

<https://doi.org/10.47183/mes.2026-429>

УДК 577.2:57.042



ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕОМА КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ, ОТРАЖАЮЩАЯ ПРОЦЕССЫ АДАПТАЦИИ К ДЛИТЕЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

И.М. Ларина¹, Л.Х. Пастушкова¹, Д.Н. Каширина¹, А.Г. Гончарова¹, С.Б. Величковская^{1,2,3}, Г.П. Вилесов¹, А.Г. Бржозовский^{1,3}, А.С. Кононихин^{1,3}¹ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия² Московский государственный лингвистический университет, Москва, Россия³ Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

Введение. Длительная наземная изоляция с имитацией космической миссии вызывает различные адаптационные реакции организма в связи с воздействием комплекса экстремальных факторов на человека. Изучение данных реакций организма на молекулярном уровне позволит разработать наиболее качественный план медицинского обеспечения последующих космических миссий. Для оценки молекулярных механизмов адаптации хорошо себя зарекомендовали методы протеомики.

Цель. Исследование профиля протеомных физиологически активных компонентов крови у испытуемых как критериев адаптационных стратегий физиологических систем организма в ответ на воздействие экстремальных факторов длительной изоляции при наземном моделировании факторов космического полета.

Материалы и методы. Изучение характеристик протеомных физиологически активных компонентов крови проведено у 6 здоровых испытуемых-добровольцев в возрасте 27–38 лет (средний возраст $32,5 \pm 5,5$ года) в условиях 12-месячной изоляции («SIRIUS-23») в герметично замкнутом объекте с ограниченным объемом жилой и рабочей площади и лимитированными ресурсами для обеспечения жизнедеятельности. Методами масс-спектрометрии были исследованы образцы экстрактов сухих пятен крови. Статистический анализ проводился в программе Statistica 12 с применением непараметрического теста Манна – Уитни ($p < 0,05$). Биологические процессы, в которых участвуют выявленные белки, определены с помощью базы данных STRING.

Результаты. Через 1 месяц изоляции достоверно увеличивается экспрессия 3 белков, которые участвуют в биологическом процессе «подавление фагоцитоза». Через 3 месяца изоляции достоверно увеличивается уровень концентрации 22 белков внеклеточного матрикса и экзосом. Через 6 месяцев изоляции достоверно увеличивается концентрация 33 белков, участвующих в процессах клеточного компонента или вовлеченных в регуляцию внеклеточной сигнализации.

Выводы. Полученные данные позволили составить предварительную версию происходящих в организме биологических процессов, в которых участвуют белки с достоверно изменяющимся уровнем концентрации в условиях длительной изоляции в гермо-объекте. Проведенное исследование расширяет представления о протеомных механизмах регуляции биологических процессов у здоровых лиц при моделировании факторов космического полета.

Ключевые слова: длительная наземная изоляция; протеом; белки; сухие пятна крови; биоинформационные методы; адаптация; гермообъект; моделирование факторов космического полета

Для цитирования: Ларина И.М., Пастушкова Л.Х., Каширина Д.Н., Гончарова А.Г., Величковская С.Б., Вилесов Г.П., Бржозовский А.Г., Кононихин А.С. Характеристика протеома крови здоровых добровольцев, отражающая процессы адаптации к длительной изоляции. *Экстремальная биомедицина*. 2026. <https://doi.org/10.47183/mes.2026-429>

Финансирование: исследование выполнено в рамках международного гранта РФ (проект № 25-44-02045).

Соответствие принципам этики: исследование одобрено комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (протокол № 483 от 03.08.2018). Всеми испытуемыми подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Потенциальный конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

✉ Величковская Софья Борисовна velichkovskaya@gmail.com

Статья поступила: 02.02.2026 **После доработки:** 16.02.2026 **Принята к публикации:** 27.02.2026 **Online first:** 23.04.2026

CHARACTERIZATION OF THE BLOOD PROTEOME OF HEALTHY VOLUNTEERS REFLECTING ADAPTATION PROCESSES TO PROLONGED ISOLATION

Irina M. Larina¹, Liudmila Kh. Pastushkova¹, Daria N. Kashirina¹, Anna G. Goncharova¹, Sofia B. Velichkovskaya^{1,2,3}, Georgy P. Vilesov¹, Alexander G. Brzhozovskiy^{1,3}, Alexey S. Kononikhin^{1,3}¹ Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia² Moscow State Linguistic University, Moscow, Russia³ Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

Introduction. Due to exposure to a set of extreme factors, prolonged ground-based isolation simulating a space mission induces various adaptive responses in the body. The study of such organismal responses at the molecular level is important for the development of high-quality medical support plans for subsequent space missions. Proteomic methods have proven effective for assessing the molecular mechanisms of adaptation.

Objective. To study the profile of proteomic physiologically active components in the blood of test subjects as criteria for adaptive strategies of physiological systems in response to exposure to extreme factors of prolonged isolation during ground-based simulation of spaceflight factors.

© И.М. Ларина, Л.Х. Пастушкова, Д.Н. Каширина, А.Г. Гончарова, С.Б. Величковская, Г.П. Вилесов, А.Г. Бржозовский, А.С. Кононихин, 2026

Materials and methods. The characteristics of proteomic physiologically active blood components were studied in six healthy volunteers aged 27–38 years (mean age 32.5 ± 5.5 years) under the conditions of a 12-month isolation (SIRIUS-23) in a hermetically sealed facility with limited living and working space and restricted resources for life support. Mass spectrometry methods were used to analyze dried blood spot samples. Statistical analysis was performed using the Statistica 12 software with non-parametric Mann–Whitney U test ($p < 0.05$). The biological processes involving the identified proteins were determined using the STRING database.

Results. Following one month of isolation, a significant increase in the expression of three proteins involved in the biological process of phagocytosis suppression was observed. Following three months of isolation, the concentration level of 22 extracellular matrix and exosome proteins significantly increased. Following six months of isolation, the concentration of 33 proteins involved in either cellular component processes or regulation of extracellular signaling significantly increased.

Conclusions. The data obtained allowed us to compile a preliminary version of biological processes, which involve proteins with reliably changing concentrations, during prolonged isolation in a specialized facility. The conducted study elucidates the proteomic mechanisms regulating biological processes in healthy individuals during the simulation of spaceflight factors.

Keywords: long-term ground-based isolation; proteome; proteins; “dried blood spots”; bioinformatics methods; adaptation; sealed facility; simulation of spaceflight factors

For citation: Larina I.M., Pastushkova L.Kh., Kashirina D.N., Goncharova A.G., Velichkovskaya S.B., Vilesov G.P., Brzhozovskiy A.G., Kononikhin A.S. Characterization of the blood proteome of healthy volunteers reflecting adaptation processes to prolonged isolation. *Extreme Medicine*. 2026. <https://doi.org/10.47183/mes.2026-429>

Funding: the study was conducted within the framework of an international grant from the Russian Science Foundation (project No. 25-44-02045).

Compliance with the ethical principles: the study was approved by the Biomedical Ethics Commission of the Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences (minutes No. 483 dated 03.08.2018). All subjects signed voluntary informed consent to participate in the study.

Potential conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

✉ Sofia B. Velichkovskaya velichkovskaya@gmail.com

Received: 2 Feb. 2026 **Revised:** 16 Feb. 2026 **Accepted:** 27 Feb. 2026 **Online first:** 23 Apr. 2026

ВВЕДЕНИЕ

Исследование реакций организма на молекулярном уровне в ответ на комплекс экстремальных факторов, воздействующих в замкнутом пространстве (длительная изоляция, измененный, но контролируемый состав газовой среды, работа в малой группе, возникновение внештатных ситуаций и особенности двигательной активности), является на сегодняшний день актуальной научной задачей, что связано с необходимостью обеспечения медицинской безопасности жизнедеятельности как космонавтов при выполнении длительных миссий, так и работников ряда производств на Земле и военнослужащих. Изучение белкового состава крови методами протеомики открывает большие возможности для оценки молекулярных механизмов адаптации. Протеом крови отражает как состояние гомеостаза (на уровне постоянных белков), так и общую реактивность организма в ответ на влияние комплекса экстремальных факторов. Биоинформационные методы дают возможность конкретизировать строение сетей белок-белковых взаимодействий, оценить пути и биологические процессы, обеспечивающие адаптацию к напряженным условиям жизнедеятельности. Ранее в условиях 120-суточной изоляции на основе протеомного анализа установлены изменения структурных белков соединительной ткани, белков-участников вегетативной регуляции сердечно-сосудистой и иммунной систем [1–3].

Известно, что подавляющее большинство белковых фракций крови не являются компонентами регуляторных контуров на системном уровне, кроме гормонов и альбумино-глобулиновой фракции протеинов, обеспечивающих постоянство осмоляльности плазмы. Напротив, протеом крови изменчив в широких пределах, причем на его качественную и количественную

модуляцию у здорового человека влияют генотип, образ жизни, двигательная активность, питание, процесс здорового старения [4]. Изучение параметров функционирования различных физиологических систем организма человека в контролируемых условиях целесообразно в связи с тем, что стандартизируются внешние условия среды обитания и снижается индивидуальная вариабельность физиологических показателей, так как в исследованиях принимают участие практически здоровые испытуемые, прошедшие медицинский отбор. Этот подход позволяет выявить групповые закономерности, что особенно важно в обследовании небольших выборок здоровых людей.

Цель — исследование профиля протеомных физиологически активных компонентов крови у испытуемых как критериев адаптационных стратегий физиологических систем организма в ответ на воздействие экстремальных факторов длительной изоляции при наземном моделировании факторов космического полета.

Результаты данного исследования предположительно позволят через протеомные особенности крови расширить представления о роли физиологических систем в организации адаптивных состояний человека в условиях жизнедеятельности, выполнения рабочих задач и преодоления внештатных ситуаций в гермообъекте при моделировании космического полета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в рамках международного проекта «SIRIUS-23» на базе медико-технического наземного экспериментального комплекса (НЭК) ИМБП. Данный гермообъект позволяет воспроизводить аналоговую платформу для моделирования исследований космических полетов с многофункциональными экспериментальными и жилыми модулями.

Комплекс оснащен системами автономного жизнеобеспечения, а также управляемой извне исполнительной системой, позволяющей формировать экспериментально заданную среду обитания с определенными параметрами.

Изучение характеристик протеомных физиологически активных компонентов крови проведено у 6 здоровых испытуемых-добровольцев в возрасте 27–38 лет (средний возраст $32,5 \pm 5,5$ года) в условиях 12-месячной изоляции в герметично замкнутом объекте с ограниченным объемом жилой и рабочей площади и лимитированными ресурсами для обеспечения жизнедеятельности и решения поставленных в ходе эксперимента задач.

Объектом исследования являлись экстракты сухих пятен крови испытуемых. Сбор образцов капиллярной крови объемом 80 мкл у каждого участника проведен в 5 временных точках: до начала эксперимента в гермообъекте — за 60 сут («фон»), во время изоляции — через 1, 3 и 6 мес. изоляции и после ее окончания — на 7 сут восстановительного периода («выход из изоляции»). В соответствии с циклограммой эксперимента образцы сухих пятен крови были разделены на группы: группа 1 — фон, группа 2 — через 1 мес. изоляции, группа 3 — через 3 мес. изоляции, группа 4 — через 6 мес. изоляции и группа 5 — выход из изоляции.

Капиллярную кровь получали путем прокола фаланги безымянного пальца, каплю крови помещали на фильтровальную бумагу, высушивали в течение 2–3 ч, хранили при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения хроматомасс-спектрометрического анализа. Для проведения анализа высушенное пятно вырезали и экстрагировали в 400 мкл раствора 50 мМ бикарбоната аммония, 2% дезоксихолата натрия (BioChemica, AppliChem) при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ на термошейкере Thermomixer comfort (Eppendorf) при перемешивании 1400 об/мин в течение 45 мин. Для восстановления дисульфидных связей добавляли 10 мкл 0,5 М ТСЕР (рН 8) фосфин гидрохлорид, инкубировали в течение 15 мин при $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 950 об/мин на термошейкере, проводили алкилирование 0,5 М йодацетатом, инкубировали в течение 30 мин в темноте при комнатной температуре. Процедура подготовки образца завершали трипсинолизом: в 50 мМ аммоний бикарбонатном буфере с добавлением 5 мкл трипсина в концентрации 1 мг/мл. Инкубацию проводили в течение 17 ч при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ на термошейкере Thermomixer comfort при перемешивании 700 об/мин. Затем добавляли 45 мкл 10% водного раствора муравьиной кислоты для инактивации трипсина и осаждения дезоксихолата натрия. Образец центрифугировали на центрифуге MR 23i (Thermo electron corporation) при 14 000 г в течение 10 мин, после чего 95 мкл супернатанта переносили в новую пробирку. На этом этапе образец был готов для масс-спектрометрического анализа.

Полученную смесь триптических пептидов анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — tandemной масс-спектрометрии (LC/MS-MS) на основе системы нано-ВЭЖХ Dionex Ultimate3000 (Thermo Fisher Scientific, США) и масс-спектрометра TimsTOF Pro (Bruker Daltonics,

США). Для разделения пептидов использовали колонку (C18, 25 см \times 75 мкм \times 1,6 мкм) (Ion Optics, Parkville, Австралия). Измерения проводились в диапазоне m/z от 100 до 1700. Масс-спектрометрический анализ выполняли с использованием метода сбора данных с параллельным накоплением и последовательной фрагментацией (PASEF).

Полученные данные были проанализированы с применением PEAKS Studio 8.5 и MaxQuant версии 1.6.7.0. Идентификация белков по выявленным пептидам проводилась с использованием базы данных SwissProt с установленным уровнем ложноположительного открытия (FDR) 0,01.

Была выполнена оценка достоверности результатов хроматомасс-спектрометрического анализа. При масс-спектрометрическом анализе образцов всего было идентифицировано 289 273 совпадения пептида со спектром прекурсора (PSM) с ошибкой FDR 1% с максимальным уровнем достоверности, при котором стало возможным определить 632 различных белка. При этом в каждом образце было выявлено от 281 до 427 различных белков.

Анализ распределения взвешенных сумм оценок пептидов ($-10\lg P$) для всех PSM указывал на статистическую значимость совпадения пептида и спектра прекурсора. Гистограмма, показывающая количество целевых и ложных совпадений в каждом интервале оценки, позволила сделать вывод, что ложные совпадения встречаются только в интервале низких оценок и не выходят за значимый порог.

Также было проанализировано распределение обнаруженных признаков пептидов. Так, на рисунке 1 показаны все обнаруживаемые признаки, распределенные по обилию признаков, измеряемому как площадь под кривой масс-спектра. Данные признаки представляют собой различные значения отношения массы к заряду — m/z (обозначены синим цветом). Оранжевым цветом выделено количество обнаруживаемых признаков с результатами из канонической базы данных, а светло-голубым — количество обнаруживаемых признаков с результатами *de novo* в дополнение к результатам из базы данных.

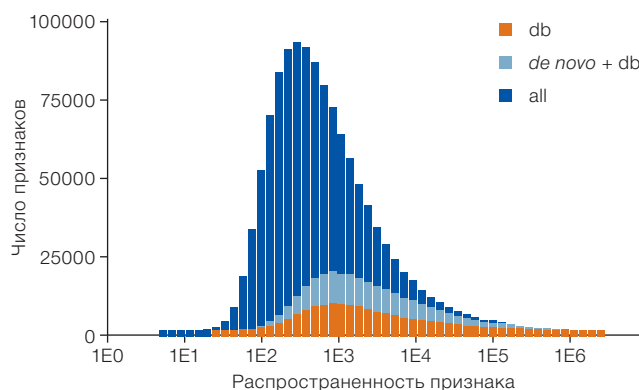


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 1. Распределение идентифицированных пептидных признаков белков: db — количество признаков из канонической базы данных; *de novo* + db — общее количество признаков из базы данных; all — количество всех идентифицированных признаков

Полученные данные LC-MS/MS были полуколичественно проанализированы с использованием DIA-NN (версия 1.8.1) на основе нормализованных интенсивностей пиков в спектрах MS, что отражает уровни белков относительно значений в фоновых образцах. Структурно-функциональная группировка белков с международным названием, геном и сокращением приводится по международной базе данных UniProt KB и QuickGO по тексту.

Статистический анализ проводился в программе Statistica 12 с использованием непараметрического теста Манна – Уитни ($p < 0,05$). Биологические процессы, в которых участвуют выявленные белки, определены с помощью базы данных STRING¹.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов полуколичественного определения белков в экстрактах сухих пятен крови показал, что среди общего числа выявленных в биологических образцах 632 различных белков содержалось 98 белков с достоверно различающейся концентрацией в зависимости от срока получения проб.

Первоначально в ходе выполнения работы построена тепловая карта белков с достоверно изменившимися концентрациями в крови, иллюстрирующая кластеры групп белков со сходной тенденцией экспрессии во всех образцах, при этом цвет ячеек означает \log_2 (отношение) к среднему значению обилия белков в разных образцах (рис. 2).

На графике Volcano (рис. 3) наглядно показаны те белки, которые демонстрировали наибольшие (в том числе статистически значимые) изменения концентрации в крови испытуемых в зависимости от экспериментального срока наблюдения; эти белки находятся в верхней части графика и отдалены от центра.

С помощью теста Манна – Уитни проведено сравнение концентрации протеинов в крови испытуемых в различные сроки изоляции с фоновыми значениями при уровне значимости различий $p < 0,05$. Полный перечень белков с достоверно увеличивающимся уровнем концентрации в крови в 1, 3 и 6 мес. изоляции представлен в виде блок-схемы (рис. 4).

Протеомные исследования здорового человека в условиях годовой изоляции в эксперименте «SIRIUS-23» выявили, что через 1 мес. эксперимента

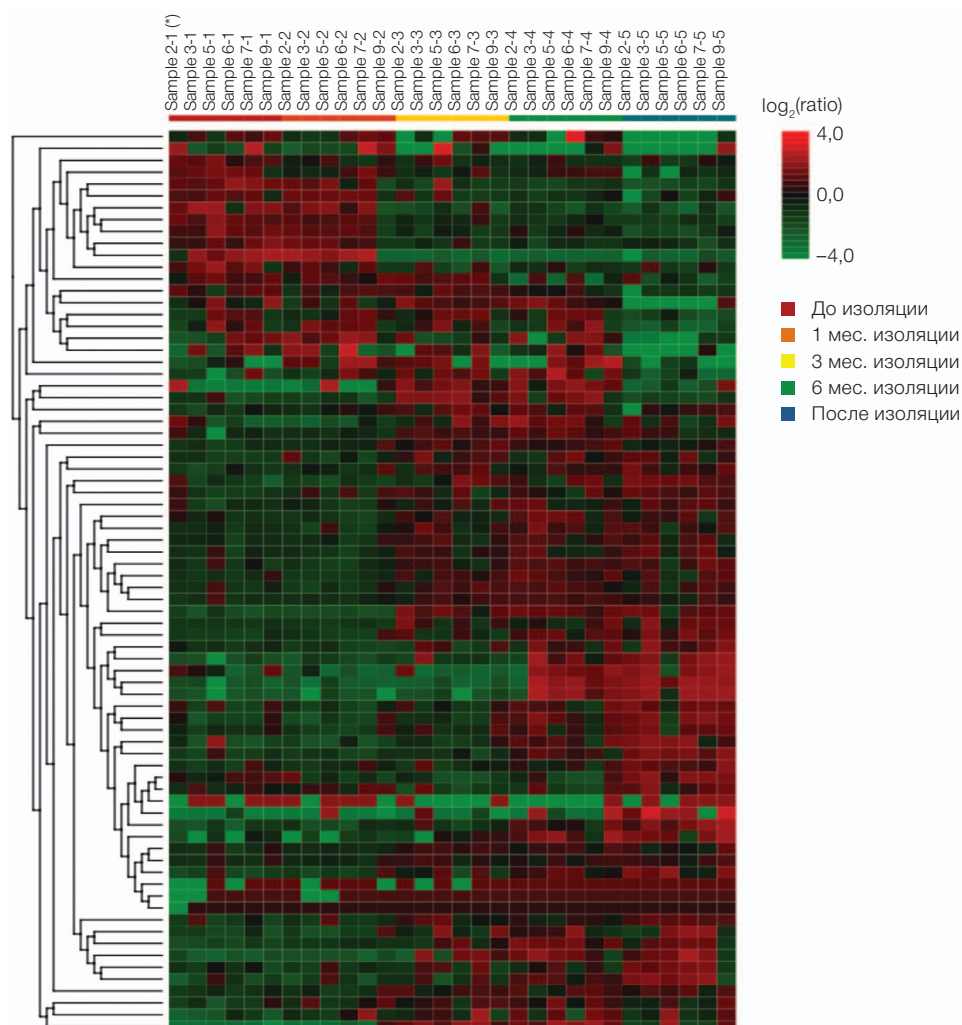


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 2. Тепловая карта белкового профиля

¹ STRING. URL: <https://string-db.org> (дата обращения 10.01.2026).

достоверно увеличивалось содержание в крови 3 белков: константная цепь-3 иммуноглобулина лямбда (ген *IGLC3*), миелобластин (ген *PRTN3*) и адипонектин (ген *ADIPOQ*). С помощью базы данных STRING было показано, что они не были связаны в единую сеть, то есть с большой долей вероятности не коактивировались. В то же время все вышеуказанные белки участвовали в регулировании биологического процесса GO:0050765 — подавления фагоцитоза (negative regulation of phagocytosis).

Контекстная аннотация белков с достоверно увеличенным уровнем в крови через 1 мес. эксперимента, выполненная по программе UniProt, показала участие миелобластина (ген *PRTN3*) в метаболизме эластина, фибронектина, ламинина, витронектина и коллагена типов I, III и IV [5–7]. Расщепляя и активируя рецептор F2RL1/PAR-2, миелобластин усиливает барьерную функцию эндотелиальных клеток и поддерживает целостность сосудов при трансэндотелиальной миграции нейтрофилов [8, 9]. Этот белок также играет роль в трансэндотелиальной миграции нейтрофилов, вероятно, при связывании с CD177 [9]. Миелобластин вызывает воспалительные процессы в нейтрофилах, взаимодействуя с аденилатциклазным рецептором G3 (*ADGRG3*). Показано, что для эффективного связывания и активации mPR3 с помощью GPR97 требуется макромолекулярный комплекс CD177/GPR97/PAR2/CD16b, который индуцирует активацию PAR2 — рецептора, связанного с G-белком, известного своей ролью в воспалении. Активация PAR2 с помощью этого комплекса приводит к воспалительной реакции, стимулируя противомикробную активность, но индуцирует дисфункцию эндотелия [10].

Адипонектин (ген *ADIPOQ*) участвует в контроле жирового обмена и чувствительности к инсулину с прямой антиатерогенной, антидиабетической и противовоспалительной активностью. Он стимулирует фосфорилирование и активацию аденозинмонофосфат-активируемой протеинкиназы (AMPK) в печени и скелетных мышцах, усиливая утилизацию глюкозы и сжигание жирных кислот [11]. Адипонектин противодействует TNF-альфа, отрицательно регулируя его экспрессию в печени и макрофагах. Однако при определенных обстоятельствах адипонектин индуцирует экспрессию медиаторов воспаления в скелетных

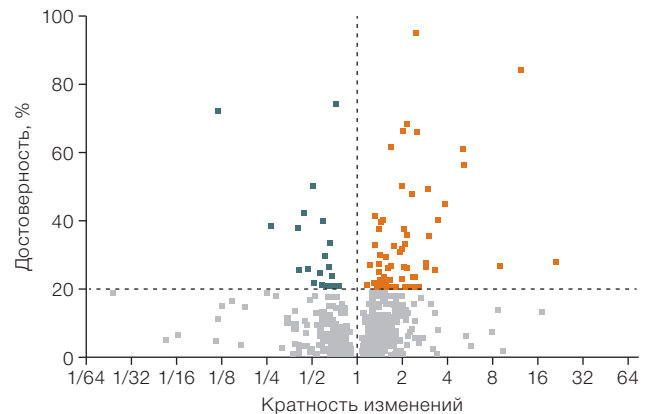


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 3. Volcano-диаграмма белков с наибольшими изменениями концентрации в крови: ■ — белки с кратностью изменений концентрации выше 1; ■ — белки с кратностью изменений концентрации от 0 до 1

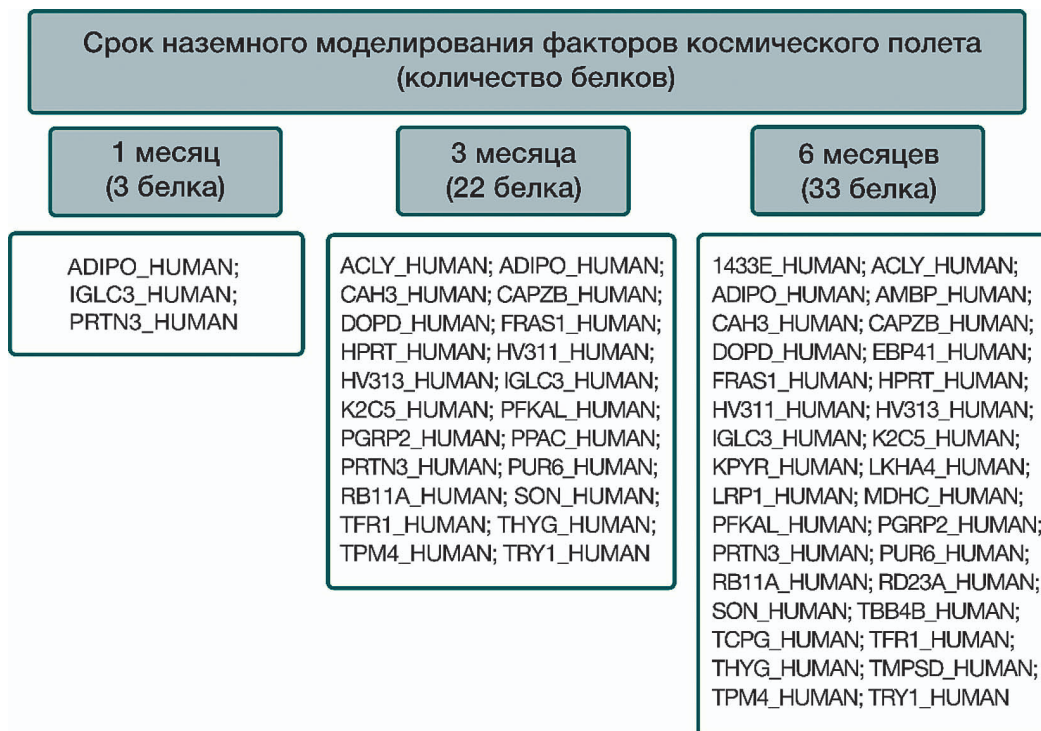


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 4. Перечень белков с достоверно увеличивающимся уровнем концентрации в крови испытуемых в разные сроки изоляции по сравнению с фоновыми значениями

мышцах, иммунных и неиммунных клетках с помощью различных механизмов. Так, в макрофагах адипонектин может действовать как анти- (при длительном воздействии повышенных уровней адипонектина) и провоспалительный (при кратковременном повышении) фактор [12].

Константная цепь-3 иммуноглобулина лямбда (ген *IGLC3*) — постоянная область легких цепей иммуноглобулинов. Секретируемые иммуноглобулины опосредуют эффекторную фазу гуморального иммунитета, что приводит к устранению связанных антигенов [13]. Сайт связывания антигена образован варибельным доменом одной тяжелой цепи вместе с варибельным доменом связанной с ней легкой цепи. Варибельные домены собираются в процессе, называемом перестройкой V-(D)-J, и затем могут подвергаться соматическим гипермутациям, которые после воздействия антигена и отбора обеспечивают средство к определенному антигену [14].

Необходимо отметить, что основным биологическим процессом, активированным в организме добровольцев через 1 мес. пребывания в гермообъекте, исходя из достоверно увеличенных уровней белков в крови, являлся процесс подавления активности фагоцитоза. Отметим, что все три вышеописанных протеина оставались на достоверно высоком уровне и через 3, и 6 мес. изоляции, что, как мы полагаем, являлось приспособительной реакцией к изменениям внешней и внутренней среды организма в условиях жизнедеятельности в гермообъекте. В то же время ни один из канонических белков «фагоцитарного кода», протеинов, напрямую регулирующих фагоцитарную

активность, не был выявлен со значимо изменившейся концентрацией [15–18].

В ходе исследования через 3 мес. изоляции в крови добровольцев достоверно были увеличены концентрации 22 белков (рис. 4), которые задействованы в регуляции преимущественно внутриклеточных функций, системы распознавания антигенов и процессов обратной гидратации углекислого газа.

С помощью базы данных STRING показано, что большая часть белков данной группы (11 белков и 2 белка) были связаны в единые сети, то есть могли коактивироваться через один механизм (рис. 5).

Данные белки принадлежат внеклеточному пространству и содержатся в экзосомах GO:0005615 Extracellular space (17 белков) и Extracellular exosome (13 белков), восемь из них содержатся в обоих пространствах (рис. 6). Полученные данные характеризуют включение в ответную реакцию на условиях пролонгированного пребывания в гермообъекте процессов, происходящих как внутри клетки, так и во внеклеточном пространстве.

Обращает на себя внимание группа белков, уровни которых были повышены через 3 и 6 мес. изоляции: TPM4_HUMAN (тропомозиин-4), K2C5_HUMAN (кератин, тип II цитоскелетный 5), DOPD_HUMAN (D-дофахром-декарбоксилаза), HV313_HUMAN (варибельный регион тяжелых цепей иммуноглобулинов (IGHV3-13), SON_HUMAN (PHK-связывающий белок, кофактор сплайсинга мРНК), CAH3_HUMAN (карбоангидраза-3), HV311_HUMAN (тяжелая варибельная цепь иммуноглобулина 3-11), HPRT_HUMAN (трансфераза, играет ключевую роль в генерации пуриновых

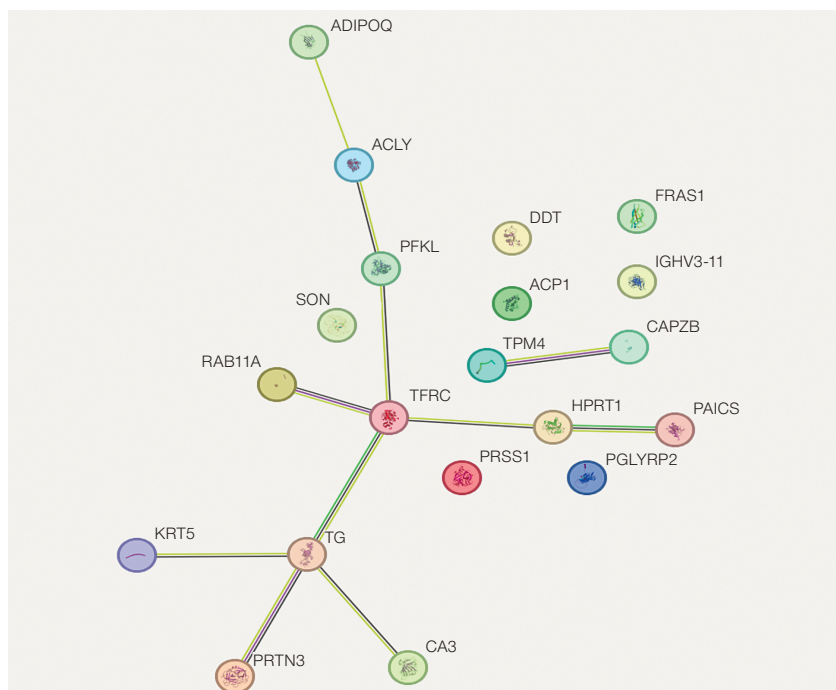


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 5. Сеть белок-белковых взаимодействий белков с достоверно увеличивающейся концентрацией в крови испытуемых через 3 месяца пребывания в наземных условиях моделирования космического полета (база данных STRING); линии межбелковых взаимодействий: салатовый — совместное упоминание в статьях, малиновый — взаимодействие белков определено экспериментально, черный — коэкспрессия белков, зеленый — близкое расположение генов белков (цвета белков сгенерированы программой произвольно)



Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 6. Графическое изображение степени обогащения белками значимых клеточных компонентов (экзосомы и внеклеточное пространство) в крови испытуемых через 3 месяца пребывания в наземных условиях моделирования космического полета: FDR — частота ложных обнаружений

нуклеотидов), RB11A_HUMAN (Ras-связанный белок из семейства малых GTP-аз), PGRP2_HUMAN (пептидогликан распознающий белок 2), THYG_HUMAN (тиреоглобулин; предшественник йодированных гормонов щитовидной железы).

Большинство белков данной группы участвует в регуляции внутри- и внеклеточных функций. Так, кератин (тип II цитоскелетный 5) необходим для формирования промежуточных кератиновых филаментов в базальном слое эпидермиса и поддержания кожного барьера в ответ на механические нагрузки. Также K2C5_HUMAN регулирует привлечение клеток Лангерганса в эпидермис и принимает участие в формировании иммунной защиты кожи (UniProtKB reviewed).

Вариабельный регион тяжелых цепей иммуноглобулинов — пептид V-области иммуноглобулинов участвует в распознавании антигенов (UniProtKB reviewed). Тяжелая вариабельная цепь иммуноглобулина 3-11 обеспечивает связывание с антигеном. Предполагается, что этот белок участвует в иммунном ответе, опосредованном иммуноглобулинами (UniProtKB reviewed).

Повышение уровня этих белков может отражать вовлечение звеньев иммунной системы распознавания антигенов в адаптивный процесс.

В срок через 3 мес. был выявлен повышенный уровень РНК-связывающего белка, который действует как кофактор сплайсинга мРНК, способствуя эффективному процессу вырезания определенных нуклеотидных последовательностей из молекул РНК и соединения последовательностей транскриптов с TUBG1 (гамма-1 цепь тубулина), KATNB1 (субъединица В1, содержащая WD40-повтор катанина р80), TUBGCP2 (компонент 2 гамма-комплекса тубулина), AURKB (киназа Aurora B), PCNT (перцентрин), AKT1 (RAC-альфа серин/треонин-протеинкиназа), RAD23A (лизин-специфическая деметилаза RAD23A) и FANCG (белок G группы анемии Фанкони), связанных с клеточным циклом и репарацией ДНК. Протеин SON_HUMAN (белок SON) облегчает взаимодействие между SRSF2 (фактор сплайсинга, богатый серином/аргинином 2), РНК-полимеразой II и способен связываться с ДНК. Белок SON критически важен для миграции нейронов, ремоделирования ткани мозга, включая TUBG1, FLNA, PNKP, WDR62, PSMD3, PCK2, PFKL, IDH2 и ACY1 [19].

В свою очередь, карбоангидраза-3 участвует в обратимой гидратации углекислого газа, и, возможно, повышение уровня этого белка в крови отражает реакцию организма на характеристики газовой среды гермообъекта (UniProtKB reviewed). Также через 3 мес. эксперимента у испытуемых выявлены повышенные уровни трансферазы (гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза, HPRT), катализирующей преобразование гипоксантина в инозитолмонофосфат, а гуанина — в гуанинмонофосфат, что позволяет повторно использовать пурины как компоненты реструктуризации ДНК и РНК. Важно, что гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза положительно регулирует метаболизм дофамина.

Выявлено повышение уровня Ras-связанного белка, относящегося к суперсемейству малых GTPase (Rab), являющегося известным маркером транспортерки, сортировки и рециркуляции белков в эндосомальном пути. Согласно базе данных UniProt, данный белок участвует в биологических процессах организации внеклеточного матрикса.

Вместе с тем через 3 мес. изоляции у участников было отмечено повышение концентрации пептидогликана, распознающего белок 2 и расщепляющего биологически активный пептидогликан (PGN) до биологически неактивных фрагментов. Белок участвует в осуществлении противовоспалительного гомеостаза [20], распознавании и маркировке чужеродных агентов, индуцирует развитие реакций врожденного иммунитета на присутствие чужеродных пептидогликанов [21–23]. Таким образом, участие пептидогликана, распознающего белок 2 в процессах гомеостаза, апоптоза, воспаления и удаления патогенов, обуславливает его роль в поддержании специфической и неспецифической резистентности организма в ответ на пролонгированное пребывание в условиях гермообъекта.

В тот же период у испытуемых было установлено повышение уровня тиреоглобулина — предшественника йодированных гормонов щитовидной железы. Повышение уровня этого белка, по нашему мнению, отражает изменение активности щитовидной железы как одного из участников процесса адаптации к условиям изоляции.

Сохранение постоянного повышенного уровня этих белков на протяжении всего экспериментального периода, вероятнее всего, является одной из особенностей ответной реакции иммунной системы на условия изоляции.

В срок через 6 мес. пребывания в условиях наземного моделирования космического полета было выявлено 33 протеина с достоверно увеличенным уровнем концентрации, преимущественно участвующих во внутриклеточных и внеклеточных процессах взаимодействия (рис. 4).

С помощью базы данных STRING показано, что большинство белков соединены в сеть белок-белковых взаимодействий (рис. 7).

При анализе данных (рис. 7) 20 белков связаны в единую сеть, то есть коэкспрессируются и участвуют в регуляции биологических процессов преимущественно на уровне везикул, цитозоля, экзосом и внеклеточного пространства. Расширяя понимание вовлеченности групп белков в эти процессы, выяснили (рис. 8), что 5 белков участвовали в регуляции биологических процессов в цитозоле, 10 — в везикулах, 15 — работали во внеклеточном матриксе и 25 — на уровне экзосом. Некоторые белки участвовали в биологических процессах в нескольких пространствах.

Применение программы QuickGO конкретизирует участие 24 белков в регуляции биологических процессов в GO:0005615 «Внеклеточное пространство»;

в процессах GO:0070062 «Внеклеточные экзосомы» и GO:0031982 «Везикулы» участвовали 19 и 20 белков соответственно; в процессе GO:0072562 «Микрочастицы крови» — 4 белка; в процессе GO:0005829 «Цитозоль» — 18 белков.

Увеличение представительства белков внутри- и межклеточной сигнализации свидетельствует о повышении роли паракринной коммуникации, в которой участвуют клетки разных типов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование динамики содержания белков в экстрактах сухих пятен цельной крови здоровых добровольцев методами протеомики на основе хромато-масс-спектрометрии позволило уточнить ход адаптационных стратегий физиологических систем организма здорового человека в ответ на воздействие факторов длительной изоляции. Полученные результаты имеют клиническое значение в области разработки средств, направленных на профилактику изменений в конкретных процессах иммунной системы: функции фагоцитоза и презентации антигена.

Показано, что через 1, 3 и 6 мес., проведенных участниками эксперимента в изоляции, повышалась активность различных физиологических процессов, как внутриклеточных, так и осуществляемых во внеклеточном пространстве, т.е. способных затрагивать

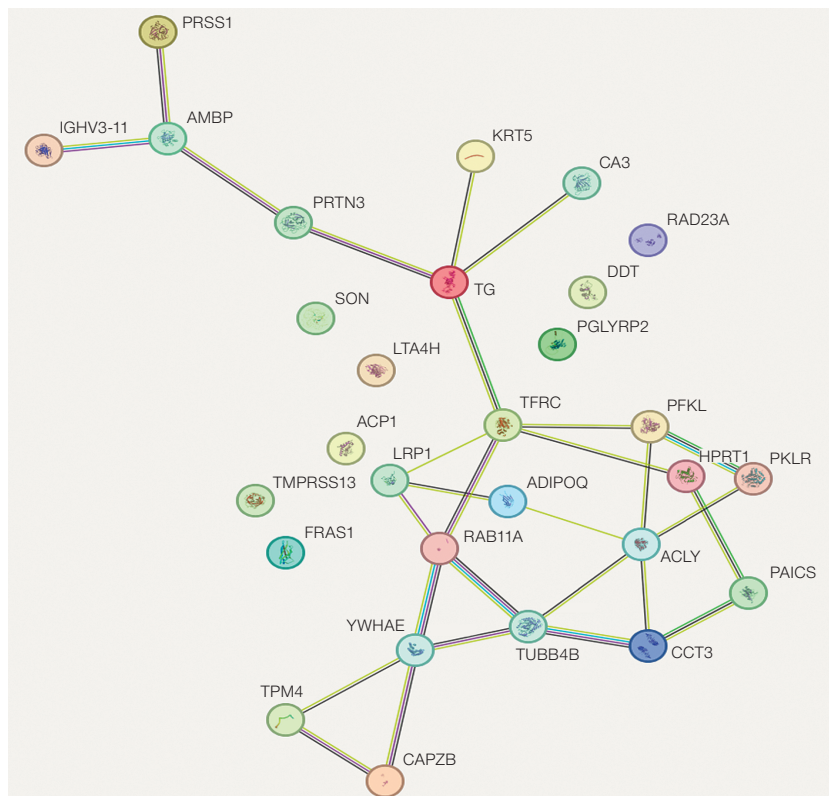


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 7. Сеть белок-белковых взаимодействий белков с достоверно увеличивающимся уровнем концентрации в крови испытуемых через 6 месяцев пребывания в наземных условиях моделирования космического полета (база данных STRING); линии межбелковых взаимодействий: салатный — совместное упоминание в статьях, малиновый — взаимодействие белков определено экспериментально, черный — коэкспрессия белков, голубой — взаимодействие указано в проверенных базах данных, зеленый — близкое расположение генов белков (цвета белков сгенерированы программой произвольно)

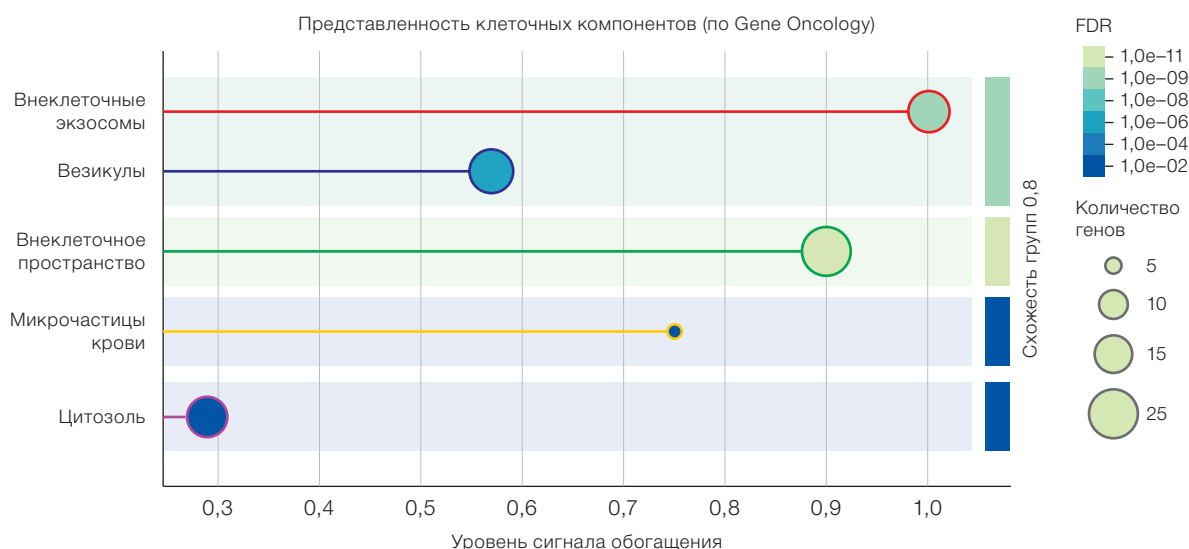


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 8. Графическое изображение степени обогащения белками значимых клеточных компонентов (внеклеточные экзосомы, внеклеточное пространство, микрочастицы крови, везикулы, цитозоль) в крови испытуемых после 6 месяцев пребывания в наземных условиях моделирования космического полета: FDR — частота ложных обнаружений

системные уровни адаптации. Так, основным биологическим процессом, активированным в организме добровольцев через 1 мес. пребывания в гермообъекте, поддержанным достоверно увеличенными уровнями белков в крови, являлся процесс подавления активности фагоцитоза. При этом активность фагоцитоза оставалась угнетенной и через 3, и через 6 мес. изоляции.

В то же время через 3 мес. изоляции достоверно увеличены концентрации 22 белков, большая часть из которых оказалась связанной в единую сеть (то есть они могли коактивироваться через один механизм), формировали другое адаптивное состояние, характеризующееся включением процессов внутриклеточного метаболизма наряду с внеклеточными механизмами. Данные активированные процессы можно обобщить как различные стороны реакции иммунной системы на условия жизнедеятельности здорового человека в гермообъекте.

Через 6 мес. пребывания участников эксперимента в условиях изоляции в крови выявлено еще

больше белков с достоверно увеличенным содержанием (33 протеина). Биоинформатическими ресурсами показано, что все они, за исключением 8, соединены в единую сеть белок-белковых взаимодействий, являя межмолекулярные связи различного характера. В этот период обследования оказались значительно обогащенными белками (т.е. активированными) биологические процессы, происходящие во внеклеточном пространстве, в т.ч. — с участием паракринной регуляции экзосом и микровезикул (MPs). Активированные процессы внутриклеточной локализации не затрагивали белки органелл, но могли включать белковые комплексы и рецепторы. Отметим, что анализ протеома сухих пятен крови испытуемых-добровольцев, собранных в условиях длительной изоляции «SIRIUS-23», не выявил достоверного повышения клинически значимых белков — общепринятых маркеров различных заболеваний. Это свидетельствует о достаточно успешном уровне адаптации к условиям эксперимента и сохранении здоровья испытуемых.

Литература / References

1. Пастушкова ЛХ, Гончарова АГ, Васильева ГЮ, Пономарев СА, Кононихин АС, Каширина ДН и др. Протеом мочи здоровых лиц при гиподинамии в условиях моделирования космических полетов. *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2019;1:46–51. Pastushkova LKh, Goncharova AG, Vasilyeva GYu, Ponomarev SA, Kononihin AS, Kashirina DN, et al. Proteome urine of healthy people in inactivity in the conditions of space flight simulation. *Biomedical Radioelectronics*. 2019;1:46–51 (In Russ.). EDN: [YYIPTV](#)
2. Гончарова АГ, Пастушкова ЛХ, Русанов ВБ, Носовский АМ, Каширина ДН, Гончаров ИН и др. Роль коллагена COL6A1 в модуляции биомеханических характеристик сердечно-сосудистой системы в условиях длительной изоляции. *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2021;24(3):5–12. Goncharova AG, Pastushkova LKh, Rusanov VB, Nosovsky AM, Kashirina DN, Goncharov IN, et al. The role of collagen COL6A1 in modulation of biomechanical characteristics of the cardiovascular system under conditions of prolonged isolation. *Biomedical Radioelectronics*. 2021;24(3):5–12 (In Russ.). EDN: [NPVVJQ](#)
3. Русанов ВБ, Пастушкова ЛХ, Черникова АГ, Каширина ДН, Гончарова АГ, Носовский АМ, et al. Relationship of collagen as the component of the extracellular matrix with the mechanisms of autonomic regulation of the cardiovascular system under simulated conditions of long-term isolation. *Life Sciences in Space Research*. 2022;32:7–25. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2021.10.002>
4. Watanabe K, Wilmanski T, Diener C, Earls JC, Zimmer A, Lincoln B, et al. Multiomic signatures of body mass index identify heterogeneous health phenotypes and responses to a

- lifestyle intervention. *Nature Medicine*. 2023;29(4):996–1008. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02248-0>
5. Korkmaz B, Moreau T, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions. *Biochimie*. 2008;90(2):227–42. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2007.10.009>
 6. Jerke U, Marino SF, Daumke O, Kettritz R. Characterization of the CD177 interaction with the ANCA antigen proteinase 3. *Scientific Reports*. 2017;7:43328. <https://doi.org/10.1038/srep43328>
 7. Campbell EJ, Owen CA. The sulfate groups of chondroitin sulfate- and heparan sulfate-containing proteoglycans in neutrophil plasma membranes are novel binding sites for human leukocyte elastase and cathepsin G. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(19):14645–54. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608346200>
 8. Kuckleburg CJ, Tilkens SB, Santoso S, Newman PJ. Proteinase 3 contributes to transendothelial migration of NB1-positive neutrophils. *The Journal of Immunology*. 2012;188(5):2419–26. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102540>
 9. Kuckleburg CJ, Newman PJ. Neutrophil proteinase 3 acts on protease-activated receptor-2 to enhance vascular endothelial cell barrier function. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2013;33(2):275–84. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.300474>
 10. Chu TY, Zheng-Gérard C, Huang KY, Chang YC, Chen YW, I KY, et al. GPR97 triggers inflammatory processes in human neutrophils via a macromolecular complex upstream of PAR2 activation. *Nature Communications*. 2022;13(1):6385. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34083-1>
 11. Luo L, Liu M. Adiponectin: friend or foe in obesity and inflammation. *Medical Review*. 2022;2(4):349–62. <https://doi.org/10.1515/mr-2022-0002>
 12. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature Medicine*. 2001;7(8):941–6. <https://doi.org/10.1038/90984>
 13. Schroeder HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010;125(2 Suppl 2):41–52. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.046>
 14. McHeyzer-Williams M, Okitsu S, Wang N, McHeyzer-Williams L. Molecular programming of B cell memory. *Nature Reviews in Immunology*. 2011;12(1):24–34. <https://doi.org/10.1038/nri3128>
 15. Cockram TOJ, Dundee JM, Popescu AS, Brown GC. The Phagocytic Code Regulating Phagocytosis of Mammalian Cells. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:629979. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.629979>
 16. Iyer S, Das C. The unity of opposites: Strategic interplay between bacterial effectors to regulate cellular homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*. 2021;297(6):101340. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101340>
 17. Minami S, Nakamura S, Yoshimori T. Rubicon in Metabolic Diseases and Ageing. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;9:816829. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.816829>
 18. Dahl GE, McFadden TB. Symposium review: Environmental effects on mammary immunity and health. *Journal of Dairy Science*. 2022;105(10):8586–9. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21433>
 19. Kim JH, Shinde DN, Reijnders MRF, Hauser NS, Belmonte RL, Wilson GR, et al. De Novo Mutations in SON Disrupt RNA Splicing of Genes Essential for Brain Development and Metabolism, Causing an Intellectual-Disability Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. 2016;99(3):711–9. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.06.029>
 20. Basu P, Das AA, Siddiqui KN, Mondal PC, Bandyopadhyay A. Novel role of peptidoglycan recognition protein 2 in activating NOD2-NFκB inflammatory axis in coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2024; 389:117436. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2023.117436>
 21. Scholz GM, Heath JE, Aw J, Reynolds EC. Regulation of the Peptidoglycan Amidase PGLYRP2 in Epithelial Cells by Interleukin-36gamma. *Infection and Immunity*. 2018;86(9):00384–418. <https://doi.org/10.1128/IAI.00384-18>
 22. Li H, Meng D, Jia J, Wei H. PGLYRP2 as a Novel Biomarker for the Activity and Lipid Metabolism of Systemic Lupus Erythematosus. *Lipids in Health and Disease*. 2021;20:95. <https://doi.org/10.1186/S12944-021-01515-8>
 23. Stensballe A, Andersen JS, Aboo C, Andersen AB, Ren J, Meyer MK, et al. Naive Inflammatory Proteome Profiles of Glucocorticoid Responsive Polymyalgia Rheumatica and Rheumatic Arthritis Patients-Links to Triggers and Proteomic Manifestations. *Journal of Personalized Medicine*. 2024;14(5):449. <https://doi.org/10.3390/jpm14050449>
 24. Ahmad HI, Asif AR, Ahmad MJ, Jabbar F, Adnan M, Ahmed S, et al. Adaptive evolution of peptidoglycan recognition protein family regulates the innate signaling against microbial pathogens in vertebrates. *Microbial Pathogenesis*. 2020;147:104361. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104361>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: И.М. Ларина — научное руководство, утверждение окончательного варианта статьи; Л.Х. Пастушкова — анализ данных, дизайн исследования, редактирование и написание окончательного варианта статьи; Д.Н. Каширина — сбор и анализ экспериментальных данных; А.Г. Гончарова — анализ данных, обсуждение дизайна исследования, написание статьи; С.Б. Величковская — написание и редактирование статьи; Г.П. Вилесов — написание первоначального черновика статьи; А.Г. Бржозовский — обработка данных; А.С. Кононихин — статистическая обработка данных.

Об авторах:

Ларина Ирина Михайловна, д-р мед. наук, ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-9117-9521>
Пастушкова Людмила Ханифовна, д-р биол. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2071-0443>
Каширина Дарья Николаевна, канд. биол. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9646-7275>
Гончарова Анна Георгиевна, д-р мед. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9523-5635>
Величковская Софья Борисовна, канд. психол. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6078-3495>
Вилесов Георгий Павлович, ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8169-0748>
Бржозовский Александр Геннадьевич, канд. биол. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1128-1795>
Кононихин Алексей Сергеевич, канд. физ.-мат. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2238-3458>