

УДК 57.045 + 573.22

Протеом здорового человека при деятельности в экстремальных условиях

И. М. Ларина¹, В. А. Иванисенко², Е. Н. Николаев³, А. И. Григорьев¹¹Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское ш., 76а²Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 10³Институт биохимической физики РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

*E-mail: irina.larina@gmail.com

Поступила в редакцию 08.04.2014

РЕФЕРАТ В представленном обзоре рассмотрены новые подходы, присущие современной системной биологии, с позиций их использования для более глубокого понимания физиологической адаптации здорового человека в экстремальных условиях. Физиология человека в экстремальных условиях жизнедеятельности, или экологическая физиология, и системная биология являются естественными партнерами. Проанализированы сходство и отличия предмета и методов системной биологии от дисциплин OMICs (протеомики, транскриптомики, метаболомики) и других родственных наук. Обсуждаются последние данные, полученные методами системной биологии, по экологической физиологии человека. Отмечены отдельные достижения системной биологии в исследовании адаптации здорового человека к физической нагрузке, в том числе в высотных условиях, к влиянию гипоксии и окислительного стресса. Обоснован вывод о том, что применение методов и подходов системной биологии к изучению молекулярной картины адаптивных механизмов, формирующейся в организме человека во время космического полета, позволит получить ценные фундаментальные знания и пополнить картину метаболических путей человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА интегративная физиология, космический полет, протеомика, системная биология.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ OMICs – биологические дисциплины, объединенные в группу постгеномных технологий, названия которых заканчиваются на *-omics*; MALDI – метод лазерной десорбции/ионизации при содействии матрицы; ESI – ионизация электроспреем; PCR – полимеразная цепная реакция; HUPO – организация по изучению протеома человека; C-HPP HUPO – хромосомотрический проект изучения протеома человека; HLPP – проект изучения белков печени человека; KEGG DB – база данных «Киотская энциклопедия генов и геномов»; PGC-1 α – коактиватор 1 α рецептора γ , активируемого пролифераторами пероксисом; HIF – фактор, индуцируемый гипоксией; HSP70 – белок теплового шока 70 кДа; PDIA3 – белок 3 семейства А протеин-дисульфидизомеразы; АФК – активные формы кислорода; CV – коэффициент вариации.

ВВЕДЕНИЕ

Протеомика¹ возникла в самом конце XX века как совокупность методов широкомасштабного исследования белков [1]. Протеомика появилась в результате постепенного развития и усложнения классических методов исследования белков, начиная с гравиметрических и фотометрических до диск-электрофореза, градиентного и двумерного электрофореза [2–4]. Огромный скачок в темпах развития этой области произошел после открытия возможности использования масс-спектрометрии для идентификации белковых молекул. В конце

1980-х возникли новые методы ионизации белков без разрушения их первичной структуры – лазерная десорбция и ионизация при содействии матрицы (MALDI) и электроспрей (ESI) [5, 6]. В последние годы под термином «протеомика» понимают раздел системной биологии, изучающий белковый состав клеток, тканей, биологических жидкостей, организмов с преимущественным использованием высокопроизводительных методов масс-спектрометрии.

К настоящему моменту достигнут огромный прогресс в технологиях, которые позволяют идентифицировать белки, измерить их концентрацию в образце, определить распространенность в клетках,

¹ Термин впервые введен в 1997 году Р. James по аналогии с геномикой.

тканях и организмах, а также выявить их посттрансляционные модификации¹. Число пептидов и белков, которые могут быть идентифицированы и количественно определены, неуклонно растет (www.SwissProt.com).

Однако, несмотря на впечатляющие достижения внедрения масс-спектрометрических технологий в экспериментальную биологию, результаты, полученные протеомными методами, оказывают на медицину меньшее воздействие, чем полученные с помощью геномных исследований. По нашему мнению, это происходит, в первую очередь потому, что протеомные задачи сложнее из-за отсутствия методов размножения белковых молекул, подобных PCR, а также значительно большего (на много порядков величины) числа белков, чем генов. Хотя имеются и другие, также сложные, причины. Без сомнения, этот разрыв в практическом использовании замедляет темп, с которым выяснение генетических функций и других открытий в геномике претворяется в практическое знание и используется в клинической медицине.

РАЗВИТИЕ ПРОТЕОМИКИ: ДОСТИЖЕНИЯ И СЛОЖНОСТИ

Подробно состояние постгеномных OMICs², в том числе протеомики, обобщено в многочисленных обзорах [7–13]. Так, Lander [10] отмечает, что десятилетие постгеномной эры ознаменовалось интенсивным накоплением и каталогизацией данных о полных наборах компонентов клеток в результате интенсивного развития глобальных исследований структур геномов, протеомов, транскриптомов, метаболомов и др. «-омов». Однако существующий разрыв в структурных успехах и функциональном осмыслении – понимании функций, характеризующих жизнедеятельность, и их нарушений в патологических состояниях – обесценивает эти открытия. Критическим для продвижения к практике в настоящее время остается функциональный анализ [10]. С этим утверждением согласен и Alberts [8].

Что касается протеомики, то Vensimon и соавт. [7] выделяют в отставании практического внедрения ее достижений четыре причины концептуального и технического свойства. Во-первых, технологии масс-спектрометрии воспринимаются многими учеными как весьма сложные, основанные на использовании дорогого и постоянно трансформируемого (совершенствуемого) оборудования. То же самое относится и к геномике с ее высокопроизводительными технологиями, но получение результатов в протеом-

ном анализе носит нелинейный характер, использует несколько различных протоколов, поэтому методы протеомики действительно оказываются объективно более сложными. Суммируя, можно заключить, что достигнутый прогресс в протеомике тесно связан с совершенствованием методов масс-спектрометрии и увеличением степени доступности инструментов протеомики на основе масс-спектрометрии для широкого круга ученых, работающих в области протеомики и смежных областях. Действительно, анализ опубликованных данных показывает, что значительная доля высококачественных результатов в области протеомики генерируется относительно небольшим числом лабораторий. Отмечается [7], что сейчас достаточно уверенно поддаются идентификации от 7000 до 10000 белков человека, не считая мажорных (находящихся в образцах в высокой концентрации).

Когда анализ протеомов клеточных линий стал возможным, это направление привлекло внимание многих исследователей, однако суммарно в этих работах сообщается приблизительно только о 100 широко распространенных белках [14–17].

Во-вторых, исследования с использованием высокопроизводительных методов масс-спектрометрии, проводимые с целью выявления маркеров, не дают значительных преимуществ в случае метода, ориентированного на проверку определенной гипотезы (hypotheses driving research), который остается основным в науках о жизни. Повторяющиеся циклы экспериментов с построением гипотез и их проверкой, выполняемые с использованием протеомных наборов данных, на начальном этапе открытия маркеров пока не позволяют получить ожидаемую выгоду.

В-третьих, становится общепризнанным, что каталогизация белков в образце или прогнозирование их возможного синтеза с гена, расположенного в конкретной хромосоме (что является основной целью инициативы C-NPP проекта HUPO – геноцентрического изучения протеома человека), необходимы на настоящем этапе, но недостаточны для биологического понимания физического и функционального взаимодействия белков в условиях динамических молекулярных сетей, выяснение функции конкретных белков в которых так же важно, как выяснение структуры и функции отдельных белков [2, 10, 17]. Представление о том, что биологические процессы следует исследовать, используя динамические сети взаимодействующих молекул, и изменения в структуре или топологии сети определяют фенотип, служит основой для развивающейся новой области системной биологии [7].

В-четвертых, технические ограничения масс-спектрометрии (как основного «прорывного» метода протеомики) в полноте данных и воспроизводи-

¹ Химические модификации аминокислотных остатков после процесса трансляции.

² OMICs – собирательное название протеомики, транскриптомики, пептидомики, метаболомики и др. постгеномных дисциплин.

мости идентификации пептида и соответствия ему белка ограничивают потенциал результатов сравнения наборов протеомных данных, полученных различными исследователями и лабораториями. В итоге получается, что специализированные масс-спектрометрические группы генерируют крупные высококачественные наборы данных, которые трудно или просто невозможно интерпретировать и использовать в настоящее время, в то время как подавляющее большинство исследователей в области наук о жизни заняты анализом небольшого набора белков методами, разработанными десятилетия назад, примером которых служат вестерн-блот [18] и иммуноферментный анализ.

Следует отметить, что число белков человека, предсказанных по кодирующей геномной последовательности и выявленных экспериментально, хотя и возрастает, но не столь впечатляющими темпами, как ожидалось. Так, за 11 лет работ в проекте HLPP (Human Liver Protein Project) открыто 12168 белков ткани печени и органелл четырех основных типов клеток этой ткани, и в 2015 году ожидается приблизить это число к 13000 [19]. Всего в настоящее время в геноме человека найдено 20128 нуклеотидных последовательностей, кодирующих белки; а экспериментально подтверждено наличие 15646 из них, что составляет 78%, если считать, что 1 ген = 1 белок [20, 21]. Так называемые «пропущенные белки», а также степень неопределенности, возникающая при отсутствии строгого соответствия числа генов количеству белков и другие уже известные молекулярно-биологические закономерности, осложняют изучение протеома человека.

Белки в организме не функционируют в одиночку, они формируют мультибелковые комплексы, с одной стороны, и сложные функциональные и динамичные сети, с другой [22–25]. Организация в функциональные модули отражает сложность и разнообразие протеома на субклеточном, клеточном и органном уровне. Понимание организации и функционирования белковых сетей, описывающих молекулярные механизмы биологических процессов, важно для выяснения регуляции (и поддержания) уровня здоровья и его резервов, а также развития заболеваний у человека (опухолевых, нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и др.). Изучение взаимодействия белков, в том числе с небелковыми компонентами, и анализ белковых сетей, образованных белок-белковыми взаимодействиями, представляет собой важный инструмент для диагностики, выяснения патогенеза заболеваний, а также поиска молекулярных мишеней для терапевтических воздействий [26, 27]. Кроме того, поскольку большинство белков эукариот являются мультимодульными и полифункциональными

[28–30], белок приобретает способность выполнять целый комплекс различных функций при его участии в различных цепях. Вследствие этого обстоятельства белковые сети эукариот, как правило, переплетаются друг с другом [22, 31–33]. Задачи оценки взаимодействия молекулярных компонентов биологической системы и интеграции этой информации в системы сетей (network) или путей (pathway), которые можно использовать для создания моделей, предсказывающих поведение системы, представляют серьезный вызов для исследователей, развивающих биоинформационные методы анализа в протеомике [22, 25, 33–36].

ПРОТЕОМИКА И СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ

Протеомика и другие OMICs – геномика, транскриптомика, метаболомика – это не только и не столько новые инструменты исследования и новые возможности измерения. Их возникновение и развитие придало новый смысл и звучание системной биологии.

Edwards и Thiele [37] в своем обзоре пишут по поводу значения термина «системная биология»: «Если в этом нет ничего нового, то почему системная биология вдруг оказалась так на виду? Некоторые утверждают [38, 39], что неявно системная биология это миф, это – не более чем ребрендинг холистического типа мышления, свойственного отдельным биологам и специалистам интегративной физиологии в течение десятилетий». Как это часто случается с научными терминами, наполнение понятия «системная биология» в его нынешнем облике отличается от такового, использованного ранее в упомянутых науках. Таким образом, хотя сам термин «системная биология» и не нов, его смысл в настоящее время изменился. Это связано с развитием технологий, особенно секвенирования генома, вычислительной и аналитических платформ, таких, как масс-спектрометрия и ядерный магнитный резонанс. Для того чтобы по-настоящему изучать большие системы в их целостности, необходима возможность моделирования и измерения параметров этой системы в полном объеме. До секвенирования целых геномов это было непреодолимым экспериментальным вызовом для биологов. По мере увеличения вычислительных мощностей при обработке данных, развития геномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики и флюксомики¹ становится возможным изучение «профиля» и модели биологической системы или подсистемы в ее полноте. Системная биология и так называемые дисциплины OMICs не тождественны. Системная биология, используя большую часть данных OMICs, вы-

¹ Методы математического описания или предсказания скоростей метаболических реакций в биологических системах; считается ключевой новой вычислительной технологией.

ходит за рамки этих методов [40–42]. В то же время большинством биологов, использующих геномику и OMICs, термин системная биология понимается несколько узко – как комплексный подход, использующий экспериментальные данные, полученные на разных уровнях организации живого. В наибольшей мере это обусловлено спецификой понимания термина, придающей ему общий смысл. Известный физиолог Noble с соавт. [43] в полном согласии с рядом других специалистов дает определение системной биологии как подходу, а не как области науки. В то же время ученые, работающие в области системной биологии, рассматривают ее как научную дисциплину, которая пытается изучать биологические системы в холистическом, а не редукционистском варианте. Это включает в себя сбор динамических глобальных коллекций данных вместе с фенотипическими данными с разных уровней иерархии биологической информации, чтобы выявить и объяснить механизмы возникающих свойств¹ системы [9, 25, 44].

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И КОМПЬЮТЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ

Нельзя не согласиться, что наиболее принципиальное отличие системной биологии от дисциплин OMICs и других родственных наук, таких, как интегративная физиология, – это центральная роль математического моделирования и компьютерных технологий [45–47]. Рассмотрение всех клеточных процессов в совокупности при одновременном изучении молекулярных механизмов того или иного процесса или явления в настоящее время невозможно даже с применением высокоэффективных экспериментальных методов. Инструменты для решения таких задач содержатся в арсенале системной биологии, поскольку она включает в себя методы математического и компьютерного моделирования [48]. Прежде всего – это метод молекулярной динамики [49], методы картирования интерактомо² (в том числе экспериментальные) [22], разработка специальных алгоритмов для конструирования, дизайна и визуализации внутри- и межклеточных процессов и явлений [51–53], используемых при компьютерном моделировании. Очевидно, что произошло существенное изменение в понимании термина «системная биология», и ряд авторов отмечают, что по этому вопросу все-таки формируется

консенсус [42, 45, 54]. Учитывая огромные объемы данных, порождаемых методами геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики, их «ручная» интерпретация самим исследователем без помощи биоинформатики совершенно неэффективна, а чаще всего и невозможна, и применение методов и принципов системной биологии становится неизбежным.

Геноцентричная конструкция метаболических процессов организма человека с последующей реконструкцией, опубликованной в 2007 году, была названа Recon 1 [55]. Recon 1 описывал функции 1496 открытых рамок считывания для 2766 метаболитов и 3311 реакций, распределенных по семи клеточным компартментам (цитоплазма, митохондрии, ядро, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы, пероксисомы) и во внеклеточной среде. Эта первая всеобъемлющая реконструкция метаболических путей, основанная на геноме человека, захватывает большинство известных центральных метаболических путей, имеющих в любой человеческой клетке [60]. Кроме того, реконструкция 2007 года послужила в качестве отправной точки для последующих реконструкций метаболизма конкретных тканей и типов клеток с использованием данных, генерируемых OMICs (например, транскриптомных и протеомных данных). Сейчас эти построения выполнены для макрофагов [61], гепатоцитов [62], миоцитов и адипоцитов [63] человека.

Основной вопрос, который решает системная биология в отношении физиологии человека, – это заполнение пробелов в молекулярных сетях вплоть до их полной реконструкции.

Одним из способов выявления недостающих реакций в реконструируемой сети является сравнение результатов модельных расчетов с экспериментальными данными [64]. Опубликованы многочисленные вычислительные алгоритмы [64–67], применяемые в этом методе. Кроме того, метаболомные данные клеток, тканей и биологических жидкостей [68–70] могут использоваться для выявления недостающих звеньев в обмене веществ человека. Есть несколько различных вычислительных подходов [65, 67], которые применяют в этих случаях для поиска отсутствующего в определенной реакции белка-кандидата и соответствующих генов [71, 72]. Эти вычислительные методы определяют одну или несколько реакций, присутствующих в организмах других видов, собранных в универсальной базе данных белковых взаимодействий, например, в базе лигандов KEGG [73], и добавляют их в метаболическую модель, восполняя таким образом потенциально недостающие знания. Если экспериментальное подтверждение не может быть найдено в научной литературе, то предсказывают отсутствующие

¹ Это свойства, возникающие в сложных системах в результате взаимодействия их компонентов, которые не могут быть предсказаны на основании свойств отдельных компонентов. При иерархической организации сложной системы свойства уровней влияют друг на друга как «снизу вверх», так и «сверху вниз» [13, 56–59].

² Интерактом, как полная сеть белок-белковых взаимодействий клетки или организма, значительно сложнее протеома и в последнее время используется как мера сложности организма [50].

гены и реакции, формулируют гипотезы, которые требуют экспериментальной проверки.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

Как эти методы помогают исследователю экстремальных состояний (и какая польза в получении данных этими методами о физиологии человека в экстремальных условиях среды для системной биологии)? Центральное место в практике системной биологии занимает концепция возмущающих воздействий [45]. Системная биология основана на: (1) возможности измерения всех переменных, представляющих интерес (OMICs); (2) наличии концептуальной основы для интерпретации данных (существуют модели); (3) применении способа возмущающих воздействий в эксперименте. Именно такие воздействия на организм, способные возмущать гомеостаз, позволяют распознать механизмы поддержания постоянства состава внутренней среды и сохранения резервов здоровья, адаптивный потенциал организма. Однако, если объект исследования – здоровый человек, то список методов (условий), этически дозволенных и доступных для воздействий, приводящих к отклонению его гомеостаза, будет относительно коротким и включает в себя физические нагрузки, использование фармакопрепаратов, манипуляции с питанием (например, использование липидных эмульсий [70] или директивные изменения в солепотреблении [74]), функциональные нагрузочные пробы [75], экологические исследования, включая воздействие экстремальных температур, гипербарии и гипоксии и, наконец, космический полет. Таким образом, экстремальные условия представляют собой один из немногих способов, позволяющих вызвать отклонение гомеостаза у здорового человека и предоставить «экспериментальные» данные для системной биологии. Поэтому мы считаем, что экологическая и гравитационная физиология и системная биология человека являются естественными симбионтами.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА И СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ

Польза для системной биологии экспериментальных данных, получаемых при воздействии на организм человека физических упражнений, признается небольшим числом исследователей [76, 77]. В то же время применение методов системной биологии позволило показать весь комплекс белков и метаболитов, свойственных фазе напряжения (во время велопробега без остановки на 1060 км) [78], а также выявить механизм, лежащий в основе фенотипического ответа на физическую нагрузку (в процессе адаптации белых и красных миофибрилл рыб к тренировочным

нагрузкам), с активацией метаболических сетей в белых миофибриллах (катаболизм углеводов, синтез белка, сокращение мышц и детоксикация) и недостаточной экспрессией других в красных миофибриллах (осуществляющих производство энергии, сокращение мышц и поддержание гомеостаза) [79]. Использование аналитических возможностей различных OMICs предоставило данные, подтверждающие роль PGC-1 α как транскрипционного коактиватора, который координирует активизацию метаболических генов в мышцах человека (необходимых для митохондриального биогенеза) в ответ на физическую нагрузку [80]; позволило выявить связь геном-опосредованной пластичности мышц и управления митохондриогенезом со стороны ограничений на путях доставки кислорода [81]; а также определить метаболические пути, активируемые во время физической нагрузки с выявлением нескольких динамически регулируемых сетей с участием микроРНК-мРНК [82].

Начаты системно-биологические исследования экологической физиологии человека [42, 47]. Интересные работы выполнены в области «высотной» генетики и протеомики. Несколько исследований убедительно показали, что популяции человека, проживающие на большой высоте, подверглись генетической дивергенции. Так, тибетцы, чьи предки проживали на большой высоте более 10000 лет, имеют приобретенные и наследуемые новые мутации в гене, кодирующем кислород-чувствительный индуцируемый гипоксией фактор (HIF) [83, 84]. Исследования протеома биоптатов скелетных мышц, полученных от добровольцев, находившихся на высоте 4500 м в течение 1 недели [85], выполненные на основе двумерного гель-электрофореза, выявили значительно большее число белков (связанных с транспортом железа и окислительным метаболизмом), количество которых существенно отличалось от такового у опытных альпинистов после их пребывания на значительно большей высоте. Были изучены также изменения пептидома мочи [86] и протеома плазмы крови человека [87] в ответ на высотные экспозиции. В последнем случае особое внимание было уделено выявлению биомаркеров высотного отека легких. Эти и подобные исследования позволяют получить «строительные блоки» для согласованных усилий системной биологии и физиологии в понимании физиологической реакции человека на большой высоте. Обширные данные по экспериментальной гипоксии, в том числе с применением методов системной биологии, отражены в работах [88–95].

Восхождение человека к высочайшим горным вершинам инициировало всплеск исследований в области физиологических последствий физической ак-

тивности на высоте. Показано, что катаболические последствия для мышц хронической экспозиции в гипоксической среде обусловлены недостаточной активацией сигнальных путей, чувствительных к гипоксии, и подавлением энергоемких процессов трансляции белка [96]. Исследование модуляции протеома, вызванной гипобарической гипоксией, позволило установить, что эффективное использование путей генерации энергии в сопряжении с обилием антиоксидантных ферментов делает кору головного мозга менее уязвимой к гипоксии, чем гиппокамп [97]. Экспериментальное изучение легочной гипертензии в условиях гипобарической гипоксии показало характерное структурное ремоделирование легких, в механизме развития которого участвуют изоформы белка теплового шока (HSP70) и протеин-дисульфидизомеразы-A3 (PDIA3) [98].

Исследования механизмов окислительного стресса и, шире, окислительно-восстановительного гомеостаза клетки (redox homeostasis) убедительно подтвердили двойную роль активных форм кислорода (АФК) [99]. Их неконтролируемое перепроизводство вызывает повреждение клеточных структур, в том числе липидов мембран, белков и ДНК [100]. В то же время накапливается все больше фактов, свидетельствующих, что АФК в клетках выступают в качестве вторичных мессенджеров внутриклеточных сигнальных каскадов, которые могут вызывать и поддерживать онкогенный фенотип раковых клеток, но также способствуют клеточному старению и апоптозу [101]. Интенсивные работы в этой области даже привели к изменению определения термина «окислительный стресс», поставив этот процесс в зависимость от изменений в реальной посттрансляционной тиольной модификации белков [102, 103]. Повреждение АФК-индуцированных сигнальных путей имеет патофизиологические последствия в виде прогрессирования заболеваний (сердечно-сосудистых, атеросклероза, гипертензии, повреждения вследствие ишемии/реперфузии, сахарного диабета, нейродегенеративных заболеваний – болезней Альцгеймера и Паркинсона, ревматоидного артрита). Положительная роль АФК выражается в защите от инфекционных агентов путем неспецифической активации Т- и В-лимфоцитов, в участии в функционировании большого числа клеточных сигнальных путей, а также индукции митогенеза [100].

ГРАВИТАЦИОННАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ

Наконец, космический полет, влияние условий которого уже полвека исследуется физиологами и медиками, можно рассматривать как небывалый в истории земной эволюции опыт адаптации здо-

рового человека к экстремальным условиям. Отдавая дань пионерам этих исследований в Советском Союзе (Л.А. Орбели, В.В. Парин, А.В. Лебединский, Н.М. Сисакян, О.Г. Газенко и многие, многие другие), в США, а также во Франции, Германии, Японии, – отсылаем читателя к фундаментальным монографиям, анализирующим многолетние результаты в этой области [104–107]. На физиологическом уровне многие эффекты, наблюдаемые у космонавтов после завершения космического полета, хорошо описаны. В целом это сложная картина адаптивных приспособительных реакций, затрагивающих все функциональные системы организма. Необходимость возвращения человека на Землю, в привычную среду, и обязательства медиков по сохранению его здоровья привели к попыткам, предпринимаемым специалистами всех без исключения космических агентств, разработать меры профилактики, замедляющие наступление фазы структурной адаптации к факторам, действующим на организм в космическом пространстве. Тем не менее в отдельных тканях обратная адаптация к жизни на Земле протекает чрезвычайно медленно (например, в костной ткани). Космическая физиология, очевидно, имеет дело с уникальным рисунком адаптации систем, тканей и клеток организма человека, показывающим ее возможности. Феноменология основных изменений, индуцированных условиями космического полета, включает: отрицательный баланс энергии (энергии больше тратится, чем потребляется), что имеет разнообразные последствия для многих процессов, протекающих в организме [107–110], а также воды и кальция [111, 112], но положительный баланс – натрия [113, 114], деминерализацию и модификацию структуры костной ткани [115], неэффективную терморегуляцию [116–118], изменения биоритмов продукции тепла, активности секреции гормонов, сердечной деятельности [118–121], реорганизацию управления сосудодвигательными реакциями [122] и дисфункцию эндотелия сосудов [123], гипотрофию мышц [124–126], снижение их тонуса и скоростно-силовых свойств, функциональную деафферентацию сенсорных систем, приводящую к нарушениям в контроле движений [127, 128], модификацию легочных объемов, биомеханики дыхания и его хеморецепторной регуляции [129, 130], космическую анемию [131]. Практически в каждой из областей остаются неизвестными молекулярные механизмы формирования этих новых состояний физиологических систем.

Адаптация организма человека к любым воздействиям внешней среды осуществляется с участием белков. На протяжении долгого времени в соответствии с аналитическими возможностями рабочие гипотезы формировались на основе предположений об изменении при адаптации концентраций рабо-

тающих белков или эффективности их работы (например, активности ферментов). В постгеномную эру становится понятным, что за этим уровнем изучения механизмов адаптации последуют и другие – исследование на уровне транскрипции, т.е. процесса формирования нового набора функционирующих белков; и изучение формирующихся при адаптации новых белковых комплексов и сетей белковых взаимодействий, новых каскадов реакций. Подобные исследования могут быть осуществлены системной биологией с использованием ее аналитических и биоинформационных подходов. Потребности, не реализованные до сих пор, а именно, выход на уровни OMICs, осознаются сообществом гравитационных физиологов. Glass [132], Jackman&Kandarian [133], Ventadour&Attaix [134], Blottner [135] отмечают, что биологические эффекты влияния микрогравитации на геном, протеом, транскриптом и метаболом практически полностью неизвестны.

Мы полагаем, что применение методов и подходов системной биологии к исследованию наиболее сложной (из возможных) на современном этапе молекулярной картины адаптивных механизмов не только принесет ценные фундаментальные знания, но также поможет заполнить «бреши» в картине метаболических путей человека; «бреши», о существовании многих из которых мы сейчас даже не подозреваем. Эта захватывающая перспектива только начинается осознаваться сообществом системных биологов. Появились первые работы по изучению изменений протеома биологических жидкостей (мочи и крови) космонавтов после полета [136, 137], которые, судя по активности посещения страниц открытого доступа (в PLoS One), вызвали большой интерес (700 считываний за неделю). Нами было исследовано влияние перегрузок на центрифуге большого радиуса [137], дыхания кислород-азот-аргоновой смесью в условиях гипербарии [138]. Изучались и особенности протеома мочи и крови при воздействии на организм здорового человека модельных условий «сухой иммерсии» [139] и продолжительной изоляции [140]. Поскольку вариабельность белковой композиции биологических жидкостей тела человека может маскировать эффекты предъявляемых воздействий, определили показатели индивидуальной и групповой вариабельности [141, 142]. Учет параметров групповой вариабельности и темпов проявления индивидуальной пластичности необходим, чтобы выделить функциональные сдвиги белковой композиции жидких сред организма в ходе изменений внешних условий жизнедеятельности, а также развития болезни. Методом прямого масс-спектрометрического профилирования сыворотки крови показано, какие белки определяют значительную групповую вариабельность ($CV = 42.6\%$),

а также зависимость этого параметра от возраста. Оказалось, что показатели индивидуальной вариабельности линейно зависят от длительности периода повторных обследований, возрастая с 16 до 42% на протяжении обследований от 1 сут до 1 года. Общими измерениями протеома крови, вызванными условиями как космического полета, так и модельных экспериментов, оказались модификации пиков белков «острой фазы» ($\beta 2$ -микроглобулин, цистатин С) и липидного обмена (аполипопротеины CI, CIII, AII), а также сдвиги активности протеолитических систем крови, что может приводить к изменению паттерна фрагментов белков.

Высокая групповая и индивидуальная вариабельность белкового профиля мочи отмечена многими учеными. Нами показано, что она сохраняется даже в строгих условиях модельных экспериментов (при контроле уровней потребления основных нутриентов, жидкости, уровня двигательной активности, состава атмосферы, ритма сна-бодрствования). При наблюдении за модификацией протеома мочи здоровых молодых мужчин в течение 520 сут эксперимента с изоляцией в гермообъекте нам удалось выявить и охарактеризовать как наиболее пластичную часть низкомолекулярного субпротеома мочи, так и его постоянную составляющую. Кроме того, выявлены белки, частота появления которых в моче зависела от уровня потребления добровольцами соли.

Изучение протеома мочи космонавтов позволило выявить стабильную часть субпротеома, представленную 21 белком с различной тканевой специфичностью и субклеточной локализацией. В том числе после длительных полетов на МКС в моче космонавтов появляются три белка (афамин, аминокептидаза А и аквапорин-2), частота обнаружения которых в образцах с наибольшей вероятностью связана с воздействием факторов космического полета. Перегрузки, воздействующие на организм космонавтов в начальном и завершающем этапе полета, также могут влиять на белковую композицию внеклеточной жидкости.

В модели «сухой иммерсии» при развитии полиурии по механизму, близкому к салурезу, выявляется физиологическая протеинурия, конкурентно-зависимая от реабсорбции натрия в проксимальном канальце нефрона.

Очевидно, что белки, изменение уровня которых наблюдается в экстремальных условиях, не могут рассматриваться как потенциальные биомаркеры развития заболеваний, поскольку они участвуют как в естественном молекулярном ответе организма в процессе адаптации к изменению условий жизнедеятельности, так и в неспецифическом компоненте патогенеза заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сотрудничество физиологов и специалистов в области системной биологии при изучении адаптации здорового человека к экстремальным условиям окружающей среды становится все более тесным и взаимовыгодным. Отмечают, что применение методов системной биологии в области физиологической адаптации к экстремальным средам помогает отойти от редуционистских подходов и избежать парадоксов (примером может служить так называемый «лактатный парадокс при гипоксии»¹) в интерпретации данных [76, 143].

Сейчас в мире растет интерес, доведенный в некоторой степени до повестки дня крупных организаций, финансирующих науку, к построению сотрудничества между исследователями в области наук о жизни и их коллегами – физиками, программистами, химиками и математиками. Таким образом,

¹ Этим термином обозначают феномен, связанный с угнетением процессов гликолиза при акклиматизации к хронической гипоксии. Показано, что острый период адаптации к большой высоте сопровождается более высоким уровнем лактата в крови в любой момент субмаксимальной нагрузки, чем при нагрузке в нормоксии, хотя пик уровня лактата остается неизменным. Однако у лиц, которые акклиматизировались к высоте в течение более 3 недель, нагрузка той же абсолютной величины и максимальная нагрузка дают меньший прирост уровня лактата в крови по сравнению с той же физической нагрузкой у лиц в неакклиматизированном состоянии. Это явление, изначально рассматриваемое как парадокс (т.е. не соответствующее логическому ходу вещей), предполагало, что производство АТФ в хронической гипоксии, по-видимому, не зависит от увеличения анаэробного гликолиза, но что производство митохондриальной АТФ становится «лучше настроенным» на гипоксическое состояние организма. Недавние исследования, однако, показали, что «лактатный парадокс» может быть только переходной особенностью гипоксической адаптации к высоте, исчезая более чем через 6 недель, при спуске на равнину после нахождения на высотах свыше 5000 м. Кроме того, снижение способности мышц к продукции лактата в период, следующий за акклиматизацией, не было показано во всех работах на эту тему. Остается открытым вопрос – возникает ли «лактатный парадокс» от снижения мышечного производства лактата из-за изменения субстратных предпочтений или изменения «обработке» лактата через ферментные комплексы митохондрий МСТ1 и МСТ4 (транспортёры монокарбонных соединений 1 и 4) в мышце, или лучшего сопряжения синтеза пирувата с процессом окисления в митохондриях? Это еще предстоит решить, вместе с определением четкого профиля условий, при которых это происходит. Некоторыми авторами высказывается предположение, что явление, аналогичное так называемому «лактатному парадоксу», может возникать и в тканях, отличных от мышц, в ответ на острый метаболический стресс в условиях хронической гипоксии.

сотрудничество работающих в областях системной биологии/биоинженерии и физиологии человека будет становиться все более распространенным. Новое поколение ученых, которое придет работать в эту область, будет более трансдисциплинарным. Мы согласны с утверждением Edwards [37], что «биология не может больше считаться областью деятельности тех, кто в свое время не смог сдать математику». Следовательно, физиологи и ученые, работающие в области наук о жизни, должны быть готовы к современному вызову путем расширения познаний в вычислительных методах и математики вообще до уровня, который позволит им быть продуктивными системными биологами и взаимодействовать с учеными из других областей. Встречное движение ученых-физиков и математиков – более трудный процесс. Мы не одиноки в этой точке зрения. Перефразируя Ideker и соавт. [45], можно сказать, что «польза кросс-дисциплинарных ученых будет пропорциональна их пониманию биологии».

Таким образом, новые подходы, присущие современной системной биологии, могут быть использованы для более глубокого понимания физиологической адаптации здорового человека в экстремальных условиях. Можно, безусловно, согласиться с мнением, что экологическая физиология и системная биология являются естественными партнерами [144]. Исследования адаптации организма человека к различным факторам внешней среды, а также изучение его реакции на космический полет предоставляют уникальную платформу для изучения физиологии человека с системной точки зрения, позволяя ученым организовать вызов гомеостазу как этичным, так и эволюционно-обоснованным образом. В конечном счете, есть надежда, что отношения между интегративной физиологией и системной биологией будут развиваться, а взаимопонимание – углубляться, что приведет нас к более зрелому и глубокому пониманию биологии здорового человека. ●

*Работа частично поддержана грантом
Президента РФ «Ведущие научные школы»
(НШ-1207.2012.4), РФФИ (грант № 13-04-01894).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- James P. // Quarterly Rev. Biophys. 1997. V. 30 № 4. P. 279–331. doi:10.1017/S0033583597003399. PMID 9634650.
- Murray R.F., Harper H.W., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. Harper's Illustrated Biochemistry. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2006.
- Hey J., Posch A., Cohen A. // Meth. Mol. Biol. 2008. № 424. P. 225–239. doi:10.1007/978-1-60327-064-9_19. PMID 18369866.
- O'Farrell P.H. // J. Biol. Chem. 1975. V. 250. № 10. P. 4007–4021.
- Karas M., Bachmann D., Bahr D., Hillenkamp F. // Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc. 1987. № 78. P. 53–68.
- Fenn J.B., Mann M., Meng C.K., Wong S.F., Whitehouse C.M. // Science. 1989. V. 246. P. 64–71.
- Bensimon A., Heck A.J.R., Aebersold R. // Annu. Rev. Biochem. 2012. V. 81. № 1. P. 379–405.
- Alberts B. // Science. 2012. V. 337. № 6102. P. 1583.
- Bard J. // Cell. 2013. V. 2. P. 414–431.
- Lander E.S. // Nature. 2011. V. 470. № 7333. P. 187–197.
- Sverdlov E.D. // Patol. Fiziol. Eksp. Ter. 2010. № 3. P. 3–23.
- Sverdlov E.D. // Biochemistry (Mosc.). 2009. V. 74. P. 939–944.
- Noble D. // Intersace Focus. 2012. V. 2. № 1. P. 55064.

14. Nagaraj N., Wisniewski J.R., Geiger T., Cox J., Kircher M., Kelso J., Pääbo S., Mann M. // *Mol. Syst. Biol.* 2011. № 7. P. 548.
15. Beck M., Schmidt A., Malmstroem J., Claassen M., Ori A., Szymborska A., Herzog F., Rinner O., Ellenberg J., Aebersold R. // *Mol. Syst. Biol.* 2011. № 7. P. 549.
16. Munoz J., Low T.Y., Kok Y.J., Chin A., Frese C.K., Ding V., Choo A., Heck A.J. // *Mol. Syst. Biol.* 2011. № 7. P. 550.
17. Vidal M., Chan D.W., Gerstein M., Mann M., Omenn G.S., Tagle D., Sechi S. // *Clin. Proteomics.* 2012. V. 9. № 1. P. 6.
18. Burnette W.N. // *Anal. Biochem.* 1981. V. 112. № 2. P. 195–203.
19. Zhang Y., Yang C., Wang S., Chen T., Li M., Wang X., Li D., Wang K., Ma J., Wu S., et al. // *Liver Int.* 2013. V. 33. № 8. P. 1239–1248. doi: 10.1111/liv.12173.
20. Legrain P. // Annual International Congress HUPO-2013, Yokohama, Japan. 12–18 September 2013. Book of Program & Keynote Lectures, 2013.
21. Radivojac P., Clark W.T., Oron T.R., Schnoes A.M., Wittkop T., Sokolov A., Graim K., Funk C., Verspoor K., Ben-Hur A., et al. // *Nat. Methods.* 2013. V. 10. № 3. P. 221–227.
22. Терентьева А.А., Молдогазиева Н.Т., Шайтан К.В. // *Успехи биол. химии.* 2009. Т. 49. С. 427–480.
23. Bose B. // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2013. V. 113. № 3. P. 358–368.
24. Kitano H. // *Science.* 2002. V. 295. № 5560. P. 1662–1664.
25. Naylor S., Chen J.Y. // *Per. Med.* 2010. V. 7. № 3. P. 275–289.
26. Brenner S. // *Philos Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2010. V. 365. № 1537. P. 201–212.
27. Brenner S., Sijnowski T.J. // *Science.* 2011. V. 334. № 6056. P. 567.
28. Carbo A., Hontecillas R., Kronsteiner B., Viladomiu M., Pedragosa M., Lu P., Philipson C.W., Hoops S., Marathe M., Eubank S., et al. // *PLoS Comput. Biol.* 2013. V. 9. № 4. e1003027.
29. Chauhan C., Joseph J. // *Int. J. Health Serv.* 2013. V. 43. № 2. P. 281–303.
30. Cesareni G., Gimona M., Sudol M., Yaffe M. *Modular protein domains.* Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2004.
31. Tong A.H., Drees B., Nardelli G., Bader G.D., Branetti B., Castagnoli L., Evangelista M., Ferracuti S., Nelson B., Paoluzi S., et al. // *Science.* 2002. V. 295. № 5553. P. 21–24.
32. Sommer B., Kormeyer B., Demenkov P.S., Arrigo P., Hippe K., Ates Ö., Kochetov A.V., Ivanisenko V.A., Kolchanov N.A., Hofestädt R. // *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2013. V. 11. № 1. P. 1340005.
33. Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. // *In Silico Biol.* 2011–2012. V. 11. № 3–4. P. 149–161.
34. Hood L., Heath J.R., Phelps M.E., Lin B. // *Science.* 2004. V. 306. № 5696. P. 640–643.
35. Park S., Yang J.S., Jang S.K., Kim S. // *J. Proteome Res.* 2009. V. 8. № 7. P. 3367–3376.
36. Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Pintus S.S., Ivanisenko T.V., Podkolodny N.L., Ivanisenko L.N., Rozanov A.S., Bryanskaya A.V., Kostrjukova E.S., Levizkiy S.A., et al. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2012. V. 443. P. 76–80.
37. Edwards L.M., Thiele I. // *Extreme Physiol. Med.* 2013. № 2. P. 1–8.
38. Hargreaves M. // *J. Appl. Physiol.* 2008. № 104. P. 1541–1542.
39. Greenhaff P.L., Hargreaves M. // *J. Physiol.* 2011. № 589. P. 1031–1036.
40. Carlson R.P., Oshota O.J., Taffs R.L. // *Subcell. Biochem.* 2012. № 64. P. 139–157.
41. Thiele I., Pálsson B.O. // *Nat. Protoc.* 2010. № 5. P. 93–121.
42. Pálsson B. *Systems Biology.* Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2008.
43. Kohl P., Crampin E.J., Quinn T.F., Noble D. // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2010. V. 88. № 1. P. 25–33.
44. Hood L., Rowen L., Galas D.J., Aitchison J.D. // *Brief Funct. Genomic Proteomic.* 2008. V. 7. № 4. P. 239–248.
45. Ideker T., Galitski T., Hood L. // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2001. № 2. P. 343–372.
46. Westerhoff H.V. // *Meth. Enzymol.* 2011. № 500. P. 3–11.
47. Shublaq N., Sansom C., Coveney P.V. // *Chem. Biol. Drug Des.* 2013. V. 81. № 1. P. 5–12. doi:10.1111/j.1747-0285.2012.01444.x.
48. You L. // *Cell Biochem. Biophys.* 2004. V. 40. P. 167–184.
49. Шайтан К.В., Турлей Е.В., Голик Д.Н., Терешкина К.В., Левцова О.В., Федик И.В., Шайтан А.К., Ли А., Кирпичников М.И. // *Рос. хим. журн.* 2006. Т.50. С.53–65.
50. Stumpf M.P., Thorne T., de Silva E., Stewart R., An H.J., Lappe M., Wiuf C. // *PNAS.* 2008. V. 105. P. 6959–6964.
51. Visvanathan M., Breit M., Pfeifer B., Baumgartner C., Modre-Osprian R., Tilg B. // *Meth. Inf. Med.* 2007. V. 46. P. 381–391.
52. Suresh Babu C.V., Joo Song E., Yoo Y.S. // *Biochimie.* 2006. V. 88. №3–4. P. 277–283.
53. Conzelmann H., Saez-Rodriguez J., Sauter T., Bullinger E., Allgöwer F., Gilles E.D. // *Syst. Biol. (Stevenage).* 2004. V. 1. № 1. P. 159–169.
54. Wanjek C. // *The NIH Catalyst.* 2011. № 19. P. 1.
55. Duarte N.C., Becker S.A., Jamshidi N., Thiele I., Mo M.L., Vo T.D., Srivas R., Pálsson B.O. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. № 104. P. 1777–1782.
56. Korn R. // *Biology and Philosophy.* 2005. V. 20. № 1. P. 137–151.
57. Noble D. // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2013. V. 111. № 2–3. P. 59–65.
58. Noble D. // *Philos Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.* 2008. V. 366. № 1878. P. 3001–3015.
59. van Regenmortel M.H. // *EMBO Rep.* 2004. V. 5. № 11. P. 1016–1020.
60. Bordbar A., Pálsson B.O. // *J. Intern. Med.* 2012. № 271. P. 131–141.
61. Bordbar A., Lewis N.E., Schellenberger J., Pálsson B.O., Jamshidi N. // *Mol. Syst. Biol.* 2010. № 6. P. 422.
62. Gille C., Bolling C., Hoppe A., Bulik S., Hoffmann S., Hübner K., Karlstädt A., Ganeshan R., König M., Rother K., et al. // *Mol. Syst. Biol.* 2010. № 6. P. 411.
63. Bordbar A., Feist A.M., Usaite-Black R., Woodcock J., Pálsson B.O., Famili I. // *BMC Syst. Biol.* 2011. № 5. P. 180.
64. Qu Z., Garfinkel A., Weiss J., Nivala M. // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2011. № 107. P. 21–31.
65. Reed J.L., Patel T.R., Chen K.H., Joyce A.R., Applebee M.K., Herring C.D., Bui O.T., Knight E.M., Fong S.S., Pálsson B.O. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. № 103. P. 17480–17484.
66. Satish Kumar V., Dasika M.S., Maranas S.D. // *BMC Bioinform.* 2007. № 8. P. 212.
67. Kumar V.S., Maranas C.D. // *PLoS Comput. Biol.* 2009. № 5. e1000308.
68. Illig T., Gieger C., Zhai G., Römisch-Margl W., Wang-Sattler R., Prehn C., Altmaier E., Kastenmüller G., Kato B.S., Mewes H.W., et al. // *Nat. Genet.* 2010. № 42. P. 137–141.
69. Suhre K., Wallaschofski H., Raffler J., Friedrich N., Haring R., Michael K., Wasner C., Krebs A., Kronenberg F., Chang D., et al. // *Nat. Genet.* 2011. № 43. P. 565–569.
70. Edwards L.M., Lawler N.G., Nikolic S.B., Peters J.M., Horne J., Wilson R., Davies N.W., Sharman J.E. // *J. Lipid Res.* 2012. V. 53. № 9. P. 1979–1986.
71. Orth J.D., Pálsson B.O. // *Biotechnol. Bioeng.* 2010. № 107. P. 403–412.
72. Rolfsson O., Pálsson B.O., Thiele I. // *BMC Syst. Biol.* 2011. № 5. P. 155.
73. Kanehisa M., Goto S., Hattori M., Aoki-Kinoshita K.F., Itoh M., Kawashima S., Katayama T., Araki M., Hirakawa M. // *Nucl. Acids Res.* 2006. № 34. P. 354–357.

74. Jens T., Maillot A., Lang R., Gunga H.C., Johannes B., Gauquelin-Koch G., Kihm E., Larina I., Gharib C., Kirsch K.A. // *Am. J. Kidney Dis.* 2002. V. 40. № 3. P. 508–516.
75. Григорьев А.И., Арзамазов Г.С., Дорохова Б.Р., Козыревская Г.И., Моруков Б.В., Наточин Ю.В., Носков В.Б., Хмельков В.П. Методические рекомендации по использованию водной и водно-солевых нагрузочных проб при оценке функционального состояния почек человека. М.: Мин. здрав. СССР. 1979. 31 с.
76. Vazquez A., Oltvai Z.N. // *PLoS One.* 2011. № 6. e19538.
77. van Beek J.H., Supandi F., Gavai A.K., de Graaf A.A., Binsl T.W., Hettling H. // *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.* 2011. № 369. P. 4295–4315.
78. Zauber H., Mosler S., von Heßberg A., Schulze W.X. // *Proteomics.* 2012. V. 12. № 13. P. 2221–2235. doi: 10.1002/pmic.201100228.
79. Martin-Perez M., Fernandez-Borras J., Ibarz A., Millan-Cubillo A., Felip O., de Oliveira E., Blasco J. // *J. Proteome Res.* 2012. V. 6. № 11(7). P. 3533–547. doi: 10.1021/pr3002832.
80. Pilegaard H., Saltin B., Neuffer P.D. // *J. Physiol.* 2003. V. 546 (Pt 3). P. 851–858.
81. Flueck M. // *Exp. Physiol.* 2010. V. 95. № 3. P. 451–462. doi: 10.1113/expphysiol.2009.047605.
82. Tonevitsky A.G., Maltseva D.V., Abbasi A., Samatov T.R., Sakharov D.A., Shkurnikov M.U., Lebedev A.E., Galatenko V.V., Grigoriev A.I., Northoff H. // *BMC Physiol.* 2013. V. 13. P. 9. doi: 10.1186/1472-6793-13-9.
83. Beall C.M., Cavalleri G., Deng L., Elston R.C., Gao Y., Knight J., Li C., Li J.C., Liang Y., McCormack M., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. № 107. P. 11459–11464.
84. Yi X., Liang Y., Huerta-Sanchez E., Jin X., Cuo Z.X., Pool J.E., Xu X., Jiang H., Vinckenbosch N., Korneliussen T.S., et al. // *Science.* 2010. № 329. P. 75–78.
85. Viganò A., Ripamonti M., De Palma S., Capitanio D., Vasso M., Wait R., Lundby C., Cerretelli P., Gelfi C. // *Proteomics.* 2008. № 8. P. 4668–4679.
86. Mainini V., Gianazza E., Chinello C., Bilo G., Revera M., Giuliano A., Caldara G., Lombardi C., Piperno A., Magni F. // *Mol. Biosyst.* 2012. № 8. P. 959–966.
87. Ahmad Y., Shukla D., Garg I., Sharma N.K., Saxena S., Malhotra V.K., Bhargava K. // *Funct. Integr. Genomics.* 2011. № 11. P. 407–417.
88. Lai X., Nikolov S., Wolkenhauer O., Vera J. // *Comput. Biol. Chem.* 2009. № 3. P. 312–324.
89. Turan N., Kalko S., Stincone A., Clarke K., Sabah A., Howlett K., Curnow S.J., Rodriguez D.A., Cascante M., O'Neill L., et al. // *PLoS Comput. Biol.* 2011. № 7. e1002129.
90. Stefanini M.O., Qutub A.A., Mac Gabhann F., Popel A.S. // *Math. Med. Biol.* 2012. № 29. P. 85–94.
91. Baumann K., Carnicer M., Dragosits M., Graf A.B., Stadtmann J., Jouhten P., Maaheimo H., Gasser B., Albiol J., Matanovich D., et al. // *BMC Syst. Biol.* 2010. № 4. P. 141.
92. Schmierer B., Novak B., Schofield C.J. // *BMC Syst. Biol.* 2010. № 4. P. 139.
93. Mac Gabhann F., Qutub A.A., Annex B.H., Popel A.S. // *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 2010. № 2. P. 694–707.
94. Kojima T., Ueda Y., Adati N., Kitamoto A., Sato A., Huang M.C., Noor J., Sameshima H., Ikenoue T. // *J. Mol. Neurosci.* 2010. № 42. P. 154–161.
95. Selivanov V.A., Votyakova T.V., Zeak J.A., Trucco M., Roca J., Cascante M. // *PLoS Comput. Biol.* 2009. № 5. e1000619.
96. Flueck M. // *High Alt. Med. Biol.* 2009. V. 10. № 2. P. 183–193. doi: 10.1089/ham.2008.1104.
97. Sharma N.K., Sethy N.K., Bhargava K. // *J. Proteomics.* 2013. V. 21. № 79. P. 277–298. doi: 10.1016/j.jprot.2012.12.020.
98. Ohata Y., Ogata S., Nakanishi K., Kanazawa F., Uenoyama M., Hiroi S., Tominaga S., Toda T., Kawai T. // *Histol. Histopathol.* 2013. V. 28. № 7. P. 893–902.
99. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007. V. 39. № 1. P. 44–84.
100. Blokhina O., Fagerstedt K.V. // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48. № 5. P. 359–373. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.01.007.
101. Jones D.P. // *Rejuvenation Res.* 2006. V. 9. № 2. P. 169–181.
102. Harris C., Shuster D.Z., Roman Gomez R., Sant K.E., Reed M.S., Pohl J., Hansen J.M. // *Free Radic. Biol. Med.* 2013. № 63. P. 325–337. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.040.
103. Harris C., Hansen J.M. // *Methods Mol. Biol.* 2012. V. 889. P. 325–346. doi: 10.1007/978-1-61779-867-2_21.
104. Орбитальная станция «Мир» / Под ред. Григорьева А.И. М.: ООО «Аником», 2002. Т. 1. С. 660.
105. Орбитальная станция «Мир» / Под ред. Григорьева А.И. М.: ООО «Аником», 2002. Т. 2. С. 623.
106. Международная космическая станция / Под ред. Григорьева А.И. М.: ИМБП РАН, 2011.
107. Leach-Huntton C.S., Grigoriev A.I., Natchin V.Yu. Am. Astronautical Soc. Publ. San Diego, California, USA. 1998. V. 94. 220 p.
108. Stein T.P. // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2013. V. 113. № 9. P. 2171–2181. doi: 10.1007/s00421-012-2548-9.
109. Ларина И.М., Стейн Т.Р., Лескин М.Дж., Шлутер М.Д. // Орбитальная станция «Мир» / Под ред. Григорьева А.И. М.: ООО «Аником», 2002. Т. 2. С. 114–121.
110. Ajotto G.B., Himomura Y.S. // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 2006. V. 52. P. 233–247.
111. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Наточин Ю.В. Водно-солевой гомеостаз и космический полет. М.: Наука, 1986. С. 256.
112. Morukov B.V., Noskov V.B., Larina I.M., Natchin Iu.V. // *Ros. Fiziol. Zh. Im. I.M. Sechenova.* 2003. V. 89. № 3. P. 356–367.
113. Gerzer R., Heer M. // *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2005. V. 6. № 4. P. 299–304.
114. Drummer C., Norsk P., Heer M. // *Am. J. Kidney Dis.* 2001. V. 38. № 3. P. 684–690.
115. Oganov V.S., Bogomolov V.V., Bakulin A.V., Novikov V.E., Kabitskaia O.E., Murashko L.M., Morgun V.V., Kasparskii R.R. // *Fiziol. Cheloveka.* 2010. V. 36. № 3. P. 39–47.
116. Klimovitsky V.Y., Alpatov A.M., Hoban-Higgins T.M., Utekhina E.S., Fuller C.A. // *J. Gravit. Physiol.* 2000. V. 7. P. 149.
117. Lakota N.G., Larina I.M. // *Human Physiol.* 2002. V. 28. № 3. P. 82–92.
118. Robinson E.L., Fuller C.A. // *Pflügers Arch.* 2000. V. 441 (2–3 Suppl). P. R32–38.
119. Fuller P.M., Jones T.A., Jones S.M., Fuller C.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V. 26. № 99(24). P. 15723–15728.
120. Ларина И.М., Уитсон П., Смирнова Т.М., Чен Ю.-М. // Физиология человека. 2000. Т. 26. № 4. С. 94–100.
121. Баевский Р.М. // Физиология человека. 2002. Т. 28. № 2. С. 70–82.
122. Fomina G.A., Kotovskaya A.R., Pochuev V.I., Zhernavkov A.F. // *Human Physiol.* 2008. V. 34. № 3. P. 92–97.
123. Navasilava N.M., Dignat-George F., Sabatier F., Larina I.M., Demiot C., Fortrat J.-O., Gauquelin-Koch G., Kozlovskaya I.B., Custaud M.-A. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2010. V. 299. № 2. P. H248–256. doi: 10.1152/ajpheart.00152.2010.
124. Ohira Y., Yoshinaga T., Nomura T., Kawano F., Ishihara A., Nonaka I., Roy R.R., Edgerton V.R. // *Adv. Space Res.* 2002. V. 30. № 4. P. 777–781.
125. Edgerton V.R., Zhou M.Y., Ohira Y., Klitgaard H., Jiang B., Bell G., Harris B., Saltin B., Gollnick P.D., Roy R.R. // *J. Appl. Physiol.* 1995. V. 78. № 5. P. 1733–1739.

126. Шенкман Б.С., Немировская Т.Л., Белозерова И.Н., Челлова И.А., Козловская И.Б. // Докл. АН. 1999. Т. 367. № 2. С. 279–281.
127. Tomilovskaya E.S., Berger M., Gerstenbrand F., Kozlovskaya I.B. // *J. Gravit. Physiol.* 2007. V. 14. № 1. P. 79–80.
128. Kornilova L.N., Naumov I.A., Azarov K.A., Sagalovitch V.N. // *Aviat Space Environ. Med.* 2012. V. 83. № 12. P. 1123–1134.
129. Baevsky R.M., Baranov V.M., Funtova I.I., Diedrich A., Pashenko A.V., Chernikova A.G., Drescher J., Jordan J., Tank J. // *J. Appl. Physiol.* 2007. V. 103. № 1. P. 156–161.
130. Баранов В.М., Попова Ю.А., Суворов А.В. Космическая биология и медицина. Т. 2. Медико-биологические исследования на российском сегменте МКС. М., 2011. С. 72–92.
131. Grigor'ev A.I., Ivanova S.M., Morukov B.V., Maksimov G.V. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2008. V. 422. P. 308–311.
132. Glass D.J. // *Trends Mol. Med.* 2003. V. 9. № 8. P. 344–350.
133. Jackman R.W., Kandarian S.C. // *Am. Physiol. Cell Physiol.* 2004. V. 287. № 4. P. 834–843.
134. Ventadour S., Attaix D. // *Curr. Opin. Rheumatol.* 2006. V. 18. № 6. P. 631–635.
135. Blottner D., Serradj N., Salanova M., Touma C., Palme R., Silva M., Aerts J.M., Berckmans D., Vico L., Liu Y., et al. // *J. Comp. Physiol. B.* 2009. V. 179. № 4. P. 519–533. doi: 10.1007/s00360-008-0330-4.
136. Pastushkova L.Kh., Kireev K.S., Kononikhin A.S., Tiys E.S., Popov I.A., Starodubtseva N.L., Dobrokhотов IV., Ivanisenko V.A., Larina I.M., Kolchanov N.A., et al. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 8. e71652.
137. Киреев К.С. Белки почек и мочевыводящей системы в протеоме мочи здорового человека после длительного космического полета: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.: ГНЦ РФ – ИМБП РАН, 2013. С. 25.
138. Пахарукова Н.А., Пастушкова Л.Х., Попова Ю.А., Ларина И.М. // *Бюл. эксп. биол. и мед.* 2010. Т. 148. № 2. С. 42–45.
139. Пастушкова Л.Х., Доброхотов И.В., Веселова О.М., Тиис Е.С., Кононихин А.С., Новоселова А.М., Купе М., Кусто М.-А., Ларина И.М. // *Физиология человека.* 2014. Т. 40. № 3. С. 109–119.
140. Ларина И.М., Колчанов Н.А., Доброхотов И.В., Иванисенко В.А., Деменков П.С., Тиис Е.С., Валеева О.А., Пастушкова Л.Х., Николаев Е.Н. // *Физиология человека.* 2012. Т. 38. № 3. С. 107–115.
141. Trifonova O., Larina I., Grigoriev A., Lisitsa A., Moshkovskii S., Archakov A. // *Expert Rev. Proteomics.* 2010. V. 7. № 3. P. 431–438.
142. Пахарукова Н.А., Пастушкова Л.Х., Мошковский С.А., Ларина И.М. // *Биомедицина.* 2011. Т. 5. № 3. С. 203–212.
143. Murray A.J. // *Genome Med.* 2009. № 1. P. 117.
144. Hood L.E., Omenn G.S., Moritz R.L., Aebersold R., Yamamoto K.R., Amos M., Hunter-Cevera J., Locascio L. // *Proteomics.* 2012. V. 12. № 18. P. 2773–2783.