

**С.А. Пономарёв, М.П. Рыкова, Е.Н. Антропова, О.В. Кутько,
К.Д. Орлова, Э.А. Жирова, А.А. Садова, Д.Д. Власова, С.М. Шульгина,
К.В. Уткин, В.А. Шмаров**

ВЛИЯНИЕ 240-СУТОЧНОЙ ИЗОЛЯЦИИ В ГЕРМООБЪЕКТЕ С ИСКУССТВЕННОЙ СРЕДОЙ ОБИТАНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА

ФГБУН Государственный научный центр РФ-Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук, Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

Резюме. Объектом исследования являлись испытуемые-добровольцы, участники восьмимесячного изоляционного эксперимента в герметично замкнутом объекте ограниченного объёма, воспроизводящего основные характеристики перспективной межпланетной экспедиции. **Целью** настоящего исследования являлось изучение процессов, происходящих в иммунной системе человека в условиях пребывания в 240-суточной изоляции в гермообъекте с искусственной средой обитания. В ходе проведённого 8-месячного изоляционного эксперимента были выявлены изменения в иммунной системе человека, включающие снижение общего числа НК- и НКТ-клеток, Т-хелперов и цитотоксических лимфоцитов в периферической крови, а также угнетение способности В-лимфоцитов синтезировать иммуноглобулины в ответ на Т-зависимую и Т-независимую активацию. **Выводы.** 240-суточная изоляция в гермообъекте с искусственной средой обитания в целом приводит к снижению содержания в периферической крови различных субпопуляций лимфоцитов. Пребывание в гермообъекте с искусственной средой обитания сопровождается снижением функциональной активности В-клеток.

Ключевые слова: клеточный иммунитет, космический полёт, изоляционный эксперимент

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Пономарёв Сергей Алексеевич

dr.grey@bk.ru

Дата поступления 10.08.2023

Образец цитирования:

Пономарёв С.А., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Кутько О.В., Орлова К.Д., Жирова Э.А., Садова А.А., Власова Д.Д., Шульгина С.М., Уткин К.В., Шмаров В.А. Влияние 240-суточной изоляции в гермообъекте с искусственной средой обитания на состояние иммунной системы человека [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2023, Том 20, № 4, с. 190–201, DOI: 10.22138/2500-0918-2023-20-4-190-201

Введение

В настоящее время в связи с интенсивным освоением человеком новых регионов с экстремальными климатическими условиями, а также интенсивной подготовкой к полету в дальний космос, на Луну и Марс, все более актуальной становится проблема изучения закономерностей процессов адаптации к стрессу, вызванному гиподинамией, длительной физической и социальной изоляцией. Решение этой проблемы требует глубокого понимания процессов, происходящих в различных физиологических системах организма, включая и систему иммунитета.

Уже начиная с 80-х годов двадцатого столетия стало очевидно, что одной из регуляторных систем организма человека является система иммунитета [1, 2, 3]. Именно иммунные реакции выступа-

ют в качестве важнейших элементов, которые, наряду с нервными и эндокринными механизмами, участвуют в механизмах аллостаза различных физиологических функций [4]. В связи с этим изучение состояния системы иммунитета человека и ее функциональных резервов приобретает ключевое значение при оценке функционального состояния организма, его реальных возможностей адаптироваться к действию неблагоприятных факторов окружающей среды. Особенно ярко действие экстремальных условий среды обитания проявляется при космическом полете, во время которого организм человека подвергается воздействию целого ряда неблагоприятных факторов, включающего в себя микрогравитацию, радиацию, повышенное психоэмоциональное напряжение, пребывание в герметически замкнутом пространстве ограниченного объема с искусственной средой обитания, а также перегрузки (на этапах вывода космического корабля на околоземную орбиту и при посадке) [5].

На сегодняшний день известно, что действие факторов космического полета вызывает ряд функциональных изменений в состоянии различных физиологических систем организма человека, включая систему иммунитета [6]. В ходе проведенных до и после завершения космических экспедиций различной продолжительности исследований были выявлены количественные и функциональные изменения в адаптивном и врожденном компонентах иммунитета человека, включающие увеличение относительного количества Т и В-лимфоцитов, сдвиг цитокинового баланса в направлении Th2, обуславливающего развитие гуморального ответа [7, 8], увеличение числа гранулоцитов, при синхронном снижении относительного количества моноцитов периферической крови. Было показано снижение продукции моноцитами IL-6, а также экспрессии ими CD62L, HLA-DR антигенов. Кроме того, было продемонстрировано существенное (до 45%) снижение синтеза активированными *in vitro* моноцитами таких цитокинов, как IL-6, IL-10, и TNF- α [9]. Также после завершения космических экспедиций у значительной части обследованных космонавтов наблюдается снижение содержания в периферической крови НК-клеток и их функциональной активности [10].

К сожалению, получение данных непосредственно во время космических полетов связано с целым рядом сложностей технического характера, а также значительным дефицитом времени космонавтов, что существенным образом затрудняет работу по изучению влияния экстремальных факторов, ассоциированных с космическим полетом, на систему иммунитета. Имеющиеся в настоящее время данные касаются, в основном, пред- и послеполетных обследований. В связи с этим возрастает роль наземных модельных (аналоговых) экспериментов, проводимых на специальных стендах в целях изучения влияния ассоциированных с космическим полетом факторов на иммунитет человека. Такие эксперименты позволяют получить данные о состоянии иммунной системы человека непосредственно во время самого воздействия. К таким аналогам космического полета относятся антиортостатическая гипокинезия, «сухая иммерсия», а также изоляция в гермообъекте с искусственной средой обитания [11, 12]. Изоляционные эксперименты проводятся в специально спроектированном и построенном в 60-х годах XX в ГНЦ РФ- ИМБП РАН по инициативе академика С.П. Королева наземном экспериментальном медико-техническом комплексе, с целью проведения исследований взаимодействия в контуре «человек – окружающая среда» в условиях искусственно созданной регулируемой среды обитания. К настоящему моменту проведено достаточно большое количество изоляционных экспериментов, однако большинство из них были краткосрочными (до 20 суток), а в ряде долгосрочных, например, как в эксперименте «Год в земном звездолете», проведенном в ГНЦ РФ-ИМБП РАН в конце 60х годов, иммунная система не изучалась вовсе. Ключевым экспериментом с длительной изоляцией можно считать проект «Марс-500», моделирующий перелет к Марсу и обратно. В ходе 520-суточной изоляции в гермообъекте 6 испытателей-добровольцев мужского пола было показано повышение экспрессии раннего маркера активации лимфоцитов – CD69, снижение функциональной активности НК-лимфоцитов наряду со снижением относительного числа моноцитов, периферической крови, экспрессирующих TLR с поверхностной локализацией (TLR2, TLR4, TLR6) практически на протяжении всего экспериментального периода, начиная со 120 суток. Интересно, что при этом относительное число TLR2⁺, TLR4⁺ и TLR6⁺-гранулоцитов, на протяжении экспериментального воздействия значимо практически не изменялось: было отмечено снижение относительного и абсолютного числа TLR6⁺-клеток на 120 и 360 сутки изоляционного периода [13].

Как следует из вышеизложенного, в настоящее время существует малая статистика по состоянию

иммунной системы человека во время пребывания в изоляции длительной продолжительности, а данных по состоянию отдельных компонентов иммунной системы, например, В-клеточному звену, нет. В связи с этим, целью настоящего исследования являлось изучение процессов, происходящих в иммунной системе человека в условиях пребывания в 240-суточной изоляции в гермообъекте с искусственной средой обитания.

Материалы и методы

Восьмимесячный изоляционный эксперимент «SIRIUS-21», воспроизводящий основные характеристики перспективной межпланетной экспедиции, проведён на базе Наземного экспериментального комплекса ГНЦ РФ-ИМБП РАН (НЭК). Программа экспериментальных исследований «SIRIUS-21» была одобрена Комиссией по биомедицинской этике при ГНЦ РФ-ИМБП РАН, рассмотрена и утверждена на заседании Ученого Совета ГНЦ РФ-ИМБП РАН (Протокол № 2 от 19.02.2020).

Материалом исследования являлась венозная кровь пяти практически здоровых испытуемых-добровольцев (трех мужчин и двух женщин) в возрасте от 29 до 44 лет, находившихся в условиях 240-ти суточной изоляции в гермообъекте.

Все принимавшие участие в экспериментах испытуемые-добровольцы получили допуск врачебно-экспертной комиссии и подписали информированное согласие на участие в эксперименте в соответствии с Хельсинкской декларацией. Взятие проб крови проводилось из кубитальной вены на тощак в утренние часы по стандартной методике в асептических условиях в вакуумные пробирки фирмы Greiner Bio-One (Австрия) с КЗ-ЭДТА в объеме 2 мл и с литий-гепарин в объеме 9 мл. Кровь хранилась при комнатной температуре, транспортировка крови осуществлялась в транспортном контейнере для забора биоматериала, от момента забора крови до проведения анализа проходило не более 2 часов. В эксперименте с 240-суточной изоляцией в гермообъекте с искусственной средой обитания пробы биологического материала были получены в фоновом периоде (за 30 суток до начала эксперимента), на различных этапах экспериментального воздействия (на 7-е, 33-е, 114-е, 204-е и 240-е сутки) и в периоде восстановления (на 7-е сутки).

Определение содержания лейкоцитов, а также абсолютного и относительного содержания моноцитов, гранулоцитов и лимфоцитов в периферической крови выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Celltac- α MEK 6318K (Япония).

Определение поверхностных рецепторных структур лимфоцитов проводили мультипараметрическим методом иммунофлуоресцентного анализа с использованием моноклональных антител (eBioscience, США). В периферической крови оценивали абсолютное и относительное содержание лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности антигены CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD16⁺CD56⁺.

Мононуклеарные лейкоциты выделяли из гепаринизированной венозной крови путем центрифугирования в градиенте плотности фикола ($\rho=1,077$). Негативная селекция CD14⁻-мононуклеарных лимфоцитов проводилась методом магнитной сепарации (MS Columns, Miltenyi Biotec, Германия) с использованием суперпарамагнитных частиц MACS MicroBeads, конъюгированных с высокоспецифичными моноклональными антителами к молекуле CD14 (MicroBeads human, Miltenyi Biotec, Германия), согласно инструкции производителя. Полученные обедненные CD14⁺-моноцитами мононуклеарные клетки культивировали в стерильных пластиковых пробирках объемом 5 см³ (в концентрации 1×10^6 /мл) в полной среде RPMI 1640 (Gibco, США), содержащей 5% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, HyClone, США), 2 mM L-глутамин (Gibco, США) и 1% пенициллина/стрептомицина (Gibco, США). В качестве активаторов В-лимфоцитов использовали либо Т-зависимый активатор (митоген лаконоса, PWM; Sigma-Aldrich, США) в финальной концентрации 1 мкг/мл, либо Т-независимый активатор (oligodeoxynucleotides, ODN-2006; Miltenyi Biotec, Германия) в финальной концентрации 0,1 мкМ, либо активатор не добавлялся. После инкубации в течение 5 суток при температуре 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5% CO₂ супернатанты культур клеток собирали в микропробирки и хранили при -70°C. В надосадочных жидкостях клеточных культур определяли содержание IgA, IgM, IgG методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов реактивов фирмы «Вектор-Бест» (Россия) – IgA общий – ИФА – БЕСТ, IgM общий – ИФА – БЕСТ, IgG общий – ИФА – БЕСТ, согласно инструкциям произ-

водителя на наборе оборудования для проведения иммуноферментного анализа (шейкер инкубатор Stat Fax 2200, промыватель для планшет Stat Washer, микропланшетный автоматический фотометр Stat Fax 2100, США).

Результаты исследований были обработаны с использованием пакета прикладных программ «Statistica v.10.0 for Microsoft Windows». Достоверность полученных результатов оценивалась при помощи непараметрического критерия Вилкоксона.

Результаты исследования

В ходе эксперимента не было обнаружено статистически достоверных изменений общего числа лейкоцитов. Однако анализ индивидуальных данных показал, что на 30-е и 114-е сутки пребывания в экспериментальных условиях, а также на 7-е сутки восстановительного периода у четырех из пяти испытуемых добровольцев наблюдалось снижение содержания лейкоцитов в периферической крови на 20 и более процентов от фонового уровня. При этом содержание лимфоцитов в эти сроки иммунологического обследования по абсолютным показателям достоверно уменьшилось ($p=0,043$), тогда как относительное число лимфоцитов на протяжении всего эксперимента достоверно не изменялось (табл. 1).

Результаты исследований количественных характеристик эффекторных клеток врожденного иммунитета – естественных киллеров (NK-клетки), и адаптивного иммунитета – В- и Т-лимфоцитов, показали, что в раннем периоде адаптации (7-е сутки экспериментального воздействия) в периферической крови наблюдались такие изменения, как статистически достоверное снижение абсолютного содержания CD19⁺В-лимфоцитов ($p=0,043$), повышение относительного содержания CD3⁺Т-лимфоцитов ($p=0,043$) и CD4⁺Т-клеток ($p=0,043$) по сравнению с фоновыми значениями (таблица 1). Через месяц после начала экспериментального воздействия одним из отмеченных изменений являлось незначительное (на 1,3-10,1 процента от фонового уровня), однако статистически достоверное, повышение относительного содержания CD3⁺Т-лимфоцитов ($p=0,043$) и CD4⁺Т-клеток ($p=0,043$). Кроме того, в этот период наблюдалось снижение относительного содержания ЕК-клеток ($p=0,043$), и, как следствие снижения абсолютного содержания лимфоцитов в периферической крови – снижение абсолютного содержания CD19⁺ ($p=0,043$), CD3⁺ ($p=0,043$), CD3⁺CD4⁺ ($p=0,043$), CD3⁺CD8⁺ ($p=0,043$), CD3⁺CD16⁺CD56⁺ ($p=0,043$), и CD3⁻CD16⁺CD56⁺ клеток ($p=0,043$). На 114-е сутки периода изоляции статистически достоверное снижение абсолютного содержания Т-клеток ($p=0,043$) и CD8⁺ Т-клеток ($p=0,043$) сохранялось. В дальнейшем на 204-е сутки наблюдалось статистически достоверное снижение абсолютного содержания Т-клеток, экспрессирующих маркеры NK-лимфоцитов ($p=0,043$), а на 240-е сутки – абсолютного и относительного содержания CD3⁺CD16⁺CD56⁺-клеток ($p=0,043$), а также абсолютного содержания NK-клеток ($p=0,043$; $p=0,043$). Примечательно, что на 7-е сутки восстановительного периода наблюдалось повышение относительного содержания в периферической крови CD19⁺-клеток ($p=0,043$) и снижение абсолютного содержания Т-клеток ($p=0,043$), CD4⁺-Т-клеток ($p=0,043$), CD16⁺CD56⁺-Т-клеток ($p=0,043$) (таблица 1).

Анализ способности В-клеток синтезировать *in vitro* иммуноглобулины в 132-часовых культурах лимфоцитов испытуемых добровольцев показал значимое увеличение синтеза продукции иммуноглобулинов класса А, начиная с 30 суток изоляции, с сохранением повышенного уровня по сравнению с фоновыми значениями на 7 сутки после завершения эксперимента ($p=0,043$, $p=0,043$, $p=0,043$, $p=0,043$, $p=0,043$). Спонтанный синтез IgM увеличивался на 30 сутки изоляции ($p=0,043$) и 7 сутки восстановительного периода ($p=0,043$), а продукция IgG CD3-CD19⁺-клетками периферической крови достоверно не изменялся (таблица 2).

Таблица 1

Показатели иммунограммы испытуемых-добровольцев, участников эксперимента с 240-суточной изоляцией в замкнутом гермообъекте с искусственной средой обитания (Ме; q25-q75) (n=5)

Table 1

Immunogram indicators of test volunteers, participants of the experiment with 240-day isolation in a closed hermetic object with an artificial environment (Me; q25-q75) (n=5)

Показатели		Сутки пребывания в гермообъекте						
		-30-е	7-е	30-е	114-е	204-е	240-е	+7-е
Лейкоциты	абс., ×10 ⁹ /л	7,30 (6,10-7,50)	5,30 (5,10-6,70)	6,10 (5,90- 6,20)	5,20 (4,90- 7,00)	7,10 (5,50- 7,10)	6,00 (5,90- 6,10)	5,30 (4,50-6,70)
	отн., %	38,7 (32,9-38,9)	39,2 (37,5-39,4)	34,7 (30,7- 34,8)	33,4 (27,2-39,8)	32,0 (30,6-32,1)	33,0 (26,5-37,0)	28,4 (026,3-45,50)
Лимфоциты	абс., ×10 ⁹ /л	2,40 (2,37-2,90)	2,00 (2,00-2,64)	1,90* (1,77-2,05)	1,79* (1,78-2,17)	2,17 (1,77-2,69)	1,92 (1,63-2,01)	1,97* (1,51-2,00)
	отн., %	8,0 (7,9-8,2)	7,4 (3,6-7,6)	9,2 (7,5-10,1)	10,1 (9,5-13,3)	10,9 (10,0-13,0)	8,0 (7,4-15,3)	11,6* (10,8-15,0)
CD19 ⁺ -лимфоциты	абс., ×10 ⁹ /л	0,19 (0,19-0,25)	0,12* (0,10-0,15)	0,18* (0,14-0,19)	0,21 (0,14-0,24)	0,26 (0,17-0,29)	0,18 (13-0,29)	0,18 (0,17-0,30)
	отн., %	73,4 (69,3-76,9)	80,7* (77,2-81,4)	77,6* (75,9-78,5)	74,2 (65,8-74,3)	72,3 (71,6-73,3)	76,0 (73,4-76,9)	72,9 (69,7-73,80)
CD3 ⁺ -лимфоциты	абс., ×10 ⁹ /л	1,74 (1,66-2,31)	1,61 (1,44-2,04)	1,44* (1,39-1,65)	1,33* (1,32-1,54)	1,57 (1,29-1,95)	1,46 (1,22-1,48)	1,37* (1,11-1,49)
	отн., %	46,6 (37,5-49,8)	55,6* (53,3-59,6)	51,8* (44,2-55,2)	47,2 (46,3-55,8)	49,5 (45,0-52,4)	53,1 (50,1-55,0)	49,6 (43,7-51,2)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ - лимфоциты	абс., ×10 ⁹ /л	1,12 (0,73-1,18)	1,06 (0,94-1,47)	0,98* (0,71-0,99)	0,99 (0,67-1,08)	1,08 (0,71-1,43)	0,84 (0,82-1,06)	0,75* (0,64-1,01)
	отн., %	17,7 (17,7-21,9)	20,2 (19,7-23,8)	19,6 (19,1-24,0)	18,7 (17,6-21,4)	18,1 (17,9-22,2)	18,6 (18,4-23,8)	21,8 (19,0-23,5)
CD3 ⁺ CD8 ⁺ - лимфоциты	абс., ×10 ⁹ /л	0,51 (0,42-0,53)	0,57 (0,39-0,63)	0,39* (0,35-0,46)	0,35* (0,33-0,50)	0,48 (0,47-0,49)	0,38 (0,36-0,44)	0,35 (0,33-0,38)
	отн., %	5,6 (4,3-9,3)	5,0 (3,2-10,3)	4,6 (2,6-9,3)	3,0 (1,9-11,4)	2,8 (1,8-9,7)	3,3* (1,5-8,8)	5,4* (2,5-7,4)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ - лимфоциты	абс., ×10 ⁹ /л	0,11 (0,10-0,22)	0,10 (0,05-0,27)	0,07* (0,05-0,18)	0,04 (0,04-0,24)	0,05* (0,04-0,21)	0,05* (0,04-0,14)	0,08* (0,05-0,11)
	отн., %	13,5 (11,3-18,0)	8,6 (8,3-18,1)	9,7* (9,3-15,7)	9,1 (8,1-21,9)	12,7 (8,7-18,1)	6,3 (6,3-13,4)	11,4 (10,0-18,6)
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ - лимфоциты	абс., ×10 ⁹ /л	0,34 (0,32-0,43)	0,17 (0,13-0,36)	0,21* (0,16-0,30)	0,20 (0,14-0,31)	0,35 (0,15-0,39)	0,13* (0,12-0,21)	0,20 (0,17-0,33)

• — достоверное различие с фоном (p<0.05)

Важным результатом исследования PWM-опосредованный (Т-зависимой) активации В-лимфоцитов является достоверное снижение уровня IgA, IgG и IgM в супернатантах клеточных культур, активированных PWM, на 114 сутки (IgM, IgG), 115 сутки (IgA), а также на 240 сутки изоляционного воздействия, причём на 240 сутки снижение индуцированного синтеза происходило в несколько десятков раз по сравнению фоновыми значениями (таблица 3).

Таблица 2

Базальная продукция иммуноглобулинов классов А, М и G B-лимфоцитами периферической крови испытуемых-добровольцев, участников эксперимента с 240-суточной изоляцией в гермообъекте с искусственной средой обитания в 132-часовых клеточных культурах (Me; q75-q25)

Table 2

Basal production of immunoglobulins of classes A, M and G by B lymphocytes of peripheral blood of test volunteers, participants of the experiment with 240-day isolation in a hermetic object with an artificial environment in 132-hour cell cultures (Me; q75-q25)

Сутки эксперимента		IgA, мкг/мл	IgM, мкг/мл	IgG, мкг/мл
Фон	-30 сутки	12 (8-12)	3 (2-6)	22 (19-27)
Изоляция	7 сутки	16 (9-25)	2 (2-5)	13 (13-27)
	30 сутки	21* (19-58)	12* (9-15)	16 (16-192)
	114 сутки	17* (13-19)	5 (4-9)	40 (27-43)
	115 сутки	20* (17-34)	9 (5-10)	57 (32-67)
	204 сутки	21* (13-30)	7 (6-7)	32 (16-43)
	240 сутки	16* (14-25)	5 (3-5)	40 (32-65)
Период восстановления	+7 сутки	48* (35-70)	15* (6-16)	78 (75-105)

• – достоверное различие с фоном, $p < 0,05$

Таблица 3

Индукцированная T-зависимым активатором (PWM) продукция иммуноглобулинов классов А, М и G B-лимфоцитами периферической крови испытуемых-добровольцев, участников эксперимента с 240-суточной изоляцией в гермообъекте с искусственной средой обитания в 132-часовых клеточных культурах (Me; q75-q25)

Table 3

T-dependent activator (PWM)-induced production of immunoglobulins of classes A, M and G by B-lymphocytes of peripheral blood of test volunteers, participants of the experiment with 240-day isolation in a hermetic object with artificial environment in 132-hour cell cultures (Me; q75-q25)

Сутки эксперимента		IgA, мкг/мл	IgM, мкг/мл	IgG, мкг/мл
Фон	-30 сутки	292 (152-375)	318 (242-437)	248 (159-340)
Изоляция	7 сутки	159 (75-224)	136 (73-251)	146 (94-267)
	30 сутки	240 (160-302)	311 (290-316)	213 (208-308)
	114 сутки	115 (19-125)	81* (19-155)	119* (27-167)
	115 сутки	155* (120-180)	182 (172-201)	197 (132-256)
	204 сутки	137 (125-169)	188 (184-190)	186 (173-189)
	240 сутки	21* (18-43)	9* (6-10)	32* (22-84)
Период восстановления	+7 сутки	147 (135-441)	187 (146-410)	237 (127-429)

• – достоверное различие с фоном, $p < 0,05$

ODN-2006-опосредованный (T-независимый) синтез иммуноглобулинов B-лимфоцитами периферической крови также демонстрировал общую тенденцию к снижению. Снижение продукции IgA были статистически достоверны на 114, 115 и 240 сутки моделируемого полёта, IgM значимо снижался на 7 и 114 сутки с достоверным увеличением на 204 сутки изоляции и снижением на 240 сутки воздействия, а IgG был значимо снижен на 240 сутки изоляции. Как и в случае PWM-опосредованного синтеза, при T-независимом синтезе наибольшее снижение наблюдалось на 240 сутки эксперимента, демонстрируя значения в десятки раз меньше таковых перед началом изоляционного эксперимента. В восстановительном периоде достоверных различий по сравнению с фоновым периодом не наблюдалось (таблица 4).

Таблица 4

Индукцированная T-независимым активатором (ODN-2006) продукция иммуноглобулинов классов А, М и G B-лимфоцитами периферической крови испытуемых-добровольцев, участников эксперимента с 240-суточной изоляцией в гермообъекте с искусственной средой обитания в 132-часовых клеточных культурах (Me; q75-q25)

Table 4

The production of immunoglobulins of classes A, M and G induced by T-independent activator (ODN-2006) by B-lymphocytes of peripheral blood of test volunteers, participants of the experiment with 240-day isolation in a hermetic object with an artificial environment in 132-hour cell cultures (Me; q75-q25)

Сутки эксперимента		IgA, мкг/мл	IgM, мкг/мл	IgG, мкг/мл
Фон	-30 сутки	417 (349-453)	1082 (1079-1741)	380 (364-383)
Изоляция	7 сутки	445 (405-580)	913* (673-1339)	272 (175-281)
	30 сутки	559 (400-659)	1257 (1222-1750)	361 (255-402)
	114 сутки	149* (107-378)	534* (529-969)	159 (89-237)
	115 сутки	274* (190-458)	1180 (791-1795)	240 (105-294)
	204 сутки	440 (428-528)	1689* (1402-2397)	310 (227-472)
	240 сутки	31* (27-61)	41* (12-46)	35* (27-85)
Период восстановления	Плюс 7 день	360 (249-501)	1404 (899-1731)	270 (218-302)

• – достоверное различие с фоном, $p < 0,05$

Обсуждение результатов

Рассматривая ситуацию в целом, можно сделать вывод о том, что изоляция в гермообъекте с искусственной средой обитания приводит к снижению в периферической крови человека клеточных факторов врождённого и адаптивного иммунитета.

Представляется интересным сравнить полученные результаты с предыдущим длительным, 520-суточным экспериментом в гермообъекте с искусственной средой обитания. В эксперименте «Марс-500» было отмечено увеличение содержания в периферической крови T-хелперных и цитотоксических лимфоцитов, в то время как абсолютное и относительное количество CD19⁺-клеток практически не изменялось [8]. Данное различие может объясняться тем, что в эксперименте «Марс-500» было проведено тестирование множества средств профилактики действия изоляции [11], что, в итоге, отразилось на иммунной системе.

В последнее десятилетие специалистами NASA Johnson Space Center (США) были опубликованы результаты нескольких исследований состояния иммунной системы астронавтов во время кратковременных космических полетов на борту космического корабля Space Shuttle, а также во время длительных полётов на МКС. Примечательно, что изучение образцов крови, взятых у членов экипажей и доставленных либо в Космический центр Кеннеди, либо на военно-воздушную базу Эдвардс, наблюдалось значительное повышение содержания в периферической крови лейкоцитов, в то время как относительное и абсолютное содержание лимфоцитов существенно не изменялось. Кроме того, во время 180-суточных космических полетов в периферической крови астронавтов не было выявлено существенных изменений абсолютного содержания B- и T-клеток, а также цитотоксических T-лимфоцитов с фенотипом CD8⁺- и хелперных T-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺ [14]. Нельзя не отметить, что на борту МКС у астронавтов наблюдалось снижение функциональной активности клеток иммунной системы, в частности, снижение митоген-стимулированной активации CD4⁺ и CD8⁺ T-лимфоцитов, оцениваемое по экспрессии ранних и поздних маркеров активации (CD69 и CD25), и синтеза цитокинов – IFN- γ , IL-10, IL-5, TNF и IL-6 [15, 16, 17]. Возможно, это связано с уменьшением числа экзогенных инфекционных агентов.

При обсуждении результатов исследований, представленных в этой статье, следует также остановиться на данных об эффектах длительной изоляции в гермообъекте на функциональную активность B-звена иммунной системы человека. На сегодняшний день известно о том, что после завершения длительных космических полетов в периферической крови космонавтов имеет место повышение уровня B-лимфоцитов [8]. В то же время немногочисленные исследования потенциальных возможностей B-лимфоцитов выявили на 1-е сутки после завершения 169- и 438-суточного

полетов значительное снижение в стимулированных *Staphylococcus aureus* С клеточных культурах синтеза IgA, IgM и IgG, а также соотношения уровней индуцированного и спонтанного синтеза этих иммуноглобулинов [18]. Полученные нами результаты о снижении способности В-клеток синтезировать иммуноглобулины классов А, М и G в ответ на Т-зависимую и Т-независимую стимуляцию в культурах *in vitro* во время пребывания в условиях 240-суточной изоляции свидетельствуют о переходе функциональной активности этой популяции иммунокомпетентных клеток на новый уровень, соответствующий условиям, формирующимся в гермообъекте ограниченного объема.

В целом, описанные выше изменения являются отражением сложного аллостатического процесса, происходящего во врожденном и адаптивном компонентах иммунной системы человека, находящегося в условиях длительной изоляции в гермообъекте с искусственной средой обитания, механизмы которого еще только предстоит изучить.

Заключение

В ходе проведенного 240-суточного эксперимента был выявлен ряд изменений в иммунной системе человека, затрагивающий изменение содержания в периферической крови испытуемых добровольцев иммунокомпетентных клеток, в первую очередь, снижение в периферической крови общего числа НК- НКТ- клеток, Т-хелперов и цитотоксических лимфоцитов. Было отмечено уменьшение функциональной активности В-лимфоцитов в ответ на Т-зависимую и Т-независимую активации. Данные изменения свидетельствуют о том, что длительная изоляция в гермообъекте с искусственной средой обитания в целом приводит к снижению ряда показателей, характеризующих состояние иммунной системы человека. Вероятно, данные изменения являются отражением перехода иммунной системы на другой уровень функционального состояния, связанный с ограниченной антигенной нагрузкой. При этом, с нашей точки зрения, нельзя исключать, что описанные выше перестройки обусловлены изменениями не только в протективной, но в регуляторной функции системы иммунитета.

Выводы

1. 240-суточная изоляция в гермообъекте с искусственной средой обитания в целом приводит к снижению содержания в периферической крови различных субпопуляций лимфоцитов.
2. Пребывание в гермообъекте с искусственной средой обитания сопровождается снижением функциональной активности В-клеток.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-298 от 18.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Павловский центр «Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости».

ЛИТЕРАТУРА

1. Сепиашвили Р.И. Функциональная система иммунного гомеостаза // Аллергология и иммунопатология. - 2003. - Т. 4. - № 2. -С.5-14.
2. Юшков Б.Г. Клетки иммунной системы и регуляция регенерации // Бюллетень сибирской медицины 2017; 16 (4) 94-105 DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-94-105
3. Петров Р.В., Хайтов Р.М., Черешнев В.А. Физиология иммунной системы: клеточные и молекулярно-биологические механизмы // Вестник Российского фонда фундаментальных исследований. 2017. № 1. С. 97.
4. Юшков Б.Г., Климин В.Г., Ткаченко А.Е. и др., Структурный гомеостаз //М., Комментарий 2019 -200 с
5. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Егоров А.Д. Реакции организма человека на условия космического полета // Физиологические проблемы космических полетов / Под ред. О.Г. Газенко и И.И. Касьяна. М.: Медицина, 1990. С. 155-160
6. Kuzichkin, D.S., Nichiporuk, I.A., Zhuravleva, O.A. et al Endothelial dysfunction markers and immune response indices in cosmonauts' blood after long-duration space flights npj Microgravity, 2022, 8(1), 46
7. Sonnenfeld G., Shearer W.T., Immune function during space flight // Nutrition. 2002. Vol.18. P.899-903.
8. Morukov B.V., Rykova M.P., Antropova E.N. et al. Parameters of the innate and adaptive immunity in

cosmonauts after long-term space flight on board the international space station// Human Physiology, 2010, 36(3) pp.264-273

9. Crucian B., Stowe R., Quiariarte H. et al. Monocyte phenotype and cytokine production profiles are dysregulated by short-duration spaceflight. *Aviat. Space Environ. Med.* 2011 Sep;82(9):857-62.

10. Buravkova LB, Rykova MP, Grigorieva Vet al Cell interactions in microgravity: cytotoxic effects of natural killer cells in vitro // *J Gravit Physiol* . 2004 Jul;11(2):P177-80.

11. Crucian B, Simpson RJ, Mehta S et al Terrestrial stress analogs for spaceflight associated immune system dysregulation // *Brain Behav Immun.* 2014 Jul;39:23-32

12. Томиловская, Е.С., Рукавишников, И.В., Амирова, Л.Е., и др., 21-суточная «сухая» иммерсия: особенности проведения и основные итоги, *Авиакосмическая и экологическая медицина*, 2020, Т. 54, № 4. с. 5.

13. Моруков Б. В., Рыкова М. П., Антропова Е. Н., и др. Иммунологические аспекты пилотируемого марсианского полёта // *Физиология человека*. - 2013. -N 2. -С.19-30.

14. Crucian B, Stowe RP, Mehta S, et al Alterations in adaptive immunity persist during long-duration spaceflight. *NPJ Microgravity*, 2015, 1:15013.

15. Krieger SS, Zwart SR, Mehta S, Wu H, Simpson RJ, Smith SM, Crucian B. Alterations in Saliva and Plasma Cytokine Concentrations During Long-Duration Spaceflight // *Front Immunol.* 2021 Aug 24;12:725748.

16. Crucian B, Stowe RP, Mehta S, Quiariarte H, Pierson D, Sams C Alterations in adaptive immunity persist during long-duration spaceflight. // *NPJ Microgravity* 2015 1:15013.

17. Gmunder FK, Konstantinova I, Cogoli A, Lesnyak A, Bogomolov W, Grachov AW Cellular immunity in cosmonauts during long duration spaceflight on board the orbital MIR station. // *Aviat Space Environ Med* 1994 65:419–423.

18. Tuschl H., Weber E., Kovac R., Rykova M., Konstantinova I. Investigations of immune parameters in a cosmonaut after a long-duration flight // *Aviat Space Environ Med.* 1997. V.68. №6. P.552-557.

Авторы

Пономарёв Сергей Алексеевич

Ведущий научный сотрудник-заведующий лабораторией физиологии иммунной системы, кандидат медицинских наук

dr.grey@bk.ru

Рыкова Марина Петровна

Ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии иммунной системы, доктор медицинских наук

rykovamarina@yandex.ru

Антропова Евгения Николаевна

Старший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунной системы, кандидат биологических наук

evgenantr@yandex.ru

Кутько Ольга Валерьевна

Старший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунной системы

sovamsha@yandex.ru

Орлова Ксения Дмитриевна

Младший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунитета человека, врач по авиационной и космической медицине

unusual-ksu@yandex.ru

Жирова Элина Андреевна

Младший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунитета человека

elinazirova5@gmail.com

Садова Анастасия Александровна

Младший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунитета человека
89652410866@mail.ru

Власова Дарья Дмитриевна
Младший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунитета человека
Dlokatosh@gmail.com

Шульгина София Михайловна
Младший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунитета человека
sofiya.kayunova@mail.ru

Уткин Константин Васильевич
Младший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунитета человека, кандидат медицинских наук
ligands@gmail.com

Шмаров Вячеслав Анатольевич
Ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии иммунитета человека, кандидат биологических наук
shmarov.v.a@gmail.com

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр РФ-Институт медико-биологических проблем Российской академии
Москва, Российская Федерация

*S.A. Ponomarev, M.P. Rykova, E.N. Antropova, O.V. Kutko,
K.D. Orlova, E.A. Zhirova, A.A. Sadova, D.D. Vlasova, S.M. Shulgina,
K.V. Utkin, V.A. Shmarov*

THE EFFECT OF 240-DAY ISOLATION IN A HERMETIC FACILITY WITH AN ARTIFICIAL HABITAT ON THE STATE OF THE HUMAN IMMUNE SYSTEM

State scientific center of the Russian Federation Institute of Biomedical Problems
of the Russian academy of sciences, Moscow, Russian Federation

Abstract. The object of the study were volunteer testers, participants of an eight-month isolation experiment in a hermetically sealed object of limited volume, reproducing the main characteristics of a promising interplanetary expedition. **The purpose** of this study was to study the processes occurring in the human immune system under conditions of being in 240-day isolation in a hermetic facility with an artificial habitat. During an 8-month isolation experiment, changes in the human immune system were revealed, including a decrease in the total number of NK and NKT cells, T helper cells and cytotoxic lymphocytes in peripheral blood, as well as inhibition of the ability of B lymphocytes to synthesize immunoglobulins in response to T-dependent and T-independent activation. **Conclusions.** 240-day isolation in a hermetic facility with an artificial habitat, in general, leads to a decrease in the content of various lymphocyte subpopulations in the peripheral blood. Staying in a hermetic object with an artificial habitat is accompanied by a decrease in the functional activity of B cells.

Keywords: cellular immunity, space flight, isolation experiment

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Sergey A. Ponomarev

dr.grey@bk.ru

Received 10.08.2023

For citation:

Ponomarev S.A., Rykova M.P., Antropova E.N., Kutko O.V., Orlova K.D., Zhirova E.A., Sadova A.A., Vlasova D.D., Shulgina S.M., Utkin K.V., Shmarov V.A. The effect of 240-day isolation in a hermetic facility with an artificial habitat on the state of the human immune system [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2023, Vol. 20, no. 4, pp. 190–201. DOI: 10.22138/2500-0918-2023-20-4-190-201 (In Russ)

REFERENCES

1. Sepiashvili R.I. Functional system of immune homeostasis, Allergology and immunopathology, 2003, T. 4, No. 2, P.5-14. (In Russ)
2. Yushkov B.G. Cells of the immune system and regulation of regeneration. Bulletin of Siberian Medicine 2017, 16 (4) 94-105 DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-94-105 (In Russ)
3. Petrov R.V., Khaitov R.M., Chereshev V.A. Physiology of the immune system: cellular and molecular biological mechanisms. Bulletin of the Russian Fund for Basic Research, 2017, No. 1, P. 97. (In Russ)
4. 3. B.G. Yushkov, V.G. Klimin, A.E. Tkachenko, E.A. Dugina Structural homeostasis, M., Commentary 2019 -200 s (In Russ)
5. Gazenko O.G., Grigorev A.I., Egorov A.D. Human organism reaction on the space flight conditions // Physiological problems of the space flights/ under edition of O.G. Gazenko and I.I. Kasyan M. Medicine, 1990 p. 155-160. (In Russ)
6. Kuzichkin, D.S., Nichiporuk, I.A., Zhuravleva, O.A. et al Endothelial dysfunction markers and immune response indices in cosmonauts' blood after long-duration space flights npj Microgravity, 2022, 8(1), 46
7. Sonnenfeld G., Shearer W.T., Immune function during space flight // Nutrition. 2002. Vol.18. P.899-903.
8. Morukov B.V., Rykova M.P., Antropova E.N. et al. Parameters of the innate and adaptive immunity in cosmonauts after long-term space flight on board the international space station. Human Physiology, 2010, 36(3) pp.264-273
9. Crucian B., Stowe R., Quiariarte H. et al. Monocyte phenotype and cytokine production profiles are dysregulated by short-duration spaceflight. Aviat. Space Environ. Med. 2011 Sep;82(9):857-62.
10. Buravkova LB, Rykova MP, Grigorieva Vet al Cell interactions in microgravity: cytotoxic effects of natural killer cells in vitro // J Gravit Physiol . 2004 Jul;11(2):P177-80.
11. Crucian B, Simpson RJ, Mehta S et al Terrestrial stress analogs for spaceflight associated immune system dysregulation // Brain Behav Immun. 2014 Jul;39:23-32
12. Tomilovskaya E.S., Rukavishnikov I.V., Amirova L.E. et al 21-Day dry immersion: design and preliminary results. Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina, Vol. 54 №4 p. 5
13. Morukov B. V., Rykova M. P., Antropova E. N., et al. Immunological aspects of a manned Martian flight. Human Physiology, 2013,N 2, S.19-30. (In Russ)
14. Crucian B, Stowe RP, Mehta S, et al Alterations in adaptive immunity persist during long-duration spaceflight. NPJ Microgravity, 2015, 1:15013.
15. Krieger SS, Zwart SR, Mehta S, Wu H, Simpson RJ, Smith SM, Crucian B. Alterations in Saliva and Plasma Cytokine Concentrations During Long-Duration Spaceflight // Front Immunol. 2021 Aug 24;12:725748.
16. Crucian B, Stowe RP, Mehta S et al Alterations in adaptive immunity persist during long-duration spaceflight. // NPJ Microgravity 2015 1:15013.
17. Gmunder FK, Konstantinova I, Cogoli A et al Cellular immunity in cosmonauts during long duration spaceflight on board the orbital MIR station. // Aviat Space Environ Med 1994 65:419–423.
18. Tuschl H., Weber E., Kovac R., et al I. Investigations of immune parameters in a cosmonaut after a long-duration flight // Aviat Space Environ Med. 1997. V.68. №6. P.552-557.

Authors

Sergey A. Ponomarev

Leading Researcher, Head of the Laboratory of Physiology of the Immune System, PhD, MD
dr.grey@bk.ru

Marina P. Rykova

Leading Researcher, Laboratory of Physiology of the Immune System, D.Sci, MD
rykovamarina@yandex.ru

Evgenia N. Antropova

Senior Researcher, Laboratory of Physiology of the Immune System, PhD
evgenantr@yandex.ru

Olga V. Kutko

Senior Researcher, Laboratory of Physiology of the Immune System
sovamsha@yandex.ru

Ksenia D. Orlova

Junior researcher at the Laboratory of Physiology of Human Immunity, doctor in aviation and space medicine.

unusual-ksu@yandex.ru

Elina A. Zhirova

Junior Researcher, Laboratory of Physiology of Human Immunity
elinazirova5@gmail.com

Anastasia A. Sadova

Junior Researcher, Laboratory of Physiology of Human Immunity
89652410866@mail.ru

Daria D. Vlasova

Junior Researcher, Laboratory of Physiology of Human Immunity
Dlokatosh@gmail.com

Sofia M. Shulgina

Junior Researcher, Laboratory of Physiology of Human Immunity
sofiya.kayunova@mail.ru

Konstantin V. Utkin

Junior Researcher, Laboratory of Physiology of Human Immunity, PhD, MD
ligands@yandex.ru

Shmarov Vyacheslav A.

Leading Researcher, Laboratory of Physiology of Human Immunity, PhD
shmarov.v.a@gmail.com

Federal State Budgetary Institution of Science State Scientific Center of the Russian Federation-Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy
Russian Federation, Moscow