «сухая» иммерсия // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2020. Т. 54, № 5. С. 112–117. [Ilyin V.K., Rykova M.P., Antropova E.N., Solovieva Z.O., Skedina M.A., Kovaleva A.A. Study of physiological and microbiological features of the human periodontium in the experiment «dry» immersion. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*, 2020, vol. 54, no. 4, pp. 112–117. (In Russ.)] doi: 10.21687/0233-528X-2020-54-4-112-117
- 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. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*, 2023, vol. 57, no. 2, pp. 47–56. (In Russ.)] doi: 10.21687/0233-528X-2023-57-2-47-56
- Комиссарова Д.В., Ильин В.К., Припутневич Т.В., Муравьева В.В., Жигалова К.Н. Пробиотические и пробиотические способы коррекции микрофлоры влагалища у женщин участниц наземных экспериментов, моделирующих отдельные факторы космического полета // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2023. № 2. С. 74–76. [Komissarova D.V., Ilyin V.K., Priputnevich T.V., Muravyeva V.V., Zhigalova K.N. Prebiotic and probiotic methods for correcting vaginal microflora in female participants in ground-based experiments simulating individual factors of space flight. *Bulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Federal Research Center UB RAS*, 2023, no. 2, pp. 74–76. (In Russ.)] doi: 10.24411/2304-9081-2023-12007
- 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. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2016, no. 11, pp. 713–720. (In Russ.)]

10. Кулаичев А.П. Методы и средства комплексного статистического анализа данных: учеб. пособие. 5-е изд., перераб. и доп. М.: ИНФРА-М, 2017. 484 с. [Kulaichev A.P. Methods and means of complex statistical data analysis: tutorial. 5th ed., revised. Moscow: INFRA-M, 2017. 484 p. (In Russ.)]
11. Морозов А.М., Минакова Ю.Е., Протченко И.Г. Влияние микрофлоры на синтез витаминов (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. 2019. № 6. С. 167–171. [Morozov A.M., Minakova Yu.E., Protchenko I.G. The influence of microflora on the synthesis of vitamins (review). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii = Journal of New Medical Technologies*, 2019, no. 6, pp. 167–171. (In Russ.)]
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. *Uchenye zapiski SPbGMU im. I.P. Pavlova = Scientific Notes of Pavlov First St. Petersburg State Medical University*, 2010, no. 2, pp. 24–27. (In Russ.)]
13. Пастушкова Л.Х., Пахарукова Н.А., Новоселова 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-суточной «сухой» иммерсией. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2012. Т. 46, № 5. С. 31–37. [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 with a 5-day “dry” immersion. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*, 2012, vol. 46, no. 4, pp. 31–37. (In Russ.)]
14. Ткаченко Е.И. Парадигма дисбиоза в современной гастроэнтерологии. Роль микробиоты в лечении и профилактике заболеваний в XXI веке // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 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. *Ekspperimental'nai i klinicheskai gastroenterologiya = Experimental & Clinical Gastroenterology*, 2014, no. 5 (105), pp. 4–8. (In Russ.)]
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. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2020. Т. 54, № 5. 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. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*, 2020, vol. 54, no. 4, pp. 5–14. (In Russ.)] doi: 10.21687/0233-528X-2020-54-4-5-14
16. Усик М. Клетки под давлением // Biomolecula.ru: сайт (дата публикации: 08.12.2015) [Usik M. Cells under pressure. Biomolecule.ru: web-site (publication date: 08.12.2015) (In Russ.)] URL: <https://biomolecula.ru/articles/kletki-pod-davleniem>
17. Benos D.J., Awayda M.S., Ismailov I.I., Johnson J.P. Structure and function of amiloride-sensitive Na<sup>+</sup> 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. *Oncotarget*, 2016, vol. 7, pp. 5598–5612. doi: 10.18632/oncotarget.6798
19. Castro C.N., Rosenzweig M., Carapito R., Shahrooei M., Konantz M., Khan A., Miao Z., Groß M., Tranchant T., Radosavljevic M., Paul N., Stemmlen T., Pitoiset F., Hirschler A., Nespola B., Molitor A., Rolli V., Pichot A., Faletti L.E., Rinaldi B., Friant S., Mednikov M., Karauzum H., Aman M.J., Carapito C., Lengerke C., Ziaee V., Eyaid W., Ehl S., Alroqi F., Parvaneh N., Bahram S. NCKAP1 defects lead to a novel syndrome combining immunodeficiency, lymphoproliferation, and hyperinflammation. *J. Exp. Med.*, 2020, vol. 217, no. 12: e20192275. doi: 10.1084/jem.20192275 PMID: 32766723; PMID: PMC7526481
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. *Front. Genet.*, 2022, vol. 13. doi: 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 enolase1 (ENO1) in promoting glycolysis and procancer activities in multiple myeloma via hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ . *Oncology Reports*, 2023, vol. 50, no. 5. doi: 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. *PNAS*, 1995, no. 91, pp. 2965–2969. doi: 10.1073/pnas.91.8.2965
23. Ebstein F., Küry S., Most V., Rosenfelt C., Scott-Boyer M.P., van Woerden G.M., Besnard T., Papendorf J.J., Studencka-Turski M., Wang T., Hsieh T.C., Golnik R., Baldrige D., Forster C., de Konink C., Teurlings S.M.W., Vignard V., van Jaarsveld R.H., Ades L., Cogné B., Mignot C., Deb W., Jongmans M.C.J., Cole F.S., van den Boogaard M.H., Wambach J.A., Wegner D.J., Yang S., Hannig V., Brault J.A., Zadeh N., Bennetts B., Keren B., Gélinau A.C., Powis Z., Towne M., Bachman K., Seeley A., Beck A.E., Morrison J., Westman R., Averill K., Brunet T., Haasters J., Carter M.T., Osmond M., Wheeler P.G., Forzano F., Mohammed S., Trakadis Y., Accogli A., Harrison R., Guo Y., Hakonarson H., Rondeau S., Baujat G., Barcia G., Feichtinger R.G., Mayr J.A., Preisel M., Laumonier F., Kallinich T., Knaus A., Isidor B., Krawitz P., Völker U., Hammer E., Droit A., Eichler E.E., Elgersma Y., Hildebrand P.W., Bolduc F., Krüger E., Bézieau S. PSMC3 proteasome subunit variants are associated with neurodevelopmental delay and type I interferon production. *Sci. Transl. Med.*, 2023, vol. 15, no. 698: eabo3189. doi: 10.1126/scitranslmed.abo3189
24. Kardoush M.I., Ward B.J., Ndao M. Serum Carbonic Anhydrase 1 is a Biomarker for Diagnosis of Human Schistosoma mansoni Infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2017, vol. 96, no. 4, pp. 842–849. doi: 10.4269/ajtmh.16-0021
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 of the microgravity effects using dry immersion. *Front. Physiol.*, 2022, no. 12: 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. doi: 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: 31. doi: 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. *Biochemistry*, 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. *Mol. Cell. Proteomics*, 2018, vol. 17, no. 12, pp. 2534–2545. doi: 10.1074/mcp.TIR118.000900
30. Mergani A., Wanen 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. *Front. Cell. Dev. Biol.*, 2021, no. 9. doi: 10.3389/fcell.2021.699970
31. Nandi D., Tahiliani P., Kumar A., Chandu D. The ubiquitin-proteasome system. *J. Biosci.*, 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 Staphylococcus aureus infection. *Cell. Host. Microbe*, 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. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 5: e19940. doi: 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. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1988, vol. 180, no. 3, pp. 474–482. 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 host-pathogen interactions: the macrophage response to Mycobacterium tuberculosis lipids. *J. Proteome Res.*, 2009, vol. 8, no. 1, pp. 282–289. doi: 10.1021/pr800422e
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.
37. Suzuki M., Miyazaki K., Ikeda M., Kawaguchi Y., Sakai O. F-actin network may regulate a Cl<sup>-</sup> 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: 638. doi: 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. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1999, vol. 34, no. 3, pp. 238–243. doi: 10.1080/00365529950173627
40. Xu Y.Y., Samaranyake Y.H., Samaranyake L.P., Nikawa H. In vitro susceptibility of Candida species to lactoferrin. *Med. Mycol.*, 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  $\alpha$ -enolase in clinical gastric tissues and cultured normal/cancer cells in response to Helicobacter pylori infection and cagA transfection. *Medicina*, 2022, vol. 58, no. 10. doi: 10.3390/medicina58101453

**Авторы:**

**Комиссарова Д.В.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией эколого-гигиенических аспектов обитаемости ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия;

**Ларина И.М.**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией протеомики ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия;

**Пастушкова Л.Х.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории протеомики ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия;

**Каширина Д.Н.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории протеомики ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия;

**Усанова Н.А.**, старший научный сотрудник лаборатории микробной экологии человека ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия;

**Ильин В.К.**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. отделом санитарно-гигиенической безопасности человека в искусственной среде обитания, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией микробной экологии человека ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия.

**Authors:**

**Komissarova D.V.**, PhD (Biology), Leading Researcher, Head of Laboratory of Ecological and Hygienic Aspects of Habitability, State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

**Larina I.M.**, DSc (Medicine), Professor, Leading Researcher, Head of Laboratory of Proteomics, State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

**Pastushkova L.H.**, DSc (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Proteomics, State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

**Kashirina D.N.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Proteomics, State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

**Usanova N.A.**, Senior Researcher, Laboratory of Human Microbial Ecology, State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

**Ilyin V.K.**, DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Head of Department of Sanitary and Hygienic Safety of Humans in Artificial Habitats, Leading Researcher, Head of Laboratory of Human Microbial Ecology, State Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.