

Шеф Кирилл Александрович

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПИЩЕВЫХ
ПРОДУКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ АУТОПРОБИОТИК, ДЛЯ КОРРЕКЦИИ
ДИСБИОТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ
МЕЖПЛАНЕТНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ**

3.3.7 – авиационная, космическая и морская медицина

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

МОСКВА 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук.

Научный руководитель: Ильин Вячеслав Константинович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук.

Официальные оппоненты: Соловьева Ирина Владленовна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией «Микробиома человека и средство его коррекции», Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора.

Ермоленко Елена Игоревна, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией персонифицированной микробной терапии Отдела молекулярной микробиологии академика РАН А.А. Тотоляна, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» (ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ»)

Защита диссертации состоится «____» _____ 2026 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.023.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук по адресу: 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, д.76А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке в Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем Российской академии наук ГНЦ РФ – ИМБП РАН и на сайте: <http://www.imbp.ru/WebPages/win1251/ScienceN/DisserSov/Shef2025/Shef-dis.pdf>

Автореферат разослан «____» _____ 2025 г

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Светлана Викторовна Поддубко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

С увеличением времени пребывания на космических станциях и частотой ротации экипажей возрастает вероятность образования и сохранения штаммов микроорганизмов, аналогичных тем, что встречаются в больницах. Особенно это важно учитывать при планировании длительных межпланетных миссий и пребывании на лунных базах, где риски формирования таких штаммов увеличиваются [Horneck, Klaus, Mancinelli, 2010]. Кроме того, снижается устойчивость космонавтов к инфекционным заболеваниям, что подчеркивает необходимость внедрения эффективных мер для поддержания иммунной системы [Cowen, Zhang, Komorowski, 2024].

Обеспечение медицинской безопасности в космосе становится одной из главных задач, ведь активизация условно-патогенной флоры в ограниченном пространстве повышает риск инфекций. Основные пути распространения микроорганизмов включают носительство членами экипажа и перекрестную передачу инфекции. Человеческий фактор играет ключевую роль в этом процессе, способствуя загрязнению поверхностей и систем жизнеобеспечения через непосредственный контакт и воздушное распространение. Благоприятные условия, такие как высокая температура, влажность и образование конденсата, создают идеальную среду для размножения бактерий, превращая определенные участки в потенциальные источники инфекции [Checinska Sielaff и др., 2019].

Проблема актуализировалась уже в прошлом веке, задолго до того, как космические экспедиции стали такими продолжительными. С 1969 года под руководством Н.Н.Лизько [Лизько Н.Н., Гончарова Г.И., Семенова Л.П., 1986] в Институте медико-биологических проблем МЗ СССР проводилось масштабное исследование микробиологического состава экипажей. Было выполнено множество экспериментов, результаты которых заложили фундамент для дальнейших изысканий в этой области.

О возможности развития дисбактериоза предупреждали такие специалисты, как Н.Н.Лизько, А.Н.Викторов, Н.А.Поликарпов, В.К.Ильин [Лизько Н.Н., 1991; Поликарпов Н.А., 1982; Viktorov, Iljin, 1991], а также зарубежные коллеги, такие как Тэйлор [Taylor, 1974]. В число наиболее действенных профилактических средств входят аутопробиотики, чья эффективность была доказана в ходе экспериментов с участием людей и приматов, воспроизводящих различные аспекты космического полета, включая изоляцию, радиационные воздействия и сухую иммерсию [Ильин В.К. с соавт.]. В последнее время одним из успешных решений стало использование пищевых продуктов, обогащенного пробиотиками.

Исходя из вышеизложенного, подобные продукты считаются наиболее эффективными для минимизации микробиологических рисков у членов экипажей длительных космических миссий. Метод является особенно перспективным благодаря ряду преимуществ:

1. В составе препарата содержатся активные клетки пробиотических микроорганизмов, а не восстановленные из сухих форм.

2. Применение этого продукта показало лучшие результаты в снижении уровня дисбиотических изменений и обеспечении длительного эффекта.

3. Средство классифицируется как элемент лечебно-профилактического питания, а не медицинского препарата.

Цели и задачи

Целью работы является: Оценить влияние применения пищевых продуктов, содержащих аутопробиотик для коррекции дисбиотических нарушений в условиях моделируемых факторов межпланетного космического полета.

Задачи:

1. Исследовать активность пробиотиков после их экспозиции в условиях сочетанного воздействия радиации и гипомагнитной среды.

2. Исследовать эффективность пищевых продуктов, содержащих аутопробиотики на основе *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Enterococcus spp.*, на организм человека и животных в условиях модельных экспериментов (длительная изоляция и антиортостатическое вывешивание).

3. Исследовать стабильность микробиоценоза в составе нативных образцов кала человека после длительного хранения в условиях криогенезации.

Научная новизна

Впервые показано, что экспозиция пробиотических препаратов в условиях воздействия комплекса факторов космического полета, присущих межпланетным экспедициям (гипомагнитная среда, измененный радиационный фон) не приводит к изменениям их качества, поэтому в экспедициях на Луну пробиотики могут применяться аналогично рекомендациям, принятым в земных условиях.

Впервые показано, что использование пищевых продуктов, обогащенных аутопробиотиками, оказывает эффективное стабилизирующее воздействие на микробиоту кишечника человека в экспериментах, имитирующих воздействие факторов космического полета, поэтому пищевые продукты, обогащенные аутопробиотиками, являются перспективными для использования в практике медицинского обеспечения длительных, в

т.ч. межпланетных космических полетов.

Научно-практическая значимость работы

Работа экспериментально обосновывает создание пищевых продуктов, включающих аутологичные микроорганизмы, представители протективной микрофлоры кишечника.

В работе доказано, что воздействие комплекса факторов измененной среды (радиационное воздействие, замораживание, гипомагнитная среда) не оказывает негативного воздействия на пробиотические свойства культур и их ассоциаций, что делает технологию обогащения пищевых продуктов аутопробиотиками потенциально применимой при реализации перспективных программ освоения дальнего космоса. Разработано НТО «Кисломолочный продукт, обогащенный аутопробиотиками» для последующего применения в условиях межпланетного космического полета.

Положения, выносимые на защиту

1. Экспозиция пробиотических препаратов в условиях воздействия комплекса факторов космического полета, присущих межпланетным экспедициям (гипомагнитная среда, измененный радиационный фон), а также при длительной криоконсервации не приводит к изменениям их качества.

2. Использование пищевых продуктов, обогащенных аутопробиотиками оказывает эффективное стабилизирующее воздействие на микробиоту кишечника человека в экспериментах, имитирующих воздействие факторов космического полета.

Личный вклад соискателя ученой степени

Вклад автора в научно-квалификационную работу заключается в самостоятельном анализе литературных данных по теме диссертации, а также аспектов, связанных с выбранной темой. Соискатель провел анализ существующих научных данных, предложил новые гипотезы и подходы к решению поставленных задач, а также использовал оригинальные методики и инструменты для планирования и проведения экспериментов. В процессе работы автор активно взаимодействовал с научным сообществом, участвовал в конференциях и публиковал статьи в журналах, способствуя распространению своих результатов и развитию науки в целом.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на XLVI Международных общественно-научных чтениях, посвященных памяти Ю.А. Гагарина 2019 (г. Гагарин), XVIII конференции молодых ученых, специалистов и студентов, посвященной 50-летию высадки человека на Луну (Москва, 2019), XIV

Всероссийской выставке «день садовода-2019» (Мичуринск 2019), XIII Международной научно-практической конференции «Пилотируемые полеты в космос» (ФГБУ «НИИ ЦПК имени Ю.А. Гагарина», 2019 год), 55-х Научные чтения, посвященные разработке научного наследия и развитию идей К.Э. Циолковского (Калуга, 2020), XLVII Международных общественно-научных чтениях, посвященных памяти Ю.А. Гагарина 2020г (г. Гагарин), 23-м международном Симпозиуме «Человек в космосе». (Москва, 2021), II Конференции «Питание в Космосе: наука, инновации, перспективы», посвящённой 90-летию со дня рождения Ю.А. Гагарина и 300-летию Российской академии наук (Москва, 2024), VI международной научной конференции «Микробиота человека и животных» (ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, 2024), II Северо-Кавказский форум специалистов лабораторной медицины (Грозный, 2024), Результаты работы опубликованы в научных журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК и индексируемых в базах данных Web of Science и/или Scopus (6 статей), а также в сборниках докладов научных конференций (8 тезисов).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа включает следующие главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Список трудов по теме диссертации», «Список литературы» и «Приложения». Текст диссертации изложен на 140 страницах машинописного текста, результаты проиллюстрированы 16 рисунками и 10 таблицами. Список литературы включает 132 источника. Работа содержит 7 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования

В данных исследованиях проводилась оценка влияния гипомагнитной среды и облучения протонами высокой энергии на жизнеспособность лиофильных культур микроорганизмов после восстановления из лиофилизата. Изучение микрофлоры кишечника 28 половозрелых крыс-самцов, подвергшихся радиационному и химическому воздействию. Оценка пробиотического препарата, предварительно обработанного космическими факторами (гипомагнитное поле, облучение протонами), для профилактики изменений, связанных с микрогравитацией у 36 самцов крыс. Исследование применения пробиотиков для обогащения ферментированного напитка и аутопробиотика *Lactobacillus* spp. у участников 120-дневного изоляционного исследования. Анализ влияния

аутопробиотиков на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта и пробиотическую активность микроорганизмов при моделировании факторов космического полета у человека. Обзор изменений микробиоты толстого кишечника человека до и после длительной глубокой заморозки. Диагностика состояния кишечной микрофлоры участников восьмимесячного изоляционного эксперимента SIRIUS-21 при применении перорального аутопробиотика на основе *Lactobacillus* spp для коррекции микрофлоры на разных этапах изоляции;

Методика лиофилизации

Лиофилизация — это метод обезвоживания биологических материалов, при котором свободная вода сначала замерзает, а затем удаляется путем сублимации, минуя жидкую фазу. В процессе температура материала остается ниже точки замерзания, что предотвращает денатурацию белков. Полученный сухой материал сохраняет пористую структуру и объем, растворяясь почти мгновенно при добавлении воды.

Количественная оценка

Для анализа кала на количественный состав микробиоценоза кишечника в боксе микробиологической безопасности 1 г нативного препарата гомогенизировали в физиологическом растворе или фосфатном буфере и формировали стартовое разведение 10^{-1} . Затем последовательно готовили десятикратные разведения до 10^{-9} , из которых выполняли посевы на питательные среды. Среды инкубировали при 37°C 24–48 часов, а для культивирования анаэробов применяли анаэростаты.

Качественная оценка

Идентификация микроорганизмов проводилась методом масс-спектрометрии, используемым в системе MALDI Biotyper, основана на анализе профиля константных белков. Лазерный импульс вызывает десорбцию и ионизацию белков, которые затем ускоряются в электрическом поле и попадают в времяпролетную трубу. В зависимости от массы, ионы достигают детектора в разное время, что позволяет определить их молекулярную массу и идентифицировать микроорганизмы.

Статистический анализ

Обработка данных проводилась с использованием Statistica v.10.0. Результаты представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q25–Q75). Статистическая значимость проверялась с помощью непараметрического критерия Вилкоксона. Дополнительно применялись методы дискриминантного и дисперсионного анализа, а также критерий хи-квадрат в среде Statistics 12. Также использовались критерии Краскела–Уоллиса и Фридмана. Результаты, если не указано иное, представлены как среднее \pm стандартная ошибка.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Комплексное воздействие факторов, присущих космическому пространству (гипомагнитная среда, радиация) на биологические свойства протективных микроорганизмов

Анализ по количественным и качественным показателям культуральных свойств жизнеспособных форм микроорганизмов, восстановленных из лиофилизированной формы после воздействия, пониженного гипомагнитного поля Земли на 3-5 порядка и биологического действия протонов высоких энергий отдельно и совместно. Одна капсула препарата Линекс содержит не менее $1,2 \times 10^7$ живых лиофилизованных молочнокислых бактерий: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. Бифидумбактерин содержит *Bifidobacterium bifidum* не менее 5×10^7 КОЕ.

При сравнении данных, полученных после культивирования на питательных средах было обнаружено, что вне зависимости от того, какому воздействию подвергался препарат, статистически достоверных различий с контрольной группой не наблюдается (Таблица 10).

Таблица 10 — Содержание микроорганизмов в пробиотическом напитке (Lg КОЕ/мл)

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА	Повторности											
	Н1	Н1	Н1	Н2	Н2	Н2	Н3	Н3	Н4	Н4	Н4	Н4
НАПИТОК (COSM-O-TENTIC)												
Среда типа MRS (жидкая) для лактобактерий	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Среда Блаурука (для бифидобактерий), готовая, жидкая	7	7	7	9	9	9	8	8	8	8	8	8
Enterо (питательная среда для выделения энтерококков (энтерококагар))	9	9	9	8	8	8	8	8	8	8	8	8
БИФИДУМБАКТЕРИН	Б1	Б1	Б1	Б2	Б2	Б2	Б3	Б3	Б4	Б4	Б4	Б4
Среда Блаурука (для бифидобактерий), готовая, жидкая	7	7	7	9	9	9	8	8	8	8	8	8
ЛИНЕКС	Л1	Л1	Л1	Л2	Л2	Л2	Л3	Л3	Л4	Л4	Л4	Л4
Среда типа MRS (жидкая) для лактобактерий	8	8	8	7	7	7	7	7	7	7	7	7

Среда Блаурука (для бифидобактерий), готовая, жидкая	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Enterо (питательная среда для выделения энтерококков (энтерококк-агар))	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8

Примечания

1. Н1-Н4 повторности посевов напитка cosm-o-tentic на питательные среды
2. Б1-Б4 повторности посевов Бифидумбактерина на питательную среду
3. Л1-Л4 повторности посевов Линекса на питательные среды

Анализ кишечной микробиоты при моделировании ключевых неблагоприятных факторов космического полета: совместное воздействие низкоинтенсивных химического и радиационного факторов

Проводили оценку количественного и качественного состава кишечного микробиоценоза 28 половозрелых крыс-самцов, подвергшихся радиационному и химическому воздействию. На основе полученных количественных данных рассчитывали динамический эубиотический индекс (Eid) Формула (3) из работы Усановой Н. А. (2025) описывает эубиотический индекс $I(t)$ для пробы, полученной в момент времени t можно найти по формуле: $I(t) = \sum P_n + (t) N n=1 \div \sum P_n - N n=1 (t)$. Для этого в каждой точке отбора сравнивали изменения численности каждого микроорганизма в конкретном биотопе относительно предыдущей точки и определяли, является сдвиг положительным или отрицательным. Индекс вычисляли по формуле: $Eid = \text{количество положительных изменений микрофлоры} / \text{количество отрицательных изменений микрофлоры}$. По величине индекса судили о преобладающем направлении сдвигов в разные периоды изоляции: при $Eid > 1$ доминируют положительные изменения, при $Eid < 1$ — отрицательные (Рисунок 2).

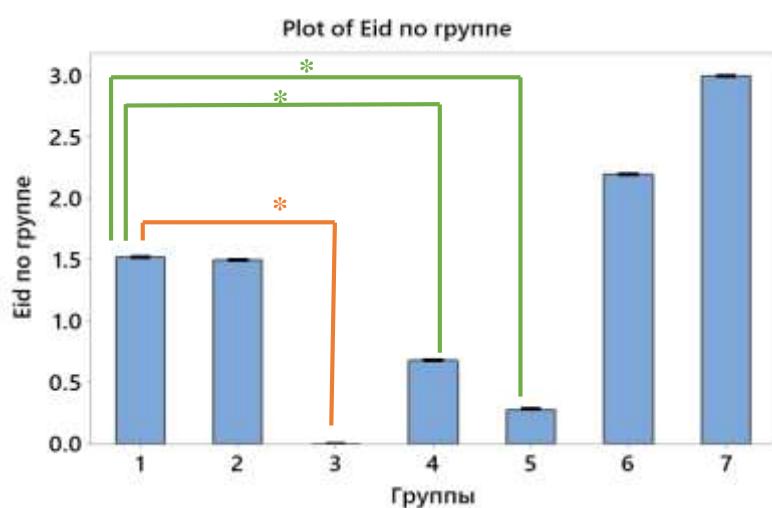


Рисунок 2 - Значение Eid в исследуемых группах. *, * — статистически достоверное различие по данным между группами ($p<0,05$);

Как видно из Рисунка 2 значение Eid в опытных группах имеет тенденцию к снижению после воздействия неблагоприятных факторов, что свидетельствует о изменении состава микрофлоры кишечника.

Оценка эффективности пробиотика, подвергнутого сочетанному воздействию тяжелых частиц и гипомагнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс

Перед началом эксперимента исходное состояние биоценоза кишечника без воздействия внешних факторов характеризовалось стабильным. На 7-е сутки в группе «Вывешивание + Препарат КП» уровень бифидобактерий оказался ниже, чем в группе «Вывешивание + Препарат» (Рисунок 3). При этом, если сопоставить пары групп без вывешивания и «опытных», видно, что в плацебо-группе у вывешенных животных снижены как бифидобактерии, так и представители семейства *Lactobacillaceae* spp., что указывает на неблагоприятное влияние модели вывешивания. Вместе с тем, в группах, где применялись оба препарата, содержания указанных микроорганизмов у вывешенных и не вывешенных крыс статистически не отличались, что говорит о сопоставимой результативности обоих средств.

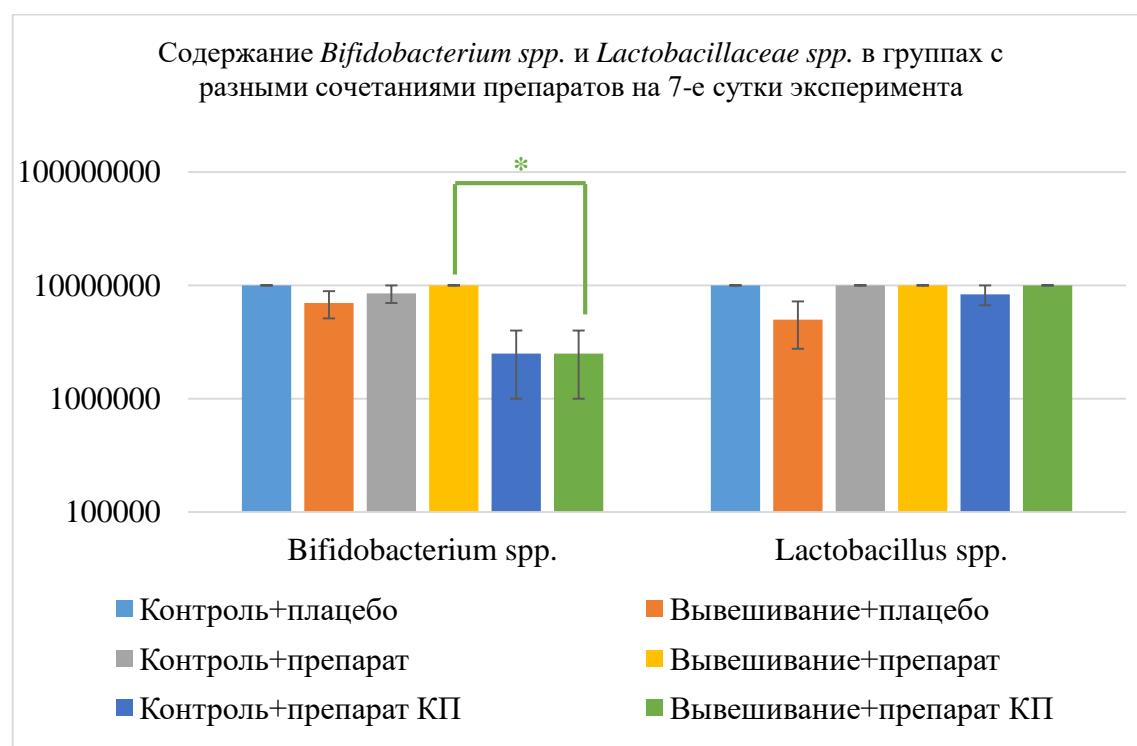


Рисунок 3 — Содержание *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillaceae* spp. в группах с разными сочетаниями препаратов на 7-е сутки эксперимента. Результаты критерия Краскела — Уоллиса демонстрируют статистически значимые межгрупповые различия в количестве *Bifidum* spp. у крыс ($H(5, 36) = 18,84615$, $p = 0,0021$), в количестве *Lactobacillus* spp. у крыс ($H(5,36)=12,03125$, $p=0,0344$). * - статистически достоверное различие по данным микроорганизмам между другими группами ($p<0,05$).

К 14-м суткам уровни *Bifidobacterium* spp. в группах «Вывешивание + препарат» и «Вывешивание + препарат КП» статистически не отличались друг от друга, но различались с соответствующими контрольными группами. (Рисунок 4). В условиях вывешивания количество этих бактерий было выше, чем в контроле. В парах «Контроль + плацебо» и «Вывешивание + плацебо» наблюдалась обратная картина: у вывешенных животных бифидобактерий меньше, чем в контроле, что подтверждает неблагоприятный эффект опорной разгрузки на кишечную микробиоту крыс.

По *Enterococcus faecalis* группы «Вывешивание + препарат» и «Вывешивание + препарат КП» значимо не различались, однако обе отличались от своих контролей — в контрольных группах концентрация энтерококков выше. В плацебо-ветвях достоверной разницы между контролем и вывешиванием не зафиксировано, но уровень энтерококков там ниже, чем в остальных четырех группах, что указывает на стимулирующее действие обоих препаратов на микрофлору кишечника.

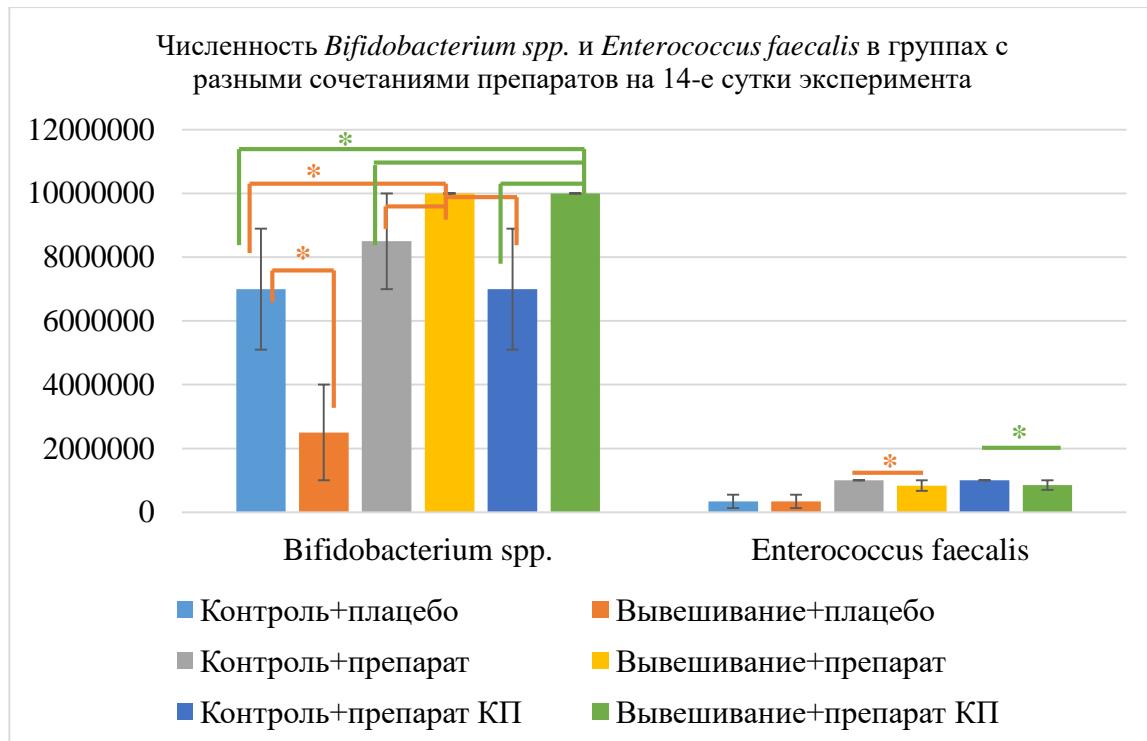


Рисунок 4 — Численность *Bifidobacterium* spp. и *Enterococcus faecalis* в группах с разными сочетаниями препаратов на 14-е сутки эксперимента. По результатам критерия Краскела — Уоллиса выявлены статистически значимые межгрупповые различия в количестве *Bifidobacterium* spp. у крыс ($H(5, 36) = 14,00000$, $p = 0,0156$), в количестве *Enterococcus faecalis* у крыс ($H(5, 36) = 15,00370$, $p = 0,0103$). * - статистически достоверное различие по данным микроорганизмам между группами ($p < 0,05$).

Как показано на рисунке 5, к 21-м суткам в плацебо-ветвях уровень лактобацилл был статистически ниже, чем в ветвях, где применялись препараты, за исключением

контрольной группы с препаратом КП. При этом группа «Вывешивание + Препарат КП» не демонстрировала различий по сравнению с группой «Вывешивание + Препарат».

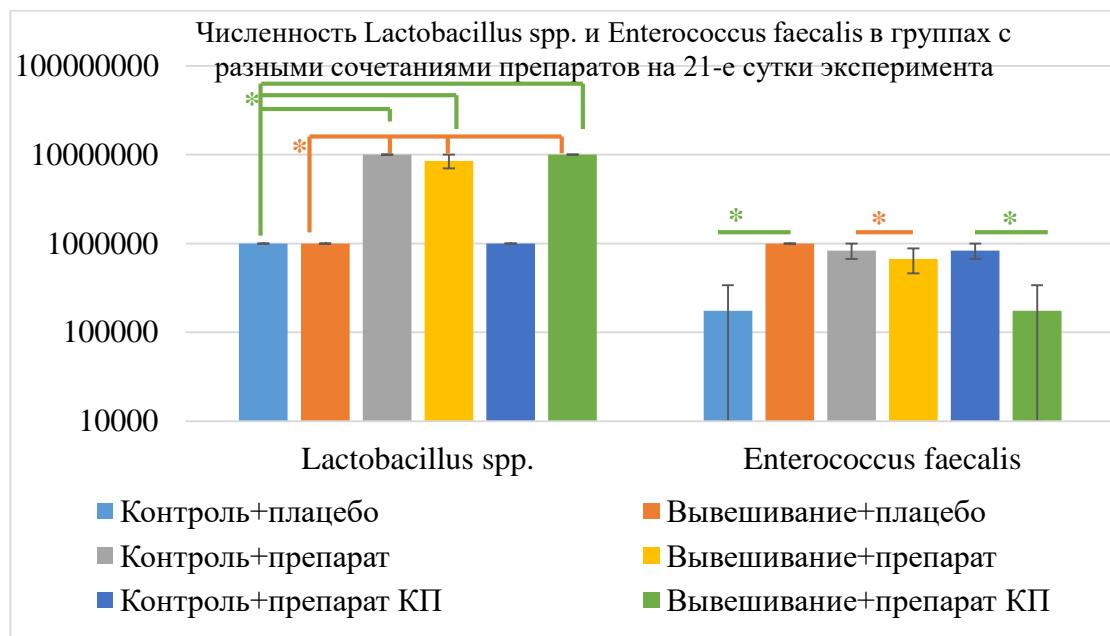


Рисунок 5 — Численность *Lactobacillus* spp. и *Enterococcus faecalis* в группах с разными сочетаниями препаратов на 21-е сутки эксперимента. Выявлены высокозначимые межгрупповые различия в количестве *Lactobacillus* spp. у крыс ($H(5, 36) = 31,74923, p = 0,0000$) и статистически значимые межгрупповые различия в количестве *Enterococcus faecalis* у крыс ($H(5, 36) = 15,90909, p = 0,0071$). *, * - статистически достоверное различие по данным микроорганизмам между группами ($p < 0,05$)

В плацебо-ветви отмечено более высокое содержание энтерококков у животных с вывешиванием по сравнению с контролем без вывешивания. В ветвях, где применялись оба вида препаратов, напротив, уровни энтерококков были выше в контрольных подгруппах, а минимальные значения зарегистрированы в группе «Вывешивание + Препарат КП». Дополнительно выполнено сравнение траекторий изменения численности разных таксонов на протяжении эксперимента с использованием критерия Фридмана для связанных выборок.

Значимые различия между временными точками выявлены по лактобациллам в трех ветвях: «Контроль + Плацебо», «Вывешивание + Плацебо» и «Контроль + Препарат КП»; коэффициент конкордации в каждой из них превышал 0,65, что указывает на в целом согласованную динамику у животных. Показано, что в этих трех группах численность лактобацилл снизилась к 21-м суткам; при этом в «Вывешивание + Плацебо» падение фиксировалось уже к 7-м суткам, тогда как в двух остальных ветвях снижение *Lactobacillaceae* spp. проявилось лишь к 21-м суткам (Рисунок 6,7,8). Учитывая отсутствие достоверных сдвигов по лактобациллам в «Вывешивание + Препарат КП» (как и в ветвях с

обычным препаратом) на протяжении всего наблюдения, оба варианта препарата можно рассматривать как действенные профилактические средства.

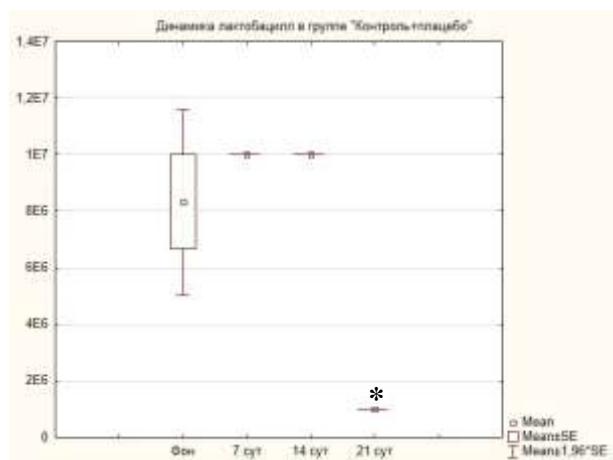


Рисунок 6 — Динамика численности *Lactobacillus* spp. в группе «Контроль + Плацебо». По критерию Фридмана обнаружены значимые различия в уровне *Lactobacillus* spp. у крыс в зависимости от условий/времени ($\chi^2 (3) = 13,76923$, $p = 0,00324$). Высокая согласованность рангов ($W = 0,76496$) свидетельствует о устойчивой тенденции в данных. * - статистически достоверное различие по данным между группами ($p < 0,05$).

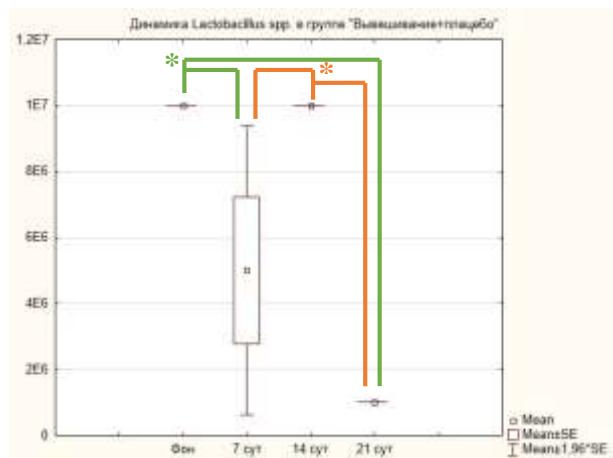


Рисунок 7 — Динамика численности *Lactobacillus* spp. в группе «Вывешивание + Плацебо». Критерий Фридмана выявил значимые различия в количестве *Lactobacillus* spp. у крыс ($\chi^2 (3) = 11,40000$, $p = 0,00975$). Умеренная согласованность рангов ($W = 0,63333$) подтверждает наличие систематической тенденции в данных. *, * - статистически достоверное различие по данным между группами ($p < 0,05$).

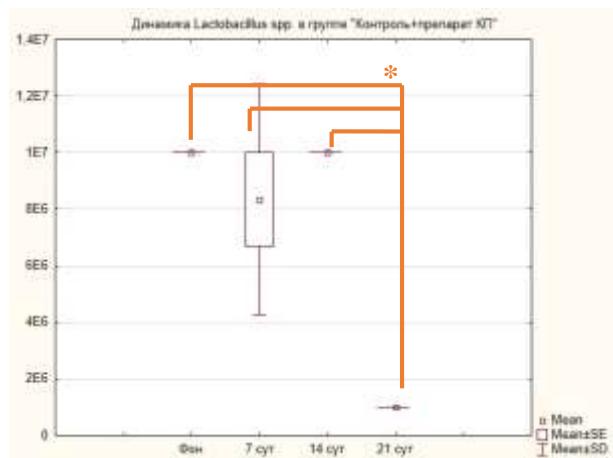


Рисунок 8 — Динамика численности *Lactobacillus* spp. в группе «Контроль + Препарат КП». По критерию Фридмана обнаружены значимые различия в уровне *Lactobacillus* spp. у крыс в зависимости от условий/времени ($\chi^2 (3) = 13,76923$, $p = 0,00324$). Высокая согласованность рангов ($W = 0,76496$) свидетельствует о устойчивой тенденции в данных. * - статистически достоверное различие по данным между группами ($p < 0,05$)

Также статистически значимые различия выявлены для энтерококков в группах «Контроль + Плацебо» и «Вывешивание + Препарат КП» (Рисунок 9,10). По значениям коэффициента конкордации изменения численности *Enterococcus* в большинстве групп носили согласованный характер. К 21-м суткам численность *Enterococcus faecalis* уменьшилась как в «Контроль + Плацебо», так и в «Вывешивание + Препарат КП», однако уровень в группе с препаратом оставался выше, чем в плацебо-ветви. Кроме того, в «Вывешивание + Препарат КП» повышенные значения энтерококков сохранялись почти на всем протяжении эксперимента, тогда как в плацебо-группе снижение фиксировалось уже на 7-е сутки.



Рисунок 9 — Динамика численности *Enterococcus faecalis* в группах «Контроль + Плацебо». * - статистически достоверное различие по данным между группами ($p < 0,05$)

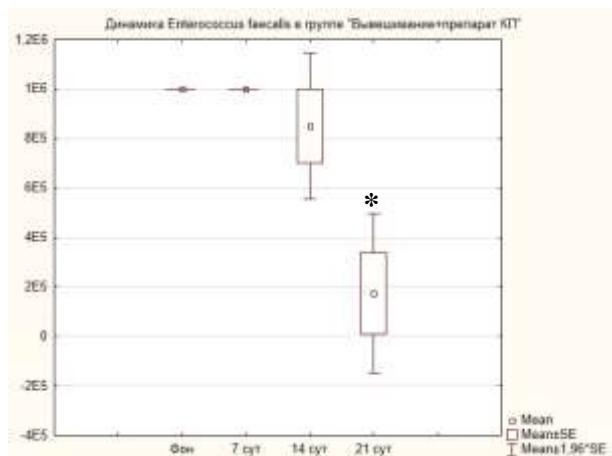


Рисунок 10 — Динамика численности *Enterococcus faecalis* в группе «Вывешивание + Препарат КП». * - статистически достоверное различие по данным между группами ($p<0,05$)

По результатам критерия Фридмана выявлены статистически значимые различия в количестве *Enterococcus faecalis* у крыс в зависимости от условий/времени ($\chi^2 (3) = 11,33333$, $p = 0,01005$). Умеренно-высокая согласованность ранжировок ($W = 0,62963$) и умеренная корреляция ($r = 0,55556$) свидетельствуют о устойчивой тенденции в данных: относительное положение объектов (крыс) по уровню *Enterococcus faecalis* сохраняется между условиями/временными точками.

Дополнительно для интерпретации микробиологических сдвигов был рассчитан эубиотический индекс, отражающий соотношение положительных и отрицательных изменений микрофлоры относительно предыдущей точки наблюдения (Рисунок 11). Такой интегральный показатель позволяет компактно оценивать общий вектор модификаций микробиоценоза под влиянием факторов эксперимента и вмешательств. Для проверки статистической значимости различий по распределениям «положительных/отрицательных» сдвигов использовалась оценка с применением хи-квадрат критерия, что дает возможность выявлять ассоциации между группой и направлением изменений без предпосылки о нормальности.

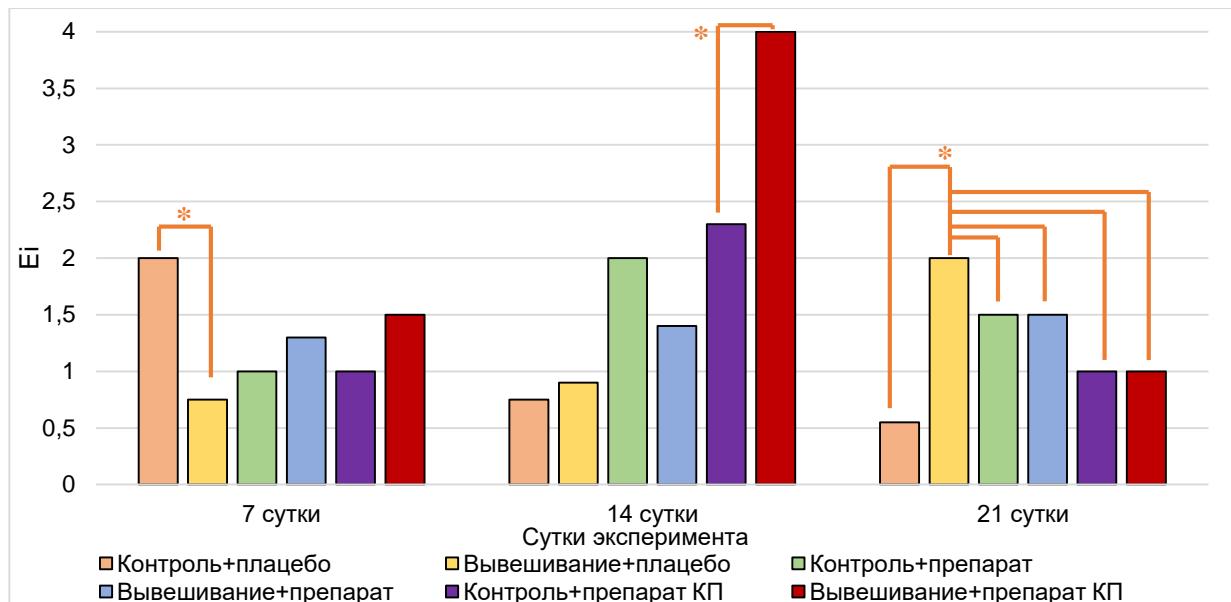


Рисунок 11 — Динамика эубиотического индекса в группах с различными препаратами. * - статистически достоверное различие по данным между группами ($p<0,05$)

Согласно данным на 14-е сутки, максимальное значение индекса зарегистрировано в ветви «Вывешивание + Препарат КП»; в соответствующей контрольной ветви индекс также возрос, но оставался почти вдвое ниже относительно вывешенной группы на тот же момент времени. К 21-м суткам показатель снизился во всех ветвях, кроме «Вывешивание + Плацебо»; при этом среди ветвей с применением средств наибольшее значение отмечено у обычного препарата, тогда как в ветви с препаратом КП индекс приблизился к 1, что указывает на сопоставимые доли положительных и отрицательных сдвигов и, следовательно, на наличие эффекта.

Модель вывешивания выступает стрессорным фактором, приводящим к уменьшению численности большинства протективных компонентов кишечной микробиоты. Применение профилактических средств статистически значимо сглаживает неблагоприятные изменения, вызванные опорной разгрузкой. В ветви «Вывешивание + Препарат КП» численность лактобацилл оставалась стабильной на протяжении всего наблюдения, что свидетельствует о стабилизирующем влиянии средства, прошедшего воздействие отдельных факторов космического полета, в условиях вывешивания. По совокупной эффективности препарат, подвергшийся таким воздействиям, близок к обычному: к 21-м суткам снижение отмечено лишь для *Enterococcus faecalis*. Более того, на 14-е сутки эубиотический индекс в группе с препаратом КП был наивысшим среди сравниваемых ветвей в этот период, что демонстрирует даже большую результативность по сравнению с необлученным препаратом.

Сочетанное применение напитков брожения на основе сахаромицетов с пробиотическими и аутопробиотическими препаратами для нормализации микрофлоры человека в изоляции (SIRIUS-18/19)

По данным (Рисунки 12, 13) видно, что обогащение напитка брожения как промышленными пробиотиками, так и аутопробиотиками сопровождается улучшением количественных и качественных характеристик кишечной микрофлоры за счет увеличения доли представителей протективных групп и уменьшения, вплоть до возможного исчезновения, условно-патогенных таксонов. На этом фоне аутопробиотический подход демонстрировал более выраженный и пролонгированный эффект, сохранявшийся и после завершения изоляции (период 4), тогда как при использовании напитка с коммерческими штаммами позитивные изменения угасали почти сразу после прекращения приема (период 2).

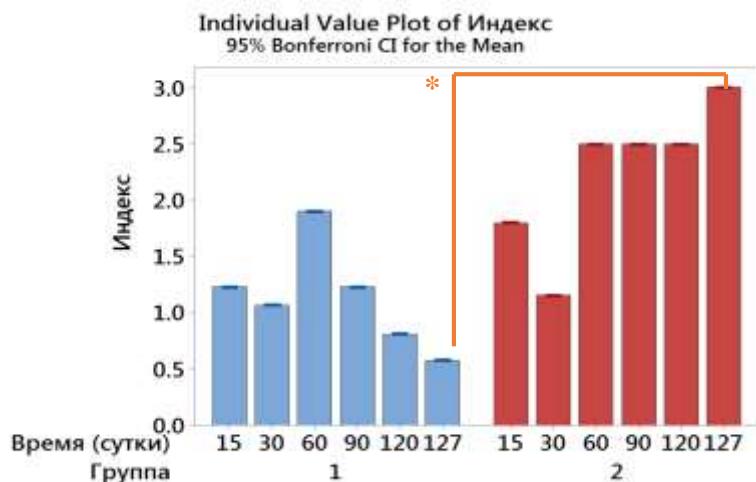


Рисунок 12 — Эубиотический индекс микрофлоры желудочно-кишечного тракта в эксперименте «СИРИУС». Примечание: группа 1 — контроль, группа 2 — опытная.

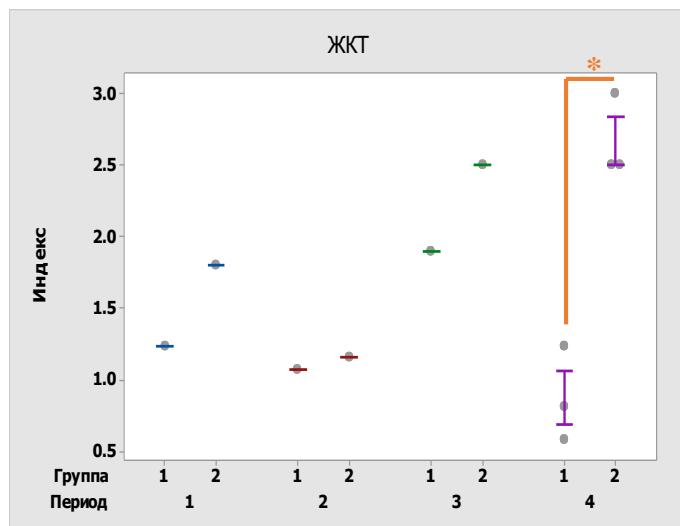


Рисунок 13 — Динамический эубиотический индекс микрофлоры желудочно-кишечного тракта в эксперименте «СИРИУС». Примечание: группа 1 —

контрольная, группа 2 — опытная. Периоды: 1 — 0–15-е сутки, прием напитка брожения с коммерческими пробиотическими штаммами; 2 — 15–60-е сутки, перерыв без приема пробиотических средств; 3 — 60–90-е сутки, прием кваса с аутопробиотиками (с 60-х по 75-е сутки); 4 — 90–127-е сутки, без приема пробиотиков.

Изучение кишечной микрофлоры в изоляционном эксперименте «Эскиз»

По итогам дискриминантного анализа профилей кишечной микрофлоры установлены статистически значимые различия между состоянием микробиоценоза до начала эксперимента, на 7-е сутки изоляции и через 7 суток после её завершения, сопоставляя опытную группу, получавшую профилактически кефир с индивидуальными аутоштаммами, и контрольную группу без вмешательства (Рисунок 14).

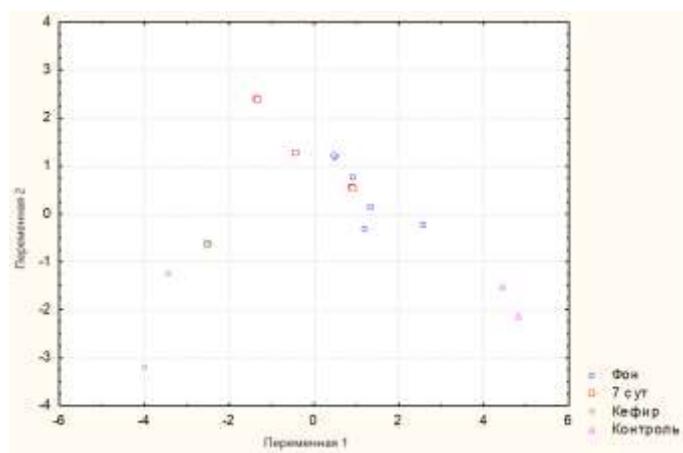


Рисунок 14 - Проекция ценозов кишечной микрофлоры в группах Фон, 7 сутки, Кефир и Контроль на первые две канонические переменные. Каждая точка соответствует одному испытуемому. Переменная 1 – статистический вклад УПМ, переменная 2 – статистический вклад протективной микрофлоры.

В разные временные точки эксперимента профиль кишечной микрофлоры в обеих группах отличался по некоторым таксонам (Рисунок 15). Межгрупповые статистически значимые различия на отдельных этапах пробоотбора зафиксированы для *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. Отмечается также умеренная стабилизация уровня *Lactobacillus* spp. в опытной ветви, что указывает на небольшой положительный эффект после 7-дневного курса кефира с аутоштаммами.

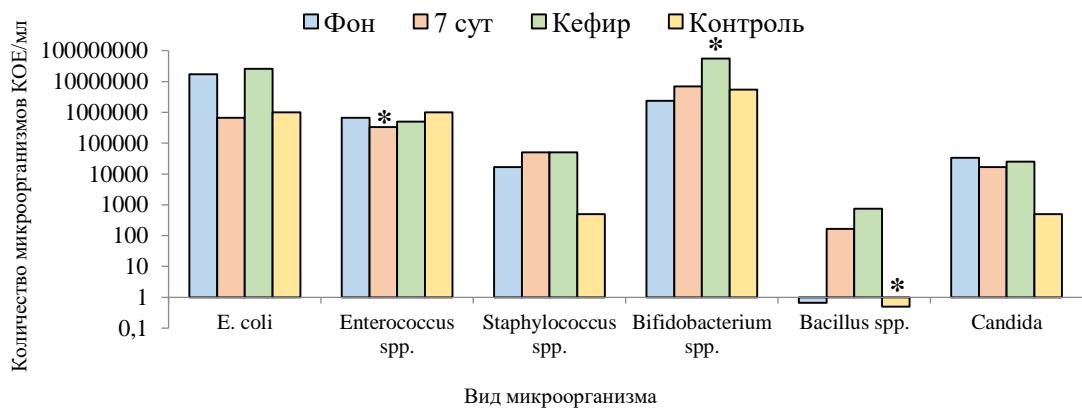


Рисунок 15 — Численность бактерий кишечной микрофлоры (КОЕ/мл) в группах Фон, 7-е сутки, Кефир и Контроль. * - статистически достоверное различие по данным микроорганизмам между группами ($p<0,05$).

Отмечено, что в контрольной группе уровень энтерококков был выше, чем у участников, получавших кефир, тогда как *Bacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. у испытуемых на кефире встречались в больших количествах по сравнению с контролем. Вероятной причиной таких различий является присутствие соответствующих микроорганизмов в кефирной закваске; с учетом протективной роли обоих родов и их использования в качестве пробиотиков, а также на фоне стабилизации *Lactobacillus* spp., это можно расценивать как благоприятную тенденцию.

Оценка стабильности (живучести) различных групп микробных ассоциаций в условиях глубокой заморозки

Цель заключалась в комплексной оценке и отработке методик длительного консервирования ассоциаций микроорганизмов из собственной микрофлоры человека для их последующего применения как пробиотических средств при длительной изоляции пациента. Сравнительный анализ состава микробных сообществ в образцах после 6-месячного хранения при -80°C не выявил существенных изменений. Таким образом, в целом можно считать, что микроорганизмы удовлетворительно перенесли указанный период низкотемпературного хранения (Рисунок 16).

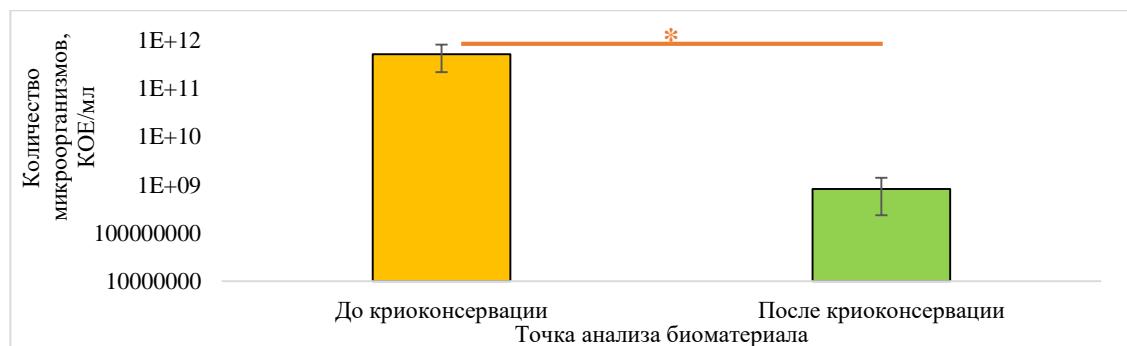


Рисунок 16 - Количество УПМ кишечной микрофлоры до и после криоконсервации образцов фекалий. * - статистически достоверное различие между группами ($p<0,05$)

При оценке численности сохранившихся протективных таксонов статистически значимые сдвиги выявлены лишь для *Bifidobacterium* spp. и *Escherichia coli*. Их уровни уменьшились, однако даже после снижения оставались на уровне нижней границы физиологической нормы для этих групп микроорганизмов (Рисунок 17).

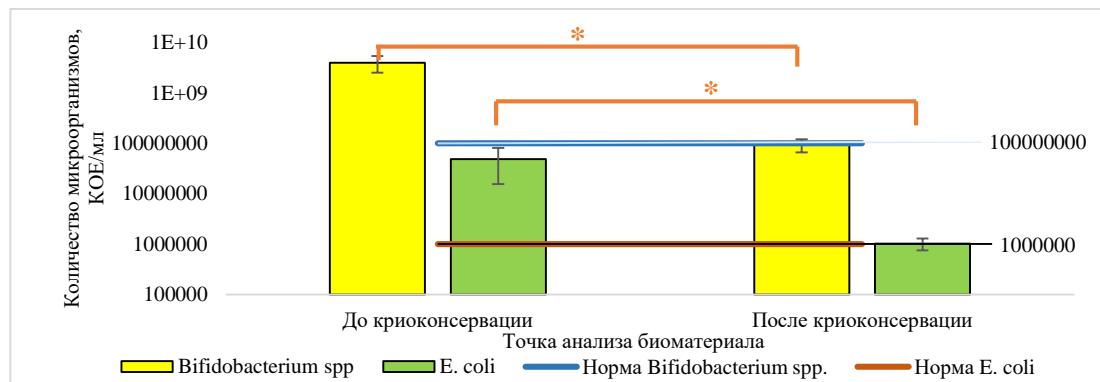


Рисунок 17. Количество бифидобактерий и кишечной палочки до и после криоконсервации образцов фекалий. * - статистически достоверное различие между группами ($p<0,05$)

Численность лактобацилл после криоконсервации статистически значимо не уменьшилась, что указывает на отсутствие заметного влияния хранения при -80°C на препараты из аутологичных штаммов *Lactobacillus*. Эти результаты демонстрируют возможность длительной заморозки аутопробиотических средств на основе протективных микроорганизмов с сохранением их витальных характеристик после оттаивания. Такой подход расширяет перспективы применения подобных форм для поддержания колонизационной резистентности кишечной микрофлоры в условиях продолжительных космических полетов.

Влияние аутопробиотических препаратов на стабилизацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта

Влияние аутопробиотиков на основе *Lactobacillus* spp. на кишечную микрофлору в разные фазы 8-месячной изоляции (SIRIUS-21)

При оценке динамики микробиоценоза выявлены статистически значимые сдвиги по *E. coli*, *Enterobacteriaceae* spp., *Staphylococcus haemolyticus* и *Lactobacillus* spp. (Рисунки 18, 19), при этом траектории изменений у разных добровольцев носили преимущественно индивидуальный характер. На 14-е сутки количество *E. coli* снизилось относительно фонового уровня, затем к 30-м суткам отмечен частичный рост, что указывает на тенденцию к стабилизации на фоне приема аутопробиотика. Минимальные значения *E. coli* и энтеробактерий зарегистрированы на 90-е сутки, после чего к 180-м суткам прослеживалось умеренное увеличение; в этот период доля *Enterobacteriaceae* превышала уровень протективной кишечной палочки. Важно, что завершающий курс аутопробиотиков в конце

изоляции сопутствовал остановке намечавшегося к 210-м суткам спада *E. coli*: показатели сблизились с фоновыми, особенно на 7-е сутки после выхода экипажа из гермообъекта.

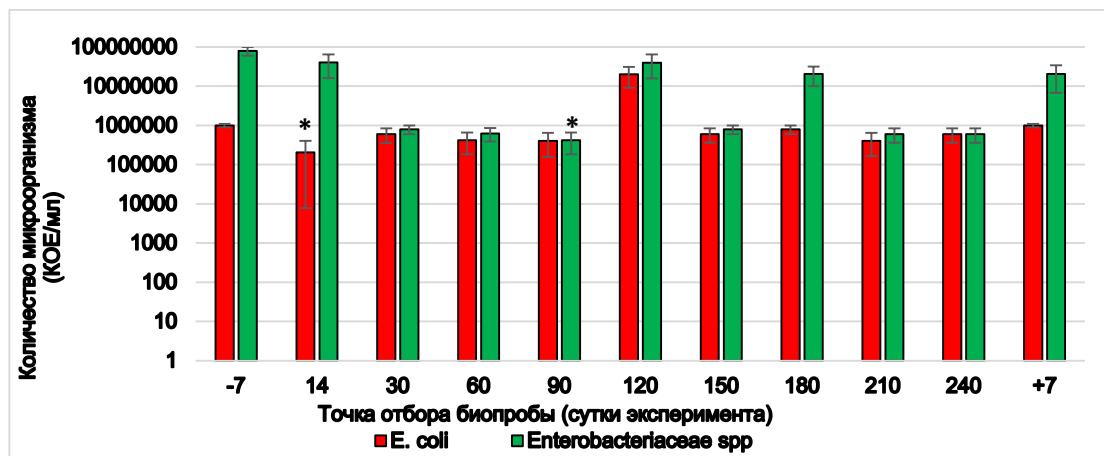


Рисунок 18 — Численность *E. coli* и *Enterobacteriaceae* spp. в кишечной микробиоте добровольцев эксперимента «Сириус-21». * - $p<0,05$

По данным по гемолитическому стрептококку и лактобациллам отмечено, что уровень последних оставался стабильно высоким в первые 30 суток изоляции, тогда как *S. haemolyticus* уменьшался к 14-м суткам, вероятно на фоне приема аутопробиотика, затем временно возрастал, после чего снижался до порядка 10^3 КОЕ/мл и удерживался на этом низком уровне до 150-х суток. Завершающий курс аутопробиотика на базе лактобацилл также повлиял на динамику: возросший к 210-м суткам уровень гемолитического стрептококка резко упал в постизоляционный период, тогда как численность протективных лактобацилл выросла к моменту выхода из гермообъекта и оставалась высокой по крайней мере до 7-х суток после изоляции.

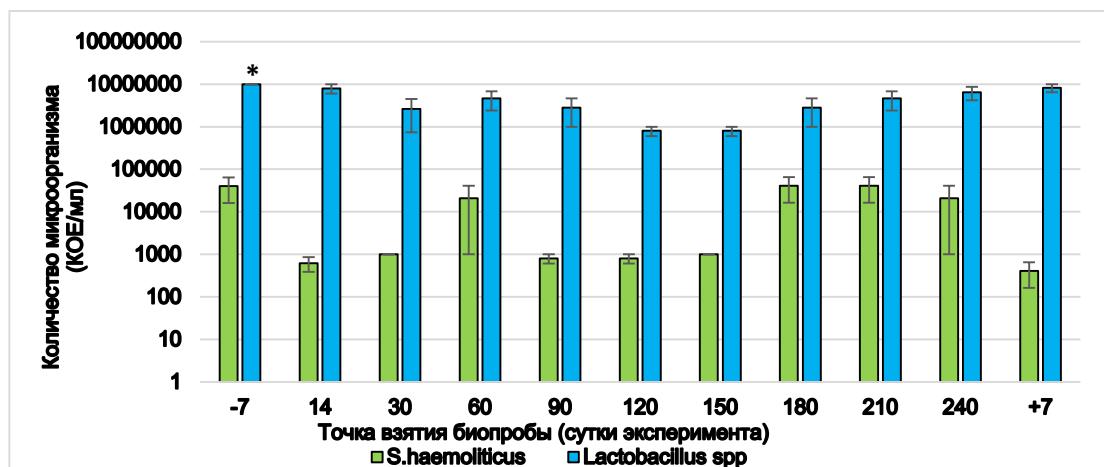


Рисунок 19 - Количество *S. haemolyticus* и *Lactobacillus* spp в кишечной микрофлоре добровольцев эксперимента Сириус-21. * - $p<0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Некоторыми перспективными пробиотическими микроорганизмами являются *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*. Данные бактерии могут быть выделены у операторов и способны выживать в условиях космического пространства, длительной криоконсервации, а также оказывать положительное влияние на здоровье человека. Бактерии данных родов помогают улучшать иммунную функцию, снизить риски развития дисбиозов и инфекций различного генеза, а также улучшают пищеварение. Кроме того, они безопасны для использования человеком и не вызывают побочных эффектов.

Однако, несмотря на перспективность, необходимы дополнительные исследования для подтверждения эффективности и безопасности в условиях космических полетов. Так же необходимо разработать способы доставки пробиотиков в организм космонавтов, чтобы они могли получать максимальную пользу от их применения.

Подводя итоги, во-первых, модель вывешивания выступает выраженным стрессором, приводящим к снижению численности большинства протективных представителей кишечной микробиоты и служащим надежной платформой для проверки процессов, связанных с перераспределением жидкости в верхние отделы тела, а также для оценки профилактических мер. Применение предложенных в работе средств профилактики статистически значимо сглаживает неблагоприятные сдвиги в микрофлоре кишечника. Так, в ветви «Вывешивание + препарат КП» численность лактобацилл оставалась стабильной на протяжении всего наблюдения, что отражает стабилизирующий эффект препарата, подвергшегося воздействию отдельных факторов космического полета, в условиях опорной разгрузки.

Пробиотический препарат, прошедший такое воздействие, по эффективности сопоставим с обычным: к 21-м суткам снижение отметили только для *Enterococcus faecalis*. Кроме того, на 14-е сутки эубиотический индекс в группе, получавшей препарат после воздействия факторов космического полета, достигал максимальных значений для данного периода, что указывает даже на большую результативность по сравнению с необлученным вариантом. При проведении исследований использовали пробиотический индекс (Ильин В.К., Усанова Н.А.). При воздействии факторов на исследуемые группы наблюдалось снижение эубиотического индекса в группах (1-4 опыт, 25-28 опыт, 17-20 опыт, 33-36 опыт, 50-53 опыт) после воздействия, однако следует заметить, что в контрольной группе и в 68-71 опыт (90 сутки после восстановления) имеется выраженная тенденция к увеличению эубиотического индекса. При анализе данных можно сделать вывод о том, что различные стресс факторы, в том числе радиационные и химические влияют на микробиоту кишечника.

Совместный прием напитка брожения на основе сахаромицетов с коммерческими пробиотиками и аутологичными штаммами благоприятно сказался на состоянии кишечной микрофлоры участников изоляционного эксперимента, однако эффект от аутопробиотиков оказался более выраженным и длительным по сравнению с промышленными штаммами. После курса аутопробиотиков у испытуемых опытной группы достоверно снизилась доля условно-патогенных бактерий, тогда как сопоставимого результата при применении коммерческих штаммов не отмечалось.

В подгруппе эксперимента «Эскиз», где использовался кефир, обогащенный индивидуальными штаммами *Lactobacillus* spp., уже через 7 суток наблюдалась стабилизация уровня лактобацилл. Одновременно после недельного приема напитка численность энтерококков в контроле была выше, чем в опытной ветви, а *Bacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. — ниже; с учетом протективной роли этих родов это расценивается как положительный сдвиг. Повышение *Bacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. в опытной группе может объясняться их присутствием в закваске, а также возможной синергией с *Lactobacillus* spp.

При анализе фекальных образцов после 6-месячной криоконсервации при -80°C во всех случаях зафиксировано достоверное снижение количества УПМ, при неизменном уровне *Lactobacillus* spp. до и после хранения. Для *Bifidobacterium* spp. и *E. coli* отмечено умеренное уменьшение, однако их показатели оставались в пределах нижней границы физиологической нормы. Полученные данные по криоконсервации свидетельствуют о возможности применения данной технологии в длительных космических миссиях для сохранения консорциума бактерий кишечной группы для последующего использования его в целях изготовления аутопробиотических препаратов, необходимых для поддержания колонизационной резистентности кишечного биотопа. Полученные данные могут быть взяты за основу исследований по разработке средств профилактики дисбиотических нарушений при воздействии условий космического полета в пилотируемых лунных экспедициях и межпланетных миссиях на членов экипажа.

По результатам 8-месячного исследования SIRIUS-21 профилактический прием аутопробиотического напитка на основе лактобацилл в фазу острой адаптации (0–14-е сутки) и на завершающем этапе изоляции оказывал устойчивый стабилизирующий эффект на микробиоценоз кишечника. Титр лактобацилл оставался стабильно высоким весь период приема, а поддерживающий эффект сохранялся еще несколько недель после прекращения приема. На этом фоне уменьшалась доля условно-патогенной микрофлоры, и этот результат также удерживался в пост-приемный период.

ВЫВОДЫ

1 Продукты, содержащие аутологичные культуры на основе *Lactobacillus spp.*, оказывают стабилизирующее действие на видовые и количественные характеристики микрофлоры организма человека и животных в условиях модельных экспериментов (длительная изоляция и антиортостатическое вывешивание) в достоверно большей степени, нежели с использованием коллекционных культур аналогичных родов.

2 После длительного хранения нативных образцов кала человека в условиях криогенезации аутопробиотические штаммы не ухудшают своих пробиотических свойств.

3 В условиях воздействия факторов межпланетного полета (радиация и гипомагнитная среда) пробиотические препараты не ухудшают своих пробиотических свойств.

СПИСОК ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. Сочетанное использование напитков брожения на основе сахаромицет и пробиотических и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте ("SIRIUS-18/19") / В. К. Ильин, Н. А. Усанова, Д. В. Комиссарова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2020. – Т. 54, № 3. – С. 49-53. – DOI 10.21687/0233-528X-2020-54-3-49-53. – EDN SSEMCV.

2. Исследование влияния изменений микрофлоры кишечника и профилактического приема пробиотиков на функциональное состояние желудка в изоляционном эксперименте Sirius-18/19 / В. К. Ильин, Б. В. Афонин, Д. В. Комиссарова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2021. – Т. 55, № 1. – С. 70-75. – DOI 10.21687/0233-528X-2021-55-1-70-75. – EDN BZXWSI.

3. Исследование пробиотической активности аутоштаммов *Lactobacillaceae*, восстановленных после длительной криоконсервации в эксперименте с изоляцией / Д. В. Комиссарова, В. К. Ильин, К. А. Шеф [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2023. – Т. 57, № 4. – С. 64-70. – DOI 10.21687/0233-528X-2023-57-4-64-70. – EDN QUREJU.

4. Оценка эффективности пробиотика, подвергнутого сочетанному воздействию тяжелых частиц и гипомагнитной среды, в эксперименте с вывешиванием крыс / В. К. Ильин, К. А. Шеф, Д. В. Комиссарова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2024. – Т. 58, № 3. – С. 68-74. – DOI 10.21687/0233-528X-2024-58-3-68-74. – EDN SZIOOR.

5. Состав микрофлоры и состояние системы сигнальных образраспознающих рецепторов семейства Toll-подобных клеточных факторов врожденного иммунитета во

время 120-суточной изоляции в гермообъекте с искусственной средой обитания / В. К. Ильин, О. И. Орлов, М. П. Рыкова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 1. – С. 36-45. – DOI 10.36233/0372-9311-95. – EDN FUZZIR.

6. Гостевые наборы национальных продуктов при полетах международных экипажей на орбитальной станции "Мир" и международной космической станции / А. Н. Агуреев, К. А. Шеф, М. С. Белаковский, Е. А. Васильева // Воздушно-космическая сфера. – 2022. – № 1(110). – С. 58-65. – DOI 10.30981/2587-7992-2022-110-1-58-65. – EDN FWSADT.