

УДК 612.821

ВЗАИМОСВЯЗИ БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ИСПЫТАТЕЛЕЙ-ДОБРОВОЛЬЦЕВ В УСЛОВИЯХ 21-СУТОЧНОЙ “СУХОЙ” ИММЕРСИИ

© 2022 г. С. А. Пономарев¹, О. А. Журавлева¹, М. П. Рыкова¹ *,
Е. Н. Антропова¹, О. В. Кутько¹, В. А. Шмаров¹, А. А. Маркин¹

¹ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*E-mail: rykovamarina@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.01.2022 г.

После доработки 13.04.2022 г.

Принята к публикации 05.05.2022 г.

Представлены результаты изучения взаимосвязей биохимических и иммунологических показателей у испытуемых-добровольцев в условиях 21-суточной “сухой” иммерсии. Показано, что по сравнению с фоновым периодом на заключительном этапе эксперимента наблюдалось повышение количества статистически значимых корреляций ($p \leq 0.05$, соответственно, 27 и 51) между параметрами, оценивающими метаболические и иммунологические реакции организма. Рост числа взаимосвязей происходил в основном за счет повышения количества корреляций между показателями белкового, углеводного и липидного обмена и показателями, характеризующими состояние врожденного иммунитета. На завершающем этапе эксперимента возрастало влияние белкового и липидного обмена на клеточное звено адаптивного иммунитета. Выявленная динамика и характер корреляционных связей между биохимическими и иммунологическими показателями указывают на метаболическую регуляцию иммунного ответа в условиях гиподинамической опорной разгрузки.

Ключевые слова: биохимические параметры крови, иммунная система, “сухая” иммерсия.

DOI: 10.31857/S0131164622600331

Критически значимым фактором космического полета (КП) является длительное ограничение двигательных нагрузок, которое может привести к развитию, так называемого, гипокинетического двигательного синдрома, характеризующегося изменениями состояния физиологических систем организма. Значительный прогресс в понимании механизмов адаптационных процессов, обеспечивающих поддержание гомеостаза систем организма в условиях снижения статической и динамической активности, оказался возможным благодаря развитию программ наземных модельных исследований. К одной из таких моделей относится “сухая” иммерсия (СИ), создающая условия ортостатической и опорной разгрузки, гипокинезии и перераспределения жидкостей в организме [1, 2]. Исследования, проводимые в течение ряда лет с применением этой модели в ГНЦ РФ – ИМБП РАН (г. Москва), позволили детально описать динамику и выраженность изменений, происходящих в обмене веществ [3] и системе иммунитета [4, 5]. Согласно многим исследованиям наличие общих триггерных механизмов делают метаболизм и иммунитет звеньями одной цепи гомеостатических изменений, поэтому иммуно-

логические расстройства тесно связаны с биохимическими нарушениями [6, 7]. Однако для трактовки механизмов адаптации человека к воздействию экстремальных факторов, в частности, факторов КП, еще не проведено корректных исследований функционального единства биохимических и иммунологических процессов.

В этой связи задача настоящего исследования состояла в изучении взаимосвязей некоторых биохимических и иммунологических показателей у здоровых мужчин в условиях 21-суточной СИ.

МЕТОДИКА

Эксперимент с 21-суточной СИ без средств профилактики проводили с участием 10 практически здоровых мужчин в возрасте от 24 до 32 лет, получивших допуск врачебно-экспертной комиссии к участию в эксперименте. Условия эксперимента подробно описаны ранее [1].

Материалом исследования являлась венозная кровь, взятая натощак в утренние часы в фоновом периоде за 7–14 сут до начала эксперимента и на 21-е сут пребывания в условиях СИ.

Для анализа взаимосвязей между биохимическими и иммунологическими показателями применяли статистический метод корреляционного непараметрического анализа Спирмена. С использованием пакета прикладных программ “*Statistica v.10.0 for Microsoft Windows*” вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена, с помощью которого определяли фактическую степень параллелизма между двумя количественными рядами изучаемых биохимических и иммунологических параметров и оценивали тесноту установленной связи между ними. Достоверность полученных результатов оценивали при помощи критерия Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как было показано ранее [3], к окончанию иммерсионного воздействия, на 21-е сут СИ, в сыворотке крови участников эксперимента значительно, в среднем в 2.5 раза, была снижена активность креатинфосфокиназы (КФК) и ее мышечного изофермента (КФК-ММ). Отмечалось достоверное повышение содержания в крови кальция на 6%. При неизменном уровне показателей белкового обмена (общий белок и альбумин) наблюдалось уменьшение на 13% концентрации глюкозы, выходящее за пределы физиологической нормы. Обращало на себя внимание и резкое, более чем в 2.7 раза, увеличение активности глутаматдегидрогеназы (ГЛДГ) в сыворотке крови. Причем значения активности данного фермента существенно превышали верхнюю границу физиологической нормы. Также наблюдалась гиперхолестеринемия, выражавшаяся в увеличении концентрации холестерина на 17%.

Исследование иммунного гомеостаза у испытуемых-добровольцев также выявило ряд изменений количественных и функциональных характеристик клеток врожденного и адаптивного иммунитета. Так, анализ состояния системы сигнальных образ-распознающих рецепторов семейства Toll-like клеток врожденного иммунитета, включающий определение экспрессии TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR8 и TLR9 на лейкоцитах периферической крови, позволил обнаружить на 21 сут экспериментального воздействия достоверное увеличение абсолютного содержания гранулоцитов (Гр), экспрессирующих TLR3, и, напротив, снижение содержания моноцитов (Мн), экспрессирующих TLR9. При этом по усредненным данным содержание Мн и Гр, экспрессирующих другие TLRs, а также интенсивность экспрессии TLRs (СИФ) на Мн и Гр существенно не изменялись [8].

Изучение одного из характеризующих функциональное состояние TLR показателей – базальной продукции цитокинов, участвующих в

регуляции гомеостаза на местном и системном уровнях, позволило отметить на заключительном этапе экспериментального воздействия достоверное снижение уровня IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12P70 и выраженную тенденцию к снижению уровня IL-8 и TNF α в супернатантах клеточных культур, полученных после 24-часовой инкубации CD14⁺-моноцитов. Тогда как, концентрации таких цитокинов, как IL-10, IL-12P40 и IFN α , на 21-е сут СИ достоверно не отличались от фоновых значений, однако при этом присутствовали выраженные индивидуальные флуктуации, как в сторону увеличения, так и в сторону их снижения [9].

Оценка влияния факторов пребывания в условиях СИ на характер и степень выраженности изменений в адаптивном иммунитете здоровых добровольцев-испытателей позволили установить, что на заключительном этапе экспериментального воздействия уровень В-лимфоцитов (CD19⁺-клеток) существенно не отличался от фоновых значений. В то же время отмечено статистически достоверное ($p < 0.05$) повышение абсолютного содержания в периферической крови всех изученных субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток) – CD4⁺-, CD8⁺-, CD4⁺CD45RA⁺-, CD4⁺CD45RO⁺-, CD25⁺-, CD16⁺CD56⁺-лимфоциты [10]. Представляет интерес тот факт, что при изучении особенностей базальной продукции CD3⁺-лимфоцитами в системе *in vitro* ряда цитокинов – IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10, и TNF α , наблюдались разные типы реагирования Т-клеток на моделируемые условия: отсутствие изменений; снижение; повышение уровня цитокинов в супернатантах клеточных культур. Однако, несмотря на выраженные индивидуальные колебания, наблюдалась и некоторая общая закономерность – снижение базальной продукции IL-5 и IL-13.

Согласно многим исследованиям, формирование иммунного ответа тесно связано с белковым, углеводным и липидным обменом [11]. В этой связи при изучении характера адаптационных процессов организма человека к условиям моделируемой гравитации важную роль играет определение “сильных” связей ($r \geq 0.700$; $p < 0.05$) между изученными показателями биохимического и иммунного статуса (рис. 1). Результаты проведенного исследования показали, что, по сравнению с фоновым периодом, на 21-е сут пребывания в условиях СИ наблюдалось повышение количества статистически значимых ($p \leq 0.05$) корреляций между параметрами, оценивающими метаболические и иммунологические реакции организма (соответственно 27 и 51). При этом соотношение между обратными и прямыми связями существенно не изменялось (в фоновом периоде – 1.25, на 21-е сут СИ – 1.12). Необходимо также отметить, что рост числа взаимосвязей происходил в основном за счет повышения количе-

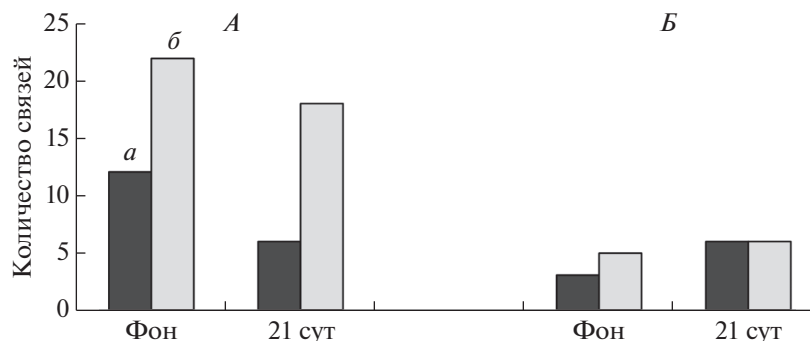


Рис. 1. Уровень “сильных” связей ($r \geq 0.700$; $p < 0.05$ и выше) между изученными показателями биохимического и иммунного статуса у испытуемых-добровольцев, участников эксперимента с 21-суточной “сухой” иммерсией без средств профилактики.

А – врожденный иммунитет, Б – адаптивный иммунитет; а – отрицательные связи, б – положительные связи.

ства корреляций между параметрами белкового, углеводного и липидного обмена и показателями, характеризующими состояние врожденного иммунитета: в фоновом периоде их было 18 (отрицательных корреляционных взаимосвязей – 12, положительных – 6), а на 21-е сут СИ – 40 (отрицательных корреляционных взаимосвязей – 22, положительных – 18). Это, по-видимому, объясняется тем, что, как было показано на обширном экспериментальном материале, при ухудшении условий среды обитания, их резкой смене в популяциях и группах возрастают корреляции между физиологическими параметрами (показатели липидного обмена, внешнего дыхания, активности ферментов, транспортной функции крови и т.д.) [12, 13].

Следует отметить, что одновременное изменение величин каких-либо параметров еще не свидетельствует об их взаимозависимости и может быть случайным [14]. С другой стороны, существуют литературные данные, согласно которым белково-энергетическая недостаточность сопровождается изменениями иммунного статуса. Так, обнаружены корреляционные связи между концентрацией общего белка и количеством лимфоцитов в периферической крови, причем наблюдается преимущественное уменьшение числа CD3⁺ Т-лимфоцитов при относительно стабильном содержании В-лимфоцитов. Считается, что среди Т-лимфоцитов при белковом голодании наиболее выраженные изменения наблюдаются в субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов. На фоне снижения общего уровня Т-лимфоцитов в периферической крови отмечается снижение Th0-лимфоцитов в результате увеличения числа Th2-лимфоцитов [15].

В ходе клинических исследований также была установлена корреляция между уровнем сывороточного альбумина и числом лимфоцитов периферической крови. При снижении концентрации альбумина наблюдалось уменьшение как относи-

тельного, так и абсолютного содержания CD25⁺-клеток. Помимо этого, снижение уровня альбумина приводило к уменьшению пролиферативной активности лимфоцитов в ответ на Т-клеточные митогены и синтеза ряда цитокинов (IL-1, IL-2, IFN, MIF) [16]. По-видимому, альбумин может вносить вклад в иммунологический гомеостаз, регулируя пути, ведущие к эффективной презентации антигена и последующему иммунологическому ответу на антигены активированными хелперными Т-клетками [17, 18]. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе иммуномодулирующих свойств сывороточного альбумина, продемонстрировало, что он вызывал обширные изменения в транскриптоме иммунных клеток, особенно в генах цитокинов и интерферонов I типа. В то же время альбумин не оказывал существенного воздействия на такие функции лейкоцитов, как фагоцитоз, эффероцитоз и продукция внутриклеточных активных форм кислорода [19].

Исследование влияния показателей белкового обмена на систему иммунитета при воздействии на организм здорового человека факторов моделируемой микрогравитации позволило выявить, что в фоновом периоде уровень общего белка находился в отрицательной корреляционной зависимости с абсолютным содержанием в периферической крови Gr, экспрессирующих TLR6, TLR3, а также интенсивностью экспрессии TLR4 на циркулирующих Gr ($r = -0.67$; $r = -0.86$; $r = -0.90$, соответственно) и базальной продукцией таких цитокинов, как IL-4 и TNF α ($r = -0.83$) CD3⁺-лимфоцитами, а уровень альбумина – с абсолютным содержанием в периферической крови моноцитов, экспрессирующих TLR8 ($r = -0.82$) (табл. 1). По всей видимости, выявленный отрицательный характер взаимосвязей мог быть связан с повышенным потреблением белков в ситуации подверженности действию неспецифических факторов малой интенсивности во время пред-

экспериментального обследования. На 21-е сут СИ влияние белкового обмена на комплекс изученных показателей, характеризующих экспрессию TLRs на клеточных факторах врожденного иммунитета, снижалось. Была выявлена только взаимосвязь концентрации альбумина с интенсивностью экспрессии TLR5 на Гр ($r = -0.71$). Следует также отметить, что в этот срок обследования отсутствовали корреляции между показателями белкового обмена и уровнем базальной продукции цитокинов CD14⁺-моноцитами и CD3⁺-лимфоцитами. В то же время обращает на себя внимание положительная связь концентрации общего белка с абсолютным содержанием в периферической крови CD8⁺-субпопуляции Т-лимфоцитов, свидетельствующая о возрастающем влиянии белкового обмена на клеточное звено адаптивного иммунитета на заключительном этапе пребывания в условиях СИ.

В ряде статей рассматривается состояние показателей иммунитета и липидного обмена. По современным данным, липиды способны взаимодействовать со всеми звеньями иммунной системы, начиная от компонентов врожденного иммунитета и заканчивая Т- и В-клеточным звеном. Представлены результаты, свидетельствующие о том, что жирные кислоты способны индуцировать или ингибировать активацию TLR2 и TLR4. Так, показано, что насыщенные жирные кислоты (НЖК) активируют TLR4, тогда как полиненасыщенные (ПНЖК) ингибируют активацию TLR4, индуцированную липополисахаридами [20, 21]. Обнаружено так же, что среднепечочные НЖК способны влиять на активацию TLR2, индуцированную липопептидом. Было показано, что лауриновая кислота, потенцирует активацию TLR2, а докозагексаеновая — наоборот, ингибирует [22].

Значительный интерес представляют результаты исследований, подтверждающие различия в состоянии адаптивного иммунитета у лиц с гипо- и гиперлипидемией [23, 24]. На фоне существенного уменьшения содержания в крови общего холестерина снижается как количество лимфоцитов в капиллярной сети и, в первую очередь, CD3⁺-Т-лимфоцитов, так и продукция интерлейкина-2 (IL-2) при стимуляции лимфоцитов фитогемагглютинином (ФГА). Холестерин способствует активации, дифференциации и пролиферации обоих CD4⁺- и CD8⁺-субпопуляций Т-клеток через супрессию X-рецептора печени β (LXR β) и активацию белка, связывающего регуляторный элемент стерола 2 (SREBP2) [25, 26]. *M.F. Muldoon et al.* обнаружили статистически значимую корреляцию между некоторыми субпопуляциями Т-лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺) и уровнем триглицеридов [24]. Также имеются данные, указывающие, что гиперхолестеринемия приводит к репрограммированию Т-клеток, в частности,

способствует дифференцировке Т-хелперов (Th) в направлении Th2 [27]. Такое смещение в сторону Th2 на фоне гиперхолестеринемии может частично происходить из-за индуцированного окисленными липопротеинами низкой плотности ослабления продукции провоспалительных (Th1) цитокинов CD8 α :DC [28]. В экспериментах на животных показано, что гиперхолестеринемия приводит к устойчивому увеличению Treg в селезенке [29] и повышенной экспрессии IFN γ в CD8⁺CD28⁺-Т-клетках в лимфатических узлах, дренирующих корень аорты [30]. Следует отметить, что высшие жирные кислоты играют определяющую роль в генерации и функционировании Th17 и Foxp3⁺Treg клеток [31, 32].

В настоящем исследовании показано, что в предэкспериментальном периоде параметры липидного обмена коррелировали только с показателями, характеризующими экспрессию TLRs на клеточных факторах врожденного иммунитета (табл. 1). Были выявлены “сильные” корреляционные связи уровня холестерина с интенсивностью экспрессии TLR1 и TLR8 на Гр (соответственно $r = -0.86$; $r = 0.79$), уровня триглицеридов с интенсивностью экспрессии TLR2 на Гр ($r = -0.79$) и уровня фосфолипидов с интенсивностью экспрессии TLR3 и TLR4 на Мн (соответственно $r = 0.90$; $r = -0.90$). На 21-е сут СИ влияние этих показателей липидного обмена на показатели системы TLRs клеток врожденного иммунитета сохраняется. Данное обстоятельство представляется закономерным, поскольку в условиях адаптации к стрессогенным факторам наряду с активацией TLRs эндогенными лигандами (алларминами) может происходить и лиганд-независимая активация TLRs с участием липидов — холестерина [33], экзогенных и эндогенных жирных кислот [34]. Представляет интерес наблюдение, указывающее на то, что на заключительном этапе длительного иммерсионного воздействия увеличение в сыворотке крови концентрации холестерина позитивно сказалось на состоянии Т-звена адаптивного иммунитета. Об этом свидетельствует, в частности, “сильная” взаимосвязь уровня холестерина с абсолютным содержанием Т-лимфоцитов с фенотипом CD8⁺ ($r = 0.81$) (табл. 1).

Показано, что глюкоза, продукты ее метаболизма, и ферменты, участвующие в гликолизе, могут выполнять сигнальную функцию, оказывая влияние на метаболизм и регуляцию экспрессии в активированных Т-клетках. Как известно, глюкоза служит основным энергетическим источником, обеспечивающим Т-клетки АТФ, субстратами и восстановительными эквивалентами NADPH, необходимыми для биосинтеза [35]. Например, интермедиаты глюкозы могут быть задействованы в пентозофосфатном пути (глюкозо-6-фосфат), пути образования серина (3-фосфоглицерат),

Таблица 1. Корреляционно-связанные биохимические и иммунологические показатели у испыателей-добровольцев, участников эксперимента с 21-суточной “сухой” иммерсией без средств профилактики (коэффициент корреляции $r \geq 0.700$; $p < 0.05$)

Биохимические показатели	Иммунологические показатели	
	фон	21-е сут
Белок общий, г/л	-TLR3-Гр; -TLR6-Гр; -сифTLR4-Гр; -IL4-Тл; -ФНО α -Тл	+CD8 ⁺ -Тл
Альбумин, г/л	-TLR8-Мн	-сифTLR5-Гр
Глюкоза, ммоль/л	-сифTLR2-Гр	+TLR1-Мн; +TLR4-Мн; -IL-12P70-Мн; -IL-12P40-Мн; -IFN α -Мн
Холестерин, ммоль/л	-сифTLR1-Гр; +сифTLR8-Гр	+сифTLR2-Мн; +сифTLR8 Мн; +сифTLR8-Гр; +CD8 ⁺ -Тл
Триглицериды, ммоль/л	+сифTLR2-Гр	-TLR3-Гр
Фосфолипиды, ммоль/л	+сифTLR3-Мн; -сифTLR4-Мн	+сифTLR9-Мн; +TLR6-Гр
ГЛДГ, МЕ/л	-сифTLR4-Мн; -сифTLR6-Гр; +IL-12P70-Мн	-TLR2-Гр; -TLR3-Гр; -IL-1 α -Мн; -IL-10-Мн
β -ГБ, мкмоль/л	+IL-12P40-Мн; +IFN α -Мн	-сифTLR8-Мн; +сифTLR1-Мн; -TLR8-Гр; +IL-12P70-Мн; +IFN α -Мн
КФК, МЕ/л	-сифTLR9-Мн; +CD19 ⁺ -Тл; +CD3 ⁺ -Тл; +CD8 ⁺ -Тл	-TLR1-Мн; -TLR2-Мн; -TLR4-Мн; -TLR6-Мн; -TLR8-Мн; +IL-12P70-Мн; +IL-12P40-Мн; +IFN α -Мн; -CD3 ⁺ -Тл; -CD4 ⁺ CD45RO ⁺ -Тл; +IFN γ -Тл; -IL-13-Тл; +TNF α -Тл
КФК-ММ, МЕ/л	-сифTLR9-Мн; +CD19 ⁺ -Тл; +CD3 ⁺ -Тл; +CD8 ⁺ -Тл	-TLR1-Мн; -TLR2-Мн; -TLR4-Мн; -TLR1-Гр; +IL-12P70-Мн; +IL-12P40-Мн; +IFN α -Мн; +IFN γ -Тл; +TNF α -Тл; -IL-13-Тл
Кальций, ммоль/л	-TLR4-Мн; -CD4 ⁺ CD45RO ⁺ -Тл	+TLR4-Гр; -сифTLR4-Гр; +сифTLR8-Гр; -IL-12P40-Мн; -IL-10-Тл

Примечание: ГЛДГ – глютамагдегидрогеназа; β -ГБ – β -гидроксибутират; КФК – креатинфосфокиназа; КФК-ММ – мышечный изофермент КФК; TLR – абсолютное содержание в периферической крови моноцитов (Мн) и гранулоцитов (Гр), экспрессирующих Toll-like рецепторы; сиф – средняя интенсивность экспрессии TLR на Мн и Гр; Тл – Т-лимфоциты (абсолютное содержание в периферической крови); (+) – связь положительная, (-) – связь отрицательная.

синтезе жирных кислот (ацетил-CoA) и служить прекурсорами для образования нуклеотидов, белков и липидов [36]. Сигнальный путь, инициируемый глюкозой и приводящий к ингибированию киназы гликогенсинтазы-3 (GSK-3) [37], предотвращает гибель клетки посредством стабилизации антиапоптотического белка Mcl-1 семейства Bcl-2 [38]. Нарушение усвоения глюкозы отрицательно влияет на многие аспекты функции Т-клеток, включая изменения как пролиферации, так и продукции ими цитокинов [39, 40].

Сведения о том, какую роль в функционировании врожденного иммунитета играет углеводный обмен, сравнительно немногочисленны и носят противоречивый характер. Из литературных данных известно, что при гипергликемии ингибируется ряд функций нейтрофилов: мобилизационная способность, фагоцитоз, выработка супероксид-анион радикалов, образование нейтрофильных внеклеточных ловушек. Повышенный уровень глюкозы в крови влияет на экспрессию Toll-подобных рецепторов на клеточных факторах врожденного иммунитета, способствуя их снижению [41, 42]. В то же время, при изучении влияния различных концентраций глюкозы на цитокинпродуцирующую способность были получены результаты, свидетельствующие как об отрицательной [43], так и положительной [41] связи между концентрацией глюкозы в крови и способностью иммунных клеток к продукции цитокинов.

По данным табл. 1 видно, что в фоновом периоде статистически значимые взаимосвязи между содержанием глюкозы в сыворотке крови и практически всеми изученными иммунологическими показателями, характеризующими систему TLRs клеток врожденного иммунитета и клеточные факторы адаптивного иммунитета, отсутствовали. Выявлена лишь одна “сильная” корреляция уровня глюкозы с интенсивностью экспрессии TLR2 на Гр периферической крови ($r = -0.74$). Иная картина наблюдалась на 21-е сут иммерсионного воздействия: концентрация глюкозы имела прямую корреляционную связь с абсолютным содержанием в периферической крови Мн, экспрессирующих TLR1 и TLR4 ($r = 0.69$ и $r = 0.68$ соответственно), а также сильную отрицательную корреляционную связь с базальной продукцией CD14⁺-Мн таких цитокинов, как IL-12P70, IL-12P40, IFN α ($r = -0.79$, $r = -0.84$, $r = -0.85$ соответственно).

В рамках сложных метаболических сетей, связанных с функционированием иммунитета, в регуляции иммунологических реакций основополагающую роль играет ряд ферментов. В некоторых случаях эти ферменты контролируют поток по путям, необходимым для удовлетворения конкретных энергетических или метаболических по-

требностей иммунного ответа. В других случаях ключевые ферменты контролируют концентрации иммунореактивных метаболитов, играющих непосредственную роль в передаче сигналов [44]. Существуют литературные данные, согласно которым уровень КК в сыворотке крови отражает состояние иммунного ответа, включая врожденный и адаптивный иммунный ответ [45, 46].

Результаты корреляционного анализа биохимических и иммунологических показателей у испытуемых 21-суточной СИ позволили отметить, что в предэкспериментальном периоде наблюдались достоверные связи между уровнями КФК и КФК-ММ в сыворотке крови и интенсивностью экспрессии TLR9 на Мн ($r = -0.90$; $r = -0.94$ соответственно), а также абсолютным содержанием в периферической крови CD19⁺-лимфоцитов ($r = 0.79$), CD3⁺-лимфоцитов ($r = 0.87$, $r = 0.88$ соответственно), и CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов ($r = 0.97$, $r = 0.95$ соответственно). После 3-недельного пребывания в СИ характер и количество взаимосвязей существенно изменились (табл. 1). Так, исчезли корреляционные связи между уровнями КФК и КФК-ММ с интенсивностью экспрессии TLR9 на Мн. В то же время отмечены корреляционные связи между уровнями КФК и КФК-ММ и абсолютным содержанием в периферической крови моноцитов, экспрессирующих TLR1 ($r = -0.91$; $r = -0.90$ соответственно), TLR2 ($r = -0.70$; $r = -0.65$ соответственно), TLR4 ($r = -0.78$; $r = -0.73$ соответственно). Кроме того, в этот период у испытуемых-добровольцев регистрировалась статистически значимая связь КФК и КФК-ММ с базальной продукцией CD14⁺-Мн таких цитокинов как IL-12P70 ($r = 0.81$), IL-12P40 ($r = 0.84$), IFN α ($r = 0.85$). На 21-е сут экспериментального воздействия наблюдалась отрицательная корреляция уровня в сыворотке крови КФК с абсолютным содержанием в периферической крови CD3⁺-лимфоцитов ($r = -0.66$), и CD3⁺-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺CD45R0⁺ ($r = -0.64$). Отмечен своеобразный характер корреляционных связей КФК и КФК-ММ с базальной продукцией Т-лимфоцитами цитокинов – положительная корреляция с IFN γ и TNF α ($r = 0.90$), но отрицательная корреляция с IL-13 ($r = -0.90$).

При нарушении энергетического баланса, например, при дефиците глюкозы в крови или тканях, функцию резервного энергетического субстрата, который позволяет обеспечить дополнительной энергией большинство органов, может выполнять β -гидроксибутират (β -ГБ). Сделанные наблюдения говорят о том, что β -ГБ способен ингибировать активацию инфламмосомы NLRP3 [47], являющейся важным датчиком врожденного иммунитета, который активируется широким спек-

тром сигналов патогенного, эндогенного и экологического происхождения [48]. В этой связи, одним из значимых результатов проведенного исследования является обнаружение на 21-е сут СИ сильных положительных корреляционных связей уровня β -гидроксибутирата с интенсивностью экспрессии (СИФ) TLR1 на Мн периферической крови и базальной продукцией CD14⁺-клетками IL-12P70 и IFN α (табл. 1). Можно предположить, что при длительном иммерсионном воздействии клеточные факторы врожденного иммунитета в качестве энергетического субстрата используют кетоны. Однако нельзя не отметить, что на заключительном этапе пребывания в экспериментальных условиях наблюдались отрицательные корреляции между уровнем β -гидроксибутирата в сыворотке крови и экспрессией TLR8 на Мн и Гр.

В обеспечении эффективности функционирования иммунной системы важную роль играет кальций. Установлено, что уровень Ca²⁺ в цитоплазме и органеллах Т-клеток оказывает существенное влияние на их метаболизм, пролиферацию, дифференцировку, а также секрецию иммунных антител и цитокинов [49]. Основными источниками притока Ca²⁺ в Т-клетки после стимуляции рецептора антигена являются кальциевые каналы (CRAC). Показано, что умеренное подавление притока Ca²⁺ через эти каналы ингибирует функции клеток Th1 и Th17, в то время как фолликулярные Т-хелперы (Tfh), регуляторные Т-клетки (Treg) и CD8⁺-Т-клетки остаются относительно устойчивыми к угнетению функции CRAC [50]. Нами были проанализированы особенности взаимосвязей содержания кальция в сыворотке крови испытуемых с изученными параметрами иммунного статуса при их длительном пребывании в условиях СИ. Оказалось, что в фоновом периоде концентрация кальция в сыворотке крови имела статистически значимую отрицательную связь с показателями, характеризующими уровень в периферической крови клеток врожденного и адаптивного иммунитета (содержанием моноцитов, экспрессирующих TLR4, и Т-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺CD45RO⁺), а на 21-е сут эксперимента – с показателями, отражающими функциональное состояние иммунокомпетентных клеток (интенсивностью экспрессии TLR4 на Гр, базальной продукцией IL-12P40 CD14⁺-моноцитами и IL-10 CD3⁺-лимфоцитами). В то же время к окончанию 21-суточного иммерсионного воздействия концентрация общего кальция в крови имела положительную сильную связь с количеством Гр, экспрессирующих TLR4, и интенсивностью экспрессии TLR8 на Гр.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в настоящей работе результаты показывают, что пребывание практически здорового человека в условиях 21-суточной СИ связано с появлением изменений взаимосвязей ряда биохимических и иммунологических показателей. При этом обращают на себя внимание особенности метаболических основ функционирования врожденного и адаптивного звена иммунной системы при длительном ограничении двигательной активности, что выражается в повышении количества положительных и отрицательных взаимосвязей между уровнями общего белка, альбумина, углеводных и липидных субстратов и метаболитов, прежде всего, с показателями, характеризующими состояние системы сигнальных образ-распознающих рецепторов семейства TLR клеток врожденного иммунитета, а не показателями, характеризующими состояние Т-звена адаптивного иммунитета. Дальнейшее накопление данных о метаболической регуляции иммунного ответа, их систематизация и тщательный анализ позволит расширить представление об адаптационных процессах в организме человека в условиях действия на него экстремальных факторов среды обитания. Это будет способствовать разработке средств, основанных на одновременном воздействии на метаболические и иммунологические процессы в организме, для профилактики и коррекции нарушений здоровья не только у членов экипажей космических миссий, но и людей, находящихся в неблагоприятных условиях среды обитания.

Этические нормы. Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях. Программа исследования была утверждена на заседании Ученого совета (протокол № 6 от 27.06.2018) и одобрена комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (Москва) (протокол от 30.09.2018 г.).

Информированное согласие. Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

Финансирование работы. Работа выполнена в рамках темы № 65.1 программы фундаментальных научных исследований РАН, а также при поддержке РФФИ (грант № 18-75-10086-П).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Томиловская Е.С., Рукавишников И.В., Амирова Л.Е. и др.* 21-суточная “сухая” иммерсия: особенности проведения и основные итоги // *Авиакосм. и эколог. мед.* 2020. Т. 54. № 4. С. 5.
Tomilovskaya E.S., Rukavishnikov I.V., Amirova L.E. et al. [21-day dry immersion: design and primary results] // *Aviakosm. Ekol. Med.* 2020. V. 54. № 4. P. 5.
2. *Navasiolava N.M., Custaud M.A., Tomilovskaya E.S. et al.* Long-term dry immersion: review and prospects // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2011. V. 111. № 7. P. 1235.
3. *Маркин А.А., Журавлева О.А., Кузичкин Д.С. и др.* Исследование метаболических реакций у испытуемых в динамике 21-суточной “сухой” иммерсии // *Авиакосм. и эколог. мед.* 2020. Т. 54. № 4. С. 88.
Markin A.A., Zhuravleva O.A., Kuzichkin D.S. et al. [Investigation of metabolic reactions in human subjects in dynamics of 21-day dry immersion] // *Aviakosm. Ekol. Med.* 2020. V. 54. № 4. P. 88.
4. *Berendeeva T.A., Rykova M.P., Antropova E.N. et al.* State of the immune system after seven-day “dry” immersion in human // *Human Physiology.* 2011. V. 37. № 7. P. 840.
5. *Ponomarev S.A., Rykova M.P., Antropova E.N. et al.* Human innate immunity under the conditions of five-day dry immersion // *Human Physiology.* 2013. V. 39. № 7. P. 780.
6. *Hotamisligil G.S.* Foundations of immunometabolism and implications for metabolic health and disease // *Immunity.* 2017. V. 47. № 3. P. 406.
7. *Zmora N., Bashirdes S., Levy M., Elinav E.* The role of the immune system in metabolic health and disease // *Cell Metab.* 2017. V. 25. № 3. P. 506.
8. *Пономарев С.А., Шульгина С.М., Калинин С.А. и др.* Состояние системы сигнальных образраспознающих рецепторов семейства toll-like – моноцитов и гранулоцитов человека во время 21-суточной “сухой” иммерсии без средств профилактики // *Авиакосм. и эколог. мед.* 2019. Т. 53. № 2. С. 36.
Ponomarev S.A., Shulguina S.M., Kalinin S.A. et al. [Condition of the system of recognition and signaling Toll-like receptors of human monocytes and granulocytes during 21-day dry immersion without countermeasures] // *Aviakosm. Ekol. Med.* 2019. V. 53. № 2. P. 36.
9. *Пономарев С.А., Рыкова М.П., Антропова Е.Н. и др.* Цитокиновый профиль испытателей-добровольцев в 21-суточной “сухой” иммерсии // *Физиология человека.* 2020. Т. 46. № 2. С. 76.
Ponomarev S.A., Rykova M.P., Antropova E.N. et al. Cytokine profile in volunteers during a 21-day dry immersion without countermeasures // *Human Physiology.* 2020. V. 46. № 2. P. 175.
10. *Kutko O.V., Rykova M.P., Antropova E.N. et al.* Effect of 21-day dry immersion on the production of T-lymphocytes cytokines involved in the regulation of bone metabolism // *Human Physiology.* 2020. V. 46. № 7. P. 787.
11. *Романцова Т.И., Сыч Ю.П.* Иммунометаболизм и метавоспаление при ожирении // *Ожирение и метаболизм.* 2019. Т. 16. № 4. С. 3.
Romantsova T.R., Sych Yu.P. [Immunometabolism and metainflammation in obesity] // *Obesity and Metabolism.* 2019. V. 16. № 4. P. 3.
12. *Гржибовский А.М.* Применение статистики в терапии. Критический анализ публикации // *Бюллетень СГМУ.* 2000. № 2. С. 22.
Grzhibovskij A.M. [Statistics application in therapy. Critical analysis of the publication] // *Bulleten' SGMU.* 2000. № 2. P. 22.
13. *Gorban A.N., Karlin I.V., Ilg P., Ottinger H.C.* Corrections and enhancements of quasi-equilibrium states // *J. Non-Newtonian Fluid Mech.* 2001. V. 96. № 1–2. P. 203.
14. *Земсков А.М., Земсков В.М., Ворновский В.А., Новикова Л.А.* Биохимическая составляющая иммунопатологии // *Имунопатология, аллергол., инфектол.* 2000. № 4. С. 37.
Zemskov A.M., Zemskov V.M., Vornovsky V.A., Novikova L.A. [Biochemical component of immunopathology] // *Immunopathol., allergol., infectol.* 2000. № 4. P. 37.
15. *Вологжанин Д.А., Калинина Н.М., Сосюкин А.Е. и др.* Метаболические основы формирования иммунной недостаточности при травматической болезни // *Рос. биомед. журн. Medline.* 2005. Т. 6. С. 597.
Vologzhanin D.A., Kalinina N.M., Sosyukin A.E. et al. [Metabolic basis of immune deficiency in trauma] // *Rossiyskiy Biomeditsinskiy Zhurnal. Medline.ru.* 2005. V. 6. P. 597.
16. *Винник Ю.С., Черданцев Д.В., Маркелова Н.М. и др.* Роль цитокинов и нитроксидазной системы в развитии иммунологических нарушений при панкреонекрозе // *Сибирский медицинский журн. (Иркутск).* 2004. Т. 45. № 4. С. 18.
Vinnik Y.S., Cherdancev D.V., Markelova N.M. et al. [The role of cytokines and nitrooxidergic system in development of immunological disturbances in pancreonecrosis] // *Siberian Med. J. (Irkutsk).* 2004. V. 45. № 4. P. 18.
17. *Aubin E., Roberge C., Lemieux R., Bazin R.* Immunomodulatory effects of therapeutic preparations of human albumin // *Vox Sang.* 2011. V. 101. № 2. P. 131.
18. *Chen Z., Shao Y., Yao H. et al.* Preoperative albumin to globulin ratio predicts survival in clear cell renal cell carcinoma patients // *Oncotarget.* 2017. V. 8. № 29. P. 48291.
19. *Casulleras M., Flores-Costa R., Duran-Güell M. et al.* Albumin internalizes and inhibits endosomal TLR signaling in leukocytes from patients with decompensated cirrhosis // *Sci. Transl. Med.* 2020. V. 12. № 566. P. eaax5135.
20. *Lee J.Y., Ye J., Gao Z. et al.* Reciprocal modulation of Toll-like receptor-4 signaling pathways involving MyD88 and phosphatidylinositol 3-kinase/AKT by saturated and polyunsaturated fatty acids // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 39. P. 37041.

21. *Zhu Y.J., Wang C., Song G. et al.* Toll-like receptor-2 and -4 are associated with hyperlipidemia // *Mol. Med. Rep.* 2015. V. 12. № 6. P. 8241.
22. *Lee J.Y., Zhao L., Youn H.S., Weatherill A.R. et al.* Saturated fatty acid activates but polyunsaturated fatty acid inhibits toll-like receptor 2 dimerized with toll-like receptor 6 or 1 // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 17. P. 16971.
23. *Moreno L.A., Sarría A., Lazaro A. et al.* Lymphocyte T subset counts in children with hypercholesterolemia receiving dietary therapy // *Ann. Nutr. Metab.* 1998. V. 42. № 5. P. 261.
24. *Muldoon M.F., Marsland A., Flory J.D. et al.* Immune system differences in men with hypo- or hypercholesterolemia // *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1997. V. 84. № 2. P. 145.
25. *Fessler M.B.* The intracellular cholesterol landscape: dynamic integrator of the immune response // *Trends Immunol.* 2016. V. 37. № 12. P. 819.
26. *Kidani Y., Elsaesser H., Hock M.B. et al.* Sterol regulatory element-binding proteins are essential for the metabolic programming of effector T cells and adaptive immunity // *Nat. Immunol.* 2013. V. 14. № 5. P. 489.
27. *Robertson A.K., Zhou X., Strandvik B., Hansson, G.K.* Severe hypercholesterolemia leads to strong Th2 responses to an exogenous antigen // *Scand. J. Immunol.* 2004. V. 59. № 3. P. 285.
28. *Shamshiev A.T., Ampenberger F., Ernst B. et al.* Dyslipidemia inhibits toll-like receptor-induced activation of CD8 α -negative dendritic cells and protective Th1 type immunity // *J. Exp. Med.* 2007. V. 204. № 2. P. 441.
29. *Maganto-García E., Tarrío M.L., Grabie N. et al.* Dynamic changes in regulatory T cells are linked to levels of diet-induced hypercholesterolemia // *Circulation.* 2011. V. 124. № 2. P. 185.
30. *Kolbus D., Ramos O.H., Berg K.E. et al.* CD8 $^{+}$ T cell activation predominate early immune responses to hypercholesterolemia in ApoE $^{-/-}$ mice // *BMC Immunology.* 2010. V. 11. № 1. P. 1.
31. *Cluxton D., Petrasca A., Moran B., Fletcher J.M.* Differential regulation of human Treg and Th17 cells by fatty acid synthesis and glycolysis // *Front. Immunol.* 2019. V. 10. P. 115.
32. *Lochner M., Berod L., Sparwasser T.* Fatty acid metabolism in the regulation of T cell function // *Trends Immunol.* 2015. V. 36. № 2. P. 81.
33. *Varshney P., Yadav V., Saini N.* Lipid rafts in immune signalling: current progress and future perspective // *Immunology.* 2016. V. 149. № 1. P. 13.
34. *Glass C.K., Olefsky J.M.* Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance // *Cell Metab.* 2012. V. 15. № 5. P. 635.
35. *Palmer C.S., Ostrowski M., Balderson B. et al.* Glucose metabolism regulates T cell activation, differentiation, and functions // *Front. Immunol.* 2015. V. 6. P. 1.
36. *Зубаткина О.В.* Метаболическое репрограммирование Т-клеток // *Вестник уральской медицинской академической науки.* 2019. Т. 16. № 3. С. 365. *Zubatkina O.V.* [T-Cell Metabolic Reprogramming] *Vestnik Ural'skoi Meditsinskoi Akademicheskoi Nauki.* 2019. V. 16. № 3. P. 365.
37. *Hermida M.A., Dinesh K.J., Leslie N.R.* GSK3 and its integration with the PI3K/Act/mTOR signaling network // *Adv. Biol. Regul.* 2017. V. 65. P. 5.
38. *Carrington E.M., Tarlinton D.M., Gray D.H.* The life and death of immune cell types: the role of BCL-2 antiapoptotic molecules // *Immunol. Cell Biol.* 2017. V. 95. № 10. P. 870.
39. *Fox C.J., Hammerman P.S., Thompson C.B.* Fuel feeds function: energy metabolism and the T-cell response // *Nature Rev. Immunol.* 2005. V. 5. № 11. P. 844.
40. *Michalek R.D., Rathmell J.C.* The metabolic life and times of a T-cell // *Immunol. Rev.* 2010. V. 236. P. 190.
41. *Jafar N., Edriss H., Nugent K.* The effect of short-term hyperglycemia on the innate immune system // *Am. J. Med. Sci.* 2016. V. 351. № 2. P. 201.
42. *Dasu M.R., Park S., Devaraj S., Jialal I.* Pioglitazone inhibits Toll-like receptor expression and activity in human monocytes and db/db mice // *Endocrinology.* 2009. V. 150. № 8. P. 3457.
43. *Wijsman C.A., Mooijaart S.P., Westendorp R.G., Mair A.B.* Responsiveness of the innate immune system and glucose concentrations in the oldest old // *Age (Dordrecht).* 2012. V. 34. № 4. P. 983.
44. *Godfrey W.H., Kornberg M.D.* The role of metabolic enzymes in the regulation of inflammation // *Metabolites.* 2020. V. 10. № 11. P. 426.
45. *Khan H.A., Alhomida A.S., Sobki S.H. et al.* Blood cell counts and their correlation with creatine kinase and C-reactive protein in patients with acute myocardial infarction // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2012. V. 5. № 1. P. 50.
46. *Wang J.J., Hu Z., Chen J.Y.* Characteristics of abnormal serum creatine kinase-MB levels in children with COVID-19 // *World J. Pediatr.* 2021. V. 17. № 3. P. 326.
47. *Goldberg E.L., Asher J.L., Molony R.D. et al.* β -Hydroxybutyrate deactivates neutrophil NLRP3 inflammasome to relieve gout flares // *Cell Rep.* 2017. V. 18. № 9. P. 2077.
48. *Sutterwala F.S., Haasken S., Cassel S.L.* Mechanism of NLRP3 inflammasome activation // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2014. V. 1319. № 1. P. 82.
49. *Trebak M., Kinet J.-P.* Calcium signaling in T cells // *Nat. Rev. Immunol.* 2019. V. 19. № 3. P. 154.
50. *Vaeth M., Kahlfuss S., Feske S.* CRAC channels and calcium signaling in T cell-mediated immunity // *Trends Immunol.* 2020. V. 41. № 10. P. 878.

Interrelations of Biochemical and Immunological Parameters in Volunteers under Conditions of 21-Day Dry Immersion

**S. A. Ponomarev^a, O. A. Zhuravleva^a, M. P. Rykova^{a, *}, E. N. Antropova^a,
O. V. Kutko^a, V. A. Schmarov^a, A. A. Markin^a**

^aInstitute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow, Russia

**E-mail: rykovamarina@yandex.ru*

The results of studying the interrelationships of biochemical and immunological parameters in volunteers under conditions of 21-day dry immersion are presented. It is shown that in comparison with the background period, at the final stage of the experiment, there was an increase in the number of statistically significant correlations ($p \leq 0.05$, respectively, 27 and 51) between the parameters assessing the metabolic and immunological reactions of the body. The increase in the number of relationships occurred mainly due to an increase in the number of correlations between the indicators of protein, carbohydrate and lipid metabolism and indicators characterizing the state of innate immunity. At the final stage of the experiment, the influence of protein and lipid metabolism on the cellular link of adaptive immunity increased. The revealed dynamics and the nature of correlations between biochemical and immunological indicators indicate the metabolic regulation of the immune response in conditions of hypodynamic support unloading.

Keywords: biochemical parameters of blood, immune system, dry immersion.